

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 556**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/51** (2006.01)

**A61K 9/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.06.2009 E 09758743 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.04.2016 EP 2293784**

54 Título: **Complejo de inclusión de hidrogel deshidratado de un agente bioactivo con sistema fluido de administración de medicamento**

30 Prioridad:

**03.06.2008 US 58484 P**

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

**11.05.2016**

73 Titular/es:

**INDIVIOR UK LIMITED (100.0%)  
103-105 Bath Road  
Slough, Berkshire SL1 3UH, GB**

72 Inventor/es:

**DADEY, ERIC y  
WATKINS, ANDREW**

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

**ES 2 569 556 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

Complejo de inclusión de hidrogel deshidratado de un agente bioactivo con sistema fluido de administración de medicamento

Referencia cruzada con solicitudes relacionadas

- 5 Esta solicitud reivindica prioridad de la solicitud estadounidense provisional serie No. 61/058,484, presentada el 3 de junio de 2008.

Campo de la invención

- 10 La invención se refiere a una composición adaptada para la liberación controlada de un agente bioactivo a partir de un depósito implantado dentro de los tejidos corporales de un paciente, y el agente bioactivo se incluye dentro de una matriz de un hidrogel deshidratado; el complejo del agente bioactivo y el hidrogel se incorporan además a una formulación de liberación controlada que incluye un polímero biodegradable y un solvente orgánico.

Antecedentes

- 15 Las composiciones de copolímero adaptadas para usar sistemas de administración de liberación controlada, tales como los implantes biodegradables y biocorroibles son conocidos. Véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses Nos. 7,019,106; 6,565,874; 6,528,080; RE37,950; 6,461,631; 6,395,293; 6,355,657; 6,261,583; 6,143,314; 5,990,194; 5,945,115; 5,792,469; 5,780,044; 5,759,563; 5,744,153; 5,739,176; 5,736,152; 5,733,950; 5,702,716; 5,681,873; 5,599,552; 5,487,897; 5,340,849; 5,324,519; 5,278,202; y 5,278,201. Tales sistemas de liberación controlada son ventajosos en general debido a que proporcionan liberación controlada y sostenida de medicamentos, con frecuencia directamente en o cerca del sitio deseado de acción, durante el período de días, semanas o incluso meses. Los sistemas de liberación controlada pueden incluir matrices poliméricas que son conocidas por descomponerse en el cuerpo por diversas sustancias endógenas tales como enzimas y fluidos corporales tales como poliésteres que incluyen poli-láctida, poli-glicólido, y copolímeros de los mismos ("copolímeros de PLG") preparados a partir de glicólido (1,4-dioxan-2,5-diona, lactona dimérica cíclica de ácido glicólico) y lactida (3,6-dimetil-1,4-dioxan-2,5-diona, lactona dimérica cíclica de ácido láctico), o de glicolato (2-hidroxiacetato) y lactato (2-hidroxiacetato). Estos materiales de copolímero son particularmente favorecidos para esta solicitud debido a su fácil descomposición *in vivo* por fluidos corporales o enzimas en el cuerpo, en materiales no tóxicos, y sus propiedades favorables para controlar temporalmente la liberación de medicamentos y agentes biológicamente activos ("agentes bioactivos") que pueden estar contenidos dentro de una masa de la formulación de liberación controlada que incorpora al polímero que ha sido implantado dentro de los tejidos del cuerpo del paciente. Normalmente, los sistemas de liberación controlada se adaptan para proporcionar una velocidad de liberación del agente bioactivo tan constante como sea posible durante el período de tiempo que el implante persista dentro del cuerpo.
- 20
- 25
- 30

- 35 Los sistemas de administración fluidos, tales como el sistema Atrigel®, se divulgan en las patentes estadounidenses números 6,565,874, 6,528,080, 6,461,631, 6,395,293, y en las referencias encontradas en las mismas. Los sistemas de administración fluidos tales como el sistema Atrigel® incluyen un polímero biodegradable, un agente bioactivo y un solvente orgánico que tiene al menos una solubilidad muy ligera en fluidos corporales. Cuando la solución sustancialmente líquida ("fluida") del sistema de administración se inyecta a los tejidos de un paciente, típicamente como un bolo individual, el solvente orgánico se difunde hacia los fluidos corporales circundantes lo cual causa precipitación o gelación del polímero hidrófilo que contiene el agente bioactivo. Se cree que inicialmente se forma una "piel" sobre la masa líquida depositada, provocando la formación del depósito semisólido conocido como depósito que contiene la solución restante del polímero y el agente bioactivo en el solvente. Puesto que el depósito reside en los tejidos, el solvente continúa difundiendo hacia fuera y los fluidos corporales continúan difundiendo hacia adentro provocando una precipitación continua del polímero con el agente bioactivo, hasta que queda una masa gelificada o sólida. En el depósito pueden formarse canales o poros como parte de este proceso. Debido a la naturaleza biodegradable del polímero en presencia de fluidos corporales y de enzimas dentro del cuerpo, el polímero se degrada lentamente en productos de hidrólisis solubles no tóxicos, liberando el agente bioactivo contenido durante un período de tiempo. Este proceso continúa hasta que el depósito se disuelve de manera sustancialmente completa y se libera todo el agente bioactivo. Se entiende que tales depósitos pueden adaptarse para persistir por largos tiempos dentro del cuerpo, tales como aproximadamente 30 días, aproximadamente 60 días o aproximadamente 3 meses, 4 meses o 6 meses.
- 40
- 45

- 50 Los poli(glicoles de alquileno), tales como polietilenglicol, son sustancias bien conocidas que se forman por la polimerización de óxidos de alquileno tales como óxido de etileno. A pesar de sus pesos moleculares frecuentemente altos, que llegan a cientos de miles, y de su naturaleza no iónica, éstos tienden a tener un alto grado de solubilidad en agua debido a la abundancia de átomos de oxígeno en sus estructuras, que se encuentran disponibles para entrar en interacciones de enlace de hidrógeno con moléculas de agua. Los grupos de polietilenglicol se conocen por interactuar con proteínas con mínima absorción irreversible de la proteína por parte del polietilenglicol (JH Lee, J Kopecek, JD Andrade (1989), J. Biomed. Mater. Res., 23, 351-368). Por lo tanto, se sabe que los polietilenglicoles interactúan con proteínas de maneras benéficas, tal como para estabilizar formas nativas por medio de enlaces de hidrógeno que sirven para ayudar a resistir la desnaturalización de la proteína.
- 55

Los polietilenglicoles pueden prepararse como cadenas lineales o, mediante incorporación de iniciadores multifuncionales tales como pentaeritritol, pueden prepararse en configuraciones no lineales. Los polietilenglicoles lineales y otros polialquilenglicoles (por ejemplo, polipropilenglicoles) contienen dos grupos hidroxilo terminales por cadena molecular, los cuales están disponibles para enlazamiento químico, por ejemplo con ácidos carboxílicos para formar ésteres. Un grupo de este tipo de ésteres que es bien conocido son los diacrilatos de polietilenglicol los cuales incluyen diésteres de polietilenglicol (PEG) con ácido acrílico o no sustituido (ácido prop-2-enoico) y ácido metacrílico (ácido 2-metil-prop-2-enoico). Estos diésteres de PEG, que son acrilatos, pueden someterse ellos mismos a polimerización a través de los grupos acrilato para proporcionar polímeros de tipo escalera que pueden verse como al menos dos o, más probablemente, muchas cadenas de poli(acrilato) reticuladas por las cadenas de polietilenglicol. Puesto que un número de diferentes cadenas de poli(acrilato) puede estar todo reticulado por las cadenas de polietilenglicol y, por lo tanto, estar todo conectado de modo covalente entre sí, se cree que los poli(acrilatos) de polietilenglicol tienen estructuras altamente tridimensionales.

Tales materiales han sido utilizados en una variedad de aplicaciones, por ejemplo, como componentes de lentes de contacto (patente estadounidense no. 5,037,435 y U.S. Pub. No. 2006/0264571), adhesivos (patentes estadounidenses nos. 4,404,345 y 6,482,871), resinas de aislamiento eléctrico (patente estadounidense No. 4,564,646), y materiales dentales (patente estadounidense No. 6,315,566); para inmovilización de células y enzimas (patentes estadounidenses Nos. 4,177,107 y 4,193,845), y para recubrimientos de stent (patentes estadounidenses Nos. 6,530,950 y 7,115,691). Los diacrilatos de polietilenglicol también han sido usados para formación de hidrogeles que contienen compuestos bioactivos para el propósito de administración de medicamentos, que incluyen medicamentos de molécula pequeña (RA Scott, NA Peppas (1999), *Biomaterials*, 20, 1371-1380; JA Diramio et al. (2005), "Poly(ethylene glycol) methacrylate/dimethacrylate hydrogels for controlled release of hydrophobic drugs" (*Hidrogeles de metacrilato/dimetacrilato de poli(etilenglicol) para liberación controlada de medicamentos hidrófugos*), *Biotech Prog.*, 21 (4), 1281-8). Las composiciones poliméricas formadas a partir de poli(acrilatos) de polietilenglicol, en las cuales los segmentos de ácido poli-glicólico están enlazados de modo covalente dentro de la estructura, han sido estudiadas para aplicaciones de liberación controlada (patente estadounidense No. 6,602,975). Las proteínas han sido reticuladas de modo covalente en hidrogeles formados mediante polimerización de diacrilatos de polietilenglicol y han sido estudiadas sus velocidades de liberación (MB Mellott, K Searey, MV Pishko (2001), *Biomaterials*, 22, 929-941). Sin embargo, sin un enlace covalente de este tipo de la proteína con el marco del poli(acrilato) de polietilenglicol, no se observa liberación controlada a largo plazo ya que la proteína puede difundirse libremente afuera del marco, el cual no se enlaza de manera fuerte a la proteína por medio de interacciones no covalentes (X Zhao, JM Harris, (2000), *J. Pharm. Sci.*, 87(11), 1450-1458).

Diversos componentes han sido adicionados para estabilizar proteínas en formulaciones contra la agregación y la formación de conformaciones no naturales. El uso de un polisacárido de existencia natural en calidad de estabilizador para una proteína, encapsulado con un polímero biodegradable, se discute en la patente estadounidense No. 7,060,299. La patente estadounidense No. 6,998,137 discute polímeros biodegradables que incluyen proteínas precipitadas sobre partículas poco solubles, en cuyo caso la partícula poco soluble en se selecciona del grupo que consiste en carbonato de zinc, óxido de zinc, tartrato de zinc, hidróxido de zinc, fosfato de zinc, citrato de zinc, óxido de magnesio, hidróxido de magnesio, carbonato de magnesio, óxido de calcio, fosfato de calcio, sulfato de calcio y carbonato de calcio.

#### Resumen de la invención

La presente invención está dirigida a formulaciones de liberación controlada adaptadas para liberar un agente bioactivo, y las formulaciones comprenden un complejo deshidratado del agente bioactivo en un hidrogel en combinación con un polímero biodegradable y un solvente; así como a métodos para preparar y a métodos para usar la formulación de liberación controlada según la invención.

Diversas modalidades de la invención proporcionan formulaciones de liberación controlada, adaptadas para liberar un agente bioactivo en tejido corporal y la formulación comprende un polímero biodegradable, un solvente orgánico que es al menos ligeramente soluble en fluidos corporales y un complejo de inclusión deshidratado del agente bioactivo dentro de un hidrogel. En algunas modalidades, el polímero biodegradable es un poliéster biodegradable. En algunas modalidades, el polímero biodegradable es un copolímero biodegradable de poli (lactida-glicólico) (PLG). En varias modalidades, el hidrogel comprende un diacrilato de polialquilenglicolilo polimerizado o diacrilato de polialquilenglicolilo y monoacrilato de polialquilenglicolilo copolimerizados. Los grupos de polialquilenglicolilo pueden ser grupos de polietilenglicolilo o polipropilenglicolilo.

En diversas modalidades, el agente bioactivo es una sustancia macromolecular, por ejemplo una proteína tal como un anticuerpo monoclonal o un ácido nucleico. En otras modalidades, el agente bioactivo es una sustancia de molécula pequeña tal como un péptido o un compuesto orgánico de peso molecular de menos de aproximadamente 1,000 Da.

Un complejo de inclusión de un agente bioactivo dentro de un hidrogel, cuando está deshidratado, puede incorporarse a una formulación de liberación controlada del tipo "Atrigel®" que incluye un copolímero biodegradable de PLG y un solvente orgánico que disuelve el copolímero y es al menos ligeramente soluble en un medio acuoso. La proteína puede liberarse del hidrogel en forma no desnaturalizada o nativa. Los hidrogeles pueden componerse de diacrilato de

5 polialquilenglicolilo y de diacrilato de polialquilenglicolilo y monoacrilato de polialquilenglicolilo polimerizados, ambos denominados en la presente como poliácridatos de polialquilenglicolilo, los cuales después de hidratación forman hidrogeles. Cuando se implanta una modalidad de la formulación de la invención, por ejemplo como un depósito, dentro de los tejidos corporales de un paciente, y el complejo de inclusión de hidrogel deshidratado se expone a continuación a los fluidos corporales a través de la biodegradación del depósito de polímero del tipo Atrigel®, el complejo de inclusión de hidrogel deshidratado se rehidrata y puede liberar lentamente la proteína hacia los fluidos corporales de tal modo que pasa al sistema circulatorio del paciente.

10 Las diversas modalidades de la presente invención se refieren a métodos de preparación de una formulación de liberación controlada según la invención que comprende un complejo deshidratado de un agente bioactivo y un hidrogel, dispersado en una solución de un polímero biodegradable en un solvente orgánico al menos ligeramente hidrosoluble. En algunas modalidades, el polímero biodegradable es un poliéster biodegradable. En algunas modalidades el polímero biodegradable es un copolímero biodegradable de PLG. El agente bioactivo puede ser una sustancia macromolecular o puede ser una sustancia de molécula pequeña. Un complejo de inclusión hidratado del agente bioactivo puede formarse por contacto del agente bioactivo y un hidrogel en un medio acuoso. Un complejo de inclusión deshidratado puede formarse secando el complejo de inclusión hidratado, por ejemplo mediante un proceso que involucra liofilización. Este complejo de inclusión deshidratado puede entonces dispersarse en una solución del polímero en el solvente orgánico. El complejo de inclusión deshidratado del agente bioactivo en el hidrogel puede estar, por ejemplo, en forma de micropartículas o nanopartículas, o más generalmente en forma de un sólido finamente pulverizado. Por ejemplo, un diacrilato de polialquilenglicolilo puede polimerizarse en un medio acuoso y añadirse agente bioactivo para proporcionar un hidrogel que contiene el agente bioactivo como el complejo de inclusión hidratado. Esta combinación puede deshidratarse luego mediante liofilización, por ejemplo, para proporcionar un complejo de inclusión deshidratado del agente bioactivo en el polialquilenglicolilo en forma de micropartículas o nanopartículas, generalmente en forma de un sólido finamente pulverizado. En diversas modalidades, el diacrilato de polialquilenglicolilo pueden polimerizarse o el diacrilato de polialquilenglicolilo y el monoacrilato de polialquilenglicolilo pueden copolimerizarse, en cuyo caso la reacción de polimerización es iniciada con luz ultravioleta o con un material iniciador o con ambos.

25 La invención se refiere además a un método de tratamiento de una condición mórbida para la cual es efectivo el agente bioactivo, tal como una sustancia macromolecular. El método incluye administrar la formulación de liberación controlada según la invención que incluye el complejo de inclusión de hidrogel deshidratado del agente bioactivo que es médicamente indicado para tratamiento, prevención o paliación de la condición mórbida en combinación con un polímero biodegradable y un solvente orgánico a un paciente que lo necesita, a un nivel de dosificación y por una duración efectiva para tratar, prevenir o paliar la condición mórbida.

30 En algunas modalidades, la formulación de liberación controlada descrita en la presente se usa en la fabricación de un medicamento para tratar una condición mórbida, en cuyo caso la formulación incluye un agente bioactivo que es indicado médicamente para tratamiento, prevención o paliación de la condición mórbida.

35 Descripción detallada

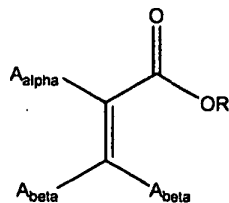
#### Definiciones

40 Una "formulación de liberación controlada", tal como se usa el término en la presente, es una composición que incluye un agente bioactivo que se adapta para liberar el agente bioactivo, la cual es útil en el tratamiento de una condición mórbida en un paciente por un período prolongado de tiempo a una velocidad definida de liberación. La formulación de liberación controlada puede introducirse a los tejidos corporales del paciente como un bolo individual inyectado, o "depósito", el cual se adapta para biodegradarse lentamente, por ejemplo mediante la acción de enzimas y fluidos corporales, y para liberar el agente bioactivo en los fluidos corporales del paciente a medida que el depósito se biodegrada. En la invención de la presente, el agente bioactivo se presenta como un complejo de inclusión deshidratado del agente en un hidrogel el cual se incluye (dispersado) en una solución de un polímero biodegradable en un solvente orgánico que es al menos ligeramente soluble en fluidos corporales.

50 Un "solvente orgánico al menos ligeramente soluble en fluidos corporales" es un solvente orgánico que puede ser completamente hidrosoluble o puede tener un bajo grado de hidrosolubilidad, siempre y cuando sea suficientemente soluble en fluidos corporales acuosos para permitir una remoción al menos lenta en el tiempo de alguna fracción del solvente desde el depósito implantado. Se entiende que los materiales que pueden ser insolubles en agua pura tengan, no obstante, alguna solubilidad, al menos limitada, en fluidos corporales debido a la presencia de componentes adicionales tales como proteínas y similares en los fluidos corporales que ayudan a transportar hacia fuera las moléculas del solvente.

55 Un "agente bioactivo" se refiere a una sustancia molecular o a una combinación de sustancias moleculares que pueden incluir una sustancia macromolecular tal como una proteína o un ácido nucleico, o una sustancia de "molécula pequeña", tal como un péptido o un compuesto orgánico de un peso molecular de menos de 1,000 Da, que puede usarse para tratar, prevenir o paliar una enfermedad o condición mórbida en un paciente. Ejemplos de agentes bioactivos incluyen citrato de octreotida, acetato de leuprolida, ARNs pequeños de interferencia, insulina, hormona de crecimiento humano y anticuerpos monoclonales tales como cetuximab (Erbatux®) y bevacizumab (Avastin®).

Tal como se utiliza el término en la presente, un "acrilato" es un derivado de ácido acrílico que incluye derivados de ácido acrílico sustituido tales como derivados de ácido metacrílico (denominados específicamente "metacrilatos" cuando nos referimos a ese acrilato), así como también otros acrilatos  $\alpha$ - y  $\beta$ -sustituidos que llevan sustituyentes en los átomos de carbono de vinilo. De esta manera, "acrilatos" incluyen compuestos con estructuras tal como se muestran:

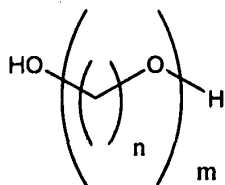


5

Cuando  $A_{\alpha}$  y  $A_{\beta}$  son todos átomos de hidrógeno, la estructura representa un acrilato no sustituido. Cuando  $A_{\alpha}$  es metilo y ambos  $A_{\beta}$  son hidrógeno, la estructura representa un metacrilato. Se entiende que cualquiera de  $A_{\alpha}$  o  $A_{\beta}$  pueden ser grupos alquilo, sustituidos o no sustituidos, dentro del significado de "acrilato" de la presente. En los acrilatos de la presente invención, R es un grupo de polioxialquilenglicolilo, el cual puede tener un segundo acrilato en el extremo distal de la cadena de polioxialquilenglicol. Cuando el grupo de polioxialquilenglicol es un grupo polietilenglicol que tiene un segundo éster acrilato en su extremo distal (denominado un "diacrilato de polioxialquilenglicol"), el peso molecular del residuo polietilenglicol puede encontrarse entre aproximadamente 500 Da y aproximadamente 10,000 Da (grado de polimerización de aproximadamente 12 a aproximadamente 2,500). Cuando el extremo distal del residuo polietilenglicol no está esterificado (denominado un "monoacrilato de polioxialquilenglicolilo"), el residuo puede ser un éster monomérico de etilenglicol del acrilato (metacrilato de hidroxietilo) o el residuo polioxialquilenglicol puede llegar a un grado de polimerización de aproximadamente 12 (peso molecular de aproximadamente 500 Da). Tal como se usa en la presente, "Da" es una abreviatura de "dalton", una unidad de peso molecular como bien se conoce en la técnica. El término "kDa" se refiere a kilodalton, una unidad que es igual a 1,000 daltons.

Un compuesto de "polialquilenglicol" o "polialquilenglicolilo" se refiere a un polímero formado a partir de unidades monoméricas que contienen átomos de carbono y de oxígeno, en cuyo caso los átomos de oxígeno están separados por dos, tres o más átomos de carbono; tal como se muestra más adelante donde n es dos o más y m puede ser de hasta cientos o incluso miles de unidades de repetición.

20



Por lo tanto, ya que m puede ascender a un valor mayor de uno, un mono-alquilenglicol se define como un polialquilenglicol, dentro del significado de la presente; por ejemplo, un monoacrilato de etilenglicol (acrilato de hidroxietilo) o diacrilato (por ejemplo, bisacriloletilenglicol) es un monoacrilato o diacrilato de polietilenglicol dentro del significado de la presente. El número de átomos de carbono en cada unidad de repetición, n, es dos o más.

25

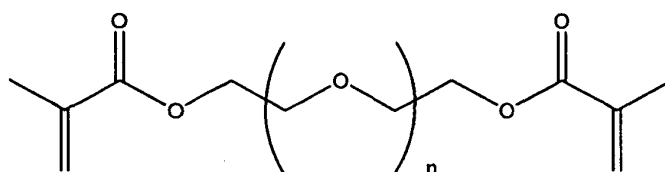
Tal como se conoce bien, los polialquilenglicoles pueden prepararse por medio de la polimerización de óxido de alquileo. Por ejemplo, un grupo de polialquilenglicol puede ser un grupo de polietilenglicol,



30

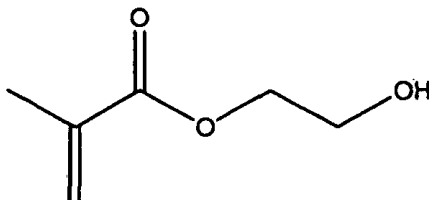
el cual puede prepararse fácilmente mediante polimerización de etilenglicol.

Por lo tanto, un ejemplo de diacrilatos de polialquilenglicolilo, tal como se utiliza el término en la presente, es un dimetacrilato de polialquilenglicolilo:

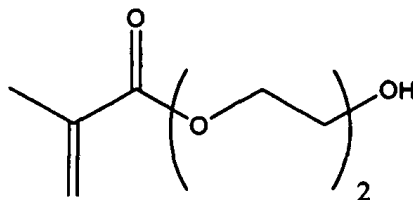


en el cual n puede ser de aproximadamente dos hasta cientos o miles. Esta clase de estructuras se denominan "diacrilatos de PEG" o "monómeros de diacrilato de PEG" y si los acrilatos son específicamente metacrilatos, "dimetacrilato de PEG" o "monómero de dimetacrilato de PEG".

5 Un ejemplo de un monoacrilato de polialquilenglicol, tal como se utiliza el término en la presente, es mono-metacrilato de hidroxietilo, también conocido como metacrilato de hidroxietilo:



Otro ejemplo es mono-metacrilato de dietilenglicol, también conocido como metacrilato de dietilenglicol. Esta clase de estructuras se denominan generalmente "monometacrilatos de PEG".



10 Cuando en la presente nos referimos a la "polimerización" de un diacrilato o un dimetacrilato de polialquilenglicol, se indica la polimerización de los grupos de acrilato (metacrilato), tal como se conoce bien en la técnica. Esta polimerización da lugar a la formación de cadenas de carbono que tienen grupos carboxilo pendientes que forman enlaces de éster con los grupos de polietilenglicol. El producto puede verse como una pluralidad de cadenas de poliacrilato (polimetacrilato) con reticulaciones entre-cadenas formadas por cadenas de polietilenglicol. Como tal, esto  
 15 constituye una estructura multi-dimensional antes que una cadena unidimensional como es lo normal en los polímeros lineales. Esta estructura multidimensional se denomina en la presente poliacrilatos de polialquilenglicol o un poliacrilato de PEG, por ejemplo, tal como un polimetacrilato de polialquilenglicol (polimetacrilato-PEG) cuando el polialquilenglicol es polietilenglicol y acrilato es metacrilato. La estructura multidimensional también puede denominarse "diacrilato polimerizado de polialquilenglicol". Estas sustancias también se denominan "hidrogeles" y "material formador de hidrogel" de la invención.

Se entiende que cuando un monómero de diacrilato de PEG se somete a polimerización, se forman cadenas de poliacrilato pero cualquier molécula de poliacrilato de PEG conectada de modo covalente puede incluir y se cree que incluye más que apenas dos cadenas de poliacrilato ya que los grupos de acrilato que se polimerizan pueden juntar cualquier cadena creciente y no están restringidos a unir siempre la misma cadena en cada paso de incorporación de acrilato. Por lo tanto se cree que el diacrilato polimerizado de PEG o los materiales de diacrilato de PEG / monoacrilato de PEG copolimerizados de la invención poseen estructuras altamente tridimensionales, en cuyo caso muchos ejes  
 25 troncales individuales de poliacrilato están interconectados por medio de las cadenas de PEG.

Cuando tiene lugar la copolimerización de un monoacrilato de PEG con un diacrilato de PEG, los grupos de PEG con un extremo libre se incorporan al copolímero. Puesto que las moléculas de monoacrilato no tienen un segundo grupo de acrilato para que se incorpore otra cadena, en este caso se cree que el grupo de PEG tiene un grupo hidroxilo terminal.

Un "hidrogel", tal como se utiliza el término en la presente, se refiere a un material que forma hidrogel o al gel formado poniendo en contacto al material formador de hidrogel con un medio acuoso. Un hidrogel es una red tridimensional de polímeros o copolímeros hidrofílicos reticulados que pueden hincharse pero no disolverse en un medio acuoso tal como agua (Peppas y Mikos, "Preparation Methods y Structure of Hidrogeles" (Métodos de preparación y estructura de hidrogeles), Hidrogeles in Medicine and Pharmacy, v. 1 (1986)). La reticulación puede ser física (por ejemplo, mediante enlazamiento de hidrógeno) o química (por ejemplo, mediante enlace covalente). Un ejemplo de un material formador de hidrogel es un poliacrilato de polialquilenglicol de la invención, el cual al exponerse a un medio acuoso forma un hidrogel hidratado o rehidratado. En presencia de agua, las cadenas de polialquilenglicol hidrofílico se hidratan por las moléculas de agua y la estructura se hincha con agua para formar un material semisólido. El hidrogel formado de esta forma puede incluir otras sustancias, por ejemplo proteínas, que forman complejos de inclusión en cuyo caso las sustancias, sustancias macromoleculares particulares tales como proteínas, se sostienen por interacciones no covalentes tales como enlaces de hidrógeno o interacciones de van der Waals. Otros ejemplos de hidrogeles incluyen aquellos formados por polímeros naturales tales como ácido hialurónico, quitosán o agarosa, o mediante polímeros sintéticos tales como aquellos formados por polimerización de acetato de vinilo o N-vinil-2-pirrolidona. También pueden  
 45 formarse materiales de hidrogel a partir de nanopartículas de alcohol polivinílico formadas mediante un proceso de

congelamiento-descongelamiento (Takamura, et al (1992), Journal of Controlled Release, 20, 21-28; Ficek y Peppas (1993), Journal of Controlled Release, 27, 259-263; Wang, et al. (1999), Pharmaceutical Research, 16(9), 1430-1435; Li, et al. (1998), Journal of Controlled Release, 56, 117-126).

5 Cuando se seca un hidrogel, el material obtenido es un material formador de hidrogel. Cuando un hidrogel se mezcla con una sustancia incluida, tal como una proteína, y luego se deshidrata, el producto resultante se denomina un "complejo de inclusión" o un "complejo de inclusión deshidratado". Un hidrogel que contiene una sustancia bioactiva, tal como una proteína, puede secarse por medios estándares tales como liofilización para proporcionar un polvo secado o puede secarse conformación de micropartículas o microesferas para producir el complejo de inclusión en forma de micropartículas.

10 Un "polímero biodegradable", tal como se utiliza el término en la presente, se refiere a un polímero que experimenta una despolimerización a una velocidad finita o significativa en condiciones encontradas en tejido corporal, por ejemplo la presencia de fluidos corporales o enzimas hidrolíticas. Un polímero biodegradable, tal como se utiliza el término en la presente, es sustancialmente hidrosoluble en forma intacta, pero después de hidrólisis o de otro tipo de despolimerización produce monómeros u otras unidades de descomposición que tienen al menos alguna solubilidad en agua, de modo que un depósito del polímero biodegradable en tejido corporal es amputado con el tiempo por la acción de constituyentes endógenos de tejido corporal. Ejemplos de polímeros biodegradables que pueden usarse en esta solicitud incluyen determinados poliésteres, polilactidas, poliglicólidos, policaprolactonas, polianhídridos, poliamidas, poliuretanos, poliésteramidas, poliortoésteres, polidioxanonas, poliacetales, policetales, policarbonatos, poliortocarbonatos, polifosfacenos, polihidroxibutiratos, polihidroxicloratos, oxalatos de polialquileno, succinatos de polialquileno, poli (ácido málico), poli (aminoácidos) y copolímeros, terpolímeros o combinaciones o mezclas de los materiales anteriores.

Un "copolímero de PLG", tal como se usa en la presente, se refiere a un polímero de poli (lactida-glicólido) formado a partir de unidades monoméricas de lactida (o lactato) y glicólido (o glicolato) en una proporción molar definida, unidas por enlaces de éster. La proporción molar puede ser de 100% molar de lactida a 100% molar de glicólido pero normalmente es de aproximadamente 50-100% molar de lactida. De esta manera, una poli (lactida) pura, es decir lactida al 100% molar, también conocida como PLA, es un copolímero de PLG dentro del significado de la presente. Los copolímeros compuestos tanto de unidades de lactida como de glicólido pueden describirse en términos de sus composiciones molares; es decir que se entiende que un PLG de 65/35 consiste en 65% molar de unidades de lactida y 35% molar de unidades de glicólido. Un copolímero puede incluir cadenas moleculares neutras de poli (lactida-glicólido) que terminan en grupos alcohol o éster, o cadenas moleculares iónicas de poli (lactida-glicólido) que terminan en grupos de ácido carboxílico (denominado también copolímeros de PLGH). Los copolímeros de PLG, tal como se utiliza el término en la presente, incluyen composiciones denominadas en la técnica poli (lactato-glicolato) poli (lactato(co)glicolato), poli(lactidaglicólido), poly(lactida(co)glicólido), y similares, entendiendo que pueden incluirse grupos adicionales tales como grupos de núcleo o de iniciador (por ejemplo, dioles, hidroxiaácidos y similares), grupos para tapar (por ejemplo, ésteres de grupos carboxilo terminales y similares) y otros grupos pendientes o grupos de extensión de cadena, enlazados de modo covalente o dentro del eje troncal del poliéster, incluyendo grupos que reticulan las cadenas moleculares de poliéster sustancialmente lineales.

Los métodos de preparación de estos diversos tipos de copolímeros PLG son bien conocidos en la técnica; por ejemplo, un PLG neutro puede sintetizarse mediante polimerización catalizada de reactivos de lactida y glicólido (dímero cíclicos) a partir de un diol de núcleo, tal como hexano-1,6-diol, en cuyo caso los enlaces estéricos se forman entre el extremo de las cadenas crecientes y las unidades de lactida/glicólido recién añadidas, lo que da lugar a cadenas poliméricas en las cuales ambos extremos tienen grupos hidroxilo terminales que son neutros. De modo alternativo, puede prepararse un PLG (un PLGH) iónico o ácido mediante polimerización de reactivos de la actividad/glicólido, iniciada por ácido láctico, en cuyo caso un extremo de la cadena de PLG que se forma tiene un grupo de ácido carboxílico ionizable. Un PLGH ácido puede taparse con un alcohol, es decir que puede formarse un grupo éster a partir del grupo extremo carboxílico libre y el alcohol, para proporcionar un copolímero de PLG neutro dentro del significado de la presente.

Los términos "efecto de estallido" o "efecto de estallido inicial" se usan en la presente para referirse a la situación en la cual una velocidad, superior a la promedio, de difusión de un agente bioactivo hacia fuera de una formulación de liberación controlada ocurre inmediatamente después del emplazamiento de un sistema de administración líquido, por ejemplo dentro de 1-2 días después del emplazamiento. Por "superior al promedio" se entiende que durante este período de tiempo inicial después del emplazamiento de la formulación de liberación controlada dentro de tejidos corporales, la velocidad de liberación del agente es superior a la que se ve en el promedio durante todo el período de tiempo que el implante continúa para liberar el agente dentro de los tejidos corporales. Por lo tanto, un efecto de estallido representa una explosión del agente bioactivo que puede alcanzar 25-30% del agente total contenido en el depósito inmediatamente después del emplazamiento que se va disminuyendo hasta una velocidad más baja de liberación que ocurre durante todo el período de tiempo total que el depósito persiste dentro de los tejidos corporales. Un "copolímero de estallido bajo" es un copolímero que al incorporarse a una formulación de liberación controlada, por ejemplo del tipo Atrigel®, suministra un efecto de estallido inicial e impide los efectos no deseados en el paciente de un nivel transitorio pero alto del agente bioactivo inmediatamente después del emplazamiento del depósito.

Un tipo de copolímero de estallido bajo, denominado en la presente un "copolímero de PLG(p)", es un copolímero de PLG adaptado para usarse en una formulación de liberación controlada caracterizada por un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 10 kilodaltons hasta aproximadamente 50 kilodaltons y un índice de polidispersidad de aproximadamente 1.4 a aproximadamente 2.0, y porque se ha separado del mismo una fracción de copolímero caracterizada por un peso molecular promedio ponderado de aproximadamente 4 kDa hasta aproximadamente 10 kDa y un índice de polidispersidad de aproximadamente 1.4 hasta aproximadamente 2.5. Tal como se divulga en la U.S. Ser. No. 60/901,435 por los inventores de la presente, este material de copolímero de bajo estallido de PLG puede prepararse disolviendo un material inicial de copolímero de PLG que no es un producto de hidrólisis de un material copolimérico de PLG de peso molecular más alto, en un solvente, luego precipitando el material copolimérico de bajo estallido con un no solvente. Un copolímero de PLG(p) puede ser un componente de un copolímero de liberación constante, tal como se divulga y se reivindica en la presente.

Un "peso molecular", tal como se utiliza el término en la presente con respecto a polímeros, se refiere a un peso molecular promedio ponderado tal como se conoce bien en la técnica, cuando la referencia es a una composición compuesta de moléculas individuales que tienen un intervalo de pesos moleculares, tal como en el caso de residuos de PEG, ésteres de PEG, y polímeros biodegradables que incluyen copolímeros de PLG. Al referirse a una composición homogénea, tal como una especie molecular individual, el peso molecular se refiere al peso molecular exacto de la especie en cuestión.

#### Descripción detallada

La invención proporciona una formulación de liberación controlada, adaptada para liberar un agente bioactivo tal como una proteína o un compuesto medicinal de molécula pequeña durante un período de tiempo dentro de los tejidos corporales de un paciente que lo necesita. La formulación contiene un polímero biodegradable, un solvente orgánico que es al menos ligeramente soluble en fluidos corporales y un complejo de inclusión deshidratado del agente bioactivo dentro de un hidrogel. El polímero biodegradable puede formarse de un poliéster biodegradable tal como un copolímero de PLG biodegradable. El hidrogel puede formarse de diacrilato de polialquilenglicolilo polimerizado o de un diacrilato de polialquilenglicolilo y un monoacrilato de polialquilenglicolilo copolimerizados (ambos se denominan en la presente poliácridatos de polialquilenglicolilo). De manera alternativa, el hidrogel puede comprender nanopartículas de ácido hialurónico, quitosán, agarosa, acetato polivinílico, polivinilpirrolidona o alcohol polivinílico.

En diversas modalidades, el agente bioactivo es una sustancia macromolecular, tal como una proteína, por ejemplo un anticuerpo monoclonal, o un ácido nucleico, por ejemplo un ARN pequeño de interferencia. Un ejemplo de un agente bioactivo macromolecular es insulina. Otro ejemplo es hormona de crecimiento humano. Otro ejemplo es un anticuerpo monoclonal anticanceroso tal como cetuximab (Erbatux®), o bevacizumab (Avastin®). Se cree que mediante la formación de un complejo de inclusión del agente bioactivo tal como una proteína dentro de la matriz de un hidrogel, tal como poliácridato de polialquilenglicolilo, la proteína se estabiliza y se minimizan la agregación y la desnaturalización. Por lo tanto, mediante la formación del complejo de inclusión de la invención, la proteína se mantiene más efectivamente en su configuración nativa durante el proceso de formación, almacenamiento y administración de la formulación de liberación controlada que contiene la proteína. La agregación de proteínas puede no solamente causar pérdida de bioactividad deseada, sino que también puede causar que el sistema inmune de un paciente aumente una respuesta que puede dar lugar a respuestas anafilácticas indeseadas después de administrar la proteína al paciente. Esto también puede ser cierto para materiales de ácido nucleico macromolecular, tal como pequeños ácidos ribonucleicos de interferencia (siRNAs).

La red polimérica multidimensional del hidrogel, por ejemplo la red formada mediante el proceso de polimerización/copolimerización del diacrilato y, opcionalmente de monoacrilato, de polialquilenglicolilo sirve para proporcionar un ambiente molecular en el cual las moléculas de proteína se mantienen separadas unas de otras y donde las moléculas de proteína no se adhieren fuertemente a las moléculas de polímero que la circundan en la matriz. Se entiende que la proteína no está enlazada de modo covalente a esta matriz; por lo tanto, puede no requerirse la degradación de la matriz para liberar la proteína una vez se rehidrata en el cuerpo la matriz que contiene la proteína. No se necesita disociar el enlace covalente entre la proteína y la matriz de poliácridato de polialquilenglicolilo para liberar la proteína. Ciertamente, sin inclusión del complejo a la formulación que proporciona una liberación sostenida, se cree que en general, una vez hidratada, la proteína se liberaría del complejo de inclusión más rápido que lo deseado para una liberación sostenida.

A fin de sostener o prolongar la liberación del agente bioactivo, por ejemplo la proteína, durante períodos de tiempo útiles desde el punto de vista médico, tales como semanas o meses, el complejo de inclusión del agente en la matriz polimérica multidimensional se encuentra contenida dentro de una masa de un segundo tipo de polímero adaptado para proporcionar una liberación controlada. El segundo tipo de polímero puede ser un polímero biodegradable, un poliéster biodegradable o un copolímero de poli (lactida-glicólido) biodegradable, tal como se ha descrito previamente. En algunas modalidades, estos enlaces del éster de copolímero se someten a hidrólisis dentro de los tejidos corporales de un paciente por medio de la acción de enzimas y fluidos corporales de modo que la biodegradación provoca una liberación lenta de lactato y de glicolato hacia los fluidos corporales y da lugar a erosión del copolímero de PLG. Esta erosión da lugar a una liberación del complejo de inclusión deshidratado del agente dentro del hidrogel, por ejemplo la



matriz de poliacrilato de polialquilenglicolilo; de dicha matriz el agente se libera de manera relativamente rápida hacia los fluidos corporales. La biodegradación del poliacrilato puede ocurrir durante y después de la liberación de la proteína pero en la medida que la proteína no esté enlazada con hidrógeno de manera fuerte por la matriz y no esté enlazada de modo covalente a la matriz, la biodegradación del poliacrilato no tiene que ocurrir para que tenga lugar la liberación de proteína.

La formulación de la invención contiene además un solvente orgánico que es al menos muy ligeramente soluble en fluidos corporales; es decir, los fluidos corporales, que son acuosos pero que también incluyen otros componentes, con el tiempo pueden retirar moléculas del solvente orgánico desde el sitio de implante del depósito. El solvente orgánico puede ser preferiblemente completamente soluble en los fluidos corporales; por ejemplo, puede ser N-metilpirrolidona. El solvente orgánico disuelve el polímero biodegradable de la formulación y sirve para dispersar el complejo de inclusión de la sustancia macromolecular dentro de la matriz de poliacrilato. Preferiblemente, el complejo de inclusión no se disuelve o no se hincha en el solvente orgánico ya que esto podría dar lugar a una liberación prematura de la proteína o de otra macromolécula desde la matriz, lo cual causaría desnaturalización o agregación. Ejemplos de solventes orgánicos que pueden usarse incluyen N-metilpirrolidona, dimetilacetamida, dimetilformamida, dimetilsulfóxido o un polietilenglicol.

La formulación de liberación controlada según la invención incluye el complejo de inclusión deshidratado del agente bioactivo en la matriz de poliacrilato, el polímero biodegradable tal como un copolímero de PLG, y el solvente orgánico. La invención proporciona un método para preparar esta formulación de liberación controlada primero polimerizando el diacrilato de polialquilenglicolilo o copolimerizando el diacrilato de polialquilenglicolilo y el monoacrilato de polialquilenglicolilo en un primer medio acuoso para proporcionar un hidrogel, opcionalmente deshidratando el hidrogel, luego poniendo en contacto el material de hidrogel con el agente bioactivo en un segundo medio acuoso para formar un complejo de inclusión hidratado, luego deshidratando el complejo de inclusión hidratado para proporcionar un complejo de inclusión deshidratado y finalmente dispersando el complejo de inclusión deshidratado en una solución del polímero biodegradable en el solvente orgánico.

La polimerización del diacrilato de polialquilenglicolilo o la copolimerización del diacrilato de polialquilenglicolilo y el monoacrilato de polialquilenglicolilo en el primer medio acuoso para proporcionar un hidrogel pueden tener lugar utilizando un intervalo de concentraciones del monómero de diacrilato de PEG y, opcionalmente, el monómero de monoacrilato de PEG. La concentración puede ser tan baja como aproximadamente 5% en peso en el medio acuoso, o puede ser de hasta aproximadamente 50% en peso en el medio acuoso. Aunque los monómeros de diacrilato de PEG y el monoacrilato de PEG tienen un alto grado de hidrosolubilidad, en la reacción de polimerización pueden estar presentes cosolventes; por ejemplo, puede utilizarse etanol.

El peso molecular, es decir el peso molecular promedio ponderado, del diacrilato de polialquilenglicolilo utilizado en la formación del hidrogel puede variar dependiendo del peso molecular del agente bioactivo que debe estar contenido dentro del complejo de inclusión deshidratado. En términos generales, cuanto mayor es el peso molecular del agente bioactivo, mayor es el peso molecular del monómero que forma el hidrogel, es decir del monómero de diacrilato de PEG, que puede polimerizarse preferiblemente en una matriz adecuada para el agente bioactivo. Por ejemplo, para un péptido de peso molecular alrededor de 1000, puede utilizarse un monómero de diacrilato de PEG con un peso molecular de aproximadamente 700 Da. Si el monómero de diacrilato de PEG es un dimetacrilato de PEG, el peso molecular de los dos residuos metacrilato constituyen aproximadamente 140 Da, de modo que el peso molecular del residuo del constituyente de PEG es de aproximadamente 550.

La polimerización o copolimerización del diacrilato de PEG o del diacrilato más el monoacrilato, denominadas en la presente la "reacción de polimerización", pueden llevarse a cabo mediante cualquier medio adecuado conocido en la técnica, pero preferiblemente la reacción de polimerización es iniciada mediante el uso de luz ultravioleta (UV). Preferiblemente se incluye un iniciador adaptado para activación mediante luz ultravioleta a una concentración apropiada en el medio acuoso, por ejemplo a una concentración de aproximadamente 0.1% en peso. Un ejemplo de un iniciador adecuado para utilizar es 1-[4-(2-hidroxietoxi)-fenil]-2-hidroxi-2-metil-1-propan-1-ona (Irgacure 2959). La iluminación de la solución acuosa de los monómeros y preferiblemente del iniciador, por ejemplo con una luz ultravioleta de una longitud de onda de aproximadamente 365 nm, da lugar a la polimerización de los monómeros diacrilato de PEG y a la formación de un hidrogel. El hidrogel es un material de textura semisólida, que ha experimentado la transición de sol a gel a través de la formación de la matriz multidimensional que contiene el medio acuoso. La iluminación ultravioleta de la solución de monómero puede tener lugar cuando la solución se encuentra en una configuración física apropiada tal como una capa relativamente delgada, lo que permite una penetración uniforme de la luz. Por ejemplo, la solución puede colocarse en una bandeja a una profundidad relativamente delgada, tal como aproximadamente 1-10 mm, y luego se ilumina con una fuente de luz ultravioleta de intensidad apropiada. Preferiblemente se hacen los pasos para evitar contaminación tal como crecimiento bacteriano, por medio del uso de técnicas adecuadas de esterilización.

Se entiende que una persona de habilidad ordinaria en la técnica puede seleccionar un iniciador activado por luz ultravioleta y una longitud de onda de iluminación adecuada para dar un grado deseado de polimerización sin experimentación indebida. También está dentro de la habilidad del profesional medio seleccionar una concentración de monómero y una concentración de iniciador para dar productos polimerizados de los pesos moleculares deseados, lo

cual depende del grado de polimerización de los residuos acrilato. Concentraciones de iniciador más altas tenderán a producir productos de peso molecular promedio más bajo. Otras técnicas serán evidentes para una persona de habilidad en el arte.

5 Una vez la reacción de polimerización ha procedido al grado deseado, el hidrogel puede secarse. El secado o la deshidratación de la matriz de poliacrilato de polialquilenglicolilo pueden llevarse a cabo mediante cualquier método adecuado. Por ejemplo, la deshidratación puede tener lugar usando secado al vacío, tal como a temperatura ambiente, o usando liofilización, es decir secando a bajas temperaturas en cuyo caso el agua se encuentra en estado sólido a un vacío alto. Una vez se seca la matriz, puede usarse sin más procesamiento o puede triturarse hasta polvo antes de proceder al siguiente paso.

10 De modo alternativo pueden formarse micropartículas directamente usando una polimerización en suspensión con base en métodos de Ascentiis, et al (Journal of Controlled Release, 33 (1995) 197-201). Esta síntesis utiliza el iniciador térmico azobisisobutironitrilo (AIBN). Pueden formarse micropartículas usando el sistema de dimetacrilato de polietilenglicolilo/metacrilato de hidroxietilo copolimerizados.

15 En otra modalidad puede utilizarse el hidrogel directamente en el siguiente paso de infusión del agente bioactivo sin mas procesamiento.

20 El agente bioactivo, tal como la proteína terapéutica, se disuelve en un segundo medio acuoso antes de su infusión hacia la matriz, o de modo alternativo puede adicionarse en forma sólida a una suspensión hidratada del hidrogel. El agente bioactivo puede disolverse en agua pura o en salmuera con pH regulado, o en otro medio acuoso que soporte la configuración nativa del agente bioactivo, o puede adicionarse un cosolvente tal como etanol si es necesario para preparar la solución. La concentración del agente bioactivo puede variar dependiendo de la identidad y de las propiedades moleculares del agente y la dosificación contemplada para liberarse por parte de la formulación de liberación controlada de la invención. El medio acuoso puede contener además estabilizantes, surfactantes y otros ingredientes según se necesiten, pero se entiende que cualquier ingrediente que no se pierda por evaporación en el siguiente paso de secado estará presente en la formulación de liberación controlada cuando ésta se emplace dentro de los tejidos corporales del paciente.

30 Luego, la matriz se empapa en la solución acuosa del agente bioactivo por un período adecuado de modo que la matriz absorba el agente para formar un hidrogel que incorpore al agente bioactivo. La matriz, particularmente si se encuentra al menos parcialmente deshidratada, absorbe la solución del agente, por ejemplo la solución de proteína, preferiblemente hasta que se alcance un equilibrio y el hidrogel se sature con la solución. El paso de empapar la matriz puede tener lugar en condiciones adecuadas cualesquiera, por ejemplo a temperatura ambiente durante una noche. Nuevamente, de preferencia se hacen los pasos para evitar contaminación tal como crecimiento bacteriano, mediante el uso de técnicas adecuadas de esterilización. La proteína puede mantenerse en su estado nativo durante el proceso mediante el uso de adecuados reguladores de pH, antioxidantes, estabilizantes y similares.

35 Una vez el hidrogel ha alcanzado la saturación con la solución del agente bioactivo, el hidrogel se separa de cualquier sobrenadante remanente, por ejemplo mediante decantación, filtración, centrifugación o cualquier otra técnica adecuada. El hidrogel que contiene al agente bioactivo, es decir al complejo de inclusión hidratado, se seca luego para formar el complejo de inclusión deshidratado del agente bioactivo dentro de la matriz de poliacrilato de polialquilenglicolilo. El secado puede tener lugar mediante cualquier método adecuado que se conozca en la técnica. Preferiblemente, si el agente bioactivo es un material termosensible, tal como una proteína, se evitan altas temperaturas durante el secado. El secado puede tener lugar al vacío a temperaturas ambientes y por debajo de las mismas. Puede utilizarse liofilización. Una vez se complete el secado, el material sólido puede molerse o triturarse para obtener una forma de partículas finas. De modo alternativo, si se han formado micropartículas en un paso previo, las micropartículas que contienen la solución acuosa del agente bioactivo pueden secarse mediante cualquier método adecuado, por ejemplo al vacío, para proporcionar un complejo de inclusión deshidratado en forma de micropartículas según la invención.

45 El complejo de inclusión deshidratado puede almacenarse en condiciones adecuadas, por ejemplo a bajas temperaturas en una atmósfera inerte, tal como a -80°C en nitrógeno o argón, hasta que esté contemplado el uso. En una modalidad, el complejo de inclusión deshidratado en una cantidad adecuada puede disponerse dentro de una jeringa. Una cantidad adecuada puede ser la cantidad que se administraría a un solo paciente en una dosificación indicada desde el punto de vista médico para tratamiento de una condición mórbida.

55 El mezclado del complejo de inclusión deshidratado con una solución del polímero biodegradable puede llevarse a cabo tal como para cualquier compuesto bioactivo, para lo cual se proporcionan procedimientos en las patentes estadounidenses números 6,565,874, 6,528,080, 6,461,631, 6,395,293, y en las referencias encontradas en las mismas, las cuales se incorporan a la presente por referencia. En determinadas modalidades, una solución de un copolímero de PLG con peso molecular promedio ponderado en el intervalo de aproximadamente 15-50 kDa constituye aproximadamente 40-50% en peso en el solvente orgánico. N-metilpirrolidona es un ejemplo de un solvente orgánico que disuelve fácilmente el copolímero de PLG y a continuación lo dispersa dentro de los tejidos corporales del paciente después del emplazamiento de un depósito de la formulación de liberación controlada.

El complejo de inclusión deshidratado puede mezclarse con una solución del polímero biodegradable en el solvente orgánico por cualquier medio adecuado. Por ejemplo, una solución del polímero biodegradable puede estar dispuesta en un primer contenedor y el complejo de inclusión deshidratado en un segundo contenedor, y los contenidos de los dos contenedores pueden mezclarse cuando se necesite para proporcionar la formulación de liberación controlada según la invención. Los contenidos de los dos contenedores pueden mezclarse inmediatamente antes de emplazar la formulación de liberación controlada de la invención dentro de los tejidos corporales de un paciente que la necesite. Por ejemplo, el primer contenedor, el segundo contenedor, o ambos, pueden comprender jeringas respectivas. La solución de polímero biodegradable puede estar dispuesta dentro de una primera jeringa, y complejo de inclusión deshidratado dentro de una segunda jeringa, y las dos jeringas se acoplan, por ejemplo utilizando un conector de Luer. Los contenidos de las jeringas pueden combinarse luego transfiriendo la solución de la primera jeringa a la segunda jeringa, luego recíprocamente transfiriendo los contenidos entre las dos jeringas. Luego la mezcla puede inyectarse a un paciente que la necesite en forma de un bolo, el cual forma un depósito de la formulación de liberación controlada in situ por medio de la difusión del solvente orgánico a los fluidos corporales y el flujo de entrada de los fluidos corporales hacia el bolo.

La invención, en otra modalidad, proporciona un kit para administración a un paciente de la formulación de liberación controlada de la invención. El kit puede comprender al primer contenedor, al segundo contenedor y a materiales de instrucción útiles para un cuidador. El primero y el segundo contenedor contienen respectivamente la solución de polímero biodegradable y el complejo de inclusión deshidratado, empacados de una manera que preserven la esterilidad y maximicen estabilidad de los componentes. Por ejemplo, como ya se mencionó anteriormente, los dos contenedores pueden ser cada uno una jeringa con accesorios adecuados para contener y mezclar los componentes para proporcionar la formulación de liberación controlada lista para inyección a los tejidos corporales del paciente.

La invención proporciona un método de tratamiento de una condición mórbida que comprende administrar la formulación de liberación controlada de la invención que comprende un agente bioactivo que está médicamente indicado para tratamiento, prevención o paliación de la condición mórbida a un paciente que lo necesita a un nivel de dosificación y por una duración efectiva para tratar, prevenir o paliar la condición mórbida. La formulación de la invención se adapta para uso de un agente bioactivo macromolecular, tal como se discutió previamente. También puede usarse efectivamente con medicamentos de molécula pequeña, tal como péptidos o moléculas orgánicas de peso molecular de menos de aproximadamente 1,000 Da.

Las concentraciones, cantidades, porcentajes, períodos de tiempo, etcétera de diversos componentes o el uso o efectos de diversos componentes de esta invención, incluyendo pero sin limitarse a los implantes, indicaciones de reducción en síntomas de condición mórbida y períodos de tiempo de tratamiento, con frecuencia se presentan en un formato de intervalo o umbral de línea base a lo largo de todo este documento de patente. La descripción en formato de intervalo o umbral de línea base es solamente para conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible al alcance de la invención. Por consiguiente, la descripción de un intervalo o de un umbral de línea base debe considerarse que ha divulgado específicamente todos los sub-intervalos así como también los valores numéricos individuales dentro del intervalo o por encima del umbral de línea base. Por ejemplo, la descripción del peso molecular del residuo polietilenglicol que se encuentra en un intervalo entre aproximadamente 500 Da y aproximadamente 10,000 Da debe considerarse que ha divulgado específicamente sub-intervalos, tales como entre aproximadamente 750 Da y aproximadamente 2,000 Da, entre aproximadamente en 1000 Da y aproximadamente 1500 Da, etc., así como también números individuales dentro de sí intervalo, tal como aproximadamente 700 Da, aproximadamente 2500 Da, aproximadamente 5000 Da, etc. Esta interpretación aplica independientemente de la amplitud del intervalo o del umbral de línea base y en todos los contextos a lo largo de toda esta divulgación.

#### Ejemplo

##### Formación de un complejo de inclusión de proteína

Una solución de monómero de metacrilato de PEG entre 5 y 50% en agua con aproximadamente 0.1% en peso de 1-[-4-(2-hidroxietoxi)-fenil]-2-hidroxi-2-metil-1-propan-1-ona (Irgacure 2959) se vuelve una lámina delgada de aproximadamente 1 mm de espesor e irradiada con aproximadamente 20 mW/cm<sup>2</sup> de luz ultravioleta de 365 nm durante aproximadamente 10 minutos. Luego, el hidrogel se sumerge en agua durante varios días para ayudar a retirar el monómero no reaccionado. Los geles se secan al vacío a temperatura ambiente, se muelen para obtener un polvo a temperaturas criogénicas. El polvo resultante se empapa luego en una solución acuosa de la proteína, luego se filtra, se enjuaga, se seca al vacío a temperatura ambiente y luego se liofiliza por una noche.

## Reivindicaciones

- 5 1. Una formulación de liberación controlada adaptada para liberar un agente bioactivo en tejido corporal la formulación comprende un polímero biodegradable, en cuyo caso el polímero biodegradable es un poliéster biodegradable; un solvente orgánico que es al menos ligeramente soluble en fluidos corporales; y un complejo de inclusión deshidratado del agente bioactivo dentro de un hidrogel, en cuyo caso el hidrogel comprende un diacrilato de polialquilenglicolilo polimerizado o un diacrilato de polialquilenglicolilo y monoacrilato de polialquilenglicolilo copolimerizados.
2. La formulación de la reivindicación 1 en la cual el diacrilato de polialquilenglicolilo comprende un dimetacrilato de polialquilenglicolilo, preferiblemente un dimetacrilato de polietilenglicolilo.
- 10 3. La formulación de la reivindicación 1 en la cual el poliéster biodegradable es un copolímero de PLG biodegradable; y/o en la cual el solvente orgánico es N-metilpirrolidona, dimetilacetamida, dimetilformamida, dimetilsulfóxido o un polietilenglicol.
- 15 4. La formulación de la reivindicación 1 en la cual el diacrilato de polialquilenglicolilo tiene un peso molecular de aproximadamente 500 Da hasta aproximadamente 10,000 Da; o en cuyo caso el hidrogel comprende nanopartículas de ácido hialurónico, quitosán, agarosa, acetato polivinílico o polivinilpirrolidona, o alcohol polivinílico.
5. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en la cual el agente bioactivo comprende una sustancia macromolecular, preferiblemente una proteína o un ácido nucleico, o un anticuerpo monoclonal.
- 20 6. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1-5 en la cual el complejo de inclusión deshidratado se encuentra en la forma física de un sólido en forma de partículas, preferiblemente en la forma física de una pluralidad de micropartículas o nanopartículas.
7. La formulación de la reivindicación 1 en la cual el monoacrilato de polialquilenglicolilo comprende metacrilato de hidroxietilo y/o en la cual el diacrilato de polialquilenglicolilo comprende dimetacrilato de polietilenglicolilo.
8. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en la cual el complejo de inclusión deshidratado no se hincha sustancialmente en el solvente orgánico.
- 25 9. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1-8 en la cual el polímero biodegradable es un polímero de bajo estallido, preferiblemente en la cual el polímero de bajo estallido es un copolímero de PLG, más preferiblemente en la cual el copolímero de PLG es un copolímero de PLG(p).
- 30 10. Un método para preparar la formulación de liberación controlada de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, el cual comprende:  
primero, formar un complejo de inclusión hidratado de un agente bioactivo en un hidrogel mediante contacto del agente bioactivo y el hidrogel en un medio acuoso; luego,  
deshidratar el complejo de inclusión hidratado para proporcionar un complejo de inclusión deshidratado; preferiblemente mediante liofilización; luego,  
dispersar el complejo de inclusión deshidratado en una solución del polímero biodegradable en el solvente orgánico;
- 35 en cuyo caso el agente bioactivo es preferiblemente una sustancia macromolecular, más preferiblemente una proteína o un ácido nucleico; en tal caso, el polímero biodegradable es un poliéster biodegradable, preferiblemente un copolímero de PLG biodegradable; y el solvente orgánico es preferiblemente N-metilpirrolidona, dimetilacetamida, dimetilformamida, dimetilsulfóxido o un polietilenglicol.
- 40 11. El método de la reivindicación 10 que comprende además, antes de formar el complejo de inclusión hidratado del agente bioactivo en el hidrogel por contacto del agente bioactivo y el hidrogel en un medio acuoso, un paso de deshidratación, luego de rehidratación del hidrogel en el medio acuoso.
- 45 12. El método de la reivindicación 10 que comprende, antes de formar el complejo de inclusión hidratado del agente bioactivo en el hidrogel, polimerizar un diacrilato de polialquilenglicolilo o copolimerizar un diacrilato de polialquilenglicolilo y un monoacrilato de polialquilenglicolilo en el medio acuoso para proporcionar el hidrogel; que preferiblemente comprende polimerizar un dimetacrilato de polietilenglicolilo o copolimerizar un dimetacrilato de polietilenglicolilo y metacrilato de hidroxietilo en un medio acuoso para proporcionar el hidrogel; opcionalmente, en el cual la polimerización de dimetacrilato de polietilenglicolilo o la copolimerización de dimetacrilato de polietilenglicolilo y el metacrilato de hidroxietilo en un medio acuoso se inicia mediante luz ultravioleta.

13. El método de la reivindicación 12 en el cual la polimerización se inicia mediante luz ultravioleta, en cuyo caso el medio acuoso comprende además un material iniciador, preferiblemente el material iniciador comprende 1-[-4-(2-hidroxietoxi)-fenil]-2-hidroxi-2-metil-1-propan-1-ona (Irgacure 2959).
- 5 14. Kit adaptado para llevar a cabo el método de preparación de cualquiera de las reivindicaciones 10-13 o para preparar la formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende un primer contenedor y un segundo contenedor y materiales de instrucción; el primer contenedor comprende una solución de un copolímero de PLG en un solvente orgánico; el segundo contenedor comprende un complejo de inclusión deshidratado de un agente bioactivo y el material de instrucciones proporciona información útil para un cuidador que administra el agente bioactivo a un paciente que lo necesita.
- 10 15. La formulación de liberación controlada de la reivindicación 1, o preparada mediante el método de la reivindicación 10, para utilización como un medicamento.