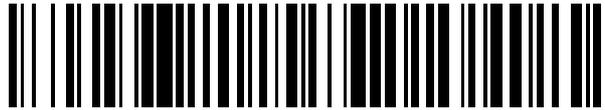


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 820 369**

51 Int. Cl.:

A61K 9/06 (2006.01)

A61K 47/34 (2007.01)

A61K 49/04 (2006.01)

C08G 63/08 (2006.01)

C08G 63/91 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.04.2012 PCT/EP2012/055993**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012 WO12131104**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.04.2012 E 12712652 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2020 EP 2691079**

54 Título: **Composiciones biodegradables adecuadas para liberación controlada**

30 Prioridad:

31.03.2011 EP 11002675

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

20.04.2021

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**BRUIN, PETER;
PETIT, AUDREY;
LEEJW DE, MIKE;
PIEST, MARTIN y
MEIJBOOM, RONALD**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 820 369 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 biodegradables adecuadas para liberación controlada

La invención se refiere a una composición que comprende un copolímero de bloques triples, un disolvente y un ingrediente activo(farmacéuticamente), dicha composición para usar como medicamento, y a un procedimiento para la preparación de dicha composición. Además, esta composición se puede combinar con átomos y moléculas radiopacos, por lo que la composición se vuelve visible bajo TC u otras técnicas de formación de imágenes.

En los últimos años, se ha realizado un esfuerzo considerable para proporcionar sistemas que sean capaces de liberar de forma controlada los fármacos en animales, incluidos los seres humanos. Algunos medicamentos solo se pueden administrar a un paciente mediante inyección. La liberación controlada de tales fármacos tiene la ventaja de que el paciente no necesita ser sometido a múltiples inyecciones, sino que bastaría con una o unas pocas inyecciones con el sistema de liberación controlada. Algunas inyecciones en áreas del cuerpo del paciente son (muy) dolorosas e intrínsecamente aumentan el riesgo de infección. Ejemplos de áreas tan difíciles de dosificar son los ojos, las articulaciones (sinoviales), los músculos o la columna. La inyección de un fármaco en un sistema de liberación controlada limitará la cantidad de inyecciones necesarias y aumentará las posibilidades de que el paciente continúe con la terapia y / o reduzca el riesgo de infección. Esto aumentará considerablemente el éxito del tratamiento.

Los sistemas de liberación controlada que son muy adecuados para inyectarse en áreas tan difíciles de dosificar son los termogeles basados en composiciones que comprenden polímeros. Los polímeros tienen la propiedad única de que a bajas temperaturas son solubles en agua, mientras que a temperaturas más altas los polímeros se vuelven insolubles y forman un gel. Preferiblemente, para su uso como un sistema que es capaz de liberación controlada, el polímero es soluble en el disolvente usado a temperatura ambiente (por ejemplo, 21 °C) y forma un gel una vez inyectado en el cuerpo (temperatura en el intervalo de 30 a 42 °C).

Un gel (o un hidrogel en el contexto de la presente invención) es una red de cadenas poliméricas que son hidrófilas y contienen una cantidad sustancial de agua (por ejemplo, entre 50 y 99 % de agua, preferiblemente entre 66 y 85 % de agua). El gel no muestra flujo en una prueba de inclinación del vial: cuando un vial de vidrio que contiene el gel se pone boca abajo, no se observa flujo del gel durante el tiempo de observación de 15 segundos.

Dichos termogeles se conocen, por ejemplo, por Zentner et al., Copolímeros de bloques biodegradables para el suministro de proteínas y fármacos insolubles en agua, Journal of Controlled Release 72 (2001), 203-215. En este artículo se describe la liberación de varios fármacos a partir de geles térmicos biodegradables tipo BAB (comercializados con el nombre ReGel®). Este polímero ReGel® es un polímero biodegradable soluble en agua a temperaturas por debajo de la temperatura de transición de gel (es decir, a la temperatura de inyección) y forma un hidrogel dentro del paciente una vez inyectado. El hidrogel forma un depósito de fármaco de liberación controlada y, según el artículo, es capaz de estabilizar fármacos poco solubles y sensibles, incluidas proteínas.

En este artículo, se da un ejemplo de un fármaco que es altamente soluble en agua: se describe la liberación in vitro de g-CSF en 23 % p/p de ReGel®. Sin embargo, como puede verse en la Figura 13, el sistema ReGel® libera ya el fármaco en un 60 % en los primeros dos días. La denominada liberación en estallido no es muy ventajosa para fármacos que requieren una dosificación más constante, como péptidos o fármacos antiinflamatorios. Para tales fármacos, se desea un perfil de liberación más lineal y, por lo tanto, el objeto de la invención es proporcionar composiciones que sean muy adecuadas para la liberación controlada de fármacos solubles en agua (formando un gel) con una liberación por estallido disminuida, preferiblemente con un perfil de liberación lineal.

En el contexto de la invención, por "compuesto soluble en agua" se entiende que la solubilidad del compuesto en agua medida a 20 °C y a presión atmosférica (1 bar) es de al menos 20 µg/ml. La solubilidad en agua se determina usando el procedimiento descrito en el Códex Farmacéutico, duodécima edición, página 42, que se incluye aquí como referencia. Por ejemplo, la solubilidad se puede determinar agitando un exceso del compuesto a disolver con agua a 20 °C a presión atmosférica (1 bar) hasta que se alcance un equilibrio. Después, la solución se filtra para eliminar el compuesto no disuelto y la concentración del compuesto disuelto se determina mediante cromatografía líquida con absorbancia UV usando una curva de calibración del compuesto disuelto.

Este objetivo se consigue mediante una composición que comprende un copolímero de bloques triples según la fórmula 1



en la cual A representa un bloque de poli- (etilenglicol) lineal y

en la cual B representa un bloque de poli- (lactida-co-ε-caprolactona),

en la cual los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están al menos parcialmente acilados con un grupo acilo;

un ingrediente farmacéuticamente activo soluble en agua

y un disolvente,

en la que la relación de bloques del copolímero de bloques triples, cuya relación se define como la relación entre la suma del peso molecular medio de los bloques B y la suma del peso molecular medio del bloque A varía de 1,4 a 2,6,

5 en la que el peso molecular promedio en número (Mn) del bloque de poli- (etilenglicol) lineal es de al menos 1250Da y

en la que el grupo acilo es un grupo acetilo, un grupo propionilo, un grupo butilo, y en la que el ingrediente activo tiene una solubilidad de al menos 20 µg/ml en agua medida a 20 °C y a 1 bar de presión.

10 Los inventores han encontrado que una composición de acuerdo con la invención en la que los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están al menos parcialmente modificados covalentemente (a diferencia de los polímeros ReGel® que tienen grupos terminales no modificados) y en la que la relación de bloques del copolímero de bloques triples varía de 1,4 a 2,6 es muy adecuada para la liberación controlada de fármacos solubles en agua. La composición de acuerdo con la invención muestra una liberación controlada a una temperatura de 30-42 °C (temperatura corporal) durante un tiempo prolongado y apenas muestra una liberación por estallido del ingrediente activo. En muchos casos, las composiciones según la invención también son capaces de una liberación más o menos
15 lineal del ingrediente activo, preferiblemente tanto de fármacos hidrófugos como solubles en agua, más preferiblemente fármacos solubles en agua.

Los términos "ingrediente farmacéuticamente activo" y "fármaco" se usan indistintamente en el presente documento.

20 Que la composición de acuerdo con la invención sea capaz de una liberación controlada durante un tiempo de liberación prolongado sin apenas una liberación repentina del ingrediente farmacéuticamente activo es sorprendente en vista del documento US 2007/0265356 A1. El documento US 2007/0265356 A1 divulga un polímero termogelificante modificado alifáticamente para uso en la administración de fármacos. Las formas de realización ilustrativas del documento US 2007/0265356 A1 comprenden una composición de materia que comprende una poli (L-lactida-co-ε-caprolactona)-poli-(etilenglicol)-poli(L-lactida-co-ε-caprolactona) modificada alifáticamente, en el que la relación por
25 bloques del Mn de los bloques B y el Mn del bloque A es 1,13, 1,28 o 1,25 respectivamente (véase la Tabla 1 del documento US 2007/0265356). El documento US2007/0265356 enseña que la separación de fases en el cuerpo es favorable para las aplicaciones de administración de fármacos, ya que provoca la exclusión espontánea de agua, por lo cual se aumenta la densidad del gel polimérico y su estabilidad y se prolonga la liberación del fármaco.

30 Sin embargo, con la composición de la invención, no ocurre separación de fases en el cuerpo (temperatura de 30 a 42 °C) mientras que la composición sí muestra una liberación controlada durante un tiempo prolongado y apenas muestra una liberación repentina del ingrediente farmacéuticamente activo.

35 Además de una liberación repentina disminuida en las primeras horas o días, también puede reducirse la liberación repentina de la composición de la invención inmediatamente después de la inyección. Otra ventaja de la composición de la invención puede ser que se pueda prolongar la liberación del ingrediente activo, preferiblemente del ingrediente farmacéuticamente activo. Otra ventaja más de la composición de la invención puede ser su capacidad para permanecer intacta bajo fuerzas de presión suaves o suaves puras dentro del cuerpo.

Otra ventaja más de la composición de la invención puede ser que debido a la liberación repentina limitada, se puede cargar más fármaco sin correr el riesgo de una concentración tóxica en el lugar de la inyección tras la liberación inicial del fármaco.

En el copolímero de bloques triples según la fórmula (1)

40 B-A-B (1)

A representa un bloque de poli-(etilenglicol) lineal (bloque PEG). Generalmente, el peso molecular medio numérico (Mn) del bloque de PEG en el copolímero de bloques triples es de al menos 1250 Da, 1500 Da y/o preferiblemente como máximo 5000 Da, por ejemplo, como máximo de 2000 Da. Por ejemplo, el peso molecular medio del bloque de PEG varía de 1250 a 5000 Da, preferiblemente de 1250 a 2000 Da, por ejemplo, de 1250 a 1500 Da. El peso molecular
45 medio numérico del bloque de PEG es el Mn proporcionado por el proveedor. El resto de los pesos moleculares promedio en número, como se usa en este documento, puede calcularse luego comparando integrales del pico de PEG y picos de los monómeros incorporados usando ¹H RMN. El poli (etilenglicol) es un diol también conocido como poli (óxido de etileno) y ambos nombres pueden usarse indistintamente para el propósito de la invención.

50 B representa un bloque de poli (lactida-co-ε-caprolactona) (bloque de PLCA); dicho bloque de PLCA es un copolímero de lactida y ε-caprolactona. En el contexto de la invención, el término lactida se refiere a todas las formas racémicas enantioméricamente enriquecidas y formas cíclicas de ésteres del ácido láctico, tales como L-lactida, D-lactida y DL-lactida.

El peso molecular promedio en número de cada bloque de PLCA individual, según se determina usando ¹H RMN como se describe en el presente documento, es generalmente de al menos 400 Da, por ejemplo, al menos 450 Da,

preferiblemente al menos 500 Da y/o como máximo 1500 Da, por ejemplo, como máximo 2000 Da, por ejemplo, como máximo 2500 Da, preferiblemente como máximo 3000 Da. Por ejemplo, el peso molecular medio numérico del bloque de PLCA varía de 400 a 3000, por ejemplo, de 450 a 2000, por ejemplo, de 500 a 1500 Da.

5 La relación de bloques del copolímero de bloques triples se define como la relación entre la suma del peso molecular medio numérico (Mn) de los bloques B y el peso molecular medio numérico (Mn) del bloque A, donde el peso molecular medio de número del bloque A y de los bloques B se determina usando la información del proveedor para el Mn del PEG y la ¹H RMN como se describió anteriormente.

La relación de bloques varía de 1,4 a 2,6, por ejemplo, de 1,8 a 2,6; por ejemplo, de 1,8 a 2,4.

10 Los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están al menos parcialmente acilados con un grupo acilo, en el que el grupo acilo es un grupo acetilo, un grupo propionilo o un grupo butilo.

En una forma de realización especial de la invención, el grupo acilo puede estar sustituido con un átomo radiopaco, por ejemplo, yodo.

Los átomos radiopacos se pueden visualizar in situ usando rayos X, por ejemplo, TC en 2D o 3D (tomografía computarizada de rayos X).

15 También se describe, pero no forma parte de la invención, una composición que comprende un copolímero de bloques triples de acuerdo con la fórmula (1) BAB (1) en la que A representa un bloque de poli- (etilenglicol) lineal y en la que B representa el bloque de poli- (lactida co-ε-caprolactona), en el que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están unidos covalentemente a un compuesto que contiene átomos radiopacos.

El átomo radio-opaco puede ser yodo.

20 Dicha composición puede comprender además un ingrediente activo, por ejemplo, un ingrediente farmacéuticamente activo y/o un disolvente.

Al incluir un ingrediente farmacéuticamente activo en dicha composición, es posible correlacionar el grado de erosión del gel con el grado de liberación del ingrediente farmacéuticamente activo del gel.

25 La relación de bloques del copolímero de bloques triples en dicha composición, cuya relación se define como la relación entre la suma del peso molecular promedio en número de los bloques B y el peso molecular promedio en número del bloque A, varía de 1,4 a 2,6. Al unir covalentemente los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples a un compuesto que contiene átomos radiopacos, quedan disponibles muchas aplicaciones de dichas composiciones:

30 Por ejemplo, se puede visualizar donde se ha inyectado una composición de la invención. Este marcado en 3D in situ de una ubicación puede ser útil, por ejemplo, en radioterapia, por ejemplo, de cáncer de mama o de próstata, donde es necesario enfocar el haz de energía exactamente en el mismo lugar para exposiciones secuenciales de radiación.

35 Las técnicas de posicionamiento actuales incluyen la introducción quirúrgica de pequeños objetos de oro, titanio u otros objetos densos en electrones que proporcionan suficiente contraste en las radiografías y las tomografías computarizadas. Sin embargo, estos marcadores o señales de agentes de contraste son permanentes y, por lo tanto, menos atractivos para el paciente y, con el tiempo, pueden causar lesiones tisulares y complicaciones biomecánicas.

40 Además, el marcado in situ de una ubicación puede ser útil cuando durante la cirugía se marca un área que necesita un seguimiento. Por ejemplo, durante la inspección endoscópica del colon y otras partes del cuerpo accesibles desde el exterior, se pueden realizar pequeños procedimientos quirúrgicos en el lugar o durante una sesión de seguimiento para quemar o cortar tejido, como pequeñas neoplasias en el colon, que potencialmente podrían convertirse en tumores en el colon. Dejar un depósito de gel radiopaco facilitará enormemente una nueva visita del sitio para la inspección de los procedimientos de seguimiento, utilizando así técnicas guiadas por imágenes para el posicionamiento.

El tratamiento y la inspección posterior y el seguimiento de las lesiones en el intestino, el estómago o los pulmones se realizan a intervalos más cortos, pero nuevamente, se desea el marcado in situ de una ubicación.

45 Actualmente, ubicar y volver a visitar o inspeccionar un sitio de tratamiento anterior no es fácil, ya que la forma, el estado y la posición, por ejemplo, del colon, pueden doblarse y torcerse y pueden alterar los parámetros de posicionamiento externo.

50 Además, el marcado in situ temporal de una ubicación in vivo puede ser útil cuando es necesario realizar inyecciones sucesivas en los sitios de inyección anteriores o junto a ellos. Estos geles radiopacos son mucho más compatibles con el tejido circundante que los objetos metálicos y, si se desea, se erosionarán con el tiempo.

Además, el átomo radiopaco permanece con el gel ya que el átomo forma parte del copolímero de bloques triples. Esto a diferencia de otros agentes de contraste, que se difundirán fácilmente fuera del lugar de la inyección.

Como se indicó anteriormente, el tiempo de residencia de la composición de la invención puede ser cualquiera en el intervalo de algunos días a meses.

5 Preferiblemente, en dichas composiciones, se limita la hidrólisis química o disociación enzimática en condiciones fisiológicas in situ del copolímero de bloques triples en el que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples está unido covalentemente a un compuesto que contiene uno o más átomos radiopacos, por ejemplo, eligiendo un enlazador de grupo terminal adecuado y/o un monómero adecuado, por ejemplo, un monómero hidrófugo para unir el compuesto que contiene uno o más átomos radiopacos.

10 Además, la composición que comprende el copolímero de bloques triples en el que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples está unido covalentemente a un compuesto que contiene uno o más átomos radiopacos, podría usarse para observar la erosión del gel en vivo y poder correlacionar el volumen de gel con el grado de liberación del ingrediente farmacéuticamente activo.

15 El copolímero de bloques triples en el que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples está unido covalentemente a un compuesto que contiene uno o más átomos radiopacos puede mezclarse con un copolímero de bloques triples que no contiene un compuesto que contenga uno o más átomos radiopacos para ajustar con precisión, por ejemplo, i) la cantidad, ii) la intensidad del contraste y iii) la duración de la retención en el lugar de inyección. La modificación de los grupos terminales hidroxilo de los copolímeros de bloques triples en la composición de la invención también ofrece la posibilidad de introducir multifuncionalidad. Por ejemplo, el grupo hidroxilo del copolímero de bloques triples puede modificarse con heteroátomos que podrían aumentar la afinidad del fármaco por la micela (enlaces de hidrógeno) o la insaturación (interacción pi-pi) y/o que pueden formar imágenes, como los grupos de yodo, que pueden formar imágenes mediante rayos X o IRM, o pueden modificarse con un compuesto que interactúa con (y también podría estabilizar) el ingrediente activo o pueden modificarse con residuos de molécula que atraen células, tales como el péptido RGD adhesivo celular. Este último puede proporcionar un procedimiento para reclutar células en/sobre el termogel después de la inyección en el cuerpo.

20 También se divulga, pero no forma parte de la invención, un procedimiento para obtener imágenes de una posición dentro del cuerpo de una especie de sangre caliente que comprende los pasos de:

25 - inyectar una composición que comprende un copolímero de bloques triples de acuerdo con la fórmula (1) BAB (1) en la que A representa un bloque de poli-(etilenglicol) lineal y en la que B representa un bloque de poli(lactida-co-ε-caprolactona), en el que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples se unen covalentemente a un compuesto que contiene un átomo radiopaco de la invención en el cuerpo de la especie de sangre caliente y se obtienen imágenes de la composición utilizando procedimientos de creación de imágenes convencionales tales como CT o micro CT.

Los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples se pueden acilar usando procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante la reacción de los grupos terminales hidroxilo con un cloruro de ácido o con un anhídrido.

35 Por ejemplo, la acilación de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples se puede realizar usando cloruro de acetilo (que es un acilo no sustituido que tiene 2 átomos de C), con cloruro de propionilo (que es un acilo no sustituido que tiene 3 átomos de C), etc.

40 Por ejemplo, la acilación de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples puede realizarse mediante reacción con el anhídrido correspondiente en piridina a temperatura elevada. Con "al menos parcialmente acilado" se entiende que el porcentaje de grupos terminales hidroxilo que pueden acilarse (también denominado "grado de modificación" o "grado de acilación") es superior a 0 y como máximo 100 %; por ejemplo, el grado de modificación de los grupos terminales hidroxilo es de al menos 10 %, por ejemplo al menos 25 %, por ejemplo al menos 30 %, por ejemplo al menos 35 %, por ejemplo al menos 40 %, por ejemplo al menos 75 % y/o como máximo 95 %, por ejemplo como máximo 90 %, preferiblemente 100 %.

45 Para evitar dudas, un grado de modificación del 100 % significa que todos los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples se han modificado; un grado de modificación del 50 % significa que la mitad de los grupos terminales hidroxilo se han modificado. El grado de modificación se calcula preferiblemente usando resonancia magnética nuclear de ¹H comparando integrales de los picos debidos a los grupos terminales hidroxilo acilados y las integrales del polietilenglicol (tal como se miden para la cantidad de grupos terminales de hidroxilo no acilados).

50 La síntesis del copolímero de bloques triples como se usa en la composición de la invención se puede realizar usando procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante reacciones de polimerización con apertura de anillo o policondensación. Por ejemplo, el copolímero de bloques triples se puede sintetizar (de forma análoga al) procedimiento descrito por Seongbong, Jo et al. en "Gelificación térmica inversa de copolímeros de bloques triples biodegradables modificados alifáticamente", *Macromol. Biosci.* (2006), páginas 923-928. La Figura 1, como se describe en el presente documento, proporciona el esquema de reacción para la síntesis de un copolímero de bloques triples de PLCA-PEG-PLCA y su acilación de los grupos terminales hidroxilo con cloruro de ácido alifático.

Los bloques B se pueden polimerizar usando los monómeros cíclicos mencionados anteriormente en una polimerización de apertura de anillo usando los grupos terminales hidroxilo de poli(etilenglicol) para iniciar la polimerización. Esta es una forma muy controlada y directa de preparar bloques triples en una sola etapa para los expertos en la técnica. Los esquemas y detalles para reacciones de polimerización de apertura de anillo similares se pueden encontrar en varias patentes o solicitudes de patente que incluyen y no se limitan a las publicaciones EP0863745 y WO0018821.

También es posible preparar bloques B mediante reacciones de policondensación usando la forma abierta de los monómeros cíclicos mencionados anteriormente, tales como ácido láctico, ácido glicólico, ácido épsilon-hidroxihexanoico y similares, pero es menos preferido ya que es difícil obtener bloques bien definidos en términos de peso molecular medio y funcionalidad de grupo terminal con reacciones de policondensación.

La acilación de los grupos terminales hidroxilo se puede realizar usando procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo (de modo análogo al) procedimiento descrito en Seongbong, Jo et al. en "Gelificación térmica inversa de copolímeros de bloques triples, biodegradables modificados alifáticamente", *Macromol. Biosci.* (2006), páginas 923-928, y como se ilustra en la figura 1.

El peso molecular promedio en número (Mn) del copolímero de bloques triples depende del peso molecular promedio en número de los bloques de PCLA y PEG usados. El peso molecular promedio en número del copolímero de bloques triples se puede calcular usando resonancia magnética nuclear ¹H. Preferiblemente, el Mn del copolímero de bloques triples varía de 3000 a 5000 Da.

El ingrediente activo en la composición de la presente invención es soluble en agua y puede ser un ingrediente activo tal como cualquier ingrediente farmacéuticamente activo y cualquier agente de diagnóstico y de contraste e incluye aquellos ingredientes farmacéuticamente activos que tienen un efecto profiláctico en el animal, incluido el ser humano, como también aquellos ingredientes farmacéuticamente activos que tienen el efecto de aliviar, reducir o incluso eliminar por completo un síntoma, una causa o una consecuencia de una enfermedad, como dolor, hinchazón o inflamación o una enfermedad del animal, incluido el humano.

Por ejemplo, el ingrediente farmacéuticamente activo puede incluir amplias clases de compuestos que normalmente se administran al cuerpo. Por ejemplo, estos ingredientes farmacéuticamente activos incluyen, pero no se limitan a, antiinfecciosos (incluidos antibióticos, antivirales, fungicidas, escabicidas o pediculicidas); antisépticos (por ejemplo, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, gluconato de clorhexidina, acetato de mafenida, cloruro de metilbencetonio, nitrofurazona, nitromersol y similares); analgésicos y combinaciones de analgésicos; anorexígenos; antihelmínticos, antiartríticos, agentes antiasmáticos; anticonvulsivos; antidepresivos; agentes antidiabéticos; antidiarreicos; antihistamínicos; agentes antiinflamatorios, preparaciones antimigraña; antinauseantes; antineoplásicos; fármacos anti-parkinson; anti-pruríticos; antipsicóticos; antipiréticos, antiespasmódicos; anticolinérgicos; simpaticomiméticos; derivados de xantina; preparaciones cardiovasculares que incluyen bloqueadores de los canales de potasio y calcio; bloqueadores beta; bloqueadores alfa y antiartríticos; antihipertensivos; diuréticos y antidiuréticos; vasodilatadores que incluyen vasodilatadores coronarios, periféricos y cerebrales generales; estimulantes del sistema nervioso central; vasoconstrictores; preparaciones para la tos y el resfriado, incluidos descongestionantes; hormonas y esteroides (por ejemplo, estrógenos, progestágenos, 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, compuestos inmunomoduladores, antitrombogénicos, fármacos anticlaudicantes, fármacos anti-ateroscleróticos, antihistamínicos, fármacos contra el cáncer (por ejemplo, mecloretamina, ciclofosfamida, fluorouracilo, tioguanina, carmustina, lomustina, melfalán, cloambucilo, estreptozocina, metotrexato, vincristina, bleomicina, vinblastina, vindesina, dactinomina, daunorrubicina, doxorubicina, tamoxifén, paclitaxel, epirubicina, mitomicina C, cis-platino, carboplatino y similares y foto-sensibilizantes 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 estos, o combinaciones de los anteriores.

El ingrediente farmacéuticamente activo también puede ser un ingrediente biológico que incluye, entre otros, proteínas (recombinantes), proteínas PEGiladas y péptidos (por ejemplo, insulina, eritropoyetina, exenatida, péptido 1 similar al glucagón, proteínas morfogénicas (por ejemplo, proteínas morfogénicas óseas, factores de crecimiento transformante, 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), aptámeros, enzimas, antígenos, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, virus, materiales basados en virus, células, subestructuras celulares, etc.).

Los profármacos, metabolitos, derivados, productos modificados químicamente in vivo o in vitro, productos modificados enzimáticamente in vivo o in vitro y productos de degradación farmacéuticamente activos de los ingredientes activos farmacéuticos descritos en este documento están incluidos en el alcance de la invención.

5 Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de fármacos modificadores del sistema inmunológico, fármacos antiinflamatorios o factores de crecimiento.

Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de fármacos inmunomodificadores, por ejemplo, ciclosporina, tacrolimus (FK-506), sirolimus o rapamicina.

Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de fármacos antiinflamatorios esteroideos, por ejemplo, prednisona, prednisolona, triamcinolona, clobetasol o betametasona.

10 Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de fármacos antiinflamatorios no esteroideos, por ejemplo, aspirina, diclofenaco, piroxicam, meloxicam, ibuprofeno o un inhibidor selectivo de la COX-2, por ejemplo, celecoxib, valdecoxib, etoricoxib o rofecoxib.

Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de agentes anticancerosos, por ejemplo, bevacizumab, tamoxifeno o interleucina-2.

15 Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de agentes antivirales, por ejemplo, aciclovir u oseltamivir.

Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de agentes antibacterianos, por ejemplo, amoxicilina.

20 Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de agentes antidiabéticos, por ejemplo, insulina, péptido 1 similar al glucagón, exenatida.

Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de vacunas.

Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de agentes oftálmicos, por ejemplo, Triamcinolona y Bevacizumab.

25 Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo eficaz contra formas de enfermedades neurodegenerativas tales como apomorfina, rivastigmina, pramipexol, pioglitazona, memantina y safinamida.

30 Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo elegido del grupo de productos biológicos que incluyen, pero no se limitan a, factores de crecimiento que son muy adecuados para su aplicación en ortopedia y en particular en la prevención o tratamiento de enfermedades de discos intervertebrales, cartílagos o huesos. Los ejemplos de tales factores de crecimiento incluyen, pero no se limitan al factor de crecimiento transformante 3, factor de crecimiento de fibroblasto 18, proteína osteogénica 1, proteína morfogénica ósea 2, proteína morfogénica ósea 6, proteína morfogénica ósea 7, antagonista del receptor de interleucina-1.

35 Preferiblemente, el ingrediente activo pertenece a la clase de hormonas de crecimiento humano y sus derivados biosimilares, que se pueden aplicar en trastornos del crecimiento tanto pediátricos como de adultos, mantenimiento de suficiente musculatura y aplicaciones antienvjecimiento. Preferiblemente, el ingrediente activo es un ingrediente farmacéuticamente activo eficaz contra la inflamación o infecciones microbianas del oído interno y sus tejidos de conexión (enfermedades del oído intratimpánico).

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

40 La composición según la invención comprende un ingrediente activo que es soluble en agua, el cual tiene una solubilidad en agua de al menos 20, por ejemplo, de al menos 100, por ejemplo, de al menos 500 µg/ml, por ejemplo, de al menos 1000 µg/ml, por ejemplo, de al menos 5000 µg/ml en agua medida a 20 °C y a presión atmosférica (1 bar).

45 Ejemplos de ingredientes activos solubles en agua incluyen moléculas pequeñas (de hasta 5.000 Da), moléculas de tamaño mediano (de hasta 10.000 Da), pero también moléculas grandes (de al menos 10.000 Da), como las proteínas. Estos ingredientes activos solubles en agua pueden sintetizarse químicamente, pero también pueden ser biológicos que incluyen, entre otros, proteínas y péptidos (recombinantes) (por ejemplo, insulina, eritropoyetina, exenatida, péptido 1 similar al glucagón, 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 anticancerígenas (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 (antisentido)

oligonucleótidos, plásmidos, ADN, ARN, ARNip, microARN), aptámeros, enzimas, antígenos, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, virus, materiales basados en virus, células, subestructuras celulares, etc.).

5 Según la invención, la composición comprende un ingrediente farmacéuticamente activo seleccionado del grupo de fármacos solubles en agua, es decir fármacos que tienen una solubilidad en agua de al menos 20 µg/ml según se determina usando el procedimiento descrito en este documento.

10 La invención también se refiere a una composición, en la que la composición comprende además nanopartículas y/o micropartículas (tales como liposomas y microesferas); dichas partículas contienen cualquiera de los ingredientes farmacéuticamente activos descritos anteriormente. El disolvente en la composición de la presente invención es preferiblemente un disolvente que no es tóxico, preferiblemente también biocompatible, y aprobado por instancias regulatorias, preferiblemente de base acuosa o un disolvente llamado por FDA (Federal Drug Administration) de clase 3.

15 Los ejemplos de disolventes incluyen pero no se limitan a agua, mezclas de agua y un disolvente orgánico como por ejemplo etanol, isopropanol o sulfóxido de dimetilo (DMSO); soluciones acuosas de regulador de pH, preferiblemente soluciones acuosas de regulador de pH que conducen a composiciones isotónicas de la invención, tales como PBS (solución salina con pH regulado con fosfato) o regulador de pH modificado de Sorenson o variantes de los mismos; y disolventes orgánicos, tales como acetato de etilo, acetona, diclorometano (DCM), sulfóxido de dimetilo (DMSO), N-metilpirrolidona (NMP), miristato de isopropilo y benzoato de bencilo.

20 Las composiciones descritas en esta solicitud de patente son de uso en todas las enfermedades clasificadas por la Organización Mundial de la Salud, Documento ICD-10 (2007) y donde la dosificación de agentes activos farmacéuticos como se describe anteriormente es una práctica clínica o experimental común en todos los animales, incluyendo humanos.

Por "isotónico" se entiende que la solución es una solución que tiene una presión osmótica comparable o al menos compatible con la presión osmótica de los fluidos corporales humanos o animales, preferiblemente con sangre.

25 Preferiblemente, el disolvente es agua o una solución acuosa reguladora de pH, más preferiblemente una solución acuosa reguladora de pH que conduce a una composición isotónica de la invención.

El pH del disolvente está preferiblemente en el intervalo de 5 a 8, por ejemplo, en el intervalo de 6,5 a 7,5. Más preferiblemente, el pH del disolvente se elige de manera que el pH de la composición de la invención sea aproximadamente neutro (en el intervalo de 5 a 8, preferiblemente en el intervalo de 6,5 a 7,5).

30 Por temperatura de gel se entiende la temperatura a la que el copolímero de bloques triples en el disolvente elegido forma un gel. La inclinación del vial como se describe a continuación se puede utilizar para determinar la temperatura del gel.

35 La temperatura de gel de la composición de la invención es preferiblemente al menos 20 °C, más preferiblemente al menos 25 °C, por ejemplo, al menos 30 °C y/o preferiblemente como máximo 36, por ejemplo, como máximo 35, por ejemplo, como máximo 34 °C. Por ejemplo, la temperatura de gel de la composición de la invención varía de 30 a 35 °C.

40 Por temperatura de separación de fases se entiende la temperatura a la que los diferentes componentes presentes no son capaces de formar una solución homogénea, sino que forman fases (líquidas) separadas. La separación de fases se puede determinar mediante la inclinación del vial. Con este fin, las composiciones de la invención se agitan en vórtex y se almacenan a 5 °C. Si fue necesario, las muestras se sometieron a otro ciclo de calentamiento y enfriamiento hasta que todos los componentes de la composición de la invención se disolvieron por completo. Las muestras se evaluaron inclinando el vial a 5 °C, luego se dejaron equilibrar a 20 °C durante 30 minutos, después de lo cual se evaluaron nuevamente. Se hicieron y anotaron observaciones visuales. A continuación, las muestras se colocaron en un baño de agua y se calentaron lentamente (menos de 0,5 °C/min). En cada incremento de 1 °C, las muestras se evaluaron inclinando el vial y se consideraron un gel si no se observaba flujo durante un período de 15 segundos. Las muestras se calentaron hasta que se observó la separación de fases y la temperatura a la que se observó la separación de fases es la "temperatura de separación de fases".

Preferiblemente, la temperatura de separación de fases de la composición de la invención es de al menos 40 °C, por ejemplo, al menos 41 °C, por ejemplo, al menos 42 °C.

50 Preferiblemente, la composición de la invención tiene una temperatura de gel en el intervalo de 25 a 25 °C, por ejemplo, de 30 a 35 °C y una temperatura de separación de fases de al menos 42 °C.

Preferiblemente, para la aplicabilidad clínica, el copolímero de bloques triples tiene una ventana de gel entre 25 y 50 °C, por ejemplo, entre 30 °C y 50 °C, por ejemplo, entre 30 °C y 42 °C. Por "ventana de gel" se entiende la "ventana entre la temperatura del gel y la temperatura de separación de fases"; en otras palabras, es el intervalo de temperatura completo en el que el copolímero de bloques triples es un gel.

La concentración del copolímero de bloques triples en la composición es por ejemplo de al menos 15 % p/p, por ejemplo al menos 17 % p/p, por ejemplo al menos 19 % p/p, por ejemplo al menos 20 % p/p, por ejemplo al menos 21 % p/p, preferiblemente al menos 22 % p/p, preferiblemente al menos 23 % p/p, preferiblemente al menos 24 % p/p, preferiblemente al menos 25 % p/p basado en el cantidad de disolvente e ingrediente activo presente en la composición, más preferiblemente al menos 27 % p/p, incluso más preferiblemente al menos 30 % p/p, por ejemplo al menos 31 % p/p, por ejemplo al menos 32 % p/p, por ejemplo al menos 33 % p/p, por ejemplo al menos 34 % p/p, por ejemplo al menos 35 % p/p, por ejemplo al menos 36 % p/p y/o preferiblemente como máximo 50 % p/p, por ejemplo como máximo 45 % p/p, por ejemplo como máximo 44 % p/p, por ejemplo como máximo 43 % p/p, por ejemplo como máximo 42 % p/p, por ejemplo como máximo 41 % p/p, por ejemplo como máximo 40 % p/p, por ejemplo como máximo 39 % p/p basado en la cantidad de disolvente e ingrediente activo presentes en la composición.

Por ejemplo, la concentración del copolímero de bloques triples en la composición de la invención puede oscilar entre el 15 y el 40 % p/p, por ejemplo, entre el 25 y el 35 % p/p basado en la cantidad de disolvente e ingrediente activo presentes en la composición.

Si se usa una concentración más alta de copolímero de bloques triples, puede ser que la composición se pueda cargar con cantidades más altas de fármacos (hidrófugos) en comparación con la capacidad de carga del mismo copolímero de bloques triples a una concentración más baja. Esto sería especialmente beneficioso para los pacientes que padecen una enfermedad crónica, ya que permitiría disminuir aún más el número de inyecciones que necesita un paciente. También o, además, una mayor capacidad de carga puede significar que se puede disminuir el volumen a inyectar. Esto, por ejemplo, sería beneficioso para inyecciones en áreas donde el espacio es limitado, por ejemplo, para inyecciones en articulaciones o en cavidades oculares, intracraneales o discos intervertebrales.

El copolímero de bloques triples en la composición de la invención se puede variar en muchos parámetros. Ejemplos de variaciones que son posibles en el copolímero de bloques triples incluyen, pero no se limitan a, el Mn del copolímero de bloques triples, el Mn del bloque de PCLA, el Mn del bloque de PEG, la elección del alquilo con el cual los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples puede modificarse covalentemente, el grado de modificación de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples, la relación de bloque y la relación en peso de ϵ -caprolactona y lactida en el bloque de PCLA.

La relación en peso de ϵ -caprolactona a lactida es el peso de ϵ -caprolactona dividido por el peso de lactida usado para preparar el bloque B, en caso de que el bloque B sea PLCA. La relación en peso de ϵ -caprolactona a lactida es, por ejemplo, de 1/9 a 9/1, por ejemplo, de 1/4 a 4/1. Preferiblemente, la relación en peso de ϵ -caprolactona a lactida es de al menos 1/1, por ejemplo, de 1/1 a 1/0, por ejemplo, de 1/1 a 9/1.

Para evitar dudas, una relación en peso de ϵ -caprolactona a lactida de 1/0 significa que sólo está presente sólo ϵ -caprolactona y no lactida. Una relación en peso de ϵ -caprolactona a lactida de 0/1 significa que sólo está presente lactida y no ϵ -caprolactona.

En una forma de realización especial, la invención se refiere a una composición de la invención, en la que la relación de bloques del copolímero de bloques triples, y dicha relación de bloques se define como la relación entre la suma del peso molecular promedio en número de los bloques B y la suma del peso molecular promedio en número de los bloques A varía de 1,8 a 2,4, en donde la relación de ϵ -caprolactona/lactida en el copolímero de bloques triples varía de 1/1 a 1/0 y en la que está modificado al menos el 10 %, preferiblemente al menos el 25 % y lo más preferiblemente al menos el 50 % de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples.

La cantidad de ingrediente activo en la composición de la presente invención depende de la cantidad a administrar al animal, incluido el ser humano, y de la duración de la liberación. Por ejemplo, la cantidad de ingrediente activo puede ser de hasta e incluyendo 50 % p/p basado en el copolímero de bloques triples si se desea una carga alta del fármaco, pero también puede ser menor; por ejemplo, una cantidad de hasta e incluyendo 40, por ejemplo hasta e incluyendo 30, por ejemplo hasta e incluyendo 20 % p/p basado en el copolímero de bloques triples y/o por ejemplo al menos 0,01 % p/p, preferiblemente al menos 0,1 % p/p, por ejemplo al menos 1 % p/p basado en el copolímero de bloques triples.

La invención también se refiere a una composición de la invención, en la que la composición es una composición farmacéutica que comprende además un adyuvante, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptables.

Una persona experta en la técnica sabe qué vehículos se pueden usar como vehículos farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de tales vehículos farmacéuticamente aceptables son materiales de vehículo tanto inorgánicos como orgánicos, adecuados para administración oral/parenteral/inyectable e incluyen agua, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol (PPG), derivados de celulosa, como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxietilmetilcelulosa (HEMC), hidroxietilcelulosa (HEC); polivinilpirrolidona (PVP), poli(alcohol vinílico) (PVA), gelatina, goma arábiga, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, aceites vegetales y similares.

Además, la persona experta en la técnica sabe qué adyuvantes y excipientes farmacéuticamente aceptables pueden usarse en las composiciones de la invención. Ejemplos de aditivos y adyuvantes, excipientes o diluyentes farmacéuticos convencionales, que incluyen, pero no se limitan a, agua, gelatina de cualquier origen, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol (PPG); derivados de celulosa, tales como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC),

- hidroxietilmetilcelulosa (HEMC) o hidroxietilcelulosa (HEC); polivinilpirrolidona (PVP), poli(alcohol vinílico) (PVA), gomas vegetales, sulfonato de lignina, talco, azúcares, almidón, goma arábica, aceites vegetales, polialquilenglicoles, saborizantes, conservantes, estabilizadores, emulsionantes, reguladores de pH, lubricantes, colorantes, humectantes, rellenos, agentes de formación de imágenes, tales como agentes de contraste para rayos X o IRM; y similares; por ejemplo, compuestos de yodo, tales como Xenetic® y Hexabrix® disponibles comercialmente.
- 5 En otro aspecto, la invención se refiere a una composición según la invención para su uso como medicamento.
- En otro aspecto, la invención se refiere a una composición según la invención para su uso como medicamento que se inyecta a través de una aguja de al menos 14G; por ejemplo, al menos 18G; por ejemplo, al menos 21G, preferiblemente al menos 23G; por ejemplo, al menos 27G; por ejemplo, al menos 31G.
- 10 Por G se entiende "Calibre", que es una medida del diámetro exterior de una aguja. Los números de calibre más pequeños indican diámetros exteriores más grandes y, como tales, 'agujas más grandes'. Para facilitar la inyección, se prefieren las agujas más pequeñas a las más grandes. Los diámetros internos de una aguja dependen tanto del calibre como del grosor de pared.
- 15 Dependiendo del ingrediente farmacéuticamente activo o combinación de ingredientes farmacéuticos presentes en la composición de la invención, es posible dirigirse a diferentes enfermedades, preferiblemente tratadas utilizando la composición o las composiciones de la presente invención.
- En otro aspecto más, la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de una composición de la invención que comprende las etapas de
- sintetizar el copolímero de bloques triples y
- 20 - mezclar el copolímero de bloques triples con el ingrediente activo y el disolvente.
- El orden en el que el copolímero de bloques triples y el ingrediente activo se disuelven en el disolvente no es crítico en principio; por ejemplo, es posible disolver primero el copolímero de bloques triples y luego el ingrediente activo, primero disolver el ingrediente activo y luego el copolímero de bloques triples o, por ejemplo, disolver tanto el ingrediente activo como el copolímero de bloques triples al mismo tiempo en el disolvente de elección.
- 25 Sin embargo, para los ingredientes activos que son altamente solubles en el disolvente, preferiblemente primero se disuelve el ingrediente activo en el disolvente para formar una solución del ingrediente activo en el disolvente, después de lo cual el copolímero de bloques triples se disuelve en dicha solución o el polímero se disuelve a una concentración más alta; cuando el polímero se disuelve, se agrega una solución concentrada de fármaco en el regulador de pH de elección para obtener la concentración correcta de polímero y fármaco.
- 30 Para los ingredientes activos que son menos solubles en el disolvente de elección, el ingrediente activo puede primero disolverse en un disolvente en el que sea mejor soluble (por ejemplo, un fármaco hidrófugo puede ser soluble en acetato de etilo) junto con el polímero, después de lo cual el disolvente se evapora y el disolvente de elección se añade a la mezcla de polímero/fármaco (secada). Esto aumentará la solubilidad del ingrediente activo en el disolvente de elección.
- 35 La invención también puede contener y liberar partículas de tamaño micro o nano tales como microesferas y liposomas que ya contienen, por ejemplo, fármacos, secuencias de nucleótidos o agentes de formación de imágenes.
- El beneficio de combinar la invención con estas partículas de tamaño micro o nano es que la invención asegurará la localización y liberación gradual de estas partículas, en lugar de una migración típica de dichas partículas desde el lugar de inyección.
- 40 Para facilitar la disolución del copolímero de bloques triples y/o el ingrediente activo, la composición que comprende el copolímero de bloques triples, el disolvente y el ingrediente activo se pueden calentar, por ejemplo, hasta que se derrita el polímero de bloques triples. Por ejemplo, el calentamiento de la composición se puede realizar a 50 °C.
- Preferiblemente, si el ingrediente activo es sensible al calor, el copolímero de bloques triples puede fundirse (por ejemplo, a una temperatura de aproximadamente 50 °C), disolverse en el disolvente de elección, después de lo cual la solución obtenida puede enfriarse y el ingrediente activo puede disolverse en el disolvente.
- 45 En otro aspecto, la invención se refiere a un procedimiento para administrar un ingrediente farmacéuticamente activo durante un período prolongado, por ejemplo, durante un período de más de 1 día hasta varios meses (por ejemplo, 6) a un animal, incluido un ser humano que requiera dicho tratamiento, el cual comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de la composición de la invención.
- 50 En otro aspecto más, la invención se refiere a un procedimiento para administrar un ingrediente farmacéuticamente activo durante un período prolongado; por ejemplo, durante un período de más de 1 día hasta varios meses (por ejemplo, 6) a un animal, incluido un humano que requiera tal tratamiento que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de la composición de la invención a través de una aguja de al menos 14G; por ejemplo, al menos

18G; por ejemplo, al menos 21 G, preferiblemente al menos 23G, por ejemplo al menos 27G; por ejemplo, al menos 31G.

5 En el contexto de la invención, por animales se entiende todos los animales, incluidos los mamíferos, cuyos ejemplos incluyen a los seres humanos. Los ejemplos preferidos de mamíferos además de los humanos incluyen, pero no se limitan a, perros, gatos, dromedarios, camellos, elefantes, cabras, ratones, cobayas, conejos, cerdos, vacas, búfalos de agua, canguros, monos y caballos.

10 Cabe señalar además que el término "que comprende" no excluye la presencia de otros elementos. Sin embargo, también debe entenderse que una descripción de un producto que comprende ciertos componentes también divulga un producto que consta de estos componentes. De manera similar, también debe entenderse que una descripción de un procedimiento que comprende ciertos pasos también divulga un procedimiento que consta de estos pasos.

La invención se aclara ahora por medio de los siguientes ejemplos, sin embargo, sin limitarse a ellos.

Ejemplos

Procedimientos de medición

15 La composición de copolímero de bloques triples (relación PLCA/PEG, relación cap/lac y DM) se determinó con resonancia magnética nuclear de protón (RMN ¹H; Varian, 400 MHz), utilizando cloroformo deuterado como disolvente y referencia. A partir de la integración de diversas señales de protones (debidas a PEG y monómeros incorporados), se obtuvieron pesos moleculares absolutos promedios en número M_n . M_n del copolímero de bloques triples es la suma de los pesos moleculares del bloque de PEG central y los dos bloques de poliéster (relación de bloques determinada con RMN).

20 La proporción de bloques como se usa aquí es la proporción en peso de los bloques de PLCA al bloque de PEG (de peso molecular conocido) y se puede calcular a partir de gramos de monómeros (lactida + caprolactona) divididos por gramos de PEG usados para sintetizar el copolímero de bloques triples. La composición final de bloques triples después de la purificación del polímero se comprobó con RMN ¹H comparando integrales de picos debidos al PEG y los monómeros incorporados de anillo abierto. La relación en peso de ϵ -caprolactona a L-lactida se puede calcular a partir de RMN ¹H comparando integrales de picos debidos a lactida de anillo abierto y caprolactona. Las integrales de picos debidos al grupo terminal acilo y al bloque PEG se utilizaron para calcular el grado de modificación (intervalo 0-2, que corresponde a un grado de acilación de 0 a 100 %).

Ejemplo 1: Preparación del copolímero de bloques triples # 33: PLCA-PEG-PLCA acilado (modificado con C2)

30 Se cargaron polietilenglicol (PEG 1500, 12,5 g, 8,3 mmol) y aproximadamente 100 ml de tolueno en un matraz de fondo redondo de tres cuellos de 250 ml equipado con una barra de agitación magnética. Usando un dispositivo Dean-Stark con un enfriador en la parte superior, se destilaron 40 ml de tolueno para eliminar el agua (de PEG) de modo azeotrópico calentando a 150 °C a presión atmosférica (1 bar) bajo nitrógeno.

35 Después de enfriar la solución a aproximadamente 80-100 °C se añadieron L-lactida (2,75 g, 19 mmol) y caprolactona (24,75 g, 217 mmol). Se eliminaron por destilación 40 ml de tolueno para secar los monómeros calentando a 150 °C a presión atmosférica. Se dejaron cerca de 20 ml de tolueno seco en el matraz para la polimerización.

Después de enfriar la mezcla hasta aproximadamente 80-100 °C, se añadió 2-etilhexanoato de estaño (II) (0,25 ml) a través de uno de los cuellos.

La polimerización se llevó a cabo a 120 °C durante 1 día en atmósfera de nitrógeno.

40 Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron aproximadamente 70 ml de diclorometano y 5,6 ml de trietilamina (40 mmol). Posteriormente, se añadieron lentamente 2,5 ml de cloruro de acetilo (33 mmol) a la solución agitada, que se enfrió con un baño de hielo. La reacción de acilación continuó durante unas pocas horas, después de lo cual se eliminó el diclorometano mediante un rotavapor y se añadió acetato de etilo (aproximadamente 100 ml) al residuo. La sal de trietilamina se eliminó mediante filtración (con papel) y el polímero disuelto en el filtrado transparente se precipitó mediante la adición de una mezcla de hexano y éter dietílico. A aproximadamente -20 °C (en congelador) el producto polimérico separado como un sólido ceroso del que se pueden decantar fácilmente los no disolventes. Finalmente, el polímero precipitado se secó al vacío. Rendimiento: aproximadamente 37 g. La relación de bloque PLCA/PEG fue de alrededor de 2,2; la relación de ϵ -caprolactona/lactida fue 9/1.

Ejemplo 2. Preparación del copolímero de bloques triples # 27

50 De manera similar al ejemplo 1, se sintetizó un tri-bloque de PLCA-PEG-PLCA acilado que tiene una relación de PLCA/PEG de 1,8 y una relación en peso de caprolactona/lactida de 9/1. Las diferencias con el ejemplo 1 fueron: diferente proporción de PLCA/PEG y diferente proporción en peso de caprolactona/lactida.

Ejemplo 3. Preparación del copolímero de bloques triples # 17

De manera similar al ejemplo 1, se sintetizó un tri-bloque de PLCA-PEG-PLCA acilado que tiene una relación de PLCA/PEG de 1,8 y una relación en peso de caprolactona/lactida de 9/1. La diferencia con el ejemplo 1 fue: diferente relación PLCA/PEG.

Ejemplo 4 PLCA-PEG-PLCA totalmente modificado con C2 (# 21)

5 Se cargaron polietilenglicol (PEG 1500, 10 g, 6,7 mmol) y aproximadamente 110 ml de tolueno en un matraz de fondo redondo de tres cuellos de 250 ml equipado con una barra de agitación magnética. Utilizando un dispositivo Dean-Stark con un condensador en la parte superior, se destilaron 45 ml de tolueno para eliminar el agua (de PEG) de modo azeotrópico calentando a 150 °C a presión atmosférica bajo nitrógeno.

10 Después de enfriar la solución a aproximadamente 80-100 °C, se añadieron L-lactida (2 g, 14 mmol) y caprolactona (18 g, 158 mmol). Se eliminaron por destilación 40 ml de tolueno para secar los monómeros calentando a 150 °C a presión atmosférica. Se dejaron aproximadamente 25 ml de tolueno seco en el matraz para la polimerización.

Después de enfriar la mezcla a aproximadamente 80-100 °C, se añadió 2-etilhexanoato de estaño (II) (0,2 ml) a través de uno de los cuellos.

La polimerización se llevó a cabo a 120 °C durante 1 día en atmósfera de nitrógeno.

15 Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron aproximadamente 60 ml de diclorometano y 4,7 ml de trietilamina (34 mmol). Posteriormente, se añadieron lentamente 2 ml de cloruro de acetilo (28 mmol) a la solución agitada, que se enfrió con un baño de hielo. La reacción de acilación continuó durante unas pocas horas, después de lo cual se eliminó el diclorometano mediante un rotavapor y se añadió acetato de etilo (aproximadamente 100 ml) al residuo. La sal de trietilamina se eliminó mediante filtración (con papel) y el polímero, que se disolvió en el filtrado
20 transparente, se precipitó mediante la adición de una mezcla (1:1) de hexano y éter dietílico. A aproximadamente -20 °C (en congelador) el producto polimérico fue separado como un sólido ceroso del cual pudieron decantarse fácilmente los no disolventes. Finalmente, el polímero precipitado se secó al vacío. Rendimiento: aproximadamente 27 g.

La relación de bloque PLCA/PEG es de alrededor de 2; la relación en peso caprolactona/lactida es de 9/1. El grado de modificación (de RMN) es aproximadamente 2.

25 Ejemplo 5. Síntesis comparativa de copolímero de bloques triples U5.

Este es el polímero que es similar al mencionado en los ejemplos de la publicación US2007 / 0265356 (misma proporción de bloque, pero diferente caplac).

30 Se cargaron polietilenglicol (PEG 1500, 12,5 g, 8,3 mmol) y aproximadamente 125 ml de tolueno en un matraz de fondo redondo de tres cuellos de 250 ml equipado con una barra de agitación magnética. Usando un dispositivo Dean-Stark con un condensador en la parte superior, se separaron por destilación 60 ml de tolueno para eliminar el agua (de PEG) de modo azeotrópico calentando a 150 °C a presión atmosférica bajo nitrógeno.

Después de enfriar la solución a aproximadamente 80-100 °C se añadieron L-lactida (3 g, 21 mmol) y caprolactona (12 g, 105 mmol). Se eliminaron por destilación 40 ml de tolueno para secar los monómeros calentando a 150 °C a presión atmosférica. Se dejaron aproximadamente 25 ml de tolueno seco en el matraz para la polimerización.

35 Después de enfriar la mezcla a aproximadamente 80-100 °C, se añadió 2-etilhexanoato de estaño (II) (0,2 ml) a través de uno de los cuellos.

La polimerización se llevó a cabo a 120 °C durante 1 día en atmósfera de nitrógeno.

40 Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron aproximadamente 50 ml de diclorometano y 2,5 ml de trietilamina (18 mmol). Posteriormente, se añadieron lentamente 2,1 ml de cloruro de hexanoílo (15 mmol) a la solución agitada, que se enfrió con un baño de hielo. La reacción de acilación continuó durante unas pocas horas, después de lo cual se eliminó el diclorometano mediante un rotavapor y se añadió acetato de etilo (aproximadamente 100 ml) al residuo. La sal de trietilamina se eliminó mediante filtración (con papel) y el polímero, que se disolvió en el filtrado
45 transparente, se precipitó mediante la adición de una mezcla (1:1) de hexano y éter dietílico. A aproximadamente -20 °C (en congelador) el producto polimérico fue separado como un sólido ceroso del que pudieron decantarse fácilmente los no disolventes. Finalmente, el polímero precipitado se secó al vacío. Rendimiento: aproximadamente 27 g.

La relación de bloques PLCA / PEG del copolímero de bloques comparativo U5 es de alrededor de 1,2; la relación en peso de caprolactona/lactida es 4/1. El grado de modificación (de RMN) es aproximadamente 1,7

Las propiedades del polímero se enumeran en la tabla 1 a continuación.

Tabla 1. Características de los copolímeros de bloques triples # 33, # 27, # 21, # 17 y U5

Copolímero de bloques triples	Relación en peso (Relación PLCA/PEG)	Relación en peso ϵ -caprolactona a lactida (relación cap/lac)	Mn como se determine usando RMN ^1H	Grupo terminal	Grado de acilación (grado de modificación modification, DM) (%)
Polímero comparativo U5	1.2	4/1	3300	Hexanoilo (C6)	75
PLCA/PEG2.2-CL/LA 4/1-C2 (#17)	2.2	4/1	5300	Acetilo (C2)	100
PLCA/PEG2.0-CL/LA 9/1-C2 (#21)	2.0	9/1	4700	Acetilo (C2)	100
PLCA/PEG1.8-CL/LA 9/1-C2 (#27)	1.8	9/1	4200	Acetilo (C2)	100
PLCA/PEG2.2 CL/LA 9/1-C2 (#33)	2.2	9/1	5300	Acetilo (C2)	100

Ejemplo 6 Liberación de fármacos modelo en PBS

Este ejemplo ilustra el perfil de liberación de fármacos modelo hidrófugos y solubles en agua a partir de soluciones de copolímeros de bloques triples de la presente invención.

Se utilizaron las siguientes proteínas modelos solubles en agua:

- 5 (1) Anticuerpo IgG (Sigma); esta es una proteína de alrededor de 150 kDa y tiene una solubilidad en agua superior a 10000 $\mu\text{g/ml}$.
- (2) albúmina de suero bovino (Sigma); esta es una proteína de alrededor de 40 kDa y tiene una solubilidad en agua por encima de 10000 $\mu\text{g/ml}$.
- 10 (3) lisozima (Sigma); esta es una proteína de alrededor de 16 kDa y tiene una solubilidad en agua superior a 10000 $\mu\text{g/ml}$.

Se utilizaron las siguientes moléculas pequeñas:

- (1) celecoxib (LC Laboratories); este es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo de 386 g/mol y tiene una solubilidad en agua inferior a 1 $\mu\text{g/ml}$ (que no es según la invención)
- 15 (2) acetónido de triamcinolona (Sigma); este es un corticosteroide y tiene una solubilidad en agua por debajo de 20 $\mu\text{g/ml}$ (que no es según la invención)
- (3) iobitridol (Guerbet); este es un agente de contraste de alrededor de 700 g/mol y tiene una solubilidad en agua superior a 5000 $\mu\text{g/ml}$.

Se utilizó el siguiente péptido:

- 20 (1) Ciclosporina A (Sigma); este es un péptido cíclico no natural de alrededor de 1000 g/mol y tiene una solubilidad en agua por debajo de 5 $\mu\text{g/ml}$ (que no es según la invención). Las soluciones de polímero se prepararon con los copolímeros de bloques triples descritos en la Tabla 1. Los copolímeros de bloques triples se pesaron en viales de vidrio de 7 ml y se fundieron a 50 °C usando un baño de agua. Se añadieron soluciones madre de proteína en PBS (solución salina de regulador de pH fosfato; B. Braun, 10 mM, pH = 7,4) al polímero fundido para lograr el contenido de polímero requerido en las soluciones que contenían proteína al 1 % (p/v). Las mezclas de proteína, copolímero de bloques triples y PBS se agitaron con vórtex durante 1 min y se colocaron en una rueda giratoria a 4 °C durante la noche.
- 25

Para los fármacos hidrófugos, se preparó primero una mezcla de fármaco/polímero en acetato de etilo. Se evaporó acetato de etilo y se añadió PBS.

- 30 Con una jeringa, se colocaron 300 μl de las soluciones en viales de vidrio (8,2 x 40 mm). Los viales de vidrio se incubaron durante 30 min a la temperatura de liberación requerida para permitir la gelificación. Se añadió PBS precalentado sobre el gel. A intervalos de tiempo regulares, se eliminó el regulador de pH, seguido de la adición de PBS recién hecho. Las muestras de regulador de pH eliminadas se analizaron para determinar su contenido de proteína mediante UPLC (para BSA y lisozima) o ensayo de ácido bicinónico (BCA®), ensayo de proteína (para IgG).

La IgG se analizó mediante el ensayo de proteína BCA®: se pipetearon muestras de liberación de IgG (25 µL) en una placa de 96 micropocillos y se añadieron 200 µl de reactivo de trabajo (reactivo BCA A: reactivo BCA B, 50/1 v/v). Después de la incubación de las placas durante 30 minutos a 37 °C, se midió la absorbancia a 550 nm con un lector de microplacas Novopath™ (Bio-Rad). Se prepararon soluciones estándar de proteína (intervalo de concentración: 0,01 -1 mg/ml) para generar una línea de calibración.

La BSA se analizó mediante UPLC: las muestras de liberación de BSA se analizaron utilizando un sistema Waters Acquity™ Ultra Performance LC equipado con una columna Acquity™ BEH300 C18 de 1,7 µm (5 cm), un administrador de disolventes binarios, un administrador de muestras con horno de columna a 50 °C y un detector Acquity™ TUV (longitud de onda de detección: 210 nm). Después de la inyección de 5 µL de muestra de liberación, se corrió un gradiente desde 80 % de A (H₂O / ACN 95/5 (% v/v) que contiene 0,1 % de TFA) hasta 60 % de B (100 % de ACN con 0,1 % de TFA) en 2 minutos a un caudal de 0,25 ml/min. Se utilizaron soluciones estándar de proteína (intervalo de concentración: 0,01 -1 mg/ml) para obtener una línea de calibración.

La lisozima se analizó mediante UPLC: las muestras de liberación de lisozima se analizaron utilizando un sistema Waters Acquity™ Ultra Performance LC equipado con una columna Acquity™ BEH300 C18 de 1,7 µm (5 cm), un administrador de disolventes binarios, un administrador de muestras con horno de columna a 50 °C y un detector Acquity™ TUV (longitud de onda de detección: 280 nm). Después de la inyección de 5 µL de muestra de liberación, se corrió un gradiente de 75 % A (H₂O/ACN 95/5 (% v/v) que contiene 0,1 % de TFA) a 40 % B (100 % de ACN con 0,1 % de TFA) en 4 minutos a un caudal de 0,25 mL/min. Se utilizaron soluciones estándar de proteína (intervalo de concentración: 0,01 -1 mg/mL) para obtener una línea de calibración.

Celecoxib se analizó mediante UPLC: la concentración de celecoxib en el regulador de pH se midió mediante un sistema Waters Acquity™ Ultra Performance LC (UPLC, Waters, Milford MA, EE. UU.) equipado con una columna Acquity™ BEH C18 de 1,7 µm (2,1 x 100 mm) , un administrador de disolventes binario, un administrador de muestras con horno de columna a 50 °C y un detector Acquity™ TUV (longitud de onda de detección: 254 nm). Después de la inyección de una muestra de liberación de 7,5 µl, se corrió un gradiente desde 100 % de A (H₂O/ACN 95/5 % (v/v) que contiene 0,1 % de TFA) hasta 100 % de B (MeOH/ACN/H₂O 45/45/10 % (v/v) que contiene 0,1 % de TFA) en 2 minutos y se mantuvo al 100 % de B desde 10 min a un caudal de 0,08 ml/min. El tiempo de ejecución fue de 16 min. Se obtuvo una curva de calibración después de la inyección de soluciones estándar de celecoxib en DMSO (0,5 - 100 µg/ml). Los cromatogramas se analizaron utilizando el software Empower versión 1154 (Waters, Milford MA, EE.UU.). La concentración de CLB en la muestra de liberación estaba en el intervalo de 5-20 µg/ml.

El acetónido de triamcinolona (TA) se analizó mediante UPLC: la concentración de TA en el regulador de pH se midió mediante un sistema Waters Acquity™ Ultra Performance LC (UPLC, Waters, Milford MA, EE. UU.) equipado con una columna Acquity™ BEH C18 de 1,7 µm (2,1 x 50 mm), un administrador de disolventes binario, un administrador de muestras con horno de columna a 50 °C y un detector Acquity™ TUV (longitud de onda de detección: 240 nm). Después de la inyección de una muestra de liberación de 7,5 µl, se corrió un gradiente desde 50 % de A (H₂O/ACN 95/5 % (v/v) que contiene 0,1 % de TFA) hasta 80 % de B (ACN/H₂O 95/10 % (v/v)) que contiene 0,1 % de TFA) en 1,5 minutos a un caudal de 0,25 ml/min. El tiempo de ejecución fue de 3,2 min. Se obtuvo una curva de calibración después de la inyección de soluciones estándar de TA en DMSO (0,5 - 100 µg/ml). Los cromatogramas se analizaron utilizando el software Empower Versión 1154 (Waters, Milford MA, EE.UU.). La concentración de TA en la muestra de liberación estaba en el intervalo de 5-20 µg/ml. Ibotriodol (ITD) se analizó mediante UPLC: la concentración de ITD en el regulador de pH se midió mediante un sistema Waters Acquity™ Ultra Performance LC (UPLC, Waters, Milford MA, EE. UU.) equipado con una columna Acquity™ HSS de 1,7 µm (2,1 x 50 mm), un administrador de disolventes binario, un administrador de muestras con horno de columna a 50 °C y un detector Acquity™ TUV (longitud de onda de detección: 204 nm). Después de la inyección de una muestra de liberación de 7,5 µl, se corrió un gradiente de 100 % de A (H₂O que contiene 0,1 % de TFA) a 48 % de B (IPA que contiene 0,1 % de TFA) en 0,9 minutos a un caudal de 0,25 ml/min. El tiempo de corrida fue de 2 min. Se obtuvo una curva de calibración después de la inyección de soluciones estándar de ITD en PBS (0,5 - 100 µg/ml). Los cromatogramas se analizaron usando el software Empower versión 1154 (Waters, Milford MA, EE.UU.). La concentración de ITD en la muestra de liberación estaba en el intervalo de 5-20 µg/ml.

La ciclosporina A (CyA) se analizó mediante UPLC: la concentración de CyA en el regulador de pH se midió mediante un sistema Waters Acquity™ Ultra Performance LC (UPLC, Waters, Milford MA, EE. UU.) equipado con una columna Acquity™ BEH C4 de 1,7 µm (2,1 x 50 mm), un administrador de disolventes binario, un administrador de muestras con horno de columna a 50 °C y un detector Acquity™ TUV (longitud de onda de detección: 220 nm). Después de la inyección de una muestra de liberación de 7,5 µl, se corrió un gradiente de 100 % de A (H₂O/ACN 95/5 % (v/v) que contiene 0,1 % de TFA) a 100 % de B (ACN/H₂O 95/10 % (v/v)) que contiene 0,1 % de TFA) en 1 minuto a un caudal de 0,25 ml/min. El tiempo de corrida fue de 3,6 min. Se obtuvo una curva de calibración después de la inyección de soluciones estándar de CyA en DMSO (0,5 -100 µg/ml). Los cromatogramas se analizaron utilizando el software Empower Versión 1154 (Waters, Milford MA, EE.UU.). La concentración de CyA en la muestra de liberación estaba en el intervalo de 5-20 µg/ml.

Los resultados de este ejemplo se muestran en las Figuras 1 a 4.

Ejemplo 7

Síntesis del bloque B-A-B

La síntesis de las composiciones se realizó como en el Ejemplo 4.

Tabla 2 Características de los copolímeros de bloques triples

ID	Copolímero de bloques triples	Relación de peso (Relación de PLCA/PEG)	Relación en peso caprolactona a lactida (relación de cap/lac)	Grupo terminal	Grado de acilación / %
A	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)1,8 (C ₂) _{2,0}	1.8	9/1	Acetilo C2	100
B	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,0 (C ₂) _{2,0}	2.0	9/1	Acetilo C2	100
C	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,2 (C ₂) _{2,0}	2.2	9/1	Acetilo C2	100
D	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,4 (C ₂) _{2,0}	2.4	9/1	Acetilo C2	100
E	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,6 (C ₂) _{2,0}	2.6	9/1	Acetilo C2	100
F	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,8 (C ₂) _{2,0}	2.8	9/1	Acetilo C2	100
G	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,0 (C ₂) ₀	2.0	9/1	-	0
H	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,0 (C ₂) ₁	2.0	9/1	Acetilo C2	50
I	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)1,2 (C ₂) _{2,0}	1.2	9/1	Acetilo C2	100
J	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₈₀ %/LAC ₂₀ %)1,2 (C ₆) _{2,0}	1.2	4/1	Hexanoilo C6	100
K	PEG ₂₀₀₀ (CAP ₈₀ %/LAC ₂₀ %)1,2 (C ₆) _{2,0}	1.2	4/1	Hexanoilo C6	100

Ejemplo 8 Degradación de composiciones de hidrogel con proporciones variables de PEG/PLCA

- 5 Este ejemplo muestra los perfiles de degradación de las composiciones según la invención. Normalmente, los geles se fundieron a partir de una solución de polímeros al 20 % en peso con lisozima al 3 % en peso en viales pequeños y se dejaron gelificar a 37 °C. Se añadió regulador de pH PBS y se reemplazó periódicamente. Se pesaron los geles húmedos y se determinó la cantidad de lisozima liberada mediante el ensayo BCA® y/o UPLC (se realizaron BCA® y UPLC como en el ejemplo 6). La actividad enzimática de la lisozima se determinó mediante la hidrólisis de la membrana celular externa de *Micrococcus Lysodeikticus*.
- 10

Tabla 3 Degradación de los copolímeros de bloques triples B-A-B

ID	Estructura	Geles no cargados		Geles cargados con proteína ¹	
		a 20 % en peso	at 25 % en peso	BSA	Lisozima
I	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)1,2(C ₂) _{2,0}	EJEMPLO COMPARATIVO: no forma un gel a 37 °C			
A(#27)	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)1,8(C ₂) _{2,0}	8 días	14 días	6 días	6 días
B (#21)	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,0(C ₂) _{2,0}	27 días	31 días	21 días	19 días
C (#33)	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,2(C ₂) _{2,0}	31 días	34 días	12 días	12 días
D	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,4(C ₂) _{2,0}	34 días	34 días	11 días	12 días
E	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,6(C ₂) _{2,0}	250 días	250 días	12 días	12 días
F	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,8(C ₂) _{2,0}	EJEMPLO COMPARATIVO: no se disuelve en PBS			

Ejemplo 8b

Tabla 4 Diferentes grupos finales

ID	Copolímero de bloques triples	Relación de peso (Relación de PLCA/PEG)	Relación en peso de caprolactona a lactida (relación de cap/lac)	Grupo terminal	Grado de acilación / %
Z1	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)1.8 (C ₃) _{2,0}	1,8	9/1	C3	100
Z2	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2(C ₃) 2.0	2	9/1	C3	100

Z3	PEG1500 (CAP90 %/LAC10 %)1.8 (C4)2.0	1,8	9/1	C4	100
A	PEG1500 (CAP90 %/LAC10 %)1.8 (C2)2.0	1,8	9/1	Acetilo C2	100
B	PEG1500 (CAP90 %/LAC10 %)2.0 (C2)2.0	2,0	9/1	Acetilo C2	100

Los copolímeros de bloques triples Z1 -Z3 se sintetizaron de una manera similar a los ejemplos 2 y 4.

Se prepararon soluciones al 20 % de los copolímeros de bloques triples de la Tabla 4 en PBS y se colocaron en un horno a 37 °C para las termogelaciones. La formación del gel se comprobó después de 1 hora y se formaron geles para composiciones que comprenden copolímeros de bloques triples que comprenden A, B, Z1, Z2 y Z3. Después de períodos de tiempo más largos (varias horas) también Z3 mostró separación de fases y después de períodos aún más largos, Z2 y Z1 también mostraron separación de fases. No se observó separación de fases para las composiciones que comprenden copolímeros de bloques triples A y B.

Ejemplo 9 Liberación de proteína modelo vs relación PCLA/PEG

Este ejemplo ilustra el perfil de liberación de proteínas modelos solubles en agua a partir de soluciones de copolímeros de bloques triples de la presente invención.

El procedimiento para detectar la liberación del fármaco de las composiciones se siguió como en el ejemplo 2. La liberación repentina se calculó representando la liberación acumulada frente a $t^{0.5}$. Los experimentos de degradación se realizaron como en el ejemplo 2. Los resultados se presentan en la Tabla 4.

Tabla 5 Características de los copolímeros de bloques triples con una relación en peso variable -caprolactona a lactida

ID	Estructura	Relación en peso de ϵ -caprolactona a lactida	Tiempo de degradación	Liberación de proteína modelo soluble en agua hasta	Liberación repentina
M	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₁₀₀ %/LAC ₀ %)1,8 (C ₂) _{2,0}	1/0 ϵ -caprolactona	> 140 días	~ 25 días	1,8 %
N	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₅ %/LAC ₅ %)2,0 (C ₂) _{2,0}	19/1	> 50 días	~ 25 días	1,6 %
B (21)	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₉₀ %/LAC ₁₀ %)2,0 (C ₂) _{2,0}	9/1	~ 42 días	~ 30 días	1,0 %
O	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₈₀ %/LAC ₂₀ %)2,0 (C ₂) _{2,0}	4/1	~ 23 días	~ 16 días	4,9 %
P	PEG ₁₅₀₀ (CAP ₅₀ %/LAC ₅₀ %)2,0 (C ₂) _{2,0}	1/1	~ 22 días	~ 9 días	5,0 %

Ejemplo 10

Reología de composiciones con diferentes cubiertas extremas.

La composición B (#21) del experimento 9 (que tenía el perfil de liberación repentina mínima) se comparó mediante análisis reológico con las composiciones con la misma relación PLCA/PEG, pero con diferentes grados de acilación final.

La caracterización reológica de las mezclas se realizó con un reómetro AR-G2 (TA Instruments, Etten-Leur, Países Bajos) equipado con una geometría de cono de acero de 1° de 20 mm de diámetro y trampa de disolvente. Se prepararon soluciones de mezcla de polímeros al 20 % (p/p) en PBS pH 7,4 a 4 °C. Se colocaron 300 μ l de las soluciones en un vial de vidrio (8,2 x 40 mm) y se incubaron durante aproximadamente 3 horas a 37 °C para permitir la gelificación y estabilización. Usando una espátula, se colocaron aproximadamente 70 mg de la muestra entre las placas precalentadas (37 °C) del reómetro. Las características reológicas del gel se controlaron mediante experimentos de barrido de tiempo oscilatorio. Durante los experimentos de barrido de tiempo, se midieron G' (módulo de almacenamiento de cizallamiento) y G'' (módulo de pérdida) durante un período de 5 min. También se realizaron experimentos de barrido de temperatura en las soluciones de polímero. Por tanto, las placas del reómetro se enfriaron previamente a 4 °C. El aumento de temperatura fue de 1 °C/min. Cuando G''/G' (= tan δ) = 1, la muestra se considera un gel desde el punto de vista reológico. Todos los experimentos se realizaron a tensión constante (1 %) y frecuencia (1 Hz).

Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6 Características del gel para las composiciones B y F

Composición	Gel a 37 °C	Grado de acilación / %
-------------	-------------	------------------------

B	21	SI	100
F	PEG ₁₅₀₀ (CAP _{90 %} /LAC _{10 %}) _{2.0} (C ₂) ₁	SI	50

Ejemplo 11 Degradación de composiciones de copolímeros de bloques triples de la invención con diferentes grados de acilación

Este ejemplo ilustra el perfil de degradación de los copolímeros de bloques triples de la invención en comparación con un compuesto modelo que no está acilado. En este ejemplo, se prepararon 300 mg de una formulación que contenía 20 % de copolímero de bloques triples y 3 % en peso de lisozima. Se siguió el procedimiento según el ejemplo 8.

Los resultados se muestran en la Figura 5 y se resumen en la Tabla 7.

Tabla 7 Tiempos de degradación para copolímeros de bloques triples

ID	Composición polimérica	Tiempo de degradación	Grado de acilación / %
F	PEG ₁₅₀₀ (CAP _{90 %} /LAC _{10 %}) _{2.0} (C ₂) ₀	14 días	0
G	PEG ₁₅₀₀ (CAP _{90 %} /LAC _{10 %}) _{2.0} (C ₂) ₁	14 días	50
B	PEG ₁₅₀₀ (CAP _{90 %} /LAC _{10 %}) _{2.0} (C ₂) ₂	42 días	100

Ejemplo 12 Liberación de lisozima

Este ejemplo muestra el perfil de liberación de lisozima que se usó como proteína modelo soluble en agua, a partir de composiciones de la invención en comparación con una composición que comprende un copolímero de bloques triples que no está acilado.

El procedimiento se siguió como en el ejemplo 6.

Los resultados se muestran en la Figura 6 y se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8 Comparación del perfil de liberación controlada para copolímeros de bloques triples con diferentes grados de acilación.

ID	Composición	Grado de acilación / %	Liberación repentina controlada*
F	PEG ₁₅₀₀ (CAP _{90 %} /LAC _{10 %}) _{2.0} (C ₂) ₀	0	--
G	PEG ₁₅₀₀ (CAP _{90 %} /LAC _{10 %}) _{2.0} (C ₂) ₁	50	+
B	PEG ₁₅₀₀ (CAP _{90 %} /LAC _{10 %}) _{2.0} (C ₂) ₂	100	++

-- Liberación repentina muy grande
 - liberación repentina grande
 + liberación repentina pequeña
 ++ liberación repentina muy pequeña

Ejemplo 13

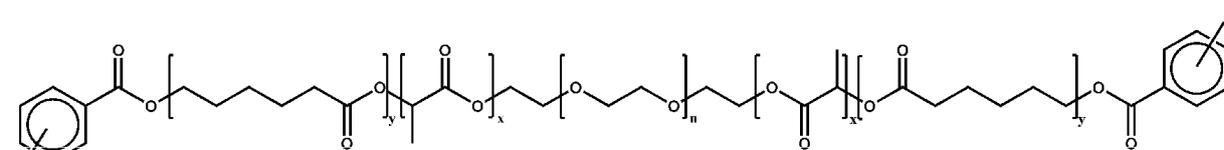
Análisis matemático de perfiles de liberación

Los datos del experimento de liberación (ejemplo 12) se representaron frente a la raíz cuadrada del tiempo de liberación. Los datos se ajustaron utilizando un análisis de regresión lineal y la liberación repentina se pudo determinar extrapolando las líneas de mejor ajuste al eje y. El punto donde la línea extrapolada cruza el eje y da el valor del porcentaje de liberación repentina. Los resultados se muestran en la Figura 7.

Ejemplo 14 Síntesis de copolímeros de bloques triples funcionalizados con yodo (que no es según la invención)

Este ejemplo detalla un procedimiento para unir covalentemente un átomo radiopaco a un copolímero de bloques triples. La estructura de un copolímero de bloques triples que está acilado se da a continuación en la fórmula (1).

Fórmula 1



grupo extremo yodobenzoilo poli(caprolactona-co-lactida) PEG poli(caprolactona-co-lactida) grupo extremo yodobenzoilo

La síntesis de copolímeros de bloques triples en los que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están unidos covalentemente a un compuesto que contiene átomos radiopacos se

realizó de acuerdo con el procedimiento descrito previamente en el documento US7740877, ejemplos 1, 2 y 3. La síntesis condujo a copolímeros de bloques triples (Tabla 9) con grupos tri-yodobenzoilo (1,8 grupos por cadena) según lo confirmado por NMR ¹H.

Tabla 9. Copolímeros de bloques triples usados.

ID	ID	PLCA/ PEG	Caprolactona / lactida	Grado de acilación (%)	Grupo terminal	Peso molecular promedio en número de PEG
P (#81)	I-Gell® #1	1,8	9/1	90 %	Tri-yodobenzoilo	1500
Q (#29)	I-Gell® #2	1,0	9/1	90 %	Tri-yodobenzoilo	1500

- 5 En los siguientes ejemplos se prepararon diferentes composiciones que comprenden P y Q y las composiciones se resumen en la Tabla 10.

Tabla 10. Resumen de las composiciones utilizadas en los ejemplos 15-19

Ejemplo	Copolímero de bloques triples (% en peso)		
	P	Q	17
15	-	-	100
16	25	-	75
	30	-	70
	50	-	50
	70	-	30
17 a b	30	-	70
	-	30	70
18 a b	-	-	100
	25	-	75
19 a b	25	-	75
	50	-	50

Ejemplo 15 Carga de una composición de copolímero de bloques triples con el agente de contraste Hexabrix™ (que no es según la invención)

- 10 Para lograr una liberación prolongada de un ingrediente farmacéuticamente activo, la retención en el lugar del tratamiento (por ejemplo, una articulación) debe mantenerse durante un mínimo de 4 semanas. Para determinar este tiempo de retención, debe visualizarse la composición de copolímero de bloques triples. Este ejemplo muestra cómo cargar un copolímero de bloques triples con un agente de contraste convencional no logra este objetivo.

- 15 Se cargó el polímero #17 (véase la Tabla 1) con Hexabrix™ al 15 % (Guerbet). El agente de contraste Hexabrix™ es un dímero iónico de baja osmolaridad. Cada mililitro contiene 393 mg de ioxaglato de meglumina, 196 mg de ioxaglato de sodio y 0,10 mg de edetato de calcio disódico como estabilizador. La solución contiene 3,48 mg (0,15 vEq) de sodio en cada mililitro y proporciona 32 % (320 mg/ml) de yodo unido orgánicamente.

- 20 La solución de Hexabrix™ disponible comercialmente se diluyó con regulador de pH fosfato (fosfato de 50 mM, pH 7,4, NaCl de 0,07 mM) en una proporción de 15/85 v/v. Esta solución de Hexabrix™ diluida se usó para disolver el polímero, lo que condujo a la preparación de una formulación que contenía un 25 % en peso de polímero con respecto al regulador de pH y Hexabrix™. Cada gramo de formulación contenía 44 mg de ioxaglato de meglumina.

- 25 La composición de copolímero de bloques triples cargada se inyectó en una rodilla de pollo y se visualizó usando microTC (Skyscan modelo 1076, Skyscan, Kontich, Bélgica). Los escaneos se realizaron usando los siguientes ajustes del escáner: tamaño de vóxel isotrópico de 35 mm, a un voltaje de 55 kV, una corriente de 170 mA, campo de visión de 35 mm y un filtro de aluminio de 0,5 mm, más de 198 ° con un paso de rotación de 0,8. 1 hora después de la inyección, la visibilidad del gel disminuyó y un día más después no se pudo visualizar la composición. Hacer que la tabla T = 0-1 -24hrs muestre una visualización del 100 % -50 % -0 % como valor de gris relativo.

Los resultados también se indican en la tabla 11.

Tabla 11: Retención de imagen del polímero #17 (25 % p/p) cargado con 15 % de Hexabrix

Tiempo puntual en horas	Area de superficie gris relativa
T = 0	100 %
T = 1	50 %
T=24	0 %

- 30 **Ejemplo 16 Composiciones de copolímeros de bloques triples radiopacos (que no es según la invención)**

Este ejemplo muestra que un copolímero de bloques triples en el que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están unidos covalentemente a un compuesto que contiene átomos radiopacos puede visualizarse mediante microTC. (Modelo de Skyscan 1076, Skyscan, Kontich, Bélgica). Los escaneos se realizaron utilizando la siguiente configuración del escáner: tamaño de vóxel isotrópico de 35 μ m, a un voltaje de 55 kV, una corriente de 170 mA, campo de visión de 35 mm y un filtro de aluminio de 0,5 mm, sobre 198 ° con un paso de rotación de 0,8. El tiempo de exploración fue de 10 minutos. En este ejemplo se prepararon diferentes composiciones que comprenden diferentes porcentajes en peso de copolímeros de bloques triples (Tabla 10, ejemplo 16) en los que los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están al menos parcialmente acilados con un grupo acetilo o en los que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están unidos covalentemente a un compuesto que contiene átomos radiopacos.

Las composiciones (Tabla 10, ejemplos 16) se prepararon como sigue. Ambos polímeros P y # 17 se disolvieron por separado en acetato de etilo a una concentración de 500 mg/ml. Las soluciones se mezclaron en las proporciones deseadas y las mezclas se transfirieron a placas de Petri. El disolvente se eliminó bajo un flujo de nitrógeno durante 48 horas. A 500 mg de mezcla de polímero, se añadió regulador de pH fosfato (50 mM, NaCl de 0,07 mM, NaN₃ al 0,02 %, pH 7,4) para producir soluciones al 25 % en peso. Las composiciones se midieron en viales de vidrio y la intensidad de los rayos X se representó en un gráfico (Figura 8). Las composiciones se midieron en viales de vidrio y la intensidad de los rayos X se representó en un gráfico (Figura 8).

Ejemplo 17 Imagen de TC en composiciones de copolímero de bloques triples radiopacos (que no es según la invención)

Este ejemplo muestra los tiempos de visualización de TC para diferentes mezclas de copolímeros de bloques triples.

Se prepararon las mezclas de copolímeros (Tabla 10, ejemplo 17a y 17b), se inyectaron en la rodilla de un cadáver de rata y se visualizaron mediante microTC (Skyscan modelo 1076, Skyscan, Kontich, Bélgica). Los escaneos se realizaron utilizando los siguientes ajustes del escáner: tamaño de vóxel isotrópico de 35 μ m, a un voltaje de 55 kV, una corriente de 170 mA, un campo de visión de 35 mm y un filtro de aluminio de 0,5 mm, más de 198° con un paso de rotación de 0,8. Los resultados se muestran en la Tabla 14.

La composición 17a fue visible solo durante unos pocos días mientras que la composición 17b fue visible durante 3 semanas (Figura 11).

Ejemplo 18 Perfiles de liberación de copolímeros de bloques triples en los que los grupos terminales están acilados o son grupos acilo radiopacos sustituidos (que no es según la invención)

Este ejemplo ilustra el perfil de liberación de un ingrediente farmacéuticamente activo de las composiciones de copolímeros de bloques triples y también los perfiles de degradación de las composiciones de copolímeros de bloques triples que comprenden un ingrediente farmacéuticamente activo.

Se prepararon OAc-Gell (#17) y una mezcla de I-Gell® #1 (P) y OAc-Gell (#17) al 25 % en peso en regulador de pH fosfato de 50 mM a pH 7,4, 0,42 % de NaCl y 0,05 % de NaN₃. La carga de Celecoxib fue de 1,25 mg/ml. Los experimentos de liberación se realizaron como en el ejemplo 6 y a 37 °C en regulador de pH PBS que contenía Tween 80 al 0,2 %. Las barras de error representan el error estándar de la media (n = 6). Los resultados se muestran en la Figura 9 y se resumen en la Tabla 12.

Tabla 12 Resumen del tiempo de liberación y perfil de erosión para los ejemplos 18a y 18b.

Ejemplo	Tiempo de liberación	Tiempo de erosión (contenido sólido)
18a	28	28
18b	35	35

Peso húmedo = peso de los depósitos, medido decantando el regulador de pH PBS y pesando el gel restante, después de lo cual se resta el peso del vial original

Peso seco = peso de los depósitos liofilizados después de decantar el regulador de pH (es decir, peso del polímero) y restar el peso del vial

Contenido de sólidos = concentración de polímero en los depósitos (peso seco/peso húmedo)

Ejemplo 19 Perfil de degradación para composiciones de copolímeros de bloques triples (no es según la invención)

Este ejemplo muestra el perfil de degradación in vivo para composiciones de copolímeros de bloques triples en los que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están unidos covalentemente a un compuesto que contiene átomos radioopacos.

Las composiciones (Tabla 10, ejemplo 19a y 19b) se prepararon disolviendo 25 % en peso de copolímero de bloques triples (que comprende 75 % de P y 25 % # 17, o 50 % de P y 50 % de # 17) en regulador de pH PBS al 75 %, pH 7,4. Se inyectó subcutáneamente NaCl de 50 mM, 0,15 % de la composición en las rodillas de las ratas. A continuación, se visualizó y se midió el volumen inyectado de 19b utilizando imágenes de micro-CT en 3D (Skyscan modelo 1076, Skyscan, Kontich, Bélgica). Las ratas se anestesiaron con isoflurano y luego se colocaron en un lecho de escáner hecho a medida, fijando la extremidad trasera en una posición extendida. Los escaneos se realizaron utilizando la siguiente configuración del escáner: tamaño de vóxel isotrópico de 35 mm, a un voltaje de 55 kV, una corriente de 170 mA, un campo de visión de 35 mm y un filtro de aluminio de 0,5 mm, más de 198° con un paso de rotación de 0,8. Las rodillas de las ratas y los depósitos subcutáneos se escanearon los días 0, 1, 4 y 8 y después de eso semanalmente hasta que el gel ya no fue visible. El tiempo de exploración fue de 16 minutos y se usó un promedio de marcos de 3. Las imágenes obtenidas con el escáner uCT se reconstruyeron utilizando el software de análisis Skyskan. Los conjuntos de datos se segmentaron utilizando un umbral de atenuación fijo entre el aire y el hueso subcondral. Posteriormente, se dibujaron regiones de interés alrededor del cartílago rotuliano y se calcularon la atenuación y el volumen. El volumen inyectado de 19a (no radiopaco) se controló a través de la piel con un calibre de medición. Los resultados se muestran en la Figura 10 y se resumen en la Tabla 13 y 14.

Tabla 13 Descripción general del monitoreo de la erosión para los ejemplos 19a y 19b.

Día	19a		19b	
	Observaciones	Área superficial / %	Observaciones	Área superficial / %
0	Forma oval distintiva, bordes agudos	100	Intensidad más alta que para 19a	100
4	Bordes agudos conservados	80		70
8	Bordes menos agudos en el lado interior	40		65
14	Área aguda fracturada	Manchas claras pequeñas en área oscura		75
21	No visible	-		50
40	-	-	Aún visible	40
Área superficial = área relativa con respecto al área superficial a t=0 (ajustada a 100 %)				

Tabla 14. Resumen de las composiciones y las características de microTC para los ejemplos 15-19

Ejemplo	Copolímero de bloques triples (% en peso)			Duración de visibilidad en micro CT	Ingrediente activo
	P	Q	17		
15	-	-	100	< 24 horas	Hexabrix™
16 a	25	-	75	Todos visibles en micro CT, pero la duración de duración de visibilidad no se mide	-
	30	-	70		-
	50	-	50		-
	70	-	30		-
17 a b	30	-	70	< 7 días	-
	-	30	70	~ 4 semanas	-
18 a b	-	-	100	-	Celecoxib
	25	-	75	-	Celecoxib
19 a b	25	-	75	~ 40 días	-
	50	-	50	~ 77 días	-

Discusión y conclusión

Breve descripción de las figuras.

La figura 1 muestra la liberación de ingredientes activos de tipo hidrófugo (celecoxib (CLB), triamcinolona (TA), ciclosporina A (cya) y solubles en agua (iobitrodol (ITD) y lisozima (Lys)) a partir del 25 % p/p de U5 (relación PLCA/PEG baja) basada en PBS e ingrediente activo a 37 °C. Esa fase del polímero U5 comparativo se separa a 37 °C.

En la figura 1, se utiliza la siguiente leyenda:

Liberación de U5: lisozima (diamantes), ibitridol (círculos), acetónido de triamcinolona (cuadrados), ciclosporina A (cuadrados abiertos), celecoxib (triángulos abiertos)

La figura 2 muestra la liberación de IgG, BSA y lisozima a partir de una solución al 20 % en peso/peso de copolímero de bloques triples #17 basado en la cantidad de disolvente e ingrediente farmacéuticamente activo presente en la composición a 33 °C. Los datos se muestran como promedio ± desviación estándar (n = 3).

La Figura 3 muestra la liberación de IgG, BSA y lisozima de una solución de 20 % p/p de copolímero de bloques triples #33 basado en la cantidad de disolvente e ingrediente farmacéuticamente activo presente en la composición a 33 °C.

5 La Figura 4 muestra la liberación de las proteínas modelos lisozima, BSA e IgG de los copolímeros de bloques triples # 27 y del #21 a 37 °C a una concentración del 20 % p/p del copolímero de bloques triples basado en la cantidad de disolvente e ingrediente farmacéuticamente activo presente en la composición. Los datos se muestran como promedio \pm desviación estándar (n = 3).

La Figura 5 muestra el perfil de degradación del gel relativamente húmedo en función del tiempo para formulaciones de 20 % en peso de polímero y 3 % en peso de lisozima. Las mediciones se realizaron en 4 muestras (n = 4)

10 En la Fig.5 las composiciones utilizadas son

G PEG1500 (Cap90 %/Lac10 %)2,0 (triángulo)

H PEG1500 (Cap90 %/Lac10 %)2,0(C2)1 (diamante)

B (# 21): PEG1500 (Cap90 %/Lac10 %)2,0(C2)2 (cuadrado)

15 La Figura 6 (Fig. 6) muestra el perfil de liberación acumulativa de lisozima en función del tiempo para formulaciones de 20 % en peso de copolímero de bloques triples y 3 % en peso de lisozima.

En la Fig.6 las composiciones utilizadas son

G PEG1500 (Cap90 %/Lac10 %)2,0 (triángulo)

H PEG1500 (Cap90 %/Lac10 %)2,0(C2)1 (diamante)

B (# 21): PEG1500 (Cap90 %/Lac10 %)2,0(C2)2 (cuadrado)

20 La Figura 7 (Fig. 7) muestra los perfiles de liberación acumulativa de lisozima de las composiciones de copolímero de bloques triples como una función de la raíz cuadrada del tiempo. Las formulaciones comprendían 20 % en peso de copolímero de bloques triples y 3 % en peso de lisozima. Las líneas representan ajustes lineales. Las curvas ajustadas corresponden a $y = mx+c$ donde c es el porcentaje de liberación repentina. Las barras de error muestran la desviación estándar con n = 4.

25 En la Fig.7 las composiciones utilizadas son

G PEG1500 (Cap90 %/Lac10 %)2,0 (triángulo)

H PEG1500 (Cap90 %/Lac10 %)2,0 (C2) 1 (diamante)

B (# 21): PEG1500 (Cap90 %/Lac10 %)2,0(C2)2 (cuadrado)

30 La Figura 8 (Figura 8) muestra las intensidades de rayos X medidas por medio de microTC, para las composiciones mostradas en la Tabla 10, ejemplo 16, en donde el porcentaje de polímero P unido a yodo (# 81) se da en el eje x. La línea se agrega para guiar la vista.

35 La Figura 9 (Fig. 9) muestra el perfil de liberación y los perfiles de erosión del gel, por ejemplo 18. Los cuadrados rellenos indican la composición 18a (OAc-Gell solo cargado con Celecoxib) y los triángulos vacíos indican la composición 18b (OAc-Gell / I-Gell® # 1 - # 81). Las composiciones contenían 25 % en peso en regulador de pH fosfato de 50 mM, pH 7,4, NaCl al 0,42 % y NaN₃ al 0,05 %. La carga de Celecoxib fue de 1,25 mg/ml

La Figura 10 (Fig. 10) muestra el perfil de erosión para las composiciones 19a (línea de puntos) y 19b (línea continua). Las imágenes de los depósitos de I-Gell inyectados subcutáneamente en ratas se tomaron in vivo usando micro-CT en los días 0-1-4-8-14-21-28-35-42-49-56-63-70-77 y el volumen del gel se determinó usando un calibre como se hace habitualmente para estimaciones de volumen de hinchazones tumorales subcutáneas.

40 La Figura 11 (Fig. 11) muestra el perfil de degradación para la composición 17b según se determina mediante visualización usando microTC.

45 Como se puede ver en la Figura 1 (Fig. 1), el copolímero de bloques triples con una relación PLCA/PEG baja de 1,2 puede emplearse para obtener una liberación controlada a largo plazo de moléculas hidrófugas (celecoxib, acetónido de triamcinolona, ciclosporina A) sin estallido; mientras que ese polímero no es adecuado para evitar la liberación repentina de moléculas solubles en agua (lisozima, iobitridol) y, como tal, no es adecuado para su uso en la composición de la presente invención.

Como puede verse en la Figura 2 (Fig. 2), el copolímero de bloques triples # 17 puede emplearse en la composición de la invención para obtener una liberación controlada sin demasiada liberación repentina de proteínas modelos IgG solubles en agua; BSA y lisozima.

5 Como se puede ver en la Figura 3 (Figura 3), el copolímero de bloques triples # 33 puede emplearse para obtener una liberación controlada sin demasiada liberación repentina de los ingredientes farmacéuticamente activos solubles en agua (en este caso, Lisozima, BSA e IgG).

Como puede verse en la Figura 4, los copolímeros de bloques triples #21 y #27 son adecuados para la liberación controlada de las proteínas modelos probadas: lisozima y BSA.

10 Los resultados de la Tabla 3 muestran que en una proporción de bloques inferior a 1,4, el copolímero de bloques triples no forma un gel, mientras que, en una proporción de bloques de más de 2,6, el copolímero de bloques triples no se disuelve en la solución reguladora de pH.

15 Como puede verse en la Tabla 5, se obtienen una degradación y liberación más prolongadas para copolímeros de bloques triples que tienen una relación en peso de -caprolactona a lactida de al menos 9/1. Además, se puede ver que un copolímero de bloques triples que tiene una relación en peso de - caprolactona a lactida de al menos 1/1 muestra una baja liberación repentina.

La Tabla 6 muestra que los copolímeros de bloques triples al menos parcialmente acilados de la invención pueden formar un gel.

20 Como se muestra en la Figura 5 y la Tabla 7, la composición que tiene un grado de acilación de los grupos terminales de al menos el 75 % (por ejemplo, del 100 %), tiene un tiempo de degradación significativamente más largo (42 días) que aquellas composiciones que tienen un menor grado de acilación.

25 Como puede verse en la Figura 6, las composiciones que comprenden un copolímero de bloques triples que está al menos parcialmente acilado (grado de acilación 50 %) o completamente acilado (grado de acilación 100 %) proporcionan geles con una liberación repentina menor, en comparación con composiciones que comprenden un copolímero de bloques triples que no está acilado. Este ejemplo demuestra claramente la sorprendente mejora en términos del perfil de liberación de una proteína soluble en agua a partir de una composición según la invención que comprende un copolímero de bloques triples al menos parcialmente acilado; por ejemplo, que tiene un grado de acilación de al menos 75 % en comparación con la composición que comprende un copolímero de bloques triples que carece de acilación.

30 Como puede verse claramente en la Figura 7, las composiciones que comprenden grupos terminales al menos parcialmente acilados (por ejemplo, grado de acilación 50 %) o completamente acilados (por ejemplo, grado de acilación 100 % de copolímeros de bloques triples) tienen una liberación repentina de menos de 2 %, que es una mejora sorprendente y significativa para su uso en la liberación controlada de compuestos especialmente solubles en agua, por ejemplo, proteínas solubles en agua. La composición que comprende caprolactona/lactida no acilada mostró una liberación repentina del 24 % con los mismos compuestos solubles en agua, lo que hace que esta composición sea inútil, e incluso insegura, en la práctica clínica para la mayoría de las terapias farmacológicas basadas en proteínas.

35 La conclusión que se puede extraer del análisis matemático (como se muestra en la Figura 7) del perfil de liberación es que las composiciones de la invención que comprenden copolímeros de bloques triples que están al menos parcialmente acilados dan una liberación repentina baja o muy baja en comparación con las composiciones que comprenden copolímeros de bloques triples que no están acilados.

40 También se observa, que cuando se utilizan copolímeros de bloques triples en la composición de la invención, donde el peso molecular promedio en número del bloque A es de 1000 Da, se obtienen geles a 37 °C que inmediatamente se separan en fase. Cuando se utilizan copolímeros de bloques triples en la composición de la invención, en los que el peso molecular promedio en número del bloque A es de al menos 1250 Da (como se ejemplifica por el peso molecular promedio en número del bloque A de 1500), los geles se obtienen a 37 °C que no se separan en fases. La separación de fases da como resultado la expulsión de agua libre / regulador de pH del interior de la matriz de gel y la contracción de la matriz de gel expresada como peso húmedo. Las moléculas disueltas en agua también saldrán del gel en grandes cantidades con la expulsión de disolventes a base de agua, lo que conducirá a una liberación rápida y en grandes cantidades de las moléculas cargadas solubles en agua, lo que denominamos estallido o liberación repentina. Evitar la separación de fases de la formulación en una etapa temprana es esencial para mantener las moléculas de fármaco solubles en agua dentro del gel hasta que se liberen por difusión y/o por degradación gradual de la matriz del gel.

45 En conclusión, los ejemplos presentados en este documento muestran que la relación de bloque del tri-copolímero de PEG/PLCA es importante y la relación debe ser superior a 1,2, pero inferior a 2,8 para obtener un gel que no se separa en fases a 37 °C. Además, los copolímeros de bloques triples que están al menos parcialmente acilados tienen propiedades inesperadas en una composición de la invención, cuando se comparan con composiciones que comprenden copolímeros de bloques triples no acilados. De manera notable, la modificación covalente al menos

parcial de los grupos terminales hidroxilo de los copolímeros de bloques triples es muy adecuada para la liberación controlada y sostenida de un ingrediente farmacéuticamente activo, por ejemplo, un fármaco soluble en agua, y casi no da lugar a una liberación repentina de moléculas solubles en agua.

5 Además, un copolímero de bloques triples cargado con Hexabrix™ se puede utilizar para la formación de imágenes en estudios de microTC, pero el agente de contraste se difunde fuera del copolímero de bloques triples en 1 día, lo que evita la formación prolongada de imágenes del copolímero de bloques triples. Sorprendentemente, una composición que comprende un copolímero de bloques triples en la que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están unidos covalentemente a un compuesto que contiene átomos radiopacos es adecuada para la formación de imágenes mediante microTC durante períodos más largos de tiempo.

10 Se muestra en este documento que una composición que comprende un copolímero de bloques triples en la que al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están unidos covalentemente a un compuesto que contiene átomos radiopacos mantiene las propiedades de formación de gel, erosión del gel y liberación controlada mientras que al mismo tiempo dicha composición se puede visualizar utilizando micro CT.

15 Además, se muestra que es posible visualizar, por ejemplo, usando microTC o imágenes de CT, una mezcla de un copolímero de bloques triples en el que los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están al menos parcialmente acilados con un grupo acetilo o en donde al menos parte de los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples se unen covalentemente a un compuesto que contiene átomos radiopacos, mientras se mantienen la formación de gel, la erosión del gel y las propiedades de liberación controlada.

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende un copolímero de bloques triples según la fórmula 1



- 5 en la que A representa un bloque de poli-(etilenglicol) lineal y
 en la que B representa un bloque de poli (lactida-co- ϵ -caprolactona),
 en el que los grupos terminales hidroxilo del copolímero de bloques triples están al menos parcialmente acilados
 con un grupo acilo;
 un ingrediente farmacéuticamente activo soluble en agua y un disolvente,
 10 en el que la relación de bloques del copolímero de bloques triples varía de 1,4 a 2,6; dicha relación se define como
 la relación entre la suma del peso molecular medio numérico de los bloques B y el peso molecular medio numérico
 del bloque A,
 en el que el peso molecular promedio en número (Mn) del bloque de poli-(etilenglicol) lineal es de al menos 1250
 Da y
 15 en el que el grupo acilo es un grupo acetilo, un grupo propionilo, un grupo butilo, y en la que el ingrediente activo
 tiene una solubilidad de al menos 20 mg/ml en agua medida a 20 °C y a 1 bar de presión.
2. Composición según la reivindicación 1, en la que la concentración del copolímero de bloques triples en la
 composición de la invención varía de 15 a 40 % p/p basada en la cantidad de disolvente e ingrediente activo
 presente en la composición, preferiblemente la concentración varía de 21 a 35 % p/p, más preferiblemente de 25
 20 a 35 % p/p.
3. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que el grupo acilo es un grupo acetilo o un
 grupo propionilo.
4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el grado de acilación de los grupos
 terminales hidroxilo es de al menos del 75 %.
- 25 5. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que el ingrediente activo es un ingrediente
 farmacéuticamente activo elegido del grupo de esteroides, fármacos antiinflamatorios no esteroides, por ejemplo,
 un inhibidor selectivo de COX-2; y productos biológicos, por ejemplo, un anticuerpo, secuencia de nucleótidos,
 proteína, antígeno, péptido o extracto celular.
- 30 6. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que el ingrediente activo son micropartículas
 y/o nanopartículas, tales como microesferas que contienen fármacos o agentes de formación de imágenes, o
 liposomas que contienen ARNip, miARN, fármacos o agentes de formación de imágenes.
7. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que el disolvente es agua o una solución
 acuosa reguladora de pH, más preferiblemente una solución acuosa reguladora de pH que conduce a una
 composición isotónica de la invención.
- 35 8. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que la composición tiene una temperatura de
 gel en el intervalo de 25 a 35 °C y una temperatura de separación de fases de al menos 42 °.
9. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la que el copolímero de bloques triples tiene
 una ventana de gel entre 25 °C y 42 °C.
- 40 10. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en la que la relación en peso de ϵ -caprolactona a
 lactida es al menos 1/1.
11. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en la que la composición es una composición
 farmacéutica que comprende además un adyuvante, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable; por
 ejemplo, una nanopartícula o micropartícula encapsulante de fármaco.
12. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para su uso como medicamento.
- 45 13. Procedimiento de preparación de una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12 que comprende
 las etapas de

- sintetizar el copolímero de bloques triples
- mezclar el copolímero de bloques triples con el ingrediente activo y el disolvente.

Figura 1

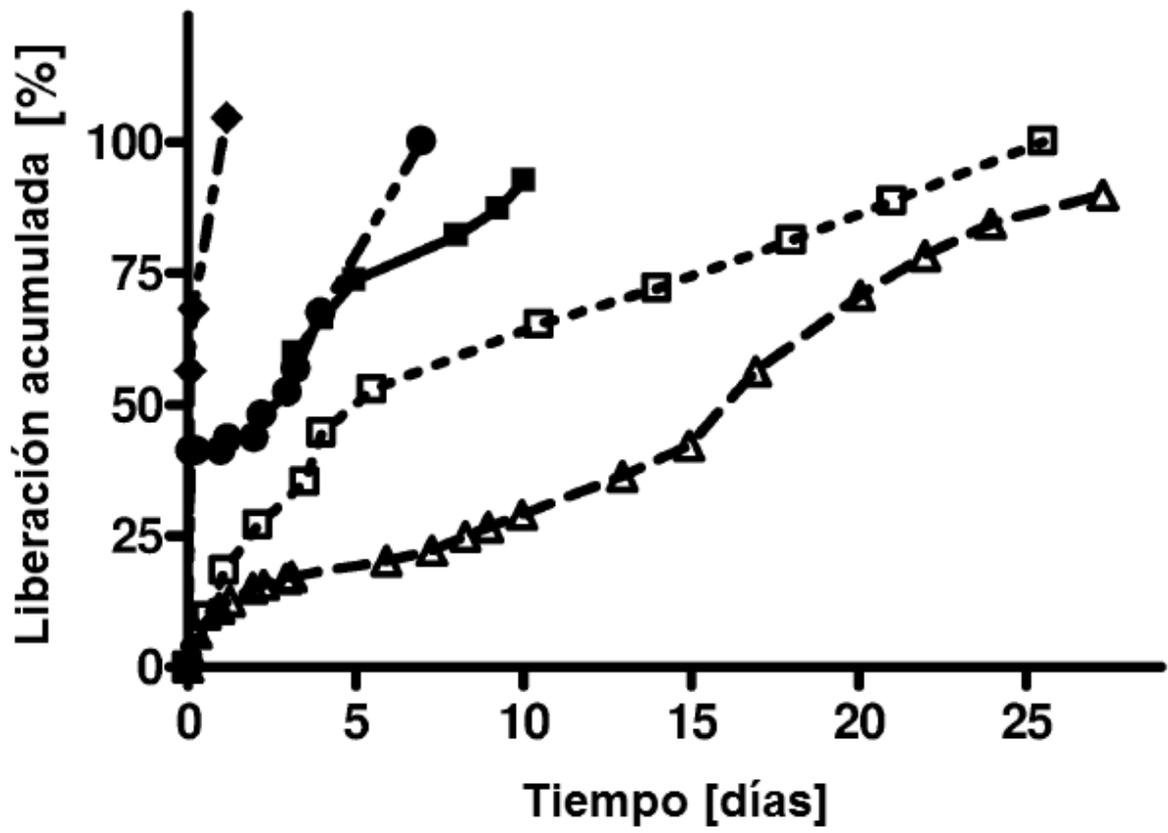


Fig. 2

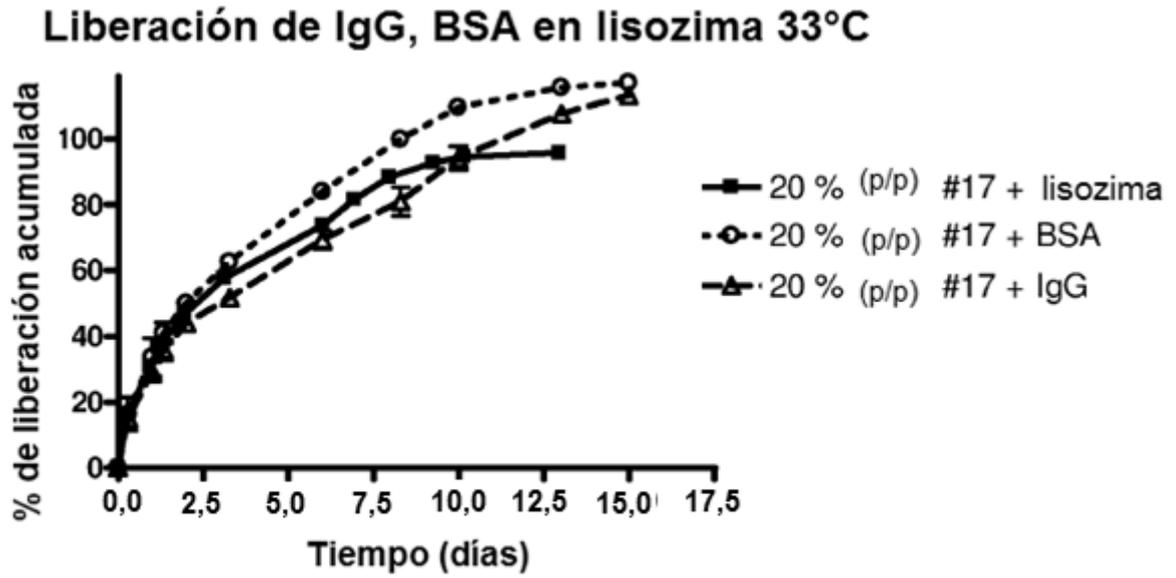


Fig. 3

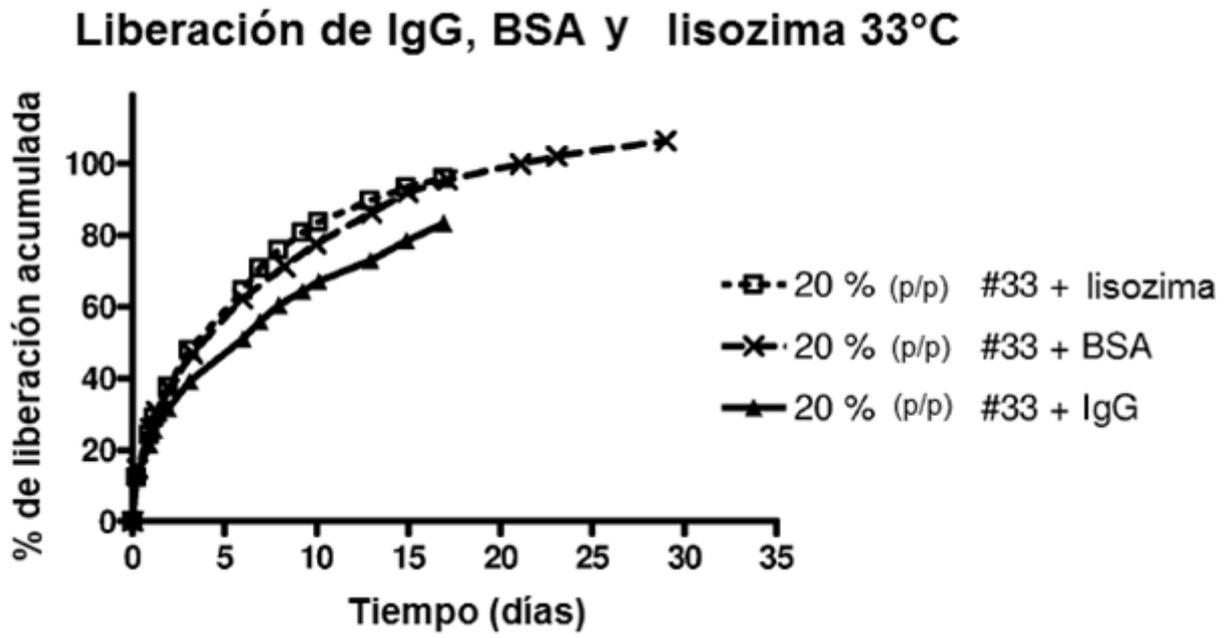


Fig. 4

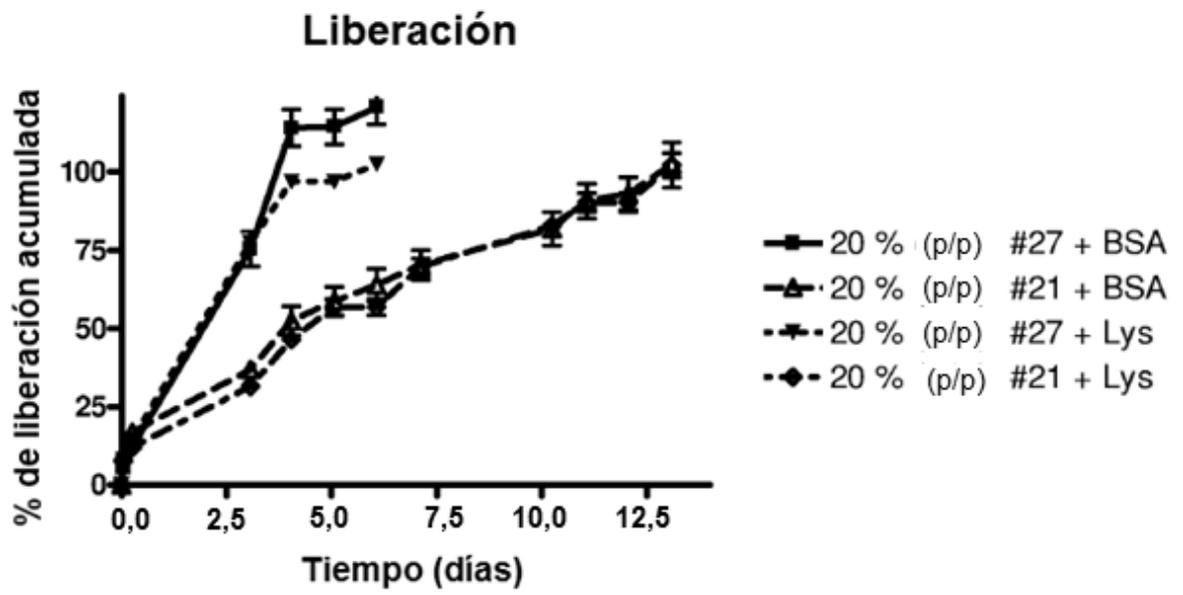


Fig. 5

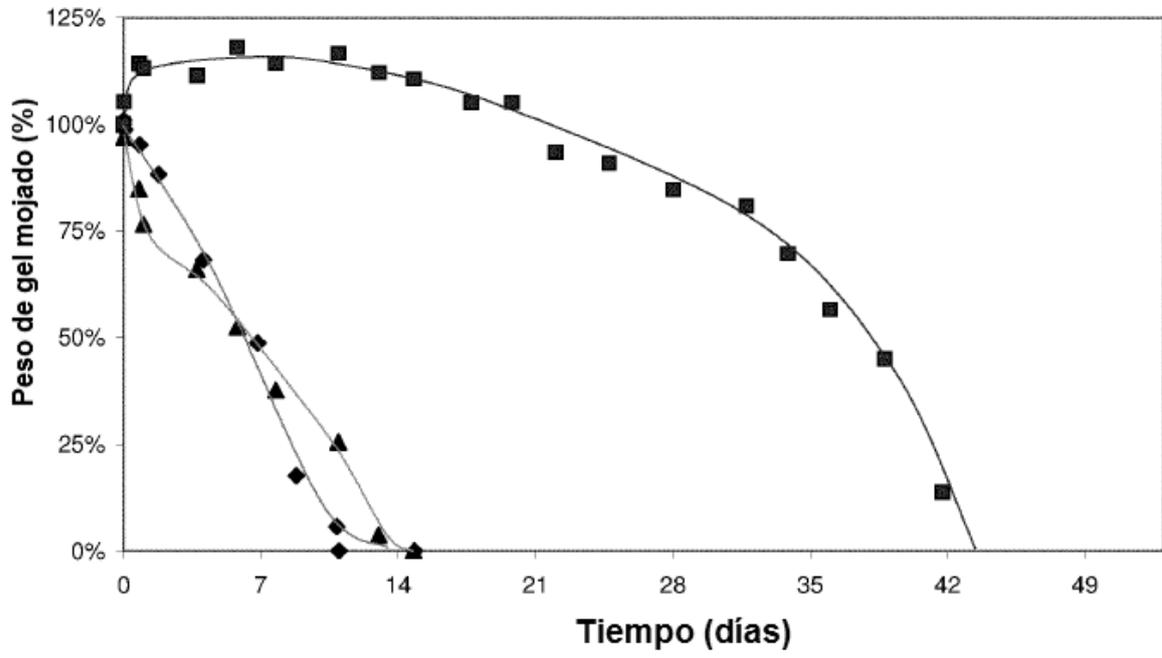


Fig. 6

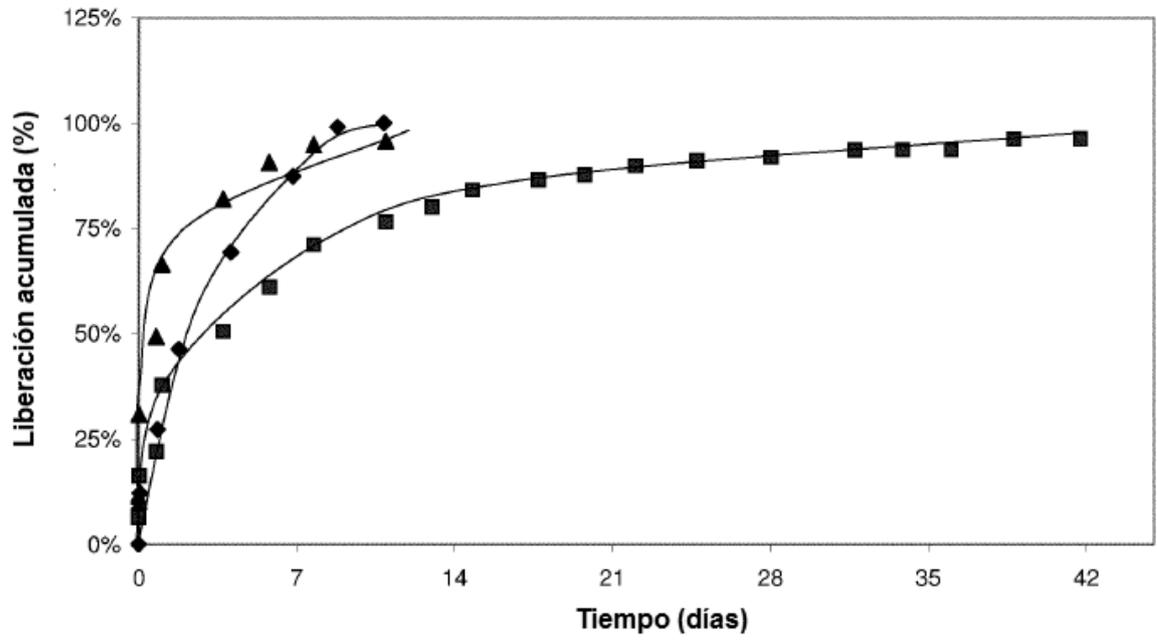


Fig. 7

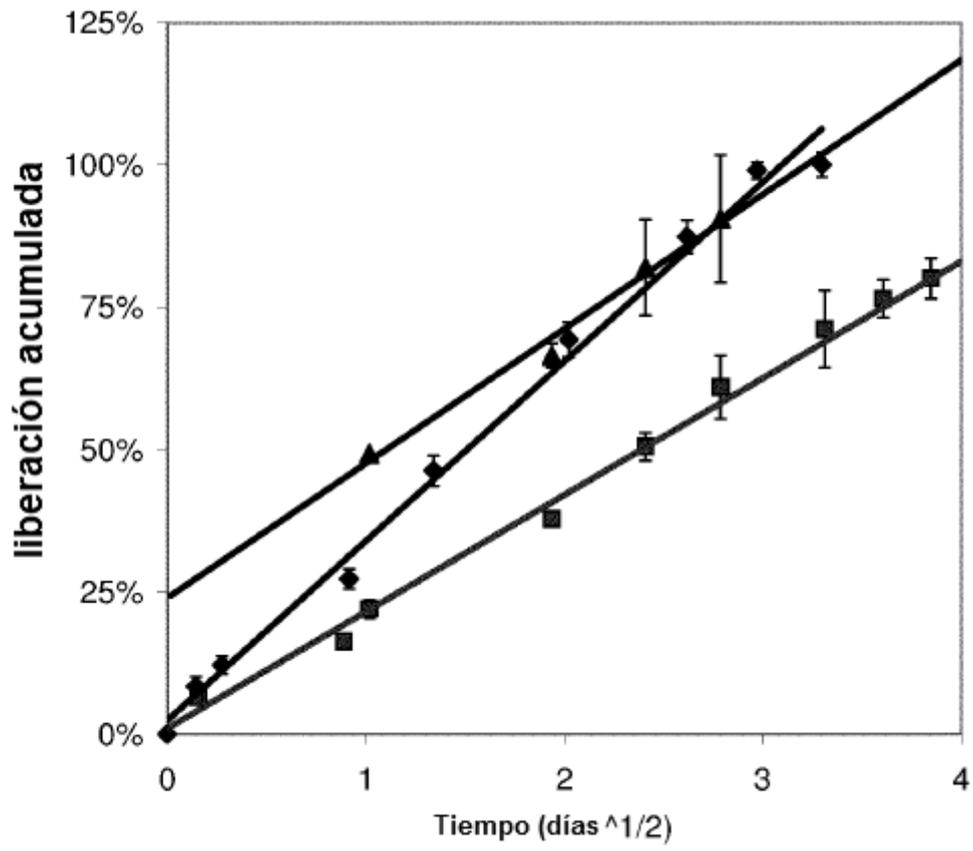


Fig. 8

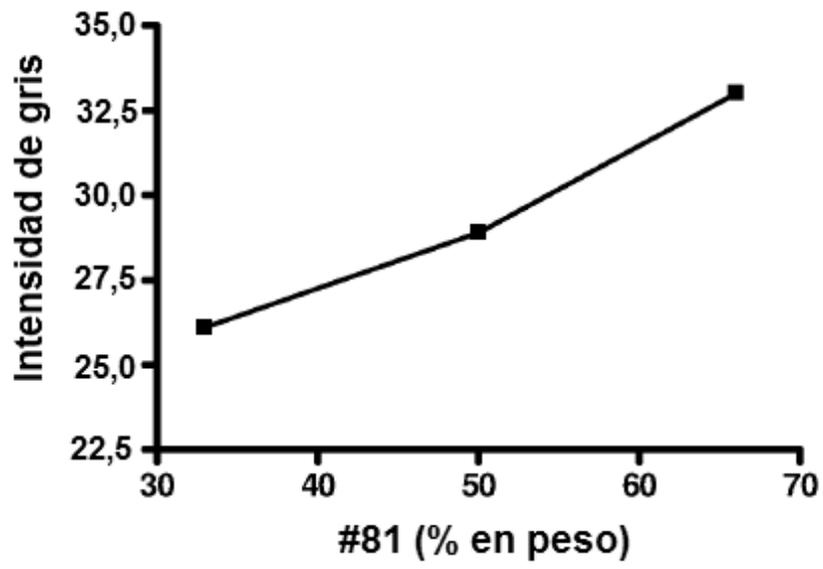
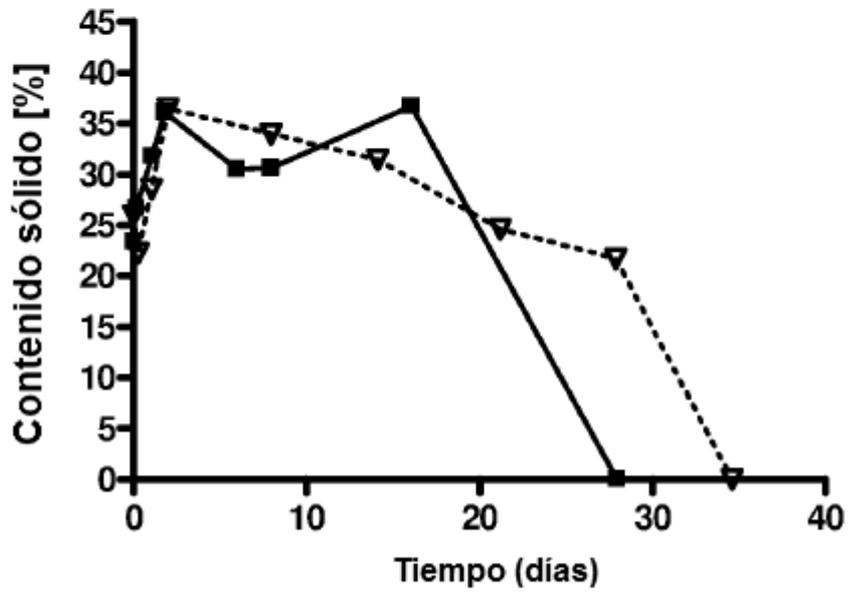
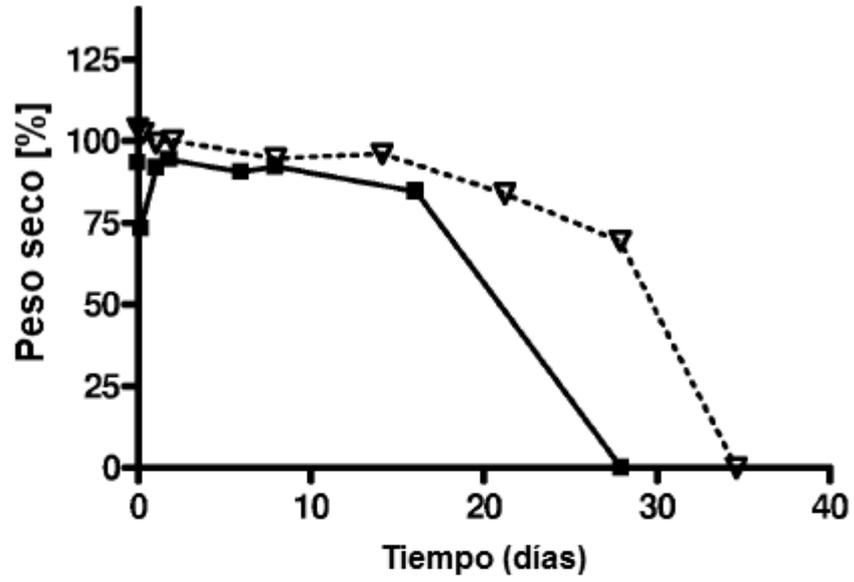


Fig. 9

Polímero #17 (cuadrados); #17/#81 (75/25) (triángulos abiertos)



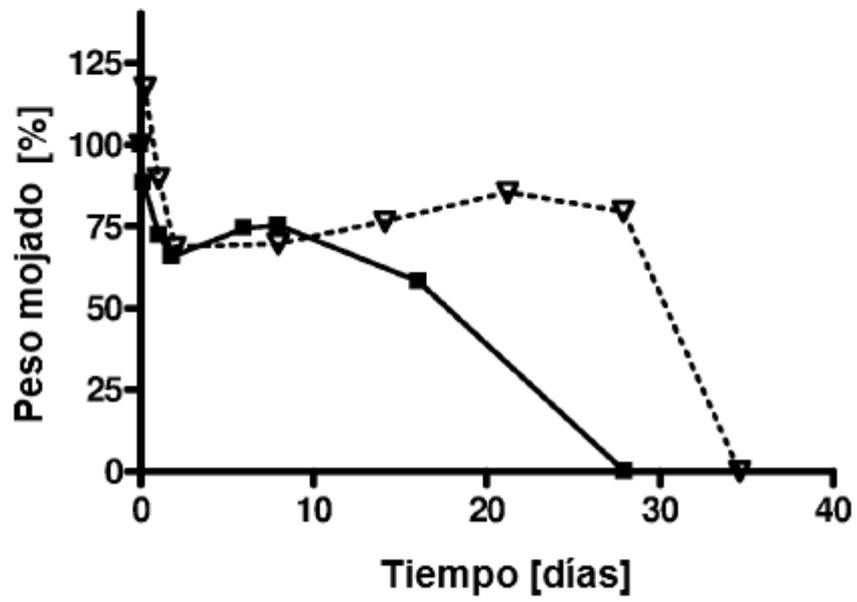
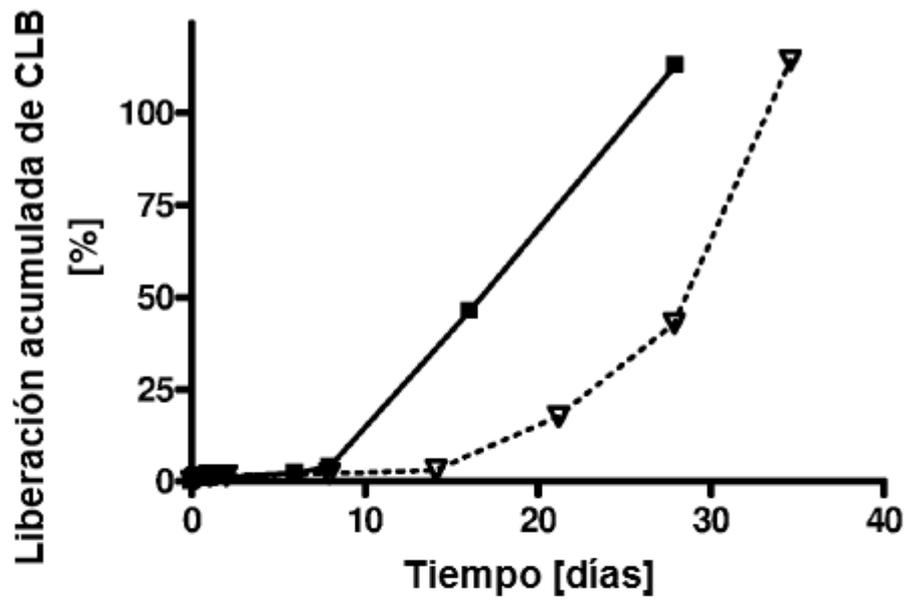


Fig.10

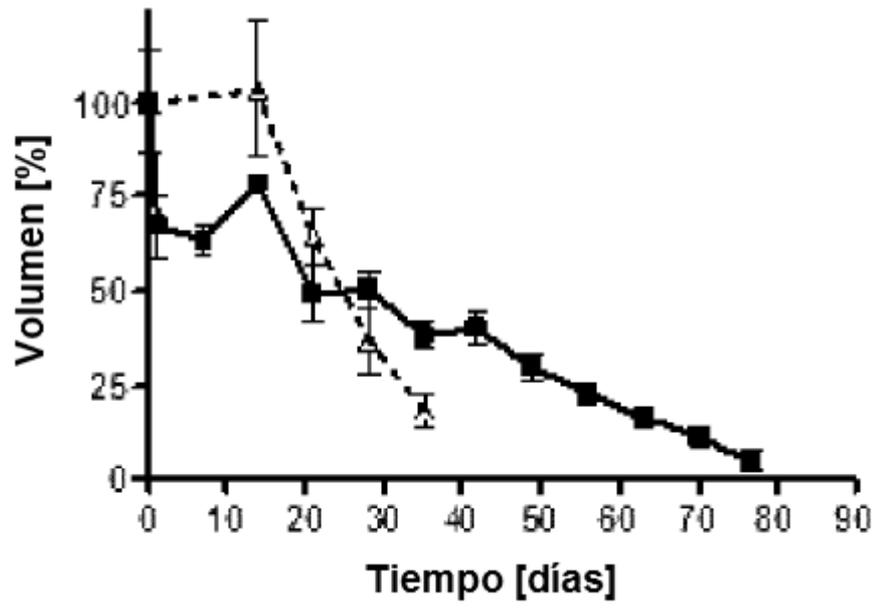


Fig. 11

