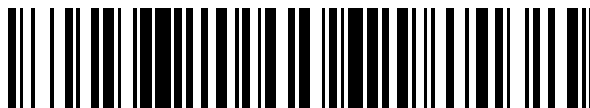


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 566**

21 Número de solicitud: 201531087

51 Int. Cl.:

A61K 47/34 (2006.01)

A61L 27/18 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

23.07.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

24.09.2015

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE
COMPOSTELA (100.0%)
Edificio EMPRENDIA - Campus Vida
15782 Santiago de Compostela (A Coruña) ES**

72 Inventor/es:

**GARCÍA GONZÁLEZ, Carlos A;
DÍAZ GÓMEZ, Luis A;
ÁLVAREZ LORENZO, Carmen y
CONCHEIRO NINE, Ángel J**

74 Agente/Representante:

TORRENTE VILASÁNCHEZ, Susana

54 Título: **Sistema para la administración de sustancias biológicamente activas preparado por técnicas de espumado empleando gases comprimidos o fluidos supercríticos**

57 Resumen:

Sistema para la administración de sustancias biológicamente activas preparado por técnicas de espumado empleando gases comprimidos o fluidos supercríticos. La presente invención se refiere a un sistema poroso conteniendo sustancias biológicamente activas que comprende una matriz polimérica de ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) o una mezcla polimérica conteniendo ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca, inferior a 0,5 dL/g con otros poliésteres sintéticos o semisintéticos biodegradables, un componente regulador de cesión (almidón y derivados) y una o varias sustancias biológicamente activas, caracterizado por ser una matriz biodegradable de consistencia sólida o semisólida con aspecto homogéneo, un procedimiento para la preparación de dichos sistemas usando espumado con fluidos comprimidos y uso para la fabricación de implantes y andamiajes que comprenden dicho sistema. Opcionalmente, un agente porogénico puede ser utilizado para la formación de macroporos por descomposición térmica.

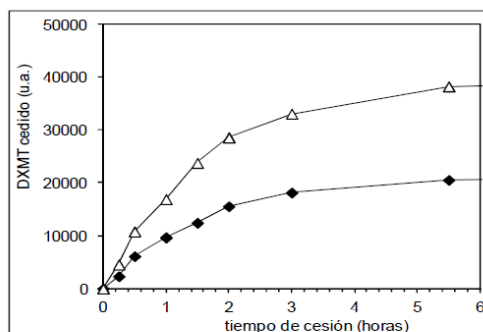


Figura 2 (a)

DESCRIPCIÓN

Sistema para la administración de sustancias biológicamente activas preparado por técnicas de espumado empleando gases comprimidos o fluidos supercríticos.

Sector de la técnica

- 5 La invención se dirige a un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas. Más concretamente, el sistema comprende una matriz que comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) (PLGA). La invención también se dirige a un procedimiento para la preparación de dichos sistemas, más concretamente el procedimiento comprende una etapa de espumado empleando un gas comprimido o fluido supercrítico. Alternativamente, se incorpora un agente porogénico para formar macroporos por descomposición térmica. La invención también se dirige a los usos de estos sistemas.

Estado de la técnica

- 15 En medicina regenerativa se requiere disponer de implantes sintéticos que actúen como andamiajes (scaffolds) tridimensionales y participen activamente en la regeneración del tejido, actuando como sistemas de cesión de sustancias activas y guiando el crecimiento del tejido.

- 20 Los poliésteres son un grupo de polímeros biodegradables ampliamente utilizados para construir andamiajes. Uno de los más comunes es el ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) (PLGA), que se degrada dando lugar a oligómeros y monómeros por hidrólisis de sus enlaces éster. Las propiedades físicas y mecánicas y la resistencia a la degradación de este polímero se pueden ajustar regulando la relación de monómeros, el peso molecular y el grado de cristalinidad (*Makadia HK, Siegel SJ, Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. Polym 3, 1377-1397, 2011*). Se ha descrito que microesferas de PLGA presentan un tiempo de degradación variable desde 8 a 35 semanas siendo particularmente dependiente de la relación láctico:glicólico del PLGA (*Anderson JM, Shive MS, Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. Adv Drug Del Rev 64, 72-82, 2012*). Esta variedad de tiempos de degradación permite adaptar la cinética de degradación del andamiaje a la velocidad de crecimiento del tejido en formación, lo cual es esencial para el buen funcionamiento del andamiaje y regenerar el tejido.

- 35 El empleo de PLGA de baja viscosidad intrínseca es especialmente adecuado para la regeneración de tejido óseo, ya que el tiempo de degradación es de entre 8 a 10 semanas. Sin embargo, se ha descrito que la preparación de una matriz porosa de PLGA de viscosidad intrínseca baja (0,2 dL/g) mediante el método de espumado con CO₂ ha resultado en un andamiaje con una inadecuada consistencia, ya que la matriz experimentó una expansión por espumado tan pronunciada que el andamiaje perdió su integridad física y mecánica y por lo tanto resultó un andamiaje no útil (*Sheridan MH, Shea LD, Peters MC, Mooney DJ, Bioabsorbable polymer scaffolds for tissue engineering capable of sustained growth factor delivery. J Control Release 2000, 64 (1-3), 91-102*).

- 40 Además, los andamiajes basados en PLGA de viscosidad intrínseca baja presentan una escasa capacidad de control de la cesión de las sustancias biológicamente activas que se incorporan a la matriz polimérica de PLGA (*Graves RA, Pamujula S, Moiseyev R, Freeman Th, Bostanian LA, Mandal TK, Effect of different ratios of high and low molecular weight PLGA blend on the characteristics of pentamidine microcapsules. Int J Pharm 2004, 270, 251-262*).

Por otro lado, técnicamente resulta muy difícil conseguir andamiajes de porosidad dual mediante espumado con gases comprimidos o fluidos supercríticos. Para obtener macroporos de 200-600 micras se suele recurrir a la incorporación en el andamiaje de partículas hidrosolubles como por ejemplo cloruro sódico, bicarbonato sódico, glucosa, dextrina o trehalosa que, mediante lixiviación posterior, dan lugar a macroporos en la matriz polimérica. El proceso de lixiviación tiene los inconvenientes de que durante el lavado se puede perder una proporción significativa de las sustancias activas y de que requiere una etapa adicional de secado de los scaffolds, alargando el tiempo de procesado (*Kim SS, Ahn KM, Park MS, Lee JH, Choi CY, Kim BS, A poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffold with enhanced osteoconductivity. J Biomed Mater Res A 2007, 80A (1), 206-215*).

De este modo, todavía existe la necesidad de proporcionar matrices porosas basadas en PLGA de viscosidad intrínseca baja con unas propiedades que la hagan útiles para la fabricación de andamiajes, y que sean capaces de incorporar sustancias biológicamente activas y cederlas de manera controlada a lo largo del tiempo.

Descripción breve de la invención

Los autores de la presente invención han desarrollado un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas basado en PLGA de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g, que permite ceder las sustancias biológicamente activas de manera controlada a lo largo del tiempo. Además el sistema de la invención comprende una matriz biodegradable, porosa, homogénea, de consistencia sólida o semisólida, características que lo hacen especialmente adecuado para medicina regenerativa y en particular para preparar andamiajes.

Así, en un primer aspecto, la invención se refiere a un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas que comprende una matriz biodegradable homogénea de consistencia sólida o semisólida de porosidad superior al 50%, dicha matriz comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g, y al menos una sustancia biológicamente activa.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a un procedimiento para la obtención de un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas que comprende una matriz biodegradable homogénea de consistencia sólida o semisólida de porosidad superior al 50%, dicha matriz comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) y al menos una sustancia biológicamente activa, que comprende:

a) preparar una mezcla física que comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) y una sustancia biológicamente activa, y opcionalmente un agente porogénico;

b) calentar la mezcla a una temperatura igual o inferior a 40°C;

c) poner en contacto la mezcla con un gas comprimido o fluido supercrítico a una presión de entre 40 y 120 bar y a una temperatura de entre 20 y 40°C, entre 5 minutos y 24 horas; y

d) despresurización a una velocidad de entre 2 y 8 bar/min con enfriamiento mediante la adición de un líquido comprimido, que es gaseoso a 25°C y 1 atmósfera de presión, a una temperatura de entre -196° y 19°C.

En una realización particular del segundo aspecto de la invención, el poli(D,L-láctico-co-glicólico) tiene una viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g.

Un tercer aspecto de la invención, se refiere a un sistema obtenible mediante el procedimiento descrito anteriormente.

Un cuarto y quinto aspecto de la invención se refieren a un implante y un andamiaje que comprende un sistema según se ha descrito anteriormente, respectivamente.

Un sexto aspecto de la invención se refiere al uso de los sistemas de la invención, del implante o del andamiaje de la invención, para la fabricación de un medicamento. En una realización particular, la invención se dirige a los sistemas, los andamiajes y los implantes como se han descrito anteriormente, para su uso como medicamento. En otra realización particular, el medicamento es para el tratamiento de estados patológicos o fisiológicos en humanos o animales. En una realización más particular, el medicamento es para regeneración ósea. En otra realización particular, el medicamento es para regeneración de cartílago. En otro aspecto, la invención se dirige hacia el uso del sistema como se ha definido anteriormente para la preparación de andamiajes para medicina regenerativa e ingeniería de tejidos.

El andamiaje según la invención es adecuado como un implante monolítico o como un sistema multiparticular, para cesión controlada de las sustancias biológicamente activas en el lugar de aplicación y para inducción de diferenciación celular y regeneración de un tejido. En una realización particular, los sistemas de la invención, implantes y andamiajes según se han descrito anteriormente, forman parte de un implante monolítico o multiparticular. En una realización particular, el sistema de la invención se puede obtener como un conjunto de partículas o como implante monolítico para cesión controlada en el lugar de aplicación sin efectos tóxicos.

Descripción de las figuras

Figura 1. Imagen por microscopía confocal de un scaffold preparado a partir de PLGA, poli(ϵ -caprolactona) (PCL), almidón y lisozima marcada con isotiocianato de fluoresceína (FITC) en proporción en peso 85:10:5.

Figura 2. Perfiles de cesión de dexametasona en medio tampón fosfato de matrices de 10 miligramos preparadas a partir de mezclas de (i) PCL:PLGA 50:50 peso/peso, dexametasona y almidón pregelificado en proporción en peso 85:5:10 (diamantes); (ii) PCL:PLGA 50:50 peso/peso y dexametasona 85:5 (triángulos). Perfiles de cesión a (a) 6 horas y (b) 3 semanas.

Figura 3. Ensayo de citotoxicidad a 7 días de scaffolds de PCL, PLGA, almidón y PRGF en proporción en peso 42,5:42,5:5:10 por sembrado de células madre mesenquimales. Las células vivas están teñidas en verde con calceína (en gris en la figura) y las muertas en rojo con yoduro de propidio (ausente en la figura).

Figura 4. Ensayo Quant-IT PicoGreen dsDNA de proliferación a 3 (barras de color gris) y 7 días (barras de color negro) de células madre mesenquimales sembradas en scaffolds de (a) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p PCL, (b) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p y PRGF al 5% en relación al peso de la mezcla PCL:PLGA; y(c) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p con almidón pregelificado a 90°C (st) y PRGF al 10 y 5%, respectivamente, en relación al peso de la mezcla PCL:PLGA.

Figura 5. Imagen por microscopía SEM de un scaffold de porosidad dual preparado a partir de (a) mezclas de PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y un agente porogénico (bicarbonato amónico) en proporción en peso 50:50; (b) mezclas de PCL:PLGA 50:50 p/p y un agente porogénico (bicarbonato amónico) en proporción en peso 50:50; (c) mezclas de PCL:PLGA 50:50 peso/peso; (d) mezclas de PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p, almidón pregelificado a 120°C y bicarbonato amónico en proporción en peso 45:5:50; y (e) mezclas de PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p, almidón pregelificado a 120°C en proporciones en peso 85:10. Escala: 50 μ m.

Descripción detallada de la invención

La invención se refiere a un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas, como se ha definido previamente, que presenta unas características especialmente adecuadas para la regeneración de tejido óseo y cartilaginoso. Así, en un primer aspecto, la invención se refiere a un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas que comprende una matriz biodegradable, homogénea, de consistencia sólida o semisólida, de porosidad superior al 50%, dicha matriz comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g, y al menos una sustancia biológicamente activa.

El ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) (PLGA) es un polímero sintético biodegradable de la familia de los poliésteres alifáticos, en concreto es un alfa-hidroxiácido copolímero de ácido poliláctico y ácido poliglicólico. El ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) para la presente invención también incluye los copolímeros de ácido poliláctico y ácido poliglicólico con un grupo terminal seleccionado de entre hidroxilo, carboxilo y éster. El PLGA de la invención tiene una relación láctico:glicólico de entre 85:15 a 40:60, preferiblemente entre 75:25 a 50:50.

El PLGA está siendo objeto de especial atención para aplicaciones biomédicas y ha sido aprobado para ciertas aplicaciones por la FDA. El PLGA se degrada por hidrólisis de sus enlaces éster en el medio acuoso del organismo. Las propiedades físicas y mecánicas y la resistencia a la degradación de este polímero se pueden ajustar regulando la relación de monómeros, el peso molecular y el grado de cristalinidad (*Makadia HK, Siegel SJ, Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. Polym 3, 1377-1397, 2011*).

Como se ha comentado anteriormente, el PLGA de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g se degrada a una velocidad más adecuada que otros tipos de PLGA para la regeneración de hueso o de cartilago. Por este motivo, el tipo de PLGA preferido de la presente invención es aquel PLGA que tiene una viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g.

La "viscosidad intrínseca" se refiere a la medida del tiempo de flujo de una solución polimérica a través de un capilar estrecho respecto al tiempo de flujo del disolvente puro a través del mismo capilar. Se trata de un método reológico para determinar el peso molecular de un polímero y se expresa generalmente en unidades de decilitros por gramo.

La expresión "matriz homogénea" se refiere a aquella matriz con uniformidad espacial en su estructura y uniformidad en su composición. En una matriz homogénea, como la de la invención, no hay trazas de las morfologías pulverulentas propias de los materiales de partida como se demuestra en los ejemplos y en particular en el ejemplo 1 y figura 1. En la figura 1 se observa además la distribución uniforme de la lisozima, la sustancia biológicamente activa empleada en el correspondiente ejemplo.

En una realización particular, el sistema de la invención comprende además un compuesto regulador de la cesión seleccionado del grupo que consiste en un oligosacárido y un polisacárido. La adición de un compuesto regulador de la cesión al sistema de la invención permite modular el perfil de cesión de la sustancia activa. En la figura 2 se pueden comparar los perfiles de liberación de dexametasona cuando el sistema comprende almidón frente a un sistema que no lo comprende. Se observa que, a periodos cortos de tiempo, inferiores a 7 días, la cantidad cedida de la sustancia biológicamente activa es hasta la mitad respecto al sistema que no comprende el polisacárido. Mientras que a periodos más largos de tiempo, por ejemplo 21 días, la cantidad de sustancia activa cedida es del mismo orden en ambos sistemas.

El término "compuesto regulador de la cesión" se refiere a aquel compuesto que modula la cesión de sustancias biológicamente activas en una formulación a fin de obtener un perfil de cesión adecuado para que se manifieste el efecto terapéutico.

5 En una realización particular de la invención, el compuesto regulador de la cesión es almidón o un derivado de almidón. Por "derivado de almidón" se entiende un oligómero o polímero obtenido a partir de almidón como producto de partida por modificación física, química o enzimática. En una realización particular de la invención, el componente regulador de la cesión es un derivado del almidón obtenido por modificación química total o parcial por acilación, acetilación u oxidación por sustitución de parte de los grupos hidroxilo del almidón por grupos acilo, acetilo o éter. De este modo es posible incrementar la hidrofobicidad y propiedades mecánicas del almidón.

15 El almidón es un polisacárido natural compuesto por una mezcla de amilosa y amilopectina, y algunos de sus derivados. En estado nativo, el almidón se presenta en forma de gránulos parcialmente cristalinos difíciles de mezclar con polímeros sintéticos, como por ejemplo el PLGA (*Mani R, Bhattacharya M, Properties of injection moulded blends of starch and modified biodegradable polyesters. Eur Polym J 37, 515-526, 2001; Wang N, Yu J, Chang PR, Ma X, Influence of formamide and water on the properties of thermoplastic starch/poly(lactic acid) blends. Carbohydrate Polym 71, 109-118, 2008*). Además, la incorporación de almidón a los andamiajes puede facilitar la adhesión, proliferación y diferenciación celular.

20 Sin embargo, la incorporación de un oligosacárido o polisacárido a los sistemas de la invención está dificultada por la baja compatibilidad entre el oligosacárido o polisacárido, en particular el almidón, y el PLGA. Si se aplica un tratamiento previo al almidón antes de emplearlo, es posible mejorar dicha compatibilidad. De este modo, en una realización particular, el compuesto regulador de la cesión es almidón pregelificado.

25 En una realización particular de la invención, la proporción del compuesto regulador de la cesión está comprendida entre el 0,1% y el 25% en peso respecto al PLGA de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g.

30 Otra ventaja de los sistemas de la invención que comprenden almidón es que proporcionan un mayor grado de proliferación celular, como se demuestra en el ejemplo 3 y se ilustra en la figura 4. En una realización preferida, los sistemas de la invención comprenden almidón pregelificado.

35 En una realización particular, los sistemas de la invención como se han descrito anteriormente comprenden además un poliéster sintético o semisintético biodegradable diferente al ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g. En una realización particular, el poliéster sintético o semisintético se selecciona del grupo consistente en ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) con viscosidad intrínseca superior a 0,5 dL/g, poli(epsilon-caprolactona), ácido poliláctico, ácido poliglicólico, polibutilensuccinato, poli(p-dioxanona), policarbonato, polihidroxitirato, y los copolímeros de los mismos.

40 En una realización particular, en los sistemas de la invención como se han descrito anteriormente, la matriz comprende además un componente regulador de la cesión como se ha descrito anteriormente y un poliéster sintético biodegradable diferente al ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g, como se ha descrito anteriormente.

45 En una realización más particular, en los sistemas de la invención como se han descrito anteriormente, la matriz comprende además almidón pregelificado y poli-epsilon-caprolactona.

- Una realización preferida de la invención se refiere a un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas que comprende una matriz biodegradable homogénea de consistencia sólida o semisólida de porosidad superior al 50%, dicha matriz comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g, al menos una sustancia biológicamente activa, un compuesto regulador de la cesión seleccionado del grupo que consiste en un oligosacárido y un polisacárido, y un poliéster sintético o semisintético biodegradable diferente al ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g.
- En una realización aún más preferida, la invención se refiere a un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas que comprende una matriz biodegradable homogénea de consistencia sólida o semisólida de porosidad superior al 50%, dicha matriz comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g, al menos una sustancia biológicamente activa, almidón pregelificado y poli(epsilon-caprolactona).
- En otra realización particular, los sistemas de la invención comprenden además un agente plastificante. En una realización particular, el agente plastificante se selecciona de entre agua, glicerol, sorbitol, maltitol, xilitol, polietilenglicol, formamida, urea, propilenglicol, trietilenglicol y ácidos grasos.
- En una realización particular de la invención, el agente plastificante está en una proporción de entre 0,5 y 65% en peso respecto al componente regulador de cesión. El agente plastificante mejora la compatibilidad del compuesto regulador de la cesión con el PLGA.
- La presente invención se refiere también a un procedimiento para la obtención de un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas que comprende una matriz biodegradable homogénea de consistencia sólida o semisólida de porosidad superior al 50%, dicha matriz comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) y al menos una sustancia biológicamente activa, que comprende:
- preparar una mezcla física que comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) y una sustancia biológicamente activa, y opcionalmente un agente porogénico;
 - calentar la mezcla a una temperatura igual o inferior a 40°C;
 - poner en contacto la mezcla con un gas comprimido o fluido supercrítico a una presión de entre 40 y 120 bar y a una temperatura de entre 20 y 40°C, entre 5 minutos y 24 horas; y
 - despresurización a una velocidad de entre 2 y 8 bar/min con enfriamiento mediante la adición de un líquido comprimido, que es gaseoso a 25°C y 1 atmósfera de presión, a una temperatura de entre -196° y 19°C.
- En una realización preferida, el ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) empleado en la etapa a) del procedimiento de la invención tiene una viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g. El procedimiento de la invención está diseñado particularmente para la obtención de sistemas que comprenden una matriz basada en PLGA de viscosidad intrínseca baja, en concreto de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g, ya que evita los problemas encontrados en la técnica para este material que pierde su integridad física y mecánica haciéndolo inútil para su propósito como implante o andamiaje.
- Desde el punto de vista del procesado, el uso de la tecnología de gases comprimidos y fluidos supercríticos ha emergido como una alternativa viable, reproducible y respetuosa con el medio ambiente para obtener andamiajes y componentes de andamiajes libres de trazas de disolventes aplicando condiciones de procesado moderadas. Las técnicas de espumado empleando CO₂ en forma de gas comprimido o en condiciones supercríticas como soluto de

un polímero, permiten obtener, en pocas etapas, materiales de porosidad y distribución porosa controladas, a una temperatura compatible con componentes termosensibles y sin necesidad de utilizar disolventes orgánicos que pueden causar problemas medioambientales y comprometer la biocompatibilidad del andamiaje (*De Ponti R, Lardini E, Martini A, Torricelli C, Use of supercritical fluids to obtain porous sponges of biodegradable polymers. WO1991009079 A1*).

El procedimiento al que se refiere la invención tiene las ventajas de que no requiere la incorporación de disolventes orgánicos o agua en ninguna de sus etapas, se lleva a cabo en un único paso, y las temperaturas de trabajo están comprendidas entre 20 y 40°C que son compatibles con la incorporación de componentes termosensibles como las sustancias biológicamente activas, además transcurre en condiciones respetuosas con el medioambiente, y supera las limitaciones actuales de empleo de polímeros de baja viscosidad intrínseca como PLGA de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g.

El procedimiento al que se refiere la invención se basa en la fusión o el calentamiento de la mezcla polimérica por encima de la temperatura de transición vítrea de PLGA, o de la mezcla polimérica conteniendo PLGA en el caso de que hubiese componentes adicionales como se ha descrito arriba.

En la etapa a) del procedimiento es posible añadir otros compuestos que son útiles para la funcionalidad del sistema obtenido. En una realización particular, la mezcla física de la etapa a) comprende además un compuesto regulador de cesión y/o un poliéster sintético biodegradable diferente al ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g.

En una realización particular, el procedimiento según se ha descrito anteriormente, comprende una etapa adicional, anterior a la etapa a), en la que el compuesto regulador de cesión es pregelificado en medio acuoso a una temperatura entre 70 y 140°C, enfriado y secado previamente a la incorporación en la mezcla de la etapa a).

En una realización particular de la invención, el almidón ha sido pregelificado en medio acuoso a una temperatura entre 70 y 140°C, enfriado y secado en un horno o mediante liofilización o secado supercrítico tras paso previo de cambio de disolvente.

La invención proporciona además un método para eliminar un agente porogénico con la condición de que el agente porogénico se selecciona del grupo que consiste en bicarbonato amónico, carbonato amónico, bicarbonato sódico y fosfato amónico, mediante descomposición térmica. De este modo se evitan etapas como la lixiviación que arrastra la sustancia biológicamente activa presente en el sistema. El secado tras la lixiviación tampoco es necesario.

Así, en una realización particular, el procedimiento según se ha descrito anteriormente comprende una etapa adicional de eliminación del agente porogénico, con la condición de que el agente porogénico empleado en la etapa a) se selecciona del grupo que consiste en bicarbonato amónico, carbonato amónico, bicarbonato sódico y fosfato amónico, que comprende calentar el material obtenido en la etapa d) a una temperatura de entre 20 y 50°C.

En una realización particular, el procedimiento según se ha descrito anteriormente comprende además la formación de un andamiaje como un implante monolítico o un sistema multiparticular.

En otra realización particular, la proporción de ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico), frente al compuesto regulador de cesión está comprendida entre el 75% y el 99.9%.

La preparación de la mezcla física, según la etapa a) del procedimiento, se puede realizar empleando técnicas habituales de mezclado, como por ejemplo una mezcladora de paletas, una mezcladora planetaria o una mezcladora tipo túrbula.

5 La aplicación de un gas comprimido o fluido supercrítico como medio de procesado, según la etapa c) del procedimiento de la invención, se puede llevar a cabo, por ejemplo, mediante presurización de un autoclave termostatzado con un compresor o una bomba o introducción de CO₂ líquido o hielo seco en el citado autoclave. En esta etapa, las sustancias biológicamente activas se pueden encontrar disueltas o en suspensión respecto a la mezcla polimérica. En una realización particular, el tiempo de contacto entre el gas comprimido o
10 fluido supercrítico y la mezcla es de entre 5 minutos y 24 horas. En una realización más particular, es de entre 15 minutos y 1 hora. En una realización preferida, es de entre 20 minutos y 40 minutos.

15 La mezcla de la etapa c) se despresuriza y se enfría de manera secuencial o conjunta para obtener el sistema de la invención anteriormente descrito con consistencia sólida o semisólida y aspecto homogéneo. El dióxido de carbono interacciona con los polímeros actuando de plastificante y agente de hinchamiento, reduciendo así la temperatura de transición vítrea y/o la temperatura de fusión en el caso de que en la mezcla esté presente un poliéster sintético biodegradable. La cantidad de dióxido de carbono absorbida durante el procesado y el consiguiente hinchamiento de la mezcla polimérica es proporcional a la
20 temperatura y presión del medio de procesado. Durante la eliminación del CO₂, tiene lugar una inestabilidad termodinámica que conlleva la formación de volumen hueco (porosidad) por nucleación. Cuando el CO₂ abandona la matriz, la temperatura de fusión o de transición vítrea aumenta por encima de la temperatura de trabajo y el scaffold se vitrifica. Durante la despresurización, según la etapa d), en condiciones ambientales, la velocidad de desgasificación o despresurización influye en el tamaño de poro y la interconectividad del scaffold final. La velocidad de enfriamiento durante la despresurización también influye en el tamaño de poro y la interconectividad del scaffold final.

25 La resistencia a la expansión de los poros tras nucleación es muy baja para matrices poliméricas con componentes de baja viscosidad intrínseca (<0,5 dL/g), formándose poros muy grandes (superiores a un milímetro). En esta realización particular, tras una despresurización parcial, se añade líquido comprimido frío para enfriar la muestra, reducir la viscosidad de la mezcla por descenso de temperatura y contener la expansión de los poros. Dicho líquido comprimido ha de ser gaseoso a presión y temperatura ambiente. El CO₂ líquido o N₂ líquido se empleará preferentemente.

35 En una realización particular, un agente sólido porogénico se incorpora a la matriz antes de la etapa de mezclado. En una realización más particular, dicho agente porogénico se descompone térmicamente mediante una etapa de post-procesado por calentamiento del material a temperatura comprendida entre 20 y 50°C. En una realización preferida, el agente porogénico es bicarbonato amónico. En una realización particular de la invención, la
40 proporción de agente porogénico está comprendida entre el 15% y el 65% en peso del material polimérico biocompatible.

En otro aspecto, la invención también se dirige al sistema para la administración de sustancias biológicamente activas, obtenible mediante el procedimiento según se ha descrito anteriormente.

45 Poniendo en práctica el procedimiento de la invención se obtienen sistemas con una porosidad superior al 50% (ver ejemplos), que es una porosidad conveniente en implantes para la regeneración ósea teniendo en cuenta que los implantes para regeneración ósea han de ser capaz de emular la morfología ósea. Para ello, es favorable emplear una matriz con propiedades texturales adecuadas para facilitar el ingreso, adhesión y proliferación

celular así como la neovascularización y difusión de gases y nutrientes a las células. Así, resulta conveniente utilizar por tanto una matriz con porosidad análoga a la del hueso trabecular de entre 50 y 90%, preferiblemente próximo a su valor superior (*Karageorgiou V, Kaplan D, Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis, Biomater. 2006, 26, 5474-5491*) (*Rezvan K, Chen QZ, Blaker JJ, Boccaccini AR, Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering, Biomater. 2006, 27, 3413-3431*).

Como resultado del procedimiento de la invención, se obtienen sistemas con poros cóncavos (ver ejemplos). Esta geometría de los poros es adecuada para la aplicación de los sistemas de la invención a regeneración de tejidos ya que influye en el crecimiento (*Zadpoor AA, Bone tissue regeneration: the role of scaffold geometry, Biomater. Sci., 2015, 3, 231-245*).

Los sistemas obtenibles mediante el procedimiento de la invención tienen un espesor de la pared del poro uniforme y netamente inferior al tamaño de poro.

La presente invención emplea un medio de procesado en condiciones de gas comprimido o de fluido supercrítico. Un fluido está en condiciones supercríticas cuando su presión y temperatura están por encima de las de su punto crítico y se caracteriza por propiedades intermedias entre las de un líquido y un gas. Ejemplos de fluidos que pueden ser utilizados con esta invención se seleccionan de dióxido de carbono (CO₂), agua, protóxido de nitrógeno, metano, etano, etileno, propano, pentano, benceno, metanol, etanol, isopropanol, varios fluorocarbonos tales como clorotrifluorometano y monofluorometano, tolueno, piridina, ciclohexano, decalina, ciclohexanol, o-xileno y tetralina. La presente invención contempla el uso de estas sustancias por separado o en combinación, así como el empleo de aditivos. En una realización particular de la invención, el gas comprimido o fluido supercrítico es el CO₂. El uso individual de CO₂ como medio de procesado es preferido por su no inflamabilidad, bajo coste y su fácil eliminación del medio a la temperatura y presión ambiente. No habrá, por tanto, CO₂ residual en el producto final que pueda contribuir a problemas en su uso.

El término "sustancia biológicamente activa" se refiere a cualquier sustancia que altera, promueve, acelera, prolonga, inhibe, activa o al menos afecta a los procesos biológicos o químicos que tienen lugar en seres humanos y animales. Cuando una o varias sustancias biológicamente activas se incorporan al sistema de la invención, éstas se encuentran dispersas a nivel molecular o particular. El sistema es adecuado para incorporar sustancias biológicamente activas independientemente de las características de solubilidad de las mismas. Debido a las características de los componentes del sistema y las condiciones de procesado, éste es especialmente adecuado para incorporar sustancias biológicamente activas termosensibles.

En una realización particular, los sistemas de la invención pueden comprender además otra sustancia biológicamente activa.

En una realización particular, las sustancias biológicamente activas se seleccionan entre hormonas, antiinflamatorios, antineoplásicos, agentes antimicrobianos y sustancias morfogénicas para reparación de defectos óseos y otras aplicaciones en medicina regenerativa. En una realización más particular, la sustancia biológicamente activa es la mezcla de factores de crecimiento contenido en una preparación rica en plaquetas (PRGF). En otra realización particular, la sustancia biológicamente activa es una preparación rica en factores de crecimiento. Esta preparación está destinada a favorecer la regulación de las interacciones de células entre sí y con la matriz extracelular en tejidos blandos y huesos.

En otra realización particular, la proporción de sustancia biológicamente activa está comprendida entre el 0,1% y el 15% en peso respecto al ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico).

5 En una realización particular, la invención se refiere a una etapa adicional al procedimiento descrito, que comprende la formación de implantes: el sistema enfriado se puede dividir en porciones por corte. En una realización aún más particular, la eliminación de una película externa fina, densa y no porosa puede ser necesaria antes de ser utilizada para propósitos de implantación.

Los sistemas obtenidos, en forma de partículas o con otra morfología adecuada para su implantación, son adecuados como implantes capaces de proporcionar una cesión de sustancias biológicamente activas ajustable a requerimientos específicos.

10 En una realización preferida, la invención se dirige al uso de un sistema como el definido anteriormente en la preparación de un implante capaz de ceder una sustancia biológicamente activa para la reparación de defectos óseos.

En otro aspecto, la invención se refiere a un implante que comprende un sistema según se ha descrito anteriormente.

15 En otro aspecto, la invención se refiere a una andamiaje que comprende un sistema según se ha descrito anteriormente.

En otro aspecto, la invención se refiere al uso de los sistemas de la invención descritos anteriormente, del implante de la invención o del andamiaje de la invención, para la fabricación de un medicamento.

20 En una realización particular, el medicamento es para el tratamiento de estados patológicos o fisiológicos en humanos o animales.

En una realización particular, el medicamento es para regeneración ósea.

En una realización particular, el medicamento es para regeneración de cartílago.

A continuación, para una mejor comprensión de la invención se proporcionan los siguientes ejemplos, sin que éstos supongan una limitación a la invención.

25 **Ejemplo 1. Preparación de matrices de PLGA/PCL con almidón y lisozima**

30 Se prepararon mezclas de PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p y se incorporaron lisozima marcada con FITC y almidón pregelificado a 90°C y secado al horno al 5 y 10% en relación al peso de mezcla PCL:PLGA, respectivamente, en una mezcladora tipo turbula (WAB AG Maschinenfabrik, T2C, Suiza). Dicha mezcla se procesó en forma de comprimidos de 400 mg en una máquina de comprimir excéntrica (Erweka Apparatebau, E KOW, Frankfurt, Alemania). Se puso en contacto dicha mezcla con medio CO₂ comprimido a 60 bar y temperatura ambiente (21°C) en un autoclave (100 mL, TharSFE) durante 30 min. A continuación, el CO₂ se despresurizó hasta presión atmosférica a una velocidad de 5 bar/min con tres adiciones periódicas de 10-15 g de CO₂ líquido a 1°C y 60 bar. Se eliminó
35 la película externa no porosa del scaffold con un bisturí y se procedió a la caracterización de dicho scaffold.

40 El scaffold obtenido presenta una porosidad del 75% por picnometría de helio y poros de alta curvatura con superficie cóncava, espesores de pared de 10-20 micras y un tamaño medio de poro de en torno a 50 micras por microscopía SEM. La imagen por microscopio confocal (Figura 1) de la sección del scaffold muestra una distribución homogénea de la lisozima dentro de dicho scaffold (regiones blancas intensas en la imagen).

Ejemplo 2. Preparación de matrices de PLGA/PCL con almidón y dexametasona y ensayos de cesión de dexametasona

Se prepararon dos mezclas de: (a) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p con dexametasona al 5% en relación al peso de mezcla PLGA:PCL y (b) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p con dexametasona y almidón pregelificado a 120°C y secado al 5 y 10% en relación al peso de mezcla PLGA:PCL, respectivamente, en una mezcladora tipo turbula (WAB AG Maschinenfabrik, T2C, Suiza). Dichas mezclas se procesaron en forma de comprimidos de 400 mg en una máquina de comprimir excéntrica (Erweka Apparatebau, E KOW, Frankfurt, Alemania). Se pusieron en contacto dichas mezclas con medio CO₂ comprimido a 60 bar y temperatura ambiente (27°C) en un autoclave (100 mL, TharSFE) durante 30 min. A continuación, el CO₂ se despresurizó hasta presión atmosférica a una velocidad de 5 bar/min con tres adiciones periódicas de 10-15 g de CO₂ líquido a 1°C y 60 bar. Se eliminó la película externa no porosa de los scaffolds con un bisturí y se procedió a la caracterización de los scaffolds.

Los scaffolds obtenidos presentan una porosidad del 75-85% por picnometría de helio y poros de alta curvatura con superficie cóncava, espesores de pared de 10-20 micras y un tamaño medio de poro de en torno a 50 micras por microscopía SEM.

Para llevar a cabo el ensayo de cesión, se sumergieron porciones de 10 mg de scaffold en 50 mL de tampón fosfato pH 7.4 y el sistema se mantuvo en agitación a 60 rpm y 37°C. La cantidad de dexametasona cedida se monitorizó midiendo su concentración del medio de cesión mediante HPLC a una longitud de onda de 242 nm. Los perfiles de cesión obtenidos se muestran en la Figura 2. Los scaffolds dieron lugar a un perfil de cesión sostenido durante, al menos 21 días (Fig. 2a), apreciándose una cesión más lenta a periodos cortos en el caso de la muestra conteniendo almidón (Fig. 2b).

Ejemplo 3. Preparación de matrices de PCL:PLGA:almidón con PRGF, y ensayos de citotoxicidad y proliferación celular

Se prepararon tres mezclas de: (a) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p, (b) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p con Preparación Rica en Factores de Crecimiento (PRGF) al 5% en relación al peso de mezcla PCL:PLGA, obtenido mediante métodos de centrifugación (400g, 15 min) y ciclos de enfriamiento-congelación (4 ciclos) seguido de separación por centrifugación (14800g, 4°C, 10 min) y secado por liofilización (-80°C) a partir de donaciones de sangre por el método de capa leucoplaquetar (proveedor Centro de Transfusión de Galicia); y (c) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p con almidón pregelificado a 90°C al 10% en relación al peso de mezcla PCL:PLGA y PRGF al 5% en relación al peso de mezcla PCL:PLGA, en una mezcladora tipo turbula (WAB AG Maschinenfabrik, T2C, Suiza). Dichas mezclas se procesaron en forma de comprimidos de 400 mg en una máquina de comprimir excéntrica (Erweka Apparatebau, E KOW, Frankfurt, Alemania). Se pusieron dichas mezclas en contacto con medio de CO₂ comprimido a 60 bar y 25°C en un autoclave (100 mL, TharSFE) durante 30 min. A continuación, el CO₂ se despresurizó hasta presión atmosférica a una velocidad de 5 bar/min con tres adiciones periódicas de 10-15 g de CO₂ líquido a 1°C y 60 bar. Se eliminó la película externa no porosa de los scaffolds con un bisturí y se procedió a la caracterización de dichos scaffolds.

Los scaffolds obtenidos presentan una porosidad del 75-85% por picnometría de helio y poros de alta curvatura con superficie cóncava, espesores de pared de 10-20 micras y un tamaño medio de poro de en torno a 50 micras por microscopía SEM.

Para analizar la citotoxicidad de los scaffolds se realizó un ensayo LIVE/DEAD® (Molecular Probes; USA), que consiste en la tinción mediante calceína (color verde; 1 mg/mL) y yoduro de propidio (color rojo; 1 mg/mL) en PBS (pH 7,4; proporción 1:1:98) de células vivas y muertas, respectivamente. Para ello, se sembraron 20.000 células mesenquimales sobre cada scaffold (5x5x5 mm) y se cultivaron durante 7 días en un incubador. A continuación, los

scaffolds se lavaron con PBS y se añadieron 100 μ L de la tinción y se incubaron durante 10 minutos en oscuridad. Por último, la citotoxicidad de los scaffolds se evaluó a partir de las imágenes de los scaffolds obtenidas mediante microscopía confocal (LCS, Leica Microsystems, Germany). En la Figura 3 se muestran los resultados del ensayo de citotoxicidad LIVE/DEAD® de la muestra (c) según protocolo del fabricante con tinción verde (gris en la figura) indicando la viabilidad de células madre mesenquimales en torno al 100% de los casos.

En la Figura 4, se muestra el ensayo de proliferación de células madre mesenquimales evaluado por cuantificación de ADN usando el protocolo del ensayo comercial Quant-IT PicoGreen dsDNA (Life Technologies; USA). Para ello, se sembraron 20.000 células mesenquimales sobre cada scaffold (5x5x5 mm) y se cultivaron durante 3 y 7 días en un incubador a 37 °C y 5% de CO₂. A continuación, los scaffolds se lavaron con PBS y se colocaron en tubos de ensayo de 2.5 mL (Eppendorf, Alemania) y se añadió 1 mL de agua ultrapura. Las muestras se sometieron a 3 ciclos de congelación/descongelación y, posteriormente, se sonicaron durante 5 min y se homogeneizaron en un vortex. Por último, se realizó el ensayo de cuantificación de DNA según las instrucciones del fabricante y los resultados se evaluaron a partir de la absorbancia medida en un espectrofluorímetro Fluostar Optima (BMG Labtech, Alemania). Tras 7 días de sembrado, se observa una mayor concentración de ADN en la muestra conteniendo almidón y PRGF (muestra (c)) que la muestra sin almidón (muestra (b)) y que la muestra sin almidón ni PRGF (muestra (a)) indicando un mayor grado de proliferación celular para la muestra (c) durante este periodo.

Ejemplo 4. Preparación de matrices de PLGA y PLGA:PCL con macroporosidad generada por descomposición térmica de bicarbonato amónico

Se prepararon cinco mezclas de: a) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y bicarbonato amónico en proporciones 50:50 p/p; b) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p y bicarbonato amónico en proporciones 50:50 p/p; c) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p; d) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p, almidón pregelificado a 120°C y bicarbonato amónico en proporciones en peso 45:5:50 p/p; y (e) PLGA (i.v. 0.2 dL/g) y PCL en proporciones 50:50 p/p, almidón pregelificado a 120°C en proporciones en peso 85:10 p/p. Dichas mezclas se procesaron en una mezcladora tipo turbula (WAB AG Maschinenfabrik, T2C, Suiza) y se conformaron en forma de comprimidos de 400 mg en una máquina de comprimir excéntrica (Erweka Apparatebau, E KOW, Frankfurt, Alemania). Se pusieron en contacto dichas mezclas con medio CO₂ comprimido a 60 bar y 27°C en un autoclave (100 mL, TharSFE) durante 30 min. A continuación, el CO₂ se despresurizó hasta presión atmosférica a una velocidad de 5 bar/min con tres adiciones periódicas de 10-15 g de CO₂ líquido a 1°C y 60 bar. Se eliminó la película externa no porosa de los scaffolds con un bisturí y se procedió a la caracterización de dichos scaffolds. El scaffold obtenido se mantiene en aire a 37°C durante 24 horas para la descomposición térmica de la sal porogénica.

Se muestran las imágenes por microscopía SEM de los scaffolds obtenidos (Fig. 5). Se observa una homogeneidad estructural del material en todos los casos sin presencia de las morfologías pulverulentas de los materiales de partida, sin presencia de microesferas o nanopartículas, y sin presencia de cuellos o bordes de grano en los poros. Los scaffolds obtenidos presentan una porosidad del 70-80% por picnometría de helio. En las Figuras 5a y 5b se muestran las imágenes por microscopía SEM de scaffolds de porosidad dual preparados a partir de mezclas de PLGA y un agente porogénico (bicarbonato amónico) en proporción en peso 50:50 (Fig. 5a) y de PCL:PLGA 50:50 peso/peso y un agente porogénico (bicarbonato amónico) en proporción en peso 50:50 tras eliminación del agente porogénico (Fig. 5b). No se observan restos de bicarbonato amónico en las estructuras porosas y se obtuvieron pérdidas de peso del 50% (correspondientes a la eliminación de la sal). Los

5 poros obtenidos son de alta curvatura con superficie cóncava y espesores de pared de 10-30 micras. La estructura porosa resultante es de tipo dual según microscopía SEM: poros de 50 micras formados por espumado supercrítico y de 100-300 micras formados por descomposición térmica del agente porogénico. A modo de comparación, en la Figura 5c se muestra la imagen de un scaffold preparado a partir de mezclas de PCL:PLGA 50:50 peso/peso. En este caso, se observa una familia de poros mayoritaria de 50 micras, de alta curvatura con superficie cóncava y espesores de pared de 10-20 micras.

10 En la Figura 5d se muestra la imagen por microscopía SEM de un scaffold de porosidad dual preparado a partir de mezclas de PCL:PLGA 50:50 p/p, almidón pregelificado a 120°C y un agente porogénico (bicarbonato amónico) en proporción en peso 45:5:50 tras eliminación del agente porogénico. No se observan restos de bicarbonato amónico en la estructura porosa y se obtuvieron pérdidas de peso del 50% (correspondientes a la eliminación de la sal). Los poros obtenidos son de alta curvatura con superficie cóncava y espesores de pared de 15-25 micras. La estructura porosa resultante es de tipo dual según microscopía SEM: poros de 15
15 50 micras formados por espumado supercrítico y de 100-300 micras formados por descomposición térmica del agente porogénico. A modo de comparación, en la Figura 5e se muestra la imagen de un scaffold preparado a partir de mezclas de PCL:PLGA 50:50 peso/peso, almidón pregelificado a 120°C en proporción en peso 85:10. En este caso, se observa una sola familia de poros de 50 micras de alta curvatura con superficie cóncava y
20 espesores de pared de 10-20 micras.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Sistema para la administración de sustancias biológicamente activas que comprende una matriz biodegradable homogénea de consistencia sólida o semisólida de porosidad superior al 50%, dicha matriz comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g, y al menos una sustancia biológicamente activa.
2. Sistema según la reivindicación 1, que además comprende un compuesto regulador de la cesión seleccionado del grupo que consiste en un oligosacárido y un polisacárido.
3. Sistema según la reivindicación 2, donde el polisacárido es almidón o un derivado de almidón.
- 10 4. Sistema según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que además comprende un poliéster sintético biodegradable diferente al ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g.
- 15 5. Sistema según la reivindicación 4, donde el poliéster sintético o semisintético se selecciona del grupo consistente en ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) con viscosidad intrínseca superior a 0,5 dL/g, poli(epsilon-caprolactona), ácido poliláctico, ácido poliglicólico, polibutilensuccinato, poli(p-dioxanona), policarbonato, polihidroxitirato, y los copolímeros de los mismos.
- 20 6. Sistema según la reivindicación 1, donde la matriz comprende además un componente regulador de la cesión según la reivindicación 2 y un poliéster sintético biodegradable diferente al ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g, según la reivindicación 4.
7. Sistema según la reivindicación 1, donde la matriz comprende además almidón y poli-epsilon-caprolactona.
- 25 8. Procedimiento para la obtención de un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas que comprende una matriz biodegradable homogénea de consistencia sólida o semisólida de porosidad superior al 50%, dicha matriz comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) y al menos una sustancia biológicamente activa, que comprende:
- 30 a) preparar una mezcla física que comprende ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) y una sustancia biológicamente activa, y opcionalmente un agente porogénico;
- b) calentar la mezcla a una temperatura igual o inferior a 40°C;
- c) poner en contacto la mezcla con un gas comprimido o fluido supercrítico a una presión de entre 40 y 120 bar y a una temperatura de entre 20 y 40°C, entre 5 minutos y 24 horas; y
- 35 d) despresurización a una velocidad de entre 2 y 8 bar/min con enfriamiento mediante la adición de un líquido comprimido, que es gaseoso a 25°C y 1 atmósfera de presión, a una temperatura de entre -196° y 19°C.
9. Procedimiento según la reivindicación 8, donde el ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico) tiene una viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g.
- 40 10. Procedimiento según las reivindicaciones 8-9, donde el gas comprimido o fluido supercrítico es dióxido de carbono.
11. Procedimiento según las reivindicaciones 8-9, donde el líquido comprimido es CO₂ o N₂ líquido.

12. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 8-11, donde la mezcla física de la etapa a) comprende además un compuesto regulador de cesión y/o un poliéster sintético biodegradable diferente al ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico).
- 5 13. Procedimiento según la reivindicación 12, que comprende una etapa adicional, anterior a la etapa a), en la que el compuesto regulador de cesión es pregelificado en medio acuoso a una temperatura entre 70 y 140°C, enfriado y secado previamente a la incorporación de la mezcla de la etapa a).
- 10 14. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 8-13, que comprende una etapa adicional de eliminación del agente porogénico, con la condición de que el agente porogénico empleado en la etapa a) se selecciona del grupo que consiste en bicarbonato amónico, carbonato amónico, bicarbonato sódico y fosfato amónico, que comprende calentar el material obtenido en la etapa d) a una temperatura de entre 20 y 50°C.
- 15 15. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 8-14, que comprende además la formación de un andamiaje como un implante monolítico o un sistema multiparticular.
16. Procedimiento, según la reivindicación 12, donde la proporción de ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico), frente al compuesto regulador de cesión está comprendida entre el 75% y el 99.9%.
- 20 17. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 8-16, donde la proporción de sustancia biológicamente activa está comprendida entre el 0,1% y el 15% en peso respecto al ácido poli(D,L-láctico-co-glicólico).
18. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 8-17, donde la sustancia biológicamente activa es preparación rica en factores de crecimiento.
19. Sistema para la administración de sustancias biológicamente activas, obtenible mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 8-18.
- 25 20. Implante que comprende un sistema según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 o 19.
21. Andamiaje que comprende un sistema según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 o 19.
22. Uso de los sistemas descritos en la reivindicación 1-7 y 19, del implante según la reivindicación 20 o del andamiaje según la reivindicación 21, para la fabricación de un medicamento.
- 30 23. Uso de los sistemas descritos en la reivindicación 1-7 y 19, del implante según la reivindicación 20 o del andamiaje según la reivindicación 21, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de estados patológicos o fisiológicos en humanos o animales.
- 35 24. Uso según la reivindicación 23, para la fabricación de un medicamento para regeneración ósea.
25. Uso según la reivindicación 24, para la fabricación de un medicamento para regeneración de cartílago.

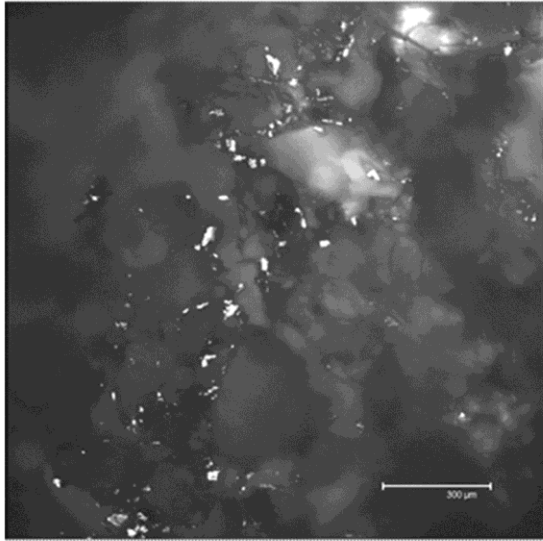


Figura 1

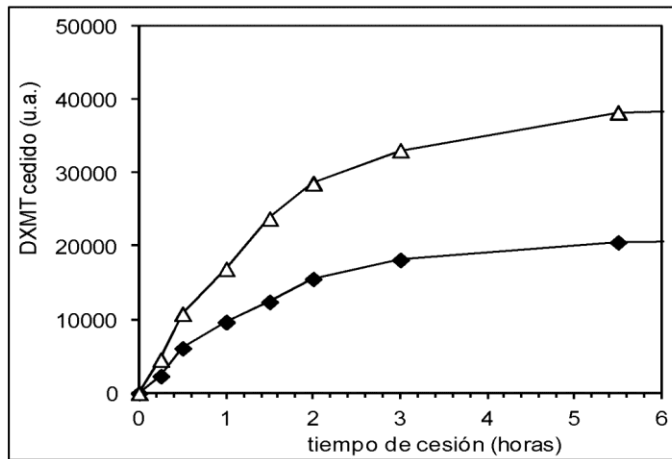


Figura 2 (a)

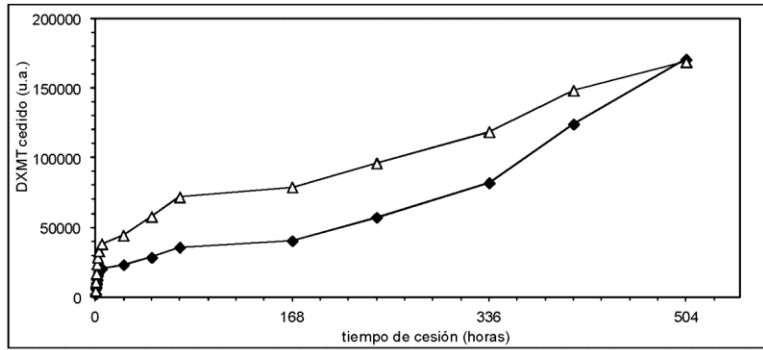


Figura 2 (b)

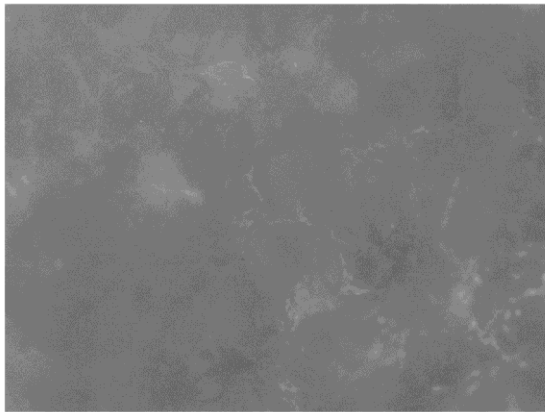


Figura 3

Figura 4

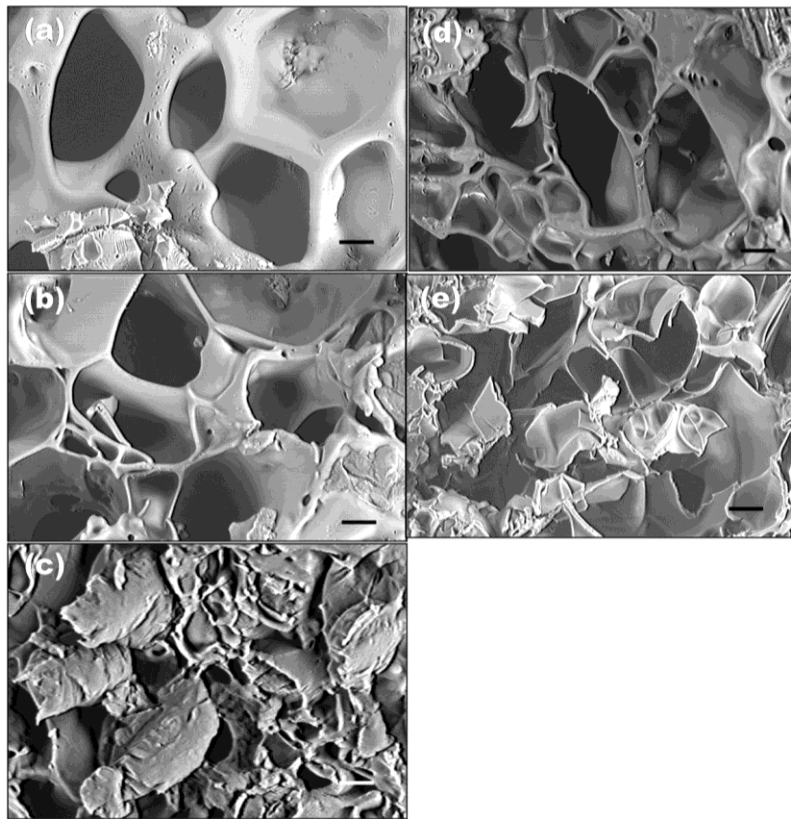
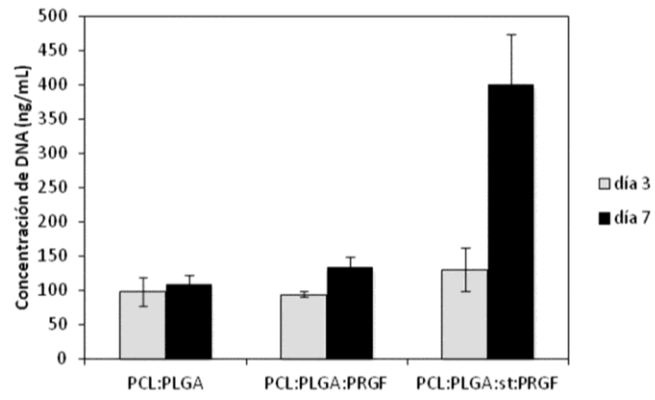


Figura 5



- ②① N.º solicitud: 201531087
②② Fecha de presentación de la solicitud: 23.07.2015
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K47/34** (2006.01)
A61L27/18 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	SHERIDAN M H et al. JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, 20000201 ELSEVIER, AMSTERDAM, NL 01.02.2000 VOL: 64 No: 1-3 Págs: 91-102 ISSN 0168-3659 Doi: doi:10.1016/S0168-3659(99)00138-8.	1,20-25
A	US 2002155145 A1 (HOWDLE STEVEN MELVYN et al.) 24.10.2002, párrafos [0001],[0008],[0031],[0067],[0096]; ejemplo 4.	1-25
A	ZHAO-LI MOU et al. Preparation of porous PLGA/HA/collagen scaffolds with supercritical CO2 and application in osteoblast cell culture. JOURNAL OF SUPERCRITICAL FLUIDS, 20110704 PRA PRESS, US 04.07.2011 VOL: 58 No: 3 Págs: 398-406 ISSN 0896-8446 Doi: doi:10.1016/j.supflu.2011.07.003, Bolaños Gustavo.	1-25
A	WO 9109079 A1 (ERBA CARLO SPA) 27.06.1991, todo el documento.	1-25
A	US 5004602 A (HUTCHINSON FRANCIS G) 02.04.1991, tablas 1 y 2 (composiciones 2,4,5,8,11,14,16); ejemplos 3,8,9,11-13,15,17,22-28,30.	1-25
A	US 2011034418 A1 (BELTZ KAREN et al.) 10.02.2011, párrafos [0022],[0023]; tabla 1; ejemplo 5.	1-25
A	WO 0214403 A2 (ALKERMES INC) 21.02.2002, página 5, líneas 4-29; ejemplos.	1-25
A	US 6013853 A (ATHANASIOU KYRIACOS A et al.) 11.01.2000, columna 9, líneas 19-27; columna 10, líneas 4-29; ejemplos.	1-25

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
16.09.2015

Examinador
N. Vera Gutiérrez

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61L

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, CAS, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, NPL, XPESP, XPESP2

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 16.09.2015

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 2-19, 24, 25	SI
	Reivindicaciones 1, 20-23	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 2-19	SI
	Reivindicaciones 1, 20-25	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	SHERIDAN M H et al. Full length article. JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, 20000201 ELSEVIER, AMSTERDAM, NL 01.02.2000 VOL: 64 No: 1-3 Págs: 91-102 ISSN 0168-3659 Doi: doi:10.1016/S0168-3659(99)00138-8	01.02.2000
D02	US 2002155145 A1 (HOWDLE STEVEN MELVYN et al.)	24.10.2002
D03	ZHAO-LI MOU et al. Preparation of porous PLGA/HA/collagen scaffolds with supercritical CO2 and application in osteoblast cell culture. JOURNAL OF SUPERCRITICAL FLUIDS, 20110704 PRA PRESS, US 04.07.2011 VOL: 58 No: 3 Págs: 398-406 ISSN 0896-8446 Doi: doi:10.1016/j.supflu.2011.07.003, Bolaños Gustavo.	04.07.2011

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La invención se refiere a un sistema para la administración de sustancias biológicamente activas que comprende una matriz biodegradable homogénea de consistencia sólida o semisólida de porosidad superior al 50%, dicha matriz comprende ácido poli(D, L-láctico-co-glicólico) de viscosidad intrínseca inferior a 0,5 dL/g, y al menos una sustancia biológicamente activa. Se refiere también al procedimiento para la obtención de dicho sistema por técnicas de espumado empleando gases comprimidos o fluidos supercríticos.

El documento D01 divulga un sistema para la liberación mantenida de un factor de crecimiento a base de una matriz polimérica biodegradable en forma de andamiajes para regeneración de tejidos. Se preparan matrices de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico (PLGA) mediante el método de espumado con fluido supercrítico (CO₂ o N₂) a una presión de 850psi, durante 1-48 horas, reduciendo a continuación la presión hasta presión ambiental. Las matrices obtenidas presentan una porosidad superior al 90%. Los polímeros ensayados son: PLGA 50:50 (velocidad intrínseca, i.v. 0.2dL/g), PLGA 75:25 (i.v. 0.2dL/g), PLGA 85:15 (i.v. 0.63; 1,4dL/g). En otra serie de experimentos se preparan discos de polímero que incorporan CINa como agente formador de poros.

El documento D02 divulga matrices poliméricas biodegradables para la liberación de principios activos. En el ejemplo 4 se preparan matrices de PLGA que incorporan la proteína catalasa, a partir de una mezcla de PLGA con partículas de catalasa, en presencia de CO₂ a 45°C y 200 bar de presión durante 30 minutos, con posterior despresurización.

El documento D03 divulga andamiajes porosos de PLGA/hidroxiapatita/colágeno con aplicación en cultivos celulares de osteoblastos, así como su preparación mediante la técnica de saturación con CO₂ supercrítico.

A la vista de los documentos citados, se considera que la invención tal como se define en las reivindicaciones 1, 20-23 de la solicitud no es nueva (Artículo 6.1 L.P.).

Respecto a las reivindicaciones 24, 25, relativas al uso de dicho sistema en regeneración ósea o de cartílago, se considera que no poseen actividad inventiva (Artículo 8.1 L.P.) dado que ya es conocido el uso de dichos sistemas para ingeniería tisular, y el experto en la materia podría ensayar el empleo de sustancias activas con esa actividad sin necesidad de un esfuerzo inventivo y con expectativa razonable de éxito.