

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 595 381**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

C08G 63/08 (2006.01)

C08G 63/66 (2006.01)

C08G 63/664 (2006.01)

C08G 63/91 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.01.2011 PCT/EP2011/000041**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2011 WO11083086**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.01.2011 E 11700504 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.07.2016 EP 2521534**

54 Título: **Copolímeros de tres bloques funcionalizados y composiciones que contienen dichos polímeros**

30 Prioridad:

08.01.2010 EP 10000129

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

29.12.2016

73 Titular/es:

**INGELL TECHNOLOGIES HOLDING B.V. (100.0%)
Kadijk 7D
9747 AT Groningen, NL**

72 Inventor/es:

**PIERRE, SEBASTIEN JEROME y
DE LEEUW, MIKE**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 595 381 T3

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

DESCRIPCIÓN

Copolímeros de tres bloques funcionalizados y composiciones que contienen dichos polímeros

5 La presente invención se refiere a copolímeros de tres bloques anfífilos, a composiciones que comprenden los copolímeros y a, al menos, un agente terapéuticamente activo, así como a implantes que comprenden los copolímeros.

10 La liberación controlada de agentes terapéuticamente activos se ha vuelto esencial en los tratamientos de los seres humanos y animales.

15 Por esta razón, en los últimos años, se ha desarrollado una serie de polímeros fabricados en dispositivos como microesferas, microcápsulas, liposomas, cadenas y similares. El agente activo se incorpora en el interior de los dispositivos y, tras la administración al cuerpo humano o animal, se libera lentamente mediante diferentes mecanismos. Las patentes de EE.UU. n.º 4.079.038, 4.093.709, 4.131.648, 4.138.344, 4.180.646, 4.304.767, 4.946.931 y 5.9689.543 desvelan diversos tipos de polímeros que se pueden usar para la administración controlada de agentes activos. La fabricación de dichos dispositivos es, en muchos casos, incómoda, cara y también puede sufrir de irreproducibilidad en la cinética de liberación. Además, en la mayoría de los casos, se usa un disolvente orgánico, lo que puede tener efectos adversos para el agente terapéutico y también puede dejar disolvente residual en el dispositivo, que, en muchos casos, es altamente tóxico. Además, la administración de la solución o dispersión que contiene los dispositivos no es agradable para el paciente, debido a la alta viscosidad de dichas soluciones o dispersiones. Es más, en general, dichos dispositivos no son útiles para la administración de proteínas, que normalmente sufren una pérdida de actividad durante su incorporación al polímero sólido.

25 Se encontró una mejora importante en el uso de copolímeros anfífilos, especialmente de copolímeros de tres bloques BAB con poli(etilenglicol) como el bloque hidrófilo central A y los bloques hidrófobos terminales B, con grupos terminales hidroxilo poliméricos modificados con derivados de ácido graso. Dichos copolímeros pueden formar micelas o geles termorreversibles en soluciones acuosas que pueden contener al menos un agente terapéuticamente activo.

30 Las micelas del copolímero anfífilo tienen una serie de atributos útiles. Por ejemplo, cuando se usan micelas que tienen el tamaño correcto, que normalmente es inferior a 40 nm, no se extravasarán en la vasculatura normal, pero son capaces de extravasarse en un tumor que tenga una vasculatura permeable. Debido a esto, es posible lograr una alta concentración de agentes antineoplásicos en el tumor, sin incurrir en una excesiva toxicidad en los tejidos normales.

35 Además de la utilidad como micelas en la dirección a tumores, las micelas también encuentran importantes aplicaciones en la solubilización de fármacos altamente insolubles en agua, ya que estos fármacos se pueden incorporar al núcleo hidrófobo de la micela.

40 El uso de micelas en la dirección a tumores y la solubilización de fármacos altamente insolubles en agua ha sido ampliamente descrito por V. P. Torchilin, "Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems", *J. Controlled Release* 73 (2001) 137-172, y por V. P. Torchilin, "Polymeric Immunomicelles: Carriers of choice for targeted delivery of water-insoluble pharmaceuticals", *Drug Delivery Technology*, 4 (2004) 30-39.

45 Las micelas a base de poli(etilenglicol) y poli(D,L-ácido láctico) han sido investigadas por J. Lee, "Incorporation and release behavior of hydrophobic drug in functionalized poly(D,L-lactide)-block poly(ethylene oxide) micelles" *J. Controlled Release*, 94 (2004) 323-335. Las micelas a base de poli(etilenglicol) y poli(β -bencil-L-aspartato) han sido investigadas por Kataoka, G. Kwon, "Block copolymer micelles for drug delivery: loading and release of doxorubicin" *J. Controlled Release*, 48 (1997) 195-201. Las micelas a base de poli(etilenglicol) y poli(orto-éster) han sido descritas por Toncheva *et. al.*, "Use of block copolymers of poly(ortho esters) and poly(ethylene glycol) micellar carriers as potential tumor targeting systems", *J. Drug Targeting*, 11 (2003) 345-353.

50 Yu L *et al.* describen transiciones sol-gel de copolímeros de tres bloques ABA en "Journal of Polymer science, part A: Polymer Chemistry" vol 45. n.º 6, 2007-03-15 páginas 1122-1133.

55 El documento US 2007/014848 describe poliésteres reabsorbibles e implantes médicos fabricados con los mismos.

60 El documento EP0558965 describe recubrimientos de fricción reducida para artículos en contacto con tejidos humanos o animales.

65 También es posible para los copolímeros anfífilos de la invención formar un denominado gel termorreversible en una solución acuosa. Dicha solución de copolímero tiene la propiedad peculiar de que, a temperatura ambiente, es hidrosoluble y que, a la temperatura corporal de 37 °C, se vuelve no hidrosoluble y forma un gel.

La composición que contiene el copolímero y el agente terapéuticamente activo se puede administrar a temperatura ambiente como una solución acuosa de baja viscosidad, usando una aguja de pequeño calibre, reduciéndose así al mínimo las molestias para el paciente. Una vez a la temperatura corporal, la composición formará un gel bien definido que se localizará en el lugar deseado dentro del organismo. Además, dichos materiales también son especialmente adecuados para su uso con una proteína como el agente terapéuticamente activo, ya que la proteína se disuelve simplemente en la misma solución que contiene el copolímero anfifílico y la solución se inyecta sin afectar a las propiedades de la proteína.

El agente terapéuticamente activo se libera lentamente por difusión, o por una combinación de difusión y erosión, de las micelas o los termogeles fabricados con copolímeros anfifílicos. En última instancia, el copolímero anfifílico tiene que deshacerse en pequeños fragmentos que se puedan metabolizar o eliminar desde el organismo.

Los termogeles se han investigado ampliamente. El polímero de termogelificación más ampliamente investigado es la poli(*N*-isopropil-acrilamida). Este polímero es hidrosoluble a menos de 32 °C y precipita bruscamente cuando la temperatura se eleva por encima de 32 °C. Esta temperatura se conoce como la temperatura crítica inferior de disolución o LCST. Por lo tanto, dicho polímero se podría inyectar a temperatura ambiente como una solución de baja viscosidad usando una aguja de pequeño calibre, y una vez en los tejidos, se precipitaría, formando un depósito bien definido. Sin embargo, estos polímeros son no degradables. Dichos polímeros han sido ampliamente descritos por Hoffman en L. C. Dong *et. al.*, "Thermally reversible hydrogels: III. Immobilization of enzymes for feedback reaction control", *J. Controlled Release*, 4 (1986) 223-227.

Los termogeles en los que se usan copolímeros de poli(lactida-co-glicolida) como el segmento hidrófobo y poli(etilenglicol) como el segmento hidrófilo se han investigado ampliamente, y se describen en una serie de patentes y publicaciones: patentes de EE.UU. n.º 5.702.717, 6.004.573, 6.117.949, 6.201.072 B1. G. Zentner, *J. Controlled Release*, 72 (2001) 203-215.

En el documento US 2007/0265356, se han descrito termogeles en los que se usan copolímeros de poli(L-lactida-co- ϵ -caprolactona) como el segmento hidrófobo y poli(etilenglicol) como el segmento hidrófilo. Dicha patente describe la modificación de grupos terminales con hidrocarburos alifáticos, en particular, con hidrocarburos alifáticos C₃-C₁₈.

En un artículo publicado en *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, pág. 2232-2235, "A Subtle End-Group Effect on Macroscopic Physical Gelation of Triblock Copolymer Aqueous Solutions", se describen copolímeros de bloques BAB que tienen los bloques de PLGA/PEG/PLGA. El PEG (es decir, bloque A de polietilenglicol) se ve como el bloque hidrófilo, el PLGA (es decir, bloque B de poli(ácido láctico-co-ácido glicólico)) es el bloque hidrófobo. El artículo muestra que los grupos terminales del bloque BAB son importantes. Si el grupo terminal es un átomo de hidrógeno, se prepara un sistema soluble. Si los grupos terminales son acetato o propionato, se puede preparar un gel termorreversible (gel que existe a temperatura ambiente, es decir, a 25 °C). Si los grupos terminales son butirato, el copolímero de bloques modificado precipita en una región de 0 °C a 50 °C. El grado de esterificación (es decir, de protección terminal en el contexto del artículo mencionado) fue superior al 90 % para todos los derivados.

Una desventaja de los copolímeros de tres bloques conocidos en la técnica anterior es que es difícil obtener un equilibrio óptimo entre la hidrofiliidad y la hidrofobicidad del polímero, manteniendo a la vez al menos la biodegradabilidad. Por lo tanto, es difícil obtener polímeros con una buena hidrosolubilidad y con la capacidad de retener los agentes terapéuticamente activos (hidrófobos).

Otra desventaja de los copolímeros de tres bloques conocidos en la técnica anterior es que los termogeles formados a la temperatura corporal solo son capaces de liberar agentes terapéuticamente activos durante unos cuantos días, a excepción de los fármacos muy hidrófobos como el paclitaxel, debido a la difusión muy rápida del fármaco fuera de la masa de gel.

Otra desventaja de los copolímeros de tres bloques conocidos en la técnica anterior es que la biodegradabilidad es bien muy rápida (del orden de los días) o muy lenta (del orden de los meses). Esto hace que estos copolímeros sean menos adecuados para las aplicaciones de liberación controlada de fármacos destinadas a un tratamiento del orden de una semana o unas cuantas semanas, especialmente cuando la liberación controlada está determinada en gran parte por la degradación (erosión) del gel en lugar de la difusión del medicamento fuera del gel (como puede ser el caso de los fármacos muy hidrófobos).

Es un objeto de la presente invención proporcionar copolímeros de tres bloques que ofrezcan una variedad de condiciones que amplíen el alcance de los agentes terapéuticamente activos que se pueden administrar de una manera controlada y que sean copolímeros que permitan ajustar el tiempo necesario para degradarse en el organismo humano o animal. También es un objeto de la presente invención proporcionar copolímeros de tres bloques que sean biodegradables.

Dicho objeto se consigue proporcionando un copolímero de tres bloques anfifílico B-A-B, en el que A es un bloque de poli(etilenglicol) lineal que tiene un peso molecular medio en número (PM_n) de entre 500 y 3.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión por tamaño; en el que B son bloques hidrófobos que comprenden al menos dos

monómeros cíclicos, teniendo cada bloque B un peso molecular medio en número (PM_n) de entre 400 y 3.000 Da, determinado por cromatografía de exclusión por tamaño; y en el que del 25 % al 100 % de los grupos terminales hidroxilo del polímero están modificados covalentemente con al menos un derivado de un ácido graso C_2-C_{20} y en el que el bloque B comprende:

- 5
- a. combinaciones de monómeros que comprenden glicolida y un monómero del grupo de 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona; o
 - b. combinaciones de monómeros que comprenden lactida y un monómero del grupo de 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona; o
 - 10 c. combinaciones de monómeros que comprenden 1,3-dioxan-2-ona y un monómero del grupo de 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona; o
 - d. combinaciones de monómeros que comprenden ϵ -caprolactona y un monómero del grupo de 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona.

15 En una realización, la invención se refiere a un copolímero de tres bloques anfífilico B-A-B, en el que A es un bloque de poli(etilenglicol) lineal que tiene un peso molecular medio en número (PM_n) de entre 900 y 3.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión por tamaño; en el que B son bloques hidrófobos que comprenden al menos dos monómeros cíclicos seleccionados del grupo que consiste en glicolida, lactida, ϵ -caprolactona, 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona, teniendo cada bloque B un peso molecular medio en número (PM_n) de entre 400 y 2.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión por tamaño; y en el que del 25 % al 100 % de los grupos terminales hidroxilo del polímero están modificados covalentemente con al menos un derivado de un ácido graso C_2-C_{20} , y en el que el bloque B no incluye la combinación de glicolida y lactida ni la combinación de lactida y ϵ -caprolactona.

25 Los polímeros de la presente invención están diseñados para ampliar el alcance de los agentes terapéuticamente activos que se pueden administrar de una manera controlada y para ajustar el tiempo necesario para degradarse en el organismo humano o animal de modo que se obtenga la degradación completa poco después de la liberación completa del fármaco.

30 La relación entre los bloques, en el contexto de la presente invención, es la relación entre la suma de los pesos moleculares medios en número (PM_n) de los dos bloques hidrófobos sin contar la modificación de los grupos terminales (la suma de los dos bloques B) y el bloque A de polietilenglicol.

35 La relación entre los bloques debe ser lo suficientemente alta como para garantizar que se puedan formar micelas o geles cuando los copolímeros de tres bloques se disuelven en soluciones acuosas, pero lo suficientemente baja como para que los copolímeros no comiencen a precipitar en estas soluciones acuosas.

40 La relación entre los bloques requerida también depende de la composición de los bloques hidrófobos (es decir, los bloques B) y del grado de modificación y de la naturaleza del derivado de ácido graso usado para la modificación de los grupos terminales.

La solubilidad de los copolímeros de tres bloques está estrechamente vinculada a la hidrofobicidad de los bloques de poliéster. Cuanto más hidrófobo es el poliéster, menor puede ser la relación entre los bloques.

45 La modificación de los grupos terminales también influye en la solubilidad de los copolímeros de tres bloques de acuerdo con la presente invención. Los ácidos grasos más largos volverán los copolímeros de tres bloques más hidrófobos, y como resultado de ello, la relación entre los bloques tendrá que disminuir para mantener la solubilidad en soluciones acuosas. El grado de modificación de los grupos terminales también afectará a la solubilidad. Un copolímero de tres bloques de acuerdo con la presente invención modificado al 100 % con un ácido graso será más hidrófobo que el mismo copolímero de tres bloques modificado al 50 % con el mismo ácido graso, por lo que la relación entre los bloques tendrá que ser inferior con el copolímero totalmente modificado para alcanzar la misma solubilidad en soluciones acuosas.

50 En una realización, la relación entre los bloques, que se define como la relación entre la suma del peso molecular medio en número de los bloques B y del peso molecular medio en número del bloque A, varía entre 0,5 y 3, preferentemente entre 0,5 y 1,7, más preferentemente entre 0,6 y 1,5, e incluso más preferentemente entre 0,7 y 1,3.

Boque A

60 El bloque A del copolímero de tres bloques puede ser un poli(etilenglicol) lineal con un peso molecular medio en número que varía entre 500 y 3.000 Da o entre 900 y 2.500 Da.

65 El poli(etilenglicol) es un diol también conocido como poli(óxido de etileno), y ambos nombres se puede usar indistintamente con el fin de la presente invención.

Bloque B

Los bloques B del copolímero de tres bloques pueden ser bloques hidrófobos fabricados mediante la polimerización de apertura de anillo de 2 o más monómeros cíclicos y con un peso molecular medio en número que varía entre 400 y 3000 Da. Preferentemente, el peso molecular medio en número de cada bloque B varía entre 450 y 2.000 Da, más preferentemente entre 500 y 1.500 Da.

Los monómeros cíclicos usados para fabricar los bloques B se seleccionan del grupo que consiste en glicolida, lactida, ϵ -caprolactona, p-dioxanona (1,4-dioxan-2-ona), carbonato de trimetileno (1,3-dioxan-2-ona), 1,4-dioxepan-2-ona (incluyendo su dímero 1,5,8,12-tetraoxaciclotetradecan-7,14-diona), 1,5-dioxepan-2-ona, 6,6-dimetil-1,4-dioxan-2-ona, 2,5-dicetomorfolina, pivalolactona, χ -dietilpropiolactona, carbonato de etileno, oxalato de etileno, 3-metil-1,4-dioxan-2,5-diona, 3,3-dietil-1,4-dioxan-2,5-diona, 6,8-dioxabicyclooctan-7-ona, β -propiolactona, γ -butirolactona, δ -valerolactona, ϵ -decalactona, 3-metil-1,4-dioxan-2,5-diona, 1,4-dioxan-2,5-diona, 2,5-dicetomorfolina, α,α -dietilpropiolactona, γ -butirolactona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona, 6,6-dimetil-dioxepan-2-ona, 6,8-dioxabicyclooctan-7-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, o preferentemente del grupo que consiste en glicolida, lactida, ϵ -caprolactona, 1,3-dioxan-2-ona (también conocida como carbonato de trimetileno), 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxano-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona, y en el que el bloque B no incluye la combinación de glicolida y lactida ni la combinación de lactida y ϵ -caprolactona.

Los bloques hidrófobos que contienen las unidades monoméricas descritas anteriormente contienen principalmente enlaces de éster y/o carbonato, haciéndolos fácilmente biodegradables. Se pueden preparar en un intervalo de pesos moleculares bien definidos. Esto permite la fabricación de copolímeros de tres bloques que tienen una estructura bien definida, de modo que se puedan formar micelas o termogeles bien definidos a partir de los copolímeros y, por otra parte, que se pueda alcanzar una buena reproducibilidad en la cinética de liberación del agente terapéuticamente activo.

La elección de los monómeros se basa principalmente en la velocidad y en el perfil de biodegradación que se desee alcanzar con el copolímero de tres bloques *in vivo*. Hace tiempo que se están estudiando los poliésteres fabricados mediante la combinación de estos monómeros, y algunas de las combinaciones son bien conocidas.

En la mayoría de los casos, las combinaciones solo incluyen 2 monómeros, aunque, en casos raros, hay ejemplos con 3 monómeros.

La biodegradación, en el contexto de la presente invención, se evalúa por la desaparición macroscópica del polímero en virtud de su forma en el organismo (gel, termogel, micelas)

La degradación de los bloques de poliésteres en residuos monoméricos no es algo que se pueda seguir fácilmente *in vivo*, y por lo general, tarda más en producirse. Puede evaluarse *in vitro* mediante diversas técnicas analíticas, incluyendo la cromatografía de exclusión por tamaño, la resonancia magnética nuclear, MALDI-TOF, la cromatografía líquida de alta presión y combinaciones de las mismas.

Las combinaciones de poliéster descritas más adelante se escogen basándose en la degradación teórica *in vitro*. La biodegradación *in vivo*, por lo general, será más rápida, ya que una simple hidrólisis del enlace éster entre los bloques de poliéster y el bloque de polietilenglicol dará lugar a una perturbación grave del estado macroscópico del polímero (gel, termogel, micela).

En una realización, los bloques B comprenden combinaciones de monómeros que comprenden entre el 50 y el 100 % en moles de glicolida. Dichos bloques B estarán entre los más rápidos en biodegradarse. Preferentemente, los bloques B comprenden entre el 60 y el 95 % en moles de glicolida, más preferentemente entre el 75 y el 90 % en moles. Las combinaciones de glicolida con otros monómeros producirán una biodegradabilidad ajustable. Por ejemplo, el tiempo para degradarse aumentará en el intervalo de glicolida-lactida, glicolida-carbonato de trimetileno y glicolida-caprolactona.

En una realización, los bloques B comprenden combinaciones de monómeros que incluyen entre el 50 y el 100 % en moles, preferentemente entre el 60 y el 95 % en moles, más preferentemente entre el 75 y el 90 % en moles de lactida. Dichas combinaciones también se degradarán relativamente rápido, pero más lentamente que las que tienen cantidades equivalentes de glicolida. El tiempo para degradarse también dependerá de si se usa lactida racémica o L-lactida. La cristalinidad mayor de la L-lactida suele proporcionar poliésteres que tardan más en degradarse, más que con la lactida racémica. Dichos polímeros requerirán un par de semanas para degradarse.

En una realización, los bloques B comprenden combinaciones de monómeros que comprende entre el 50 y el 100 % en moles, preferentemente entre el 60 y el 95 % en moles, más preferentemente entre el 75 y el 90 % en moles de carbonato de trimetileno. Dichas combinaciones generalmente presentan una biodegradación muy lenta, a excepción de lactida-carbonato de trimetileno y glicolida-carbonato de trimetileno. Los poliésteres resultantes también contienen enlaces carbonato, dándoles un estado amorfo que tiende a favorecer la biodegradación basada en la erosión durante la biodegradación mayor, prolongando el estado macroscópico de un gel, termogel o micelas

en comparación con los polímeros que se degradan a través de la erosión mayor (normalmente los basados en poliésteres de lactida-glicolida). En el caso de la administración de fármacos, esto hace que sea más fácil controlar la velocidad de administración. Estos poliésteres tardan al menos 3 meses en degradarse, y los copolímeros de tres bloques fabricados con ellos tardan al menos 2 meses.

5 En una realización, los bloques B comprenden combinaciones de monómeros que comprenden entre el 50 y el 100 % en moles, preferentemente entre el 60 y el 95 % en moles, más preferentemente entre el 75 y el 90 % en moles de 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona (también denominada carbonato de 5,5-dimetil-trimetileno). Dichas combinaciones presentarán una degradación incluso más lenta que con el carbonato de trimetileno, a la vez que
10 siguen proporcionando poliésteres que contienen enlaces de carbonato que tienen propiedades amorfas, que son beneficiosos para la biodegradación basada en la erosión. Estos poliésteres tardan al menos 4 meses en degradarse, y los copolímeros de tres bloques fabricados con ellos tardan al menos 3 meses.

15 También son posibles otras combinaciones de los monómeros mencionados, y el experto en la materia es capaz de seleccionarlas de acuerdo con las propiedades poliméricas que necesite para una determinada aplicación.

Los monómeros de tipo hidrófobo de los bloques B se pueden clasificar en grupos de acuerdo con el grado relativo de hidrofobicidad. Los monómeros de hidrofobicidad relativamente baja son, por ejemplo, 1,4-dioxan-2-ona, glicolida, 20 1,5-dioxepan-2-ona. Los monómeros de hidrofobicidad relativamente alta incluyen lactida, ϵ -caprolactona y 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona. En el caso de que se desee un copolímero de tres bloques que tenga un perfil de degradación lenta, se seleccionan monómeros que tengan una hidrofobicidad bastante alta y, opcionalmente, en los que el bloque B tenga un peso molecular más alto. En el caso de que se desee un copolímero de tres bloques que tenga un perfil de degradación rápida, los bloques B se construyen a partir de monómeros que tienen una baja hidrofobicidad (monómeros hidrófilos).

25 En una realización, uno de los monómeros cíclicos de los bloques B se selecciona del grupo que consiste en glicolida, lactida, ϵ -caprolactona y 1,3-dioxan-2-ona. Preferentemente, uno de los monómeros cíclicos de los bloques B es lactida o ϵ -caprolactona. Las combinaciones de monómeros cíclicos en los bloques B de los copolímeros de acuerdo con la presente invención son:

- 30
- glicolida y un monómero del grupo de 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona.
 - lactida y un monómero del grupo de 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona.
 - 35 - 1,3-dioxan-2-ona y un monómero del grupo de 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona.
 - ϵ -caprolactona y un monómero del grupo de 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona.

40 Preparación de copolímeros de tres bloques B-A-B

Los copolímeros de tres bloques B-A-B se pueden sintetizar mediante polimerización por apertura de anillo o reacciones de policondensación.

45 Los bloques B se pueden polimerizar mediante el uso de los monómeros cíclicos mencionados anteriormente en una polimerización de apertura de anillo usando los grupos terminales hidroxilo de poli(etilenglicol) para iniciar la polimerización. Esta es una manera muy controlada y simple de preparar los tres bloques en una sola etapa para los expertos en la materia. Los esquemas y los detalles para las reacciones de polimerización de apertura de anillo similares se pueden encontrar en varias patentes o solicitudes de patente que incluyen y no se limitan a los
50 documentos EP0863745 y WO0018821.

Una alternativa es preparar bloques B por separado mediante el uso de la polimerización por apertura de anillo iniciada con un alcohol monofuncional corto, y luego el acoplamiento de estos bloques B con poli(etilenglicol) en presencia de agentes de acoplamiento tales como isocianatos. Las reacciones de acoplamiento también se pueden
55 realizar tras la activación de grupos terminales funcionales con agentes de activación como carbonil-diimidazol, *N*-hidroxisuccinimida, cloroformiato de *para*-nitrofenilo, anhídrido succínico y similares.

También es posible la preparación de bloques B mediante reacciones de policondensación usando la forma abierta de los monómeros cíclicos mencionados anteriormente, tales como ácido láctico, ácido glicólico, ácido ϵ -hidroxihexanoico y similares. Sin embargo, la obtención de bloques bien definidos en términos de peso molecular medio y de funcionalidad de los grupos terminales con reacciones de policondensación es particularmente difícil, incluso para el experto en la materia.

Los copolímeros de tres bloques así obtenidos normalmente tienen fracciones hidroxilo en ambos extremos. Sin modificación, solo copolímeros de tres bloques muy específicos formarán geles o micelas termoreversibles en
65 soluciones acuosas. En la presente invención, estas fracciones hidroxilo se modifican, por tanto, con derivados de

ácidos grasos de origen natural para lograr la formación de geles o micelas, manteniendo a la vez el polímero hidrosoluble y biodegradable.

Modificación de grupos terminales de los copolímeros de tres bloques B-A-B

5 Los copolímeros de tres bloques B-A-B preferentemente se modifican parcial o completamente usando el grupo hidroxilo terminal de los bloques B. Los ácidos grasos incluyen una selección que varía de 2 a 20, preferentemente de 6 a 18 átomos de carbono, saturados o insaturados, preferentemente con un número par de átomos de carbono. La mayoría con los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono no están presentes de manera natural en los cuerpos calientes y, por lo tanto, son menos deseables desde un punto de vista de la biodegradación del polímero. Los ácidos grasos con más de 20 átomos de carbono son sólidos muy hidrófobos, y producen polímeros insolubles en agua cuando se usan en el alcance de la presente invención.

15 Preferentemente, los derivados de ácidos grasos que se usan para modificar los grupos terminales hidroxilo del polímero se seleccionan del grupo que consiste en derivados de ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linoleico, ácido gamma-linoleico, ácido estearidónico, ácido ruménico, ácido beta-caléndico, ácido eleosteárico, ácido punínico, ácido parinárico, ácido pinolénico, ácido araquídico, ácido eicosenoico, ácido eicosadienoico, ácido eicosatrienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido Mead, ácido eicosatetraenoico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico.

25 Estos ácidos grasos de origen natural son fácilmente degradables por el ciclo de la acetil-coenzima A. Además, estos ácidos tienen menos riesgo de presentar toxicidad *in vivo* en las cantidades usadas en el ámbito de aplicación en la presente invención. No obstante, algunos de ellos podrían tener actividades biológicas beneficiosas o perjudiciales. El experto en la materia tendría que tener en cuenta la elección del ácido graso en función de la aplicación y de la ubicación en el organismo.

30 Los derivados de ácidos grasos se refieren a ácidos grasos que se pueden haber modificado o activado para permitir las reacciones de acoplamiento con los grupos terminales hidroxilo de los copolímeros de tres bloques.

35 El acoplamiento de los ácidos grasos a los copolímeros de tres bloques B-A-B puede implicar el uso de agentes de acoplamiento tales como (pero sin limitación) isocianatos o la derivatización de cualquiera de los ácidos grasos o los grupos terminales del polímero. Los grupos funcionales de los ácidos grasos o polímeros se pueden activar para potenciar el acoplamiento mediante el uso de agentes de activación tales como (pero sin limitación) carbonildiimidazol, *N*-hidroxisuccinimida, cloroformiato de *para*-nitrofenilo, anhídrido succínico. También se pueden usar los derivados directos de ácidos grasos tales como, pero sin limitación, cloruros de ácido, anhídridos, isocianatos, en especial porque algunos de ellos se pueden adquirir fácilmente en el mercado.

40 Estos métodos de acoplamiento son bien conocidos por los expertos en la materia.

En una realización de la invención, los grupos hidroxilo terminales de los bloques B están modificados con ácidos grasos que tienen entre 2 y 6 átomos de carbono.

45 El grado de modificación de los grupos terminales hidroxilo de los polímeros es un valor numérico que cuantifica el porcentaje de grupos terminales hidroxilo que han sido modificados con derivados de ácidos grasos. Un grado de modificación del 100 % significa que ambos extremos del polímero se han modificado por completo. El 50 % significa que se ha modificado la mitad de los extremos (uno de cada dos). Este valor, así como el peso molecular medio de los tres bloques, se calcula preferentemente usando resonancia magnética nuclear, ya que es uno de los pocos métodos analíticos que dan acceso a valores numéricos absolutos, a diferencia de los métodos analíticos como la cromatografía de exclusión por tamaño, en la que el peso molecular medio es un valor relativo a un patrón polimérico tal como el poliestireno.

50 El grado óptimo de modificación que hace que los polímeros de la presente invención sean capaces de formar micelas o termogeles en soluciones acuosas depende de diversos factores tales como el peso molecular medio de los tres bloques, la relación entre los bloques, la composición de los monómeros, la naturaleza de los derivados de ácidos grasos.

55 La hidrofobicidad de los copolímeros de tres bloques de acuerdo con la presente invención aumentará cuando los derivados de ácidos grasos sean más largos, para el mismo grado de modificación de los grupos terminales.

60 La hidrofobicidad de los copolímeros de tres bloques de acuerdo con la presente invención aumentará cuando el grado de protección terminal (es decir, la modificación de los grupos terminales) aumente para los mismos derivados de ácidos grasos.

65 Para conseguir la solubilidad en soluciones acuosas a una cierta concentración de polímero, así como el ensamblaje molecular específico tal como en micelas o (termo)geles, el ácido graso y el grado de modificación de los grupos

terminales se deben seleccionar y ajustar junto con la longitud de los bloques, la relación entre los bloques y la composición de los bloques de poliéster.

5 La modificación con derivados de ácidos grasos más largos, en general, aumentará el tiempo de degradación del polímero.

10 Un copolímero de de tres bloques de acuerdo con la presente invención tiene dos grupos terminales OH que se pueden modificar. Una distribución estadística de moléculas que tienen 0, 1 o 2 grupos terminales modificados dará lugar a un grado de modificación distinto del 100 %, por ejemplo, del 60 %. Diversos métodos de purificación de polímeros pueden permitir al experto en la materia reducir esta distribución de cadenas de polímero mediante la separación de las cadenas de polímero que no se hayan modificado (0 %), que estén medio modificadas (50 %) o que estén completamente modificadas (100 %). La cuestión es que estos métodos de purificación requieren mucho tiempo y no suelen ser aplicables a lotes de polímeros de más de 5 gramos. Tener polímeros con grados de modificación distintos del 0, 50 o 100 % puede ser necesario para lograr una preparación adecuada de geles o micelas dependiendo del derivado de ácido graso, la composición de los monómeros y la relación entre los bloques poliméricos y el tamaño de los bloques poliméricos.

20 En el ámbito de la presente invención, el intervalo numérico para el grado de modificación es de entre el 25 y el 100 %, preferentemente de entre el 40 % y el 98 %, más preferentemente de entre el 50 y el 95 %. Los intervalos se obtienen de los resultados experimentales con diversos ácidos grasos, composición de monómeros, relación entre los bloques y tamaño de los bloques.

25 Se han encontrado copolímeros de tres bloques con grado de modificación inferior al 25 % que contienen demasiadas cadenas poliméricas no modificadas para formar termogeles en el intervalo de solubilidad que tienen en soluciones acuosas. En una realización preferida, al menos el 90 % de los grupos terminales hidroxilo de un polímero de acuerdo con la presente invención está modificado covalentemente con al menos un derivado de un ácido graso C₂-C₂₀. En dicha realización, el grado de modificación de los grupos terminales es, por lo tanto, al menos del 90 %.

30 Dichos copolímeros de tres bloques modificados proporcionan una estructura bien definida y se pliegan fácilmente en formas en U que se ensamblan para formar micelas con núcleos hidrófobos y cubiertas hidrófilas en soluciones acuosas.

35 En una realización, el copolímero de bloques con la fórmula general B-A-B comprende poli(etilenglicol) (PEG) como bloque A, que tiene un peso molecular medio en número de entre 1.000 y 2.500 Da, preferentemente de entre 1.100 y 2.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Los bloques B son bloques hidrófobos que comprenden al menos dos monómeros cíclicos seleccionados del grupo que consiste en glicolida, lactida, 1,3-dioxan-2-ona (también conocida como carbonato de trimetileno), 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona, teniendo cada bloque B un peso molecular medio en número de entre 400 y 1.600 Da, preferentemente de entre 500 y 1.500, más preferentemente de entre 600 y 1.300 Da, determinado por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), en el que el bloque B no incluye la combinación de glicolida y lactida.

45 En una realización, la invención se refiere a un copolímero de tres bloques anfífilico B-A-B, que comprende poli(etilenglicol) (PEG) como bloque A que tiene un peso molecular medio en número de entre 1.000 y 2.500 Da, determinado por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC); siendo los bloques B bloques hidrófobos que comprenden al menos dos monómeros cíclicos seleccionados del grupo que consiste en glicolida, lactida, 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona, teniendo cada bloque B un peso molecular medio en número de entre 400 y 2.500, determinado por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC); en el que el copolímero de tres bloques anfífilico tiene una relación entre los bloques, que se define como la relación entre la suma del peso molecular medio en número de los bloques B y el peso molecular medio en número del bloque A, de entre 0,5 y 2,5; y en el que del 25 % al 100 % de los grupos terminales hidroxilo están modificados covalentemente con al menos un derivado de ácido graso C₂-C₂₀, siendo los ácidos grasos seleccionados del grupo que consiste en derivados de ácido acético, ácido butírico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linoleico, ácido gamma-linoleico, ácido estearidónico, ácido ruménico, ácido beta-caléndico, ácido eleosteárico, ácido punínico, ácido parinárico, ácido pinolénico, ácido araquídico, ácido eicosenoico, ácido eicosadienoico, ácido eicosatrienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido Mead, ácido eicosatetraenoico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico; y en el que el bloque B no incluye la combinación de glicolida y lactida.

60 La relación entre los bloques, que se define como la relación entre la suma del peso molecular medio en número de los bloques B y el peso molecular medio en número del bloque A, varía entre 0,5 y 3, o entre 0,5 y 2,5, preferentemente entre 0,6 y 2,2, más preferentemente entre 0,7 y 1,7. En dicha realización, del 25 % al 100 % de los grupos terminales hidroxilo están modificados covalentemente con al menos un derivado de un ácido graso C₂-C₂₀, preferentemente de ácido graso C₆-C₁₈. En dicha realización, los derivados de ácidos grasos usados para modificar los grupos terminales hidroxilo del polímero se seleccionan preferentemente del grupo que consiste en derivados de

ácido acético, ácido butírico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linoleico, ácido gamma-linoleico, ácido estearidónico, ácido ruménico, ácido beta-caléndico, ácido eleosteárico, ácido punínico, ácido parinárico, ácido pinolénico, ácido araquídico, ácido eicosenoico, ácido eicosadienoico, ácido eicosatrienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido Mead, ácido eicosatetraenoico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico.

La biodegradación en el contexto de la presente invención se refiere a la degradación, desensamblaje, digestión o desaparición de los copolímeros anfifílicos por la acción del entorno biológico, incluyendo la acción de organismos vivos y, más concretamente, a pH y temperatura fisiológicos. Un mecanismo principal para la biodegradación en la presente invención es la hidrólisis de los enlaces entre y en las unidades monoméricas de los copolímeros anfifílicos. Las reacciones específicas incluyen, pero sin limitación, la hidrólisis del éster (química o enzimática) y la degradación de los fragmentos de ácidos grasos a través de la lipólisis o la oxidación.

Los polímeros de la presente invención se pueden disolver en soluciones acuosas con concentraciones que varían preferentemente entre el 3 y el 50 % en peso del polímero. Las concentraciones más preferibles para lograr la termogelificación de formación de micelas dependen de la composición del polímero. La adición de agentes terapéuticamente activos a una solución de polímero afecta generalmente a la concentración óptima para formar micelas o termogeles, donde los agentes se disuelven, se emulsionan o se suspenden.

La invención también se refiere a composiciones que comprenden al menos un copolímero de tres bloques anfifílico de la presente invención y un disolvente médicamente aceptado. Un disolvente médicamente aceptado puede ser, por ejemplo, agua; una mezcla de agua y un disolvente orgánico como, por ejemplo, etanol, isopropanol y DMSO; una solución acuosa isotónica que sea adecuada para la inyección en el cuerpo humano o animal (es decir, en el contexto de la presente invención, una solución que tenga una presión osmótica comparable o al menos compatible con la presión osmótica de los fluidos corporales humanos o animales, como la sangre); benzoato de bencilo y miristato de isopropilo.

En una realización, dicha composición comprende al menos un agente terapéuticamente activo y es una composición farmacéutica.

Con agentes terapéuticamente activos, los expertos en la materia se refieren a cualquier conjunto de moléculas, células o materiales celulares capaces de prevenir, retrasar, moderar o curar una enfermedad en, o que puedan ofrecer un efecto terapéutico deseado en, un ser humano o animal tratado. Las enfermedades humanas se conocen como las define la Organización Mundial de la Salud en el documento de clasificación WHO ICD-10 (2007).

Los agentes terapéuticamente activos incluyen, pero sin limitación, nutrientes, productos farmacéuticos (entidades moleculares pequeñas), proteínas y péptidos, vacunas, materiales genéticos (tales como polinucleótidos, oligonucleótidos, plásmidos, ADN y ARN), agentes de diagnóstico, agentes de generación de imágenes, enzimas, secuencias de ácidos nucleicos, antígenos, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, virus, materiales basados en virus, células, subestructuras celulares, factores de crecimiento, antibióticos, compuestos antiinflamatorios, inmunomoduladores, compuestos antitrombogénicos, fármacos contra la claudicación, fármacos antiarrítmicos, fármacos antiateroscleróticos, antihistamínicos, fármacos contra el cáncer, fármacos vasculares, fármacos oftálmicos, aminoácidos, vitaminas, hormonas, neurotransmisores, neurohormonas, enzimas, moléculas de señalización, medicamentos psicoactivos, fármacos sintéticos, fármacos semisintéticos, fármacos naturales y sustancias derivadas de los mismos, o combinaciones de los anteriores.

El ingrediente farmacéutico activo (API) puede demostrar cualquier tipo de actividad, dependiendo del uso previsto. El agente activo puede ser capaz de estimular, bloquear o suprimir una respuesta biológica.

Los agentes activos terapéuticos se pueden usar para la administración sostenida en muchas enfermedades y afecciones diferentes en seres humanos y animales

En una realización, el agente terapéuticamente activo es un factor de crecimiento. Dicha composición es muy adecuada para la aplicación en ortopedia y, en particular, en la prevención o el tratamiento de enfermedades de los discos intervertebrales. Esto se debe a que la composición se gelificará y mantendrá el agente activo en su sitio durante un período de tiempo, liberándolo de una manera controlada en comparación con la inyección directa de una solución no gelificante. Por otra parte, los polímeros formadores de gel se descomponen completamente tras haber cumplido su función. Esto es especialmente importante en la aplicación en la zona de los discos intervertebrales, donde hay menos actividad metabólica.

Preferentemente, como factor de crecimiento, se usa al menos un compuesto del grupo que consiste en factor de crecimiento transformante beta-3, proteína osteogénica 1, proteína morfogénica ósea 2 y 7. Aunque es menos preferido, también es posible el uso de composiciones que contengan termogeles en general y un factor de crecimiento transformante. Dicha composición tiene al menos la ventaja de la liberación lenta del factor de crecimiento.

En otra realización más, el agente activo terapéutico es un agente para suprimir o reducir la velocidad del crecimiento o de la neovascularización cancerosos, tales como agentes anti-VEGF, ARNip o aptámeros.

5 En otra realización más, el agente activo terapéutico es un agente para evitar, controlar, suprimir o erradicar las enfermedades infecciosas.

10 Los copolímeros de la presente invención encontrarán utilidad en cualquiera de los usos para los que los polímeros biodegradables son útiles, incluyendo usos tales como vehículos para la liberación sostenida y controlada de agentes terapéuticamente activos, implantes, dispositivos de ingeniería de tejidos, y similares, y también encontrarán utilidad particular en aplicaciones en las que su naturaleza como copolímeros de bloques que tienen tanto segmentos hidrófilos como hidrófobos confiere un beneficio especial, y estos usos se abordarán con mayor detalle a continuación.

15 Para algunas aplicaciones, puede haberse introducido fracciones especiales en los derivados de ácidos grasos usados para la modificación de grupos terminales. Por ejemplo, el uso de ácido graso insaturado puede permitir que se produzcan reacciones químicas entre las cadenas de ácidos grasos insaturados para conseguir la reticulación del polímero. La reticulación normalmente se lleva a cabo para modificar las propiedades mecánicas y el perfil de degradación de los polímeros. La activación y la reacción intermolecular entre las fracciones reticulables generalmente están causadas por una fuente de radiación, una reacción química o un estímulo externos, o una combinación de los mismos. Los ejemplos de radiación incluyen, pero sin limitación, calor, fuentes de infrarrojos, fuentes de radiación ultravioleta, fuentes de haz de electrones, fuentes de microondas, fuentes de rayos X, fuentes de luz visible [monocromática o no] y rayos gamma. La reacción o el estímulo externos incluyen, pero sin limitación, el pH, las reacciones de oxidación/reducción, las reacciones con un agente químico presente *in vivo* (gas, proteínas, enzimas, anticuerpos, etc.), la reacción con un producto químico añadido a la composición tras la introducción en el organismo, conocido como sistemas duales, por ejemplo, una molécula que contiene dos o más grupos reactivos.

Sistemas micelares

30 En una realización preferida de una composición de acuerdo con la presente invención, el disolvente médicamente aceptado comprende agua y el copolímero está presente en una concentración por encima de su concentración micelar crítica (CMC), de manera que se forman micelas en una solución acuosa, estando el agente terapéuticamente activo atrapado en o liberado de manera controlada por las micelas.

35 Cuando los copolímeros se colocan en agua, en la que el segmento hidrófilo es soluble y el segmento hidrófobo es insoluble, las cadenas poliméricas pueden autoagregarse espontáneamente para formar estructuras micelares en función de su concentración.

40 Una de las principales utilidades de dichas estructuras micelares reside en su capacidad para atrapar, liberar de manera controlada y/o disolver fármacos hidrófobos en el núcleo hidrófobo de las micelas. Dicha retención puede llevarse a cabo de una serie de maneras. El fármaco se puede añadir a los medios acuosos que contienen las micelas e incorporarse mediante simple agitación, calentando hasta temperaturas moderadas o mediante tratamiento de ultrasonidos o mediante la carga activa como se usa en los procesos de producción de liposomas. Como alternativa, se añade un fármaco disuelto en un disolvente orgánico volátil a una solución acuosa de micelas preformadas con la posterior evaporación del disolvente del sistema.

45 Aunque cualquiera de los agentes contra el cáncer que se pueden incorporar en las estructuras micelares es adecuado para este uso, los agentes anticancerígenos que son particularmente adecuados para la dirección micelar hacia tumores son los que tienen baja hidrosolubilidad tales como doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, mitomicina C, paclitaxel, cis-platino, carboplatino, y similares. Otros agentes pueden incluir proteínas anticancerígenas tales como neocarzinostatina, L-aspariginasa, y similares, y fotosensibilizadores usados en terapia fotodinámica.

50 Además de la utilidad como micelas en la orientación hacia tumores, las micelas también encuentran importantes aplicaciones en la solubilización de fármacos altamente insolubles en agua, ya que estos fármacos se pueden incorporar al núcleo hidrófobo de la micela.

Termogeles

60 En otra realización preferida de una composición de acuerdo con la presente invención, el disolvente médicamente aceptado comprende agua y la composición, que es una solución acuosa, tiene una temperatura crítica inferior de disolución (LCST) de entre 4 y 37 °C, de modo que la solución acuosa se somete a transición sol-gel a partir de entre 4 y 37 °C.

65 Preferentemente, la composición también contiene un agente terapéuticamente activo.

La solución de acuerdo con dicha realización tiene una temperatura crítica inferior de disolución (LCST) por debajo de la temperatura de los cuerpos calientes (37 °C para el cuerpo humano, por ejemplo).

5 Dichos polímeros son hidrosolubles por debajo de su LCST, también conocida como la temperatura del gel, debido al fuerte enlace de hidrógeno entre la parte hidrófila de las cadenas y el agua, pero por encima de la LCST, las interacciones de hidrógeno se debilitan y las interacciones hidrófobas entre los dominios hidrófobos del polímero se vuelven dominantes con la consiguiente precipitación del polímero, lo que puede dar lugar a la gelificación de la solución de polímero.

10 El valor de LCST depende del equilibrio de las partes hidrófilas e hidrófobas del copolímero de bloques, y se puede ajustar mediante la variación de este equilibrio. También depende de la concentración del copolímero de bloques en la solución acuosa. Los materiales que tienen una utilidad particular para las aplicaciones terapéuticas son aquellos en los que el valor de LCST está entre 20 y la temperatura del cuerpo caliente, ya que dichos materiales serán solubles en soluciones acuosas a temperatura ambiente y formarán un gel a la temperatura corporal (37 °C para el cuerpo humano, por ejemplo).

15 Una de las características deseables de los termogeles es la capacidad para administrar formulaciones de termogel usando una aguja de bajo calibre que dé lugar a significativamente menos dolor en la administración en relación con la administración de microesferas, microcápsulas, cadenas u otros dispositivos sólidos de liberación de fármacos. Esto se debe a la hidrosolubilidad de los termogeles a temperatura ambiente, y a la relativamente baja viscosidad de la solución acuosa, que hacen posible el uso de agujas de bajo calibre.

20 Otra característica importante y única es la capacidad para administrar agentes terapéuticamente activos a una velocidad controlada y sin pérdida de actividad biológica. En esta aplicación, el polímero de acuerdo con la invención se puede disolver en un volumen apropiado de una solución acuosa, y el péptido, la proteína o la secuencia de ácido nucleico se disuelven en la misma solución. La mezcla se inyecta entonces en la zona corporal deseada, donde se gelifica, atrapando el péptido, la proteína o la secuencia de ácido nucleico en el material gelificado. Se apreciará que se trata de condiciones sumamente suaves, ya que los agentes activos solo se exponen al agua y a temperaturas no superiores a la temperatura del cuerpo caliente.

25 Este método es muy superior a los métodos convencionales de incorporación de biomoléculas en polímeros sólidos, que requieren condiciones severas tales como temperaturas elevadas y/o disolventes orgánicos, o mezclas de disolventes orgánicos y agua y/o tensioactivos, que, por lo general, producen la pérdida de actividad de la proteína.

30 Este método es particularmente útil para la administración y la dosificación de agentes terapéuticamente activos en aplicaciones que incluyen, pero sin limitación, inyecciones de termogeles que contienen las biomoléculas mencionadas anteriormente en el cartilago articular, el pericardio, los músculos cardíacos, la esclerótica y el cuerpo vítreo del ojo.

35 El comportamiento de la LCST también da ventajas en la construcción de dispositivos de materiales compuestos. Se pueden construir mediante el uso de varios termogeles con diferentes LCST (siempre por debajo de la temperatura del cuerpo caliente). Tras la implantación de la degradación *in vitro* y la liberación de sustancias activas se pueden ajustar en función de su LCST y de sus estructuras químicas.

40 La presente invención se refiere además a aplicaciones de copolímeros de tres bloques anfífilos de acuerdo con la presente invención y a composiciones de los mismos. En particular, la presente invención se refiere a dispositivos médicos que comprenden las composiciones que comprenden al menos un copolímero de tres bloques anfífilo de acuerdo con la presente invención.

45 Dispositivos médicos

Copolímero bioerosionable. Matriz para la administración controlada e ingeniería de tejidos

50 La invención también se refiere a un implante que contiene el polímero de acuerdo con la invención. En algunos usos, es deseable tener un material que tenga propiedades mecánicas mejoradas con respecto a los materiales termogelificantes. A tal efecto, se pueden preparar polímeros sólidos que sean útiles en una serie de aplicaciones, por ejemplo, aplicaciones ortopédicas tales como la fijación de fracturas o la reparación de defectos osteocondrales y similares. El polímero sólido se puede fabricar fácilmente en una serie de formas y conformaciones para la implantación, inserción o colocación en el cuerpo, o en cavidades o pasos corporales. Por ejemplo, el copolímero de bloques de la presente invención se puede moldear por inyección, extruir o moldear por compresión en una película delgada o fabricarse con él dispositivos de diversas formas o conformaciones geométricas tales como plana, cuadrada, redonda, cilíndrica, tubular, discos, anillos y similares. Se pueden implantar varillas o dispositivos con formas nodulares usando un trocar, y éstas u otras formas pueden implantarse mediante procedimientos quirúrgicos menores. Como alternativa, se puede implantar un dispositivo siguiendo un procedimiento quirúrgico mayor tal como la extirpación del tumor en el tratamiento quirúrgico del cáncer. La implantación de obleas de polímero que contienen agentes anticancerígenos se describe, por ejemplo, en Brem *et. al.*, patentes de EE.UU. n.º 5.626.862 y 5.651.986 y

las referencias citadas en las mismas; y los copolímeros de bloques y de injerto encontrarán utilidad en dichas aplicaciones.

Ingeniería de tejidos

5 Las aplicaciones de los dispositivos de ingeniería de tejidos que comprenden termogeles fabricados con los copolímeros de acuerdo con la presente invención incluyen, pero sin limitación, crecimiento o reparación de nervios, crecimiento o reparación de cartílago, crecimiento o reparación de huesos, crecimiento o reparación de músculo, crecimiento o reparación de la piel, reparación de glándulas secretoras, reparación oftálmica. Se ha de destacar que los termogeles se pueden usar como tales o como parte de un implante, armazón o estructura de mayor tamaño.

15 Las formulaciones de termogel con LCST inferior a las temperaturas de los cuerpos calientes también se pueden usar como materiales de relleno temporal de huecos en caso de un traumatismo importante, para evitar la adhesión de los tejidos dañados y la formación de tejido cicatricial a la espera de la cirugía correctiva y reconstructiva. El relleno de huecos se podría realizar fácilmente mediante la inyección de la formulación de termogel, y su remoción se podría realizar a través del corte, del raspado o de la succión tras enfriarse la zona para licuar el termogel. Otros beneficios del uso de materiales de relleno de huecos pueden incluir, pero sin limitación, la prevención de la contaminación desde el exterior, la prevención de la infección, la prevención de la necrosis o alteración del tejido circundante, la inducción de la formación de un tejido específico (hueso, cartílago, músculo, nervio, piel, etc.), la ayuda a mantener la integridad estructural de los tejidos circundantes por sí mismos o mediante la combinación con otros armazones o estructuras conocidos, atrapando moléculas naturales o foráneas específicas.

Métodos de medición

25 Los pesos moleculares medios en número y en peso (PM_n y PM_p , respectivamente) de los copolímeros de tres bloques se determinan mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). La cromatografía de exclusión por tamaño se realiza con una máquina de la serie Agilent 1100 dotada de un sistema de columna doble C controlado con un termostato, en tetrahidrofurano a 25 °C. La detección se realiza mediante la medición del índice de refracción y la radiación UV. Se inyectan 50 microgramos de soluciones poliméricas a 1 mg/ml y el procesamiento dura aproximadamente 30 minutos. Los patrones externos son series de polímeros de poliestireno. Se pueden obtener los valores relativos del peso molecular medio en número PM_n y el peso molecular medio en peso PM_p , así como la polidispersidad. La unidad en Da es equivalente a g/mol. La estructura molecular se determina con resonancia magnética nuclear de protón y carbono (RMN de 1H y RMN de ^{13}C , respectivamente), usando cloroformo deuterado (cloroformo-d3) como disolvente y patrón.

35 La resonancia magnética nuclear se realiza con un Brüker NMR Avance 300 (300 MHz) usando cloroformo-d3 como disolvente. Se pueden usar dimetilsulfóxido-d6 y óxido de deuterio en casos específicos cuando la solubilidad del polímero en cloroformo es demasiado baja. La concentración de las muestras es de aproximadamente 10 mg/ml para una medición del espectro de protón y de 20-30 mg/ml para una medición del espectro de carbono. Para la medición de carbono, también se realizaron mediciones DEPT135 para diferenciar los tipos de carbono. A partir de la integración de varias señales de protones, se pueden obtener los pesos moleculares medios en número absolutos PM_n .

45 Las propiedades de LCST (T_1) (módulo de pérdida G'' , módulo de almacenamiento G' y viscosidad compleja η de los copolímeros en función de la temperatura) se determinan por la reología (modo de oscilación) usando un reómetro Physica MC 301 (Anton Paar). Se determinaron las propiedades reológicas a temperaturas crecientes usando la misma concentración de polímero que la usada en los experimentos de gelificación, por lo general, al 20 % en peso. Se representó la viscosidad (eje y, en Pa·s) gráficamente frente a la temperatura (eje x, en °C). Aunque las mediciones reológicas en realidad determinaron la aparición de la gelificación mostrada como un aumento de la viscosidad en función de la temperatura, la LCST se define como la temperatura a la que la viscosidad comenzó a aumentar.

55 La T_2 se determina mediante el calentamiento de una composición gelificada y se determina visualmente cuando el polímero termogelificante precipita.

Las viscosidades intrínsecas se miden usando un reómetro de placa cónica en modo de rotación a varias temperaturas, usando un reómetro Physica MC 301 (Anton Paar).

60 Los ensayos de gelificación se llevan a cabo en tubos de vidrio de diámetro de 12 mm. Un copolímero de la presente invención se disuelve a 20 °C en solución salina tamponada con fosfato 10 mM (PBS) a pH 7,4, a una concentración del 15 % en peso. Se transfiere 1 ml de solución de polímero a un tubo de ensayo y se cierra con una tapa de silicio. A continuación, se dispone el tubo de ensayo en un baño de agua con termostato a 37 °C. Después de intervalos de tiempo predeterminados (por ejemplo, 15 minutos, 30 minutos y 2 horas), se saca el tubo y se vuelve boca abajo durante 15 segundos. La gelificación se considera completa cuando la solución de polímero no fluye en absoluto durante 15 segundos. Este ensayo es cualitativo y se usa para la exploración rápida de los polímeros. No proporciona valores exactos para la LCST ni propiedades mecánicas del gel.

El tiempo de degradación de los bloques B, los copolímeros de tres bloques o los materiales en general se puede evaluar *in vitro* mediante diversas técnicas analíticas, incluyendo la cromatografía de exclusión por tamaño, la resonancia magnética nuclear, TOF-MALDI, cromatografía líquida de alta presión y combinaciones de las mismas. Los experimentos de degradación se llevan a cabo en tubos de vidrio de diámetro de 12 mm con marcas de volumen. Se disuelve el copolímero a 20 °C en solución salina tamponada con fosfato 10 mM (PBS) a pH 7,4, y a una concentración del 20 % en peso. Se vierten 3,0 ml de solución en cada tubo para garantizar una gelificación del sólido. Se disponen los tubos de vidrio en un baño controlado con un termostato durante 30 minutos para elaborar el gel en soluciones de 3 ml. A continuación, se disponen 7,0 ml de PBS 10 mM a pH 7,4 incubados a la misma temperatura sobre los geles. En períodos de tiempo predeterminados, se retira el tampón sobre el gel y se mide el volumen restante de gel a través de la marca de volumen. A continuación, se añaden 7,0 ml de tampón recién preparado previamente incubado a la misma temperatura y se vuelven a colocar de nuevo los tubos en el baño controlado con un termostato. Se representan los volúmenes de gel restantes frente al tiempo de incubación para obtener los perfiles de degradación. En cantidades de tiempo predeterminadas, también se pueden retirar trozos de geles y analizarse mediante RMN y SEC para calcular la reducción del peso molecular medio en número a lo largo del tiempo.

La invención se explica en detalle con los siguientes ejemplos:

Ejemplo 1: Polimerización de tres bloques con L-lactida y 1, 3-dioxan-2-ona

En un matraz de 500 ml, 2 cuellos y fondo redondo dotado de agitación magnética, se disolvió polietilenglicol (50,0 g, 33,3 mmol) en 250 ml de tolueno seco (< 60 µg de H₂O por litro) a temperatura ambiente. Usando un dispositivo de Dean-Stark con un refrigerador en la parte superior, se separaron por destilación 150 ml de tolueno para eliminar el agua azeotrópicamente por calentamiento a 140 °C en presión atmosférica.

Tras enfriar la solución a 100 °C, se añadieron L-lactida (30,0 g, 208 mmol) y 1,3-dioxan-2-ona (30,0 g, 294 mmol) a la vez por el segundo cuello del matraz y se añadieron 50 ml de tolueno seco para limpiar el cuello. Usando de nuevo el dispositivo de Dean-Stark y el refrigerador, se separaron por destilación 50 ml de tolueno para eliminar el agua de los monómeros por calentamiento a 140 °C a presión atmosférica. Se dejaron 100 ml de tolueno seco en el matraz para la polimerización.

Tras enfriar la mezcla a 100 °C, se añadió 2-etilhexanoato de estaño (II) (0,50 g, ~0,5 % en peso frente a los monómeros) a través del segundo cuello, se retiró el dispositivo de Dean-Stark y se colocó el enfriador directamente en la parte superior del matraz. A continuación, se realizó la polimerización a reflujo (120 °C) durante un período de tiempo predeterminado (de 16 h a 3 días).

Tras enfriar a temperatura ambiente, se transfirió la solución de polímero a un matraz de fondo redondo de un litro dotado de un potente sistema de agitación magnética. Se añadieron lentamente 800 ml de éter dietílico seco bajo agitación vigorosa (1.000 rpm) para hacer que la fase de polímero se separara como un aceite. Después de 10 minutos de decantación, se retiró la fase superior (tolueno, éter, monómeros sin reaccionar, catalizador) por vertido. Se añadieron 20 ml de cloruro de metileno seco para hacer el polímero menos viscoso, y luego se añadieron 400 ml de éter dietílico seco bajo fuerte agitación (1.000 rpm) para lavar el polímero. Después de 10 minutos de decantación, se retiró la fase superior (cloruro de metileno, éter e impurezas) vertiéndola. Se realizó un segundo lavado con 400 ml de éter dietílico seco tras la adición de 20 ml de cloruro de metileno seco al polímero. Tras la decantación, se separó la fase superior, y se secó el polímero concentrado a 60 °C al vacío (2 kPa [20 mbar]) durante 2 horas en un rotavapor.

Se completó el secado del polímero a temperatura ambiente en un horno de secado con pentóxido de fósforo a 30 °C y al vacío (5 kPa [50 mbar]) durante 3 días.

A continuación, el polímero parecía a una pasta transparente incolora. Se caracterizó el copolímero de tres bloques por resonancia magnética nuclear de protón en cloroformo deuterado y cromatografía de exclusión por tamaño en tetrahidrofurano (sistema de columna de C doble).

Un copolímero de tres bloques de dicho ejemplo resultó tener bloques B que comprendían el 41 % en moles de L-lactida y el 59 % en moles de 1,3-dioxan-2-ona. Cada bloque B tiene un peso molecular medio en número de aproximadamente 700 Da. El peso molecular medio en número del bloque A de polietilenglicol es de aproximadamente 1.500 Da. Por lo tanto, la relación entre los bloques es de aproximadamente 1,2.

Ejemplo 2: Polímero muy hidrófobo: polimerización de tres bloques con L-lactida y 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona

En un matraz de 500 ml, 2 cuellos y fondo redondo dotado de agitación magnética, se disolvió polietilenglicol (50,0 g, 33,3 mmol) en 250 ml de tolueno seco (< 60 µg de H₂O por litro) a temperatura ambiente. Usando un dispositivo de Dean-Stark con un refrigerador en la parte superior, se separaron por destilación 150 ml de tolueno para eliminar el agua azeotrópicamente por calentamiento a 140 °C en presión atmosférica.

Tras enfriar la solución a 100 °C, se añadieron L-lactida (25,0 g, 173 mmol) y 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona (25,0 g, 192 mmol) a la vez por el segundo cuello del matraz y se añadieron 50 ml de tolueno seco para limpiar el cuello. Usando de nuevo el dispositivo de Dean-Stark y el refrigerador, se separaron por destilación 50 ml de tolueno para eliminar el agua de los monómeros por calentamiento a 140 °C a presión atmosférica. Se dejaron 100 ml de tolueno seco en el matraz para la polimerización.

Tras enfriar la mezcla a 100 °C, se añadió 2-etilhexanoato de estaño (II) (0,50 g, ~0,5 % en peso frente a los monómeros) a través del segundo cuello, se retiró el dispositivo de Dean-Stark y se colocó el enfriador directamente en la parte superior del matraz. A continuación, se realizó la polimerización a reflujo (120 °C) durante 3 días.

Tras enfriar a temperatura ambiente, se transfirió la solución de polímero a un matraz de fondo redondo de un litro dotado de un potente sistema de agitación magnética. Se añadieron lentamente 800 ml de éter dietílico seco bajo agitación vigorosa (1.000 rpm) para hacer que la fase de polímero se separara como un aceite. Después de 10 minutos de decantación, se retiró la fase superior (tolueno, éter, monómeros sin reaccionar, catalizador) por vertido. Se añadieron 20 ml de cloruro de metileno seco para hacer el polímero menos viscoso, y luego se añadieron 400 ml de éter dietílico seco bajo fuerte agitación (1.000 rpm) para lavar el polímero. Después de 10 minutos de decantación, se retiró la fase superior (cloruro de metileno, éter e impurezas) vertiéndola. Se realizó un segundo lavado con 400 ml de éter dietílico seco tras la adición de 20 ml de cloruro de metileno seco al polímero. Tras la decantación, se separó la fase superior, y se secó el polímero concentrado a 60 °C al vacío (2 kPa [20 mbar]) durante 2 horas en un rotavapor.

Se completó el secado del polímero a temperatura ambiente en un horno de secado con pentóxido de fósforo a 30 °C y al vacío (5 kPa [50 mbar]) durante 3 días.

A continuación, el polímero parecía a una pasta ligeramente amarillo. Se caracterizó el copolímero de tres bloques por resonancia magnética nuclear de protón en cloroformo deuterado y cromatografía de exclusión por tamaño en tetrahidrofurano (sistema de columna de C doble).

Un copolímero de tres bloques de dicho ejemplo resultó tener bloques B que comprendían el 45 % en moles de L-lactida y el 55 % en moles de 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona. Cada bloque B tiene un peso molecular medio en número de aproximadamente 750 Da. El peso molecular medio en número del bloque A de polietilenglicol es de aproximadamente 1.500 Da. Por lo tanto, la relación entre los bloques resultó ser de aproximadamente 1,0.

Ejemplo 3: Modificación del 40 al 50 % del copolímero de tres bloques del Ejemplo 1 con A) cloruro de octanoílo (derivado de ácido caprílico) o B) anhídrido acético.

En un matraz de fondo redondo de 250 ml dotado de agitación magnética, se calentó el copolímero de tres bloques del Ejemplo 1 (30,0 g) a 60 °C, y se conectó a una bomba de alto vacío para secar a 0,01 kPa (0,1 mbar) durante 2 horas con agitación magnética lenta. Tras enfriar a temperatura ambiente, se lavó el matraz abundantemente con nitrógeno y después se añadieron 80 ml de cloruro de metileno seco a través de una jeringa, seguidos de la adición de trietilamina (1,1 equivalentes por mol de polímero). A continuación, se montó un embudo de goteo sobre el matraz y se llenó con cloruro de octanoílo (1,0 equivalentes por mol de polímero para un máximo de modificación del 50 %) diluido 5 veces con cloruro de metileno seco.

Se enfrió la solución de polímero a 10 °C, se agitó a 400 rpm y se añadió cloruro de octanoílo en 30 minutos. Tras la adición, se retiró el embudo de goteo y se volvió a lavar el matraz abundantemente con nitrógeno. Se retiró el baño frío y se dejó que la reacción continuara durante la noche a temperatura ambiente, y se siguió por resonancia magnética nuclear hasta que se logró el grado deseado de modificación.

Tras la reacción, se retiraron los disolventes y la trietilamina sin reaccionar usando un rotavapor (45 °C, 2 kPa [20 mbar]) durante una hora. A continuación, se volvió a disolver el residuo usando 200 ml de acetato de etilo seco para hacer precipitar la sal de trietilamonio. Se retiró el precipitado usando un filtro de vidrio (tamaño de poro 4) lleno de agente filtrante Celite®. A continuación, se retiraron 100 ml de acetato de etilo usando un rotavapor (40 °C, 2 kPa [20 mbar]) durante 10 minutos.

A la solución concentrada de polímero, se añadieron 300 ml de pentano seco bajo agitación vigorosa (1.000 rpm) para hacer que la fase de polímero se separara, y para eliminar el cloruro de octanoílo y el ácido caprílico (es decir ácido octanoico) sin reaccionar. Tras la decantación, se retiró la fase de disolvente vertiéndolo fuera del matraz. Se añadieron 20 ml para volver el polímero menos viscoso y luego se añadieron 200 ml de pentano seco bajo fuerte agitación (1.000 rpm) para lavar el polímero. Tras la decantación y la eliminación de la fase de disolvente (fase superior), se añadieron 20 ml para volver el polímero menos viscoso y después se añadieron 200 ml de pentano seco bajo agitación vigorosa (1.000 rpm) para lavar el polímero una segunda vez. Tras la decantación y la eliminación de la fase de disolvente (fase superior), se secó el polímero concentrado a 50 °C al vacío (2 kPa [20 mbar]) durante 2 horas en un rotavapor.

Se completó el secado del polímero a temperatura ambiente en un horno de secado con pentóxido de fósforo a 30 °C y al vacío (5 kPa [50 mbar]) durante 2 días. Se caracterizó el copolímero de tres bloques por resonancia magnética nuclear de protón en cloroformo deuterado y cromatografía de exclusión por tamaño en tetrahidrofurano (sistema de columna de C doble).

5 El procedimiento para la modificación con anhídrido acético es diferente del procedimiento descrito anteriormente. Sin embargo, la modificación con anhídrido acético se conoce comúnmente en la técnica.

10 En el caso del copolímero de tres bloques del Ejemplo 1, la modificación del 50 % con cloruro de octanoílo (C₈), Ejemplo 4A, dio prácticamente el mismo resultado en términos de hidrosolubilidad y gelificación que una modificación del 80 % con anhídrido acético (C₂), Ejemplo 4B.

15 Ejemplo 4: Modificación del copolímero de tres bloques del Ejemplo 2 con A) cloruro de butanoílo o B) anhídrido acético

El copolímero de de tres bloques del Ejemplo 2 se modifica de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 4 en un 25-30 % con anhídrido acético (C₂) o cloruro de butanoílo (C₄) para producir un gel hidrófobo con un tiempo de degradación determinado de más de un mes .

20 Ejemplo 5: Preparación de micelas de paclitaxel.

Se disolvieron el copolímero de tres bloques del Ejemplo 1 y paclitaxel (1:0,4 p/p) en acetonitrilo y se mezclaron a fondo. Se evaporó el disolvente usando una corriente de nitrógeno con agitación. Se volvió a disolver la mezcla en agua destilada y se obtuvo una solución con fuerte opalescencia. Tras la filtración (filtro G3), se liofilizó la solución. Las micelas que contenían Paclitaxel se pudieron disolver suavemente en agua y se caracterizaron mediante mediciones de dispersión de luz.

30 Ejemplo 6: Liberación *in vitro* de albúmina de suero bovino (BSA) a partir de un termogel seguida por espectroscopia de luz UV-visible.

Los experimentos de liberación se llevaron a cabo en tubos de vidrio de diámetro de 12 mm. Se disolvió el copolímero a 20 °C en solución salina tamponada con fosfato 10 mM (PBS) a pH 7,4 a una concentración del 15 % en peso. Se disolvió BSA a una carga del 1 % en peso y del 5 % en peso en el mismo tampón y se mezcló con la solución de copolímero. Se colocaron los tubos de vidrio en una incubadora con un baño de agitación a 37 °C o en un baño de agua controlado con un termostato a 37 °C durante 1 hora. Las dimensiones del gel eran de 20 mm de altura x 12 mm de diámetro. A continuación, se colocaron 2 ml de PBS 10 mM a pH 7,4 o 2 ml incubados a la misma temperatura sobre los geles. En períodos de tiempo predeterminados, se retiró el tampón del gel y se reemplazó por un tampón recién preparado previamente incubado a la misma temperatura. Las muestras retiradas se analizaron mediante espectroscopia de luz UV-visible usando la absorción a 494 nm para pH 7,4 y la absorción a 458 nm para un pH de 5,5.

45 Ejemplo 7: Uso de termogeles como relleno temporal de huecos y amortiguador en un traumatismo maxilofacial.

A la llegada de un paciente a la sala de urgencias, y tras diagnosticarle un importante traumatismo maxilofacial, se inyectaría un termogel biodegradable en las zonas dañadas para aliviar el dolor (a través de un analgésico contenido en la composición) y para que actuara como amortiguador entre las partes de hueso y de tejido rotas tras la gelificación. El gel también evitaría la adhesión no deseada de los tejidos y los huesos dañados para prevenir la formación de tejido cicatricial. Esto daría a los cirujanos más tiempo para planificar la cirugía reconstructiva y causaría menos un menor traumatismo al paciente durante la cirugía reconstructiva, porque se retrasaría la cicatrización espontánea durante algunos días. Para el momento que los cirujanos estuvieran listos, el gel habría empezado a degradarse o los bloques de gel restantes se podrían retirar enfriándolos con el uso de fluidos o instrumentos fríos, y retirar luego el gel licuado por succión.

55 Ejemplo 8: Inyección de un termogel que contiene proteínas osteogénicas y/o morfogénicas óseas en los discos intervertebrales o el cartílago articular para la detención o degeneración inversa de los tejidos enfermos o dañados

Se preparó una composición del termogel con una LCST de 37 °C que contenía, entre otros componentes, el factor de crecimiento TGF-beta-3, u otra proteína osteogénica o morfogénica ósea. Se inyectó la composición en su forma líquida en el disco intervertebral usando una aguja de bajo calibre o una cánula de pequeño diámetro. Al alcanzarse la LCST, la composición se gelificaría y mantendría el factor de crecimiento *in situ* durante un período de tiempo, liberándolo de una manera más lenta que la inyección directa de una solución no gelificante.

REIVINDICACIONES

1. Un copolímero de tres bloques anfifílico B-A-B, en el que A es un bloque de poli(etilenglicol) lineal que tiene un peso molecular medio en número (PM_n) de entre 500 y 3.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión por tamaño; en el que B son bloques hidrófobos que comprenden al menos dos monómeros cíclicos, teniendo cada bloque B un peso molecular medio en número (PM_n) de entre 400 y 3.000 Da, determinado por cromatografía de exclusión por tamaño; y en el que del 25 % al 100 % de los grupos terminales hidroxilo del polímero están modificados covalentemente con al menos un derivado de un ácido graso C_2 - C_{20} y en el que el bloque B comprende:
- combinaciones de monómeros que comprenden glicolida y un monómero del grupo de 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona; o
 - combinaciones de monómeros que comprenden lactida y un monómero del grupo de 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona; o
 - combinaciones de monómeros que comprenden 1,3-dioxan-2-ona y un monómero del grupo de 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona; o
 - combinaciones de monómeros que comprenden ϵ -caprolactona y un monómero del grupo de 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona.
2. El copolímero de tres bloques anfifílico de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la relación entre bloques, que se define como la relación entre la suma del peso molecular medio en número de los bloques B y el peso molecular medio en número del bloque A, varía entre 0,5 y 3.
3. El copolímero de tres bloques anfifílico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que el peso molecular medio en número (PM_n) de cada bloque B varía entre 400 y 2.000 Da.
4. El copolímero de tres bloques anfifílico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que los derivados de ácidos grasos usados para modificar los grupos terminales hidroxilo del polímero se seleccionan del grupo que consiste en derivados de ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linoleico, ácido gamma-linoleico, ácido estearidónico, ácido ruménico, ácido beta-caléndico, ácido eleosteárico, ácido punínico, ácido parinárico, ácido pinolénico, ácido araquídico, ácido eicosenoico, ácido eicosadienoico, ácido eicosatrienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido Mead, ácido eicosatetraenoico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico.
5. El copolímero de tres bloques anfifílico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al menos el 90 % de los grupos terminales hidroxilo del polímero están modificados covalentemente con al menos un derivado de ácido graso C_2 - C_{20} .
6. El copolímero de tres bloques anfifílico B-A-B de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el copolímero comprende poli(etilenglicol) (PEG) como bloque A que tiene un peso molecular medio en número de entre 1.000 y 2.500 Da, determinado por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC); siendo los bloques B bloques hidrófobos que comprenden al menos dos monómeros cíclicos seleccionados del grupo que consiste en glicolida, lactida, ϵ -caprolactona, 1,3-dioxan-2-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona, teniendo cada bloque B un peso molecular medio en número de entre 400 y 2.500, determinado por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC); en el que el copolímero de tres bloques anfifílico tiene una relación entre los bloques, que se define como la relación entre la suma del peso molecular medio en número de los bloques B y el peso molecular medio en número del bloque A, de entre 0,5 y 2,5; y en el que del 25 % al 100 % de los grupos terminales hidroxilo están modificados covalentemente con al menos un derivado de un ácido graso C_2 - C_{20} , siendo los ácidos grasos seleccionados del grupo que consiste en derivados de ácido acético, ácido butírico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linoleico, ácido gamma-linoleico, ácido estearidónico, ácido ruménico, ácido beta-caléndico, ácido eleosteárico, ácido punínico, ácido parinárico, ácido pinolénico, ácido araquídico, ácido eicosenoico, ácido eicosadienoico, ácido eicosatrienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido Mead, ácido eicosatetraenoico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico; y en el que el bloque B no incluye la combinación de glicolida y lactida ni la combinación de lactida y ϵ -caprolactona.
7. Una composición que comprende al menos un copolímero de tres bloques anfifílico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un disolvente médicamente aceptado.
8. La composición de la reivindicación 7 que comprende además al menos un agente terapéuticamente activo.
9. Una composición de la reivindicación 8 en la que el agente terapéuticamente activo se selecciona del grupo que consiste en nutrientes, productos farmacéuticos (entidades moleculares pequeñas), proteínas y péptidos, vacunas, materiales genéticos (tales como polinucleótidos, oligonucleótidos, plásmidos, ADN y ARN), agentes de diagnóstico, agentes de generación de imágenes, enzimas, secuencias de ácidos nucleicos, antígenos, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, virus, materiales basados en virus, células, subestructuras celulares, factores de crecimiento,

antibióticos, compuestos antiinflamatorios, inmunomoduladores, compuestos antitrombogénicos, fármacos contra la claudicación, fármacos antiarrítmicos, fármacos antiateroscleróticos, antihistamínicos, fármacos contra el cáncer, fármacos vasculares, fármacos oftálmicos, aminoácidos, vitaminas, hormonas, neurotransmisores, neurohormonas, enzimas, moléculas de señalización, medicamentos psicoactivos, fármacos sintéticos, fármacos semisintéticos, fármacos naturales y sustancias derivadas de los mismos, o combinaciones de los anteriores.

5

10. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-9, en la que el disolvente médicamente aceptado comprende agua y el copolímero está presente a una concentración superior a su concentración micelar crítica (CMC), de modo que se forman micelas en una solución acuosa, quedando el agente terapéuticamente activo atrapado en la micelas.

10

11. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7-10, en la que el disolvente médicamente aceptado comprende agua, y la composición, que es una solución acuosa, tiene una temperatura crítica inferior de disolución (LCST) de entre 4 y 37 °C, de modo que la solución acuosa sufre una transición sol-gel que comienza entre los 4 y 37 °C.

15

12. Un dispositivo médico que comprende una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7-11.