

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 702 943**

51 Int. Cl.:

C01B 33/16 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)
C04B 35/624 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.02.2005 PCT/FI2005/050046**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **09.09.2005 WO05082781**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.02.2005 E 05717300 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2018 EP 1718564**

54 Título: **Método para preparar SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible ajustable**

30 Prioridad:

27.02.2004 US 548113 P
27.02.2004 FI 20040312

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.03.2019

73 Titular/es:

DELSITECH OY (100.0%)
Itäinen Pitkätatu 4 B
20520 Turku, FI

72 Inventor/es:

JOKINEN, MIKA;
VIITALA, REETA y
JALONEN, HARRY

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 702 943 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 preparar SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible ajustable

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un método para ajustar la velocidad de biorresorción de SiO₂ derivado de sol-gel. La presente invención se refiere además a SiO₂ derivado de sol-gel que se puede obtener con el método.

Antecedentes de la invención

Los trabajos publicados y otros materiales bibliográficos utilizados en la presente memoria para esclarecer los antecedentes de la invención, y en particular, los casos para proporcionar detalles adicionales con respecto a la práctica, se incorporan como referencia.

10 El SiO₂ derivado de sol-gel se prepara comúnmente a partir de alcóxidos o silicatos inorgánicos que, a través de la hidrólisis, forman un sol que contiene especies de sílice parcialmente hidrolizadas o ácido silícico totalmente hidrolizado. Las reacciones de condensación consecuentes de las especies que contienen SiOH dan lugar a la formación de especies de sílice más grandes con una cantidad creciente de enlaces de siloxano. Además, las especies se acumulan, forman partículas nanométricas y/o agregados más grandes hasta que se forma un gel. Los soles
15 derivados de alcóxidos proporcionan posibilidades para ajustar las formaciones de enlace de siloxano y la formación de agregados debido a la posibilidad de hidrólisis parcial. Las reacciones (típicamente a ≤ 40 °C) suelen ser catalizadas por ácidos minerales (tales como HCl y HNO₃) o bases (tal como NH₃). A continuación, el gel formado se envejece (típicamente a ≤ 40 °C), se seca (típicamente a ≤ 40 °C) y/o se trata con calor (típicamente a ≤ 700 °C) hasta obtener la forma deseada, lo que generalmente da como resultado SiO₂ amorfo y poroso. La última etapa, el tratamiento
20 térmico a temperaturas elevadas (50-700 °C) generalmente se omite si el sistema contiene un agente biológicamente activo. Los geles que se secan a temperatura moderada (a ≤ 50 °C) se denominan xerogeles (< Gr. xero = seco). Se sabe que el SiO₂ derivado de sol-gel amorfo y poroso es biocompatible y se sabe que se disuelve en el tejido vivo, así como en disoluciones que simulan la parte inorgánica del fluido corporal humano auténtico, por ejemplo, en una disolución acuosa tamponada a pH 7,4 a 37 °C con o sin sales inorgánicas encontradas en fluidos corporales auténticos.
25

Los términos y expresiones utilizados para la degradación de un material en, o en contacto con, los organismos vivos, por ejemplo, tejido vivo o en contacto con plantas, microbios, etc., son numerosos. Los términos "biodegradable/biodegradación" se usan a menudo como una definición general de degradación en, o en contacto con, organismos vivos. Los términos también se usan, especialmente con respecto a los polímeros a base de carbono para describir que el mecanismo de degradación puede incluir, tanto la disolución en fluidos corporales como la degradación enzimática de la matriz polimérica. Con respecto a los polímeros a base de carbono, esto a menudo significa, o bien una disminución en el peso molecular, o bien la pérdida de masa, o ambos. Los términos "biorresorbible/biorresorción" y "bioabsorbible/bioabsorción" se usan a menudo para describir la degradación de materiales en, o en contacto con, el organismo vivo, mayormente para biomateriales implantados en tejido vivo que describen un mecanismo de degradación principalmente gobernado por disolución en los fluidos corporales o por un mecanismo que no se conoce exactamente. La biorresorción se utiliza a menudo para biomateriales cerámicos implantables, tales como vidrios bioactivos o SiO₂ derivado de sol-gel. Las expresiones generales de "disolución/soluble en fluidos corporales" se utilizan a menudo para biomateriales implantados en el tejido vivo. Los términos "(bio)erosión/(bio)erosionable" se usan más a menudo en la administración de fármacos, especialmente porque es deseable distinguir entre los mecanismos que controlan la liberación. La erosión de superficie describe un material que es tan hidrófobo que la absorción de agua no se produce y la disolución/degradación se produce en la superficie, y el material erosionable en su interior permite la absorción de agua.
30
35
40

La importancia de los materiales bioabsorbibles está creciendo en la liberación controlada de agentes biológicamente activos. A menudo es deseable administrar fármacos como implantes o como matrices inyectadas, ya sea para lograr resultados locales y/o más eficaces en un tejido deseado o un efecto sistémico controlado. Un gran grupo potencial de agentes biológicamente activos para este fin son los fármacos biotecnológicamente producidos. El número de estos fármacos está creciendo rápidamente y se acelera por la exitosa investigación sobre el genoma humano. Los nuevos fármacos biotecnológicos suelen ser de mayor tamaño, tales como péptidos, proteínas y polisacáridos, y la administración oral directa es difícil debido a la descomposición intestinal. Además, las matrices bioabsorbibles son materiales potenciales para optimizar la administración de moléculas pequeñas mediante implantación, por ejemplo, para evitar la administración varias veces al día o para optimizar la docilidad del paciente para la terapia con fármacos. Además, los materiales biorresorbibles son matrices potenciales, ya que es deseable evitar operaciones de eliminación adicionales que se realizan comúnmente para matrices de administración bioestables (tal como PDMS, polidimetilsiloxano). Los materiales que tienen tamaños de poros entre 1 y 100 nm están en el mismo orden de magnitud que el tamaño de muchos péptidos y proteínas, pero solo la liberación controlada por difusión a menudo está lejos de ser la óptima.
45
50
55

El documento de patente WO 93/04196 de Zink et al., describe la idea de encapsular enzimas en un vidrio transparente poroso, preparado con un método sol-gel. El propósito es inmovilizar las enzimas en la estructura de los poros y, por

lo tanto, se debe evitar la liberación de las enzimas. Estos vidrios porosos y transparentes se pueden usar para preparar sensores para la detección cualitativa y cuantitativa de compuestos orgánicos e inorgánicos, que reaccionan con el material atrapado. El radio de poro en estos vidrios es tan pequeño (menos de aproximadamente 4 nm) que los materiales biológicamente activos atrapados no se pueden difundir fuera del vidrio.

5 El documento de patente WO96/03117 de Ducheyne et al., describe portadores de liberación controlada, donde las moléculas biológicamente activas se incorporan dentro de la matriz de un vidrio a base de sílice. En este caso, los vidrios a base de sílice son generalmente vidrios multicomponentes, y 100 % de SiO₂ es un caso especial, con una disolución muy deficiente. Se afirma que la liberación de las moléculas biológicamente activas del portador se produce principalmente por difusión a través de la estructura de los poros y no se menciona que la biorresorción afecte la liberación de agentes biológicamente activos.

10 El documento de patente WO 97/45367 de Ahola et al., describe xerogeles de sílice controlados disolubles preparados mediante un procedimiento sol-gel. La preparación de óxidos disolubles (xerogeles de sílice) se lleva a cabo mediante gelificación y evaporación simultáneas y se refiere principalmente a pequeñas partículas producidas mediante secado por pulverización o fibras producidas por estiramiento. El documento de patente WO 01/13924 de Ahola et al., describe la liberación controlada de un agente biológicamente activo a partir de un xerogel de sílice derivado de sol-gel. Estas invenciones proporcionan dispositivos de administración de liberación sostenida y/o controlada para agentes biológicamente activos, pero no proporcionan métodos para ajustar la biorresorción o proporcionan solamente medios muy limitados para ajustar la biorresorción.

15 El documento de patente WO 00/50349 de Jokinen et al., y el documento de patente WO 01/40556 de Peltola et al., describen métodos para la preparación de fibras de sílice derivados de sol-gel. El documento de patente WO 00/50349 describe un método para ajustar la velocidad de biodegradación de las fibras al controlar la viscosidad del procedimiento de hilatura. El documento de patente WO 01/40556 describe un método para preparar una fibra de sílice derivado de sol-gel bioactivo.

20 El documento de patente WO 02/080977 de Koskinen et al., describe un método para la preparación de un xerogel de sílice biodegradable que comprende infectar y/o transfectar virus.

25 La técnica anterior no proporciona medios versátiles para preparar SiO₂ derivado de sol-gel con velocidades de biorresorción adaptadas. En particular, no proporciona medios para preparar SiO₂ derivado de sol-gel con una velocidad de biorresorción muy rápida.

Objetos y compendio de la invención

30 Un objeto de la presente invención es proporcionar un método para preparar un SiO₂ derivado de sol-gel con una velocidad de biorresorción muy rápida.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un método para ajustar la velocidad de biorresorción de SiO₂ derivado de sol-gel.

35 Otro objeto más de la presente invención es proporcionar un monolito de SiO₂ derivado de sol-gel adaptado para que tenga una velocidad de biorresorción deseada.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un revestimiento de SiO₂ derivado de sol-gel adaptado para que tenga una velocidad de biorresorción deseada.

Un objeto adicional más de la presente invención es proporcionar una partícula de SiO₂ derivado de sol-gel adaptado para que tenga una velocidad de biorresorción deseada.

40 Un objeto de la presente invención es proporcionar también un método para administrar un agente biológicamente activo a un cuerpo humano o de animal, o a una planta.

45 Por lo tanto, la presente invención proporciona un método como se define en la reivindicación 1. El método contempla preparar un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de $\geq 0,5$ mm, revestimiento, preferiblemente con un espesor de $< 0,5$ mm, o partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de ≤ 100 μm , de SiO₂ derivado de sol-gel, con una velocidad de biorresorción muy rápida, comprendiendo opcionalmente dicho SiO₂ un porcentaje o porcentajes específicos de un agente o agentes biológicamente activos distintos del propio SiO₂ con o sin agente o agentes protectores para dicho agente o agentes biológicamente activos, en donde el método comprende un SiO₂ derivado de sol-gel que se prepara a partir de un sol que comprende agua, un alcóxido o silicato inorgánico y un alcohol inferior, es decir, un alcohol con ≤ 4 carbonos, que utiliza un ácido mineral o una base como catalizador, preferiblemente un ácido mineral, y se envejece y seca dicho sol. El método se caracteriza porque

a) en el sol,

i) el pH inicial es de 0,05 a 2,5, preferiblemente de 1,5 a 2,5, lo más preferible de 2,0,

ii) la relación en moles inicial de agua con respecto al alcóxido o silicato inorgánico es de 0,5 a 2,5; preferiblemente de 1,5 a 2,5,

iii) la relación en moles inicial de alcohol con respecto al alcóxido o silicato inorgánico es $\geq 0,5$, preferiblemente $\geq 1,0$; y

5 b) o bien,

i) el sol está, sin cambios inducidos de la composición del sol,

- se deja que se gelifique espontáneamente a una temperatura de ≤ 25 °C o a una temperatura elevada de 65 °C a 90 °C, preferiblemente a una temperatura elevada de 65 °C a 90 °C, o

- la gelificación del sol se realiza mediante secado forzado del sol, o

10 ii) se induce un cambio o cambios en la composición del sol después del envejecimiento del sol, pero antes de la formación del gel, comprendiendo opcionalmente dicho cambio o cambios en la composición del sol la adición de dicho agente o agentes biológicamente activos, con o sin dicho agente o agentes protectores, y

la relación t/t_{gel} es $\geq 0,005$, preferiblemente $\geq 0,1$, lo más preferible $\geq 0,9$,

en donde,

15 t es el tiempo de envejecimiento del sol, es decir, el tiempo desde la preparación de dicho sol hasta los cambios inducidos, y

t_{gel} es el punto en el tiempo en el que el sol se habría convertido en un gel sin los cambios inducidos; y

20 el secado forzado del sol se realiza o inicia dentro de un período de tiempo de ≤ 30 minutos, preferiblemente ≤ 15 minutos, lo más preferible ≤ 5 minutos, a partir de dicho cambio o cambios inducidos.

La presente invención también proporciona un método para ajustar la velocidad de biorresorción del monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de $\geq 0,5$ mm, revestimiento, preferiblemente con un espesor de $< 0,5$ mm, o partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de ≤ 100 μm , de SiO_2 derivado de sol-gel, que comprenden opcionalmente un porcentaje o porcentajes específicos de un agente o agentes biológicamente activos distintos del propio SiO_2 , con o sin agente o agentes protectores para dicho agente o agentes biológicamente activos. La característica del método es que se obtiene un SiO_2 con una velocidad de biorresorción muy rápida, de acuerdo con el método de preparación de un SiO_2 como se ha definido anteriormente; y se obtiene un SiO_2 con una velocidad de biorresorción más lenta que la velocidad de biorresorción muy rápida, al correlacionar una biodegradabilidad deseada de un SiO_2 con los cambios a), b) y/o c) con respecto al método de preparación de un SiO_2 como se ha definido anteriormente, en donde

25

30

a) comprende desviar en el sol, cualquiera de los valores iniciales:

i) pH,

ii) relación en moles de agua con respecto al alcóxido o silicato inorgánico, y/o

35 iii) relación en moles de alcohol con respecto al alcóxido o silicato inorgánico; de los valores definidos en a) i) - iii) de acuerdo con la reivindicación 1;

b) comprende llevar a cabo cambios inducidos mediante la adición de un componente o componentes, incluida la adición opcional del agente o agentes biológicamente activos, con o sin dicho agente o agentes protectores, afectando dichos cambios a cualquiera de los valores i) - iii) de a) de acuerdo con la reivindicación 1 o a) si se aplica al:

i) no llevar a cabo un secado forzado, o

40 ii) llevar a cabo o iniciar el secado forzado del sol más tarde de lo definido en b) ii) de acuerdo con la reivindicación 1; y

c) comprende desviar la temperatura para permitir que el sol se gelifique espontáneamente a partir de los valores definidos en b) i) para preparar un SiO_2 con una velocidad de biodegradación muy rápida; y

45 llevar a cabo un método para preparar el SiO_2 con cambios que se correlacionan con la biodegradabilidad deseada para obtener el SiO_2 con la biodegradabilidad más lenta deseada.

Se proporciona además un SiO_2 derivado de sol-gel, que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención. El SiO_2 se caracteriza porque

- a) el SiO₂ es un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de $\geq 0,5$ mm,
- b) el SiO₂ no contiene ningún agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂, y
- c) la velocidad de disolución del SiO₂ en un tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 es $\geq 0,04$ % en peso/h, preferiblemente $\geq 0,07$ % en peso/h y más preferiblemente $\geq 0,15$ % en peso/h.

5 Se proporciona además un SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención. El SiO₂ se caracteriza porque

- a) el SiO₂ es un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de $\geq 0,5$ mm,
- b) el SiO₂ comprende al menos un agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂, y
- c) la velocidad de disolución del SiO₂ en un tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y un pH de 7,4 es $\geq 0,35$ % en peso/h.

10

Se proporciona adicionalmente un SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención, el cual se caracteriza porque

- a) el SiO₂ es un revestimiento, preferiblemente con un espesor de $< 0,5$ mm,
- b) el SiO₂, o bien no comprende ningún agente biológicamente activo, o bien comprende al menos un agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂, y
- c) la velocidad de disolución del SiO₂ en un tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 es $\geq 0,04$ % en peso/h, preferiblemente $\geq 0,07$ % en peso/h y más preferiblemente $\geq 0,15$ % en peso/h.

15

Se proporciona además un SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención, el cual se caracteriza porque

- a) el SiO₂ es una partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de ≤ 100 μ m,
- b) el SiO₂ no comprende ningún agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂, y
- c) la velocidad de disolución del SiO₂ en el tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 es $\geq 0,04$ % en peso/h, preferiblemente $\geq 0,07$ % en peso/h, y más preferiblemente $\geq 0,15$ % en peso/h.

20

También se proporciona un SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención, el cual se caracteriza porque

- a) el SiO₂ es una partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de ≤ 100 μ m,
- b) el SiO₂ comprende al menos un agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂, y
- c) la velocidad de disolución del SiO₂ en el tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 es $\geq 0,5$ % en peso/h.

25

Se proporciona además un SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención, el cual se caracteriza porque

- a) el SiO₂ es un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de $\geq 0,5$ mm,
- b) el SiO₂ no comprende ningún agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂, y
- c) la velocidad de disolución del SiO₂ en un tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 es de 0,001 a 0,15 % en peso/h, preferiblemente de 0,002 a 0,07 % en peso/h, y de 0,006 a 0,05 % en peso/h.

30

Se proporciona además un SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención, el cual se caracteriza porque

- a) el SiO₂ es un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de $\geq 0,5$ mm,
- b) el SiO₂ comprende al menos un agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂, y
- c) la velocidad de disolución del SiO₂ en un tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 es de 0,001 a 0,06 % en peso/h, preferiblemente de 0,002 a 0,05 % en peso/h, y de 0,006 a 0,025 % en peso/h.

35

Se proporciona además un SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención, el cual se caracteriza porque

40

- a) el SiO₂ es una partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de ≤ 100 μm,
- b) el SiO₂ no contiene ningún agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂, y
- c) la velocidad de disolución del SiO₂ en el tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 es de 0,001 a 0,008 % en peso/h, y preferiblemente de 0,002 a 0,003 % en peso/h.

5 También se proporciona un SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención, el cual se caracteriza porque

a) el SiO₂ es una partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de ≤ 100 μm,

b) el SiO₂ comprende al menos un agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂, y

10 c) la velocidad de disolución del SiO₂ en el tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 es de 0,001 a 0,10 % en peso/h, preferiblemente de 0,002 a 0,07 % en peso/h, y más preferiblemente de 0,006 a 0,05 % en peso/h.

Se proporciona adicionalmente un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de ≥ 0,5 mm, revestimiento, preferiblemente con un espesor de < 0,5 mm, o partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de ≤ 100 μm, de SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se pueden obtener de acuerdo con el método de la invención, el cual se caracteriza porque dicho SiO₂ comprende un agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂ y dicho agente biológicamente activo es un péptido, una proteína o una célula, en donde la velocidad de disolución del SiO₂ en un tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 es ≥ 0,04 % en peso/h, preferiblemente ≥ 0,07 % en peso/h y más preferiblemente ≥ 0,15 % en peso/h.

15 Se proporciona además un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de ≥ 0,5 mm, revestimiento, preferiblemente con un espesor de < 0,5 mm, o partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de ≤ 100 μm, de SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se pueden obtener de acuerdo con el método de la invención, el cual se caracteriza porque dicho SiO₂ comprende un agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂ y dicho agente biológicamente activo es un péptido, una proteína o una célula, en donde la velocidad de disolución del SiO₂ es ≥ 0,5 % en peso/h, y preferiblemente ≥ 4,0 % en peso/h.

20 También se proporciona un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de ≥ 0,5 mm, revestimiento, preferiblemente con un espesor de < 0,5 mm, o partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de ≤ 100 μm, de SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible, que se pueden obtener de acuerdo con el método de la invención, el cual se caracteriza porque dicho SiO₂ comprende un agente biológicamente activo distinto del SiO₂ y dicho agente biológicamente activo es un péptido, una proteína o una célula, en donde la velocidad de disolución del SiO₂ en el tampón TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 es de 0,001 a 0,15 % en peso/h, preferiblemente de 0,002 a 0,07 % en peso, y más preferiblemente de 0,006 a 0,05 % en peso/h.

25 Igualmente se proporciona un método de uso de un monolito, revestimiento o partícula de SiO₂ derivado de sol-gel biorreabsorbible, de acuerdo con la invención como se definió anteriormente para administrar un agente biológicamente activo a un cuerpo humano o de animal, en donde dicho uso comprende una administración seleccionada del grupo compuesto por administración oral, bucal, rectal, parenteral, pulmonar, nasal, ocular, intrauterina, vaginal, uretral, tópica, transdérmica e implantable quirúrgicamente.

30 Se proporciona adicionalmente un método de uso de un monolito, revestimiento o partícula de SiO₂ derivado de sol-gel biorreabsorbible, de acuerdo con la invención como se definió anteriormente para administrar un agente biológicamente activo a una planta.

Breve descripción de los dibujos

40 La Figura 1 muestra la disolución de las matrices monolíticas de SiO₂ de acuerdo con la invención.

La Figura 2 muestra la disolución de las microesferas de SiO₂ de acuerdo con la invención.

La Figura 3 muestra la disolución de propranolol que comprende matrices monolíticas de SiO₂ de acuerdo con la invención y la liberación de propranolol a partir de las matrices.

45 La Figura 4 muestra la disolución de propranolol que comprende microesferas de SiO₂ de acuerdo con la invención y la liberación de propranolol a partir de las microesferas.

La Figura 5 muestra la disolución de BSA (proteína) que comprende matrices monolíticas de SiO₂ de acuerdo con la invención y la liberación de BSA a partir de las matrices.

La Figura 6 muestra la liberación de BSA (proteína) a partir de las matrices monolíticas de SiO₂ de acuerdo con la invención.

50 La Figura 7 muestra la liberación de BSA (proteína) a partir de las microesferas de SiO₂ de acuerdo con la invención.

La Figura 8 muestra la liberación de BSA (proteína) a partir de las matrices monolíticas de SiO₂ de acuerdo con la invención.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Definiciones

5 La expresión "SiO₂ derivado de sol-gel" se refiere a un SiO₂ preparado por el procedimiento sol-gel, en el que el SiO₂ se prepara a partir de un sol que contiene SiO₂ que se ha convertido en un gel. El SiO₂ derivado de sol-gel se prepara típicamente a partir de alcóxidos o silicatos inorgánicos que, mediante hidrólisis, forman un sol que contiene, o bien especies de sílice parcialmente hidrolizadas, o bien ácido silícico totalmente hidrolizado. Las consiguientes reacciones de condensación de las especies que contienen SiOH dan lugar a la formación de especies de sílice más grandes con una cantidad creciente de enlaces de siloxano. Además, las especies se acumulan, forman partículas nanométricas y/o agregados más grandes hasta que se forma un gel. En forma de gel, el estado sólido domina, pero el sistema aún contiene cantidades variables de líquidos y el material es típicamente suave y viscoelástico antes del secado, y duro y quebradizo si se seca excesivamente. En forma de sol, el estado líquido domina, pero el sistema contiene cantidades variables de fase o fases sólidas y el sistema todavía sigue fluyendo.

15 Se entenderá que el envejecimiento del sol significa que después de la preparación inicial del sol, el sol se deja estar (es decir, las reacciones y/o las agregaciones continúan sin cambios inducidos en la composición) sin secado espontáneo o con secado espontáneo simultáneo en condiciones del ambiente hasta que se inducen cambios o, si no se inducen cambios, hasta que se convierte espontáneamente en un gel. El tiempo desde la preparación hasta que se inducen los cambios, o si no se inducen cambios hasta que el sol se convierte en un gel, se denomina tiempo de envejecimiento del sol. El secado espontáneo suele tener lugar cuando el sol envejece, de modo que el sistema permite la evaporación en condiciones del ambiente. Opcionalmente, esto se evita manteniendo el sol en un sistema cerrado.

25 En el contexto de esta solicitud, la expresión "los valores iniciales de pH/relación en moles del sol" se refiere a los valores de pH/relación en moles en el momento en que se prepara el sol, es decir, cuando se mezclan los componentes originales del sol (excluyendo aquellos componentes que se agregan opcionalmente tras el envejecimiento del sol).

30 En el contexto de esta solicitud, la expresión "cambio inducido o cambios en la composición del sol" debe entenderse como cualquier cambio inducido intencionadamente en la composición del sol. Puede ser un cambio de composición inducido al agregar uno o más de uno de los componentes originales del sol, por ejemplo, agua, el alcóxido o silicato inorgánico, el alcohol o el catalizador, es decir, un ácido mineral o una base. Puede ser un cambio de composición al agregar uno o más componentes nuevos al sol, por ejemplo, un agente biológicamente activo si cambia, por ejemplo, el pH del sol, un ácido, base o tampón para ajustar el pH, o cualquier otro componente necesario para obtener una propiedad deseada del SiO₂ final. Puede ser un cambio físico repentino que afecte la composición del sol. Dicho cambio físico puede ser, por ejemplo, la elevación de la temperatura o la disminución de la presión que da como resultado una liberación repentina de componentes volátiles (por ejemplo, agua, alcohol y/o ácido o base volátil) del sol, por ejemplo, secado forzado repentino, tal como secado por pulverización. Dicho cambio físico también podría estar sometiendo al sol a diferentes formas de energía, por ejemplo, energía electromagnética o acústica, que podría dar como resultado un cambio pronunciado en la composición.

40 "El componente o componentes" que se agregarán para inducir cambios se refieren a cualquier componente agregado independientemente de si el componente o componentes son constituyentes originales del sol, o un agente o agentes biológicamente activos, o un agente o agentes que protegen al agente o agentes biológicamente activos.

45 Se entenderá que la "formación de gel" significa el punto en el tiempo cuando el sol se convierte en un gel, a medida que la fase sólida se vuelve dominante, es decir, la fase continua, al contrario que la del sol donde domina la fase líquida. En forma de gel, el estado sólido domina, pero el sistema todavía contiene cantidades variables de líquidos, y el material es típicamente suave y viscoelástico antes del secado, y duro y quebradizo si se seca excesivamente. En forma de sol, el estado líquido domina, pero el sistema contiene cantidades variables de fase o fases sólidas y el sistema todavía sigue fluyendo.

Debe entenderse que el "envejecimiento del gel" significa que después de la formación del gel, el gel se deja estar, ya sea sin secado espontáneo o con secado espontáneo simultáneo.

50 "El agente biológicamente activo" en el contexto de esta solicitud se refiere a cualquier agente orgánico o inorgánico que sea biológicamente activo, es decir, induce una respuesta biológica estadísticamente significativa en un tejido, órgano u organismo vivo. El agente biológicamente activo puede ser un fármaco, péptido, proteína, polisacárido o un polinucleótido. Puede ser una célula o tejido vivo o muerto, una bacteria, un virus, un bacteriófago y un plásmido o una parte de los mismos. Puede ser un agente para el tratamiento de enfermedades en áreas terapéuticas tales como la alimentaria/metabólica, sanguínea y de coagulación, cardiovascular, dermatológica, genitourinaria, hormonal, inmunitaria, infecciosa, cancerosa, musculoesquelética, neurológica, parasitaria, oftálmica, respiratoria y sensorial. Puede ser además para el tratamiento de enfermedades como la osteoporosis, la epilepsia, la enfermedad de Parkinson, el dolor y la disfunción cognitiva. Puede ser un agente para el tratamiento de enfermedades de disfunción hormonal o tratamiento hormonal, por ejemplo, para la anticoncepción, la terapia de reemplazo hormonal o el

tratamiento con hormonas esteroides. Además, puede ser un agente tal como un antibiótico o antiviral, antiinflamatorio, neuroprotector, vacuna profiláctica, potenciador de la memoria, analgésico (o combinación de analgésicos), inmunosupresor, antidiabético o antiviral. Puede ser un agente antiasmático, anticonvulsivante, antidepresivo, antidiabético, o antineoplásico. Puede ser un agente antipsicótico, antiespasmódico, anticolinérgico, simpaticomimético, antiarrítmico, antihipertensivo o diurético. Puede ser un agente para el alivio del dolor o de sedación. También puede ser un agente tranquilizante o un fármaco para la disfunción cognitiva. El agente puede estar en forma de ácido o base libre, una sal o un compuesto neutro. Puede ser un péptido, por ejemplo, levodopa; una proteína, por ejemplo, un factor de crecimiento; o un anticuerpo. Puede ser un polinucleótido, un ion soluble o una sal.

“Agente o agentes protectores” en el contexto de esta solicitud, se refieren a una sustancia o sustancias que son útiles para proteger y/o mejorar la actividad biológica de un agente biológicamente activo.

En el contexto de esta solicitud, la expresión “secado forzado” se refiere al uso de un procedimiento de secado que comprende un cambio físico repentino, que detiene o frena en gran medida, las reacciones en el sol que dan lugar a la formación del gel. El cambio físico puede ser un cambio que acelera la velocidad de secado; preferiblemente, al menos momentáneamente, más de diez veces. Dicho cambio físico puede ser, por ejemplo, una elevación pronunciada de la temperatura y/o una disminución de la presión que provoque una liberación repentina de componentes volátiles (por ejemplo, agua, alcohol y/o ácido o base volátil) del sol. Dicho cambio físico también podría estar sometiendo al sol, a diferentes formas de energía, por ejemplo, energía electromagnética o acústica. El cambio físico también puede ser una disminución esencial de la temperatura, preferiblemente congelando el sol, para detener o esencialmente frenar, las reacciones que dan lugar a la formación de gel. Típicamente, el secado forzado del sol se realiza mediante secado por pulverización o liofilización. La “iniciación” del secado forzado se refiere, por ejemplo, en el caso de la liofilización, a la congelación del sol.

La expresión “velocidad de disolución” se refiere a la reabsorción de la matriz de SiO₂ en TRIS (por ejemplo, Trizma pre- set Crystals, Sigma) con disolución tamponada a pH 7,4 y 37 °C, que simula las condiciones de los fluidos corporales. La disolución TRIS es de 0,005 M a 0,05 M. En la práctica, la concentración de la disolución TRIS varía según las exigencias específicas del análisis de un agente biológicamente activo, ya que la determinación de la velocidad de liberación del agente biológicamente activo, se realiza típicamente cuando se determina la velocidad de disolución de la matriz. Es común que los tampones interfieran con muchos sistemas de análisis que incluyen reactivos específicos que interactúan con la molécula objetivo analizada. Dicha interferencia, a menudo se debe a cierta concentración de tampón.

La determinación de la velocidad de disolución se lleva a cabo de la siguiente manera: el tampón TRIS se esteriliza a 122 °C antes de su uso. La concentración de SiO₂ en el TRIS se mantiene por debajo de 30 ppm (para garantizar condiciones de gradiente máximo; libre disolución de la matriz de SiO₂) durante la disolución. El nivel de saturación de SiO₂ a pH 7,4 es de aproximadamente 150 ppm. Cuando sea necesario, una parte del medio de disolución se cambia a un tampón TRIS de nueva aportación, con el fin de mantener la concentración de SiO₂ por debajo de 30 ppm. La velocidad de disolución se mide a partir de la fase lineal de la curva de liberación, que es típica después de una desviación inicial típica (fase de liberación más lenta o más rápida que la parte principal lineal de la liberación) y antes de una fase más lenta típica, de la liberación antes de la disolución total del 100 % de SiO₂. La fase lineal de la liberación suele ser más larga que las fases desviadas al principio o al final de la liberación. La fase lineal de la curva de liberación (% en peso de SiO₂ disuelto/h) se puede definir mediante un análisis de regresión lineal de los puntos de liberación medidos (% en peso de SiO₂ disuelto/h). Los puntos de una posible fase de desviación inicial (fase de liberación más lenta o más rápida que la parte principal lineal de la liberación) se excluyen si los puntos disminuyen el factor de correlación de la regresión lineal (r²) para que sea < 0,9. La fase lineal de la curva de liberación (% en peso de SiO₂ disuelto/h) se puede definir realizando un análisis de regresión lineal de los puntos de liberación medidos (% en peso de SiO₂ disuelto/h) con un factor de correlación de regresión lineal ≥ 0,9. La cantidad total (100 % en peso) de SiO₂ se calcula a partir de la cantidad teórica de SiO₂ que se puede obtener a partir de la composición de sol de acuerdo con la reacción neta (por ejemplo, 1 mol de alcóxido usado, TEOS corresponde a 1 mol de SiO₂).

El término “célula” significa cualquier célula viva o muerta de cualquier organismo. Por lo tanto, se incluyen las células de, por ejemplo, cualquier animal, tal como un mamífero que incluye un humano, una planta, una bacteria y un hongo.

El término “revestimiento” se refiere, en el contexto de esta solicitud, a cualquier revestimiento sobre cualquier superficie. Especialmente, significa una capa con un espesor de < 0,5 mm.

Características de la invención

La presente invención se refiere en general a SiO₂ derivado de sol-gel biocompatible y biorresorbible útil, por ejemplo, para matrices de administración de fármacos, en ingeniería de tejidos, medicina regenerativa y terapia celular en el tejido vivo o en contacto con otros organismos vivos, por ejemplo, plantas. El uso de SiO₂ derivado de sol-gel puede ser, por ejemplo, oral, bucal, rectal, parenteral (por ejemplo, administración subcutánea, administración intramuscular, administración intravenosa y administración intraarterial), pulmonar, nasal, ocular, intrauterina, vaginal, uretral, tópica, transdérmica y administración implantable quirúrgicamente de monolitos, revestimientos, o nano o micropartículas, como tales o en suspensión. La biorresorción de las matrices de SiO₂ se puede controlar mediante ajustes sencillos

de las relaciones de precursores que influyen en la condensación y agregación de las especies de sílice hidrolizada. Las matrices biorresorbibles que se pueden obtener mediante esta invención, se pueden aplicar para liberar diferentes tipos de agentes biológicamente activos, de una manera controlada que depende de la biorresorción de la matriz de SiO₂.

5 La presente invención proporciona métodos para controlar la biorresorción de SiO₂ derivado de sol-gel. El control de la biorresorción se basa principalmente en los ajustes de la proporción de precursores y los parámetros específicos de procedimiento que desactivan las reacciones que afectan a la biorresorción. Las matrices biorresorbibles ajustables se pueden utilizar en la liberación controlada de agentes biológicamente activos. El agente biológicamente activo puede ser, por ejemplo, en forma de sal tal como clorhidrato de selegilina, o en forma de ácido libre (ibuprofeno) o base libre (miconatzol) o un compuesto neutro. El agente biológicamente activo puede ser un péptido, por ejemplo, levodopa, una proteína también un derivado de matriz de esmalte de una proteína o una proteína morfogenética ósea. Se puede agregar una cantidad eficaz de un agente biológicamente activo a la reacción en cualquier etapa del procedimiento. La propia matriz de SiO₂ disuelta también puede actuar como un agente biológicamente activo, especialmente en huesos, donde se sabe que las especies de sílice disueltas afectan la formación de hueso nuevo. El SiO₂ derivado de sol-gel biorresorbible ajustable también se puede usar en contacto con otros organismos vivos, por ejemplo, en contacto con paredes celulares de plantas para mejorar el rendimiento de las plantas, por ejemplo, contra las enfermedades. El agente biológicamente activo puede ser además un agente con un efecto biológico sobre cualquier tejido, célula u organismo, como se ha definido y ejemplificado anteriormente.

20 El SiO₂ derivado de sol-gel es un material muy adecuado para ser utilizado en la liberación controlada. Su contacto con un tejido vivo es bueno, es decir, no es tóxico y es biocompatible. La naturaleza del procedimiento sol-gel, que comienza a partir de un sol en la fase líquida, facilita la adición de agentes biológicamente activos y, si se desea, la temperatura se puede mantener a ≤ 40 °C durante todo el procedimiento y el pH se puede ajustar en gran medida. Además, el SiO₂ amorfo es biorresorbible a pH 7,4 y 37 °C. El SiO₂ amorfo se puede preparar de varias maneras, por ejemplo, mediante un procedimiento convencional de fusión a alta temperatura y enfriamiento para producir vidrios, pero el uso del procedimiento sol-gel en la preparación del SiO₂ amorfo brinda las mejores posibilidades de ajustar la biorresorción, así como, de conservar la actividad biológica del agente encapsulado. La biorresorción depende, tanto de la estructura química (por ejemplo, del número de grupos de SiOH libres o del grado de condensación) del SiO₂ como de la estructura de los poros. Cuanto más densa es la estructura de gel, más importante es el tamaño del material con respecto a la biorresorción. Si, por ejemplo, un monolito de SiO₂ o una partícula tiene una superficie específica muy grande, tal como de varios cientos de m²/g, por lo general, también contiene una gran cantidad de poros nanométricos, lo que significa que la molienda de los monolitos o partículas para reducir el tamaño, por ejemplo, de 1 cm a 50 μ m, no aumenta significativamente la superficie específica, sólo se acorta la longitud de la trayectoria de difusión. En el caso de un monolito o una partícula de SiO₂ de densidad elevada, tanto la superficie específica como la longitud de la trayectoria de difusión se ven fuertemente afectadas por la molienda. La estructura química y de los poros se puede ajustar a gran escala mediante el procedimiento sol-gel. Además de ajustar las concentraciones de precursor, la estructura de los poros se ajusta comúnmente usando plantillas orgánicas adicionales (por ejemplo, SiO₂ mesoporoso de tipo MCM-41), pero la mayoría de las plantillas orgánicas no son biocompatibles y la estructura de los poros se puede ajustar lo suficientemente bien (con respecto a la biorresorción) sin aditivos orgánicos.

40 El mecanismo de liberación de un agente biológicamente activo a partir del SiO₂ preparado, se puede controlar por difusión o reabsorción o una combinación de ambos, pero, en cualquier caso, el papel de la biorresorción en la velocidad de liberación global de agentes biológicamente activos se puede ajustar para que sea significativo.

45 La presente invención proporciona métodos para preparar y ajustar las velocidades de biorresorción de SiO₂ a gran escala. Esto se puede hacer mediante un método de sol-gel a base de alcoxi o silicato inorgánico, en condiciones que se pueden ajustar para que sean favorables para varios tipos de agentes biológicamente activos, mediante el ajuste de las relaciones de precursores (relación de agua a alcóxido, cantidad de alcohol, pH), el envejecimiento del sol y el uso de diferentes métodos de preparación [por ejemplo, envejecimiento y formación de gel y secado del sol o el gel en un horno de calor en atmósfera normal o en atmósfera de gas al 100 % o parcial (por ejemplo, N₂), o secado del sol o gel por vacío, energía electromagnética, energía acústica, secado por pulverización o por liofilización]. Las morfologías que se pueden preparar incluyen monolitos (por ejemplo, barras, varillas, tabletas, etc.), revestimientos, nano y microesferas principalmente para administración oral, bucal, rectal, parenteral, pulmonar, nasal, ocular, intrauterina, vaginal, uretral, tópica, transdérmica y administración implantable quirúrgicamente o para ingeniería de tejidos, medicina regenerativa y terapia celular. Además, la cantidad de agente biológicamente activo en la matriz de SiO₂, el propio agente biológicamente activo, la temperatura de envejecimiento y secado, y las condiciones del procedimiento de secado afectan la biorresorción, pero el factor principal que controla la velocidad de biorresorción global es la relación de los precursores. También cabe señalar que grandes cantidades de agente biológicamente activo, agente protector para dicho agente biológicamente activo o cualquier sustancia adicional del sol comprendida dentro de la matriz SiO₂ aumenta la disolución de SiO₂, simplemente debido a su presencia, lo que hace que la estructura de SiO₂ sea más heterogénea.

60 La invención proporciona un intervalo estrecho específico de relaciones de precursores que dan como resultado una estructura de SiO₂ de disolución rápida y todas las desviaciones de esto hacen que la matriz de SiO₂ se disuelva más lentamente en disoluciones acuosas a un pH de 7,0 a 7,5. Además, la invención proporciona medios para desviarse

de las relaciones de precursores elegidas durante un breve periodo de tiempo, sin perder el efecto original de las relaciones de precursores originales sobre la biorresorción de SiO₂.

Se pueden preparar matrices de SiO₂ que se disuelven muy rápido, por ejemplo, a partir de alcóxidos en condiciones en las que la velocidad de hidrólisis es relativamente rápida, pero la velocidad de condensación es mínima, cerca de una relación en moles de agua a alcóxido (por ejemplo, TEOS) (valor R) de aproximadamente 2 a un pH de aproximadamente 2 y una relación en moles suficientemente alta de alcohol (por ejemplo, EtOH) a alcóxido (por ejemplo, TEOS) de aproximadamente 1. Estos soles se forman, luego se envejecen y, opcionalmente, también se secan a bajas temperaturas, preferiblemente a ≤ 50 °C (lo suficientemente baja para conservar la actividad biológica de un agente o agentes biológicamente activos opcionalmente presentes) hasta que se forma un gel. Los geles también se pueden envejecer y/o secar a bajas temperaturas, preferiblemente a ≤ 50 °C. Alternativamente, si no está presente ningún agente biológicamente activo termolábil se pueden utilizar temperaturas altas o incluso muy altas de hasta, por ejemplo, 700 °C.

Algunos métodos de secado del sol permiten también desviaciones breves en el tiempo de la relación de precursores elegida, sin perder el efecto original de la relación de precursores original sobre la biorresorción de SiO₂. Estos métodos dan lugar a la formación forzada de gel y prácticamente detienen o disminuyen notablemente la velocidad, preferiblemente desactivan todas las reacciones (por ejemplo, de condensación) que afectan la velocidad de biorresorción (la cantidad decreciente de SiOH durante la condensación disminuye la velocidad de disolución de SiO₂). El tiempo de envejecimiento del sol se puede elegir libremente antes de los ajustes que producen un efecto a corto plazo. Los ajustes que producen un efecto a corto plazo pueden ser, por ejemplo, un ajuste del pH a un pH de 5 a 7 y/o la adición de agua para disminuir la cantidad relativa de etanol, si fuese necesario, con el fin de mantener la actividad biológica del ingrediente. El tiempo de envejecimiento afecta las relaciones relativas de las especies de sílice reaccionadas. Después del tiempo de envejecimiento deseado del sol, o bien se seca por pulverización, o bien se liofiliza, de modo que el efecto de las desviaciones sea corto, preferiblemente ≤ 5 minutos, pero al menos más rápido que ≤ 30 minutos. Para las micropartículas producidas mediante secado por pulverización, la desviación de la relación óptima de precursores de disolución rápida al diluir el sol con H₂O y/o alcohol, por ejemplo, EtOH, hace posible preparar micropartículas de disolución rápida. El secado por pulverización del sol sin diluir a valores altos de t/t_{gel} ($\geq 0,9$) es a veces imposible debido a su alta viscosidad.

Los monolitos, revestimientos y partículas de SiO₂ de la invención se pueden producir de diversas formas ya conocidas en la técnica anterior. Por lo tanto, los monolitos se pueden producir al moldear partes alícuotas del sol-gel en moldes y dejando que el sol-gel se gelifique en el molde. Los revestimientos se pueden producir aplicando sol-gel sobre superficies y dejando que el sol-gel se gelifique sobre la superficie. Las partículas se pueden producir directamente, por ejemplo, mediante secado por pulverización, pero también indirectamente, por ejemplo, triturando monolitos.

Cabe señalar que debido a las posibilidades versátiles para ajustar la velocidad de biorresorción del SiO₂ proporcionadas por el método de la invención, es posible obtener monolitos, revestimientos y partículas de SiO₂ con velocidades de biorresorción que no se habían logrado con los métodos de la técnica anterior. Hasta ahora, los monolitos, revestimientos y partículas de SiO₂ no habían sido alternativas muy atractivas para muchas aplicaciones, debido a las dificultades para obtener monolitos, revestimientos y partículas de SiO₂ con las propiedades deseadas. En muchas aplicaciones es de suma importancia que, por ejemplo, la velocidad de biorresorción de los monolitos, revestimientos o partículas de SiO₂ sea lo que se había deseado específicamente y los agentes bioactivos incorporados hayan permanecido intactos cuando se prepara el SiO₂. El método de la presente invención proporciona varios medios para ajustar la velocidad de biorresorción dentro del método y, por lo tanto, es más frecuentemente posible elegir los medios particulares, de modo que los agentes bioactivos sensibles a los cambios, especialmente a los cambios de duración prolongada, por ejemplo, en pH y/o temperatura, no se vean afectados negativamente por el método utilizado para producir el SiO₂.

La presente invención proporciona un método altamente factible para producir monolito, revestimiento o partícula de SiO₂ derivado de sol-gel con cualquier velocidad de disolución. Por lo tanto, los monolitos, revestimientos o partículas de SiO₂ con velocidades de disolución no alcanzadas con los métodos de la técnica anterior, así como las que se han alcanzado o se podrían haber alcanzado con los métodos de la técnica anterior, se pueden producir fácilmente con el método de la invención.

También se debe tener en cuenta que la presente invención hace posible el uso de SiO₂ derivado de sol-gel que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención, para administrar un agente biológicamente activo a un cuerpo humano o de animal, en donde dicho uso comprende su administración seleccionada del grupo que consiste en administración oral, bucal, rectal, parenteral, pulmonar, nasal, ocular, intrauterina, vaginal, uretral, tópica y transdérmica. La invención también hace posible el uso de SiO₂ derivado de sol-gel que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención, para administrar un agente biológicamente activo a una planta.

Realizaciones preferidas

Típicamente, se usa un alcóxido, preferiblemente tetraetoxisilano (TEOS), para preparar el SiO₂ derivado de sol-gel. Si se usa un silicato inorgánico para preparar el SiO₂ derivado de sol-gel, siendo preferiblemente silicato de sodio o potasio. El alcohol inferior es preferiblemente etanol.

El sol, sin cambios inducidos de la composición del sol, se puede dejar gelificar espontáneamente a una temperatura de ≤ 25 °C o a una temperatura elevada de 65 °C a 90 °C. A una temperatura de ≤ 25 °C, la estructura heterogénea del gel podría dar como resultado una rápida biorresorción. A una temperatura elevada preferida de 65 °C a 90 °C, la reacción de gelificación es rápida, dando como resultado un gel con una velocidad de biorresorción rápida.

5 Si se realiza un cambio o cambios inducidos en la composición del sol, el cambio o los cambios se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste en agregar agua, agregar el alcóxido o silicato inorgánico, agregar el alcohol, ajustar el pH agregando un ácido o base, preferiblemente el ácido o base usado como catalizador, agregando el agente o agentes bioactivos opcionales con o sin agente o agentes protectores para dicho agente o agentes biológicamente activos que afectan el pH, la relación en moles de agua a alcóxido o silicato inorgánico, y/o la relación en moles de alcohol a alcóxido o silicato inorgánico, y cualquier combinación de los mismos.

10 El secado del sol puede ser un secado por calor ambiente, secado al vacío, secado electromagnético, secado acústico, secado por pulverización o por liofilización, preferiblemente secado por pulverización o por liofilización. El secado forzado del sol se puede llevar a cabo mediante secado por pulverización o liofilización. La liofilización se puede iniciar congelando el sol.

15 La temperatura del sol es típicamente $\leq +90$ °C, preferiblemente $\leq +50$ °C, lo más preferible $\leq +40$ °C.

El gel obtenido se puede secar. El secado del gel es típicamente secado por calor ambiente, secado al vacío, secado electromagnético, secado acústico, secado por pulverización o por liofilización, preferiblemente por calor ambiente o secado por liofilización. El gel se seca típicamente a una temperatura de ≤ 700 °C, preferiblemente ≤ 50 °C, y lo más preferible ≤ 40 °C.

20 Un valor que se puede desviar para obtener una velocidad de biorresorción más lenta es la relación de agua con respecto a alcóxido o silicato inorgánico, y cuanto más se desvíe la relación de agua con respecto a alcóxido o silicato inorgánico para que sea más alta o más baja, más lenta será la velocidad de biorresorción obtenida. Otro valor que se puede desviar para obtener una velocidad de biorresorción más lenta, es la relación de alcohol con respecto a alcóxido o silicato inorgánico, y cuanto más se desvíe la relación para que sea más alta o más baja, más lenta será la velocidad de biorresorción obtenida.

25 La relación de alcohol con respecto al alcóxido se puede desviar para que sea tan baja como de cero, es decir, el sol no comprendería originalmente alcohol. Un parámetro adicional que se puede desviar para obtener una velocidad de biorresorción más lenta es el pH, y cuanto más se desvíe el pH para que sea más alto o más bajo, más lenta será la velocidad de biorresorción obtenida.

30 Un gran cambio en la relación en moles de agua a alcóxido, por ejemplo, de 2 a 50 o incluso de hasta 100 mediante la adición de agua, haría que el sol fuera más biocompatible, por ejemplo, la concentración de alcohol se volvería más baja.

35 Se puede agregar un agente o agentes biológicamente activos al sol antes de la formación del gel. El agente o agentes biológicamente activos pueden ser cualquier agente que induzca una respuesta biológica en un tejido vivo, órgano u organismo como se ha definido y ejemplificado anteriormente. Los agentes biológicamente activos típicos se seleccionan del grupo que consiste en un fármaco, péptido, proteína, hormona, factor de crecimiento, enzima, polisacárido, células o virus vivos o muertos o partes de los mismos, plásmidos, polinucleótidos, iones solubles en agua, sales y cualquier combinación de los mismos.

40 El valor de pH, la relación en moles de agua a alcóxido o silicato inorgánico y/o la relación en moles de alcohol a alcóxido o silicato inorgánico se pueden cambiar para desviarse de los intervalos con los que se obtiene una velocidad de biorresorción muy rápida, después del envejecimiento del sol, pero antes de la formación del gel y/o la adición opcional de dicho agente o agentes biológicamente activos, si se realiza dentro de ≤ 30 minutos, preferiblemente ≤ 15 minutos y lo más preferible ≤ 5 minutos, desde que se lleva a cabo o inicia el secado forzado del sol.

El SiO₂ derivado de sol-gel es un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de $\geq 0,5$ mm; un revestimiento, preferiblemente con un espesor de $< 0,5$ mm; o una partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de ≤ 100 μ m.

45 Las velocidades de disolución preferidas de SiO₂ dependen de las aplicaciones para las que se destina el SiO₂. Para muchas aplicaciones, tales como oral, bucal, rectal, pulmonar, transdérmica y otras aplicaciones parenterales, se requieren altas velocidades de disolución.

50 Los monolitos, preferiblemente con un diámetro mínimo de $\geq 0,5$ mm, sin un agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂ tienen típicamente una velocidad de disolución del SiO₂ en tampón de TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 que es $\geq 0,04$ % en peso/h, preferiblemente $\geq 0,07$ % en peso/h y más preferiblemente $\geq 0,15$ % en peso/h.

Los revestimientos, preferiblemente con un espesor de $< 0,5$ mm, que no comprenden ningún agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂ o que comprenden al menos un agente biológicamente activo distinto del propio SiO₂ tienen típicamente una velocidad de disolución del SiO₂ en tampón de TRIS a una temperatura de +37 °C y pH de 7,4 que es $\geq 0,04$ % en peso/h, preferiblemente $\geq 0,07$ % en peso/h y más preferiblemente $\geq 0,15$ % en peso/h.

5 Las partículas, preferiblemente con un diámetro máximo de $\leq 100 \mu\text{m}$, que no comprenden ningún agente biológicamente activo distinto del SiO_2 , tienen típicamente una velocidad de disolución del SiO_2 en tampón de TRIS a una temperatura de $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ y pH de 7,4 que es $\geq 0,04 \%$ en peso/h, preferiblemente $\geq 0,07 \%$ en peso/h y más preferiblemente $\geq 0,15 \%$ en peso/h. Una partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de $\leq 100 \mu\text{m}$, que comprende al menos un agente biológicamente activo distinto del SiO_2 tiene típicamente una velocidad de disolución del SiO_2 en tampón de TRIS a una temperatura de $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ y un pH de 7,4 que es $\geq 0,5 \%$ en peso/h.

10 Para algunos fines, se prefieren velocidades de disolución altas, muy altas y extremadamente altas. Las velocidades de disolución especialmente preferidas del SiO_2 para los monolitos, revestimientos y/o partículas pueden ser para estos fines de hasta $\geq 0,30 \%$ en peso/h, $\geq 0,5 \%$ en peso/h, $\geq 1,0 \%$ en peso/h, $\geq 2,0 \%$ en peso/h, $\geq 4,0 \%$ en peso/h, $\geq 6,0 \%$ en peso/h, $\geq 8,0 \%$ en peso/h, e incluso $\geq 10,0 \%$ en peso/h, dependiendo de la aplicación en particular. Las velocidades de disolución más rápidas son preferibles, por ejemplo, para preparaciones orales.

En otros casos, se requieren velocidades de disolución a largo plazo, por ejemplo, para ciertas aplicaciones parenterales, ingeniería de tejidos y aplicaciones de medicina regeneradora.

15 Un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de $\geq 0,5 \text{ mm}$, que no contiene un agente biológicamente activo distinto del propio SiO_2 , puede tener típicamente una velocidad de disolución del SiO_2 en un tampón de TRIS a una temperatura de $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ y pH de 7,4 que es de 0,001 a 0,15 % en peso/hora, preferiblemente de 0,002 a 0,07 % en peso/h, y más preferiblemente de 0,006 a 0,05 % en peso/h.

20 Un monolito, preferiblemente con un diámetro mínimo de $\geq 0,5 \text{ mm}$, que comprende al menos un agente biológicamente activo distinto del propio SiO_2 , puede tener típicamente una velocidad de disolución del SiO_2 en un tampón de TRIS a una temperatura de $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ y pH de 7,4 que es de 0,001 a 0,06 % en peso/h, preferiblemente de 0,002 a 0,05 % en peso/h, y más preferiblemente de 0,006 a 0,025 % en peso/h.

25 Un revestimiento, preferiblemente con un espesor de $< 0,5 \text{ mm}$, que no contiene ningún agente biológicamente activo distinto del propio SiO_2 o que comprende al menos un agente biológicamente activo distinto del propio SiO_2 , puede tener típicamente una velocidad de disolución del SiO_2 en tampón de TRIS a una temperatura de $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ y pH de 7,4 que es de 0,001 a 0,15 % en peso/h, preferiblemente de 0,002 a 0,07 % en peso/h y más preferiblemente de 0,006 a 0,05 % en peso/h.

Una partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de $\leq 100 \mu\text{m}$, que no contiene un agente biológicamente activo distinto del propio SiO_2 puede tener típicamente una velocidad de disolución del SiO_2 en el tampón de TRIS a una temperatura de $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ y pH de 7,4 que es de 0,001 a 0,008, y preferiblemente de 0,002 a 0,003 % en peso/h.

30 Una partícula, preferiblemente con un diámetro máximo de $\leq 100 \mu\text{m}$, que comprende al menos un agente biológicamente activo distinto del propio SiO_2 puede tener típicamente una velocidad de disolución del SiO_2 en tampón de TRIS a una temperatura de $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ y un pH de 7,4, es decir de 0,001 a 0,10 % en peso/h, preferiblemente de 0,002 a 0,07 % en peso/h, y más preferiblemente de 0,006 a 0,05 % en peso/h.

35 Un SiO_2 derivado de sol-gel biorresorbible, que se puede obtener de acuerdo con el método de la invención que comprende un agente biológicamente activo distinto del propio SiO_2 que es un péptido, proteína o célula, tiene típicamente una velocidad de disolución del SiO_2 en el tampón de TRIS a una temperatura de $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ y pH de 7,4 que es $\geq 0,04 \%$ en peso/h, preferiblemente $\geq 0,07 \%$ en peso/h, y más preferiblemente $\geq 0,15 \%$ en peso/h. Para algunas aplicaciones, una velocidad de disolución aún más preferible es $\geq 0,5 \%$ en peso/h, e incluso $\geq 4,0 \%$ en peso/h. Para otras aplicaciones, una velocidad de disolución típica puede ser de 0,001 a 0,15 % en peso/h, preferiblemente de 0,002 a 0,07 % en peso/h, y más preferiblemente de 0,006 a 0,05 % en peso/h.

Ejemplos

Ejemplo 1

45 Se estudió la disolución de la matriz sumergiendo los monolitos de sílice en una disolución tamponada de TRIS 0,005 o 0,05 M (pH 7,4, $37 \text{ }^\circ\text{C}$) en condiciones de gradiente máximo ($\text{SiO}_2 < 30 \text{ ppm}$). El tampón de TRIS se esterilizó a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ antes de su uso. Los estudios de disolución se realizaron en el baño de agua con agitación. La concentración de Si del tampón de TRIS en diferentes puntos de tiempo se midió con un espectrofotómetro (UV-1601, Shimadzu) analizando la absorbancia del complejo de azul de molibdeno a 820 nm. La disolución de la matriz se presenta como la liberación acumulativa de SiO_2 de la matriz. La cantidad total (100 %) de SiO_2 se calcula a partir de la cantidad teórica de SiO_2 que se puede obtener a partir de la composición del sol según la reacción neta (1 mol de alcóxido usado, TEOS corresponde a 1 mol de SiO_2).

La disolución de las matrices monolíticas de SiO_2 de 1 a 4 del Ejemplo 1, se presenta en la Figura 1.

Matriz 1 (Figura 1)

Los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: $\text{H}_2\text{O}/\text{TEOS} = 2$, $\text{etanol}/\text{TEOS} = 1$, pH 2 (se usó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis del sol se realizó a temperatura ambiente. El sol

se envejeció y se secó simultáneamente a 40°C durante 65 horas. Después de envejecer y secar, el pH del sol se elevó con NaOH 0,5 M hasta 6,3. Se pipetearon 200 ml del sol en el tubo de ensayo y se sumergió en nitrógeno líquido para congelar las muestras. Después de eso, las muestras se liofilizaron al vacío. La velocidad de disolución del SiO₂ calculada fue de 0,407 % en peso/h.

5 Matriz 2 (Figura 1)

Los valores iniciales de la concentración de H₂O/TEOS (relación en moles) y del pH calculado fueron: H₂O/TEOS = 30, pH 2,8 (se utilizó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis se realizó a temperatura ambiente. El pH del sol se elevó con NH₃ 1 M a 5,1. A continuación, se pipeteó el sol en el molde y se envejeció durante 1 hora en un sistema cerrado y después de eso el gel se envejeció y se secó simultáneamente a 40 °C. El secado del gel se llevó a cabo a 40 °C con evaporación libre hasta peso constante. La velocidad de disolución del SiO₂ calculada fue de 0,179 % en peso/h.

10 Matriz 3 (Figura 1)

Los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: H₂O/TEOS = 15, pH 2 (se usó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis del sol se realizó a temperatura ambiente. El sol se envejeció y se secó a 40°C durante 42 horas. Después de eso, el sol se pipeteó en el molde y se envejeció durante 29 horas a 4 °C en el molde cerrado. El secado y el envejecimiento del sol y el gel se llevaron a cabo a 4 °C con evaporación libre hasta peso constante. La velocidad de disolución del SiO₂ calculada fue de 0,131 % en peso/h.

15 Matriz 4 (Figura 1)

Los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: H₂O/TEOS = 3, pH 2 (se usó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis se realizó a temperatura ambiente. El sol se pipeteó en el molde y se envejeció a 40 °C durante 145,5 h. El secado del gel se produjo a 40 °C con evaporación libre hasta un peso constante. La velocidad de disolución del SiO₂ calculada fue de 0,008 % en peso/h.

20 Ejemplo 2

Se estudió la disolución de la matriz sumergiendo las microesferas de sílice en disolución tamponada de TRIS 0,005 o 0,05 M (pH 7,4, 37 °C) en condiciones de gradiente máximo (SiO₂ < 30 ppm). El TRIS se esterilizó a 121 °C antes de su uso. Los estudios de disolución se realizaron en el baño de agua con agitación. La concentración de Si en la disolución tamponada de TRIS en diferentes puntos de tiempo se midió con un espectrofotómetro (UV-1601, Shimadzu) analizando la absorbancia del complejo de azul de molibdeno a 820 nm. La disolución de la matriz se presenta como la liberación acumulativa de SiO₂ de la matriz. La cantidad total (100 %) de SiO₂ se calcula a partir de la cantidad teórica de SiO₂ que se puede obtener a partir de la composición del sol según la reacción neta (1 mol de alcóxido usado, TEOS corresponde a 1 mol de SiO₂).

La disolución de las microesferas monolíticas de SiO₂ de 1 a 2 del Ejemplo 2, se presentan en la Figura 2.

25 Microesfera 1 (Figura 2)

Los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: H₂O/TEOS = 2, pH 2, etanol/TEOS = 1 (se usó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis se realizó a temperatura ambiente. El sol se envejeció y se secó simultáneamente a 40°C durante 22 horas. Después de eso, se añadió agua y etanol al sol cambiando la relación en moles de H₂O/TEOS a 15 y etanol/TEOS a 5,3. Después de eso, el pH del sol se ajustó con NaOH 5 M a 6,9. Las microesferas se prepararon pulverizando sol de sílice con un mini secador por pulverización (B-191, Büchi Labortechnik AG, Suiza) dentro de los 15 minutos posteriores a la adición de agua y etanol, y el ajuste del pH a 6, 9. Se utilizaron los siguientes parámetros de procedimiento: bomba 16 %, aspirador 95 %, y flujo de 600 l/h. La temperatura de la boquilla de pulverización fue de 120 °C. La velocidad de disolución del SiO₂ calculada fue de 2,70 % en peso/h.

30 Microesfera 2 (Figura 2)

Los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: H₂O/TEOS = 30, pH 2,8 (se usó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis se realizó a temperatura ambiente. El pH del sol se ajustó después de la hidrólisis del sol con NH₃ 1 M a 5. Las microesferas se prepararon pulverizando sol de sílice con un mini secador por pulverización (B-191, Büchi Labortechnik AG, Suiza) dentro de los 15 minutos posteriores al ajuste del pH a 5. Se utilizaron los siguientes parámetros de procedimiento: bomba 16 %, aspirador 95 %, y flujo de 600 l/h. La temperatura de la boquilla de pulverización fue de 135 °C. La velocidad de disolución del SiO₂ calculada fue de 0,026 % en peso/h.

35 Ejemplo 3

Se prepararon los monolitos de SiO₂ de la siguiente manera: los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: H₂O/TEOS = 3, pH 2 (se utilizó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis se realizó a temperatura ambiente. Se añadió propranolol (fármaco) al sol. La cantidad de propranolol fue de 5 % en peso de la cantidad teórica de SiO₂ en el sol (1 mol de TEOS = 1 mol de SiO₂). Una vez que el propranolol se disolvió, el sol se

pipeteó en el molde y se envejeció a 40 °C durante 145,5 h. El secado del gel se produjo a 40 °C con evaporación libre hasta el peso constante

5 Se estudiaron la disolución de la matriz y la liberación de propranolol sumergiendo monolitos de sílice en una disolución tamponada de TRIS 0,005 M (pH 7,4, 37 °C) en condiciones de gradiente máximo ($\text{SiO}_2 < 30$ ppm) y una disolución tamponada de TRIS 0,005 M (pH 7,4, 37 °C) saturada con SiO_2 (SiO_2 120-130 ppm). La disolución tamponada de TRIS se esterilizó a 121 °C antes de su uso. Los estudios de disolución se realizaron en un baño de agua con agitación. En una disolución de TRIS saturada con SiO_2 , la concentración de SiO_2 no aumenta incluso si se coloca una matriz de sílice disoluble en la disolución. La concentración de Si en el tampón de TRIS en diferentes puntos de tiempo se midió con un espectrofotómetro (UV-1601, Shimadzu) analizando la absorbancia del complejo de azul de molibdeno a 820 nm. La disolución de la matriz en TRIS se presenta como la liberación acumulativa de la matriz de SiO_2 . La cantidad total (100 %) de SiO_2 se calcula a partir de la cantidad teórica de SiO_2 que se puede obtener a partir de la composición del sol según la reacción neta (1 mol de alcóxido usado, TEOS corresponde a 1 mol de SiO_2). No se observó disolución de la matriz en TRIS saturado con SiO_2 . En una disolución de TRIS saturada con SiO_2 , la concentración de SiO_2 no aumenta incluso si se coloca una matriz de sílice disuelta en la disolución. La concentración de propranolol se mide directamente con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 227 nm. La liberación del propranolol en TRIS y en TRIS saturado con SiO_2 se presenta como liberación acumulativa.

La disolución del monolito de SiO_2 en TRIS y la liberación de propranolol en TRIS y en TRIS saturado con SiO_2 se presentan en la Figura 3.

Curva 1 (Figura 3)

20 Liberación acumulativa de propranolol en disolución de TRIS.

Curva 2 (Figura 3)

Disolución acumulativa de SiO_2 en disolución de TRIS. La velocidad de disolución del SiO_2 calculada fue de 0,009 % en peso/h.

Curva 3 (Figura 3)

25 Liberación acumulativa de propranolol en disolución de TRIS saturada con SiO_2 .

Ejemplo 4

30 Se prepararon las microesferas de SiO_2 de la siguiente manera: los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: $\text{H}_2\text{O}/\text{TEOS} = 30$, pH 2,8 (se utilizó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis se realizó a temperatura ambiente. Se añadió propranolol (fármaco) al sol. La cantidad de propranolol fue de 5 % en peso de la cantidad teórica de SiO_2 en el sol (1 mol de TEOS = 1 mol de SiO_2). Las microesferas se prepararon pulverizando sol de sílice, con un mini secador por pulverización (B-191, Büchi Labortechnik AG, Suiza) dentro de los 15 minutos posteriores a la adición de propranolol. Se utilizaron los siguientes parámetros de procedimiento: bomba 16 %, aspirador 95 %, y flujo de 600 l/h. La temperatura de la boquilla de pulverización fue de 120 °C.

35 Se estudiaron la disolución de la matriz y la liberación de propranolol sumergiendo las microesferas de sílice en una disolución tamponada de TRIS 0,005 M (pH 7,4, 37 °C) en condiciones de gradiente máximo ($\text{SiO}_2 < 30$ -130 ppm) y una disolución tamponada de TRIS 0,005 M (pH 7,4, 37 °C) saturada con SiO_2 (SiO_2 120-130 ppm). La disolución tamponada de TRIS se esterilizó a 121 °C antes de su uso. Los estudios de disolución se realizaron en un baño de agua con agitación. En una disolución de TRIS saturada con SiO_2 , la concentración de SiO_2 no aumenta incluso si se coloca una matriz de sílice disuelta en la disolución. La concentración de Si del tampón de TRIS en diferentes puntos de tiempo se midió con un espectrofotómetro (UV-1601, Shimadzu) analizando la absorbancia del complejo de azul de molibdeno a 820 nm. La disolución de la matriz en TRIS se presenta como disolución acumulativa de la matriz de SiO_2 . La cantidad total (100 %) de SiO_2 se calcula a partir de la cantidad teórica de SiO_2 que se puede obtener a partir de la composición de sol según la reacción neta (1 mol de alcóxido usado, TEOS corresponde a 1 mol de SiO_2). No se observó disolución de la matriz en el TRIS saturado con SiO_2 . La concentración de propranolol se mide directamente con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 227 nm. La liberación del propranolol en TRIS y en la disolución de microesferas de SiO_2 y de TRIS saturado con SiO_2 se presenta como la liberación acumulativa en la Figura 4.

Curva 1 (Figura 4)

Liberación acumulativa de propranolol en disolución TRIS.

Curva 2 (Figura 4)

50 Disolución acumulativa de SiO_2 en disolución de TRIS. La velocidad de disolución del SiO_2 calculada fue de 0,016 % en peso/h.

Curva 3 (Figura 4)

Liberación acumulativa de propranolol en disolución de TRIS saturada con SiO₂.

Ejemplo 5

5 Se prepararon los monolitos de SiO₂ de la siguiente manera: los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: H₂O/TEOS = 30, pH 2 (se utilizó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis se realizó a temperatura ambiente. El sol se envejeció y se secó simultáneamente a 40°C durante 66 horas. Después de envejecer y secar, el pH del sol se ajustó con NaOH a 6,2 y se añadió una disolución de BSA-agua (proteína) al sol. La cantidad de BSA fue de 5 % en peso de la cantidad teórica de SiO₂ en el sol (1 mol de TEOS = 1 mol de SiO₂). La relación en moles de H₂O/TEOS después de agregar la disolución de BSA-agua fue de 34. El sol se pipeteó en el molde y se envejeció a 4 °C. El secado del gel se produjo a 4 °C con evaporación libre hasta el peso constante.

10 Se estudiaron la disolución de la matriz y la liberación de BSA sumergiendo los monolitos de sílice en una disolución tamponada de TRIS 0,005 M (pH 7,4, 37 °C) en condiciones de gradiente máximo (SiO₂ < 30 ppm). La disolución tamponada de TRIS se esterilizó a 121 °C antes de su uso. Los estudios de disolución se realizaron en un baño de agua con agitación. La concentración de Si del tampón de TRIS en diferentes puntos de tiempo se midió con un espectrofotómetro (UV-1601, Shimadzu) analizando la absorbancia del complejo de azul de molibdeno a 820 nm. La disolución de la matriz se presenta como liberación acumulativa de SiO₂. La cantidad total (100 %) de SiO₂ se calcula a partir de la cantidad teórica de SiO₂ que se puede obtener a partir de la composición del sol según la reacción neta (1 mol de alcóxido usado, TEOS corresponde a 1 mol de SiO₂). La concentración de BSA se analizó con el método de fluorescencia (Photo Technology International) con el kit NanoOrange (Molecular Probes).

La disolución del monolito de SiO₂ y la liberación de BSA se presentan en la Figura 5.

20 Curva 1 (Figura 5)

Liberación acumulativa de BSA en disolución de TRIS.

Curva 2 (Figura 5)

Disolución acumulativa de SiO₂ en disolución de TRIS. La velocidad de disolución del SiO₂ calculada fue de 0,196 % en peso/h.

25 Ejemplo 6

Se prepararon los monolitos de SiO₂ de la siguiente manera: los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: H₂O/TEOS = 22, pH 2,8 (se utilizó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis del sol se realizó a temperatura ambiente. El pH del sol se ajustó con NaOH 0,5 M a 5,2 y se añadió una disolución de BSA-agua (proteína) al sol. La cantidad de BSA fue del 7 % en peso de la cantidad teórica de SiO₂ en el sol (1 mol de TEOS = 1 mol de SiO₂). La relación en moles de H₂O/TEOS después de agregar el BSA fue de 30. El sol se pipeteó en el molde y se envejeció a 4 °C durante 96 h. El secado del gel se produjo a 4 °C con evaporación libre hasta el peso constante.

35 Se estudió la liberación de BSA sumergiendo los monolitos de sílice en una disolución tamponada de TRIS 0,005 M (pH 7,4, 37 °C) en condiciones de gradiente máximo (SiO₂ < 30 ppm) y disolución tamponada de TRIS 0,005 M (pH 7,4, 37 °C) saturada con SiO₂ (SiO₂ 120-130 ppm). La disolución tamponada de TRIS se esterilizó a 121 °C antes de su uso. Los estudios de liberación se realizaron en un baño de agua con agitación. En la disolución de TRIS saturada con SiO₂, la liberación de BSA no fue causada por la disolución de la matriz. La concentración de BSA se midió directamente con un espectrofotómetro a la longitud de onda de 220 nm. La liberación de BSA en TRIS y en TRIS saturado con SiO₂ se presenta como liberación acumulativa.

40 La liberación de BSA en TRIS y en TRIS saturado con SiO₂ se presenta en la Figura 6.

Curva 1 (Figura 6)

Liberación acumulativa de BSA en disolución de TRIS.

Curva 2 (Figura 6)

Liberación acumulativa de BSA en disolución de TRIS saturada con SiO₂.

45 Ejemplo 7

Se prepararon las microesferas de SiO₂ de la siguiente manera: los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: H₂O/TEOS = 22, pH 2,8 (se utilizó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis se realizó a temperatura ambiente. Se ajustó el pH del sol con NaOH 0,5 M a 5,3 y se añadió la disolución de BSA-agua al sol. La cantidad de BSA fue del 5 % en peso de la cantidad teórica de SiO₂ en el sol (1 mol de TEOS = 1 mol de SiO₂). La relación en moles de H₂O/TEOS después de agregar la disolución de BSA-agua fue de 30. Las microesferas se prepararon pulverizando el sol de sílice con un mini secador por pulverización (B-191, Büchi

Labortechnik AG, Suiza) dentro de los 15 minutos posteriores al ajuste del pH a 5,3 y la adición de BSA. Se utilizaron los siguientes parámetros de procedimiento: bomba 16 %, aspirador 95 %, y flujo de 600 l/h. La temperatura de la boquilla de pulverización fue de 120 °C.

5 Se estudió la liberación de BSA sumergiendo las microesferas de sílice en una disolución tamponada de TRIS 0,005 M (pH 7,4, 37 °C) de gradiente máximo ($\text{SiO}_2 < 30$ ppm) y disolución tamponada de TRIS 0,005 M (pH 7,4, 37 °C) saturada con SiO_2 (SiO_2 120-130 ppm). La disolución tamponada de TRIS se esterilizó a 121 °C antes de su uso. Los estudios de liberación se realizaron en un baño de agua con agitación. En la disolución de TRIS saturada con SiO_2 , la liberación de BSA no fue causada por la disolución de la matriz. La concentración de BSA se midió directamente con un espectrofotómetro a la longitud de onda de 220 nm. La liberación de BSA en TRIS y en TRIS saturado con SiO_2 se presenta como liberación acumulativa.

10 La liberación de BSA en TRIS y en TRIS saturado con SiO_2 se presenta en la Figura 7.

Curva 1 (Figura 7)

Liberación acumulativa de BSA en disolución TRIS.

Curva 2 (Figura 7)

15 Liberación acumulativa de BSA en disolución de TRIS saturada con SiO_2 .

Se apreciará que los métodos de la presente invención se pueden incorporar en forma de una variedad de realizaciones y sólo algunas de las cuales se describen en la presente memoria. Resultará evidente para el especialista en el campo que existen otras realizaciones y que no se apartan del espíritu de la invención. Por lo tanto, las realizaciones descritas son ilustrativas y no deben interpretarse como restrictivas.

20 Ejemplo 8

Se prepararon los monolitos de SiO_2 de la siguiente manera: los valores iniciales de la concentración del sol (relación en moles) y del pH calculado fueron: $\text{H}_2\text{O}/\text{TEOS} = 24$, pH 2,8 (se utilizó HCl para ajustar el pH). La hidrólisis del sol se realizó a temperatura ambiente. El pH del sol se ajustó con NaOH 0,5 M a 5,0 y se añadió una disolución de BSA-agua (proteína) al sol. La cantidad de BSA fue del 5 % en peso de la cantidad teórica de SiO_2 en el sol (1 mol de TEOS = 1 mol de SiO_2). La relación en moles de $\text{H}_2\text{O}/\text{TEOS}$ después de agregar el BSA fue de 30. El sol se pipeteó en el molde y se envejeció a 4 °C durante 96 h. El secado del gel se produjo a 4 °C con evaporación libre hasta el peso constante.

30 Se estudió la liberación de BSA sumergiendo los monolitos de sílice en una disolución tamponada de TRIS 0,005 M (pH 7,4, 37 °C) en condiciones de gradiente máximo ($\text{SiO}_2 < 30$ ppm). La disolución tamponada de TRIS se esterilizó a 121 °C antes de su uso. Los estudios de liberación se realizaron en un baño de agua con agitación. La concentración de BSA se midió directamente con un espectrofotómetro a la longitud de onda de 220 nm. La liberación de BSA en TRIS se presenta como liberación acumulativa.

La liberación de BSA en TRIS se presenta en la Figura 8.

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar un SiO₂ derivado de sol-gel como

- un monolito, con un diámetro mínimo de $\geq 0,5$ mm,

- un revestimiento, con un espesor de $< 0,5$ mm, o

5 - una partícula, con un diámetro máximo de ≤ 100 μ m,

que comprende un porcentaje o porcentajes específicos de un agente o agentes biológicamente activos distintos del propio SiO₂ con o sin agente o agentes protectores para dicho agente o agentes biológicamente activos, en donde el método comprende un SiO₂ derivado de sol-gel que se prepara a partir de un sol que comprende agua, un alcóxido o silicato inorgánico y un alcohol inferior, es decir, un alcohol con ≤ 4 átomos de carbonos, que utiliza un ácido mineral o una base como catalizador, preferiblemente un ácido mineral, y se envejece y seca dicho sol, se caracteriza porque

10

a) en el sol,

i) el pH inicial es de 0,05 a 2,5, preferiblemente de 1,5 a 2,5, lo más preferible de 2,0,

ii) la relación en moles inicial de agua con respecto al alcóxido o silicato inorgánico es de 0,5 a 2,5; preferiblemente de 1,5 a 2,5,

15

iii) la relación en moles inicial de alcohol con respecto al alcóxido o silicato inorgánico es $\geq 0,5$, preferiblemente $\geq 1,0$; y

b) o bien,

i) no se inducen cambios de la composición del sol,

- la gelificación del sol se realiza mediante secado forzado o secado por liofilización del sol, o

20

ii) se induce un cambio o cambios en la composición del sol, seleccionados del grupo que consiste en agregar agua, agregar el alcóxido o silicato inorgánico, agregar el alcohol o el catalizador, ajustar el pH al agregar un ácido, base o tampón o agregar dicho agente o agentes biológicamente activos, se inducen después del envejecimiento del sol, pero antes de la formación del gel, y

la relación t/t_{gel} es $\geq 0,005$, preferiblemente $\geq 0,1$, lo más preferible $\geq 0,9$,

25

en donde,

t es el tiempo de envejecimiento del sol, es decir, el tiempo desde la preparación de dicho sol hasta los cambios inducidos, y

t_{gel} es el punto en el tiempo en el que el sol se habría convertido en un gel sin los cambios inducidos; y

30

el secado forzado o secado por liofilización del sol se realiza o inicia dentro de un período de tiempo de ≤ 30 minutos, preferiblemente ≤ 15 minutos, lo más preferible ≤ 5 minutos, a partir de dicho cambio o cambios inducidos.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque se utiliza un alcóxido, preferiblemente tetraetoxisilano (TEOS), para preparar el SiO₂ derivado de sol-gel.

35

3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque se utiliza un silicato inorgánico, preferiblemente silicato de sodio o de potasio, para preparar el SiO₂ derivado de sol-gel.

4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque el alcohol inferior es etanol.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el secado forzado es secado por liofilización que se inicia con la congelación del sol.

40

6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizado porque la temperatura del sol es $\leq +90$ °C, preferentemente $\leq +50$ °C, lo más preferible $\leq +40$ °C.

7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque se seca el gel.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado porque el secado del gel es secado por calor ambiente, secado al vacío, secado electromagnético, secado acústico, secado por pulverización o secado por liofilización, preferiblemente, el secado por calor ambiente o el secado por liofilización.

9. El método de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, caracterizado porque el gel se seca a una temperatura de ≤ 700 °C, preferiblemente ≤ 50 °C, y lo más preferible ≤ 40 °C.

5 10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque el agente o agentes biológicamente activos se seleccionan del grupo que consiste en un fármaco, péptido, proteína, hormona, factor de crecimiento, enzima, polisacárido, células o virus vivos o muertos o partes de los mismos, plásmidos, polinucleótidos, iones solubles en agua, sales y cualquier combinación de los mismos.

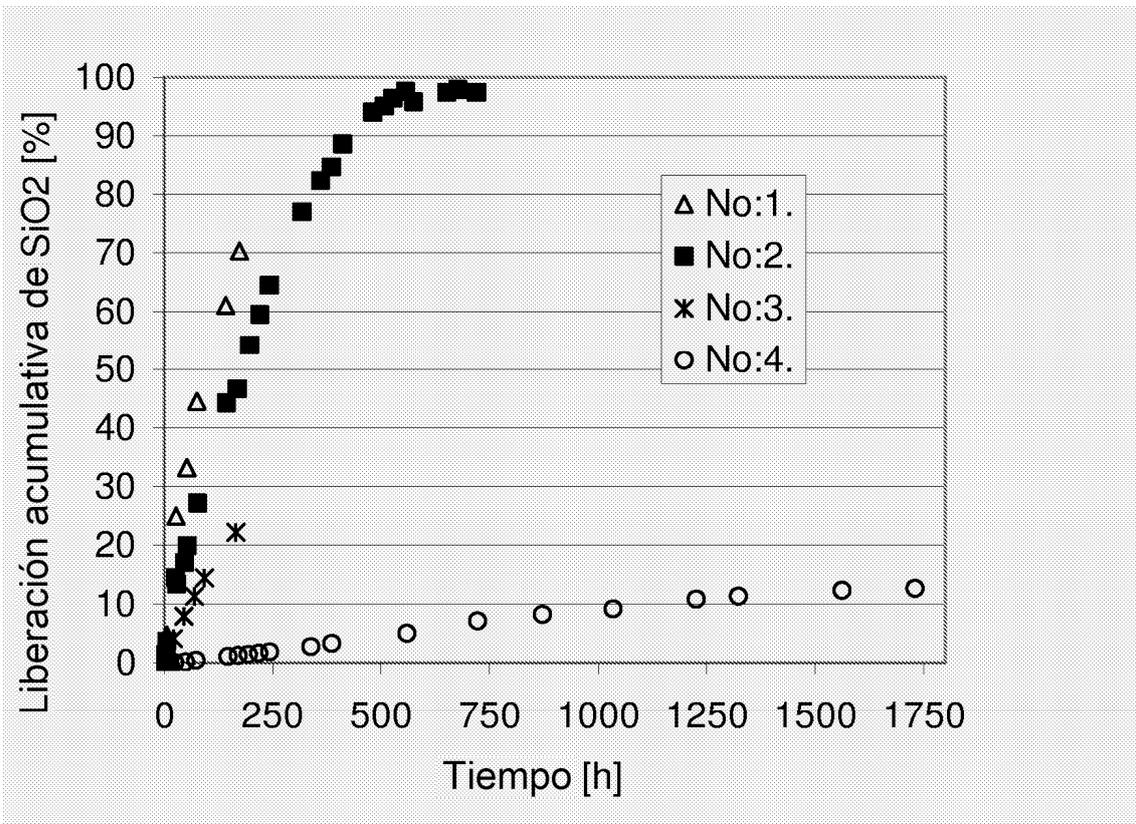


Figura 1

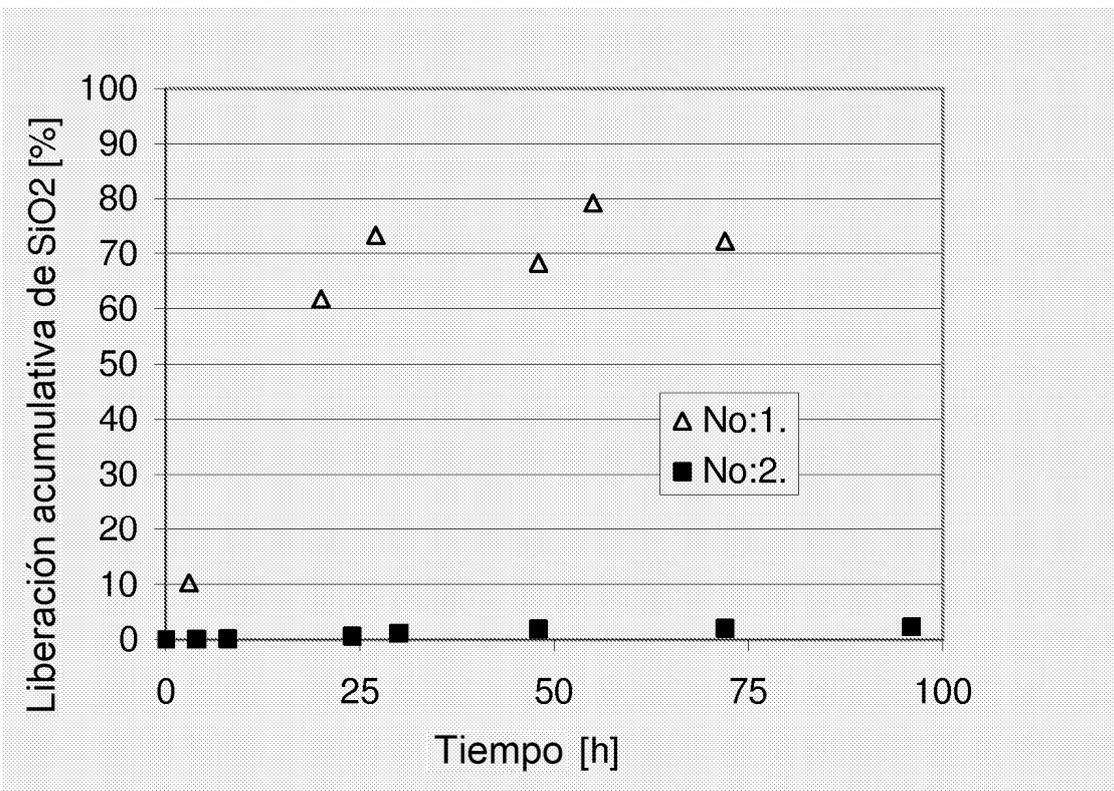


Figura 2

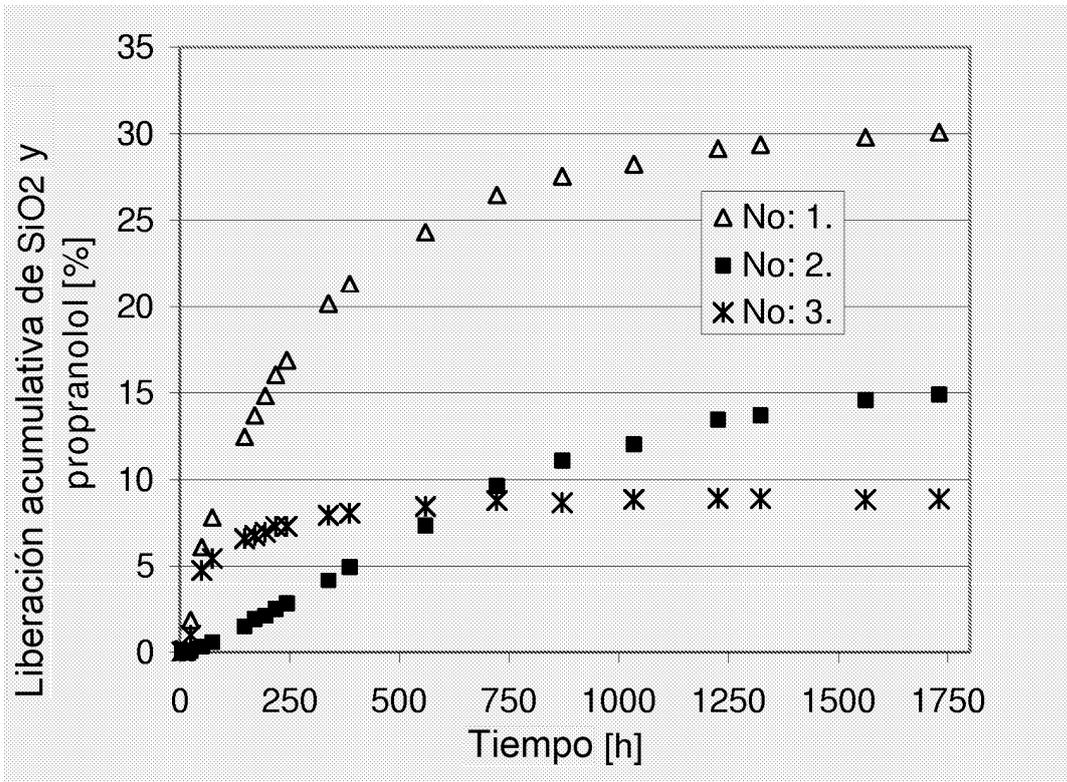


Figura 3

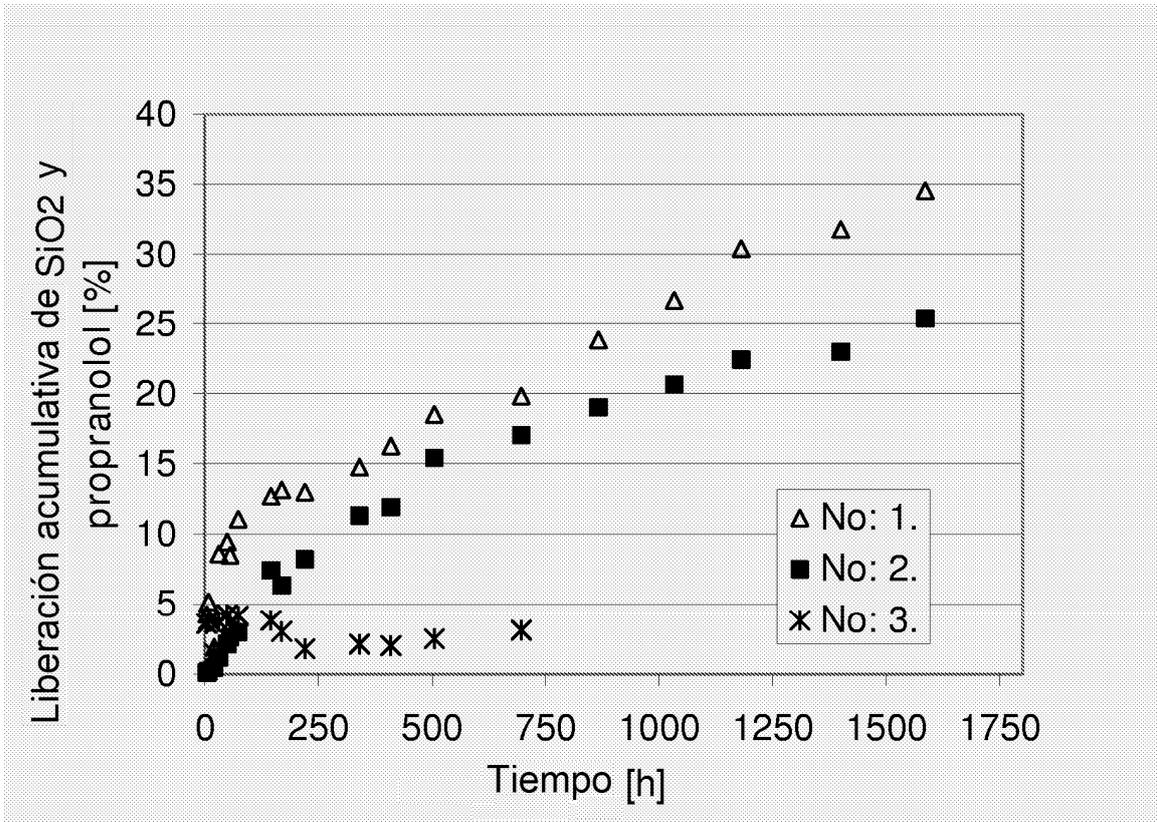


Figura 4

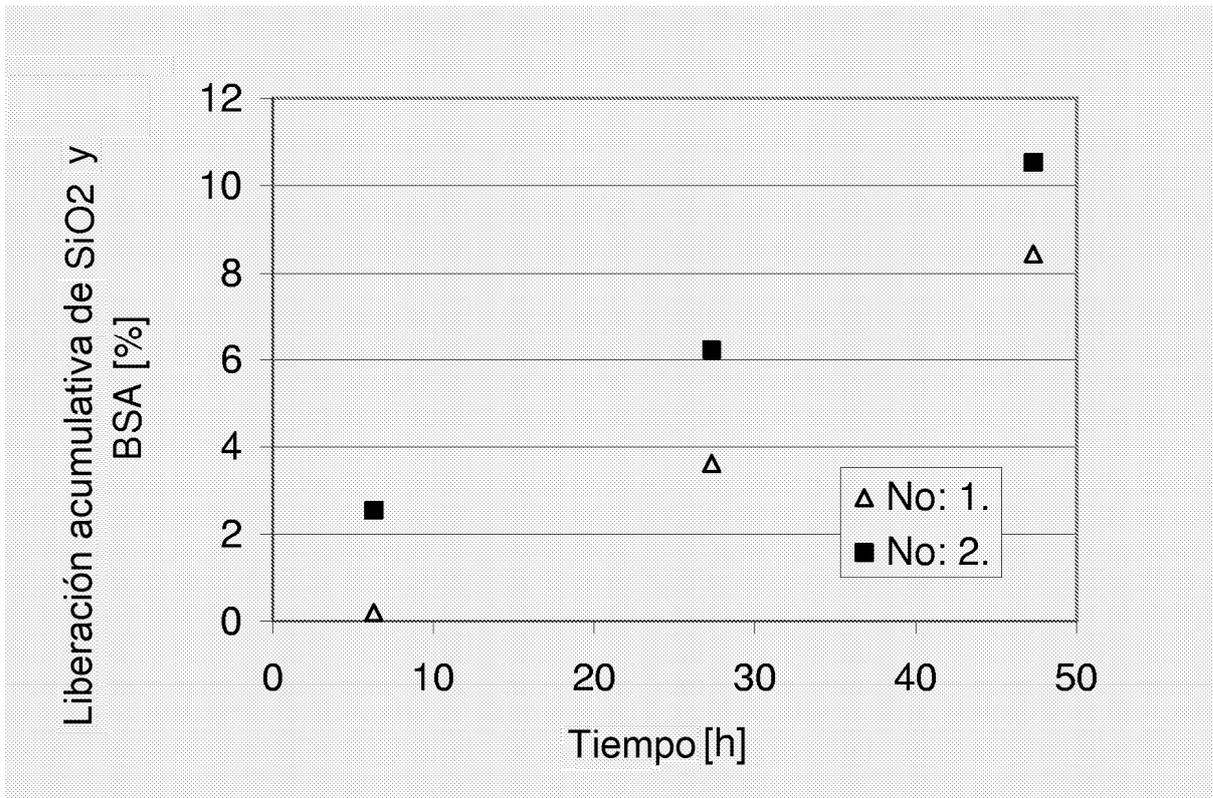


Figura 5

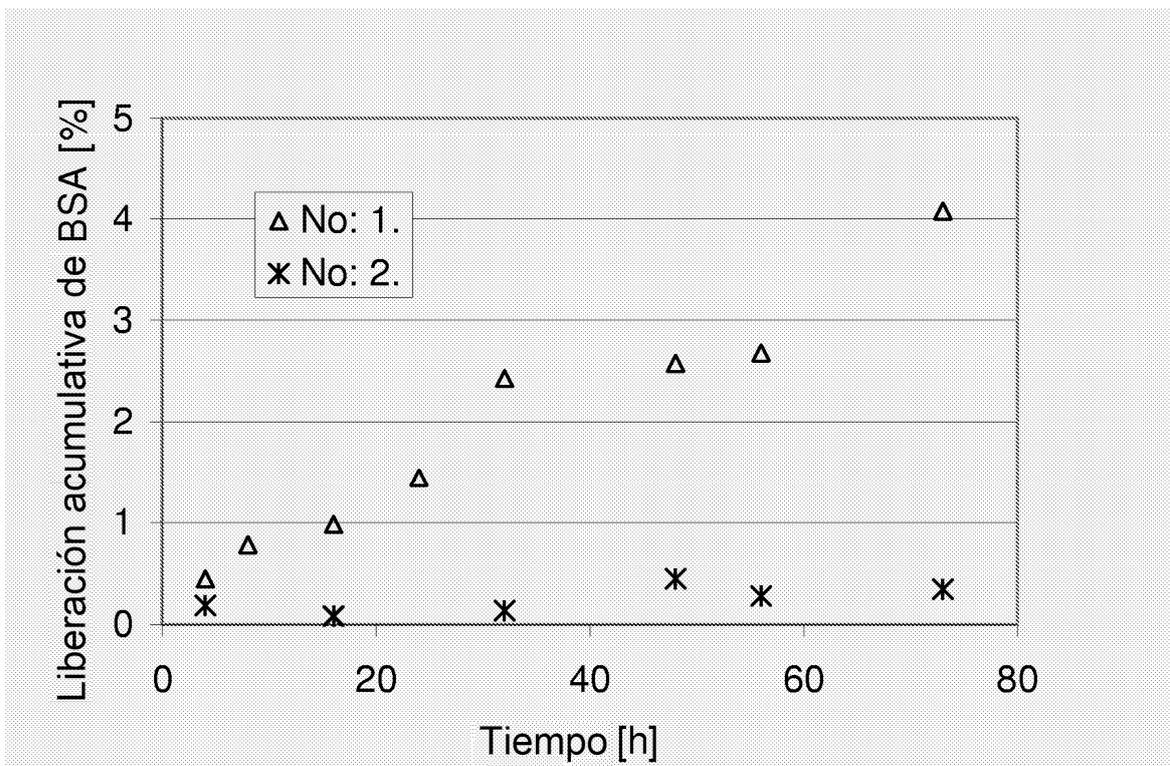


Figura 6

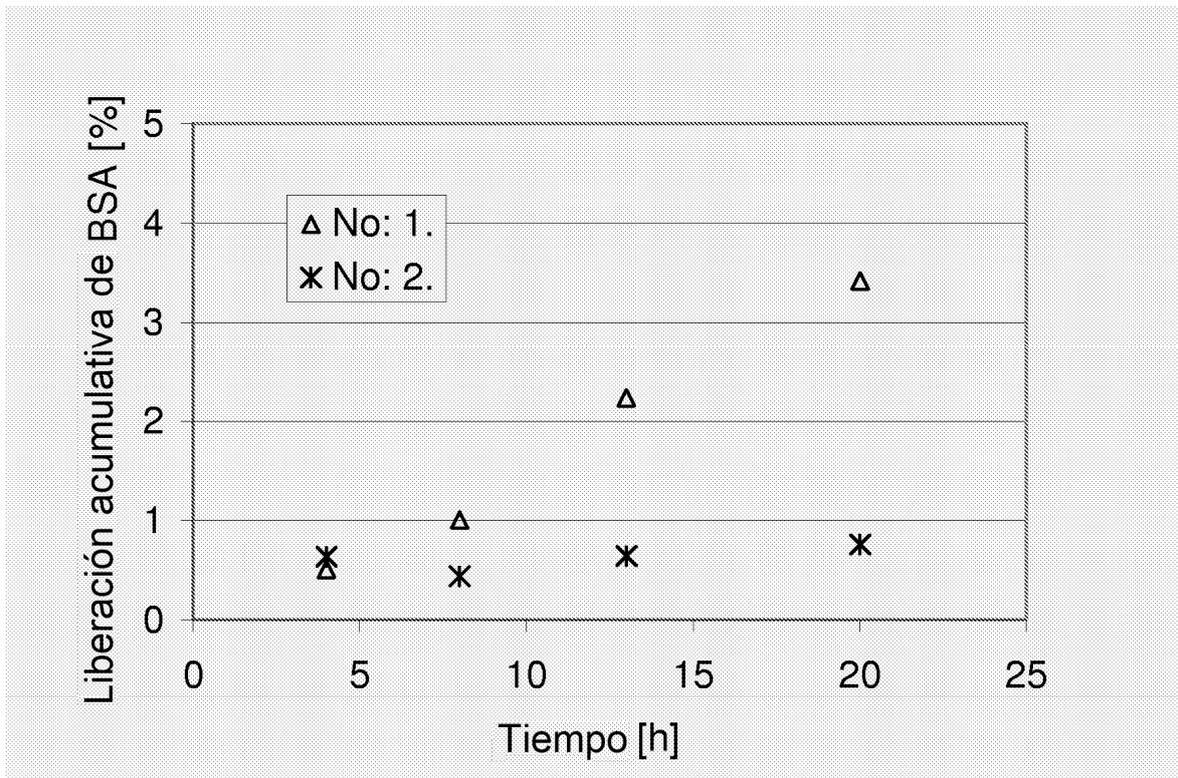


Figura 7

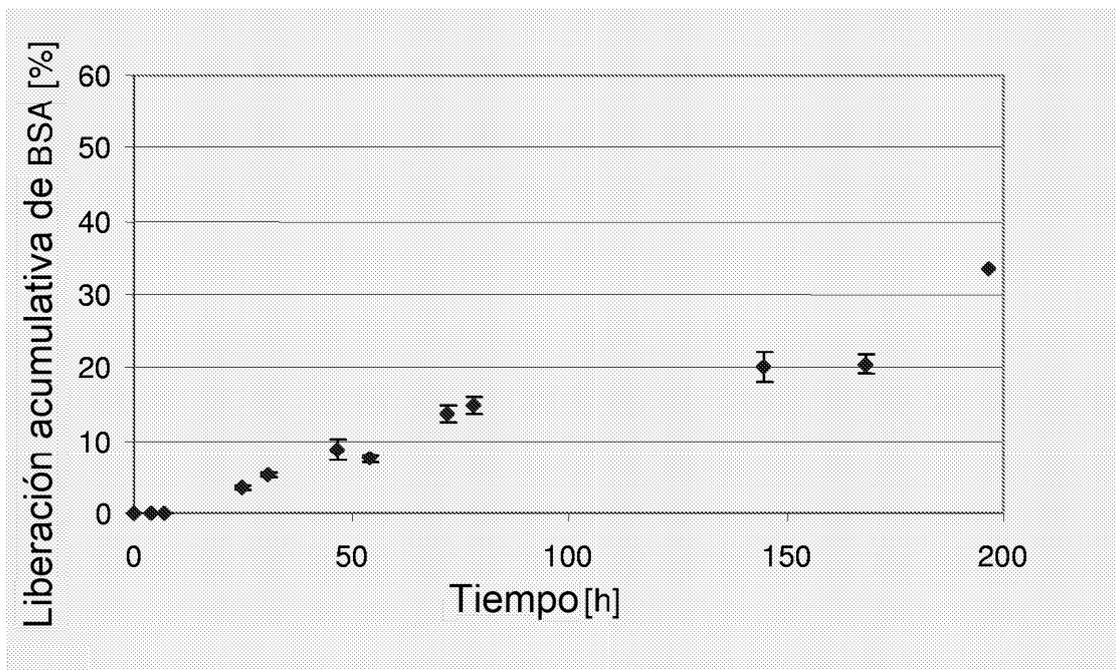


Figura 8