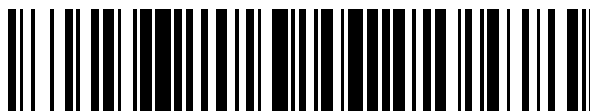


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 679 195**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/56** (2007.01)  
**A61K 47/60** (2007.01)  
**A61K 47/32** (2006.01)  
**A61K 47/34** (2007.01)  
**A61K 9/16** (2006.01)  
**A61K 9/51** (2006.01)  
**A61K 9/107** (2006.01)  
**A61K 31/573** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.09.2009 PCT/NL2009/050556**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **25.03.2010 WO10033022**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2009 E 09788322 (7)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.05.2018 EP 2349345**

54 Título: **Método para la preparación de un sistema de liberación controlada**

30 Prioridad:

**18.09.2008 US 192303 P**

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

**22.08.2018**

73 Titular/es:

**CRISTAL DELIVERY B.V. (100.0%)  
Oxfordlaan 55  
6229 EV Maastricht, NL**

72 Inventor/es:

**RIJCKEN, CRISTIANNE JOHANNA FERDINAND;  
HENNINK, WILHELMUS EVERHARDUS y  
VAN NOSTRUM, CORNELIS FRANCISCUS**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 679 195 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

Método para la preparación de un sistema de liberación controlada

5 La presente invención se refiere a un método para la preparación de un sistema de liberación controlada y especialmente a un método para atrapar compuestos en portadores poliméricos adecuados para la liberación controlada de ingredientes activos, preferentemente ingredientes bioactivos, tales como fármacos. Este método da como resultado un sistema para la liberación controlada de ingredientes activos y especialmente para el suministro controlado de fármacos. De acuerdo con la presente invención, el término "liberación controlada" abarca todos los tipos de liberación controlada, que incluyen liberación lenta, liberación sostenida y liberación retardada. Particularmente, la presente invención da como resultado ingredientes activos atrapados o de otra manera incorporados en o acoplados a portadores poliméricos o dispositivos poliméricos, tales como micelas, nanopartículas, microesferas, hidrogeles y otros tipos de portadores poliméricos o dispositivos para la liberación controlada; los ingredientes activos están unidos a, y especialmente unidos covalentemente a los dispositivos o portadores poliméricos. El alcance de la invención se define por las reivindicaciones adjuntas. Los portadores poliméricos nanoparticulados, como las micelas, se consideran candidatos prometedores para el suministro dirigido de fármacos. Estos sistemas pueden construirse de tal manera que tengan un denominado efecto mejorado de permeación y retención en una variedad de áreas afectadas. Dichos dispositivos poliméricos para el suministro dirigido pueden contener una amplia variedad de ingredientes bioactivos, entre los cuales se encuentran los fármacos hidrófobos.

20 Con respecto a esto, puede hacerse referencia a US-B-7,425,581 y EP-A-1 776 400, que describe micelas basadas en copolímeros en bloque de PEG-polimetacrilamida modificados hidrófobamente. Estos polímeros presentan una combinación única de sensibilidad a la temperatura y biodegradabilidad, que proporcionan a las micelas un fácil cargado del fármaco y propiedades de liberación controlada, respectivamente.

25 Además, se demostró por Rijcken y otros en Biomaterials 28 (2007), 5581-5593 que el entrecruzamiento de, *es decir*, la conjugación covalente de polímeros en un núcleo micelar era esencial para que se produjera una circulación sanguínea prolongada de las micelas después del suministro intravenoso en ratones. Además, encontraron que las micelas entrecruzadas vacías se acumulan hasta un nivel 6 veces mayor en el tejido tumoral con respecto a con las micelas no entrecruzadas.

30 Sin embargo, la encapsulación no covalente (física) de fármacos u otros ingredientes activos en micelas poliméricas (u otros dispositivos) a menudo da como resultado la pérdida rápida de los ingredientes activos, especialmente después de aplicarse al sistema al que los ingredientes activos son dirigidos para ejercer su actividad, tales como *in vivo*. Esto se debe a la rápida difusión del fármaco y/o a la desintegración prematura del portador. Aunque este último mecanismo puede prevenirse o al menos retrasarse mediante el entrecruzamiento de las micelas, los compuestos farmacológicos atrapados no covalentemente en estos núcleos micelares entrecruzados fueron propensos a la liberación súbita, inmediatamente después de la introducción en el cuerpo de un ser humano o de un animal, como a través de inyección intravenosa. Esta liberación rápida a partir de las micelas estabilizadas es el resultado de la difusión del fármaco.

35 Además, se encontró que las propiedades de las micelas que contienen fármacos atrapados no covalentemente, tal como se describe en las mencionadas US-B-7,425,581 y EP-A-1 776 400, son afectadas de manera negativa como resultado de un procesamiento agresivo, por ejemplo, liofilización. Especialmente en aplicaciones médicas y en particular en aplicaciones de suministro de fármacos, es importante una buena estabilidad de almacenamiento de las partículas cargadas con fármaco. La presente descripción contempla métodos para proporcionar estabilidad a largo plazo del producto para los sistemas de suministro de fármacos, por ejemplo mediante liofilización (liofilización).

40 En la técnica anterior, se desarrollaron métodos para la encapsulación covalente de fármacos. En la encapsulación covalente, los ingredientes activos, tales como moléculas de fármaco, se unen químicamente a las cadenas poliméricas. Estos polímeros pueden ser hidrófilos y, en consecuencia, tales sistemas se denominan conjugados de polímero-fármaco que pueden suministrarse como tales. Alternativamente, el polímero puede ser anfifílico y en un entorno acuoso, se forman micelas que pueden suministrarse como tales. Dichos tipos de micelas pueden, después del suministro intravenoso, presentar problemas de estabilidad, llevando a una desintegración en los componentes separados. La modificación del polímero puede realizarse, por ejemplo, mediante síntesis orgánica.

45 Ulbrich y otros describen en un artículo en J. Contr.Rel.87 (2003), 33-47, un copolímero de HPMA soluble en agua conjugado con el fármaco anticancerígeno doxorubicina. La doxorubicina está unida al portador polimérico a través de un espaciador lábil hidrolíticamente que contiene un enlace de hidrazona o *cis*-residuo de ácido aconítico.

50 Los conjugados con doxorubicina escindible hidrolíticamente también se describen por Rihová y otros en J. Contr.Rel.74 (2001), 225-232, y Kovár y otros en J. Contr.Rel.99 (2004) 301-314.

55 Un sistema portador polimérico micelar para la doxorubicina se describe por Nakanishi y otros en J. Contr.Rel.74 (2001) 295-302. En primer lugar, la doxorubicina se conjuga con un copolímero en bloque de polietilenglicol y ácido poliaspártico. A continuación, se forma un sistema portador micelar, disolviendo este polímero modificado en un entorno acuoso. Este sistema portador incluye adicionalmente doxorubicina libre (atrapada físicamente).

5 En Panarin y otros, *Pharmaceutical Chemistry Journal* 23, (1989), 689-694, se describen derivados de glucocorticoides que se derivatizan con polímeros solubles en agua. En particular, se describe que la hidrocortisona, la prednisolona o la dexametasona se acilan por un copolímero de vinilpirrolidona con anhídrido maleico para formar poliésteres de dichos glucocorticoides.

10 El enlace covalente de las moléculas de fármaco también puede producirse mediante la copolimerización de derivados polimerizables de fármacos después de la síntesis del polímero. En Davaran y otros, *J. Contr.Rel.*58 1999, 279-287, los monómeros que contienen fármaco se copolimerizan mediante radicales libres con ácido metacrílico o metacrilato de hidroxietilo. La cadena principal de polímero acrílico porta las unidades de fármaco como sustituyentes laterales unidos a través de enlaces hidrolizables, tales como enlaces éster o amida.

15 Otro ejemplo en donde las moléculas de fármaco están unidas covalentemente en un copolímero puede encontrarse en Gallardo y otros, *J. Contr.Rel.*71 1999, 127-140. En este documento, se describe un sistema de suministro de fármacos basado en un copolímero de metacrilato de 2-hidroxietilo y derivados metacrílicos que incorporan ibuprofeno o ketoprofeno a través de un enlace de éster lábil.

20 Las desventajas de estos conocidos sistemas son la necesidad de realizar síntesis orgánica para acoplar las moléculas de fármaco a las cadenas poliméricas de alto peso molecular (con los consiguientes desafíos) y la necesidad de desarrollar un nuevo polímero para cada molécula de fármaco lo cual limita la aplicabilidad de una tecnología nueva de una plataforma polimérica. Además, en los conjugados polímero-fármaco se usan principalmente polímeros solubles en agua para el enlace covalente de las moléculas de fármaco, lo cual limita a menudo la aplicación de estos conjugados polímero-fármaco a fármacos solubles en agua. Además, los conjugados de polímero hidrófilo-fármaco son menos estables en solución acuosa ya que estos permanecen en contacto con la solución acuosa y, por tanto, se degradan fácilmente.

25 De acuerdo con la presente invención, se proporciona un método en donde se superan las desventajas mencionadas anteriormente. Es decir, se proporciona un método en donde los ingredientes activos tales como moléculas de fármaco primero se atrapan covalentemente en las fases poliméricas, y especialmente en fases ricas en polímero, en un entorno acuoso, y subsecuentemente se conjugan a una red polimérica 3D.

30 Particularmente, de acuerdo con la presente invención, se encontró un método para la preparación de un sistema de liberación controlada que comprende una matriz polimérica que incorpora un ingrediente activo, dicho método comprende las etapas de:

35 (i) mezclar un ingrediente activo que comprende una porción reactiva polimerizable acoplada al ingrediente activo a través de un enlazador degradable, con una solución o dispersión acuosa que comprende cadenas poliméricas que comprenden al menos una porción reactiva polimerizable, capaz de reaccionar con la porción reactiva del ingrediente activo, las cadenas poliméricas además son capaces de entrecruzarse intra o intermolecularmente; y  
40 (ii) someter esta mezcla a entrecruzamiento formando una matriz polimérica en condiciones tales que simultáneamente con la formación de la matriz polimérica el ingrediente activo queda atrapado en esta matriz polimérica, es decir en la red polimérica formada, en donde las cadenas poliméricas son cadenas poliméricas termosensibles y se seleccionan de (co)polímeros basados en ésteres de *N*-hidroxialquil(met)acrilamida o *N*-(metil)acrilolil aminoácidos modificados hidrófobamente. En la etapa (i) las cadenas poliméricas preferentemente interactúan entre sí (véase a continuación) formando subfases de polímero en una fase acuosa. Es decir, se crean fases relativamente ricas en cadenas poliméricas y fases relativamente pobres en cadenas poliméricas. En el mejor caso, el ingrediente activo tiene una preferencia por estar presente en las fases ricas en cadenas poliméricas. Se produce una subdivisión de los ingredientes activos en las subfases ricas en cadenas poliméricas en base a las interacciones físicas entre los ingredientes activos y las cadenas poliméricas.

50 En la etapa (i), los ingredientes activos no forman conjugados covalentes con las cadenas poliméricas. Solo en la etapa de entrecruzamiento (ii), los ingredientes activos y las cadenas poliméricas forman una red 3D.

55 Los ingredientes activos se unen covalentemente al portador polimérico simultáneamente con el entrecruzamiento de los polímeros que forman el portador o dispositivo polimérico. Los conjugados de ingrediente activo-polímero entrecruzado que se forman mediante el uso del método de la presente invención, exhiben una estabilidad termodinámica superior a la de las partículas de polímero no entrecruzadas. Además, debido a la unión covalente al portador polimérico, se evita que las moléculas de fármaco atrapadas se liberen rápidamente.

60 El método de la invención no requiere el acoplamiento previo de moléculas de fármaco directamente a las cadenas poliméricas individuales, reteniendo de esta manera las propiedades iniciales de los polímeros utilizados por completo, tales como propiedades termosensibles y/o la facilidad de formación de micelas cargadas con fármaco. El uso de un tipo fijo de polímero, por ejemplo, copolímeros en bloque biodegradables termosensibles, proporciona una tecnología de plataforma ampliamente aplicable que permite un cambio/optimización rápido y fácil de la composición de los dispositivos cargados con fármaco.

El método es aplicable a todos los ingredientes activos que interaccionan de forma no covalente con cadenas poliméricas que son capaces de formar portadores poliméricos después del entrecruzamiento. En la fase acuosa, las cadenas poliméricas (antes de la etapa de entrecruzamiento) se ensamblan preferentemente en una estructura determinada, o al menos en dominios ricos en cadenas poliméricas; y los ingredientes activos se localizan en estos ensambles. Todos los tipos de interacciones físicas son posibles (ver a continuación) pero en una modalidad preferida, los ingredientes activos son bastante hidrófobos, o al menos no hidrófilos.

El único requisito adicional es que el ingrediente activo contenga una porción (o puede modificarse con un sustituyente reactivo) que sea capaz de reaccionar con una porción de las cadenas poliméricas que forman la base del dispositivo o portador polimérico.

Mediante el atrapamiento covalente de las moléculas de fármaco en el núcleo del portador, tal como en el núcleo micelar, los fármacos se beneficiarán de la circulación sanguínea prolongada en el cuerpo del portador entrecruzado y, en consecuencia, llevará a concentraciones elevadas de fármaco en el tejido tumoral, y de esta manera la presente invención tiene ventajas sobre las citadas anteriormente US-B-7,425,581 y EP-A-1 776 400.

Además, los productos preparados mediante el método de la presente invención pueden obtener una estabilidad a largo plazo del producto al someterlos a liofilización. Por ejemplo, las micelas cargadas con fármaco preparadas de acuerdo con el método de la invención pueden liofilizarse fácilmente y posteriormente resuspenderse sin pérdida de morfología; como polvo seco, se obtiene una larga vida útil.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a un método para el atrapamiento no covalente de moléculas (fármaco) en portadores poliméricos en un entorno acuoso, de manera que las cadenas poliméricas del portador polimérico contienen al menos una porción reactiva. Este atrapamiento no covalente es seguido de una reacción de entrecruzamiento simultáneo entre las moléculas (fármaco) opcionalmente, aunque generalmente modificadas, y las cadenas poliméricas, formando de esta manera una red entrelazada.

Los dispositivos poliméricos cargados con fármaco resultantes, tales como micelas, no muestran una liberación prematura del ingrediente activo, pero demuestran una circulación sanguínea prolongada. Esto resulta, por ejemplo, en una acumulación en tumores mejorada (considerablemente)

Cuando el fármaco es atrapado a través de un enlazador degradable, se asegura una liberación constante del compuesto terapéuticamente activo. La liberación controlada de las moléculas (fármaco) a partir del portador se lleva a cabo mediante la escisión del enlazador, o grupo de enlace, preferentemente degradable, entre el ingrediente activo, tal como una molécula de fármaco, y el portador polimérico, bajo condiciones fisiológicas, o mediante desencadenantes ambientales locales, o estímulos externos como se explica y elabora, a continuación. Además, la encapsulación previene la exposición de la sangre a altos niveles tóxicos del fármaco que de otra manera estarían presentes inmediatamente después del suministro intravenoso de los fármacos libres. Más importante aún, al evitar la migración del fármaco a los tejidos normales, los efectos tóxicos agudos pueden ser disminuidos. De otra manera, las moléculas (fármaco) están completamente protegidas del entorno por confinamiento en la red tridimensional formada del portador polimérico entrecruzado, tal como un núcleo micelar entrecruzado, evitando de esta manera una degradación prematura y/o aclaramiento. Estos aspectos únicos suministran el fármaco en el lugar y el momento correctos, y en una dosis eficaz anticipada.

El método escalonado de la invención comprende dos etapas consecutivas esenciales.

En la primera etapa, se mezclan un polímero entrecruzable y un ingrediente activo en un entorno acuoso. Esto se logra preferentemente añadiendo el ingrediente activo, opcionalmente en un solvente adecuado que es preferentemente agua o un solvente miscible en agua tal como un alcohol inferior como etanol o tetrahidrofurano, a una solución o dispersión de polímero acuoso. El polímero presente y el ingrediente activo se seleccionan de modo que el polímero y el ingrediente activo entren en contacto íntimo, y en una modalidad preferida, el ingrediente activo tiene preferencia por estar en contacto con las cadenas poliméricas. En otras palabras, en la primera etapa, las interacciones físicas no covalentes entre las cadenas poliméricas y el ingrediente activo dan como resultado la localización selectiva de los compuestos en regiones específicas de un dispositivo polimérico.

Como resultado de la primera etapa, las moléculas que forman los ingredientes activos quedan atrapadas de forma no covalente en y entre las cadenas poliméricas en solución. En la presente descripción y las reivindicaciones adjuntas, el concepto de "interacción no covalente" significa cualquier interacción que no es covalente, es decir, cualquier enlace débil entre átomos o enlaces cuya unión no implica el intercambio de pares de electrones. Los ejemplos de interacción no covalente son interacciones hidrofóbicas, aromáticas, de enlace de hidrógeno, electrostáticas, estereocomplejas e ion-metal.

En la segunda etapa esencial del método de la invención, los ingredientes activos no atrapados covalentemente se acoplan covalentemente a la red de polímero recién formada/formada. Es decir, se lleva a cabo una reacción en donde las cadenas poliméricas están entrecruzadas. Esto puede ocurrir tanto inter como intramolecularmente, pero los entrecruzamientos intermoleculares se prefieren claramente y cualquiera de las etapas que favorezca el

entrecruzamiento intermolecular son modalidades preferidas del proceso reivindicado en la presente descripción. Simultáneamente con la etapa de entrecruzamiento, las porciones reactivas de los ingredientes activos también se entrecruzan conjuntamente y se forma una red entrelazada de los polímeros y los ingredientes activos.

5 A menudo, esta etapa requiere iniciadores, pero también las circunstancias físicas pueden conducir a que las reacciones formen entrecruzamientos y conjugados. En caso de que se requieran iniciadores, estos pueden agregarse a la solución de polímero junto con el ingrediente activo, pero también pueden agregarse al sistema de reacción en una etapa anterior o posterior.

10 Las cantidades adecuadas de ingredientes activos son cantidades de 0,1-30% en peso, preferentemente 0,5-15% en peso, tales como cantidades de 1-10% en peso tomadas del peso de polímero + ingredientes activos. Dado que el grado de incorporación del ingrediente activo puede ser tan alto como 95-100%, pueden incorporarse cantidades similares en la red 3D formada.

15 De acuerdo con un método preferido de la presente invención, los polímeros anfífilicos pueden disolverse completamente en un solvente;

los compuestos (bio)activos pueden estar presentes en el solvente o pueden añadirse después de la disolución de dichos polímeros, y los compuestos (bio)activos formarán una distribución general sobre la solución de polímero; entonces, este sistema puede estar sujeto a un cambio de ciertas circunstancias (*por ejemplo*, temperatura, pH, solvente) que conduce a una situación en la que al menos partes de los polímeros muestran un comportamiento diferente al de otras partes de los polímeros y tiene lugar la agrupación;

20 debido a las propiedades físicas de los agentes (bio)activos, estos agentes se localizan en ciertas regiones de la solución de polímero agrupada recién formada; después de esta localización, se produce el entrecruzamiento para fijar los compuestos (bio)activos en sus regiones preferidas.

En una modalidad preferida del método de la invención, se usan copolímeros en bloque termosensibles. Por ejemplo, el ingrediente activo se mezcla en un entorno acuoso, en donde también está presente un copolímero en bloque termosensible no entrecruzado a una temperatura inferior a su temperatura de solución crítica inferior (LCST) o inferior a su temperatura crítica de formación de micela (CMT). A cualquier temperatura por debajo de esta LCST, el sistema está en solución; a cualquier temperatura por debajo de esta CMT, no ocurre la formación de micelas. Sin embargo, al calentar dichos sistemas, se forman partículas o micelas, atrapando así ingredientes hidrófobos activos en su núcleo hidrófobo. A continuación, la reacción de entrecruzamiento que forma la red micelar entrelazada en el núcleo también se

30 lleva a cabo a una temperatura más alta que la LCST o la CMT. Esta reacción de entrecruzamiento puede acelerarse mediante la adición de un iniciador, antes del calentamiento de la solución de polímero o después de la formación de las partículas o micelas no entrecruzadas. Las cadenas poliméricas que se usan en la presente invención son cadenas poliméricas termosensibles, seleccionadas de (co)polímeros basados en ésteres de *N*-hidroxialquil(met)acrilamida modificados hidrófobamente o -(metil)acrilóil aminoácidos, de acuerdo con las reivindicaciones, *por ejemplo*, copolímeros en bloque termosensibles. Se prefiere copolímeros basados en PEG-*b*-poli(*N*-hidroxialquil metacrilamida-oligolactatos) con unidades de oligolactato parcialmente metacriladas. Pueden usarse varios ésteres de (met)acrilamida para construir el bloque termosensible, *por ejemplo*, ésteres, y preferentemente ésteres de (oligo)lactato, HPMAM (metacrilamida de hidroxipropilo) o HEMAM (hidroxietilmetacrilamida), y ésteres de *N*-(met)acrilóil aminoácido. Los copolímeros en bloque termosensibles pueden derivarse de monómeros que contienen grupos funcionales que pueden modificarse mediante grupos metacrilato, tales como polímeros de HPMAM-lactato.

45 Otros tipos de (co)polímeros termosensibles funcionales, que pueden usarse, son poli(*N*-hidroxialquil)(met)acrilamidas modificadas hidrofóticamente, composiciones de copolímero de *N*-isopropilacrilamida (NIPAAm) con monómeros que contienen grupos funcionales reactivos (*por ejemplo*, acrilamidas ácidas y otras porciones tales como *N*-acriloxisuccinimida) o copolímeros similares de poli(alquil) 2-oxazalinás.

50 Otros grupos termosensibles pueden estar basados en NIPAAm y/o alquil-2-oxaxolinás, cuyos monómeros pueden reaccionar con monómeros que contienen un grupo funcional reactivo tal como (met)acrilamidas o (met)acrilatos que contienen grupos hidroxilo, carboxilo, amina o succinimida.

55 Polímeros termosensibles adecuados se describen en US-B-7,425,581 y en EP-A-1 776 400.

También pueden usarse otros tipos de copolímeros en bloque anfífilicos o micelas iónicas, que no son necesariamente termosensibles y que contienen o pueden modificarse con grupos reactivos entrecruzables. En tales casos, pueden usarse métodos para formar las micelas, descritos en la técnica, como la disolución directa, la diálisis y la evaporación del solvente.

60 Estos otros tipos de polímeros que conforman fases ricas en polímeros en agua (*por ejemplo*, mediante interacciones hidrofólicas o interacciones iónicas) y que contienen porciones reactivas o contienen porciones que pueden usarse para acoplar porciones reactivas, *por ejemplo*, PEG-PLA-metacrilato (*por ejemplo*, como se describe en detalle en Kim y otros, Polym. Adv. Technol., 10 (1999), 647-654), PLA-PEG-PLA metacrilato (*por ejemplo*, como se describe por Lee y otros en Macromol. Biosci. 6 (2006) 846-854), PEG-poli caprolactona metacrilado (*por ejemplo*, como se describe por

Hu y otros en *Macromol. Biosci.* 9 (2009), 456-463), así como también otras porciones reactivas que contienen (co)polímeros en bloque basados en poli ácido láctico, poli ácido láctico ácido glicólico, y/o poli-caprolactonas.

5 También pueden usarse polímeros capaces de formar micelas mediante interacciones iónicas, tales como complejos de ionómero en bloque de poli(óxido de etileno)-b-poli(copolímeros de ácido metacrílico y cationes de metal divalente (*por ejemplo*, como se describe por Kim y otros en *J. Control. Rel.* 138 (2009) 197-204, y por Bontha y otros en *J. Control. Rel.* 114 (2006) 163-174) complejos poliiónicos basados en copolímeros en bloque de poli(etilenglicol) y poli(aminoácido) (*por ejemplo* como se enseña en Lee y otros, *Angew.Chem* 121 (2009) 5413-4516; en Nishiyama y otros en *Cancer Res.* 63 (2003), 8977-8983, o en Miyata y otros, *J. Control.Rel.*109 (2005) 15-23.

10 En general, pueden usarse todos los polímeros que sean capaces de crear diferentes subfases en un sistema disolvente adecuado, junto con agentes (bio)activos que puedan localizarse selectivamente en tales subfases.

15 Los ingredientes activos a atrapar en los polímeros incluyen moléculas de fármacos, péptidos/proteínas, agentes para formación de imágenes, material genético o una combinación de estos compuestos. Preferentemente, estos ingredientes activos deberían ser de una naturaleza tal que estos tiendan a interactuar de una manera física no covalente con las cadenas poliméricas de los polímeros descritos anteriormente en la presente descripción. En una modalidad preferida y cuando se usan los polímeros termosensibles, la invención es especialmente útil para la encapsulación de compuestos hidrófobos. Se obtienen buenos resultados con ingredientes activos que tienen un logP superior a 1, preferentemente superior a 2. Para la definición de logP, se hace referencia a *Chemical Reviews* 1971, volumen 71, número 6.

25 Las cadenas poliméricas y los ingredientes activos contienen o pueden modificarse de manera que contengan porciones reactivas y/o polimerizables, y especialmente porciones polimerizables por radicales libres, incluyendo dobles enlaces terminales (*por ejemplo*, grupos vinilo, (met)acrilato, (met)acrilamida) y compuestos insaturados (*por ejemplo*, cadenas lineales que contienen dobles enlaces carbono-carbono). Es evidente que el ingrediente activo se selecciona o modifica de manera tal que la iniciación por radicales libres únicamente conduce a un enlace formado a partir del grupo reactivo. Esto garantiza que el ingrediente activo mantenga los efectos deseados en la aplicación final prevista.

30 Los polímeros usados deberían contener un número suficientemente alto de sustituyentes reactivos capaces de entrecruzarse y reaccionar con los grupos reactivos de los ingredientes activos. Se obtienen resultados adecuados cuando, por ejemplo, de 10-15% de las unidades monoméricas del polímero tienen un sustituyente reactivo; sin embargo, también hasta el 100% de las unidades monoméricas pueden derivatizarse con sustituyentes reactivos.

35 La velocidad de liberación de los ingredientes activos puede controlarse fácilmente usando diferentes tipos de enlazadores para conjugarse la porción reactiva a los ingredientes activos. Los tipos adecuados de moléculas enlazadoras degradables bien conocidas incluyen ésteres, carbonatos, carbamatos, succinato u ortoésteres, cetales, acetales, hidrazona y enlazadores degradables enzimáticamente (*por ejemplo* péptidos) o una combinación de estos. Además, también pueden usarse todos los tipos bien conocidos de enlazadores sensibles a estímulos, tales como foto/temperatura/ultrasonido sensibles y otros enlazadores. Cuando se modifican los ingredientes bioactivos, uno se ocupa del tipo de conjugación de manera que al liberarse, solo se libere la molécula original y no derivados, para asegurar su actividad terapéutica. Mediante el uso de un enlace biodegradable, el ingrediente activo original, tal como una molécula de fármaco, se liberará de acuerdo con un perfil específico de liberación controlada y subsecuentemente ejercerá su actividad y especialmente su efecto terapéutico.

45 Los productos que se obtienen mediante el método de la presente invención son portadores poliméricos, tales como micelas, nanopartículas, microesferas, hidrogeles y otros tipos de portadores poliméricos o dispositivos que comprenden ingredientes activos atrapados o incorporados para su liberación controlada, tales como dispositivos con un recubrimiento con ingredientes activos atrapados.

50 Como se mencionó, en la segunda etapa esencial del método de la invención, se efectúa el entrecruzamiento y la conjugación. Con respecto a esto, pueden usarse varios tipos de iniciadores (radicales libres) para el entrecruzamiento inducido por polimerización, que incluyen, pero no se limitan a, KPS (persulfato de potasio)/TEMED, fotoiniciadores, iniciadores termolábiles, iniciadores redox y ligandos metálicos para la polimerización metatésica por apertura de anillo. También pueden emplearse técnicas de polimerización viva por radicales libres (*por ejemplo*, Polimerización Radicálica por Transferencia de Átomos (ATRP) y por Transferencia de Cadena por Adición, Fragmentación Reversible (RAFT). Dependiendo de la aplicación final de los ingredientes activos encapsulados, los residuos de los iniciadores pueden eliminarse mediante lavado repetido o mediante otras técnicas conocidas.

60 A manera de ejemplo, se describe la formación de una modalidad específica del método de la presente invención. En esta modalidad, se parte de copolímeros basados en PEG-*b*-poli(*N*-hidroxialquil metacrilamida-oligolactatos) con unidades de oligolactato parcialmente metacriladas. Las moléculas hidrófobas (fármaco) se derivatizan con una porción polimerizable que se une a la molécula del fármaco a través de un enlazador degradable, tal como un éster de carbamato. A continuación se mezcla una solución acuosa de dichos copolímeros en bloque termosensibles con una pequeña cantidad de una solución concentrada (proporción de volumen típicamente 10:1) de moléculas de fármaco hidrófobas (ligeramente) en un solvente orgánico miscible en agua (preferentemente con una temperatura de ebullición

baja *por ejemplo* etanol o tetrahidrofurano) a una temperatura por debajo la CMT de los polímeros, *es decir* estas condiciones no permiten la formación de micelas. Luego, se añade una solución de iniciador (KPS-TEMED), seguido inmediatamente de un calentamiento rápido hasta por encima de la temperatura crítica de formación de micelas (CMT). Esto da como resultado la formación de micelas poliméricas monodispersas (tamaño alrededor de 70 nm) donde los compuestos (fármaco) se localizan no covalentemente en el núcleo hidrófobo a través de interacciones hidrófobas. Después de la formación de las micelas, se crea una atmósfera de nitrógeno. De esta manera, los radicales iniciadores inducirán la polimerización de los polímeros metacrilados y los compuestos farmacológicos polimerizables que tienen una porción reactiva. Este proceso de entrecruzamiento da como resultado la formación de una red entrelazada y fija el fármaco covalentemente dentro del núcleo micelar, sin afectar el tamaño micelar o la uniformidad.

Por lo tanto, las moléculas (fármaco) están atrapadas covalentemente en las micelas entrecruzadas. Las micelas en esta modalidad se expanden por hidratación en un entorno fisiológico después de la hidrólisis (parcial) de las unidades de oligolactato no modificado, después de lo cual el fármaco se libera después de la escisión del enlazador degradable. Esta escisión también puede ser el resultado de desencadenantes ambientales locales o estímulos externos.

El método como se describe en la presente descripción no se limita al uso de polímeros que pueden formar micelas. También permite el atrapamiento no covalente y el posterior entrecruzamiento covalente de moléculas (fármaco) en nanopartículas poliméricas, microesferas, hidrogeles o recubrimientos. Con respecto a la aplicación de estos dispositivos que contienen compuestos (fármacos), la presente descripción abarca los siguientes

- (a) liberación controlada de (fármaco) moléculas atrapadas en las micelas entrecruzadas después del suministro *in vivo*, *por ejemplo* por aplicación oral, inyección en el torrente sanguíneo o por inyección directa en un órgano o tumor;
- (b) liberación controlada del fármaco y/o proteínas atrapadas en una microesfera polimérica entrecruzada o un hidrogel después del suministro localizado; y
- (c) liberación controlada de (fármaco) moléculas después del recubrimiento de un dispositivo que contiene moléculas de fármaco atrapadas, tal como pulverización dual de la solución de polímero acuosa enfriada con hielo y la solución de fármaco (en solvente orgánico) en un dispositivo médico que se mantiene por encima de la temperatura de transición de fase del polímero termosensible. Después del entrecruzamiento subsecuente y la evaporación de los solventes, se forma un recubrimiento entrecruzado.

La invención se ilustrará ahora mediante el siguiente ejemplo.

#### EJEMPLO

En este ejemplo, se eligió dexametasona como compuesto farmacológico modelo debido a su doble mecanismo de acción, *es decir* la regulación negativa de las citocinas proinflamatorias y las señales pro-oncogénicas. En consecuencia, la dexametasona se usa ampliamente como agente antiinflamatorio y, recientemente, se confirmó un efecto antitumoral significativo de los corticosteroides después del suministro dirigido al tumor.

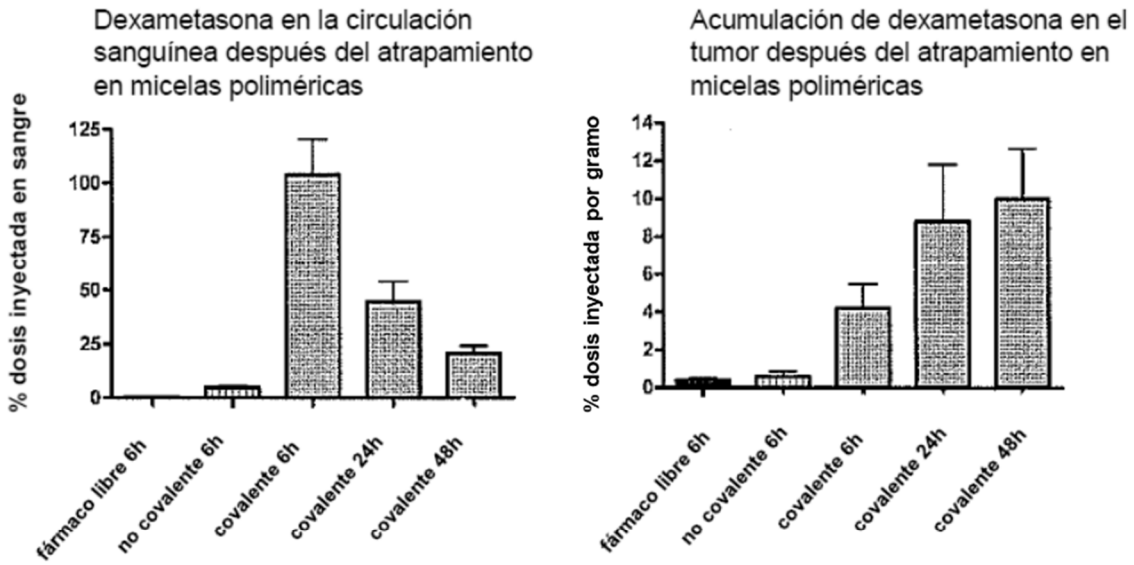
Particularmente, la <sup>3</sup>H-dexametasona fue modificada con una unidad de metacrilato a través de un enlazador degradable de éster de carbamato, y se usó el polímero marcado con <sup>14</sup>C para seguir la farmacocinética y la biodistribución del fármaco y el portador independientemente, por medio de recuento de centelleo de líquido de las muestras de sangre y tejido. La dexametasona modificada se atrapó físicamente mediante la modalidad específica descrita anteriormente, basada en PEG-*b*-poli(*N*-2-hidroxipropilmetacrilamida-oligolactato) con unidades de oligolactato parcialmente metacriladas (CMT de 11 °C), y subsecuentemente, se unió covalentemente al núcleo micelar entrecruzado. Se administraron el fármaco libre, o la dexametasona atrapada no covalentemente o covalentemente en micelas poliméricas entrecruzadas, por vía intravenosa a ratones con tumor B16F10 que fueron sacrificados después de 6, 24 o 48 horas. Los resultados se muestran en la Figura 1, que muestra el perfil de biodistribución y acumulación tumoral del fármaco libre, la dexametasona atrapada en micelas no covalentemente y la dexametasona atrapada covalentemente, después del suministro intravenoso a ratones, donde los ratones se sacrifican después de 6, 24 o 48 horas.

El atrapamiento no covalente de dexametasona no modificada en micelas entrecruzadas no prolongó la circulación sanguínea del fármaco. Sin embargo, en el caso de la dexametasona atrapada covalentemente, más del 95% de las micelas cargadas covalentemente con fármaco aún residían en el torrente sanguíneo después de 6 horas en comparación con el 0,3% de dexametasona libre. Además, se acumuló el diez por ciento de la dosis inyectada de dexametasona unida covalentemente, por gramo de un tumor subcutáneo, lo cual es un aumento de 23 veces en comparación con la dexametasona libre. Finalmente, la biodegradabilidad del enlazador entre el fármaco y las micelas determina la actividad terapéutica del fármaco atrapado.

## Reivindicaciones

- 5 1. Método para la preparación de un sistema de liberación controlada que comprende una matriz polimérica que incorpora un ingrediente activo, que comprende las etapas de:
- 10 (i) mezclar un ingrediente activo que comprende una porción reactiva polimerizable acoplada al ingrediente activo a través de un enlazador degradable, con una solución o dispersión acuosa que comprende cadenas poliméricas que comprenden al menos una porción reactiva polimerizable, capaz de reaccionar con la porción reactiva del ingrediente activo, las cadenas poliméricas además son capaces de entrecruzarse intra o intermolecularmente; y
- 15 (ii) someter esta mezcla a entrecruzamiento formando una matriz polimérica en condiciones tales que, simultáneamente con la formación de la matriz polimérica, el ingrediente activo quede atrapado covalentemente en esta matriz polimérica, en donde las cadenas poliméricas son cadenas poliméricas termosensibles y se seleccionan de (co)polímeros basados en ésteres modificados hidrófobamente de *N*-hidroxialquil(met)acrilamida o *N*-(metil)acrilolil aminoácidos.
- 20 2. El método de la reivindicación 1, en donde las cadenas poliméricas en la etapa (i) forman fases ricas en cadenas poliméricas en una fase acuosa continua.
- 25 3. El método de la reivindicación 2, en donde el ingrediente activo está presente en una concentración más alta en las fases poliméricas con relación a la fase acuosa, y preferentemente está fundamentalmente presente en las fases poliméricas.
- 30 4. El método de la reivindicación 1, en donde el ingrediente activo se mezcla en el entorno acuoso, en donde también las cadenas poliméricas no entrecruzadas están presentes inicialmente a una temperatura inferior a la temperatura de solución crítica inferior (LCST), después de lo cual la etapa (ii) se lleva a cabo a una temperatura superior a la LCST; o a una temperatura inferior a la temperatura crítica de formación de micelas (CMT), después de lo cual la etapa (ii) se lleva a cabo a una temperatura superior a la CMT.
- 35 5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4, en donde las cadenas poliméricas contienen grupos funcionales metacrilados, tales como (co)polímeros de *N*-hidroxialquil metacrilamida-oligolactatos, que incluyen ésteres (oligo)lactato de HPMAM (metacrilamida de hidroxipropilo) o HEMAM (hidroxietilmetacrilamida).
- 40 6. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde las cadenas poliméricas termosensibles incluyen también monómeros derivados de *N*-isopropilacrilamida y/o alquil-2-oxazalinas.
- 45 7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde se usan micelas, micropartículas de hidrogel y/o polímeros formadores de recubrimientos basados en dichos polímeros termosensibles.
- 50 8. El método de la reivindicación 7, que son copolímeros di- o tribloque con PEG.
9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el ingrediente activo es una molécula de fármaco, un péptido, una proteína, un agente para la formación de imágenes, material genético o una combinación de estos compuestos.
- 55 10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las cadenas poliméricas y los ingredientes activos contienen porciones polimerizables por radicales libres.
11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde las porciones polimerizables, y especialmente las polimerizables por radicales libres comprenden dobles enlaces terminales, y preferentemente grupos vinilo, grupos (met)acrilato, grupos (met)acrilamida; o son compuestos insaturados, y preferentemente cadenas lineales que contienen dobles enlaces carbono-carbono.





**Figura 1.** Perfil de biodistribución y acumulación en el tumor del fármaco libre, dexametasona atrapada covalentemente y dexametasona atrapada no covalentemente en micelas poliméricas estabilizadas, después del suministro intravenoso en ratones. Los ratones fueron sacrificados después de 6, 24 o 48 horas.