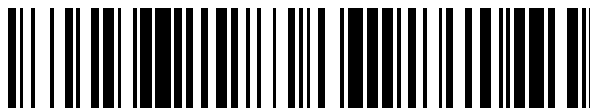


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 735 638**

21 Número de solicitud: 201830594

51 Int. Cl.:

C08F 220/30 (2006.01)
A61K 31/355 (2006.01)
A61K 47/32 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)
A61K 31/765 (2006.01)
A61K 31/787 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

18.06.2018

43 Fecha de publicación de la solicitud:

19.12.2019

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

29.10.2020

Fecha de concesión:

11.01.2021

45 Fecha de publicación de la concesión:

18.01.2021

73 Titular/es:

ALODIA FARMACÉUTICA, S.L. (70.0%)
C/ Santiago Grisolia, 2
28760 Tres Cantos (Madrid) ES;
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN
RED EN BIOINGENIERÍA, BIOMATERIALES Y
NANOMEDICINA (CIBER-BBN) (15.0%)
y
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (15.0%)

72 Inventor/es:

SAN ROMÁN DEL BARRIO, Julio;
AGUILAR DE ARMAS, María Rosa;
PALAO SUAY, Raquel y
NAKAL, Alberto

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **COPOLÍMEROS Y TERPOLÍMEROS ACRÍLICOS FUNCIONALES AUTOASOCIADOS Y SU USO COMO VEHÍCULOS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS**

57 Resumen:

Copolímeros y terpolímeros acrílicos funcionales autoasociados y su uso como vehículos de compuestos bioactivos.

La presente invención se refiere a una familia de copolímeros y terpolímeros antifílicos que forman nanopartículas multi-micelares poliméricas bioactivas de tamaño nanométrico, constituidas por sistemas poliméricos sintéticos derivados de monómeros acrílicos funcionales que contienen α -tocoferol (vitamina E) como componente bioactivo e hidrofóbico, y monómeros hidrofílicos de composición muy variable, preferiblemente constituidos por N-vinilpirrolidona, N-vinil caprolactama, N-vinil imidazol así como mezclas de copolímeros de metacrilato de vitamina E y N-vinil pirrolidona con los correspondientes terpolímeros. Estos compuestos pueden utilizarse como sistemas de liberación controlada para la administración de compuestos bioactivos.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.

Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

ES 2 735 638 B2

DESCRIPCIÓN**COPOLÍMEROS Y TERPOLÍMEROS ACRÍLICOS FUNCIONALES
AUTOASOCIADOS Y SU USO COMO VEHÍCULOS DE COMPUESTOS
BIOACTIVOS**

5

La presente invención se refiere a una familia de copolímeros y terpolímeros anfífilos que forman nanopartículas multi-micelares poliméricas bioactivas de tamaño nanométrico, constituidas por sistemas poliméricos sintéticos derivados de monómeros acrílicos funcionales que contienen α -tocoferol (vitamina E) como componente bioactivo e hidrofóbico, y monómeros hidrofílicos de composición muy variable, preferiblemente constituidos por N-vinilpirrolidona, N-vinil caprolactama, N-vinil imidazol así como mezclas de copolímeros de metacrilato de vitamina E y N-vinil pirrolidona con los correspondientes terpolímeros. Estos compuestos pueden utilizarse como sistemas de liberación controlada para la administración de compuestos bioactivos.

15

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los avances que ha experimentado la nanotecnología en los últimos años han permitido desarrollar sistemas muy específicos para aplicaciones muy dirigidas en el área de la medicina regenerativa, ofreciendo nuevas estrategias de tratamientos biomédicos que proporcionan soluciones muy novedosas e interesantes a problemas de difícil pronóstico y tratamiento eficaz, como son las aplicaciones intra-articulares para mejorar la biomecánica de articulaciones, así como para procurar un tratamiento eficaz de regeneración osteo-articular, o bien tratamientos a nivel epidérmico para mejorar las condiciones de la epidermis.

20

25

El α -tocoferol (vitamina E) es altamente hidrófobo, presenta muy baja o nula solubilidad en medios fisiológicos y, por tanto, es difícil de administrar y mantener en el medio fisiológico de forma activa. Los derivados acrílicos de vitamina E (ya sea acrilato o metacrilato) presentan el mismo carácter hidrofóbico, pero debido a su reactividad por parte del componente acrílico, puede utilizarse para preparar sistemas poliméricos en un amplio intervalo de composiciones por polimerización con los derivados vinílicos pertinentes entre los que se consideran N-vinil pirrolidona y N-vinil caprolactama. El resultado es un sistema polimérico de alto peso molecular, biocompatible y de carácter

30

35

anfífilico muy notable, dependiendo del contenido en los componentes hidrofílico e hidrofóbico. Como consecuencia de ello el sistema se comporta como un compuesto macromolecular, de peso molecular controlado y carácter netamente anfífilico, que en condiciones fisiológicas se auto-asocia para formar nanopartículas de tamaño controlado dependiendo de la metodología aplicada en su preparación. El componente bioactivo (vitamina E) queda por lo tanto anclado químicamente a un sistema micelar que puede ofrecer por un lado la capacidad de autoensamblarse, y a la vez ofrece una actividad antioxidante a nivel celular muy considerable. Dependiendo de la composición y del peso molecular es posible preparar nanopartículas autoensambladas estables en condiciones fisiológicas con tamaños variables que pueden oscilar entre los 50 nm y los 500 nm. Estas nanopartículas, estables en medios acuosos y medio fisiológico, pueden dispersarse de forma eficaz en disoluciones poliméricas en forma de gel o disoluciones de alta viscosidad con polímeros reabsorbibles y biodegradables como quitosano, ácido hialurónico, sulfato de condroitina, gelatina, goma arábica, Aloe Vera, y derivados celulósicos como metil celulosa, carboximetil celulosa, almidones, dextrinas, etc.

El siguiente artículo científico "*Anticancer and Antiangiogenic Activity of Surfactant-Free Nanoparticles Based on Self-Assembled Polymeric Derivatives of Vitamin E: Structure-Activity Relationship*" R. Palao-Suay et al. *Biomacromolecules* (2015) 16 1566-1581 describe derivados poliméricos acrílicos portadores de α -tocoferol de hasta un 20% del total de monómeros en la alimentación, donde el α -tocoferol está directamente unido al grupo acrílico del derivado polimérico. La aplicación de estos sistemas se orienta en relación con la capacidad antioxidante asociada al α -tocoferol incorporado.

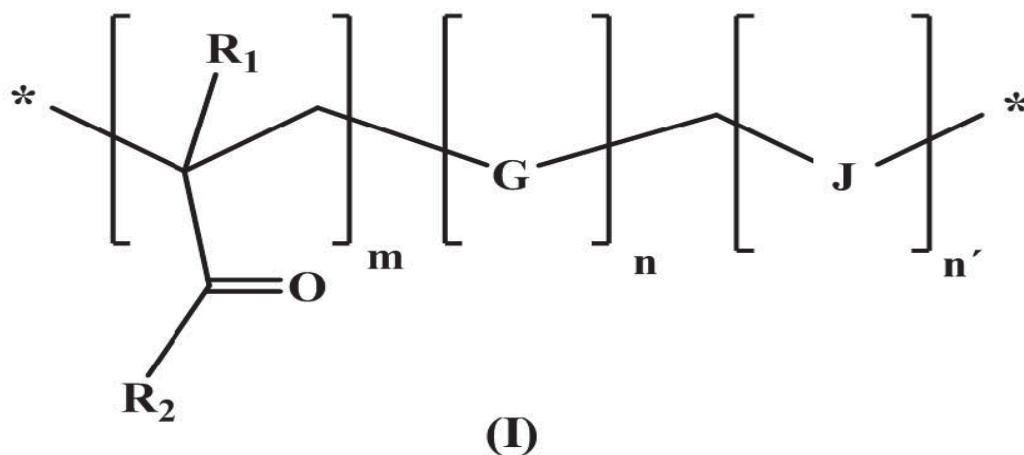
Por tanto, resulta de enorme interés desde un punto de vista aplicado desarrollar sistemas que ofrezcan la capacidad de autoensamblado, y simultáneamente sean portadores del componente antioxidante por excelencia (vitamina E), y puedan ser utilizados en forma de nanopartículas como vehículos para la vectorización y liberación controlada y dirigida de otros componentes bioactivos que pueden cargarse o adicionarse a las nanopartículas en proporciones adecuadas, disminuyendo su toxicidad notablemente y permitiendo su aplicación en un punto determinado del organismo (aplicación dirigida y localizada), con lo que se reduce sustancialmente sus efectos tóxicos secundarios y se consigue una eficacia superior a la que se obtendría mediante la aplicación de componentes bioactivos aplicados de forma libre o aislada.

35

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En la presente invención se describe el uso de una familia de copolímeros y terpolímeros de carácter anfifílico que en condiciones fisiológicas son capaces de formar micelas poliméricas de tamaño micrométrico o nanométrico y que están constituidos por monómeros acrílicos derivados de la molécula de α -tocoferol y monómeros altamente hidrofílicos como N-vinil pirrolidona y/o N-vinil caprolactama, vinil imidazol y otros compuestos vinílicos hidrofílicos. Esta familia de copolímeros y terpolímeros presenta una actividad dual (antioxidante y anfifílica) que ofrece la posibilidad de utilizarse como vehículos para otros principios activos con efectos analgésicos, antiinflamatorios, activadores de procesos de regeneración tisular, antibióticos, antiproliferativos, antimicrobianos, etc.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto polimérico de fórmula (I):



o sus isómeros o sales,

donde R_1 se selecciona de entre hidrógeno y alquilo C_1 - C_4 lineal o ramificado;

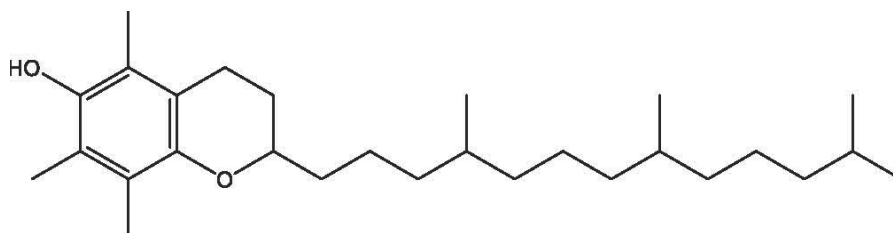
R_2 es vitamina E o $-X$ -vitamina E, donde X es el grupo $-[(CH_2)_a-R_3-(CH_2)_b-R_4]_c-$, donde a y b tienen un valor seleccionado independientemente de entre 2 a 6, c tiene un valor seleccionado de entre 1 a 6;

R_3 y R_4 se seleccionan independientemente de entre $C=O$, $O-C=O$;

G y J son monómeros hidrofílicos iguales o diferentes;

m, n y n' representan la fracción molar de cada una de la unidades delimitadas por los símbolos [] en la composición final del compuesto polimérico, siendo $(m+n+n') = 1$ y * se entiende como la repetición consecutiva de dichas unidades.

En la presente invención el término "vitamina E" se refiere a una familia que comprende el α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol, δ -tocoferol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, β -tocotrienol y δ -tocotrienol. De estos, el α -tocoferol es la forma que se mantiene activa en el organismo, por lo que es la forma preferida de vitamina E. Actúa como antioxidante liposoluble que impide la peroxidación lipídica de los ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares. Su fórmula es la siguiente:



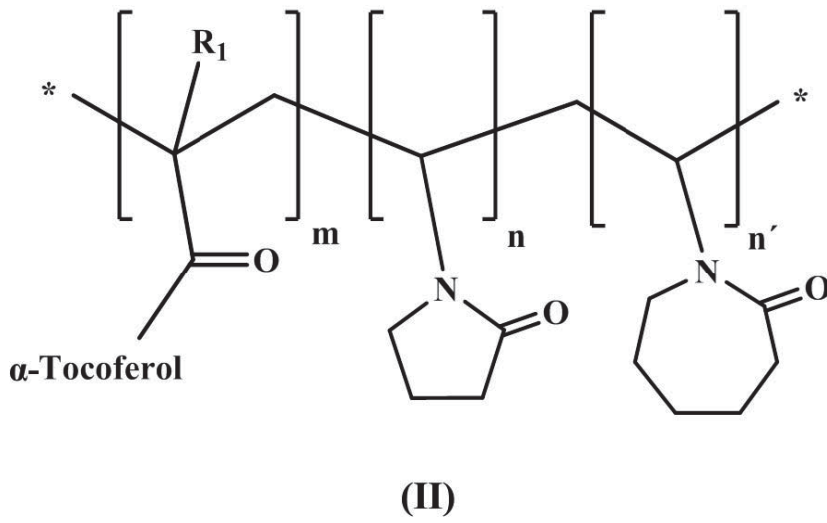
En la presente invención la molécula de α -tocoferol (vitamina E) está unida a un resto acrílico mediante enlaces hidrolizables enzimáticamente, R_2 , que evita su acumulación en el organismo, pues da lugar a productos totalmente solubles en el medio fisiológico. La ventaja de estos monómeros acrílicos portadores de α -tocoferol es, por tanto, su solubilidad en medio fisiológico, lo que permite que puedan ser eliminados del organismo utilizando la vía metabólica más normal, siendo comúnmente eliminados por filtración a través del riñón si poseen un peso molecular adecuado.

En una realización preferida, la vitamina E es alfa-tocoferol.

En otra realización preferida, G y J se seleccionan independientemente del siguiente grupo: *N*-vinilpirrolidona, *N*-vinilcaprolactama, 1-vinilimidazol y *N,N*-dimetilacrilamida, *N*-isopropilacrilamida, 2-hidroxietilmetacrilato, 2-hidroxietilacrilato, metacrilato de polietilenglicol, acrilato de polietilenglicol, metacrilato de 2-hidroxipropilo, metacrilato de *N*-etilmorfolina, acrilato *N*-etilmorfolina, *N*-hidroxietil pirrolidona, acrilato de *N*-hidroxietil pirrolidona.

25

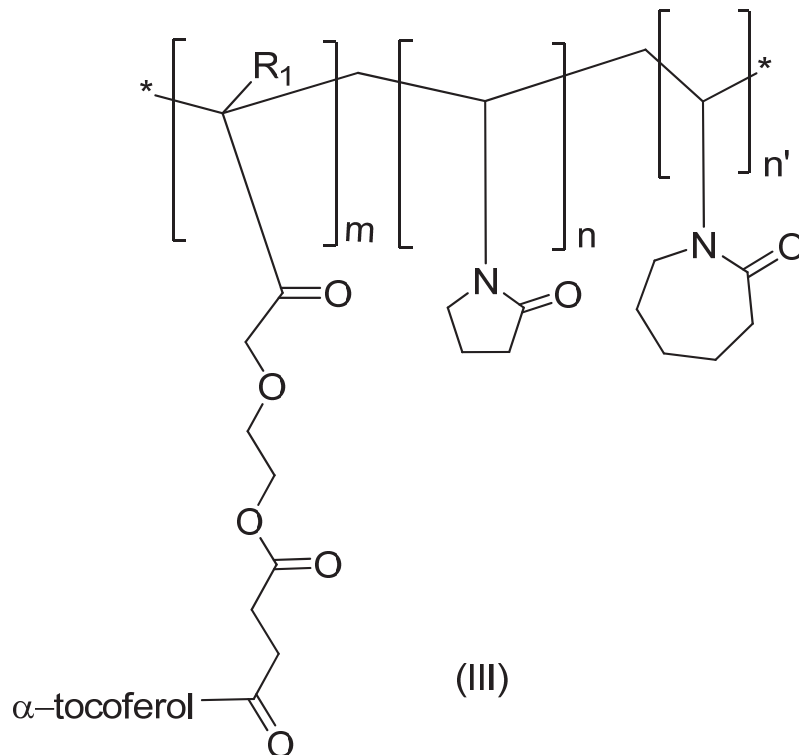
En otra realización preferida, el compuesto de la invención es el compuesto de fórmula (II):



o sus isómeros o sales,

donde R_1 , m , n y n' son como se definen anteriormente.

- 5 En otra realización preferida, el compuesto de la invención es el compuesto de fórmula (III):



o sus isómeros o sales,

- 10 donde R_1 , m , n y n' son como se definen anteriormente.

En otra realización preferida, m tiene un valor de 0,15.

En otra realización preferida, n tiene un valor de entre 0,00 y 0,85.

En otra realización preferida, n' tiene un valor entre 0,00 y 0,85.

5

Otro aspecto de la invención se refiere a una nanopartícula multi-micelar que comprende el compuesto polimérico según se ha definido anteriormente.

10 En una realización preferida, el compuesto polimérico de la nanopartícula multi-micelar es el compuesto polimérico de fórmula (II).

En otra realización preferida, el compuesto polimérico de la nanopartícula multi-micelar es el compuesto polimérico de fórmula (III).

15 En otra realización preferida, la nanopartícula multi-micelar además comprende un compuesto bioactivo.

20 En una realización más preferida, el compuesto bioactivo se selecciona del siguiente grupo: metilprednisolona, dexametasona, cortisona, ibuprofeno, naproxeno, flurbiprofeno, ketoprofeno, vitamina C, polifenoles, ácido carnósico, astaxantina, vitamina B1, vitamina B6, vitamina B12, derivados de β -caroteno, luteína, alantoína, vitamina A, ácido fólico, vancomicina, rifampicina, linezolid, sales de amonio cuaternarias, clorhexidina.

25 Otro aspecto de la invención se refiere a un sistema de liberación controlada de compuestos bioactivos que comprende la nanopartícula multi-micelar según se ha descrito anteriormente.

30 Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el sistema de liberación controlada según se ha descrito anteriormente.

35 Los sistemas que se recogen en esta patente están constituidos por copolímeros formados por un componente monomérico derivado acrílico de α -tocoferol (vitamina E) y un monómero vinílico, que puede ser entre otros N-vinil pirrolidona, N-vinil caprolactama o una mezcla de compuestos vinílicos que formarán parte integrante de

sistemas copoliméricos o terpolímeros de composición controlada y carácter anfifílico, con un balance de componentes de secuencias hidrofílicas e hidrofóbicas que dependerá directamente de la composición de los sistemas con los tres componentes, derivado acrílico de vitamina E, N-vinil pirrolidona y N-vinil caprolactama, pudiendo
5 además considerarse la incorporación de otros monómeros vinílicos que se describen en el cuerpo de la patente.

Los sistemas nanoparticulados que se consideran en esta patente tienen la propiedad de autoasociarse en condiciones fisiológicas para dar lugar a nanopartículas multi-
10 micelares estables, y además la capacidad de poder desasociarse en un periodo de tiempo razonable, ofreciendo una vía adecuada de eliminación de los sistemas una vez que han ejercido su función principal en las aplicaciones biomédicas que se determinen.

Se entiende por “copolímero” en la presente invención una macromolécula compuesta por dos unidades repetitivas distintas, denominadas monómeros, que se pueden unir de
15 diferentes formas por medio de enlaces químicos. Los monómeros que forman el copolímero pueden distribuirse de forma aleatoria o periódica. De forma similar, un “terpolímero” resulta de la reacción de polimerización simultánea de tres monómeros de naturaleza química diferente en donde se puede modificar de acuerdo con la
20 composición el carácter iónico, hidrofílico o lipofílico del sistema en su conjunto.

El término “copolímero o terpolímero anfifílico” se refiere a los sistemas de dos o tres monómeros diferentes formados por secuencias o segmentos lipofílicos unidos a
segmentos hidrofílicos de longitud variable.

25 Los compuestos poliméricos de la presente invención tienen la cualidad de formar partículas de tamaño nanométrico o micrométrico, con una morfología característica constituida por un núcleo hidrófobo y una corteza hidrofílica. Presentan una ventaja a destacar, como es el tamaño y la morfología de las micelas que se pueden modular
30 controlando la composición molar y la concentración de estos sistemas poliméricos. Las micelas de tamaños entre 50 y 500 nm son fácilmente administrables por inyección, en la zona donde son requeridos, o aplicadas en dispersiones acuosas o en geles hidrofílicos tópicamente o localmente.

35 Los compuestos de la presente invención se pueden preparar en un amplio rango de

composiciones molares, todas ellas presentan una buena citocompatibilidad y una estabilidad micelar apropiada lo que permite ser utilizadas no solo como compuestos con una actividad antioxidante per se sino además como vehículos para la administración, y liberación controlada y dirigida de componentes bioactivos y fármacos.

5

Los compuestos de fórmula (II) o (III) según descritos anteriormente pueden ser obtenidos mediante un procedimiento que comprende las siguientes etapas:

- a) Mezcla del alfa-tocoferol con cloruro de ácido acrílico o metacrílico en presencia de un catalizador y un activador de la reacción.
- 10 b) Mezcla del monómero acrílico obtenido en la etapa a) con un monómero hidrofílico, en presencia de un iniciador de reacción.

Preferiblemente, el catalizador de la etapa a) es una amina terciaria.

- 15 Preferiblemente, el tiempo de reacción de la etapa a) tiene una duración comprendida entre 1 y 60 horas.

Preferiblemente, la etapa a) se realiza a una temperatura de 15°C a 60°C.

- 20 Preferiblemente, el iniciador de la etapa b) es un iniciador radical (peróxido orgánico, azocompuesto, prester).

- Preferiblemente, la concentración de catalizador empleado en (a) está entre 0,01 y 1,5 equivalentes. Más preferiblemente, la concentración de activador de la reacción empleado en (a) está entre 1,0 y 1,8 equivalentes.
- 25

Preferiblemente, la concentración de monómero empleado en la etapa (b) está entre 0,1 y 10 M. Más preferiblemente, la concentración de iniciador empleado en la etapa (b) se encuentra entre 0,01 y 0,1 M.

30

Las nanopartículas multi-micelares descritas anteriormente se pueden obtener mediante un procedimiento en el que el compuesto polimérico de fórmula (I) se disuelve en un disolvente orgánico y se nanoprecipita en un medio acuoso o medio fisiológico miscible con el disolvente orgánico.

35

Preferiblemente, el disolvente orgánico es miscible con agua y se selecciona del siguiente grupo: dioxano, tetrahidrofurano dimetilsulfósido, y dimetilformamida.

5 Preferiblemente, el disolvente orgánico se encuentra en una concentración de entre 1 y 40 mg/ml. en la mezcla.

Preferiblemente, el medio acuoso se encuentra en una concentración de entre 0,2 y 10 mg/ml. en la mezcla

10 Preferiblemente, se emplea una mezcla de copolímero poli(MVE-co-VP) (15:85) (molar en alimentación) y terpolímeros representados por las fórmulas (II) y (III).

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para 15 los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

20 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

FIG. 1. Muestra el esquema de la síntesis del monómero metacrílico derivado de la molécula de α -tocoferol, MVE. Esquemas similares pueden proponerse para los correspondientes derivados acrílicos AVE, ATOS, MTOS.

25

FIG. 2. Muestra el espectro de ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) del monómero metacrílico derivado de la molécula de α -tocoferol (MVE).

FIG. 3. Muestra el espectro de ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) del copolímero poli(MVE-co- 30 VP) (15:85 molar en alimentación, Cop-85).

FIG.4. Muestra el espectro ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) del terpolímero poli(MVEco-VP-co-VC) de composición molar en alimentación (15:83:2).

35 FIG. 5. Muestra las imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) (a) y

microscopia de fuerza atómica (AFM) (b) de nanopartículas obtenidas con copolímeros y terpolímeros metacrílicos derivados de la molécula de α -tocoferol y *N*-vinilpirrolidona (VP) y *N*-vinil caprolactama poli(MVE-co-VP-co-VC).

5 FIG. 6. Muestra los resultados del ensayo de viabilidad de fibroblastos humanos expuestos a las nanopartículas obtenidas a partir de los copolímeros poli(MVE-co-VP) y los terpolímeros poli(MVE-co-VP-co-VC). Ensayo AlamarBlue, se representa la media de la viabilidad celular relativa \pm desviación estándar (n=8; *: p<0,05).

10 FIG.7. Muestra de la comparativa de las distribuciones de tamaño de partículas obtenidas a partir del copolímero control poli(MVE-co-VP) a lo largo de 4 semanas de conservación en la nevera a 4 °C.

FIG.8. Muestra de la comparativa de las distribuciones de tamaño de partículas
15 obtenidas a partir del copolímero control poli(MVE-co-VP) a lo largo de 4 semanas de conservación en el congelador a -20 °C.

FIG.9. Muestra de la comparativa de las distribuciones de tamaño de partículas
20 obtenidas a partir del copolímero control poli(MVE-co-VP) tras liofilizarlas y mantenerlas en agitación magnética durante 2 h.

FIG.10. Muestra de la comparativa de las distribuciones de tamaño de partículas
obtenidas a partir del copolímero control poli(MVE-co-VP) incorporando TPGS como
surfactante.

25

EJEMPLOS

A continuación, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los
inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

30

Ejemplo 1

Síntesis de un monómero metacrílico derivado de la molécula de α -tocoferol (MVE)

El monómero fue preparado por reacción de la molécula de α -tocoferol con cloruro de
35 metacrililo en presencia de trietilamina. Se utilizó diclorometano como disolvente. El

esquema de la reacción se muestra en la Figura 1.

En un matraz de fondo redondo se introdujeron la molécula de α -tocoferol (1 equivalente) y la trietilamina (1,5 equivalentes) en 150 ml de diclorometano. El cloruro de metacrililo (1,2 equivalentes) fue añadido lentamente, gota a gota, con constante agitación bajo atmosfera de nitrógeno y utilizando un baño de hielo. La mezcla de reacción se mantuvo durante 24 horas a temperatura ambiente. Transcurridas 24 horas, la mezcla de reacción se lavó por sucesivas extracciones con disoluciones de NaOH y HCl 1N y posteriormente se eliminó el disolvente a presión reducida. El medio resultante se redisolvió en hexano y se lavó 3 veces con la misma disolución de HCl utilizada con anterioridad con el fin de mejorar la eficacia de la purificación. El rendimiento global de la reacción fue superior al 90 %.

En la figura 2 se muestra el espectro del MVE con la asignación de las señales de resonancia que verifican la correcta síntesis del monómero. En el espectro se puede observar claramente las señales correspondientes a los protones vinílicos y a los protones del grupo (CH₃) del grupo acrílico.

Síntesis del copolímero portador de la molécula de alfa-tocoferol poli(MVE-co-VP)

Se prepararon copolímeros por reacción del monómero MVE obtenido y *N*-vinilpirrolidona (VP) como monómero hidrofílico a partir de una composición en la alimentación de MVE:VP (%-molar) de 15:85.

El copolímero fue preparado por polimerización radical a alta conversión. La reacción se llevó a cabo por disolución de los monómeros en dioxano (1 M) utilizando 2,2'-Azobisisobutironitrilo (AIBN) como iniciador ($1,5 \times 10^{-2}$ M). La disolución preparada se desoxigenó mediante una corriente de N₂ (g) durante 30 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se mantuvo a 60°C en el interior de una estufa de temperatura controlada durante 24 horas. Finalmente, el producto obtenido se purificó por diálisis y liofilizó de forma que se obtuvo un polvo amorfo blanco con los parámetros:

- Composición en la alimentación $F_{MVE} = 0.15$;
- Composición en el copolímero $f_{MVE} = 0,40$
- Rendimiento, % en peso =59;
- Peso molecular promedio en peso $M_w \cdot 10^{-3} = 29,3$;
- Peso molecular promedio en número $M_n \cdot 10^{-3} = 18$;

- Índice de polidispersidad Pdl = 1,9.

La composición molar de los copolímeros preparados se calculó a partir de sus correspondientes espectros de ^1H -RMN. En la figura 3 se muestra el espectro del copolímero preparado a partir de fracciones molares en la alimentación de MVE:VP 5 15:85. Se observa la desaparición de las señales características de los protones vinílicos. Además, se aprecia el ensanchamiento de las señales como consecuencia de la polimerización y con ello, del carácter macromolecular de los polímeros sintetizados.

10 Para el cálculo de las composiciones molares del copolímero, se consideran los valores de las integrales normalizadas de las señales características de cada monómero. En concreto, se tienen en cuenta las señales que aparecen en el intervalo de 3 – 5 ppm correspondientes a 3 protones de la VP y 4 protones del MVE (CH₂-13 y CH₂-14) y la señal a 0,86 ppm correspondiente a 12 protones del MVE (CH₃-4a', CH₃-8a', CH₃-12a' 15 y CH₃-13'.

Los pesos moleculares promedio en peso (M_w), en número (M_n) y el índice de polidispersidad (\mathcal{D}) se obtienen mediante cromatografía de exclusión por tamaños (SEC). Para ello, se utilizó un cromatógrafo Perkin-Elmer equipado con una bomba 20 isocrática Serie LC-250, conectado a un detector de índice de refracción Serie 200. Las muestras se eluyeron empleando tres columnas conectadas en serie de poliestireno-divinilbenceno (Polymer Laboratories) de tamaño de poro de 10^3 , 10^4 y 10^5 Å a 30 °C. Como eluyente se utilizó tetrahidrofurano (THF) a un flujo de 1 ml/min. Para el calibrado se emplearon patrones de polimetacrilato de metilo de peso molecular entre 10.300 y 25 1.400.000 Da.

Para conocer la organización microestructural de las cadenas poliméricas y la reactividad de cada uno de los monómeros se calcularon las relaciones de reactividad entre los monómeros por análisis cuantitativo de ^1H -RMN in situ.

30

La copolimerización se llevó a cabo dentro de un equipo de RMN utilizando dioxano deuterado como disolvente a 60 °C. Las reacciones se realizaron dentro del tubo de resonancia previa desoxigenación con nitrógeno y situando dentro un tubo capilar con diclorobenceno que va a servir como señal de referencia. Se estudiaron distintas 35 concentraciones de comonómeros con el fin de abarcar todo el intervalo de

concentraciones, siendo la concentración total de monómeros de 0,25 M.

Con este procedimiento, se comprueba que el MVE es considerablemente más reactivo que la VP ($r_{VP} = 0,03$ and $r_{MVE} = 2,20$) y, por tanto, la gran diferencia de reactividad de los monómeros utilizados. Esto da lugar a cadenas macromoleculares con largas secuencias de uno y otro monómero y pocas cadenas de composición intermedia. Este gradiente composicional a lo largo de las cadenas macromoleculares junto con la diferente hidrofilia de los monómeros da lugar a estructuras autoensambladas poliméricas de tipo multi-micelar.

Ejemplo 2

Preparación de terpolímeros derivados de MVE, VP y VC: poli(MVE-co-VP-co-VC)

Utilizando la misma metodología descrita en el ejemplo 1, se han preparado terpolímeros de metacrilato de vitamina E (MVE), *N*-vinilpirrolidona (VP) y *N*-vinil caprolactona (VC) con las composiciones molares en la alimentación que se resumen en la tabla 1. Los terpolímeros sintetizados se caracterizan por $^1\text{H-RMN}$ y SEC para conocer su composición real y su peso molecular, obteniendo los resultados recopilados en la tabla 1.

Tabla 1: Fracciones molares en la alimentación y en los distintos sistemas poliméricos, incluyendo los datos de peso molecular y polidispersidad (\mathcal{D}) obtenidos por RMN y SEC, respectivamente

Muestra	Referencia	F(VP) alim	F(MVE) alim	F(VC) alim	
Poli(MVE-co-VP) Control	Cop-85	0.85	0.15	--	
	Terp-83	0.83	0.15	0.02	
Poli(MVE-co-VP-co-VC)	Terp-81	0.81	0.15	0.04	
	Terp-85	0.85	0.10	0.05	
	Referencia	f(vinílicos) copol	f(MVE) copol	$M_w \cdot 10^{-3}$	$M_n \cdot 10^{-3}$
Poli(MVE-co-VP) Control	Cop-85	0.60	0.40	29,3	18
	Terp-83	0.61	0.39	30,2	19
Poli(MVE-co-VP-co-VC)	Terp-81	0.62	0.38	35,3	19

Ejemplo 3

Preparación de nanopartículas a partir de copolímeros poli(MVE-co-VP) y de 15
terpolímeros poli(MVE-co-VP-VC).

5 Se prepararon nanopartículas no cargadas a partir de los copolímeros poli(MVE-co-VP) y de terpolímeros poli(MVE-co-VP-co-VC), sintetizados mediante el método de nanoprecipitación. Para ello, se disolvieron los copolímeros y terpolímeros 20 (10mg/ml) en un disolvente orgánico miscible en agua, utilizando en este caso dioxano, aunque es posible utilizar otros disolventes miscibles con medios acuosos como dimetilsulfóxido, dimetilformamida, tetrahidrofurano o mezclas de ellos. A continuación, se añadió esta disolución gota a gota y con agitación vigorosa, sobre la cantidad necesaria del medio acuoso para obtener una concentración de nanopartículas entre 0,01 y 10 mg/ml. Para los ensayos celulares, las disoluciones de nanopartículas se prepararon en diferentes condiciones que se describen en las secciones siguientes.

15

La distribución de tamaños de las nanopartículas se determinó por dispersión de luz dinámica (DLS) usando un equipo Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments) equipado con un láser de He-Ne a 633 nm y con un ángulo de 173°. Las medidas se llevaron a cabo en cubetas de poliestireno a temperatura ambiente. En la tabla 2 se recopilan los tamaños de partícula obtenidos, así como las polidispersidad para las NPs obtenidas a partir de copolímeros y terpolímeros previamente sintetizados. En todos los casos, el tamaño de partículas varía entre 130 y 185 nm con valores bajos de polidispersidad.

20

Tabla 2: Diámetro hidrodinámico (D_h) y polidispersidad (PDI) de las nanopartículas obtenidas a partir de los copolímeros Poli(MVE-co-VP) y terpolímeros Poli(MVEco-VP-co-VC) sintetizados

25

NP	D_h (nm)	PDI
Cop-85	136 ± 6	0,14 ± 0,04
Terp-83	156 ± 1	0,12 ± 0,02
Terp-81	171 ± 1	0,14 ± 0,03
Terp-85	183 ± 1	0,15± 0,02

La morfología de las nanopartículas se observó mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, Philips XL 30 ESEM) y Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) usando el modo de contacto intermitente (*tapping*). Para ello, se depositó una gota de la

30

suspensión de nanopartículas a una dilución 1:50 que se dejó secar durante 24 horas sobre un disco de vidrio de 14 mm. En la figura 5 se incluyen las imágenes obtenidas de forma que se comprueba que las partículas son esféricas y no tienden a agregarse. Los ensayos de viabilidad se realizaron utilizando fibroblastos humanos que se mantuvieron y multiplicaron a 37°C en una atmósfera con un 5 % de CO₂, utilizando como medio de cultivo DMEM, suplementado con un 10 % de suero fetal bovino, 1 % de una disolución de penicilina-estreptomicina y 2% de L-glutamina.

El ensayo de viabilidad se llevó a cabo mediante un ensayo AlamarBlue y distintas diluciones de las NPs en PBS, ensayando concentraciones entre 2 y 0,06 mg/mL. En concreto, el reactivo Alamar Blue es un indicador redox que cambia de color en respuesta a la reducción química del medio de cultivo que ocurre como consecuencia del crecimiento y proliferación de las células.

Tras un periodo de crecimiento de las células de 24 h en una atmósfera con un 5 % de CO₂, se procedió al intercambio del medio de cultivo por 50 µl de las disoluciones de nanopartículas que se mantuvieron en contacto con las células durante 24 horas en las mismas condiciones. Finalizado este periodo de tiempo, se retiró el contenido de los pocillos y se añadió una disolución del reactivo AlamarBlue que se dejó actuar durante 3 horas. Finalmente, se procedió a realizar las lecturas de fluorescencia a 460 /630 em/ex.

La figura 6 muestra los resultados de viabilidad celular para las NPs preparadas a partir del copolímero control poli(MVE-co-VP) y de los distintos terpolímeros poli(MVE-co-VP-co-VC). A la vista de los resultados representados, ninguna de las concentraciones de NPs es citotóxica, manteniendo la viabilidad celular por encima del 90 % sin diferencias significativas con respecto al control.

Ejemplo 4

30

Preparación de nanopartículas cargadas con dexametasona a partir de copolímeros poli(MVE-co-VP) y terpolímeros poli(MVE-co-VP-co-VC).

Una de los mayores atractivos de las nanopartículas preparadas es la posibilidad de poder ser utilizadas de forma muy eficaz como vehículos de compuestos bioactivos insolubles o poco solubles en medios acuosos. Los siguientes experimentos

demuestran la capacidad de las nanopartículas preparadas con copolímeros y terpolímeros considerados en esta patente. Aunque los resultados se han limitado a la carga de dexametasona, como un compuesto activo con actividad antiinflamatoria, las nanopartículas de copolímeros y terpolímeros pueden ser cargadas y utilizadas como
5 vehículos para una gran variedad de compuestos bioactivos y medicamentos, con la sola condición de que deben de ser insolubles o poco solubles en medios acuosos o medio fisiológico, lo que con ello se ofrece una vía muy apropiada para la aplicación en el organismo humano de sistemas que tienen un límite de absorción por su escasa solubilidad en el medio fisiológico. La aplicación no se limita a una familia concreta de
10 componentes bioactivos o de medicamentos de difícil o limitada administración. Esto abre un escenario muy atractivo para la administración localizada, dirigida y sostenida por cualquier vía de un amplio abanico de posibilidades con su ventaja desde un punto de vista terapéutico.

15 Las nanopartículas cargadas fueron preparadas a una concentración de 2 mg/ml en PBS y en NaCl partiendo de una concentración del copolímero en dioxano de 50 mg/ml. Adicionalmente, se añadió una concentración de 15% en peso respecto del polímero de la molécula activa, dexametasona (Dx) en este caso. El procedimiento es similar al descrito para las NPs sin carga, de forma que se dejó gotear la fase orgánica sobre la
20 acuosa (PBS o NaCl 100 mM), para finalmente dializar la disolución resultante durante 3 días.

Para calcular la eficiencia de encapsulación (EE) de la dexametasona, las distintas NPs preparadas fueron liofilizadas para eliminar la fase acuosa, obteniendo un polvo blanco
25 con un rendimiento del 90% aproximadamente. A continuación, 5 mg de cada formulación se disolvieron en cloroformo durante 24 horas, para luego añadir 2mL de etanol y dejar en agitación por 24 horas hasta observar la precipitación del polímero. Las muestras obtenidas se centrifugaron a 10.000 rpm y el sobrenadante se analizó mediante UV (NanoDrop One Thermo Scientific) a una longitud de onda de 239 nm
30 correspondiente a la dexametasona.

La distribución de tamaños de las nanopartículas fue posible determinarla mediante dispersión de luz dinámica (DLS) usando un equipo Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments) equipado con un láser de Helio-Neón a 633 nm y con detección a un ángulo
35 de 173°. Las medidas se realizaron en cubetas de poliestireno a temperatura ambiente.

En la tabla 3 se recopilan los tamaños, polidispersidad y EE de las partículas cargadas con D_x , obtenidas a partir de los copolímeros poli(MVE-co-VP), de los terpolímeros poli(MVE-co-VP-co-VC) y distintas mezclas de ambos sistemas poliméricos.

5

Tabla 3: Diámetro hidrodinámico (D_h) y polidispersidad (PDI) de las nanopartículas cargadas con dexametasona obtenidas a partir de los copolímeros Poli(MVE-co-VP) y terpolímeros Poli(MVE-co-VP-co-VC) sintetizados así como distintas mezclas.

NP	Fármaco	EE	D_h (nm)	PDI
Cop-85	Dexametasona	55	140 ± 7	$0,10 \pm 0,04$
Terp-83		45	154 ± 1	$0,13 \pm 0,02$
Terp-81		42	180 ± 2	$0,19 \pm 0,02$
Terp-85		40	154 ± 1	$0,10 \pm 0,03$
Cop-85 + Terp-83 (50:50 w:w)		42	164 ± 2	$0,14 \pm 0,02$
Cop-85 + Terp-83 (75:25 w:w)		48	167 ± 1	$0,08 \pm 0,01$
Cop-85 + Terp-85 (50:50 w:w)		48	149 ± 1	$0,08 \pm 0,02$
Cop-85 + Terp-85 (75:25 w:w)		47	172 ± 1	$0,21 \pm 0,01$

10

La distribución de tamaños obtenidos para las NPs cargadas con dexametasona a partir de los copolímeros poli(MVE-co-VP), los terpolímeros poli(MVE-co-VP-co-VC) y mezclas de ambos sistemas poliméricos se encuentra en un rango de 140 a 170 nm, con bajas polidispersidades y distribuciones de tamaños unimodales.

15

Ejemplo 5

Estudio de la estabilidad de las distintas nanopartículas obtenidas a partir de copolímeros poli(MVE-co-VP) y terpolímeros poli(MVE-co-VP-co-VC).

20 Para estudiar el efecto que puede tener el método de almacenamiento en la estabilidad

del tamaño de nanopartículas multi-micelares se procedió a refrigerarlas en la nevera, congelarlas a -20 °C y liofilizarlas, tal y como se describe a continuación.

• Refrigeración en nevera:

5 Durante 4 semanas continuas (1 mes), se midió la distribución de tamaños de las NPs control vacías y cargadas con D_x y obtenidas a partir de los copolímeros poli(MVEco-VP). Los resultados obtenidos, D_h y PDI, a lo largo de cada semana se recopilan en la tabla 4.

10 **Tabla 4:** Evolución del tamaño de partícula y la polidispersidad durante el mantenimiento en la nevera a 4 °C de las nanopartículas control obtenidas a partir de copolímeros poli(MVE-co-VP).

Muestra	Carga	Semana 0 (S0)		Semana 1 (S1)		Semana 2 (S2)		Semana 3 (S3)		Semana 4 (S4)	
		D_h (nm)	PDI	D_h (nm)	pdI	D_h (nm)	PDI	D_h (nm)	PDI	D_h (nm)	PDI
Cop-85 PBS	Sin carga	138 ± 6	0,14 ± 0,04	137 ± 5	0,08 ± 0,04	140 ± 1	0,17 ± 0,02	139 ± 2	0,11 ± 0,02	144 ± 5	0,16 ± 0,05
	D_x 15%	145 ± 7	0,10 ± 0,04	138 ± 8	0,10 ± 0,02	145 ± 5	0,13 ± 0,04	139 ± 8	0,14 ± 0,02	140 ± 9	0,12 ± 0,01
Cop-85 NaCl	Sin carga	135 ± 5	0,09 ± 0,01	136 ± 8	0,12 ± 0,03	136 ± 7	0,12 ± 0,01	138 ± 10	0,12 ± 0,06	142 ± 11	0,16 ± 0,05
	D_x 15%	138 ± 5	0,10 ± 0,01	134 ± 7	0,10 ± 0,03	136 ± 6	0,11 ± 0,03	135 ± 8	0,10 ± 0,01	136 ± 7	0,12 ± 0,02

15 En la figura 7 se comparan las distribuciones de tamaños de partículas para las partículas vacías y cargadas, preparadas tanto en PBS como en NaCl. Se muestran los resultados iniciales (S0, NPs recién preparadas) así como las curvas tras cada semana de almacenamiento a 4 °C. Las muestras medidas en cada semana son nombrada como S1 (semana 1), S2 (semana 2), S3 (semana 3) y S4 (semana 4).

20

En la tabla 4 y la figura 7 se muestra la distribución de tamaños obtenidos después de 4 semanas de almacenamiento de las NPs en nevera (4°C) para las diferentes NPs. Se puede observar que los resultados son similares durante las 4 semanas de almacenamiento además de ser similares con la distribución tamaños originales (semana 0) para todos los tipos de NPs, de forma general. Este comportamiento es
25 análogo al observado con las NPs obtenidas a partir de los diferentes terpolímeros

poli(MVE-co-VP-co-VC) sintetizados.

Durante 4 semanas, fue medida la distribución de tamaños de las NPs control para observar su comportamiento después de ser almacenadas bajo congelación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5 El protocolo de medida se llevó a cabo mediante semanas continuas de congelación (1, 2, 3 y 4 semanas), es decir, se utilizaban 4 muestras diferentes cada una descongelada y descongelada a distintos tiempos.

A continuación, en la tabla 5 se puede observar la distribución de tamaños obtenida para cada tipo de NPs durante cuatro semanas, incluyendo las respectivas polidispersidades (PDI). Como resultado, se observan NPs estables, donde las variaciones de tamaños no son significativas, con valores bajo de polidispersidad.

Tabla 5: Evolución del tamaño de partícula y la polidispersidad durante el mantenimiento en la en el congelador a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ de las nanopartículas control obtenidas a partir de copolímeros poli(MVE-co-VP).

Muestra	Carga	Semana 0 (S0)		Semana 1 (S1)		Semana 2 (S2)		Semana 3 (S3)		Semana 4 (S4)	
		Dh (nm)	PDI	Dh (nm)	PDI	Dh (nm)	PDI	Dh (nm)	PDI	Dh (nm)	PDI
Cop-85	Sin	138 ±	0,14 ±	137 ± 1	0,11 ±	135 ± 1	0,12 ±	132 ±	0,12 ± 0,01	151	0,15 ±
	carga	6	0,04		0,01		0,02	1		± 4	0,02
PBS	Dx	145 ±	0,10 ±	147 ± 2	0,11 ±	143 ± 6	0,10 ±	138 ±	0,11 ± 0,02	141	0,09 ±
	15%	7	0,04		0,01		0,01	10		± 4	0,02
Cop-85 NaCl	Sin	135 ±	0,09 ±	139 ± 1	0,10 ±	131 ± 2	0,11 ±	134 ±	0,08 ± 0,02	132	0,23 ±
	carga	5	0,01		0,01		0,01	5		± 2	0,03
	Dx	138 ±	0,10 ±	135 ± 7	0,11 ±	143 ± 1	0,10 ±	134 ±	0,12 ± 0,06	143	0,13 ±
	15%	5	0,01		0,02		0,01	13		± 2	0,02

En la figura 8 (a) Distribución de NPs en PBS sin carga, b) NaCl sin carga, c) 15% dexametasona en PBS y d) 15% dexametasona en NaCl respectivamente) se muestra la distribución de tamaños de las NPs sintetizadas, medidas durante distintos tiempos de congelación como se mencionó con anterioridad.

Los gráficos muestran que las curvas obtenidas son similares a los tamaños de la semana 0, también puede observarse el solapamiento de las curvas correspondientes a cada semana de congelación. Este comportamiento es igual para todos los tipos de NPs sintetizadas, tanto para las obtenidas a partir de los copolímeros poli(MVE-co

5 20 VP) como de los terpolímeros poli(MVE-co-VP-co-VC). Así pues, se puede decir que todas las NPs son estables tras un mes de almacenamiento bajo las condiciones detalladas. Además, no se observan la formación de aglomerados ya que hay ausencia de picos secundarios en las curvas.

10 De cada tipo de nanopartículas se liofilizaron 3mL durante 2 días, para luego resuspenderse en el mismo volumen de agua ultrapura Mili-Q. Posteriormente, se midió la distribución de tamaños tras 2 horas de agitación magnética a una velocidad de 1000 rpm y 5 ó 10 minutos bajo la aplicación de ultrasonido (Sonics Vibra-Cell) a 29% de amplitud (1/2W/tip) en baño de hielo. Los resultados obtenidos se recopilan en la tabla

15 6 y las distribuciones de tamaños de partículas se comparan en la figura 9.

A la vista de los resultados recopilados en la tabla 6, distribución de tamaños tras 2 horas de agitación magnética son mayores a los diámetros originales además de mostrar segundos picos con diámetros de tamaños superiores, por tal motivo se

20 procedió a aplicar 5 minutos de ultrasonido para obtener los diámetros deseados.

En la tabla 6 se puede observar que después de 5 minutos de ultrasonido, hay presencia de segundos picos y distribución de tamaños superiores a los originales (Semana 0), por tal motivo fue necesario aplicar ultrasonido 10 minutos más, los picos secundarios

25 no desaparecen, pero disminuyen, en cuanto a la distribución de tamaños, aunque son ligeramente superiores (alrededor de 180 nm), se acercan a los diámetros originales (150 nm aproximadamente). Estos resultados muestran que no basta únicamente con agitación magnética tras resuspender, sino que es necesaria la aplicación de ultrasonidos durante al menos 10 minutos.

30

Con el objetivo de eliminar el uso del ultrasonido y utilizar únicamente la agitación magnética después de liofilizar, fueron sintetizadas nuevamente NPs incorporando un agente estabilizante TPGS o α -tocoferol polietilenglicol 1000-succinato (R14-M043 Sigma-Aldrich) mediante dos métodos diferentes:

35 1. Incorporando TPGS al 0,02%wt en la síntesis de NPs, respecto a todo el

volumen (se sintetizaron únicamente NPs cargadas con 15% de dexametasona).

2. Resuspendiendo en una disolución de agua ultra pura (Mili Q) con TGPS al 0,02%. Los resultados se muestran a continuación.

- 5 En la figura 10 puede observarse en todos los casos que no fue suficiente con 2 horas de agitación magnética para obtener los diámetros originales, a pesar de incorporar cierta cantidad de TPGS. Por este motivo, se aplicó ultrasonido (bajo las mismas condiciones especificadas anteriormente) durante 5 minutos, aun así, la distribución de tamaños era mucho mayor a la original antes de resuspender, por ello las NPs fueron
- 10 sometidas a 20 minutos más de ultrasonido, donde si se observa en todos los casos una distribución de tamaños muy cercana a la original.

Tabla 6: Tamaño de partícula y polidispersidad tras liofilizar las nanopartículas control obtenidas a partir de copolímeros poli(MVE-co-VP) y someterlas a agitación magnética

15 o ultrasonidos (US).

Tiempo	Muestra	Carga	D _h 1 (nm)	D _h 2 (nm)	PDI
2h Agitación magnética	Cop-85 PBS	Sin carga	238 ± 20	944 ± 29	0,41 ± 0,01
		Dx 15%	149 ± 14	552 ± 88	0,70 ± 0,06
	Cop-85 NaCl	Sin carga	182 ± 20	779 ± 204	0,46 ± 0,06
		Dx 15%	194 ± 5	710 ± 57	0,38 ± 0,01
5 min US	Cop-85 PBS	Sin carga	200 ± 29	1748 ± 730	0,214 ± 0,005
		Dx 15%	383 ± 89	857 ± 43	0,34 ± 0,02
	Cop-85 NaCl	Sin carga	195 ± 8	-	0,11 ± 0,01
10 min US	Cop-85 PBS	Sin carga	173 ± 7	388 ± 51	0,160 ± 0,004
		Dx 15%	186 ± 6	1776 ± 151	0,12 ± 0,03
	Cop-85 NaCl	Sin carga	182 ± 5	-	0,11 ± 0,02

- 20 Finalmente, se puede afirmar la adición de TPGS, por cualquiera de los dos métodos no mejora significativamente la obtención de la distribución de tamaño original después de resuspender y someter las NPs a 2 horas de agitación magnética, es

5 necesario aplicar al menos durante 20 minutos ultrasonido.

Ejemplo 6

5 Escalado en la preparación de nanopartículas poliméricas control obtenidas a partir de los copolímeros poli(MVE-co-VP)

Con el objetivo de sintetizar mayores volúmenes de NPs, éstas fueron sintetizadas utilizando el mismo protocolo, pero a mayores velocidades de agitación NPs. La distribución de tamaños obtenida para 30 y 50 mL de NPs se recopilan en la tabla 7.

10

Tabla 7: Tamaño de partícula y polidispersidad tras el escalado en la preparación de las nanopartículas control obtenidas a partir de copolímeros poli(MVE-co-VP).

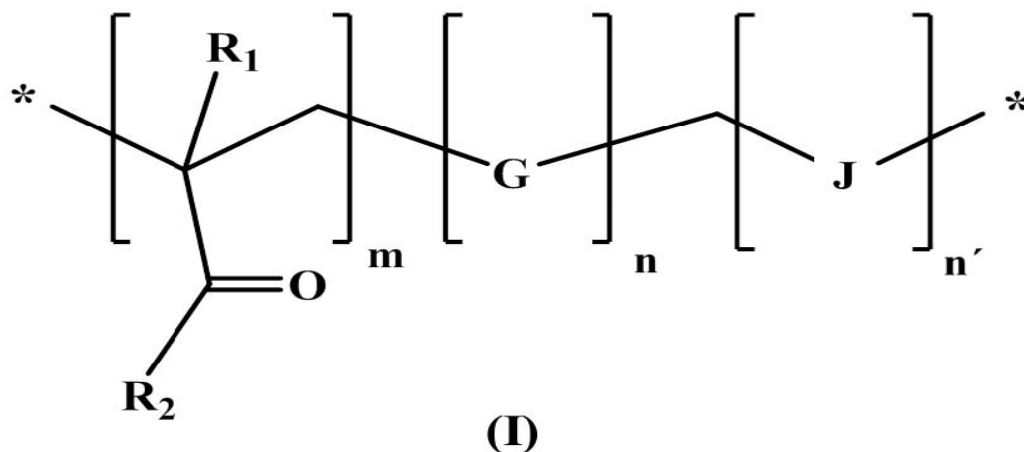
Muestra		Volumen (mL)	Dh (nm)	PDI
Cop-85-PBS	Sin carga	30	145 ± 1	0,10 ± 0,01
		50	145 ± 2	0,09 ± 0,01
	15% DX	30	146 ± 1	0,07 ± 0,01
		50	148 ± 1	0,10 ± 0,02
Cop-85-NaCl	Sin carga	30	138 ± 1	0,07 ± 0,01
		50	144 ± 1	0,09 ± 0,02
	15% DX	30	123 ± 1	0,11 ± 0,03
		50	136 ± 2	0,09 ± 0,02

15 Tras el escalado en la preparación de las NPs, se puede observar que la distribución de tamaños obtenida es similar a mayor volumen, por lo cual podría decirse que el 5 protocolo de preparación de NPs es válido con volúmenes superiores, con la única variación de aumentar la velocidad de agitación durante la síntesis de NPs.

20

REIVINDICACIONES

1.-Terpolímero de fórmula (I):



5

o sus isómeros o sales,

donde R_1 se selecciona de entre hidrógeno y alquilo C_1 - C_4 lineal o ramificado;

R_2 es vitamina E o $-X$ -vitamina E, donde X es el grupo $-[(CH_2)_a-R_3-(CH_2)_b-R_4]_c-$,

donde a y b tienen un valor seleccionado independientemente de entre 2 a 6,

10 c tiene un valor seleccionado de entre 1 a 6,

R_3 y R_4 se seleccionan independientemente de entre $C=O$, $O-C=O$,

G y J son monómeros hidrofílicos diferentes que se seleccionan independientemente del siguiente grupo: N-vinilpirrolidona y N-vinilcaprolactama,

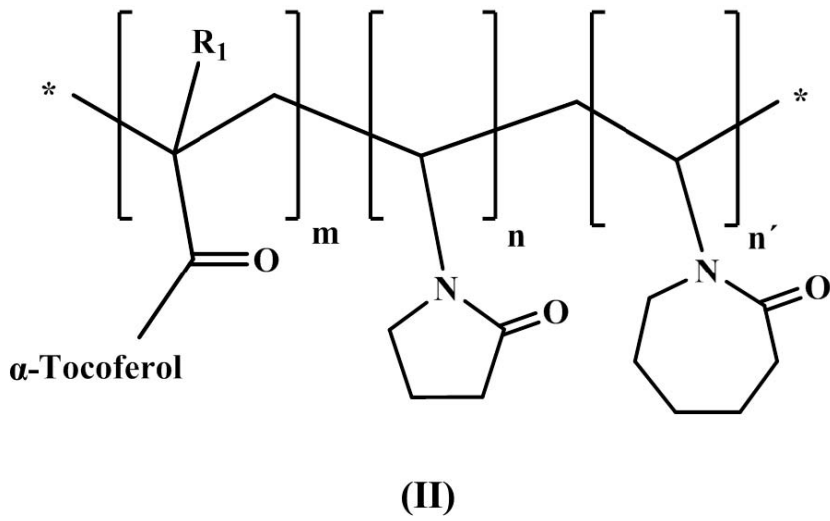
m, n y n' representan la fracción molar de cada una de la unidades delimitadas por los

15 símbolos [] en la composición final del compuesto polimérico, siendo $(m+n+n') = 1$

y * se entiende como la repetición consecutiva de dichas unidades.

2.- Terpolímero según la reivindicación 1 donde la vitamina E es alfa-tocoferol.

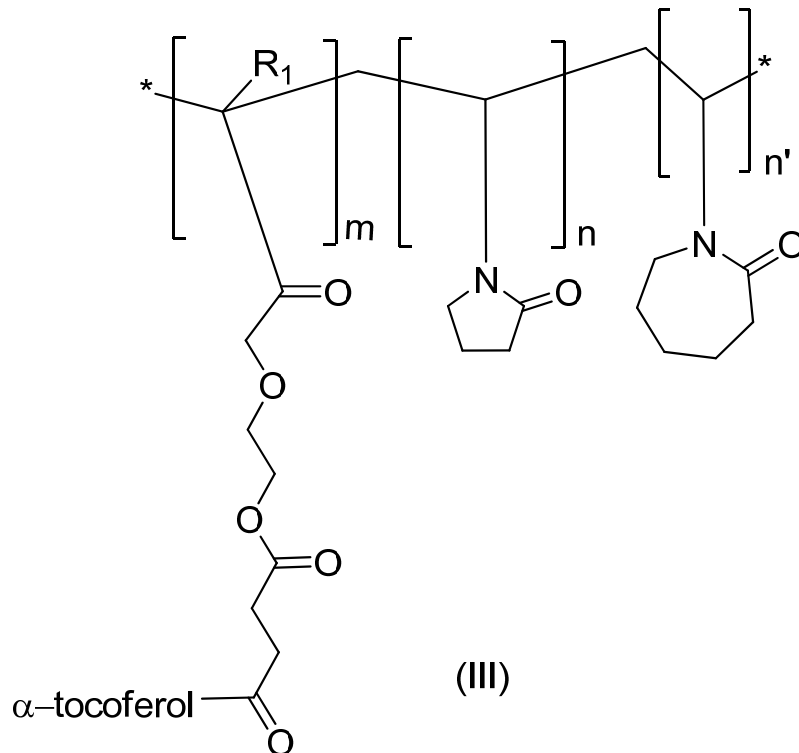
20 3.- Terpolímero según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde dicho compuesto es el compuesto de fórmula (II):



o sus isómeros o sales,

donde R_1 , m , n y n' son como se definen en la reivindicación 1.

- 5 4.- Terpolímero según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde dicho compuesto es el compuesto de fórmula (III):



o sus isómeros o sales,

- 10 donde R_1 , m , n y n' son como se definen en la reivindicación 1.

5.- Terpolímero según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde m tiene un valor de 0,15.

5 6.-Nanopartícula multi-micelar que comprende el terpolímero según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

7.- Nanopartícula multi-micelar según la reivindicación 6 donde dicho terpolímero es el compuesto de fórmula (II).

10 8.- Nanopartícula multi-micelar según la reivindicación 6 donde dicho terpolímero es el compuesto de fórmula (III).

9.-Nanopartícula multi-micelar según la reivindicación 6 que además comprende un compuesto bioactivo.

15

10.-Nanopartícula multi-micelar según la reivindicación 9, donde el compuesto bioactivo se selecciona del siguiente grupo: metilprednisolona, dexametasona, cortisona, ibuprofeno, naproxeno, flurbiprofeno, ketoprofeno, vitamina C, polifenoles, ácido carnósico, astaxantina, vitamina B1, vitamina B6, vitamina B12, derivados de β -caroteno, luteína, alantoina, vitamina A, ácido fólico, vancomicina, rifampicina, linezolid, sales de amonio cuaternarias, clorhexidina.

20

11.- Sistema de liberación controlada de compuestos bioactivos que comprende la nanopartícula multi-micelar según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10.

25

12.- Composición farmacéutica que comprende el sistema de liberación controlada según la reivindicación 11.

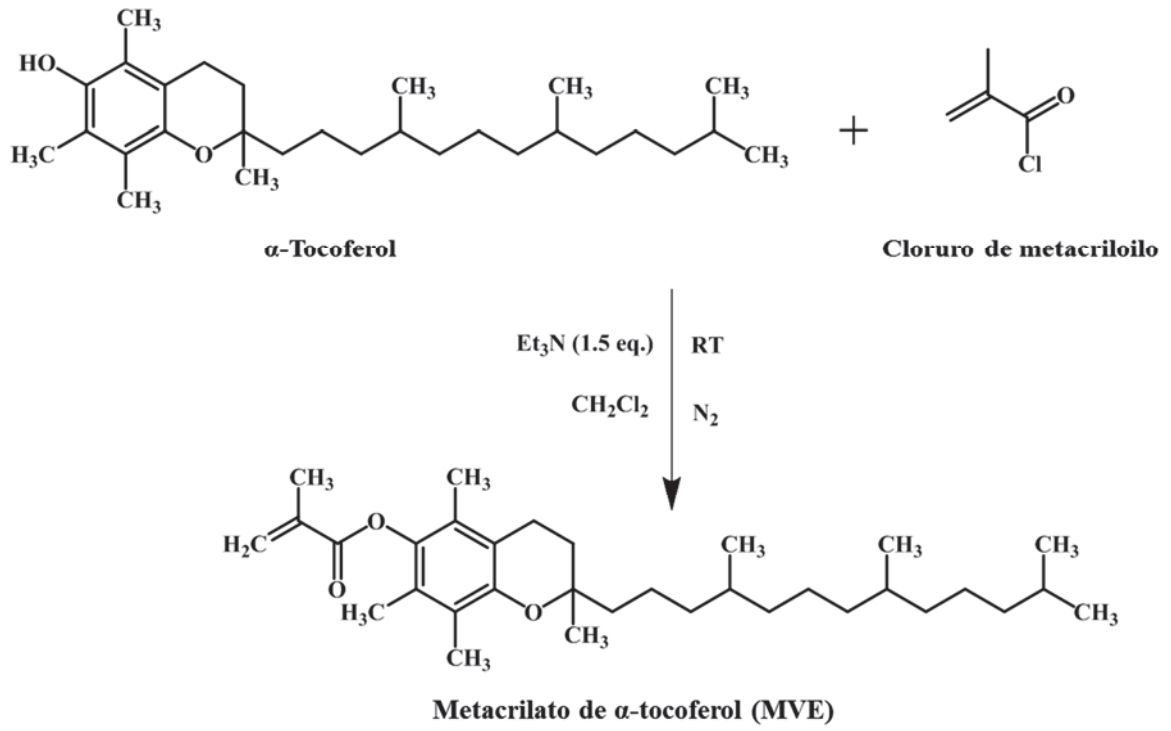


FIG.1

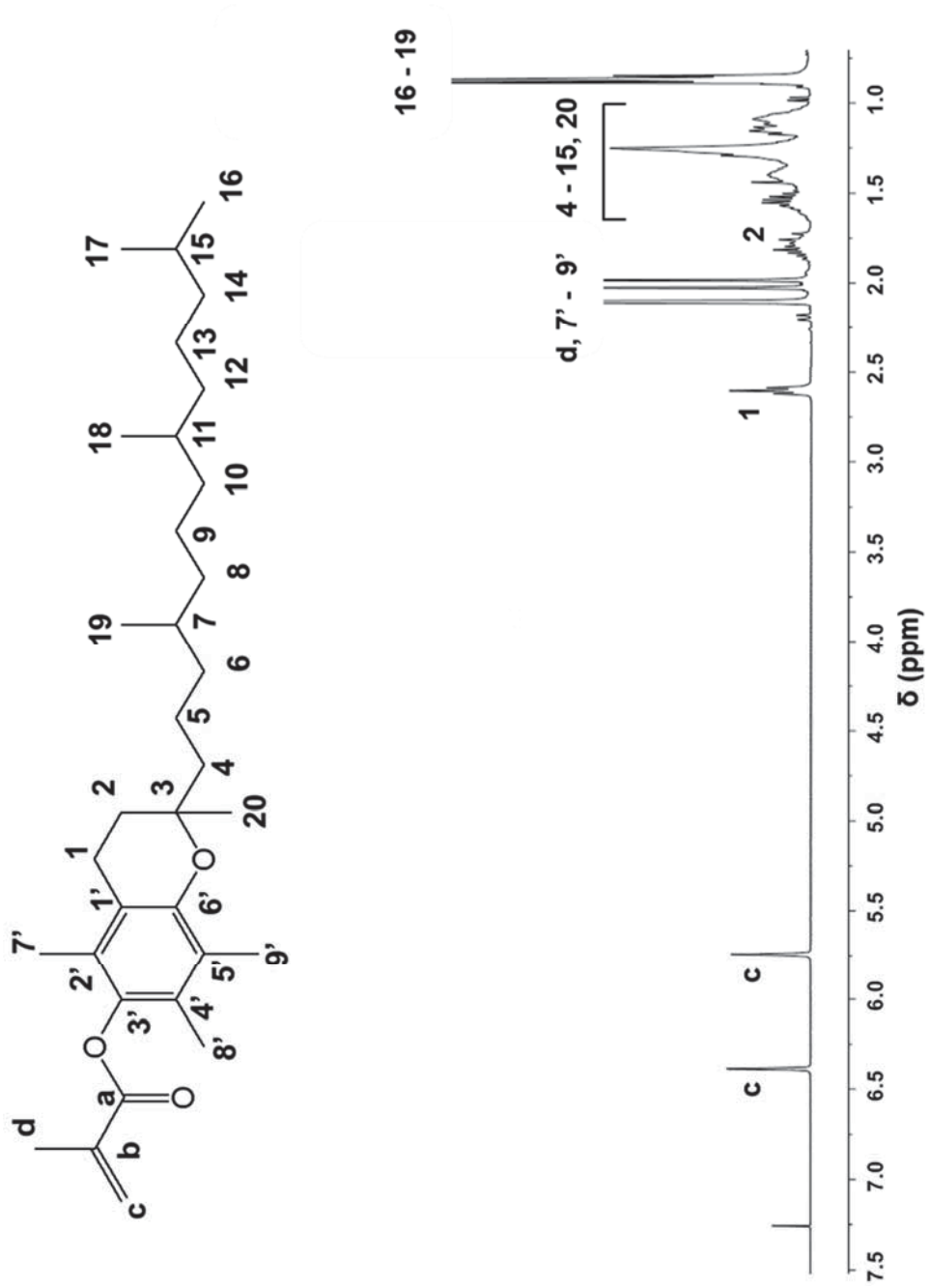


FIG.2

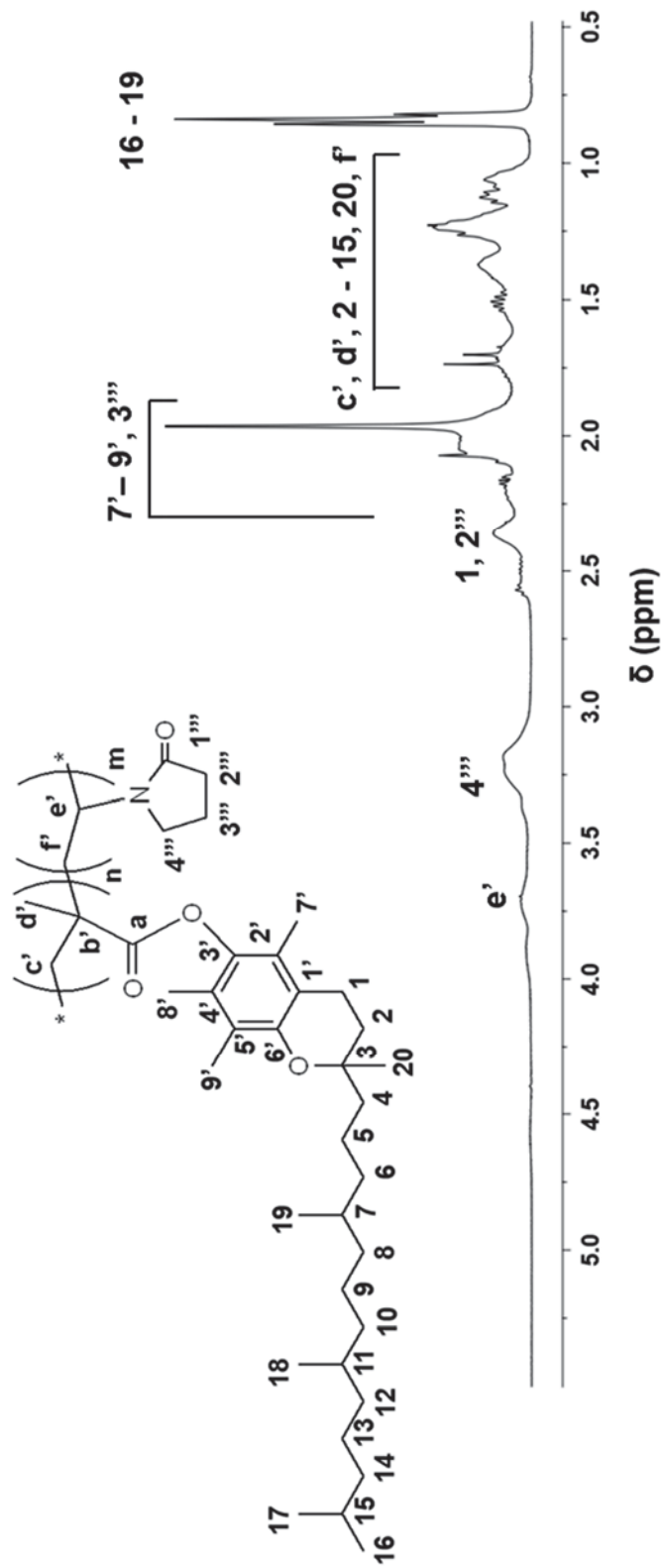


FIG.3

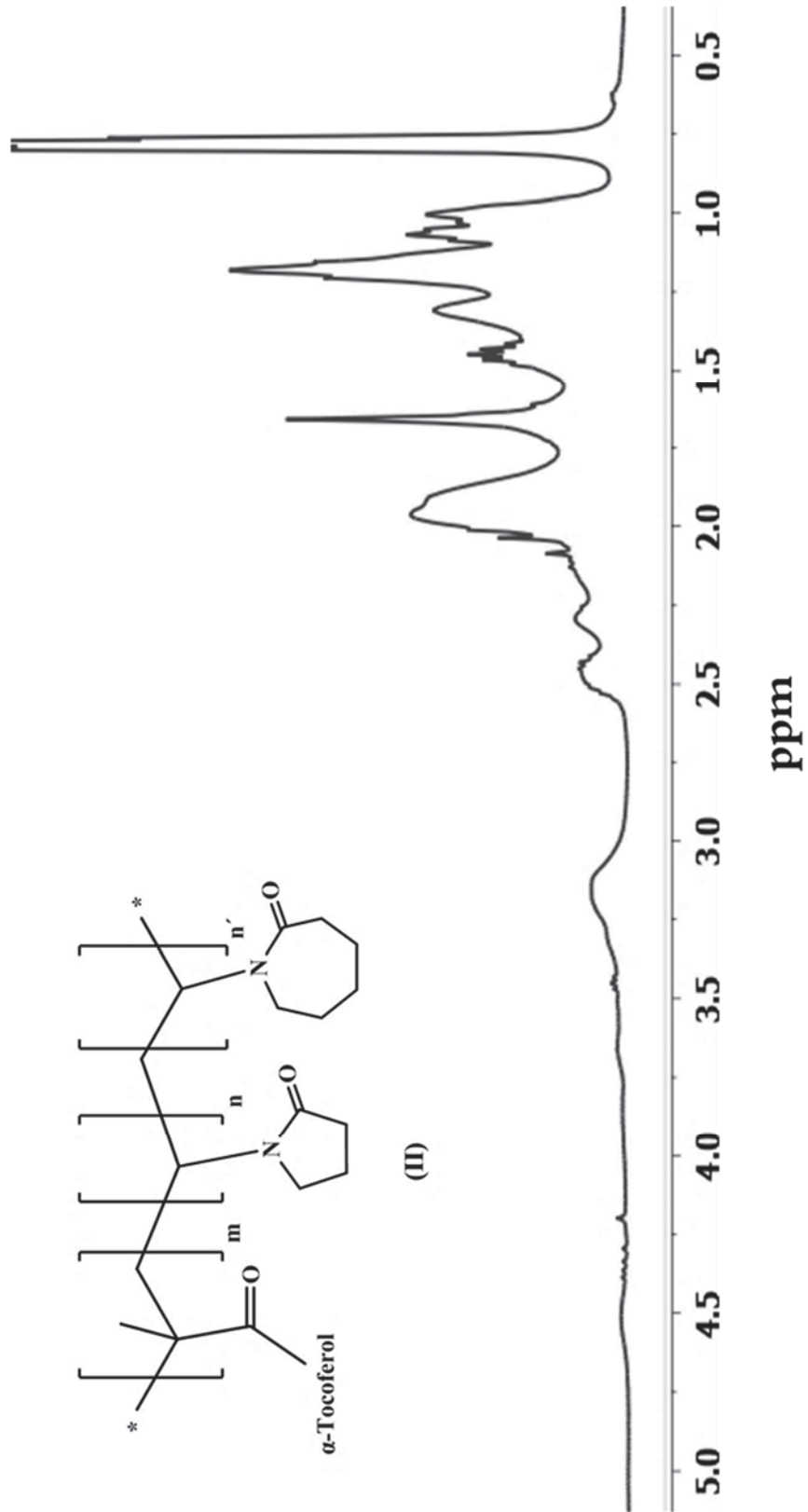


FIG.4

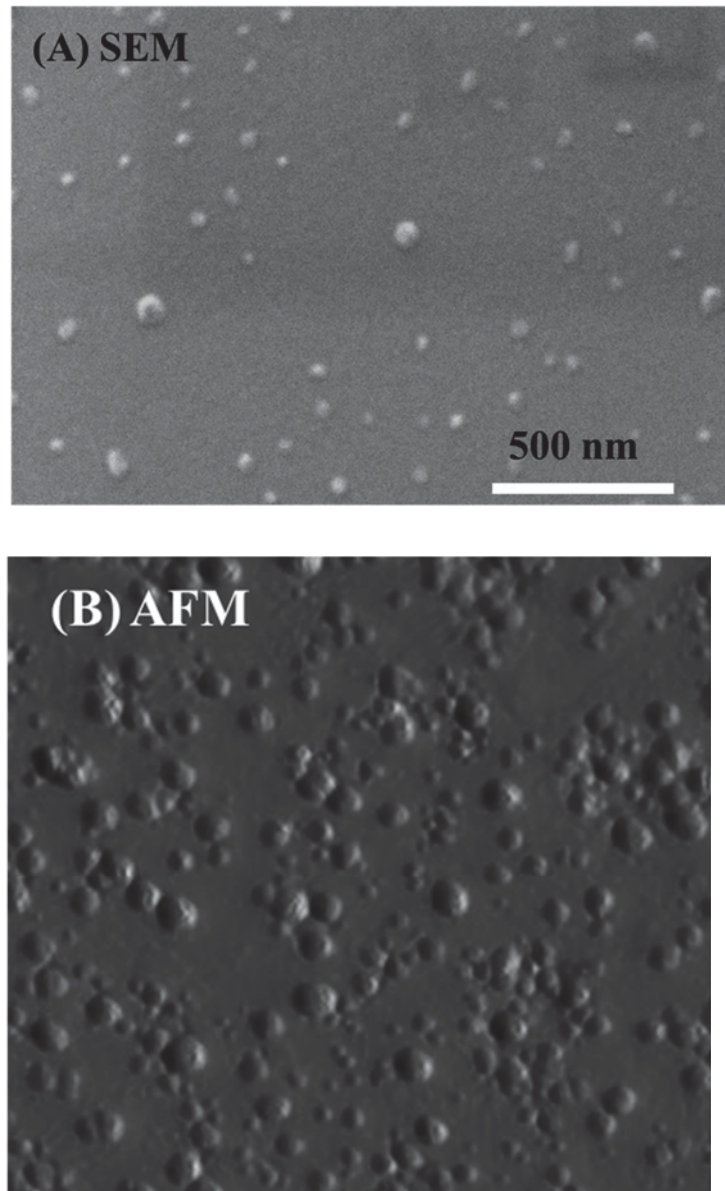


FIG.5

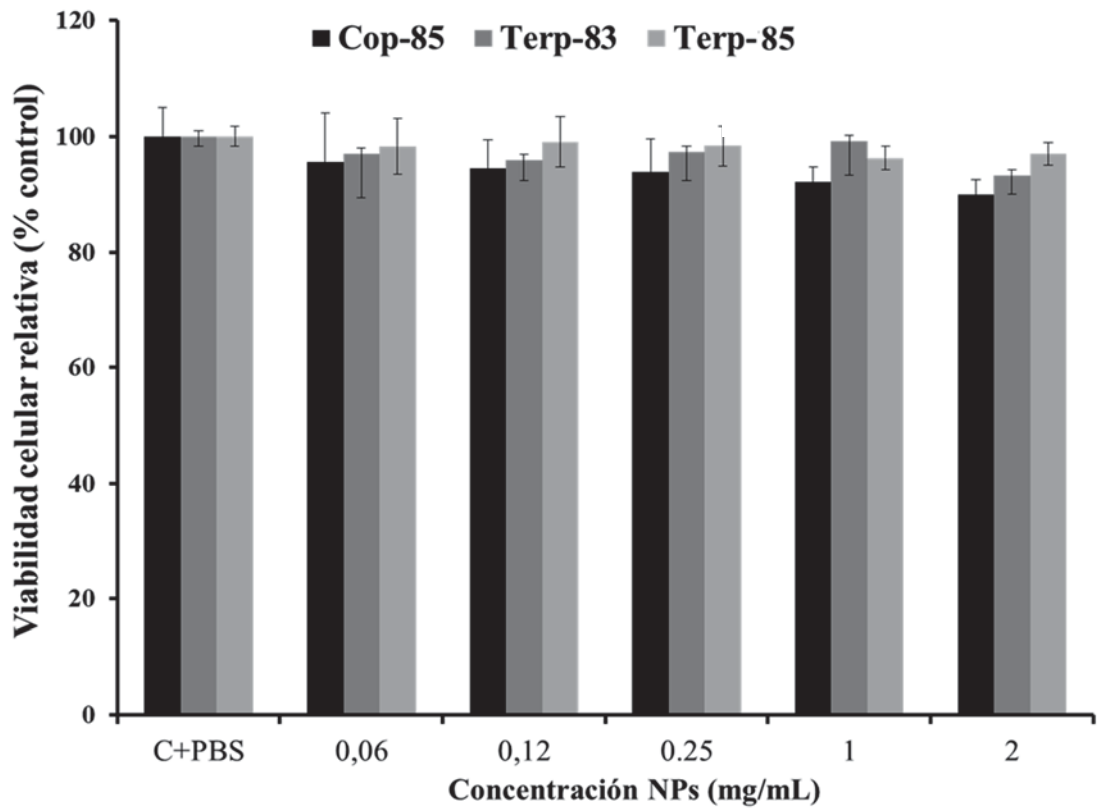


FIG.6

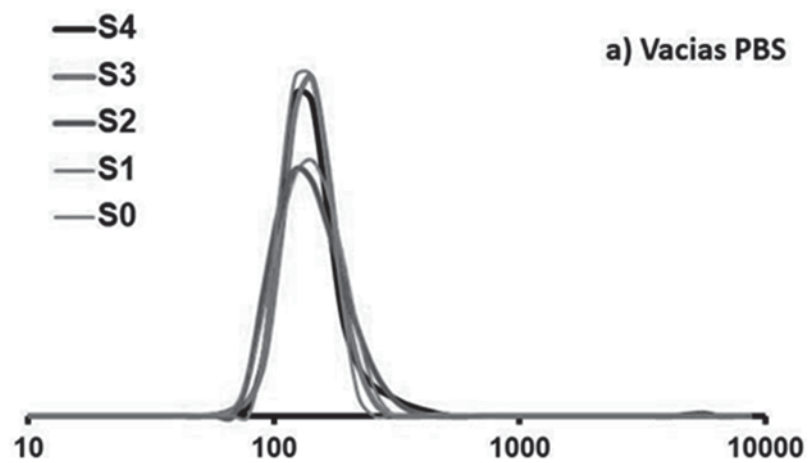


FIG. 7

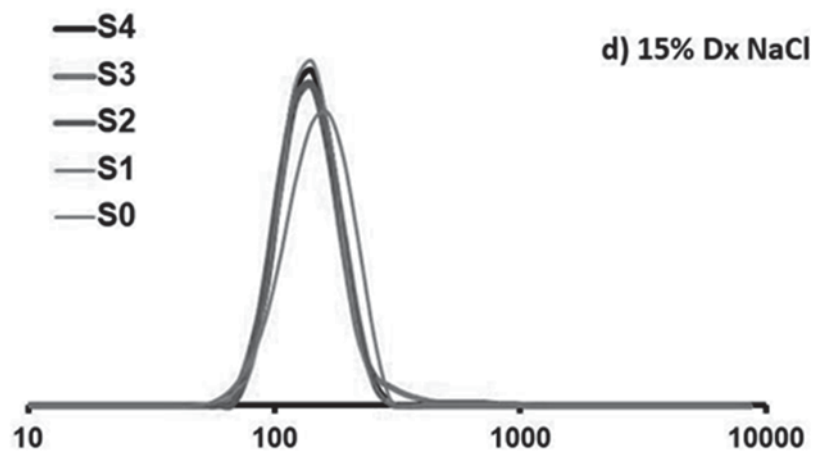
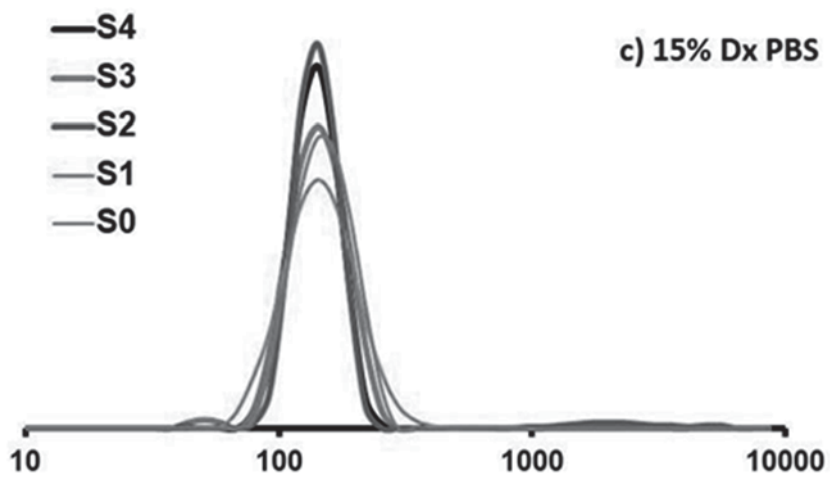
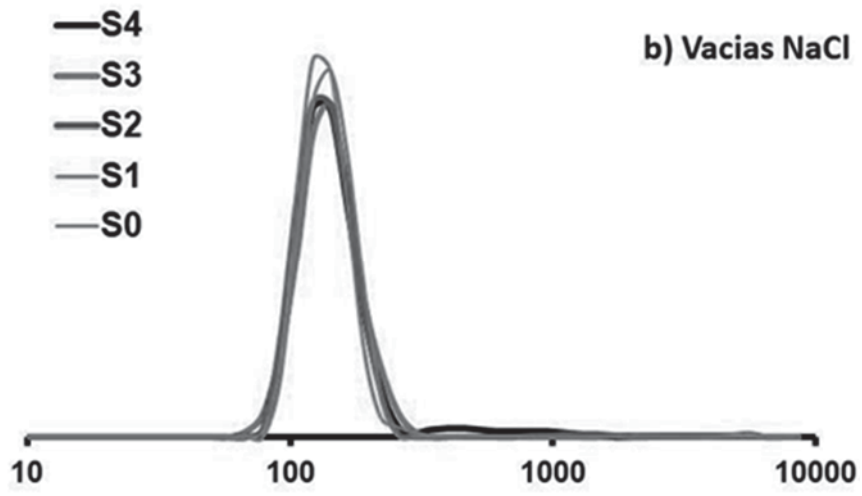


FIG.7 cont.

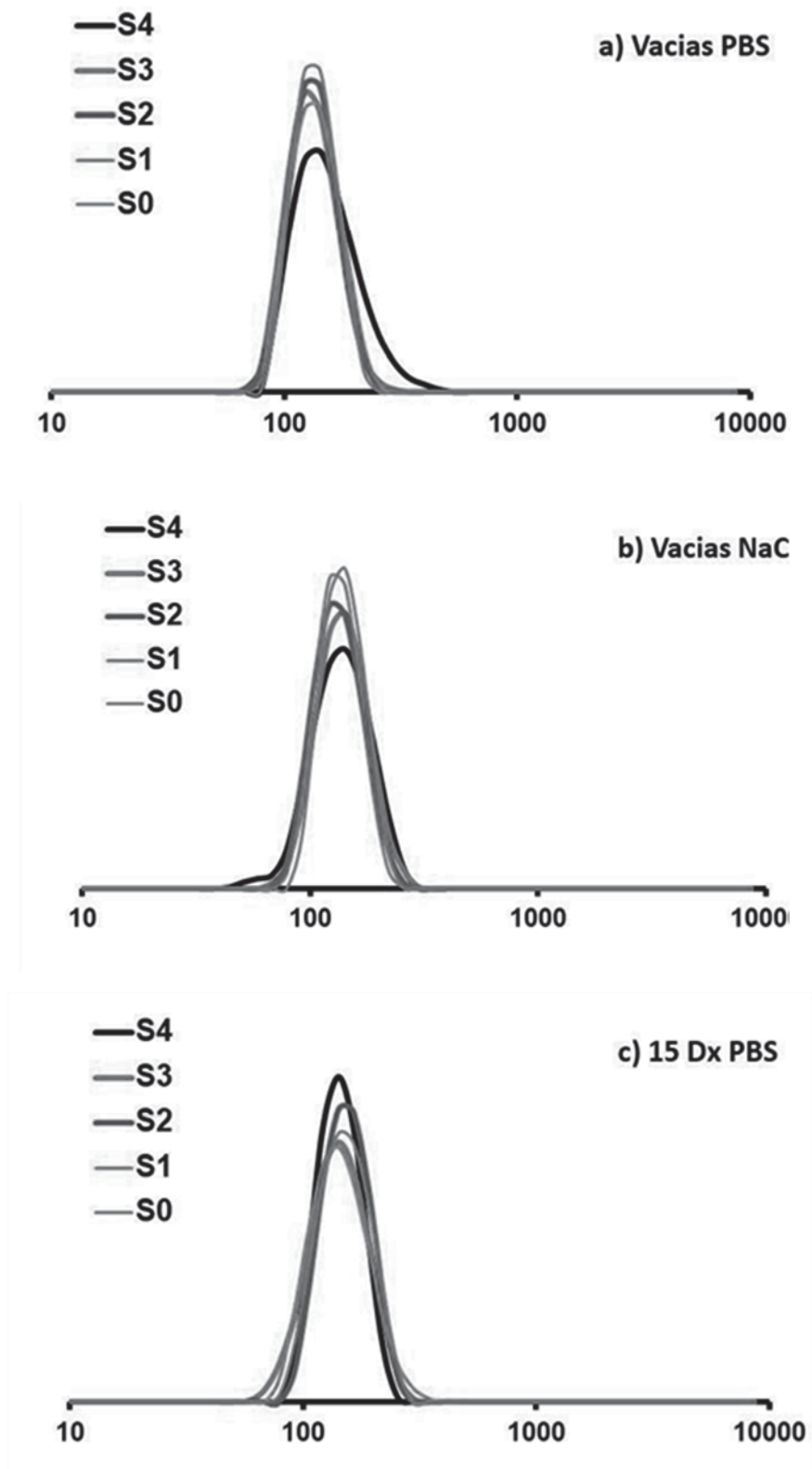


FIG. 8

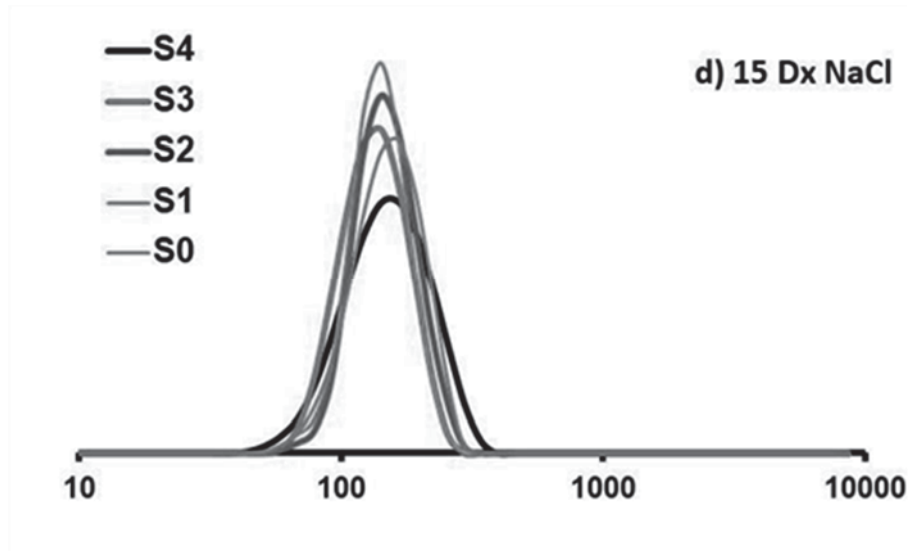


FIG.8 cont.

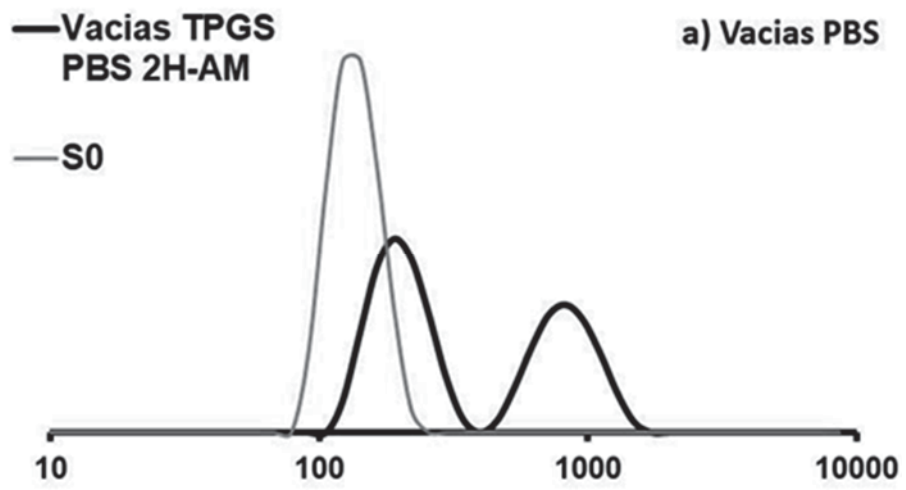


FIG. 9

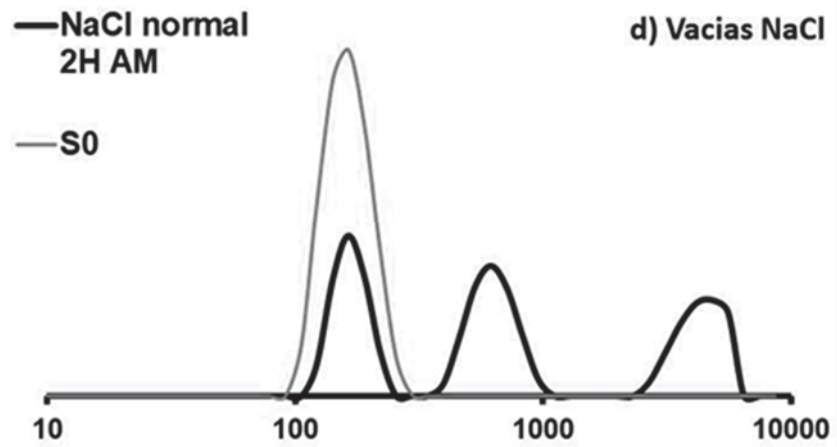
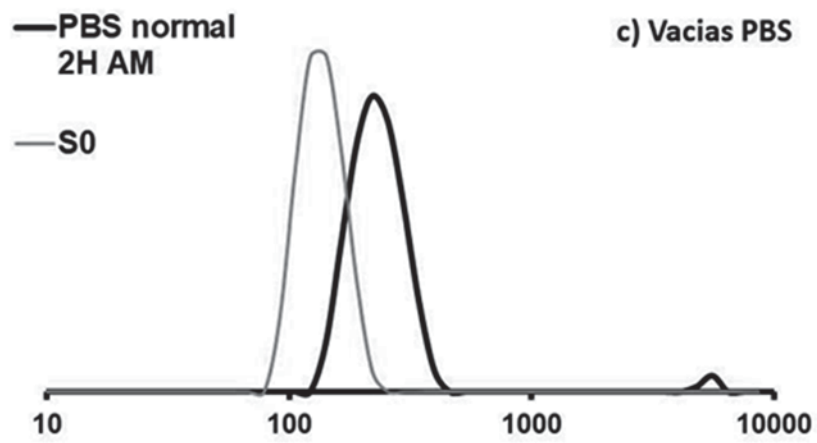
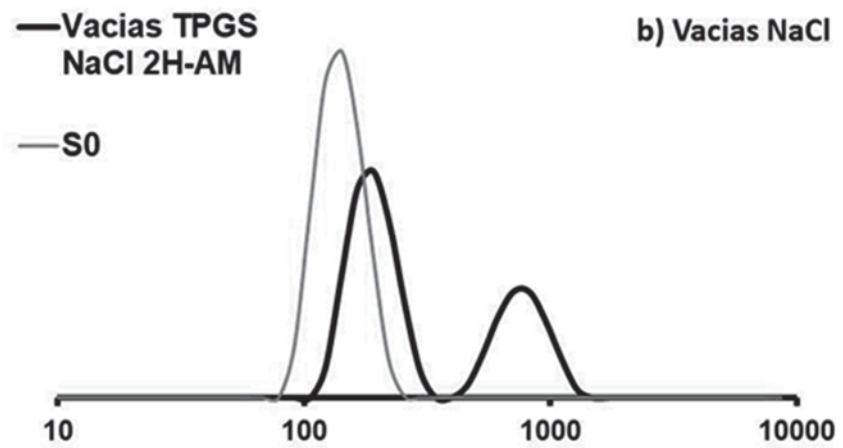
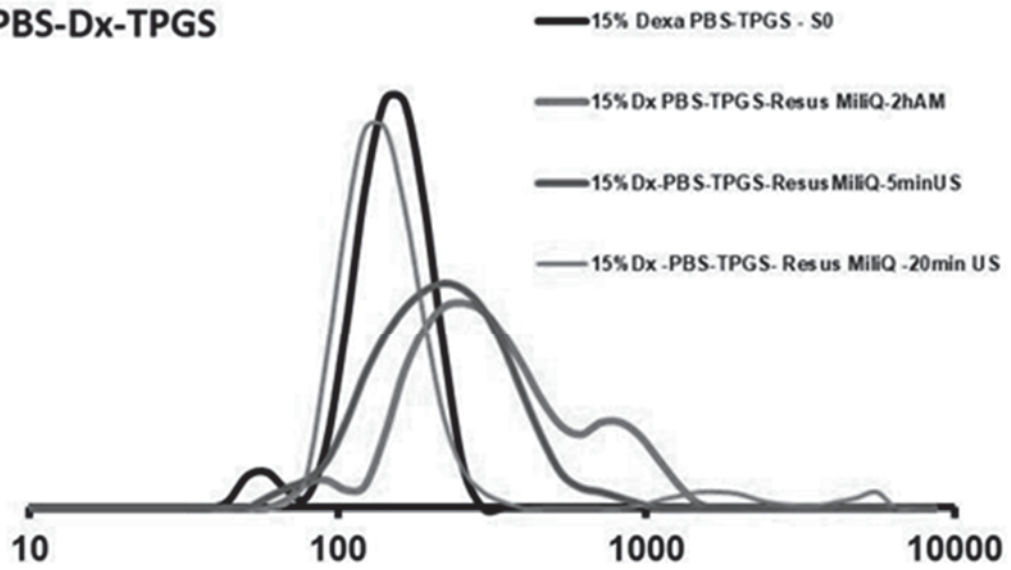


FIG.9 cont.

a) PBS-Dx-TPGS



b) NaCl-Dx-TPGS

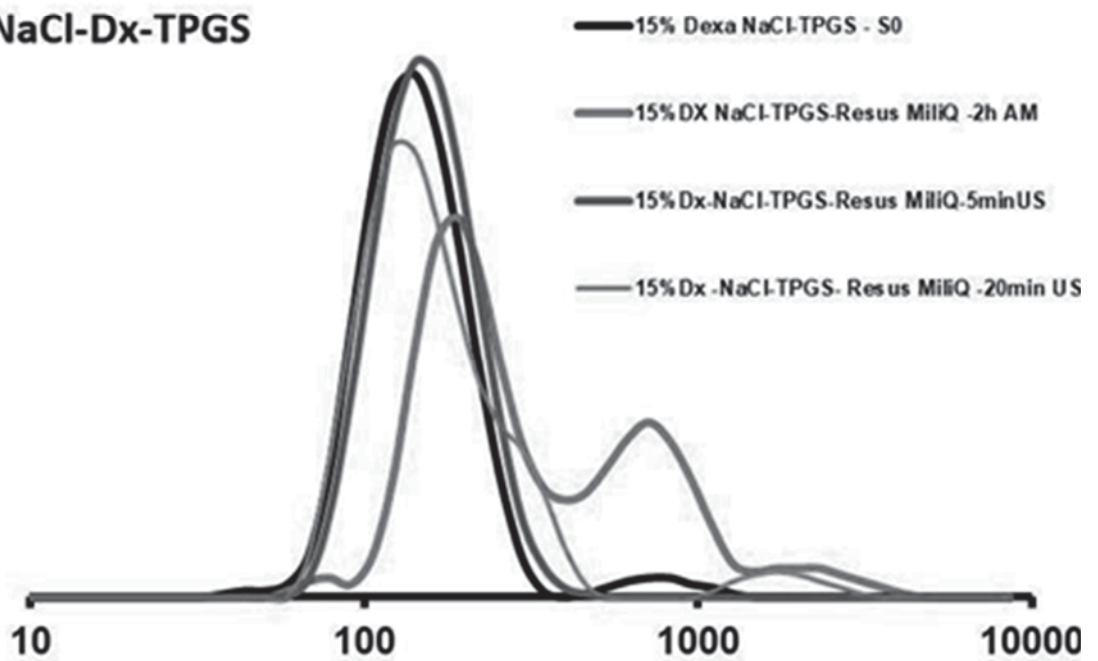
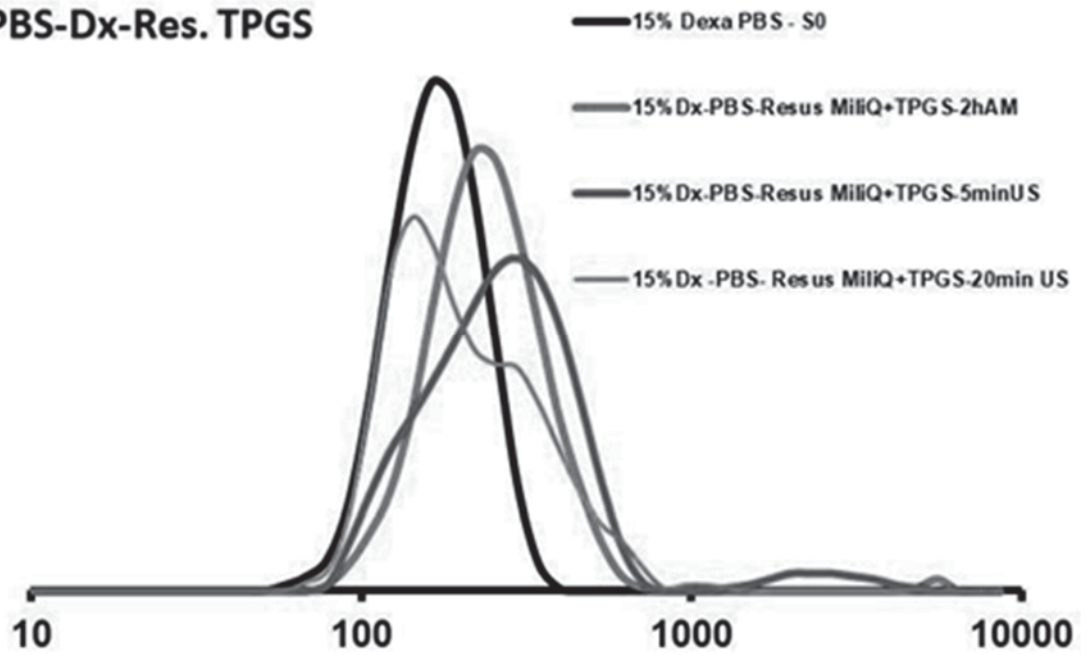


FIG. 10

c) PBS-Dx-Res. TPGS



d) NaCl-Dx-Res. TPGS

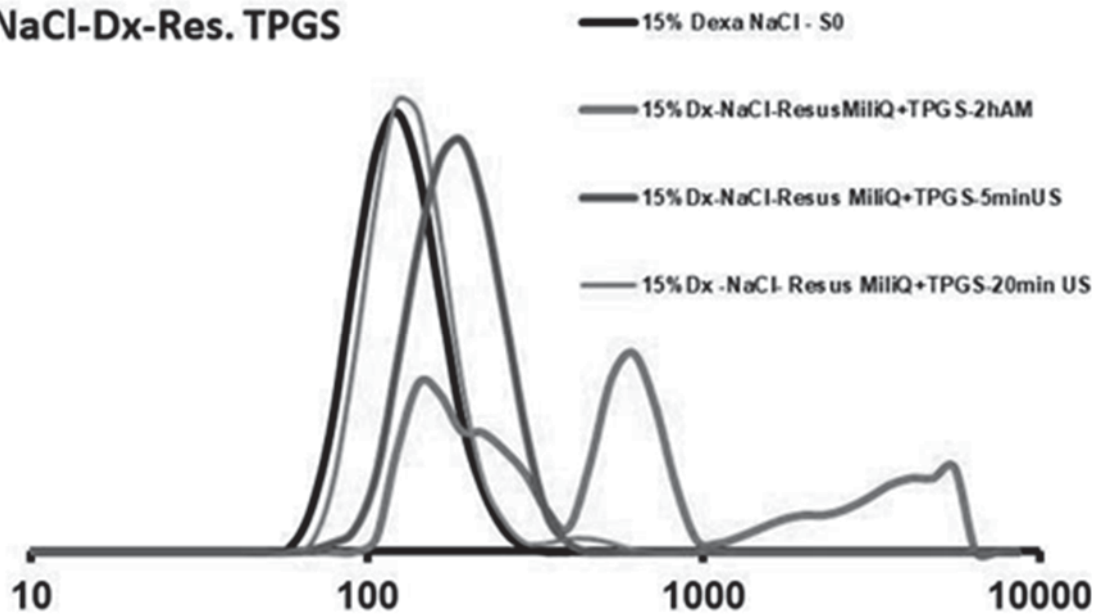


FIG.10 cont.