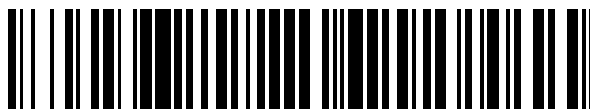


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 753 596**

51 Int. Cl.:

A61L 27/18 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)
A61L 31/10 (2006.01)
A61K 47/10 (2007.01)
A61K 47/34 (2007.01)
A61K 9/107 (2006.01)
C08G 63/183 (2006.01)
C08G 63/664 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.11.2016** **PCT/EP2016/076698**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.05.2017** **WO17077054**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.11.2016** **E 16791579 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2019** **EP 3370789**

54 Título: **Composiciones que comprenden copolímeros tribloque**

30 Prioridad:

04.11.2015 EP 15193024

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

13.04.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

MEIJBOOM, RONALD;
VAN MIDWOUD, PAUL MARCEL;
VAN DIJK, MAARTEN;
FLIPSEN, THEODORUS ADRIANUS CORNELIUS y
DE BOEF, ESTHER

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 753 596 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

Composiciones que comprenden copolímeros tribloque

5 La invención se refiere a una composición que contiene al menos un copolímero tribloque biorreabsorbible que es líquido en condiciones ambientales, mezclado de manera íntima con un tensioactivo biorreabsorbible y agua, formando todos juntos una emulsión de agua en aceite (w/o) estable. Las composiciones pueden ser adecuadas para la inyección en un cuerpo humano o animal. Tras la inyección en dicho cuerpo, las emulsiones forman una masa cohesiva (semi)sólida. Estas composiciones líquidas permiten la encapsulación de un principio activo
10 farmacéutico (API, por sus siglas en inglés) hidrófilo y después de la inyección en un cuerpo liberan lentamente dicho principio activo farmacéutico. Estas composiciones también pueden funcionar como producto sanitario después de la inyección en un cuerpo en combinación o no con agentes biológicamente activos.

15 La liberación controlada de principios activos farmacéuticos, también denominados agentes biológicamente activos o agentes terapéuticamente activos, se ha vuelto esencial en los tratamientos de seres humanos y animales. Es de interés especialmente la liberación controlada de principios activos farmacéuticos de manera local en un cuerpo, tal como en tejidos u órganos o bien para el tratamiento *in situ* directo o bien para la captación sistémica.

20 Por este motivo, en los últimos años se han desarrollado varios polímeros biorreabsorbibles fabricados en formas de producto como microesferas, filamentos, varillas y similares. El principio activo farmacéutico se incorpora en el interior del producto polimérico y después de la administración al cuerpo humano o animal se libera lentamente mediante diferentes mecanismos. Uno de los inconvenientes de estos productos es el laborioso procedimiento de incorporación del principio activo en su interior, que puede implicar o bien disolventes orgánicos o bien temperaturas elevadas. Estos procedimientos pueden dar como resultado la inactivación del principio activo durante el
25 procedimiento.

Pueden encontrarse numerosos ejemplos de copolímeros de bloque BAB líquidos en la bibliografía. Sin embargo, las desventajas de los copolímeros de bloque de la técnica anterior son que se usan en combinación con disolvente o aditivos poliméricos líquidos para producir composiciones farmacéuticas inyectables. En algunos casos, los
30 copolímeros de bloque BAB tienen pesos moleculares bastante altos y se añaden polímeros de bajo peso molecular, como por ejemplo polietilenglicol, para producir la composición inyectable. En otros casos, los copolímeros de bloque BAB líquidos se usan como plastificantes para copolímeros de bloque de mayor peso molecular para producir una composición inyectable y/o para disolver un API en el polímero líquido. La adición de estos polímeros de bajo peso molecular da lugar a liberaciones de alto estallido, y una liberación rápida no deseada del polímero de bajo
35 peso molecular, lo que puede producir efectos secundarios fisiológicos negativos. La incorporación de API hidrófilos en estos sistemas también es problemática. En algunos ejemplos, se añade agua y se mezcla a través del polímero líquido, que sin embargo muestra una liberación de estallido y tiempos de liberación relativamente cortos del API hidrófilo. Aún en muchos otros casos, se añade agua para preparar geles termorreversibles, que sin embargo muestran una liberación de estallido y tiempos de liberación relativamente cortos del API hidrófilo.

40 El objeto de la presente invención es proporcionar una formulación, que es una emulsión de agua en aceite (w/o) de al menos un copolímero tribloque biorreabsorbible, un tensioactivo biorreabsorbible y agua, que aborde una o más de las desventajas anteriores y/u otras, y pueda producirse por medio de un procedimiento robusto y sencillo.

45 El objeto se logra mediante una composición que comprende

a) el 55-98,9% en peso de al menos un tipo de copolímero tribloque (A) de fórmula (1)



50 b) el 0,1-15% en peso de al menos un tensioactivo (B) y

c) el 1-30% en peso de agua,

55 en la que A es un bloque hidrófilo que tiene un peso molecular promedio en número (M_n) de 100-1.000 Da, B es un bloque hidrófobo producido a partir de monómeros que comprenden al menos un monómero B1 y un monómero B2, en la que B1 y B2 tienen los mayores contenidos en peso en el bloque hidrófobo y B1 tiene un peso molecular menor que B2, en la que R es un grupo de extremo que es H o un resto orgánico C1-C30, en la que la composición es fluida en un intervalo de temperatura de 0°C a 37°C, en la que los % en peso son con relación a la suma de a), b)
60 y c), y en la que la suma de los componentes a), b) y c) es al menos el 80% en peso de la composición completa, preferiblemente al menos el 90% en peso.

65 El M_n relativamente bajo del bloque A del copolímero tribloque (A) da como resultado que el copolímero (A) sea relativamente hidrófobo. Con la ayuda del tensioactivo (B), se forma una emulsión de gotas de una fase acuosa dispersa en una fase continua del copolímero (A).

Una ventaja de la composición según la invención es que se obtiene una emulsión estable que contiene un copolímero tribloque (A) bastante hidrófobo y un tensioactivo con agua. Tal emulsión puede usarse como portador para principios activos farmacéuticos hidrófilos, tales como fármacos de molécula pequeña, péptidos, proteínas y materiales genéticos. En estos casos, puede obtenerse una composición farmacéutica en la que el principio activo farmacéutico hidrófilo se disuelve completamente en la fase acuosa de la emulsión.

Una ventaja de la composición según la invención es que se obtiene una formulación en la que la viscosidad es mucho menor que la del copolímero tribloque 'hidrófobo' según la fórmula 1 por sí mismo, lo que puede mejorar significativamente la inyectabilidad.

Otra ventaja es que las composiciones de la presente invención pueden usarse para incorporar API que sólo están disponibles en disolución acuosa.

Una ventaja adicional de las composiciones según la invención es que la liberación de un principio activo farmacéutico está bien controlada y la liberación de estallido directamente después de la administración es significativamente menor o está casi ausente en comparación con sistemas de la técnica anterior.

Otra ventaja de la composición según la invención es que las emulsiones forman un (semi)sólido que, una vez inyectado en el cuerpo de un ser humano o animal, permite su uso para el relleno de tejidos, la separación de tejidos u otros fines médicos. Tal uso puede ser sin ningún principio activo farmacéutico, pero si la terapia lo requiere, puede ser una combinación con agentes terapéutica o biológicamente activos.

a) Copolímero tribloque (A) hidrófobo RBABR

Un polímero biorreabsorbible se define en el presente documento como un polímero que puede metabolizarse por y/o secretarse del cuerpo.

El copolímero tribloque (A) hidrófobo según la invención es preferiblemente fluido en el intervalo completo de temperatura entre 0°C y 37°C.

A pesar de lo anterior, el copolímero también puede mostrar un comportamiento fluido fuera de este intervalo de temperatura. El término fluido también puede reemplazarse por líquido, pero para la invención ambos se refieren a un polímero que está en un estado fluido sin la ayuda de ningún disolvente o plastificante.

El comportamiento fluido de los copolímeros tribloque hidrófobos, según la invención, se mide mediante su viscosidad dinámica bajo cizallamiento. La viscosidad dinámica se midió usando un reómetro TA Instruments AR2000Ex con una configuración de placa-cono, cono tipo 40 mm, ángulo 1:00:00 grados:min:s. Durante la medición de la viscosidad, se mantuvo la temperatura constante a o bien a 20°C o bien a 37°C, con una tasa de cizallamiento de 5 s⁻¹ durante 300 s. Se calcularon los valores de viscosidad promedio usando un software (software Trios, TA Instruments). De esta manera, se determina la viscosidad dinámica (de cizallamiento) promedio del polímero. La viscosidad determinada a 37°C preferiblemente tiene un valor por debajo de 30 Pa.s, más preferiblemente por debajo de 20 Pa.s o por debajo de 10 Pa.s, por debajo de 5 Pa.s, por debajo de 3 Pa.s, por debajo de 2 Pa.s, o lo más preferiblemente por debajo de 1 Pa.s. Normalmente, la viscosidad a 37°C está por encima de 0,1 Pa.s.

La viscosidad determinada a 20°C normalmente tiene un valor por encima de 0,1 Pa.s. La viscosidad determinada a 20°C preferiblemente tiene un valor por debajo de 30 Pa.s, más preferiblemente por debajo de 20 Pa.s o por debajo de 10 Pa.s, lo más preferiblemente por debajo de 5 Pa.s.

La viscosidad de los copolímeros tribloque (A) hidrófobos según la invención oscila entre 0,1 y 30 Pa.s a una temperatura de 20°C, preferiblemente entre 0,2 y 20 Pa.s, lo más preferiblemente entre 0,3 y 10 Pa.s.

Los copolímeros tribloque (A) hidrófobos usados en la presente invención preferiblemente tienen temperaturas de transición vítrea de bajas a muy bajas. La temperatura de transición vítrea (T_g) se determina mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC, segunda curva de calentamiento con calentamiento de 2 °C/min) y se define como el punto medio de la transición térmica. El copolímero tiene preferiblemente una T_g (punto medio) por debajo de -20°C, más preferiblemente por debajo de -30°C y lo más preferiblemente por debajo de -40°C.

Los copolímeros tribloque de la invención son de manera preferible completamente amorfos o al menos tienen preferiblemente temperaturas de fusión muy bajas. La temperatura de fusión (T_f) se determina mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC, segunda curva de calentamiento con calentamiento de 2 °C/min) y se define como el punto medio de la transición térmica. El copolímero tiene preferiblemente un pico de fusión no detectable o una T_f (punto medio) por debajo de 20°C, más preferiblemente por debajo de 10°C y lo más preferiblemente por debajo de 0°C.

El peso molecular promedio en número (Mn) del copolímero tribloque (A) está preferiblemente entre 500-5.000 Da,

más preferiblemente dentro del intervalo de 600-3.000 Da y lo más preferiblemente dentro del intervalo de 700-2.500 Da. El peso molecular promedio en número (M_n) usado en el presente documento puede determinarse con cromatografía de exclusión molecular tal como se define en la sección experimental.

La razón de bloques, en el contexto de la invención, es la razón entre la suma de los pesos moleculares promedio en número (M_n) de ambos bloques hidrófobos sin contar la modificación del grupo de extremo (la suma de los dos bloques B) y el bloque A hidrófilo. La razón de bloques requerida depende de la composición del bloque A hidrófilo, la composición del bloque hidrófobo (es decir, bloques B), el grado de modificación y la naturaleza del grupo de extremo orgánico.

En una realización de la invención, la razón de bloques, definida como la razón entre la suma del peso molecular promedio en número de los bloques B y el peso molecular promedio en número del bloque A, oscila entre 0,3 y 20, preferiblemente entre 0,5 y 10.

En la presente invención, los grupos de extremo orgánicos reducen la viscosidad de los copolímeros tribloque y con eso mejoran su inyectabilidad. El grupo de extremo orgánico también tiene un efecto notable sobre el control de la cinética de liberación de un principio activo farmacéutico cargado. Más en particular, el grupo de extremo orgánico ralentiza la liberación de un principio activo farmacéutico cargado.

La cantidad del copolímero de bloque (A) RBABR oscila entre el 55-98,9% en peso en relación al total de la composición. Normalmente, puede ser al menos el 60% en peso, el 70% en peso, el 80% en peso, el 90% en peso de la composición. Puede ser menor del 98% en peso, el 95% en peso o el 92% en peso.

Resto A

El bloque A en el copolímero tribloque (A) hidrófobo es un bloque polimérico hidrófilo. Preferiblemente, el bloque A se elige del grupo que consiste en polietilenglicol (PEG), poli(óxido de propileno) (PPO), poli(óxido de tetrametileno) (PTMO), copolímeros de PEG y PPO, polivinilpirrolidona (PVP), poli[N-(2-hidroxietil)-L-glutamina] (PHEG) o una poli(2-oxazolina). El polietilenglicol es un diol también denominado poli(óxido de etileno) (PEO) y ambos nombres pueden usarse de manera intercambiable para el fin de esta invención.

Más preferiblemente, el bloque A es PEG, lo más preferiblemente el bloque A es un PEG lineal.

El bloque A tiene un peso molecular promedio en número (M_n) de al menos 100 Da, preferiblemente de al menos 120 Da y lo más preferiblemente de al menos 150 Da. El peso molecular promedio en número del bloque A preferiblemente es como máximo de 1.000 Da. Por ejemplo, el peso molecular promedio en número del bloque A está entre 180-700 Da. El peso molecular del bloque A tal como PEG se elige de tal manera que no cristalice o sólo lentamente una vez que forme parte de los copolímeros tribloque hidrófobos de la presente invención. Un aspecto importante es el resultado que tiene el bloque A particular, tal como PEG, sobre la viscosidad del copolímero tribloque hidrófobo obtenido con él.

Resto B

El copolímero tribloque (A) hidrófobo comprende dos bloques B que flanquean el bloque A. Los bloques B son hidrófobos. B es un bloque hidrófobo producido a partir de monómeros que comprenden al menos un monómero B1 y un monómero B2. Esto significa que B puede estar producido a partir de dos monómeros o producido a partir de tres o más monómeros.

B1 y B2 tienen los mayores contenidos en peso en el bloque hidrófobo, es decir, los monómeros presentes en el bloque hidrófobo en las mayores cantidades se denominan B1 y B2. De los monómeros que tienen los mayores contenidos en peso en el bloque hidrófobo, el que tiene un peso molecular menor se denomina B1 y el monómero con un peso molecular mayor se denomina B2.

Por consiguiente, cuando B está producido a partir de dos monómeros, estos dos monómeros se denominan B1 y B2. Por ejemplo, cuando B está producido a partir de caprolactona ($M=114$) y lactida ($M=144$), B1 es caprolactona y B2 es lactida.

Cuando B está producido a partir de tres o más monómeros, los monómeros que están presentes en las mayores cantidades se denominan B1 y B2. Por ejemplo, cuando B está producido a partir del 50% en peso de caprolactona ($M=114$), el 30% en peso de lactida ($M=144$) y el 20% en peso de glicolida ($M=116$), B1 es caprolactona y B2 es lactida; cuando B está producido a partir del 20% en peso de caprolactona, el 50% en peso de lactida y el 30% en peso de glicolida, B1 es glicolida y B2 es lactida.

Los monómeros B1 y B2 pueden ser monómeros cíclicos y cada uno de los bloques B puede tener un peso molecular promedio en número que oscila entre 200-1.500 Da. Preferiblemente, el peso molecular promedio en número de cada bloque B oscila entre 225-1.250 Da, más preferiblemente entre 250-1.000 Da, o entre 300-800 Da.

Ambos bloques B puede tener la misma o una composición diferente; preferiblemente ambos bloques B tienen la misma composición.

5 Los monómeros B1 y B2 pueden ser monómeros cíclicos y pueden seleccionarse del grupo que consiste en glicolida, lactida, ϵ -caprolactona, p-dioxanona (1,4-dioxan-2-ona), carbonato de trimetileno (1,3-dioxan-2-ona), 1,4-dioxepan-2-ona (incluyendo su dímero 1,5,8,12-tetraoxaciclotetradecano-7,14-diono), 1,5-dioxepan-2-ona, 6,6-dimetil-1,4-dioxan-2-ona, 2,5-dicetomorfolina, pivalolactona, chi-dietilpropiolactona, carbonato de etileno, oxalato de etileno, 3-metil-1,4-dioxan-2,5-diona, 3,3-dietil-1,4-dioxan-2,5-diona, 6,8-dioxabicyclooctano-7-ona, β -propiolactona, γ -butirolactona, δ -valerolactona, ϵ -decalactona, 3-metil-1,4-dioxan-2,5-diona, 1,4-dioxan-2,5-diona, 2,5-dicetomorfolina, α,α -dietilpropiolactona, γ -butirolactona, 1,4-dioxepan-2-ona, 1,5-dioxepan-2-ona, 6,6-dimetil-dioxepan-2-ona, 6,8-dioxabicyclooctano-7-ona, 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, o preferiblemente del grupo que consiste en glicolida, lactida, ϵ -caprolactona, δ -valerolactona, 1,3-dioxan-2-ona (también conocida como carbonato de trimetileno), 5,5-dimetil-1,3-dioxan-2-ona, 1,4-dioxan-2-ona, 1,4-dioxepan-2-ona y 1,5-dioxepan-2-ona.

15 Los monómeros B1 y B2 son lo más preferiblemente seleccionados del grupo que consiste en glicolida, lactida, ϵ -caprolactona, δ -valerolactona, 1,3-dioxan-2-ona (también conocida como carbonato de trimetileno) y 1,4-dioxan-2-ona (también conocida como p-dioxanona).

20 Los bloques hidrófobos, que contienen las unidades monoméricas descritas anteriormente, principalmente contienen enlaces éster y/o carbonato, convirtiéndolos en hidrolizables. Pueden prepararse en un intervalo bien definido de pesos moleculares.

25 La elección de los monómeros B1 y B2 se basa en cómo afectan a la viscosidad de los copolímeros tribloque hidrófobos obtenidos con ellos. Otro aspecto importante es el efecto que tienen sobre la tasa y el perfil de biorreabsorción que se quiere lograr con el copolímero tribloque hidrófobo *in vivo*. Se han estudiado poliésteres producidos mediante la combinación de los monómeros mencionados anteriormente durante un tiempo y algunas de las combinaciones se conocen bien.

30 En la mayoría de los casos, las combinaciones sólo implican 2 monómeros, B1 y B2, aunque son posibles ejemplos con 3 monómeros diferentes en un bloque B y puede ser beneficioso.

35 En una realización preferida, cada bloque B (es decir monómeros B1 y B2) es una combinación de ϵ -caprolactona con cualquiera de lactida, glicolida, δ -valerolactona, p-dioxanona o carbonato de trimetileno; o una combinación de δ -valerolactona con cualquiera de lactida, glicolida, p-dioxanona o carbonato de trimetileno; o una combinación de p-dioxanona con lactida, glicolida o carbonato de trimetileno; o una combinación de carbonato de trimetileno con lactida o glicolida; o una combinación de lactida con cualquiera de δ -valerolactona, p-dioxanona.

40 La cantidad del monómero B1 con respecto al peso total del monómero B1 y el monómero B2, que algunas veces se indica en el presente documento mediante "X", por ejemplo puede ser el 10-90% en peso, normalmente el 20-80% en peso, el 30-70% en peso, el 40-60% en peso o el 45-55% en peso.

Grupos de extremo R

45 El copolímero tribloque (A) hidrófobo usado en la composición según la invención comprende dos grupos de extremo R. Los tribloques B-A-B se modifican usando el grupo hidroxilo terminal de los bloques B. Preferiblemente, R es independientemente H o un resto orgánico C1-C30, más preferiblemente R es un resto orgánico C1-C30. El resto orgánico puede ser lineal, cíclico o ramificado. El resto orgánico puede contener heteroátomos, como por ejemplo O, N e I. Los ejemplos de un resto orgánico son residuos de ácidos grasos, residuos de éteres o residuos de uretanos.

50 El residuo de ácidos grasos se obtiene mediante la reacción de un ácido graso o ácido graso activado con el grupo hidroxilo del extremo de un bloque B. Los ácidos grasos incluyen una selección de ácidos grasos saturados o insaturados de 1 a 30 átomos de carbono, preferiblemente de 2 a 20 átomos de carbono. Los grupos de ácido grasos pueden contener heteroátomos, como por ejemplo yodo. La presencia de yodo puede ayudar a visualizar el depósito durante y después de la inyección en un cuerpo animal o humano.

55 El ácido graso C1-C30 puede seleccionarse del grupo que consiste en ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido pentanoico, ácido hexanoico, ácido heptanoico, ácido octanoico, ácido nonanoico, ácido decanoico, ácido undecanoico, ácido dodecanoico, ácido tridecanoico, ácido tetradecanoico, ácido pentadecanoico, ácido hexadecanoico, ácido heptadecanoico, ácido octadecanoico, ácido nonadecanoico, ácido eicosanoico, ácido heneicosanoico, ácido docosanoico, ácido tricosanoico, ácido tetracosanoico, ácido pentacosanoico, ácido hexacosanoico, ácido heptacosanoico, ácido octacosanoico, ácido nonacosanoico, ácido triacontanoico, ácido caprílico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido miristoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido alfa-linoleico, ácido gamma-linoleico, ácido estearidónico, ácido ruménico, ácido beta-caléndico, ácido eleosteárico, ácido punínico, ácido parínico, ácido pinolénico, ácido araquídico, ácido eicosenoico, ácido eicosadienoico, ácido eicosatrienoico, ácido

dihomo-gamma-linolénico, ácido Mead, ácido eicosatetraenoico, ácido araquidónico o ácido eicosapentaenoico.

Preferiblemente, R se elige de un grupo acetilo, un grupo propionilo, un grupo butirilo, un grupo pentanoilo, un grupo hexanoilo, un grupo nonanoilo, un grupo dodecanoilo, un grupo pentadecanoilo, un grupo 2-n-hexildecanoilo, un grupo estearoilo o un grupo benzoilo, en el que cada R puede estar sustituido opcionalmente con heteroátomos como por ejemplo yodo. R puede ser lineal, ramificado o cíclico, y saturado o insaturado.

Los ácidos grasos que se producen de manera natural son fácilmente degradables a través del ciclo de acetil-coenzima A. Además, estos ácidos tienen menos riesgo de presentar toxicidad *in vivo* en las cantidades usadas en el alcance de la presente invención. Sin embargo, algunos de ellos pueden tener actividades biológicas beneficiosas o perjudiciales. Un experto en la técnica debería tener en cuenta la elección del ácido graso en vista de la aplicación y la ubicación en el cuerpo. La modificación con derivados de ácidos graso más largos aumentará generalmente el tiempo de reabsorción del polímero.

El acoplamiento de ácidos grasos a los copolímeros tribloque B-A-B puede implicar el uso de agentes de acoplamiento como, pero sin limitarse a, isocianatos o la derivatización de o bien los ácidos grasos o bien los grupos de extremo del polímero. Los grupos funcionales de los ácidos grasos o polímeros pueden activarse para fomentar el acoplamiento usando agentes de activación como, pero sin limitarse a, carbonildiimidazol, N-hidroxisuccinimida, cloroformiato de para-nitrofenilo, anhídrido succínico. También pueden usarse derivados directos de ácidos grasos como, pero sin limitarse a, cloruros de ácido, anhídridos, isocianatos, especialmente dado que algunos de ellos se encuentran comercialmente disponibles.

Estos métodos de acoplamiento son bien conocidos por el experto en la técnica.

Para algunas aplicaciones, deben introducirse restos especiales en los derivados de ácidos grasos usados para la modificación del grupo de extremo. Por ejemplo, el uso de un ácido graso insaturado puede permitir que se produzcan reacciones químicas entre las cadenas del ácido graso insaturado para lograr la reticulación del polímero. Normalmente, la reticulación se lleva a cabo para modificar las propiedades mecánicas y el perfil de degradación de los polímeros. Normalmente, la activación y reacción intermolecular entre los restos reticulables se produce por una fuente de radiación, una reacción química externa o un estímulo, o una combinación de los mismos. Los ejemplos de radiación incluyen, pero no se limitan a, calor, fuentes de infrarrojo, fuentes de ultravioleta, fuentes de haces de electrones, fuentes de microondas, fuentes de rayos X, fuentes de luz visible [monocromáticas o no] y rayos gamma. La reacción externa, o estímulo, incluye, pero no se limita, a pH, reacciones de oxidación/reducción, reacciones con un agente químico presente *in vivo* (gas, proteína, enzimas, anticuerpo, etc.), reacción con un producto químico añadido a la composición tras la introducción en el cuerpo, denominadas sistemas duales, por ejemplo una molécula que contiene dos o más grupos reactivos.

Los grupos de extremo también pueden elegirse del grupo de alquilo de heteroátomos, que contienen por ejemplo átomos de oxígeno, nitrógeno o yodo.

La elección del grupo de extremo se basa en el efecto que tienen sobre la viscosidad de los copolímeros tribloque hidrófobos obtenidos con ellos. Otro aspecto importante es el efecto que tienen sobre la formación de un (semi)sólido *in vivo* y sobre la blandura de los mismos. Otro aspecto importante es el efecto que tienen sobre la cinética de liberación de un agente terapéuticamente activo, si un agente de este tipo se incorpora en el (semi)sólido formado.

Copolímeros de bloque preferidos

En una realización, el copolímero tribloque (A) hidrófobo según la fórmula 1 es un copolímero en el que A es un resto de polietilenglicol lineal que tiene un peso molecular promedio en número (M_n) entre 150-1.000 Da, y en el que B representa un resto de poliéster que comprende al menos dos tipos de monómeros B1 y B2 elegidos del grupo que consiste en ϵ -caprolactona, δ -valerolactona, glicolida, lactida, 1,4-dioxan-2-ona (también conocida como p-dioxanona) y 1,3-dioxan-2-ona (también conocida como carbonato de trimetileno), más preferiblemente del grupo ϵ -caprolactona, δ -valerolactona, glicolida, lactida, en el que R es independientemente H o un residuo de ácido graso C1-C30 que contiene opcionalmente heteroátomos y en el que el peso molecular promedio en número (M_n) del copolímero tribloque está entre 500-5.000 Da, preferiblemente 600-3.000 Da, más preferiblemente dentro del intervalo de 700-2.500 Da; y en el que la viscosidad de cizallamiento determinada a 20°C tiene un valor por debajo de 30 Pa.s, más preferiblemente por debajo de 20 Pa.s o por debajo de 10 Pa.s, lo más preferiblemente por debajo de 5 Pa.s; y en el que el copolímero tiene una T_g (punto medio) por debajo de -20°C, más preferiblemente por debajo de -30°C y lo más preferiblemente por debajo de -40°C.

En otra realización, el copolímero tribloque (A) hidrófobo según la fórmula 1 es un copolímero tribloque en el que la razón de bloques, que se define como la razón entre la suma del peso molecular promedio en número de los bloques B y el peso molecular promedio en número del bloque A, oscila desde 0,5 hasta 10, en el que el bloque A es un bloque de polietilenglicol lineal y en el que R se elige de un grupo acetilo, un grupo propionilo, un grupo hexanoilo, un grupo nonanoilo, un grupo dodecanoilo, grupo pentadecanoilo, un grupo estearoilo o un grupo

benzoílo y en el que cada R puede estar opcionalmente sustituido.

En una realización adicional, el copolímero tribloque (A) hidrófobo según la fórmula 1 es un copolímero en el que A es un polietilenglicol que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) entre 150-700 Da, en el que cada bloque B es una combinación de ϵ -caprolactona con cualquiera de lactida, glicolida, δ -valerolactona, p-dioxanona o carbonato de trimetileno; o una combinación de δ -valerolactona con cualquiera de lactida, glicolida, p-dioxanona o carbonato de trimetileno; o una combinación de p-dioxanona con lactida, glicolida o carbonato de trimetileno; o una combinación de carbonato de trimetileno con lactida o glicolida; en el que R se elige de un grupo acetilo, un grupo propionilo, un grupo hexanoílo, un grupo nonanoílo, un grupo dodecanoílo, grupo pentadecanoílo, un grupo estearoílo o un grupo benzoílo y en el que cada R puede estar opcionalmente sustituido, y en el que el peso molecular promedio en número (Mn) del copolímero de bloque completo está entre 750-3.000 Da, más preferiblemente dentro del intervalo de 1.000-2.500 Da; y en el que la viscosidad de cizallamiento determinada a 20°C tiene un valor por debajo de 30 Pa.s, preferiblemente por debajo de 20 Pa.s, más preferiblemente por debajo de 10 Pa.s, lo más preferiblemente por debajo de 5 Pa.s; y en el que el copolímero tiene una T_g (punto medio) por debajo de -20°C, más preferiblemente por debajo de -30°C y lo más preferiblemente por debajo de -40°C.

Tensioactivo (B)

El tensioactivo (B) aplicado en la presente invención es preferiblemente un tensioactivo biorreabsorbible. Los tensioactivos pueden dividirse en muchas clases, tales como tensioactivos no iónicos, aniónicos y catiónicos. Los ejemplos de tensioactivos no iónicos son poloxámeros (también denominados por los nombres comerciales Synperonics, Pluronic y Kolliphor) y polisorbatos (como Tween-20 y Tween-80). Otros tensioactivos no iónicos son polivinilpirrolidona (PVP) y poli(alcohol vinílico) (PVA). Los ejemplos de tensioactivos aniónicos son laurilsulfato de amonio, laurilsulfato de sodio, lauril éter sulfato de sodio (SLES) y miristil éter sulfato de sodio. Los ejemplos de tensioactivos catiónicos son cloruro de cetilpiridinio, cloruro de benzalconio y cloruro de dimetildioctadecilamonio.

La presente invención da a conocer tensioactivos no iónicos biorreabsorbibles que están compuestos por copolímeros de bloque anfifílicos lineales, ramificados, de injerto, en forma de peine o en forma de estrella (copolímeros dibloque, tribloque o multibloque), en lo sucesivo también denominados "tensioactivos poliméricos (B)".

La cantidad de tensioactivo presente en la composición es al menos del 0,1% en peso, el 0,2% en peso o el 0,3% en peso. Normalmente, la cantidad de tensioactivo es menor del 15% en peso, el 10% en peso o el 5% en peso, todo en relación a la suma de a), b y c). Preferiblemente, la cantidad de tensioactivo oscila entre el 0,2-15% en peso, el 0,3-10% en peso o el 0,3-5% en peso.

Los tensioactivos biorreabsorbibles (B) preferidos son copolímeros anfifílicos ramificados o lineales (copolímeros dibloque, tribloque, multibloque, de injerto y/o en forma de estrella). Los tensioactivos preferidos son moléculas según la fórmula 2 (tensioactivo polimérico (B)):

Rs-Bs-As-Bs-Rs

fórmula 2

en la que As es un bloque hidrófilo que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de al menos 1.000 Da, Bs es un bloque hidrófobo producido a partir de monómeros que comprenden al menos un monómero Bs1 y un monómero Bs2 en el que Bs1 y Bs2 tienen los mayores contenidos en peso en el bloque hidrófobo y Bs1 tiene un peso molecular menor que Bs2 y Rs es un grupo de extremo que es H o un resto orgánico C1-C30.

El tensioactivo polimérico (B) (fórmula 2) puede consistir en los mismos tipos de bloques que el copolímero tribloque (A) hidrófobo (fórmula 1), excepto que el peso molecular del bloque As del tensioactivo polimérico (B) es mayor que el peso molecular del bloque A del copolímero tribloque (A) hidrófobo.

El tensioactivo polimérico (B) tiene un bloque hidrófilo As, que tiene un peso molecular relativamente alto, que da como resultado el copolímero tribloque (B) que tiene un carácter relativamente hidrófilo. Se encontró sorprendentemente que la adición del tensioactivo polimérico (B) a una composición que comprende el copolímero tribloque (A) hidrófobo y agua da como resultado una emulsión de gotas de agua, la fase acuosa, dispersa en una fase continua del copolímero tribloque (A) hidrófobo. Por lo tanto, aunque no se desea estar sujeto a ninguna teoría, se piensa que el copolímero tribloque (B) hidrófilo actúa como tensioactivo.

Rs se elige preferiblemente del grupo que consiste en H, grupo acetilo, grupo propionilo, grupo butirilo, grupo pentanoílo, grupo hexanoílo, grupo nonanoílo, grupo dodecanoílo, grupo pentadecanoílo, grupo 2-n-hexildecanoílo, grupo estearoílo o grupo benzoílo

Preferiblemente, el tensioactivo polimérico (B) es un copolímero tribloque (B) anfifílico, en el que As es un bloque de polietilenglicol lineal, que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de entre 1.000-3.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; en el que Bs son bloques hidrófobos que comprenden al menos dos monómeros cíclicos seleccionados del grupo que consiste en lactida, ϵ -caprolactona, glicolida, p-dioxanona, carbonato de trimetileno, δ -valerolactona, teniendo cada bloque Bs un peso molecular promedio en número (Mn) de

entre 400-3.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; y en el que Rs es un grupo de extremo de un H o un residuo de ácido graso C1-C20.

5 Otra realización preferida del tensioactivo polimérico (B) es un copolímero tribloque (B) anfifílico lineal que tienen la propiedad de que a temperatura ambiente es soluble en agua y a una temperatura elevada de 30°C o mayor forma un hidrogel biorreabsorbible.

10 Preferiblemente, As es un resto de PEG. Preferiblemente, el peso molecular promedio en número del resto de As oscila entre 1.000-3.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular, preferiblemente al menos 1.250 Da, más preferiblemente al menos 1.500 Da.

En una realización preferida, los bloques poliméricos B y Bs comprenden los mismos tipos de monómeros, es decir el monómero B1 y el monómero Bs1 son iguales y el monómero B2 y el monómero Bs2 son iguales.

15 La cantidad del monómero B1 con respecto al peso total del monómero B1 y el monómero B2, que se indica en el presente documento mediante "X", puede ser por ejemplo del 10-90% en peso, normalmente del 20-80% en peso, el 30-70% en peso, el 40-60% en peso o el 45-55% en peso.

20 La cantidad del monómero Bs1 con respecto al peso total del monómero Bs1 y el monómero Bs2, que se indica en el presente documento mediante "Xs", puede ser por ejemplo del 10-90% en peso, normalmente del 20-80% en peso, el 30-70% en peso, el 40-60% en peso o el 45-55% en peso.

25 Preferiblemente, la diferencia entre X y Xs es como máximo del 40% en peso, más preferiblemente como máximo el 20% en peso, más preferiblemente como máximo el 10% en peso, más preferiblemente como máximo el 5% en peso y lo más preferiblemente X es igual que Xs.

30 La ventaja de tener los mismos monómeros en los bloques B y Bs (es decir, B1 = Bs1 y B2 = Bs2) es que la tasa de liberación de principios activos farmacéuticos (API) hidrófilos de la composición disminuye sorprendentemente en gran medida. Pueden informarse tiempos de liberación muy largos, con una baja o incluso muy baja liberación de estallido de dichos API. Especialmente, la presencia de los mismos monómeros en cada bloque B y Bs en sustancialmente la misma razón, proporciona un tiempo de liberación aumentado adicional del API. Dicho de otro modo, si el tensioactivo polimérico está en su composición química a medida para el copolímero tribloque hidrófobo, formando la fase continua de la emulsión, puede controlarse la liberación de dichos API sorprendentemente bien.

35 Una realización preferida del tensioactivo polimérico (B) es un copolímero tribloque (B) anfifílico lineal en el que As es un bloque de polietilenglicol lineal, que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de 1.250-1.750 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; en el que Bs son bloques hidrófobos que comprenden al menos dos monómeros cíclicos seleccionados del grupo que consiste en lactida, ε-caprolactona y glicolida, teniendo cada bloque Bs un peso molecular promedio en número (Mn) de entre 1.100-1.800 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; y en el que Rs es un grupo de extremo de un H o un grupo acetilo, propionilo, hexanoilo o dodecanoilo.

45 Otra realización preferida del tensioactivo polimérico (B) es un copolímero tribloque (B) anfifílico lineal en el que As es un bloque de polietilenglicol lineal, que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de 1.450-1.550 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; en el que Bs son bloques hidrófobos que comprenden al menos dos monómeros cíclicos seleccionados del grupo que consiste en lactida, ε-caprolactona y teniendo cada bloque Bs un peso molecular promedio en número (Mn) de entre 1.500-1.750 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; y en el que Rs es un grupo de extremo de un grupo acetilo o propionilo.

50 Otra realización preferida del tensioactivo polimérico (B) es un copolímero tribloque (B) anfifílico lineal en el que As es un bloque de polietilenglicol lineal, que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de 1.450-1.550 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; en el que Bs son bloques hidrófobos que comprenden al menos dos monómeros cíclicos seleccionados del grupo que consiste en lactida, ε-caprolactona y teniendo cada bloque Bs un peso molecular promedio en número (Mn) de entre 1.300-1.400 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; y en el que Rs es un grupo de extremo de un H o un grupo acetilo o propionilo.

60 Otra realización preferida del tensioactivo polimérico (B) es un copolímero dibloque (B) anfifílico lineal en el que As es un bloque de metoxipolietilenglicol lineal, que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de 1.000-3.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; en el que Bs es un bloque hidrófobo que comprende al menos dos monómeros cíclicos seleccionados del grupo que consiste en lactida, ε-caprolactona y el bloque Bs tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de entre 1.000-2.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; y en el que Rs es un grupo de extremo de un H o un grupo acetilo o propionilo.

65 En una realización, están presentes al menos dos tensioactivos poliméricos (B) en la composición. La adición de un segundo tensioactivo polimérico (B) puede mejorar además la estabilidad a largo plazo de una composición,

especialmente a temperaturas más bajas entre 1 y 8°C.

Contenido de agua

5 La composición según la invención comprende agua. La cantidad de agua es preferiblemente al menos del 1% en peso, el 2% en peso o el 4% en peso. Generalmente, la cantidad de agua es menor del 30% en peso, el 20% en peso o el 10% en peso, en relación a la suma de componentes a), b) y c). La cantidad de agua oscila preferiblemente entre el 1-30% en peso, el 2-20% en peso o el 4-10% en peso.

Viscosidad de la composición

La composición según la invención es fluida en todo el intervalo de temperatura entre 0°C y 37°C.

15 A pesar de lo anterior, la composición también puede mostrar un comportamiento fluido fuera de este intervalo de temperatura. El término fluido también puede reemplazarse por líquido, pero para la invención ambos se refieren a una composición que está en estado fluido sin la ayuda de ningún disolvente o plastificante.

20 El comportamiento fluido de la composición, según la invención, se mide mediante su viscosidad dinámica bajo cizallamiento. La viscosidad dinámica se midió usando un reómetro TA Instruments AR2000Ex con una configuración de placa-cono, cono tipo 40 mm, ángulo 1:00:00 grados:min:s. Durante la medición de la viscosidad, se mantuvo la temperatura constante o bien a 20°C o bien a 37°C, con una tasa de cizallamiento de 5 s⁻¹ durante 300 s. Se calcularon los valores de viscosidad promedio usando un software (software Trios, TA Instruments). De esta manera, se determina la viscosidad dinámica (de cizallamiento) promedio de la composición. La viscosidad determinada a 37°C tiene preferiblemente un valor por debajo de 30 Pa.s, más preferiblemente por debajo de 20 Pa.s o por debajo de 10 Pa.s, por debajo de 5 Pa.s, por debajo de 3 Pa.s, por debajo de 2 Pa.s, o lo más preferiblemente por debajo de 1 Pa.s. Normalmente, la viscosidad a 37°C está por encima de 0,1 Pa.s.

25 La viscosidad determinada a 20°C tiene normalmente un valor por encima de 0,1 Pa.s. La viscosidad determinada a 20°C tiene preferiblemente un valor por debajo de 30 Pa.s, más preferiblemente por debajo de 20 Pa.s o por debajo de 10 Pa.s, lo más preferiblemente por debajo de 5 Pa.s.

La viscosidad de la composición según la invención oscila entre 0,1 y 30 Pa.s a una temperatura de 20°C, preferiblemente entre 0,2 y 20 Pa.s, lo más preferiblemente entre 0,3 y 10 Pa.s.

Composiciones preferidas de la invención

En una realización, la invención se refiere a una composición que comprende:

a) el 70-97,8% en peso de al menos un tipo de copolímero tribloque (A) hidrófobo de fórmula (1)



b) el 0,2-10% en peso de al menos un tipo de tensioactivo polimérico (B) según la fórmula (2)



c) el 2-20% en peso de agua,

50 en la que A es un bloque hidrófilo que tiene un peso molecular promedio (Mn) de 100-1.000 Da, B es un bloque hidrófobo producido a partir de monómeros que comprenden al menos un monómero B1 y un monómero B2, en la que B1 y B2 tienen los mayores contenidos en peso en el bloque hidrófobo y B1 tiene un peso molecular menor que B2, en la que R es un grupo de extremo que es H o un resto orgánico C1-C30;

55 en la que As es un bloque hidrófilo que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de al menos 1.000 Da, Bs es un bloque hidrófobo producido a partir de monómeros que comprenden al menos un monómero Bs1 y un monómero Bs2 en la que Bs1 y Bs2 tienen los mayores contenidos en peso en el bloque hidrófobo y Bs1 tiene un peso molecular menor que Bs2 y Rs es un grupo de extremo que es H o un resto orgánico C1-C30;

60 en la que B1, B2, Bs1 y Bs2 se eligen del grupo que consiste en ε-caprolactona, δ-valerolactona, glicolida, lactida, 1,4-dioxan-2-ona (también conocida como p-dioxanona) y 1,3-dioxan-2-ona (también conocida como carbonato de trimetileno),

65 en la que el copolímero tribloque (A) hidrófobo es fluido en un intervalo de temperatura de 0°C a 37°C y en la que los % en peso son con relación a la suma de a), b) y c). Preferiblemente, R y Rs se eligen independientemente del grupo que consiste en H, acetilo, propionilo, butirilo, hexanoilo, dodecanoilo y benzoilo.

En otra realización, la invención se refiere a una composición que comprende:

a) el 85-95,7% en peso de al menos un tipo de copolímero tribloque (A) hidrófobo de fórmula (1)

5 R-B-A-B-R (1)

b) el 0,3-5% en peso de al menos un tipo de tensioactivo polimérico (B) según la fórmula (2)

10 Rs-Bs-As-Bs-Rs (2), y

c) el 4-10% en peso de agua,

en la que A es un bloque hidrófilo que tiene un peso molecular promedio (M_n) de 100-1.000 Da, B es un bloque hidrófobo producido a partir de monómeros que comprenden al menos un monómero B1 y un monómero B2, en la que B1 y B2 tienen los mayores contenidos en peso en el bloque hidrófobo y B1 tiene un peso molecular menor que B2, en la que R es un grupo de extremo que es H o un resto orgánico C1-C30;

en la que As es un bloque hidrófilo que tiene un peso molecular promedio en número (M_n) de al menos 1.000 Da, Bs es un bloque hidrófobo producido a partir de monómeros que comprenden al menos un monómero Bs1 y un monómero Bs2 en la que Bs1 y Bs2 tienen los mayores contenidos en peso en el bloque hidrófobo y Bs1 tiene un peso molecular menor que Bs2 y Rs es un grupo de extremo que es H o un resto orgánico C1-C30;

en la que B1, B2, Bs1 y Bs2 se eligen del grupo que consiste en ϵ -caprolactona, δ -valerolactona, glicolida, lactida, 1,4-dioxan-2-ona (también conocida como p-dioxanona) y 1,3-dioxan-2-ona (también conocida como carbonato de trimetileno),

en la que el copolímero tribloque (A) hidrófobo es fluido en un intervalo de temperatura de 0°C a 37°C y en la que los % en peso son con relación a la suma de a), b) y c).

Preferiblemente, R y Rs se eligen independientemente del grupo que consiste en H, acetilo, propionilo, butirilo, hexanoilo, dodecanoilo y benzoilo.

Composición farmacéutica

Preferiblemente, la composición según la invención comprende además al menos un principio activo farmacéutico (API). En este caso, la composición según la invención puede usarse como composición farmacéutica. La cantidad del principio activo farmacéutico es preferiblemente del 0,01-15% en peso, en relación al peso total de la composición farmacéutica.

Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende cualquiera de las composiciones tal como se definió anteriormente. Se ha encontrado sorprendentemente que la viscosidad de la composición farmacéutica está determinada en gran medida por la emulsión de polímero, mientras que el agente terapéuticamente activo sólo tiene un efecto menor sobre la inyectabilidad de la composición formulada. Esto es incluso independiente del peso molecular del agente terapéuticamente activo y la naturaleza del principio activo farmacéutico. Además, una ventaja de la composición farmacéutica de la presente invención es que incluso el principio activo farmacéutico hidrófilo, como por ejemplo lisozima, demostró una liberación de baja a muy baja.

Con principio activo farmacéutico o principios activos farmacéuticos (API), o también denominados agentes terapéuticamente activos o agentes biológicamente activos, los expertos en la técnica se refieren a cualquier conjunto de moléculas, células o materiales celulares capaces de evitar, ralentizar, moderar o curar una enfermedad en, o que puede administrar un efecto terapéutico deseado sobre, un ser humano o animal tratado. Las enfermedades humanas también se denominan tal como las define la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el documento de clasificación CIE-10 (2007) de la OMS.

El principio activo farmacéutico en la composición de la presente invención puede ser un principio activo tal como cualquier principio terapéuticamente activo y cualquier agente de diagnóstico y cualquiera de contraste e incluye los principios activos farmacéuticos que tienen un efecto profiláctico sobre el animal, incluyendo seres humanos, así como los principios terapéuticamente activos que tienen un efecto de aliviar, reducir o incluso eliminar de manera completa un síntoma, o una causa o una consecuencia de una enfermedad, tal como dolor, hinchazón o inflamación o una enfermedad del animal, incluyendo ser humano. Por ejemplo, el principio activo farmacéutico puede incluir amplias clases de compuestos normalmente administrados en el cuerpo. Por ejemplo, estos principios activos farmacéuticos incluyen, pero no se limitan a, antiinfecciosos (incluyendo antibióticos, antivirales, fungicidas, escabicidas o pediculicidas); antisépticos (por ejemplo, cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, gluconato de clorhexidina, acetato de mafenida, cloruro de metilbenzetonio, nitrofurazona, nitromersol y similares); analgésicos y combinaciones analgésicas; anoréxicos; antihelmínticos, antiartríticos, agentes antiasmáticos; anticonvulsivos; antidepresivos; agentes antidiabéticos; antidiarreicos; antihistaminas; agentes antiinflamatorios, preparaciones

- antimigrañas; antieméticos; antineoplásicos; fármacos antiparkinsonianos; antipurínicos; antipsicóticos; antipiréticos, antiespasmódicos; anticolinérgicos; simpaticomiméticos; derivados de xantina; preparaciones cardiovasculares que incluyen bloqueadores de los canales de potasio y calcio; beta-bloqueadores; alfa-bloqueadores y antiarrítmicos; antihipertensivos; diuréticos y antiuréticos; vasodilatores que incluyen vasodilatores coronarios, periféricos y cerebrales generales; estimulantes del sistema nervioso central; vasoconstrictores; preparaciones para la tos y el resfriado, incluyendo descongestivos; hormonas y esteroides (por ejemplo, estrógenos, progestinas, andrógenos, adrenocorticoides, corticosteroides y similares); hipnóticos; inmunosupresores; relajantes musculares; parasimpaticolíticos; psicoestimulantes; sedantes y tranquilizantes, narcóticos (por ejemplo, morfina, meperidina, codeína y similares), anestésicos locales (por ejemplo, anestésicos locales de tipo amida o anilida tales como bupivacaína, dibucaína, mepivacaína, procaína, lidocaína, tetracaína y similares); agentes antieméticos (por ejemplo, ondansetrón, granisetron, tropisetron, metoclopramida, domperidona, escopolamida y similares); agentes antiangiogénicos (por ejemplo, combrestatina, contortrostatina, anti-VEGF y similares), polisacáridos, inmunomoduladores, compuestos antitrombogénicos, fármacos anticlaudicación, fármacos antiateroscleróticos, antihistaminas, fármacos antineoplásicos (por ejemplo, mecloretamina, ciclofosfamida, fluorouracilo, tioguanina, carmustina, lomustina, melfalán, clorambucilo, estreptozocina, metotrexato, vincristina, bleomicina, vinblastina, vindesina, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina, tamoxifeno, paclitaxel, epirubicina, mitomicina C, cisplatino, carboplatino, y similares y fotosensibilizadores usados en terapia fotodinámica, fármacos vasculares, fármacos oftálmicos, aminoácidos, vitaminas, neurotransmisores, neurohormonas, moléculas de señalización, medicamentos psicoactivos, fármacos sintéticos, fármacos semisintéticos, fármacos naturales y sustancias derivadas de éstos, o combinaciones de los anteriores. El principio activo farmacéutico también puede ser un producto biológico incluyendo, pero sin limitarse a, proteínas (recombinantes), proteínas y péptidos pegilados (por ejemplo, insulina, eritropoyetina, exenatida, péptido similar al glucagón de tipo 1, proteínas morfogénicas (por ejemplo, proteínas morfogénicas óseas, factores de crecimiento transformantes, factores de crecimiento de fibroblastos, factores de necrosis tumoral), antagonistas de los receptores (por ejemplo, antagonista del receptor de interleucina-1), proteínas anticancerosas (por ejemplo, neocarzinostatina, L-asparaginasa, interleucina-2, bevacizumab y otros agentes anti-VEGF), vacunas profilácticas, vacunas terapéuticas, materiales genéticos (por ejemplo, secuencias de ácido nucleico, polinucleótidos, oligonucleótidos (antisentido), plásmidos, ADN, ARN, ARNip, microARN), aptómeros, enzimas, antígenos, anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, virus, materiales basados en virus, células, subestructuras celulares, etc.).
- Profármacos, metabolitos, derivados, productos modificados químicamente *in-vivo* o *in-vitro*, productos modificados enzimáticamente *in-vivo* o *in-vitro* y productos de degradación terapéuticamente activos de los principios terapéuticamente activos descritos en el presente documento se incluyen en el alcance de la invención.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de fármacos inmunomodificadores, fármacos antiinflamatorios o factores de crecimiento.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de fármacos inmunomodificadores, por ejemplo ciclosporina, tacrolímus (FK-506), sirolímus o rapamicina.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de fármacos antiinflamatorios esteroideos, por ejemplo prednisona, prednisolona, triamcinolona, clobetasol o betametasona.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de fármacos antiinflamatorios no esteroideos, por ejemplo aspirina, diclofenaco, piroxicam, meloxicam, ibuprofeno o un inhibidor de COX-2 selectivo, por ejemplo celecoxib, valdecoxib, etoricoxib o rofecoxib.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de agentes antineoplásicos, por ejemplo bevacizumab, tamoxifeno o interleucina-2.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de agentes antivirales, por ejemplo aciclovir u oseltamivir.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de agentes antibacterianos, por ejemplo amoxicilina.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de agentes antidiabéticos, por ejemplo insulina, péptido similar al glucagón de tipo 1 y exenatida.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de vacunas.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de agentes oftálmicos, por ejemplo triamcinolona y bevacizumab.
- Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo eficaz contra formas de enfermedades neurodegenerativas tales como apomorfina, rivastigmina, pramipexol, pioglitazona, memantina y safinamida

Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo elegido del grupo de productos biológicos incluyendo, pero sin limitarse a, factores de crecimiento que son muy adecuados para su aplicación en traumatología y, en particular, en la prevención o el tratamiento de enfermedades de discos intervertebrales, o cartílago, o hueso. Los ejemplos de tales factores de crecimiento incluyen, pero no se limitan a, factor de crecimiento transformante 3, factor de crecimiento de fibroblastos 18, proteína osteogénica 1, proteína morfogénica ósea 2, proteína morfogénica ósea 6, proteína morfogénica ósea 7, antagonista del receptor de interleucina-1.

Preferiblemente, el principio activo pertenece a la clase de hormonas de crecimiento humanas y sus derivados biosimilares, que pueden aplicarse en trastornos tanto de crecimiento infantil como adulto, mantenimiento de musculatura suficiente y para aplicaciones antienviejimiento.

Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo eficaz contra la inflamación o las infecciones microbianas del oído interno y sus tejidos de conexión (enfermedades del oído intratimpánicas).

Preferiblemente, el principio activo es un principio terapéuticamente activo eficaz contra formas de diabetes, por ejemplo insulina y péptido similar al glucagón de tipo 1, y sus derivados tales como exendina-4 y liraglutida.

Para el principio activo que es soluble en agua, el fármaco tiene preferiblemente una solubilidad en agua de al menos 20 µg/ml, por ejemplo de al menos 100 µg/ml, por ejemplo de al menos 500 µg/ml, por ejemplo de al menos 1.000 µg/ml, por ejemplo de al menos 5.000 µg/ml en agua, medida a 20°C y a presión atmosférica (1 bar).

Los ejemplos de principios activos solubles en agua incluyen moléculas pequeñas (de hasta 5.000 Da), moléculas de tamaño medio (de hasta 10.000 Da), pero también moléculas grandes (de al menos 10.000 Da), tales como proteínas. Estos agentes activos solubles en agua pueden sintetizarse químicamente, pero también pueden ser un producto biológico incluyendo, pero sin limitarse a, péptidos y proteínas (recombinantes) (por ejemplo, insulina, eritropoyetina, exenatida, péptido similar al glucagón de tipo 1), proteínas morfogénicas (por ejemplo, proteínas morfogénicas óseas, factores de crecimiento transformantes, factores de crecimiento de fibroblastos, factores de necrosis tumoral), antagonistas de los receptores (por ejemplo, antagonista del receptor de interleucina-1), proteínas anticancerosas (por ejemplo, neocarzinostatina, L-asparaginasa, interleucina-2, bevacizumab y otros agentes anti-VEGF), vacunas profilácticas, vacunas terapéuticas, materiales genéticos (por ejemplo, secuencias de ácido nucleico, polinucleótidos, oligonucleótidos (antisentido), plásmidos, ADN, ARN, ARNip, microARN), aptómeros, enzimas, antígenos, anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, virus, materiales basados en virus, células, subestructuras celulares, etc.).

Por tanto, la invención también se refiere a una composición según la invención, en la que el principio activo es un principio terapéuticamente activo seleccionado del grupo de fármacos solubles en agua, es decir fármacos que tienen una solubilidad en agua de al menos 20 µg/ml tal como se determina usando el método descrito en el presente documento.

La invención también se refiere a una composición, en la que la composición comprende además nanopartículas y/o micropartículas (tales como liposomas y microesferas) partículas que contienen cualquiera de los principios activos farmacéuticos tal como se describió anteriormente.

Los principios activos farmacéuticos incluyen, pero no se limitan a, nutrientes, productos farmacéuticos (entidades moleculares pequeñas), proteínas y péptidos, vacunas, materiales genéticos (tales como polinucleótidos, oligonucleótidos, plásmidos, ADN y ARN), agentes de diagnóstico, agentes de obtención de imágenes, enzimas, secuencias de ácido nucleico, antígenos, anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, virus, materiales basados en virus, células, subestructuras celulares, factores de crecimiento, antibióticos, compuestos antiinflamatorios, inmunomoduladores, compuestos antitrombogénicos, fármacos antitrombóticos, fármacos antiarrítmicos, fármacos antiateroscleróticos, antihistaminas, fármacos antineoplásicos, fármacos vasculares, fármacos oftálmicos, aminoácidos, vitaminas, hormonas, neurotransmisores, neurohormonas, enzimas, moléculas de señalización, medicamentos psicoactivos, fármacos sintéticos, fármacos semisintéticos, fármacos naturales y sustancias derivados de éstos, o combinaciones de los anteriores.

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

Los principios activos farmacéuticos pueden usarse para administración sostenida en muchas enfermedades y estados diferentes en seres humanos y animales.

Además, los polímeros de formación de depósitos se reabsorberán completamente después de haber completado su función. Esto es especialmente importante en la aplicación en el área de los discos intervertebrales, en la que hay menos actividad metabólica.

En todavía otra realización, el principio activo farmacéutico es un agente para evitar, controlar, suprimir o erradicar

enfermedades infecciosas.

Un principio activo farmacéutico puede estar presente en la composición o emulsión polimérica en una cantidad del 0,01 al 15% en peso en relación al peso total de la composición o emulsión. Preferiblemente, los principios activos farmacéuticos están presentes en una cantidad del 0,02 al 10% en peso, más preferiblemente en una cantidad del 0,05 al 8% en peso.

La invención también se refiere a una composición para su uso como medicamento, para su uso en terapia, cirugía o diagnóstico *in vivo*.

La invención también se refiere al uso de la composición según la invención o la composición farmacéutica según la invención para formar materia blanda en un cuerpo animal o humano después de la inyección.

La invención también se refiere al uso de la composición según la invención o la composición farmacéutica según la invención para formar un depósito en un cuerpo animal o humano después de la inyección.

La invención también se refiere al uso de la composición según la invención o la composición farmacéutica según la invención como producto sanitario.

La invención también se refiere a un procedimiento para preparar una composición farmacéutica, que comprende las etapas de mezclar los componentes a), b), c) y un principio activo farmacéutico.

Ingeniería de tejidos

Las aplicaciones de dispositivos de ingeniería de tejidos que comprenden la composición según la presente invención incluyen, pero no se limitan a, crecimiento o reparación de nervios, crecimiento o reparación de cartílagos, crecimiento o reparación de huesos, crecimiento o reparación de músculos, crecimiento o reparación de piel, reparación de glándulas secretoras, reparación oftálmica. Debe señalarse que la materia blanda puede usarse como tal o como parte de un implante, un andamio o una estructura más grande.

La composición según la invención también puede usarse como productos de relleno de huecos temporales en caso de traumatismo significativo, para evitar la adhesión de tejidos dañados y formación de tejido cicatricial mientras que o bien se espera o bien no la cirugía correctiva y reconstructiva. El relleno de huecos puede realizarse fácilmente inyectando la composición según la invención. Otros beneficios de usar dicha composición según la invención como productos de relleno de huecos pueden incluir, pero no se limitan a: evitar la contaminación del exterior, evitar la infección, evitar la necrosis o alteración de tejido circundante, inducir la formación de tejido específico (hueso, cartílago, músculo, nervio, piel, etc.), ayudar a mantener la integridad estructural de los tejidos circundantes por sí mismos o mediante la combinación con otros andamios o estructuras conocidos, atrapar moléculas naturales o extrañas específicas.

La composición según la invención también puede usarse como productos de relleno dérmico biorreabsorbibles.

Aunque la invención se ha descrito en detalle con fines de ilustración, se entiende que tal detalle es únicamente para ese fin y puede realizarse variaciones en la misma por los expertos en la técnica sin apartarse del espíritu y alcance de la invención tal como se define en las reivindicaciones.

Se observa además que la invención se refiere a todas las posibles combinaciones de características descritas en el presente documento, en particular se prefieren las combinaciones de características que están presentes en las reivindicaciones.

Se observa además que el término "que comprende" no excluye la presencia de otros elementos. Sin embargo, debe entenderse que una descripción sobre un producto que comprende determinados componentes también da a conocer un producto que consiste en estos componentes. De manera similar, también debe entenderse que una descripción sobre un procedimiento que comprende determinadas etapas también da a conocer un procedimiento que consiste en estas etapas.

La invención se explicará a continuación por medio de los siguientes ejemplos, sin estar limitada a los mismos.

Figuras

La figura 1 muestra la liberación de lidocaína-HCl de las formulaciones de IVR con un copolímero tribloque biorreabsorbible lineal y sin tensioactivo (véase el experimento 4, comparativo).

La figura 2 muestra un ejemplo de liberación de lisozima a partir de formulaciones preparadas con Pluronic 10R5 como tensioactivo (experimento 6).

La figura 3 muestra la liberación de lidocaína-HCl en presencia de Pluronic 17R4 como tensioactivo.

La figura 4 muestra el perfil de liberación de lidocaína-HCl a partir de emulsiones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG200(cap₇₅-lac₂₅)_{4,0}-C3.

La figura 5 muestra el perfil de liberación de lidocaína-HCl a partir de emulsiones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG200(cap₅₀-lac₅₀)_{5,0}-C3.

La figura 6 muestra el perfil de liberación de lidocaína-HCl a partir de emulsiones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG400(cap₅₀-lac₅₀)_{3,0}-C3.

La figura 7 muestra el perfil de liberación de lidocaína-HCl a partir de emulsiones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3 con tensioactivos diferentes.

La figura 8 muestra la liberación de lidocaína-HCl mientras que también se usa un tensioactivo comercialmente disponible (Pluronic 17R4) (66).

La figura 9 ilustra la liberación *in vitro* de lisozima a partir de formulaciones de PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3 con y sin un tensioactivo polimérico.

La figura 10 ilustra el efecto de un tensioactivo para las formulaciones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG200(cap₅₀-lac₅₀)_{5,0}-C3 y PEG400(cap₅₀-lac₅₀)_{3,0}-C3.

La figura 11 muestra el perfil de liberación de lisozima a partir de varias formulaciones diferentes.

La figura 12 muestra el efecto de tensioactivos sobre la liberación de lisozima (formulaciones 112, 113 y 114).

La figura 13 muestra la liberación de IgG de las formulaciones 106 y 111.

La figura 14 muestra la liberación de lisozima según los experimentos 86 y 88.

La figura 15 muestra la IVR de la formulación 115, directamente después de la preparación y después de 2 semanas de almacenamiento.

La figura 16 muestra la IVR de IgG a partir de formulaciones de PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3 con dos tensioactivos (B).

La figura 17 muestra la IVR de lisozima a partir de formulaciones de PEG600(cap₅₀-diox₅₀)_{4,0}-2-n-HD con dos tensioactivos (B).

La figura 18 muestra la IVR de combinaciones de copolímero tribloque hidrófobo cargadas con IgG.

La figura 19 muestra un depósito de una composición farmacéutica en cadáver de rata (experimento 21).

Ejemplos

Materiales:

Se compraron tolueno, dietil éter y *n*-pentano de Boom (Meppel, Países Bajos). Se compraron ϵ -caprolactona, trietilamina, anhídrido acético y anhídrido propiónico de Acros Organics (Nueva Jersey, EE.UU.) y PEG200, PEG400, PEG600, PEG1000, PEG1500, anhídrido hexanoico, Pluronic 17R4, Pluronic 10R5, Kolliphor P407, Kolliphor P188, PVP (40k) y 2-etilhexanoato de estaño (II) de Sigma Aldrich (St. Louis, EE.UU.). Se compró anhídrido láurico de ABCR (Karlsruhe, Alemania). La lisozima y la lidocaína-HCl de los API se compraron de Sigma Aldrich (St. Louis, EE.UU.). Los monómeros L-lactida, D-lactida y glicolida se compraron de Purac (Gorinchem, Países Bajos). Se compró p-Dioxanona de HBCChem, Inc. (EE.UU.). Se compró IgG de Sanquin (Países Bajos).

Métodos de prueba:

Los pesos moleculares se determinaron mediante SEC usando un sistema de Agilent serie 100 equipado con una precolumna (PLgel 5 μ m, 7,5 x 50 mm) y tres columnas Varian (PLgel, 5 μ m, 500Å, 300 x 7,5 mm). La detección se realizó con un detector de índice de refracción. Se usaron patrones de PEG de pesos moleculares diferentes como referencia. El eluyente fue THF, la velocidad de elución fue 1,0 ml/min. La temperatura de la columna fue 35°C. La concentración de las muestras fue aproximadamente 4 mg/ml en THF y el volumen de inyección fue 50 μ l. M_n del polímero es el peso molecular promedio en número del polímero en relación a los patrones de PEG y medido en THF.

Las propiedades térmicas de los polímeros se determinaron mediante DSC (aparato TA Instruments DSC Q2000).

Se enfriaron muestras de aproximadamente 10 mg en cubetas de aluminio cerradas desde temperatura ambiente hasta -90°C y se mantuvieron isotérmicas durante 5 minutos, después de lo cual se calentaron hasta 70°C con una velocidad de calentamiento de 10°C/min (modulada +/- 1°C cada 60 segundos). A continuación, se enfriaron las muestras hasta -90°C con una velocidad de enfriamiento de 5°C/min (modulada +/- 1°C cada 60 segundos), seguido por un segundo ciclo de calentamiento hasta 70°C con una velocidad de calentamiento de 2°C/min (modulada +/- 1°C cada 60 segundos). Usando la segunda serie de calentamiento, se determinó la temperatura de transición vítrea (T_g) como el punto medio de cambio de capacidad térmica y la temperatura de fusión (T_f) como la temperatura máxima del área endotérmica.

Las mediciones de viscosidad se llevaron a cabo en un dispositivo TA Instruments AR2000Ex con una configuración de placa-cono, cono tipo 40 mm, ángulo 1:00:00 grados:min:s. Durante la medición de la viscosidad, se mantuvo la temperatura constante o bien a 20°C o bien a 37°C, con una tasa de cizallamiento de 5 s^{-1} durante 300 s. Se calcularon los valores de viscosidad promedio usando un software (software Trios, TA Instruments). De esta manera, se determinó la viscosidad dinámica (de cizallamiento) promedio del polímero.

Síntesis

Procedimiento de síntesis general de copolímeros tribloque hidrófobos:

En un matraz de fondo redondo de tres bocas (500 ml) equipado con una trampa Dean Stark y un condensador, se introdujeron PEG200 (20,6 g; 103 mmol), L-lactida (51,7 g; 359 mmol), ϵ -caprolactona (51,5 g; 452 mmol) y 250 ml de tolueno y, mientras se agitaba, se calentó a reflujo bajo una atmósfera de nitrógeno. Se secó de manera azeotrópica la disolución eliminando por destilación 110 ml de tolueno/agua. A continuación, se enfrió hasta <90°C y se añadió octoato de estaño (0,74 g; 1,8 mmol). Se llevó a cabo la polimerización de apertura de anillo sometiendo a reflujo la mezcla durante la noche bajo una atmósfera de nitrógeno. Posteriormente, se dejó enfriar la disolución hasta temperatura ambiente.

Procedimientos de modificación:

Modificación con grupo de extremo propionilo; PEG200(cap_{50} - lac_{50}) $_{5,0}$ -C3

A la mezcla de reacción, se le añadieron Et_3N (52,5 g; 515 mmol; 5 eq.) y anhídrido propiónico (40 g, 310 mmol, 3 eq.). Se sometió a reflujo la mezcla resultante, mientras se agitaba, durante 1 hora.

Procedimiento de tratamiento final general:

Se vertió la mezcla de reacción en un embudo de decantación que contenía n-pentano (600 ml). Después de agitar la mezcla, se depositó el polímero en el fondo del embudo y pudo recogerse. Se secó el polímero obtenido a presión reducida durante 2 horas a 60°C, seguido por el secado adicional usando un evaporador rotatorio (<0,2 mbar) a 90°C durante al menos 48 horas.

Usando este método tal como se describió anteriormente, se preparó una biblioteca de polímeros. Se realizaron variaciones usando bloques de PEG diferentes, cambiando el tipo de monómeros usados en el bloque B y la longitud del bloque B, y variando los grupos de extremo. Los resultados se enumeran en la tabla 1.

Procedimiento de síntesis general de tensioactivo polimérico (B):

En un matraz de fondo redondo de tres bocas (500 ml) equipado con una trampa Dean Stark y un condensador, se introdujeron PEG1500 (10 g; 6,7 mmol), L-lactida (11 g; 76 mmol), ϵ -caprolactona (11 g; 96 mmol) y 210 ml de tolueno y, mientras se agitaba, se calentó a reflujo bajo una atmósfera de nitrógeno. Se secó de manera azeotrópica la disolución eliminando por destilación 110 ml de tolueno/agua. A continuación, se enfrió hasta <90°C y se añadió octoato de estaño (0,2 g; 0,49 mmol). Se llevó a cabo la polimerización de apertura de anillo sometiendo a reflujo la mezcla 36 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Posteriormente, se dejó enfriar la disolución hasta temperatura ambiente.

Procedimientos de modificación:

Modificación con grupo de extremo acetilo; PEG1500(cap_{50} - lac_{50}) $_{2,2}$ -C2

A la mezcla de reacción, se le añadieron Et_3N (3,4 g; 33 mmol; 5 eq.) y anhídrido acético (2,0 g, 20 mmol, 3 eq.). Se sometió a reflujo la mezcla resultante, mientras se agitaba, durante 1 hora.

Procedimiento de tratamiento final general:

Se vertió la mezcla de reacción en un embudo de decantación que contenía n-pentano/dietil éter (150/150 ml). Después de agitar la mezcla, se depositó el polímero en el fondo del embudo y pudo recogerse. Se secó el polímero

obtenido a presión reducida durante 2 horas a 60°C, seguido por el secado adicional usando un evaporador rotatorio (<0,2 mbar) a 80°C durante al menos 48 horas.

- 5 Usando este método tal como se describió anteriormente, se preparó una serie de polímeros. Se realizaron variaciones usando diferentes bloques de PEG, cambiando el tipo de monómeros usados en el bloque Bs y la longitud del bloque Bs, y variando los grupos de extremo. Los resultados se enumeran en la tabla 6.

Síntesis de un copolímero dibloque (As-Bs-Rs) como tensioactivo polimérico

- 10 Se transfirieron MeO-PEG (pm=2000 g/mol; 6 g; 3 mmol), ε-caprolactona (4,8 g; 42 mmol), L-lactida (1,2 g; 8,3 mmol) y tolueno (250 ml) a un matraz de fondo redondo de tres bocas (500 ml). Se equipó el matraz con una configuración Dean-Stark y un enfriador de agua. Se agitó la mezcla y se calentó hasta reflujo, se recogieron aproximadamente 100 ml con el Dean-Stark y se enfrió la mezcla resultante hasta temperatura ambiente. Se añadió octoato de estaño (0,033 g; 0,08 mmol) y se agitó la mezcla y se calentó hasta reflujo durante 48 horas, seguido por
15 la adición de anhídrido acético (0,6 ml; 6,4 mmol) y Et₃N (1,2 ml; 4,3 mmol). Se sometió a reflujo la mezcla durante 2 horas, se enfrió hasta temperatura ambiente y se precipitó en *n*-pentano (750 ml). Se recogió el polímero y se secó durante la noche a 80°C a presión reducida (<1 mbar).

20 Preparación de las emulsiones con copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible con/sin un tensioactivo polimérico y un API.

Método de preparación 1 de formulación

- 25 Se preparó una disolución madre de tensioactivo al 10% en peso con API disolviendo el tensioactivo polimérico (100 mg) y API (100 mg) en PBS (800 µl, 50 mM pH 7,4). Se preparó la emulsión mezclando el copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible (1,8 g) con la disolución madre de tensioactivo/API (200 µl), usando una espátula. Se realizó un mezclado adicional usando un mezclador Ultra-Turrax a 12.000 rpm durante 2 minutos. Las concentraciones finales de tensioactivo y API fueron ambas del 1% en peso.

30 *Método de preparación 2 de formulación*

- Se calentó una mezcla de copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible (1,8 g) y tensioactivo polimérico (20 mg) a 60°C y se dejó agitar a temperatura ambiente durante una hora usando un mezclador de rodillos. Se añadió la disolución madre de API (180 µl) en PBS (concentración de 111 mg/ml, 50 mM, pH 7,4) y se mezcló usando una
35 espátula. Se preparó la emulsión final mediante mezclado usando un dispositivo Ultra-Turrax a 12.000 rpm durante 2 minutos. Las concentraciones finales de tensioactivo y API fueron ambas del 1% en peso.

Método de preparación 3 de formulación

- 40 Se preparó una disolución madre de tensioactivo polimérico al 10% en peso con API disolviendo el tensioactivo (100 mg) y API (100 mg) en PBS (800 µl, 50 mM pH 7,4). Finalmente, se preparó la emulsión mezclando el copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible (1,8 g) con la disolución madre de tensioactivo/API (200 µl), usando una espátula. Se realizó un mezclado adicional usando un mezclador de rodillos durante la noche en condiciones ambientales. Las concentraciones finales de tensioactivo y API fueron ambas del 1% en peso.

45 *Método de preparación 4 de formulación*

- Se preparó una disolución madre al 10% en peso con API disolviendo el API (100 mg) en PBS (900 µl, 50 mM pH 7,4). Se mezcló el copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible (1,8 g) con la disolución madre de API
50 (200 µl), usando una espátula. Se preparó la emulsión final mediante el mezclado usando un dispositivo Ultra-Turrax a 12.000 rpm durante 2 minutos. La concentración final de API fue del 1% en peso.

Método de preparación 5 de formulación (sólo para IgG)

- 55 Se mezclaron una disolución madre de tensioactivo al 20% en peso, Nanogam® (IgG 50 mg/ml) y a veces agua adicional durante 2 horas a 4°C usando un mezclador de rodillos. Se añadió una cantidad conocida al copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible y se mezcló usando una espátula. Se realizó un mezclado adicional usando un dispositivo Ultra-Turrax a 12.000 rpm durante 1 minuto.

60 *Método de preparación 6 de formulación (sólo para tensioactivos comercialmente disponibles)*

- Se preparó una disolución de tensioactivo al 10% en peso disolviendo tensioactivo (100 mg) en PBS (900 µl, 50 mM pH 7,4). Se preparó la emulsión mezclando el copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible (1,8 g) con la disolución de tensioactivo (200 µl), usando una espátula. Se añadió el API (aproximadamente 20 mg), seguido de
65 nuevo por el mezclado con una espátula. Se realizó el mezclado final usando el dispositivo Ultra-Turrax a 12.000 rpm durante 2 minutos. Las concentraciones finales de tensioactivo y API fueron ambas del 1% en peso.

rpm durante 2 minutos. Las concentraciones finales de tensioactivo y API fueron ambas del 1% en peso.

Método de preparación 7 de formulación

- 5 Se mezcló una disolución de dibloque al 20% en peso en PBS con una disolución de lisozima (40 mg/ml) en PBS. Se mezcló esta disolución madre que contenía lisozima/dibloque (0,2 g) con el copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible (1,8 g) usando un dispositivo Ultra-Turrax a 4.000 rpm durante 1 minuto. La concentración final fue del 0,2% de lisozima, el 1% de dibloque y el 9% de PBS.

10 *Método de preparación 8 de formulación*

Fase acuosa:

- 15 En primer lugar, se preparó ACEMIX al 20% en peso disolviendo dos tensioactivos poliméricos (PEG1500(cap₈₀-lac₂₀)_{2,2}-C2 (0,75 g) y PEG1500(cap₅₀-lac₅₀)_{2,2}-C2 (0,25 g)) en PB (4 ml).

A ACEMIX (1,0 g) se le añadió Nanogam (0,8 g; IgG 50 mg/ml) y PB (0,2 g). Se mezcló la disolución en un mezclador de balancín y rodillo durante 1 hora a 2-8°C para obtener la fase acuosa final.

20 *Formulaciones de emulsión de mezcla:*

- 25 Se pesaron dos copolímeros tribloque (A) hidrófobos en un vial y se mezclaron en un mezclador de balancín y rodillo durante un par de horas a temperatura ambiente. A continuación, se añadió una cantidad calculada de la fase acuosa preparada y se mezcló usando una espátula seguido por el mezclado adicional usando el dispositivo Ultra Turrax durante 1 minuto y 4.000 rpm a temperatura ambiente.

Las formulaciones de la mezcla resultantes se almacenaron en el frigorífico (2-8°C).

Configuración de liberación *in vitro* (IVR)

- 30 Se transfirió una cantidad conocida de formulación (aproximadamente 200 mg) a tubos de vidrio (15 ml), seguido por la adición de 2 ml de PBS (pH 7,4; 52 mM; 260 mOsm/kg; calentado previamente a 37°C). Se colocaron los tubos en una incubadora con agitación a 37°C.
- 35 Se tomaron muestras de liberación a diversos puntos de tiempo. Para el muestreo, se retiró 1 ml de tampón del sobrenadante y se reemplazó por PBS calentado previamente. Se analizaron las muestras para determinar su contenido de API usando cromatografía líquida de fase inversa.

Nomenclatura

- 40 En la sección experimental se han usado abreviaturas para el copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible y tensioactivo polimérico.

- 45 Por ejemplo, PEG200(cap₅₀-lac₅₀)_{5,0} significa un copolímero tribloque que tiene un bloque A compuesto de PEG, que tiene un peso molecular promedio en número de 200 Da, y en cada lado del bloque A un bloque B, en el que el peso total de los dos bloques B es igual a 5 veces el peso molecular del bloque A, y en el que cada bloque B comprende ε-caprolactona y lactida en una razón 50/50 (peso). En este caso, el copolímero tribloque RBABR comprende en promedio un bloque A que consiste en PEG que tiene un Mn de 200 Da, y dos bloques B, teniendo cada uno un Mn de aproximadamente 500 Da y que contienen el 50% en peso de ε-caprolactona y el 50% en peso de lactida. El grupo de extremo R es H en este caso.

En casos en los que R no es H, la longitud de la cadena de carbonos se ha añadido a la fórmula.

- 55 Por ejemplo, PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C6 indica un copolímero tribloque RBABR que tiene un bloque A que consiste en PEG que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de 600 Da, y dos bloques B teniendo cada uno un peso molecular promedio en número (Mn) de aproximadamente 600 Da (1200/2) y en cada lado un grupo R de C6.

Experimento 1: preparación de copolímeros tribloque biorreabsorbibles hidrófobos.

- 60 Se ha preparado un gran número de copolímeros tribloque biorreabsorbible RBABR según el procedimiento de síntesis general. Se han determinados las propiedades térmicas y los pesos moleculares. Los resultados se enumeran en la tabla 1.

n.º	Copolímero tribloque (A)	M _{n, PE}	PE/PEG	m ₁ /m ₂	Grado de modificación	M _{n, polímero}	PDI	Propiedades térmicas	
								T _g (°C)	T _f (°C)
1	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{6.0}	1000	5.0	1	---	1337	1.27	-45	----
2	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C3	1000	5.0	1	2	1453	1.23	-45	----
3	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C6	1000	5.0	1	2	1518	1.23	-51	----
4	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C12	1000	5.0	1	2	1570	1.23	-53	----
5	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{7.5}	1500	7.5	1	---	1840	1.33	-40	----
6	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{7.5} -C3	1500	7.5	1	2	1850	1.38	-39	----
7	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{7.5} -C6	1500	7.5	1	2	1972	1.36	-47	----
8	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1.0}	2000	10	1	---	2659	1.37	-37	----
9	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1.0} -C3	2000	10	1	2	2275	1.50	-36	----
10	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1.0} -C6	2000	10	1	2	2493	1.44	-40	----
11	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1.0}	600	1.0	1	---	1206	1.10	-57	-5
12	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1.0} -C3	600	1.0	1	2	1255	1.10	-58	-5
13	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1.0} -C6	600	1.0	1	2	1387	1.09	-63	-8
14	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0}	1200	2.0	1	---	1767	1.20	-51	----
15	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C3	1200	2.0	1	2	1850	1.20	-51	----
16	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C6	1200	2.0	1	2	1989	1.20	-55	----
17	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{4.0}	2400	4.0	1	---	3254	1.32	-40	----
18	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{4.0} -C3	2400	4.0	1	2	3432	1.31	-40	----
19	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{4.0} -C6	2400	4.0	1	2	3182	1.36	-45	----
20	PEG1000(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{0.5}	500	0.5	1	---	1520	1.06	-48	25
21	PEG1000(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{0.5} -C3	500	0.5	1	2	1556	1.06	-53	22
22	PEG1000(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{0.5} -C6	500	0.5	1	2	1661	1.04	-62	15
23	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{5.0}	1000	5.0	3	---	1422	1.26	-62	1
24	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{5.0} -C3	1000	5.0	3	2	1487	1.27	-61	1
25	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{5.0} -C6	1000	5.0	3	2	1688	1.24	-66	-8
26	PEG200(cap ₂₅ -lac ₇₅) _{5.0}	1000	5.0	1/3	---	1277	1.24	-27	----
27	PEG200(cap ₂₅ -lac ₇₅) _{5.0} -C3	1000	5.0	1/3	2	1391	1.23	-25	----
28	PEG200(cap ₂₅ -lac ₇₅) _{5.0} -C6	1000	5.0	1/3	2	1514	1.20	-30	----
29	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{7.5} -C3	1500	7.5	3	2	1847	1.40	N.A.	N.A.
30	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{7.5} -C6	1500	7.5	3	2	2081	1.34	N.A.	N.A.
31	PEG200(cap ₅₀ -diox ₅₀) _{5.0}	1000	5.0	1	---	1300	1.22	-60	----
32	PEG200(cap ₅₀ -diox ₅₀) _{5.0} -C3	1000	5.0	1	2	1273	1.23	-58	----
33	PEG200(cap ₅₀ -diox ₅₀) _{5.0} -C6	1000	5.0	1	2	1245	1.17	-73	-4

Tabla 1: Propiedades de polímero

En la tabla 1, PEG200, PEG400, PEG600 y PEG1000 son polímeros de polietilenglicol con un peso molecular promedio en número de, respectivamente, 200 Da, 400 Da, 600 Da y 1000 Da.

5

M_{n,PE}: el peso molecular promedio en número de ambos bloques B juntos, tal como se calcula basándose en el peso molecular del bloque A.

Cap es una abreviatura para ε-caprolactona.

10

Lac es una abreviatura para L-lactida, D-lactida o DL-lactida. Si no se menciona de manera específica, se elige L-lactida por defecto.

Diox es una abreviatura de p-dioxanona

C3, C6 y C12 significan que el grupo R comprende, respectivamente, 3 (propionilo), 6 (hexanoílo) ó 12 (lauroílo) átomos de carbono.

PE/PEG: la razón en peso de poliéster con respecto a PEG (B/A) o (Bs/As).

m_1/m_2 : la razón del primer monómero con respecto al segundo monómero en el bloque B.

Grado de modificación: representa el número de grupos de extremo (R) alifáticos después de la modificación del polímero. Cuando el grado de modificación se indica como --, significa que R = H en la fórmula RBABR. Cuando el grado de modificación es 2, significa que R es un residuo de ácido graso que comprende un número de átomos de C.

$M_{n, \text{polímero}}$: peso molecular promedio en número del polímero tal como se determina con GPC.

PDI: índice de polidispersidad según GPC.

T_g : temperatura de transición vítrea (punto medio) según DSC.

T_f : temperatura de fusión según DSC.

N.A.: no analizado.

Experimento 2: mediciones de viscosidad de polímeros.

Se ha medido la viscosidad de los polímeros enumerados en la tabla 1 a 20°C y 37°C. Los resultados se enumeran en la tabla 2.

n.º	Copolímero tribloque (A)	Viscosidad (Pa.s)	
		A 20°C	A 37°C
1	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0}	7.6	1.6
2	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C3	6.2	1.2
3	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C6	4.8	1.1
4	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C12	4.0	1.0
5	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{7.5}	19	3.0
6	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{7.5} -C3	16	3.2
7	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{7.5} -C6	7.3	2.4

8	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) ₁₀	60	9.8
9	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) ₁₀ -C3	53	8.8
10	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) ₁₀ -C6	36	7.4
11	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1.0}	1.3	0.4
12	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1.0} -C3	0.9	0.3
13	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1.0} -C6	0.5	0.3
14	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0}	6.3	1.4
15	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C3	5.1	1.3
16	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C6	3.9	1.1
17	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{4.0}	56	10.3
18	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{4.0} -C3	36	9.2
19	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{4.0} -C6	33	7.2
20	PEG1000(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{0.5}	117	0.4
21	PEG1000(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{0.5} -C3	2.0	0.3
22	PEG1000(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{0.5} -C6	3.2	0.3
23	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{5.0}	1.9	0.6
24	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{5.0} -C3	1.8	0.6
25	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{5.0} -C6	1.6	0.4
26	PEG200(cap ₂₅ -lac ₇₅) _{5.0}	92	7.7
27	PEG200(cap ₂₅ -lac ₇₅) _{5.0} -C3	61	6.6
28	PEG200(cap ₂₅ -lac ₇₅) _{5.0} -C6	38	5.0
29	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{7.5} -C3	4.3	N.A.
30	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{7.5} -C6	2.8	N.A.
31	PEG200(cap ₅₀ -diox ₅₀) _{5.0}	2.1	0.63
32	PEG200(cap ₅₀ -diox ₅₀) _{5.0} -C3	2.1	0.62
33	PEG200(cap ₅₀ -diox ₅₀) _{5.0} -C6	0.62	0.23

Tabla 2. Resultados de experimentos de reología

Tal como se muestra en la tabla 2, el grupo de extremo (C3, C6 o C12) tuvo un efecto significativo sobre la viscosidad. En general, los polímeros con grupo de extremo R = H muestran una viscosidad relativamente alta. Los polímeros con extremos ocupados por C3 tuvieron viscosidades más bajas y los polímeros modificados con C6 tuvieron la viscosidad más baja, en comparación con los no modificados (con R = H).

La composición del bloque B también es de gran importancia. Por ejemplo: un polímero con una composición de PEG200(cap₂₅-lac₇₅)_{5.0}-C3 tiene una viscosidad alta, mientras que cambiando la composición a PEG200(cap₇₅-

lac₂₅)_{5.0}-C3 dio como resultado un polímero con viscosidad muy baja. Se obtuvieron las viscosidades más bajas cuando ε-caprolactona es el componente principal del bloque de PE. Los inventores creen que esto está relacionado con la T_g más baja de las unidades monoméricas de ε-caprolactona en comparación con las unidades monoméricas más rígidas de lactato. El aumento de la temperatura hasta 37°C da como resultado polímeros menos viscosos.

Tal como se muestra en la tabla 1, los polímeros compuestos de PEG1000 tienen una temperatura de fusión alrededor de 20°C. Estos polímeros cristalizan en el frigorífico (4°C) e incluso a temperatura ambiente. La ocupación de extremos de estos polímeros disminuye la temperatura de fusión, pero no lo suficiente para evitar la cristalización. Sin embargo, los copolímeros pueden calentarse hasta 37°C antes de la inyección para "fundir" los dominios cristalinos de PEG. Si se prefiere, dichos copolímeros pueden enfriarse hasta temperatura ambiente de nuevo antes de la inyección sin que se produzca la cristalización inmediata y sin el aumento inmediato en la viscosidad.

Experimento 3 (comparativo): formulaciones de copolímeros tribloque biorreabsorbibles hidrófobos con agua.

Los API hidrófilos son poco solubles en el copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible solo. Para mejorar la solubilidad, se añade agua al polímero tribloque hidrófobo. Se prepararon las emulsiones con el 10% en peso de agua según el método de preparación 4.

n.º de formulación	n.º de método de preparación	copolímero tribloque hidrófobo	1 % en peso de API
62	4	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C3	Lidocaína-HCl
63	4	PEG400(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{3.0} -C3	
64	4	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C3	
65	4	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{4.0} -C3	
75	4	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C3	Lisozima
76	4	PEG400(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{3.0} -C3	
77	4	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C3	
78	4	PEG1000(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{0.5} -C3	

Tabla 3: Formulaciones con agua y API

En presencia de agua, los API se disuelven fácilmente en el copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible y se obtuvieron formulaciones blancas. Inmediatamente después del mezclado, se usó una parte de las emulsiones en un estudio de liberación *in vitro* (IVR). Se almacenó otra parte de las emulsiones en el frigorífico (2-8°C). Sin embargo, después de aproximadamente 24 horas, se separaron en fases todas las emulsiones almacenadas en el frigorífico en una fase acuosa (en la parte superior) y una fase polimérica.

n.º de formulación	n.º de método de preparación	Viscosidad (Pa.s)	
		A 20°C	A 37°C
62	4	2.3	0.52
63	4	3.3	0.73
64	4	2.1	0.57
65	4	0.68	0.22
75	4	2.8	1.0
76	4	0.96	0.20
77	4	2.0	0.52
78	4	0.33	0.14

Tabla 4: Viscosidad de las formulaciones preparadas

Todas las formulaciones tuvieron una viscosidad mucho menor que el copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible (A) solo.

5

Experimento 4 (comparativo): formulaciones de IVR de copolímero tribloque hidrófobo lineal con agua.

Se han sometido a prueba las formulaciones tal como se preparan en el experimento 3 (véase también la tabla 3 y 4) para determinar la liberación de lidocaína-HCl. Tal como se muestra en la figura 1, la liberación de lidocaína-HCl fue muy rápida con un alto estallido del 60% en las primeras 24 horas. La liberación de lisozima también fue rápida con una liberación acumulativa de aproximadamente el 43% después de 4 días.

10

Conclusión: los API hidrófilos son poco solubles en el copolímero tribloque hidrófobo lineal solo. Esto puede superarse mediante la adición de agua. Sin embargo, cuando se mezcla sólo agua con el copolímero tribloque hidrófobo, se forman emulsiones inestables. Lo que significa que, dentro de las 24 horas después de la preparación de las emulsiones, puede observarse una fase acuosa en la parte superior de la formulación. Como resultado, la liberación de API de estas emulsiones es relativamente rápida.

15

Experimento 5 (comparativo): preparación de formulaciones con tensioactivos cargadas con el 1% en peso de lisozima o lidocaína-HCl

20

Para estabilizar la emulsión y evitar que el agua se separe en una fase de la formulación, se usaron tensioactivos comercialmente disponibles. Se prepararon las formulaciones según el método de preparación 6 usando PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3 como copolímero tribloque hidrófobo. Se proporciona una visión general de los diversos tensioactivos en la tabla 5.

25

n.º de formulación	Tensioactivo	Viscosidad (Pa.s)		API
		20°C	37°C	
66	1% de Pluronic 17R4	3.4	0.93	Lidocaína-HCl
89	2% de Pluronic 17R4	2.3	1.6	Lisozima
90	1% de Pluronic 17R4	2.1	0.57	Lisozima
91	0,5% de Pluronic 17R4	2.3	0.62	Lisozima
92	2% de Kolliphor P407	3.7*	1.7*	Lisozima
93	1% de Kolliphor P407	2.9*	1.1*	Lisozima
94	0,5% de Kolliphor P407	2.5*	0.65*	Lisozima
95	2% de Pluronic 10R5	2.5	0.66	Lisozima
96	1% de Pluronic 10R5	2.3	0.61	Lisozima
97	0,5% de Pluronic 10R5	1.9	0.52	Lisozima
98	2% de Kolliphor P188	2.6	0.71	Lisozima
99	1% de Kolliphor P188	2.3	0.64	Lisozima
100	0,5% de Kolliphor P188	2.1	0.56	Lisozima
101	2% de PVP	2.7	0.73	Lisozima
102	1% de PVP	2.2	0.61	Lisozima
103	0,5% de PVP	2.2	0.62	Lisozima

Tabla 5: Conjunto de formulaciones con tensioactivos comercialmente disponibles, incluyendo mediciones de viscosidad

*: La viscosidad no era estable durante la medición completa.

**: Todas las formulaciones se basaron en el copolímero tribloque hidrófobo PEG600(cap_{50} - lac_{50})_{2,0}-C3 y se prepararon usando el método 6.

En presencia de agua y tensioactivo, los API se disuelven completamente en el copolímero tribloque hidrófobo biorreabsorbible y se obtienen formulaciones blancas. Directamente después del mezclado, se sometieron las formulaciones a un estudio de liberación *in vitro* (IVR).

Experimento 6 (comparativo): IVR de formulaciones con tensioactivos cargadas con el 1% en peso de lisozima

La figura 2 proporciona un ejemplo de liberación de lisozima de formulaciones preparadas con Pluronic 10R5 como tensioactivo. La liberación durante los primeros 3 días es del 50-60%, no se observó mucha retención usando este Pluronic 10R5 como tensioactivo. No se representa en una figura, pero todas las otras formulaciones preparadas con tensioactivos comercialmente disponibles proporcionaron perfiles de liberación casi idénticos. En todos los casos, se liberó el 40-70% de lisozima durante los primeros 3 días. Cuando se almacenaron en el frigorífico (2-8°C), las formulaciones parecían estables durante al menos 24 horas.

Experimento 7 (comparativo): IVR de formulaciones con tensioactivos cargadas con el 1% en peso de lidocaína-HCl

Tal como se mostró previamente en la figura 1, la formulación 64 proporciona un estallido muy alto en las primeras 24 horas. La adición de Pluronic 17R4 (formulación 66) como tensioactivo, dio como resultado una liberación en estallido ligeramente menor en las primeras 24 horas (figura 3).

En conclusión: el uso de los tensioactivos comercialmente disponibles, tal como se representa en la tabla 5, no dio como resultado una liberación prolongada de lisozima. Aunque las emulsiones obtenidas eran estables durante al menos 24 horas, la adición de los tensioactivos comercialmente disponibles no dio como resultado (mucho) más

retención del API.

Experimento 8: síntesis de tensioactivos poliméricos

- 5 Se prepararon los tensioactivos hechos a medida (indicados como tensioactivos poliméricos) tal como se representa en la tabla 6. Se preparó un conjunto de tensioactivos poliméricos según el procedimiento de síntesis general. Se han determinado las propiedades térmicas y los pesos moleculares y se enumeran en la tabla 6.

n.º	Composición de surfactante (B)	M _n , PE	PE/PEG	m1/m2	Grado de modificación	M _n , polímero	PDI	Propiedades térmicas	
								T _g (°C)	T _f (°C)
34	PEG1000(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C2	2000	2.0	1	2	2735	1.42	-60.4	15.3
35	PEG1000(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.0} -C2	2000	2.0	4	2	2630	1.30	-46.2	13.3
36	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.2} -C2	3300	2.2	1	2	4450	1.38	-46.5	15.1
37	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.2} -C2	3300	2.2	4	2	4605	1.50	-56.9	23.0
38	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{1.8} -C3	2700	1.8	4	2	4424	1.35	-56.3	21.6
39	PEG2000(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1.6} -C2	3200	1.6	1	2	5128	1.32	-48.1	27.5
40	PEG2000(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{1.6} -C2	3200	1.6	4	2	5190	1.35	-54.6	32.9
41	PEG1500(cap ₅₀ -diox ₅₀) _{1.8} -C2	2700	1.8	1	2	2884	1.28	-63.0	31.5
42	PEG1500(cap ₈₀ -diox ₂₀) _{1.8} -C2	2700	1.8	4	2	3825	1.42	N.A.	N.A.
43	PEG1500(cap ₇₀ -lac ₃₀) _{2.2} -C2	3300	2.2	2.3	2	N.A.	N.A.	-55.9	18.1
44	PEG1500(cap ₆₀ -lac ₄₀) _{2.2} -C2	3300	2.2	1.5	2	N.A.	N.A.	-49.5	20.2
45	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.0} -C2	3000	2.0	4	2	N.A.	N.A.	-54.7	21.2
46	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{1.8} -C2	2700	1.8	4	2	N.A.	N.A.	-56.3	21.3

Tabla 6: Síntesis de surfactantes poliméricos (B) lineales

- 10 Los tensioactivos poliméricos (B) obtenidos son altamente viscosos, polímeros semisólidos a temperatura ambiente. Todos los tensioactivos tienen un valor bajo de T_g, principalmente provocado por la gran cantidad de caprolactona presente. Todos estos tensioactivos también tienen un punto de fusión, que es una contribución del bloque de PEG. Aunque no se presenta en la tabla, todos los tensioactivos con un punto de fusión muestran una temperatura de cristalización.
- 15

Experimento 9: preparación de formulaciones cargadas con el 1% en peso de lidocaína-HCl

n.º de formulación	n.º de método de preparación	copolímero tribloque hidrófobo (A)	tensioactivo polimérico (B) (1% en peso)
47	2	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{4.0} -C3	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.2} -C2
48	1	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C3	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.2} -C2
49	2	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C3	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.2} -C2
50	1	PEG400(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{3.0} -C3	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.2} -C2
51	2	PEG400(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{3.0} -C3	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.2} -C2
52	1	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C3	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.2} -C2
53	2	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C3	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.2} -C2
54	1	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.2} -C2
55	2	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5.0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.2} -C2
56	1	PEG400(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{3.0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.2} -C2
57	2	PEG400(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{3.0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.2} -C2
58	1	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.2} -C2
59	2	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.2} -C2
60	1	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{4.0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.2} -C2
61	2	PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{4.0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.2} -C2

Tabla 7: Formulaciones cargadas con el 1% en peso de lidocaína-HCl

Se mezcló una serie de copolímeros tribloque hidrófobos con agua y un tensioactivo polimérico (tabla 7). Después del mezclado con un dispositivo Ultra-Turrax, todas las formulaciones eran completamente blancas y no transparentes. Después de unas pocas horas, las formulaciones que contenían los copolímeros tribloque hidrófobos con PEG600 (formulación 52, 53, 58 y 59) se volvieron incoloras y transparentes; no se observaron tampoco partículas de lidocaína-HCl mediante microscopio óptico. No se observaron fases acuosas separadas, mediante examen visual, después del almacenamiento en el frigorífico (2-8°C) durante 24 horas.

Experimento 10: mediciones de viscosidad de formulaciones con el 1% en peso de lidocaína-HCl

n.º de formulación	n.º de método de preparación	Viscosidad (Pa.s)	
		A 20°C	A 37°C
PEG200(cap₇₅-lac₂₅)_{4.0}-C3		0.94	0.33
47	2	0.51	0.16
60	1	0.46	0.13
61	2	0.60	0.19
PEG200(cap₅₀-lac₅₀)_{5.0}-C3		5.9	1.3
48	1	2.1	0.45
49	2	2.1	0.44
54	1	1.7	0.39
55	2	2.2	0.52
PEG400(cap₅₀-lac₅₀)_{3.0}-C3		7.8	1.7
50	1	2.6	0.57
51	2	2.8	0.61
56	1	2.3	0.47
57	2	3.1	0.66
PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2.0}-C3		5.1	1.3
52	1	1.6	0.43
53	2	1.2	0.33
58	1	1.2	0.32
59	2	1.1	0.29

Tabla 8: Viscosidad de las formulaciones preparadas con el 1% en peso de lidocaína-HCl

Todas las formulaciones preparadas tuvieron una viscosidad mucho menor que el copolímero tribloque hidrófobo solo. La viscosidad de las formulaciones se redujo en más del 50%, lo que las convierte en más adecuadas para inyección. Además, no hubo diferencias significativas entre la formulación preparada mediante el método de preparación 1 ó 2.

Experimento 11: formulaciones de liberación *in vitro* cargadas con el 1% en peso de lidocaína-HCl (tabla 7 y tabla 8).

La figura 4 muestra el perfil de liberación de lidocaína a partir de emulsiones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG200(cap₇₅-lac₂₅)_{4.0}-C3. Tal como se muestra en la figura 4, no hay diferencias significativas en el perfil de liberación de lidocaína para las tres formulaciones. Según estos resultados, no importa qué método se use para preparar las formulaciones. Las tres formulaciones mostraron una liberación de estallido del 35-45% después de 1 día, seguido por una liberación más lenta. Después de 1 semana, se liberó aproximadamente el 55% de la lidocaína. La elección del tensioactivo polimérico (B) tampoco tuvo un efecto principal sobre el perfil de liberación.

La figura 5 muestra el perfil de liberación de lidocaína a partir de emulsiones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG200(cap₅₀-lac₅₀)_{5.0}-C3. De nuevo, no hay diferencia significativa en el perfil de liberación entre la

formulación preparada mediante el método 1 o el método 2. La liberación es mucho más lenta que las formulaciones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG200(cap₇₅-lac₂₅)_{4,0}-C3. Después de 24 horas, sólo se liberó el 10% y continuó lentamente hasta aproximadamente el 20% después de 7 días. La adición del tensioactivo polimérico (B) tuvo un efecto significativo sobre la liberación a largo plazo. La formulación 62 se prepara sin tensioactivo y muestra una liberación mucho más rápida.

La figura 6 muestra el perfil de liberación de lidocaína a partir de emulsiones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG400(cap₅₀-lac₅₀)_{3,0}-C3. Tal como se muestra en la figura 6, las cuatro formulaciones diferentes tienen un patrón de liberación similar. Según estos resultados, no importa qué método se use para preparar las formulaciones. Las cuatro formulaciones no muestran apenas liberación en estallido. Después de 1 día, se liberó aproximadamente el 10%, que continuó lentamente hasta el 25-30% de liberación de lidocaína después de 1 semana.

La figura 7 muestra el perfil de liberación de lidocaína a partir de emulsiones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3 con diferentes tensioactivos. La figura 7 ilustra de nuevo que no hay diferencia significativa en el método (1 ó 2) que se use para preparar las formulaciones. La formulación 64 no tiene tensioactivo, lo que da como resultado una liberación mucho mayor del 60% después de 1 día en comparación con aproximadamente el 30% para las otras cuatro formulaciones.

La figura 8 muestra la liberación de lidocaína-HCl mientras que también se usa un tensioactivo comercialmente disponible (Pluronic 17R4) (66). El uso de Pluronic 17R4 proporciona un alto estallido del 50% en las primeras 24 horas. El tensioactivo polimérico reduce el estallido hasta una liberación del 30% en las primeras 24 horas.

Experimento 12: preparación de formulaciones cargadas con el 1% en peso de lisozima

Se mezcló una serie de copolímeros tribloque hidrófobos con agua, un tensioactivo polimérico y lisozima.

n.º de formulación	n.º de método de preparación	copolímero tribloque hidrófobo (A)	tensioactivo polimérico (B) (1% en peso)
67	1	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5,0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2
68	2	PEG200(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{5,0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2
69	1	PEG400(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{3,0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2
70	2	PEG400(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{3,0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2
71	1	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2
72	2	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2
73	1	PEG1000(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{0,5} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2
74	2	PEG1000(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{0,5} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2
79	1	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2,2} -C2
80	1	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2
81	1	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{1,8} -C3
82	Sólo copolímero tribloque hidrófobo PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3		
83	Hidrogel de PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{1,8} -C3 (20% en PBS)		
84	1	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	Pluronic17R4

Tabla 9: Preparación de formulaciones cargadas con el 1% en peso de lisozima, usando diferentes métodos

Todas las formulaciones se prepararon de manera exitosa. La formulación 82 es el copolímero tribloque puro mezclado con lisozima. La formulación 83 es un hidrogel termosensible, para el que se preparó una disolución de polímero al 20% en peso en tampón. La disolución, así obtenida, es líquida en el frigorífico, pero se vuelve un hidrogel cuando se calienta hasta 30°C. La lisozima puede disolverse fácilmente en esta formulación.

Experimento 13: mediciones de viscosidad de formulaciones con el 1% en peso de lisozima

n.º de formulación	n.º de Método	Viscosidad (Pa.s)	
	de preparación	A 20°C	A 37°C
PEG200(cap₅₀-lac₅₀)_{5.0}-C3		5.9	1.3
67	1	3.1	0.68
68	2	4.3	0.81
PEG400(cap₅₀-lac₅₀)_{3.0}-C3		7.8	1.7
69	1	1.1	0.31
70	2	1.1	0.31
PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2.0}-C3		5.1	1.3
71	4	2.8	1.0
72	4	0.96	0.20
79	4	2.0	0.52
80	1	3.2	0.82
81	1	3.2	0.77
PEG1000(cap₇₅-lac₂₅)_{0.5}-C3		N.A.	N.A.
73	1	0.58	0.27
74	2	0.42	0.16

Tabla 10: Viscosidad de las formulaciones preparadas con el 1% de lisozima

Experimento 14: formulaciones de liberación *in vitro* cargadas con el 1% en peso de lisozima (tabla 9 y tabla 10)

La figura 9 ilustra la liberación *in vitro* de lisozima de formulaciones de PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2.0}-C3 con y sin un tensioactivo polimérico. La presencia de un tensioactivo polimérico es significativa. Cuando se incorpora un tensioactivo polimérico de este tipo (formulación 71) en la formulación, la liberación de lisozima es mucho más lenta, con un estallido muy pequeño durante las primeras 24 horas. La liberación continuó lentamente hasta aproximadamente el 5% después de 7 días. Mientras tanto, la formulación 77 (sin tensioactivo) muestra una liberación de más del 50% después de 7 días.

La figura 10 ilustra el efecto de un tensioactivo para las formulaciones basadas en el copolímero tribloque hidrófobo PEG200(cap₅₀-lac₅₀)_{5.0}-C3 y PEG400(cap₅₀-lac₅₀)_{3.0}-C3. Las formulaciones con tensioactivo (67 y 69) muestran una liberación mucho más lenta en comparación con las dos formulaciones (75 y 76) sin tensioactivo.

La figura 11 muestra el perfil de liberación de lisozima de varias formulaciones diferentes. La formulación 83, por ejemplo, es un hidrogel termorreversible, que muestra una liberación muy rápida del 90% después de sólo 2 días. Se obtiene una pequeña mejora en la retención cuando se disuelve/mezcla el API directamente con el copolímero tribloque hidrófobo usando el método 1 (formulación 82), mientras que se liberó más del 90% después de 7 días. La adición de un tensioactivo (formulaciones 79, 80 y 81) demuestra incluso más retención, especialmente durante los primeros 7 días. Sorprendentemente, la retención de lisozima en la formulación 80 es notablemente alta. Después de 25 días, se liberó aproximadamente el 10%. La diferencia entre las formulaciones 79, 81 y la formulación 80 es la composición del copolímero tribloque-tensioactivo. Cuando la razón de caprolactona/láctida en el tensioactivo polimérico era la misma que la razón en el copolímero tribloque hidrófobo, se obtuvo la retención más prolongada y

la liberación más lenta.

n.º de formulación	n.º de método de preparación	copolímero tribloque hidrófobo	tensioactivo polimérico (1% en peso)
112	1	PEG600 (cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	PEG1500 (cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2
113	1	PEG600 (cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	PEG1500 (cap ₈₀ -lac ₈₀) _{2,2} -C2
114	1	PEG600 (cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	Pluronic 17R4

Tabla 11: Formulaciones con tres tensioactivos diferentes

Para investigar adicionalmente este fenómeno, se preparó un nuevo conjunto de formulaciones (tabla 11) con diferentes tensioactivos, seguido por un estudio de liberación *in vitro*. Tal como se muestra en la figura 12, la composición del tensioactivo tiene un efecto tremendo sobre la liberación de lisozima. Pluronic17R4 como tensioactivo (formulación 114) no muestra ninguna forma de retención, con una liberación de casi el 100% en las primeras 24 horas. Un tensioactivo polimérico compuesto de los mismos bloques de construcción, pero una razón diferente en los dos monómeros (formulación 113), demuestra más retención con una liberación final de aproximadamente el 85% después de 7 días. Cambiando la composición del tensioactivo polimérico a la misma razón entre los dos monómeros del copolímero tribloque hidrófobo, sorprendentemente muestra una retención tremenda (formulación 112). Después de 7 días, sólo se liberó el 20% de lisozima.

Experimento 15: preparación de formulaciones cargadas con IgG

Se preparó una nueva serie de formulaciones con IgG como API. Se usó el método de preparación 5.

n.º	copolímero tribloque hidrófobo	Tensioactivo	Agua (% en peso)	Carga de IgG (mg/ml)
-----	--------------------------------	--------------	------------------	----------------------

104	PEG200(cap₇₅-lac₂₅)_{4,0}-C3	1% de PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2,2} -C2	10	2.5
105	PEG200(cap₇₅-lac₂₅)_{4,0}-C3	1% de PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2	10	2.5
106	PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3	1% de PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2,2} -C2	10	2.5
107	PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3	-----	10	2.5
108	PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3	0.5% de PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2,2} -C2	10	2.5
109	PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3	0.5% de PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2,2} -C2	5	1.25
110	PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3	1% de PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2,2} -C2	20	2.5
111	PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2,0}-C3	1% de PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,2} -C2	10	2.5

Tabla 12: Formulaciones cargadas con IgG

Experimento 16: mediciones de viscosidad de formulaciones con IgG e IVR

n.º de formulación	n.º de método de preparación	Viscosidad (Pa.s)	
		A 20°C	A 37°C
PEG200(cap ₇₅ -lac ₂₅) _{4.0} -C3		0.94	0.33
104	5	1.1	0.36
105	5	1.1	0.35
PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.0} -C3		5.1	1.3
106	5	3.0	0.72
107	5	2.7	0.73
108	5	2.6	0.65
109	5	3.0	0.77
110	5	3.1	0.87
111	5	2.9	0.74

Tabla 13: Viscosidad de las formulaciones cargadas con IgG

La figura 13 que muestra la liberación de IgG de las formulaciones 106 y 111 ilustra de nuevo el efecto notable del tensioactivo. Se observó una liberación rápida para la formulación 106, después de 14 días se liberó más del 80% de IgG. El reemplazo del tensioactivo con PEG1500(cap₅₀-lac₅₀)_{2.2}-C2 aumenta la retención (formulación 111), tal como se observa también con la liberación de lisozima, mientras que sólo se liberó aproximadamente el 15% después de 15 días.

Experimento 17: preparación de formulaciones (monómero de p-dioxanona) cargadas con el 1% en peso de lisozima

n.º de formulación	n.º de método de preparación	copolímero tribloque hidrófobo	Tensioactivo (1% en peso)
85	2	PEG600(cap₅₀-diox₅₀)_{2.0}-C3	PEG1500(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2.2} -C2
86	2	PEG600(cap₅₀-diox₅₀)_{2.0}-C3	PEG1500(cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2.2} -C2
87	2	PEG600(cap₅₀-diox₅₀)_{2.0}-C3	PEG1500(cap ₅₀ -diox ₅₀) _{1.8} -C2
88	2	PEG600(cap₅₀-diox₅₀)_{2.0}-C3	PEG1500(cap ₈₀ -diox ₂₀) _{1.8} -C2

Tabla 14: Composición de tribloque con caprolactona y dioxanona

n.º de formulación	n.º de método de preparación	Viscosidad (Pa.s)	
		A 20°C	A 37°C
PEG600(cap ₅₀ -diox ₅₀) _{2.0} -C3		0.83	0.30
85	2	0.53	0.21
86	2	0.66	0.23
87	2	0.57	0.25
88	2	0.65	0.23

Tabla 15: Viscosidad de formulaciones de copolímeros tribloque con bloques de construcción de caprolactona y dioxanona

La mayoría de este trabajo se realiza usando los monómeros ϵ -caprolactona y lactida. Algunos experimentos también se realizaron con la combinación de monómeros ϵ -caprolactona y p-dioxanona.

Se preparó una serie de formulaciones con copolímero tribloque hidrófobo PEG600(cap₅₀-diox₅₀)_{2,0}-C3. Este copolímero tribloque tiene una viscosidad mucho menor en comparación con los copolímeros tribloque hidrófobos compuestos por bloques B de caprolactona/lactida, debido a la temperatura de transición vítrea más baja de la dioxanona. Aun así las viscosidades de las formulaciones producidas fueron menores que el copolímero tribloque solo, tal como se esperaba.

Tal como se muestra en la figura 14, la composición del tensioactivo tuvo un efecto significativo sobre la tasa de liberación de lisozima de las emulsiones basadas en caprolactona/dioxanona. Se midió una liberación relativamente rápida de lisozima (aproximadamente el 50%) después de 7 días para la formulación con el tensioactivo basado en caprolactona/lactida. Por el contrario, sólo se liberó el 25% de la lisozima después de 7 días para la formulación que contenía el tensioactivo con los bloques de caprolactona/dioxanona.

Conclusión: el uso de un tensioactivo muestra un efecto sorprendente sobre la liberación de lisozima e IgG. La adición de un copolímero tribloque-tensioactivo con los mismos monómeros y razón de monómeros que el copolímero tribloque hidrófobo usado es crítico para una liberación lenta y sostenida de lisozima e IgG.

Experimento 18: estabilidad de las formulaciones cargadas con IgG (0.5 mg/g)

n.º de formulación	n.º de método de preparación	copolímero tribloque hidrófobo	tensioactivo (1% en peso)	Viscosidad (Pa.s)
115	5	PEG600 (cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	PEG1500 (cap ₈₀ -lac ₂₀) _{2,2} -C2	4,0 a 20°C

Tabla 16: Formulación con 0,5 mg/g con fines de estabilidad

Investigar la estabilidad de la formulación, comparando la cinética de IVR de una formulación recién preparada con una formulación que se almacenó en el frigorífico (2-8°C) durante 2 semanas.

Tal como se muestra en la figura 15, se liberó aproximadamente el 90% de IgG después de 11 días de una formulación recién preparada 115. En este experimento, se almacenó la mitad de la formulación en el frigorífico durante 2 semanas, seguido por un segundo estudio de IVR. Desafortunadamente, los resultados de IVR del segundo estudio de IVR no coincidieron con los datos de la primera IVR. Después de 2 semanas de almacenamiento, la liberación de IgG es mucho más rápida. Ya después de 3 días, se liberó el 50% de IgG, y el 86% después de 7 días, en comparación con el 60% inmediatamente después de preparar la formulación.

Conclusión: los resultados de IVR no fueron reproducibles. La formulación no era estable durante dos semanas cuando se almacenó en el frigorífico (2-8°C).

Experimento 19: preparación de formulaciones con dos tensioactivos, cargadas con IgG (2 mg/g)

n.º de formulación	n.º de método de preparación	copolímero tribloque hidrófobo	tampón fosfato (PB)	Tensioactivo
116	5	PEG600 (cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	9%	1% de ACEMIX

117	5	PEG600 (cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	13%	1% de ACEMIX + 0,5% de PVP 10K
118	5	PEG600 (cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	12%	2% de ACEMIX
119	5	PEG200 (cap ₅₀ -dio _{x50}) _{4,0} -2-n-HD	9%	1% de ACEMIX

Tabla 17: Formulaciones que contienen dos tensioactivos poliméricos

Se preparó una serie de formulaciones usando tampón fosfato (PB) en lugar de solución salina tamponada con fosfato (PBS), además se usaron dos tensioactivo poliméricos (ACEMIX). ACEMIX es una mezcla de los tensioactivos poliméricos PEG1500(cap₈₀-lac₂₀)_{2,2}-C2 37 y PEG1500(cap₅₀-lac₅₀)_{2,2}-C2 36 en la razón 3:1.

Para investigar la estabilidad de estas formulaciones, se realizó un segundo estudio de liberación de *in vitro* usando la misma formulación que se almacenó en el frigorífico (2-8°C) durante 2 semanas.

Tal como se muestra en la figura 16 y figura 17, hay un completo solapamiento entre las formulaciones recién preparadas y las formulaciones de 2 semanas almacenadas en el frigorífico a 2-8°C. El uso de dos tensioactivos poliméricos mejoró en gran medida la estabilidad de la formulación.

Conclusión: las formulaciones que contienen dos tensioactivos eran estables durante al menos 2 semanas a 2-8°C.

Experimento 20: mezclas de copolímero tribloque hidrófobo con ACEMIX cargadas con IgG

n.º de formulación	Método de preparación	copolímero tribloque hidrófobo	PB	ACEMIX	IgG
122	8	<u>Razón de mezcla 1:1</u> PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C6 PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C3	9%	1%	0.2%
123	8	<u>Razón de mezcla 1:1</u> PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{2,0} -C6 PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1,0} -C6	9%	1%	0.2%
124	8	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1,0} -C6	9%	1%	0.2%
125	8	PEG600(cap ₅₀ -lac ₅₀) _{1,5} -C6	9%	1%	0.2%

Tabla 18: Composición de mezclas de formulaciones

n.º de formulación	Método de preparación	Viscosidad (Pa.s)	
		A 20°C	A 37°C
122	8	3.1	0.8
123	8	1.5	0.3
124	8	0.7	0.2
125	8	1.5	0.4

Tabla 19: Viscosidad de mezclas de formulaciones

Se prepararon mezclas de copolímeros tribloque hidrófobos con las mismas razones de monómeros, pero diferentes

longitudes de bloques o diferente longitud en los grupos de ocupación de extremos. La formulación 122 es una mezcla en la que sólo es diferente el tipo de grupo de extremo. Se usó sólo una variación en la longitud de bloque en la formulación 123 (tabla 18). Las formulaciones 124, 125 se usaron para datos comparativos.

- 5 De las formulaciones sometidas a prueba, el copolímero tribloque hidrófobo usado en la formulación 124 tuvo el bloque de poliéster más corto, dando como resultado la liberación más rápida (el 90% después de 10 días, figura 18) y la viscosidad más baja (tabla 19). Aumentando la razón de bloques de poliéster desde 1,0 hasta 1,5 (formulación 125), la viscosidad aumentó y la liberación de IgG fue significativamente más lenta (el 80% después de 10 días). De manera interesante, cuando se mezclaron un copolímero tribloque hidrófobo con una razón de poliéster de 1,0 y 2,0
- 10 juntos para dar una razón de bloques de poliéster promedio de 1,5, se obtuvo una formulación con diferentes propiedades. Esta mezcla (formulación 123) tuvo casi una viscosidad casi coincidente con la formulación 125, pero un patrón de liberación completamente diferente. Además, una mezcla de la misma composición de copolímero tribloque hidrófobo con diferentes grupos de ocupación de extremos (122) dio como resultado un cambio en la viscosidad (116) pero también una cinética de liberación alterada de manera drástica.

15

Experimento 21: inyección *ex-vivo* de emulsiones de copolímero tribloque.

- Se inyectaron emulsiones de polímero (250 µl) en un cadáver de rata a 37°C (se sacrificaron las ratas 1 minuto antes de la inyección; se tomaron las ratas de otro estudio y no se sacrificaron para el fin de los estudios de inyección). Inmediatamente después de la inyección, se retiró la piel de la rata. De manera sorprendente, se formó un bonito depósito "gomoso", tal como se muestra en la figura 19.

20

La formación del depósito fue sorprendentemente rápida, que incluso quedó atrapada una burbuja de aire dentro del depósito.

25

Conclusión general

- Los perfiles de liberación de API (hidrófilos) pueden ajustarse sorprendentemente usando un copolímero tribloque (A) hidrófobo en combinación con un tensioactivo polimérico (B), en presencia de muy pocas cantidades de agua.
- 30 Un aspecto preferido en el presente documento es que tanto el copolímero tribloque (A) hidrófobo como el tensioactivo polimérico (B) se preparan usando los mismos monómeros. Puede obtenerse una retención prolongada de este modo cambiando la razón entre los monómeros, dependiendo de los monómeros y el API. Esto no puede lograrse usando tensioactivos comercialmente disponibles.

- 35 Para prolongar la estabilidad a baja temperatura de algunas formulaciones, puede aplicarse ventajosamente una mezcla de tensioactivos poliméricos (acemix).

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende

5 a) el 55-98,9% en peso de al menos un tipo de copolímero tribloque (A) de fórmula (1)



10 b) el 0,1-15% en peso de al menos un tensioactivo (B) y
c) el 1-30% en peso de agua,

15 en la que A es un bloque hidrófilo que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de 100-1.000 Da, B es un bloque hidrófobo producido a partir de monómeros que comprenden al menos un monómero B1 y un monómero B2, en la que B1 y B2 tienen los mayores contenidos en peso en el bloque hidrófobo y B1 tiene un peso molecular menor que B2, en la que R es un grupo de extremo que es H o un resto orgánico C1-C30, en la que la composición es fluida en un intervalo de temperatura de 0°C a 37°C, en la que los % en peso son con relación a la suma de a), b) y c), y en la que la suma de los componentes a), b) y c) es al menos el 80% en peso de la composición completa, preferiblemente al menos el 90% en peso.

20 2. Composición según la reivindicación 1, en la que la composición tiene una viscosidad determinada a 20°C que tiene un valor por debajo de 30 Pa.s, preferiblemente por debajo de 20 Pa.s o por debajo de 10 Pa.s, lo más preferiblemente por debajo de 5 Pa.s, tal como se determina mediante reología de cizallamiento.

25 3. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que el copolímero (A) tiene una Tg (punto medio) por debajo de -20°C, preferiblemente por debajo de -30°C y lo más preferiblemente por debajo de -40°C. y/o en la que el copolímero (A) tiene una Tf (punto medio) por debajo de 20°C, preferiblemente por debajo de 10°C, más preferiblemente por debajo de 0°C, y en la que Tg y la Tf se determinan con DSC, segunda curva de calentamiento con calentamiento de 2°C/min.

30 4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el copolímero (A) tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de entre 500 y 5.000 Da, más preferiblemente dentro del intervalo de 600-3.000 Da y lo más preferiblemente dentro del intervalo de 700-2.500 Da, tal como se determina con cromatografía de exclusión molecular.

35 5. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que el copolímero (A) tiene un bloque A de polietilenglicol y en la que el bloque A tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de al menos 100 Da, preferiblemente de al menos 120 Da y lo más preferiblemente de al menos 150 Da, y en la que el peso molecular promedio en número del bloque A preferiblemente es como máximo de 1.000 Da.

40 6. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que R se elige del grupo que consiste en un grupo acetilo, un grupo propionilo, un grupo hexanoílo, un grupo 2-n-hexildecanoílo, un grupo nonanoílo, un grupo dodecanoílo, grupo pentadecanoílo, un grupo estearoílo o un grupo benzoílo.

45 7. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que los monómeros B1 y B2 se seleccionan del grupo que consiste en glicolida, lactida, ε-caprolactona, δ-valerolactona, 1,3-dioxan-2-ona (también conocida como carbonato de trimetileno) y 1,4-dioxan-2-ona (también conocida como p-dioxanona), y en la que cada uno de los bloques B tiene un peso molecular promedio en número que oscila entre 200-1.500 Da, preferiblemente entre 225-1.250 Da, más preferiblemente entre 250-1.000 Da, o entre 300-800 Da.

50 8. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que los tensioactivos (B) son moléculas según la fórmula 2 (tensioactivo polimérico (B)):



55 en la que As es un bloque hidrófilo que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de al menos 1.000 Da, Bs es un bloque hidrófobo producido a partir de monómeros que comprenden al menos un monómero Bs1 y un monómero Bs2 en la que Bs1 y Bs2 tienen los mayores contenidos en peso en el bloque hidrófobo y Bs1 tiene un peso molecular menor que Bs2, y Rs es un grupo de extremo que es H o un resto orgánico C1-C30, preferiblemente Rs se elige de H, grupo acetilo, grupo propionilo, grupo butirilo, grupo pentanoílo, grupo hexanoílo, grupo nonanoílo, grupo dodecanoílo, grupo pentadecanoílo, grupo 2-n-hexildecanoílo, grupo estearoílo o grupo benzoílo.

60 9. Composición según la reivindicación 8, en la que As es un bloque de polietilenglicol lineal, que tiene un peso molecular promedio en número (Mn) de entre 1.000-3.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; en la que Bs son bloques hidrófobos que comprenden al menos dos monómeros

cíclicos seleccionados del grupo que consiste en lactida, ε-caprolactona, glicolida, p-dioxanona, carbonato de trimetileno, δ-valerolactona, teniendo cada bloque Bs un peso molecular promedio en número (Mn) de entre 400-3.000 Da, determinado con cromatografía de exclusión molecular; y en la que Rs es un grupo de extremo que es H o un residuo de ácido graso C1-C20.

- 5
10. Composición según la reivindicación 8 ó 9, en la que el monómero B1 y el monómero Bs1 son iguales y el monómero B2 y el monómero Bs2 son iguales, y preferiblemente los monómeros para producir el bloque B polimérico consisten en los monómeros B1 y B2 y los monómeros para producir los bloques B poliméricos consisten en los monómeros Bs1 y Bs2.
- 10
11. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en la que la diferencia entre X y Xs es menor del 20% en peso, en la que
X es la cantidad del monómero B1 con respecto al peso total del monómero B1 y el monómero B2 y
Xs es la cantidad del monómero Bs1 con respecto al peso total del monómero Bs1 y el monómero Bs2.
- 15
12. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición comprende entre el 0,01 y el 15% en peso de un principio activo farmacéutico.
- 20
13. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso como medicamento.
14. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, para su uso en terapia, cirugía o diagnóstico *in vivo*.
- 25
15. Procedimiento para preparar la composición según la reivindicación 12, que comprende mezclar los componentes a), b), c) y el agente terapéuticamente activo.

PEG600($\text{cap}_{50}\text{-lac}_{50}$) $_{2.0}$ -C3 con agua y lidocaína-HCl o lisozima

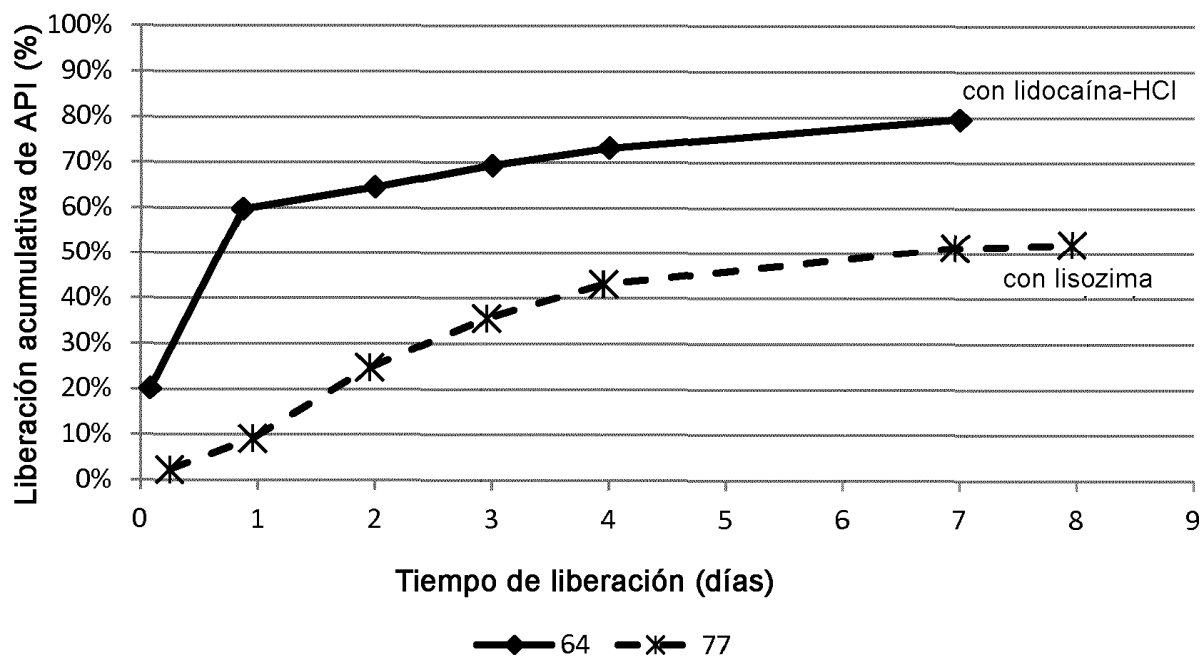


Fig. 1: IVR de formulaciones con agua y lidocaína-HCl o lisozima

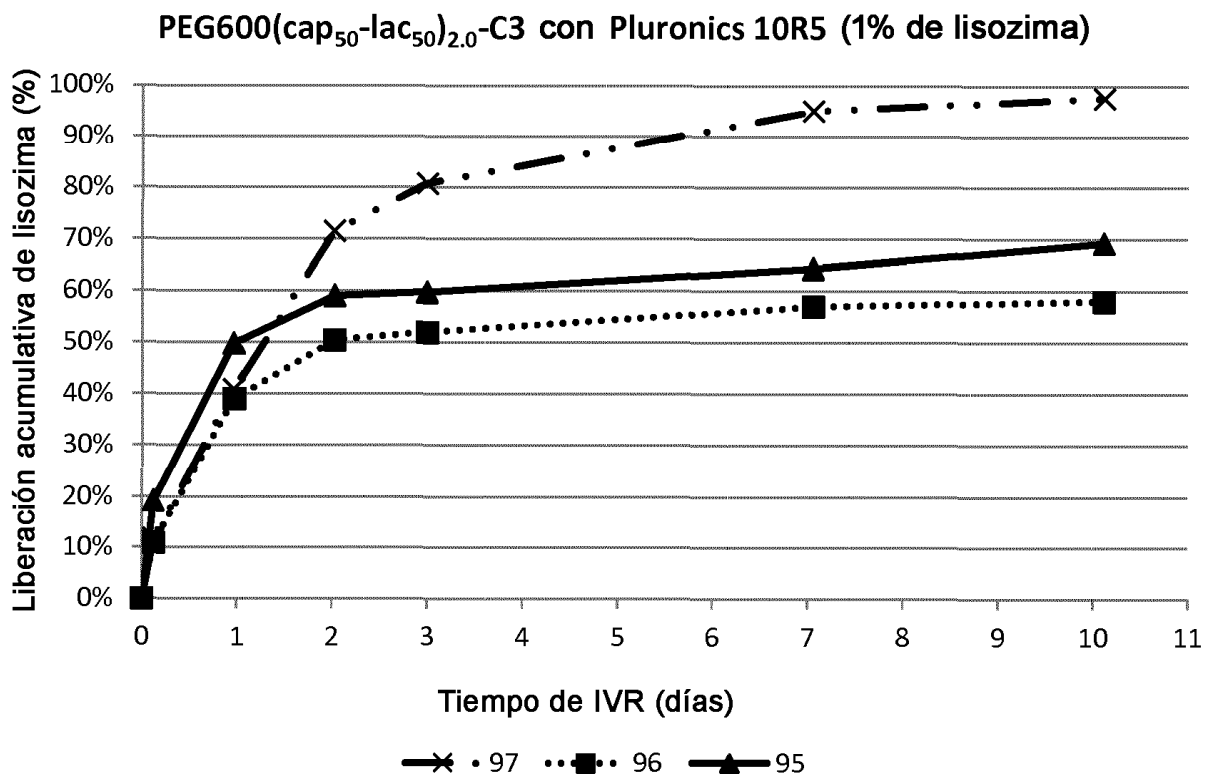


Fig. 2: IVR de formulaciones con tensioactivos comerciales

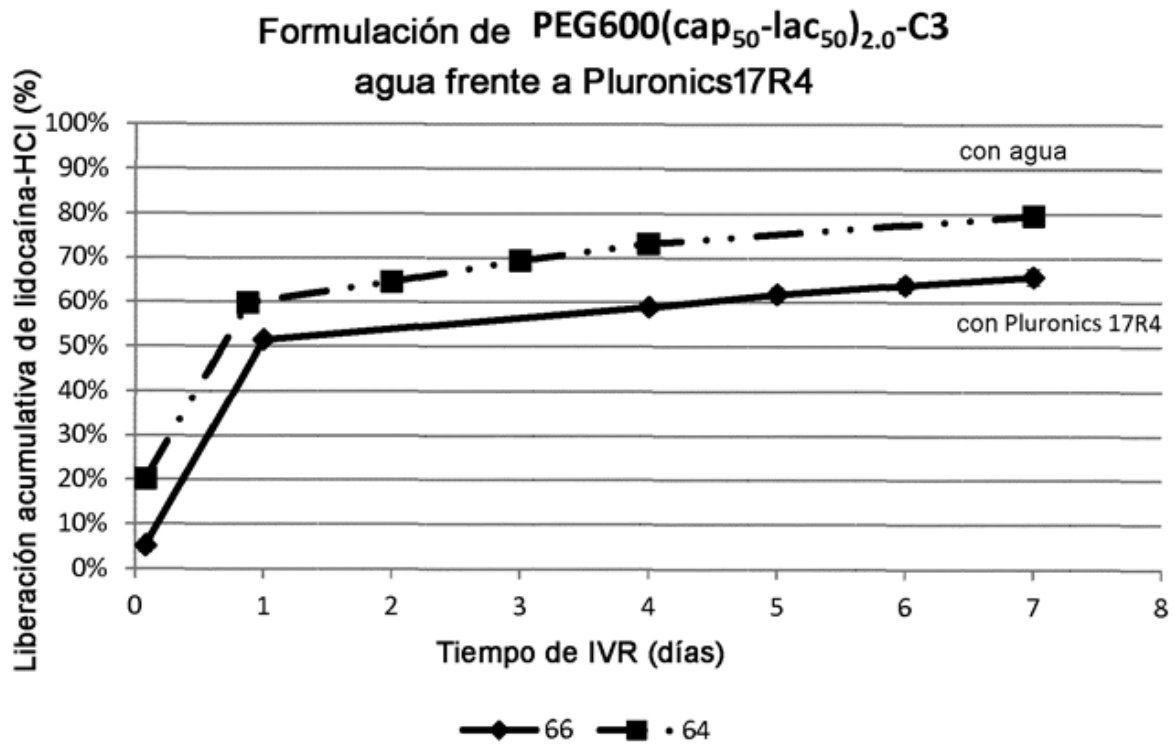


Fig. 3: IVR de formulación con lidocaína-HCl

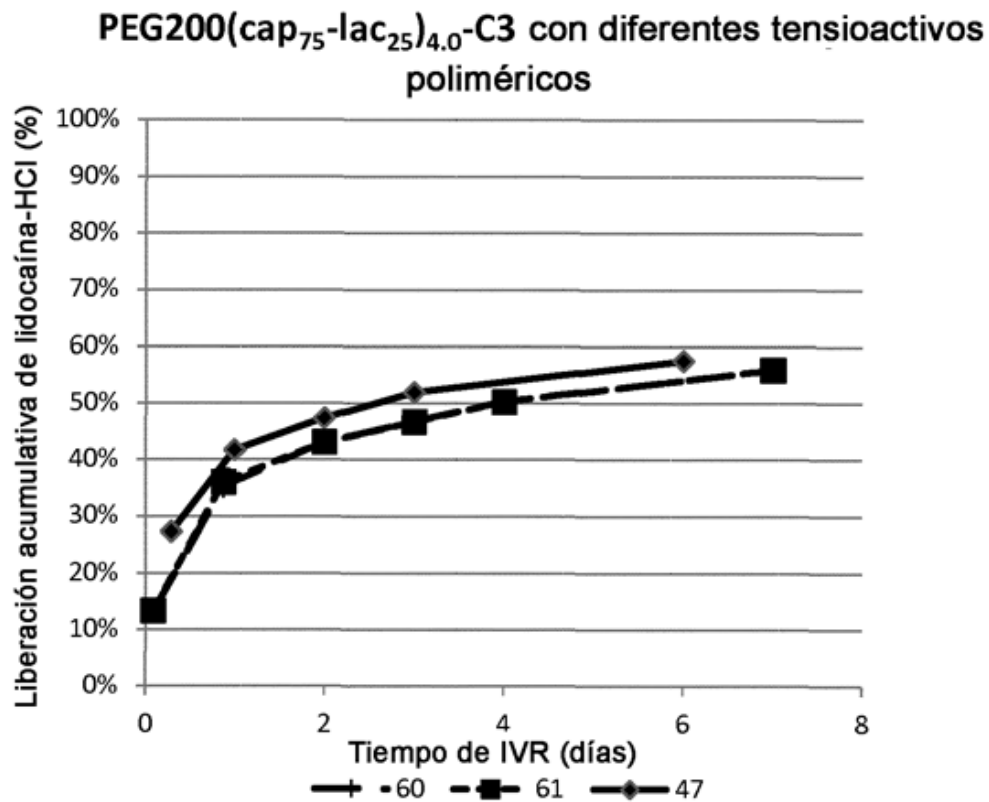


Fig. 4: PEG200(cap₇₅-lac₂₅)_{4.0}-C3 con diferentes tensioactivos poliméricos

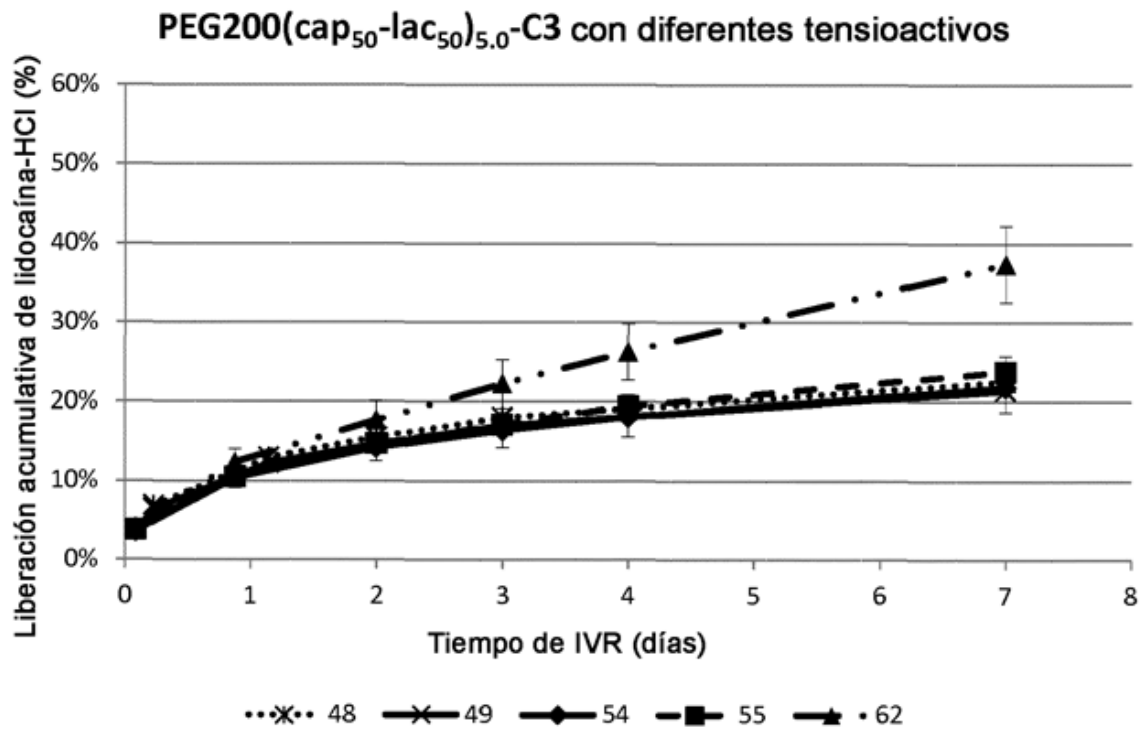


Fig. 5: PEG200($\text{cap}_{50}\text{-lac}_{50}$) $_{5,0}$ -C3 con diferentes tensioactivos y sin tensioactivo (carga del 1% de lidocaína-HCl)

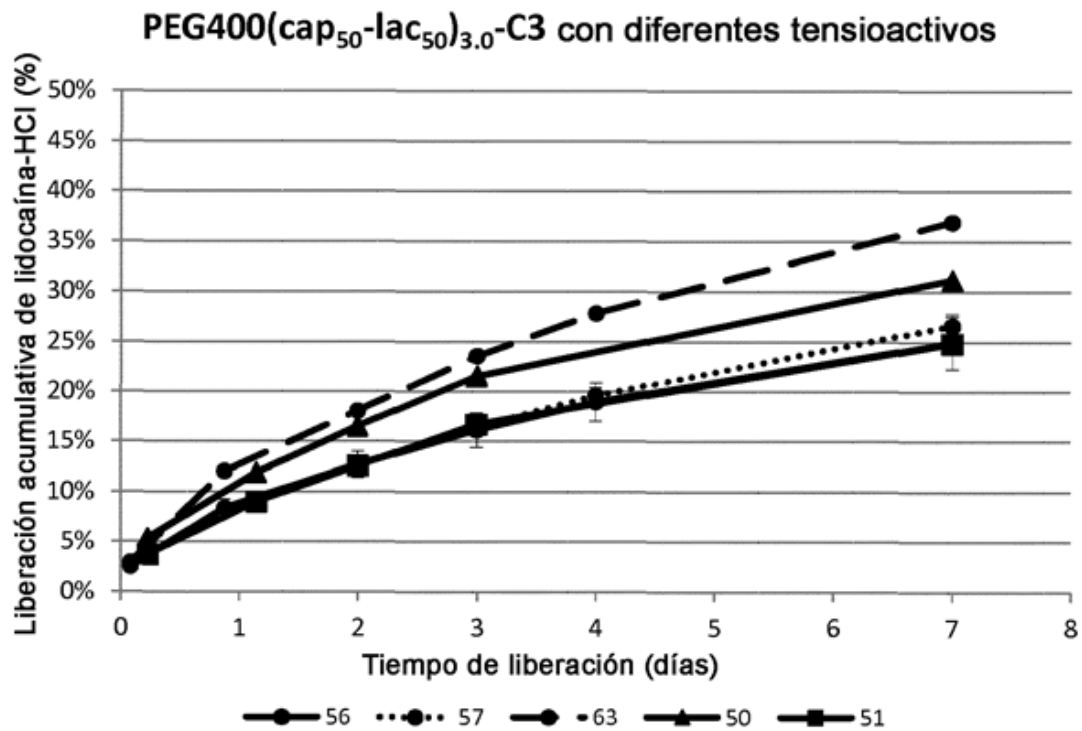


Fig. 6: PEG400($\text{cap}_{50}\text{-lac}_{50}$) $_{3,0}$ -C3 con diferentes tensioactivos y sin tensioactivo (carga del 1% de lidocaína-HCl)

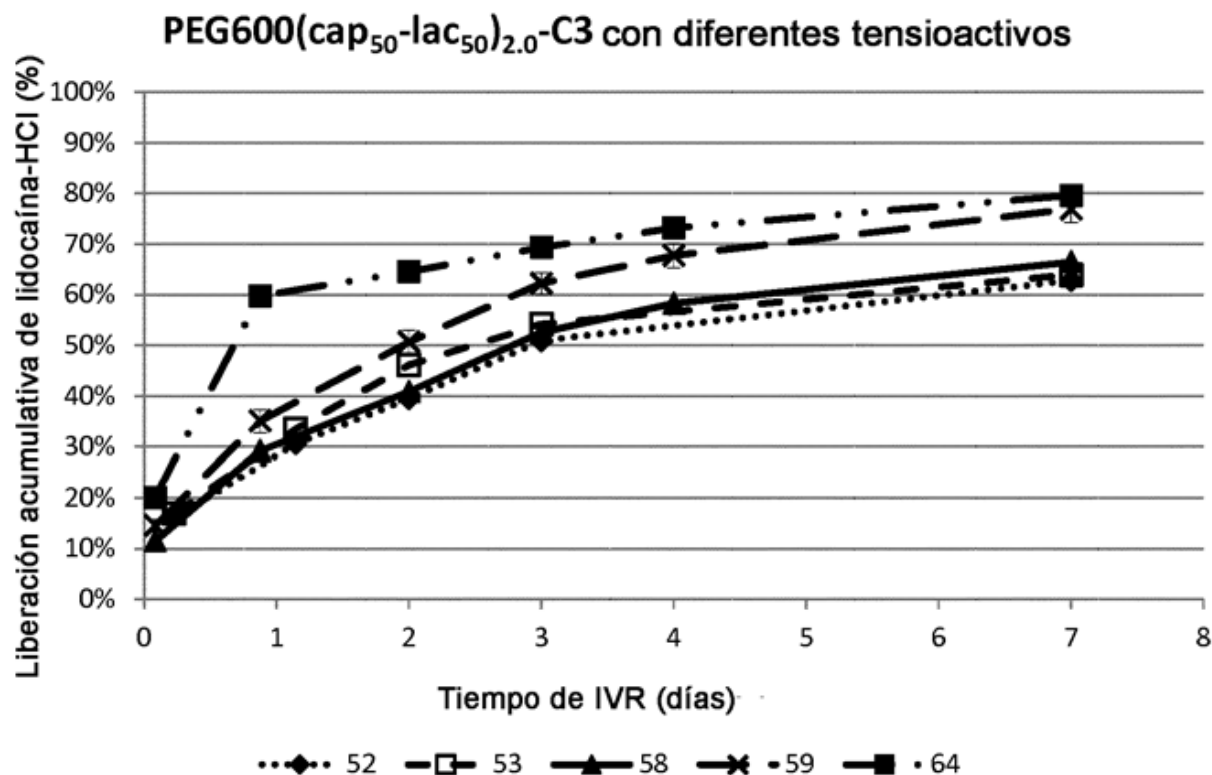


Fig. 7: PEG600($\text{cap}_{50}\text{-lac}_{50}$)_{2,0}-C3 con diferentes tensioactivos y sin tensioactivo (carga del 1% de lidocaína-HCl)

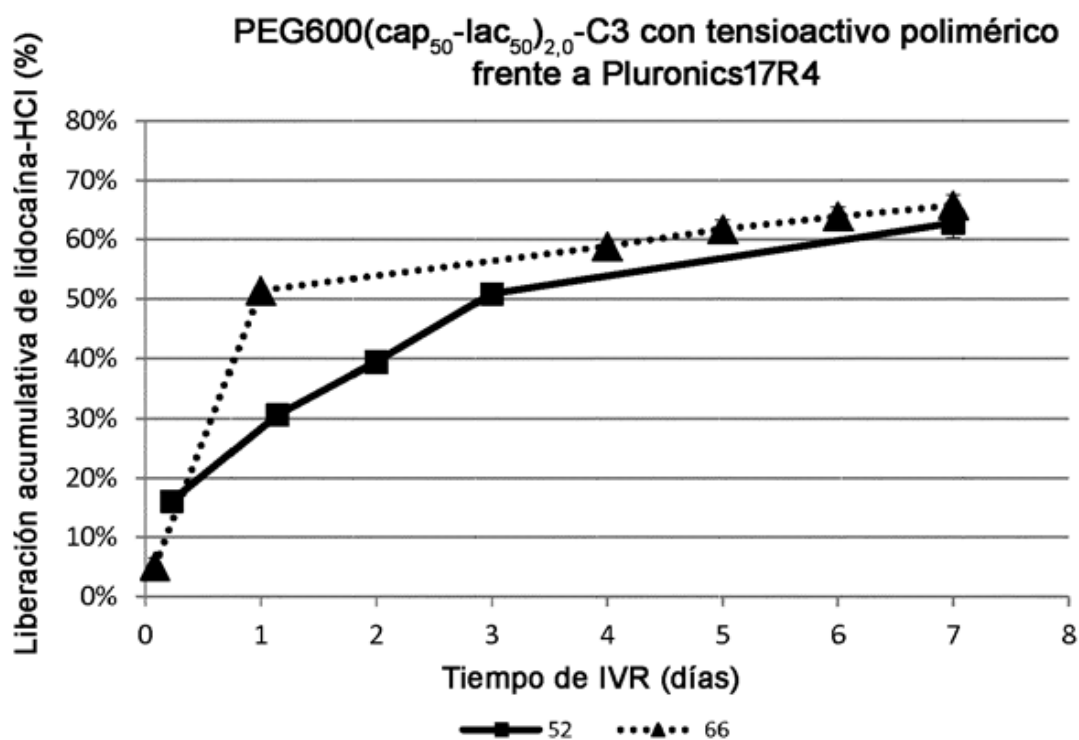


Fig. 8: Formulación con Pluronic17R4

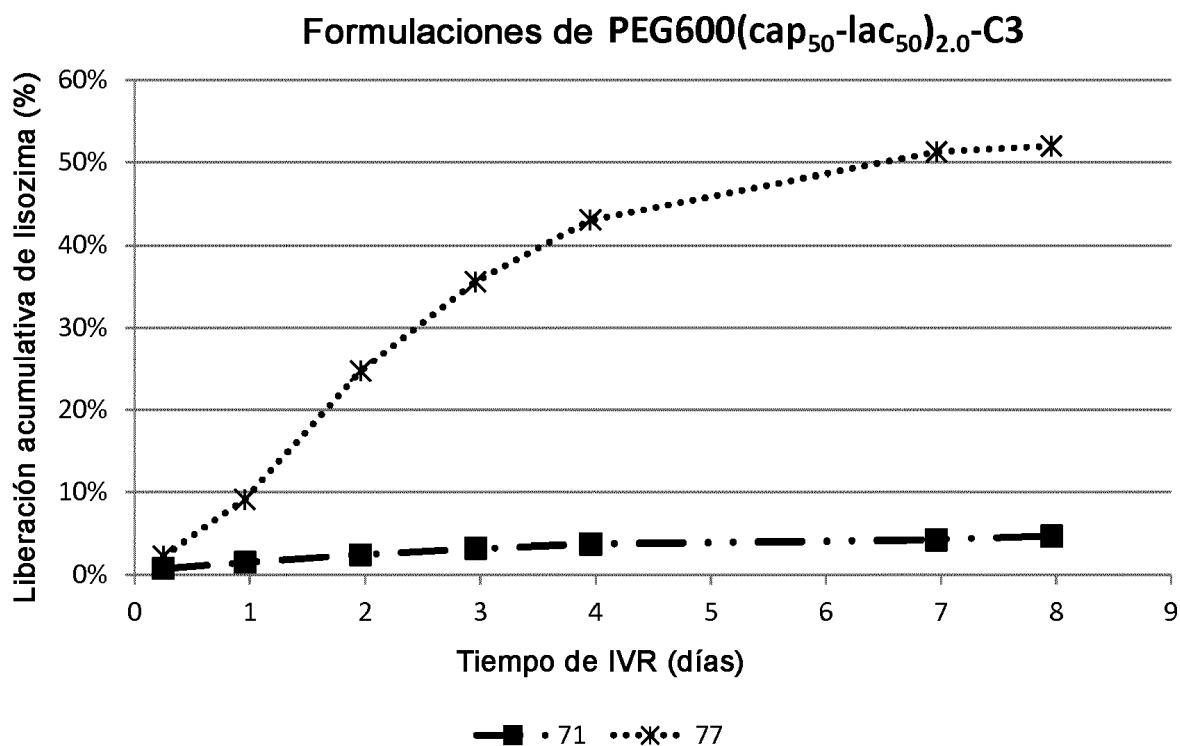


Fig. 9: Formulaciones de PEG600($\text{cap}_{50}\text{-lac}_{50}$)_{2.0}-C3 con y sin tensioactivo, cargadas con el 1% de lisozima

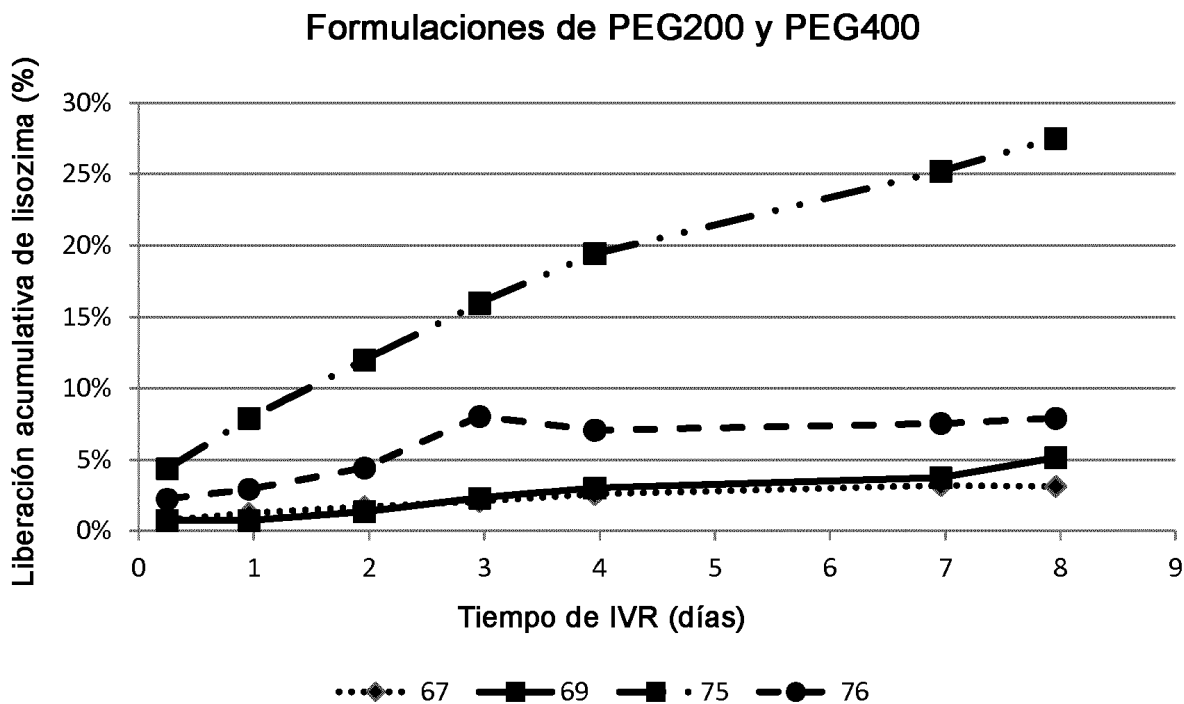


Fig. 10: Formulaciones de PEG200 y PEG400 con y sin tensioactivos poliméricos, cargadas con el 1% de lisozima

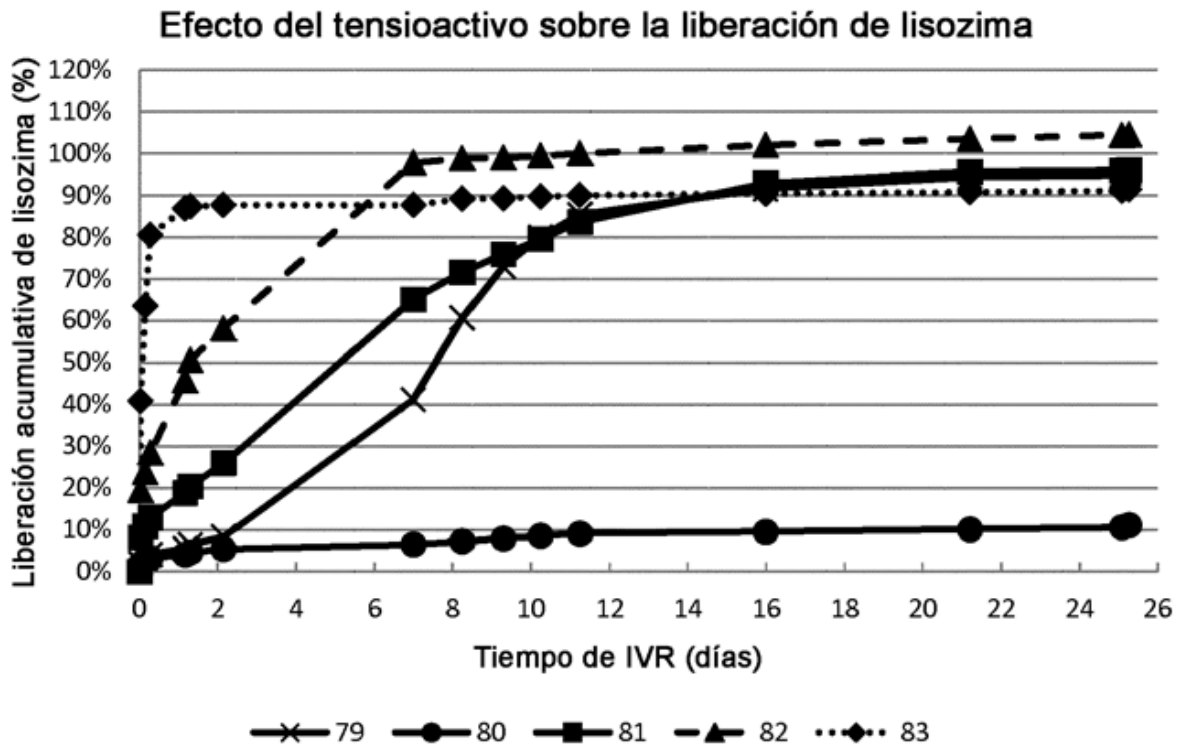


Fig. 11: Efecto de un tensioactivo sobre la liberación de lisozima (carga del 1%)

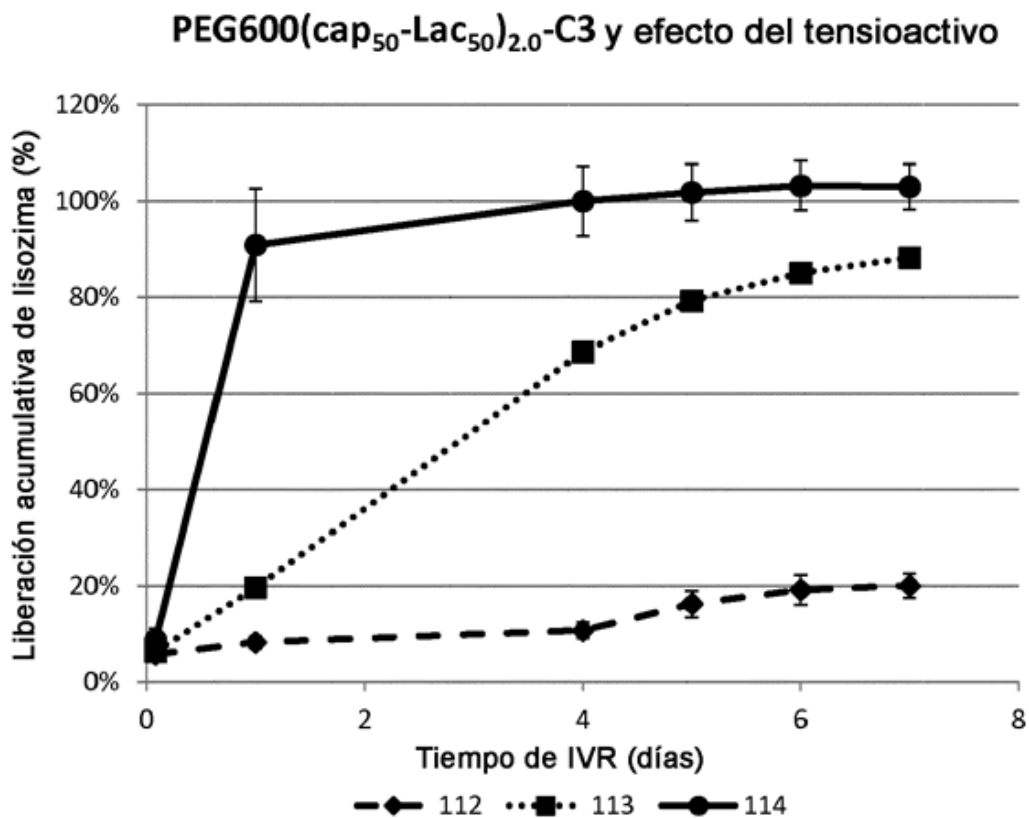


Fig. 12: Efecto de tensioactivos sobre la IVR

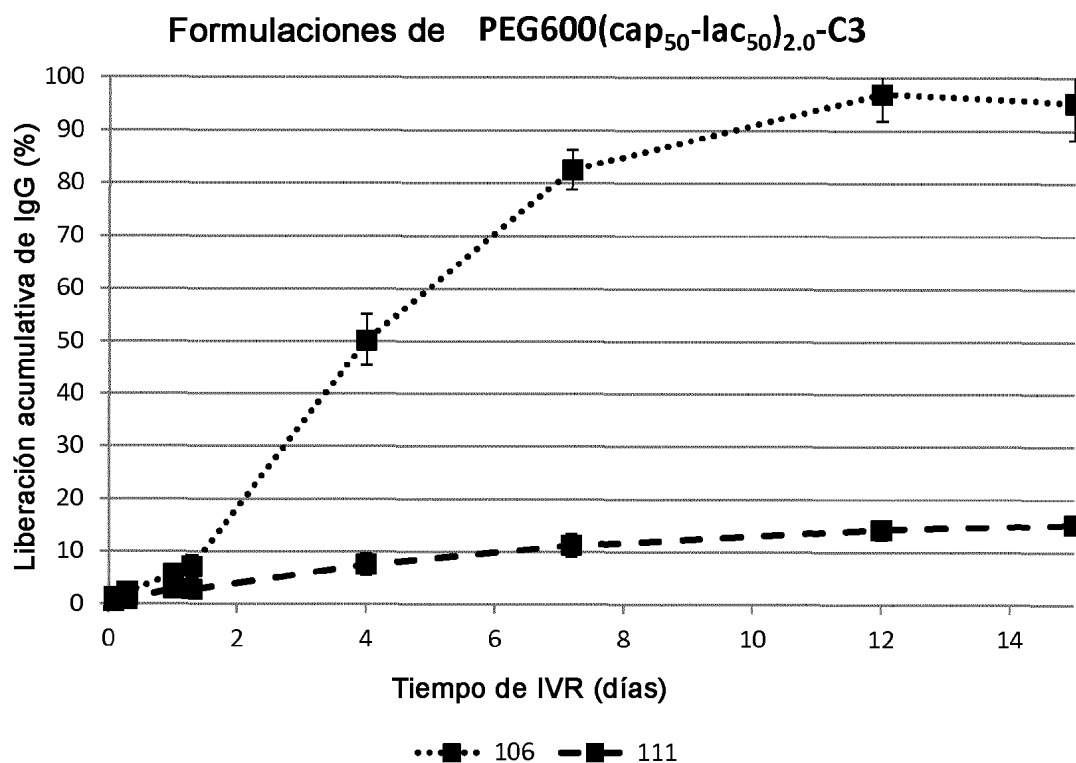


Fig. 13: Formulaciones de PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2.0}-C3 cargadas con IgG 2,5 mg/ml

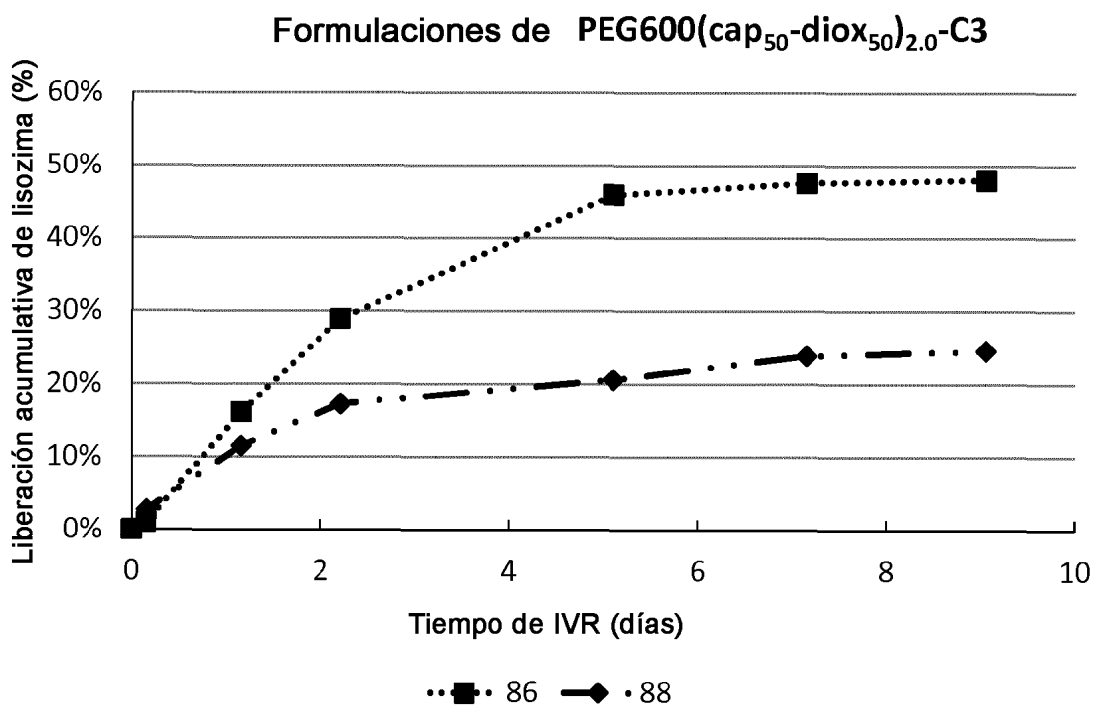


Fig. 14: Copolímero tribloque de PEG600(cap₅₀-diox₅₀)_{2.0}-C3 con diferentes tensioactivos, carga del 1% de lisozima

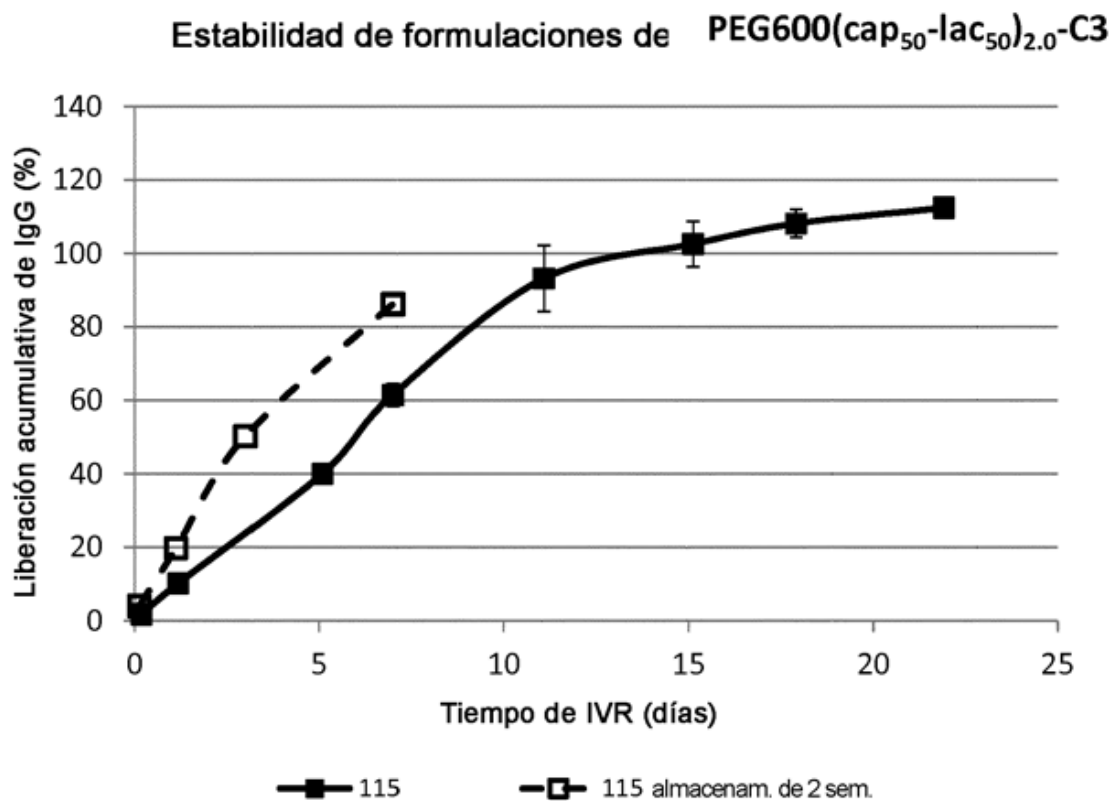


Fig. 15: IVR de la formulación 115, directamente después de la preparación y después de dos semanas de almacenamiento

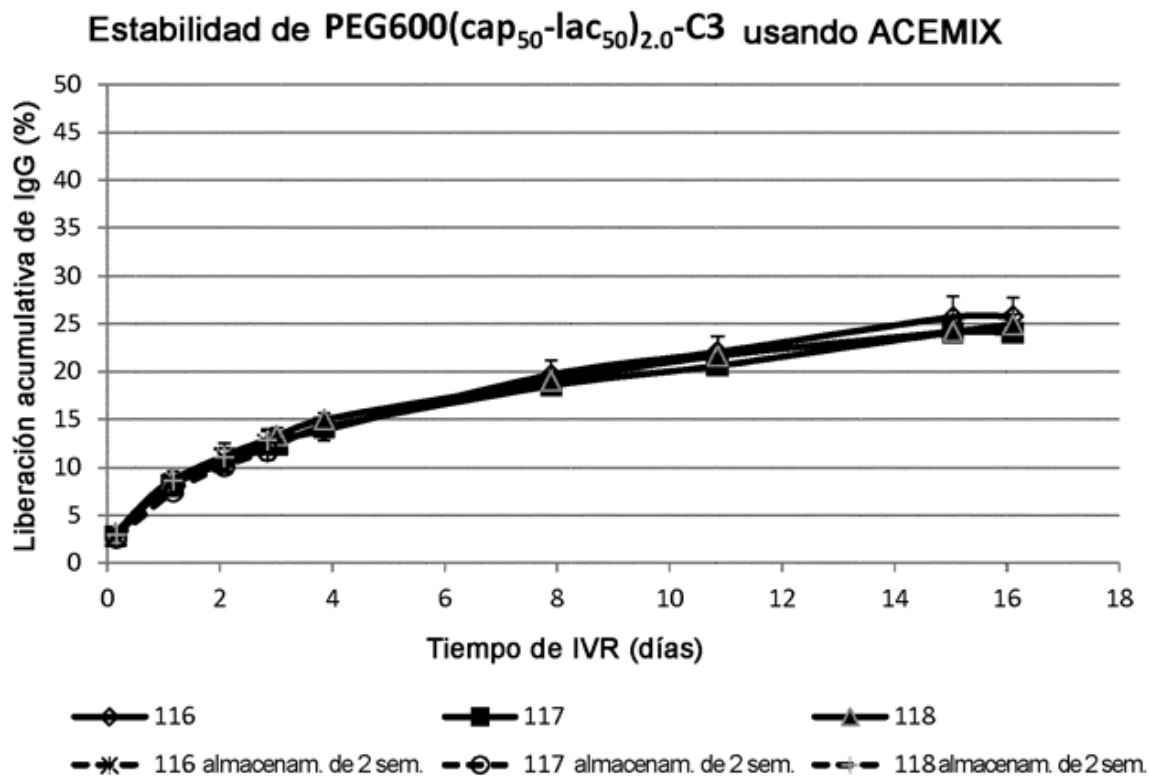


Fig. 16: IVR de IgG de formulaciones de PEG600(cap₅₀-lac₅₀)_{2.0}-C3 con dos tensioactivos

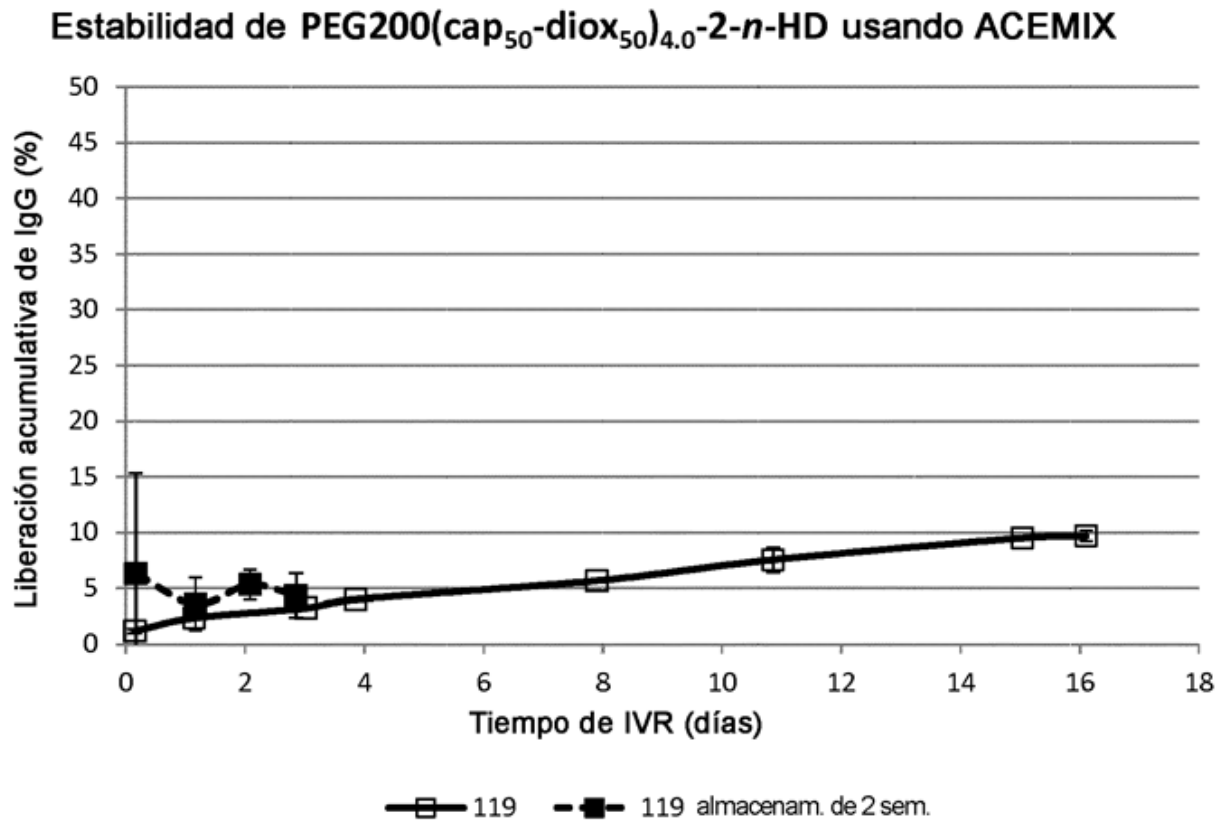


Fig. 17: IVR de lisozima de formulaciones de PEG600(cap₅₀-diox₅₀)_{4.0}-2-*n*-HD con dos tensioactivos

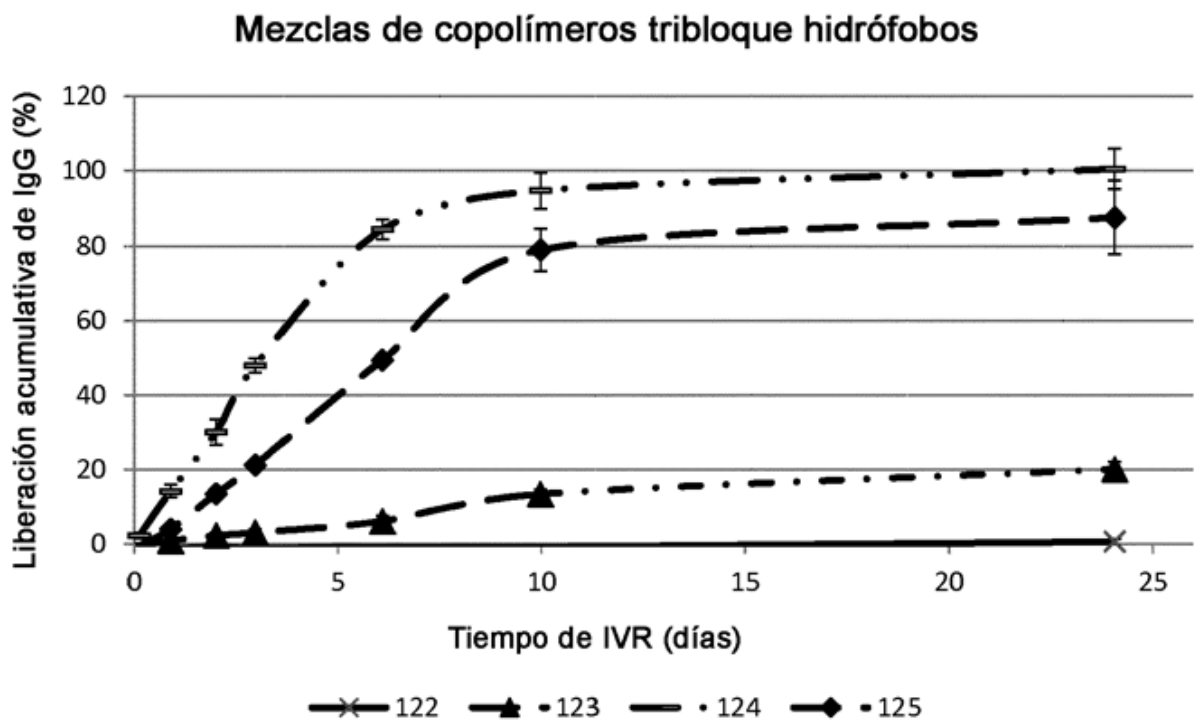


Fig. 18: IVR de mezclas de copolímeros tribloque hidrófobos cargadas con IgG



Fig 19: Experimento ex-vivo