(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 906 596**

(51) Int. CI.:

C08J 9/16 (2006.01)
C08J 9/22 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.10.2016 PCT/US2016/056135**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **13.04.2017 WO17062871**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2016 E 16854494 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.12.2021 EP 3359591**

(54) Título: **Partículas reticuladas**

(30) Prioridad:

09.10.2015 US 201562239758 P
21.01.2016 US 201662281631 P
24.03.2016 US 201662313013 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.04.2022

(73) Titular/es:

LE DÉVÉDEC, FRANTZ (16.6%)
4322 Harding Pike, Ste 417, 92
Nashville, Tennessee 37205, US;
ALLEN, CHRISTINE JANE (16.6%);
STEVENS, DAVID MICHAEL (16.6%);
RAGER-AGUIAR, DEAN JAMES (16.6%);
RUCKH, TIMOTHY TORDELLA (16.6%) y
ELMQUIST, CARL ERIC (16.6%)

(72) Inventor/es:

LE DÉVÉDEC, FRANTZ;
ALLEN, CHRISTINE JANE;
STEVENS, DAVID MICHAEL;
RAGER-AGUIAR, DEAN JAMES;
RUCKH, TIMOTHY TORDELLA y
ELMQUIST, CARL ERIC

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

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

Partículas reticuladas

Solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica el beneficio en virtud del título 35 del U.S.C. §119(e) de la solicitud de patente provisional de los EE. UU. núm. de serie 62/239.758, presentada el 9 de octubre de 2015; la solicitud de patente provisional de los EE. UU. núm. de serie 62/281.631, presentada el 21 de enero de 2016; y la solicitud de patente provisional de los EE. UU. núm. de serie 62/313.013, presentada el 24 de marzo de 2016.

Campo de la invención

La presente descripción describe partículas reticuladas (p. ej., micropartículas o nanopartículas) que son capaces de almacenar y liberar fármacos. Las partículas pueden liberar fármaco mediante degradación, erosión, difusión, o una combinación de mecanismos.

Antecedentes de la invención

Se pueden usar nanopartículas biodegradables que eluyen fármaco para una variedad de aplicaciones biológicas, tales como la curación de heridas y el tratamiento de la artritis (ver, p. ej., la patente estadounidense núm. US 7.935.782 y la publicación internacional núm. WO 2009/061854). Sin embargo, puede ser difícil controlar el tamaño de partícula y la morfología para lograr nanopartículas con resultados reproducibles. Además, los intentos previos de producir partículas reticuladas tenían un tamaño limitado y, por lo tanto, solo podían cargarse con una cantidad limitada de un fármaco dado. Las partículas más pequeñas también tienden a biodegradarse más rápidamente que las partículas más grandes y, por lo tanto, fueron incapaces de proporcionar una liberación sostenida con una duración deseada.

Además, las partículas de suministro de fármaco actuales pueden sufrir un efecto de estallido, en donde una porción sustancial de un fármaco dispersado en ellas se libera rápidamente en un período de tiempo corto seguido por una velocidad de liberación más baja. Esto tiene el efecto de inicialmente sobredosificar a un paciente y después más adelante de subdosificar al paciente.

Se proporciona una revisión de las reacciones "click" de tiol-eno y sus aplicaciones en Lowe, A. B., Polym. Chem. 2014, 5, 4820.

Compendio de la invención

La presente descripción describe partículas (p. ej., micropartículas) que están reticuladas y pueden usarse *in vivo.* Las partículas reticuladas pueden incluir un fármaco, y pueden liberar el fármaco cuando se usan *in vivo.* Como se describe en la presente memoria, el fármaco se libera a medida que la partícula se degrada. Las micropartículas, por lo tanto, pueden usarse para liberar fármacos en el sitio de heridas, o después de procedimientos quirúrgicos para liberar agentes terapéuticos y ayudar a acelerar la recuperación. Además, las partículas de la presente descripción pueden usarse para el tratamiento de la artritis. Por ejemplo, se pueden administrar partículas que comprenden agentes terapéuticos para la artritis al sitio del dolor artrítico (p. ej., mediante inyección). Como se describe en la presente memoria, la presente descripción proporciona partículas reticuladas tales como micropartículas que tienen un tamaño y morfología reproducibles. La presente descripción también proporciona partículas que pueden liberar un fármaco durante un período de tiempo sostenido (p. ej., mayor que un mes) y que no sufren un efecto de estallido (p. ej., una liberación de una cantidad sustancial de fármaco poco después de la inmersión en un disolvente).

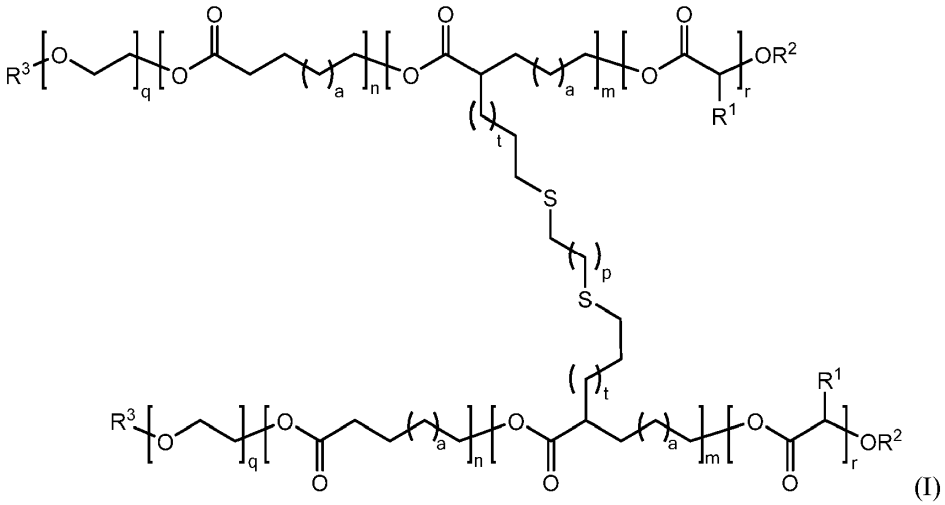
En otro aspecto, la presente descripción proporciona un método para preparar una partícula biodegradable reticulada que comprende:

disolver cadenas principales de polivalerolactona que contienen una pluralidad de grupos alilo, un ditiol y un fotoiniciador en al menos un disolvente para formar una disolución;

emulsionar la disolución en una fase acuosa para formar una emulsión;

irradiar la emulsión con luz UV para hacer reaccionar el ditiol con dos de los grupos alilo para formar un retículo; y

evaporar al menos una porción del disolvente de la emulsión; en donde la partícula degradable reticulada comprende poliéster reticulado de la Fórmula I:



(I)

en donde:

R^1 es independientemente, en cada aparición, —H o —alquilo C_1-C_6;

R^2 es independientemente, en cada aparición, —H o —alquilo C_1-C_6;

R^3 es independientemente, en cada aparición, —H o —alquilo C_1-C_6;

a es 0, 1 o 2;

m es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 1 y 1000, inclusive;

n es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 1 y 1000, inclusive;

p es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 0 y 5, inclusive;

q es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 0 y 1000, inclusive;

r es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 0 y 1000, inclusive; y

t es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 0 y 5, inclusive.

Las partículas reticuladas (p. ej., macropartículas, micropartículas o nanopartículas) de la presente descripción pueden tener un tamaño y forma uniformes junto con otras características tales como estabilidad. Esto puede permitir que las partículas reticuladas de la presente descripción se usen en entornos médicos con alta reproducibilidad y fiabilidad. Las características y ventajas adicionales de la presente descripción serán evidentes para el experto en la técnica y se exponen en la Descripción detallada a continuación.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1A muestra una foto de micropartículas de policaprolactona (PCL), polivalerolactona/copolímero de polialilvalerolactona (PVL-co-PAVL) en una escala de aproximadamente 1500 µm.

La Figura 1B muestra una foto de micropartículas de PCL, PVL-co-PAVL en una escala de aproximadamente 400 µm.

La Figura 1C muestra una foto de micropartículas de PCL, PVL-co-PAVL en una escala de aproximadamente 600 µm.

La Figura 1D muestra una foto de micropartículas de PCL, PVL-co-PAVL en una escala de aproximadamente 20 µm, junto con un esquema de distribución de tamaño.

La Figura 2A muestra una foto de micropartículas de PVL-co-PAVL en una escala de aproximadamente 1500 µm.

La Figura 2B muestra una foto de micropartículas de PVL-co-PAVL en una escala de aproximadamente 400 µm.

La Figura 2C muestra una foto de micropartículas de PVL-co-PAVL en una escala de aproximadamente 600 µm.

La Figura 2D muestra una foto de micropartículas de PVL-co-PAVL en una escala de aproximadamente 20 µm, junto con un esquema de distribución de tamaño.

La Figura 3A muestra un esquema de autoensamblaje de copolímeros en bloque anfífilos en estructuras micelares.

La Figura 3B muestra un esquema de encapsulación de polímeros y reticuladores de la presente descripción en la fase lipídica de una emulsión lípido-agua.

La Figura 4 muestra un esquema general para cargar fármacos en partículas de la presente descripción

La Figura 5 muestra una gráfica de DLS de nanopartículas de mPEG-b-PVL-co-PAVL reticuladas en agua.

La Figura 6 muestra una gráfica de DLS de nanopartículas de mPEG-b-PVL-co-PAVL reticuladas en dimetilsulfóxido (DMSO).

La Figura 7 muestra una gráfica de DLS de nanopartículas de mPEG-b-PVL-co-PAVL reticuladas en THF.

La Figura 8 muestra una gráfica de DLS de nanopartículas de mPEG-b-PVL-co-PAVL no reticuladas en agua.

La Figura 9A muestra un histograma y una imagen de micropartículas con PVL-co-PAVL al 25 % después de la reticulación.

La Figura 9B muestra un histograma y una imagen de microscopio de las mismas micropartículas después de una etapa de lavado con DMSO.

La Figura 9C muestra un histograma y una imagen de microscopio de las partículas después de una etapa de lavado con etanol.

La Figura 9D muestra un histograma y una imagen de microscopio de las partículas después de hincharse en THF.

La Figura 10A muestra un espectro de ^{1}HNMR de polímero de PVL-co-PAVL.

La Figura 10B muestra una gráfica de cromatografía de permeación en gel de la cadena principal del polímero de PVL-co-PAVL que comprende PAVL al 6 %, PAVL al 10 % y PAVL al 25 %.

La Figura 11A muestra una imagen de microscopio de macropartículas de mPEG-b-PVL-co-PAVL (80:20) en una resolución de aproximadamente 1 mm.

La Figura 11B muestra una imagen de microscopio de macropartículas de mPEG-b-PVL-co-PAVL (80:20) en una resolución de aproximadamente 200 µm.

La Figura 11C muestra una primera imagen de microscopio de macropartículas de mPEG-b-PVL-co-PAVL (80:20) en una resolución de aproximadamente 10 µm.

La Figura 11D muestra una segunda imagen de microscopio de macropartículas de mPEG-b-PVL-co-PAVL (80:20) en una resolución de aproximadamente 10 µm.

La Figura 12 muestra una microfotografía de microscopio de micropartículas no reticuladas en agua.

La Figura 13 muestra la capacidad de carga de fármaco de las macropartículas.

La Figura 14 muestra una gráfica de DSC de micropartículas cargadas con curcumina, paclitaxel, acetónido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona, y sin fármaco.

La Figura 15 muestra espectros de FTIR de micropartículas de la presente descripción cargadas con curcumina, paclitaxel, acetónido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona, y sin fármaco.

La Figura 16 muestra una imagen microscópica de copos de micropartícula después de secarse durante la noche.

La Figura 17 muestra el perfil de liberación de la liberación de curcumina a partir de los copos de micropartícula.

La Figura 18A muestra partículas cargadas con curcumina disueltas en agua que contiene Tween al 1 % después de secarse en THF con PEG al 25 % como un codisolvente.

La Figura 18B muestra una vista en primer plano de partículas cargadas con curcumina disueltas en agua que contiene Tween al 1 % después de secarse en THF con PEG al 25 % como un codisolvente.

La Figura 19A muestra una imagen de microscopio de copos de micropartícula en agua después de secarse con PEG al 2,5 % como un codisolvente.

La Figura 19B muestra una imagen de microscopio de copos de micropartícula en THF después de secarse con PEG al 2,5 % como un codisolvente.

La Figura 19C muestra una imagen de microscopio de copos de micropartícula en agua después de secarse con PEG al 5 % como un codisolvente.

La Figura 19D muestra una imagen de microscopio de copos de micropartícula en THF después de secarse con PEG al 5 % como un codisolvente.

La Figura 20A muestra una gráfica de solubilidad acuosa de acetónido de triamcinolona en presencia de los tensioactivos Tween 80 y SDS.

La Figura 20B muestra una gráfica de solubilidad acuosa de hexacetónido de triamcinolona en presencia de los tensioactivos Tween 80 y SDS.

La Figura 20C muestra una gráfica de solubilidad acuosa de paclitaxel en presencia de los tensioactivos Tween 80 y SDS.

La Figura 21 muestra un perfil de liberación en 7 días de curcumina a partir de una macropartícula.

La Figura 22 muestra un perfil de liberación de curcumina en 20 días a partir de una macropartícula de 13 mg y 12 mg.

La Figura 23 muestra un perfil de liberación en 6 días de hexacetónido de triamcinolona a partir de dos macropartículas.

La Figura 24 muestra un perfil de liberación de hexacetónido de triamcinolona en 20 días a partir de una macropartícula de 13,3 mg y 9,2 mg.

La Figura 25 muestra una comparación de los perfiles de liberación de curcumina, hexacetónido de triamcinolona (TAH), acetónido de triamcinolona (TAA) y paclitaxel (PTX).

La Figura 26 muestra una microfotografía de microscopio de la plantilla de fotolitografía.

La Figura 27A muestra una plantilla de gelatina con sujetadores elevados debajo de un microscopio.

La Figura 27B muestra una primera imagen de microscopio de micropartículas preparadas mediante el método de plantilla de hidrogel de gelatina.

La Figura 27C muestra una segunda imagen de microscopio de micropartículas preparadas mediante el método de plantilla de hidrogel de gelatina.

La Figura 28A muestra una gráfica de DSC de una micropartícula testigo sin reticulación.

La Figura 28B muestra una gráfica de DSC de una micropartícula con 50 % de reticulación. La gráfica de DSC muestra aproximadamente 30 % de cristalinidad.

La Figura 28C muestra una gráfica de DSC de una micropartícula con 100 % de reticulación.

La Figura 29A muestra una gráfica de DSC de una micropartícula testigo sin reticulación.

La Figura 29B muestra una gráfica de DSC de una micropartícula con 50 % de reticulación. La gráfica de DSC muestra menos de 1 % de cristalinidad.

La Figura 29C muestra una gráfica de DSC con 100 % de reticulación.

Descripción detallada de la invención

La presente descripción proporciona partículas reticuladas (p. ej., micropartículas, micropartículas o nanopartículas) que pueden usarse en aplicaciones médicas (p. ej., para liberar fármacos localmente). En la presente memoria se describen micropartículas que comprenden una cadena principal de poliéster que puede reticularse a través de grupos funcionales dispuestos a lo largo de la cadena principal de poliéster en presencia de un reactivo de reticulación apropiado.

Como se describe en la presente memoria, las cadenas principales de poliéster pueden reticularse a través de tioéteres. Las cadenas principales de poliéster pueden reticularse a través de triazoles. Las cadenas principales de poliéster pueden reticularse a través de amidas. Las cadenas principales de poliéster pueden reticularse a través de aminas (p. ej., a través de reacción amina-epóxido). Las cadenas principales de poliéster pueden reticularse mediante una reacción de tetrazina-trans-cicloocteno. Las cadenas principales de poliéster pueden reticularse mediante una reacción de tiol-norborneno. Las cadenas principales de poliéster pueden reticularse mediante una aminación reductora de amina-carbonilo (p. ej., aldehído o cetona). Las partículas pueden ser biodegradables.

Las micropartículas de la presente descripción pueden tener un diámetro entre aproximadamente 1 µm y aproximadamente 999 µm, incluidos todos los rangos y subrangos intermedios, y más preferiblemente, las micropartículas pueden tener un diámetro entre aproximadamente 1 µm y aproximadamente 100 µm, incluidos todos los rangos y subrangos intermedios. En algunas realizaciones, las micropartículas de la presente descripción pueden tener un diámetro entre aproximadamente 5 µm y aproximadamente 30 µm, incluidos todos los rangos y subrangos intermedios (p. ej., entre aproximadamente 7 µm y aproximadamente 15 µm o aproximadamente 10 µm).

Las macropartículas de la presente descripción pueden tener un diámetro medio mayor que aproximadamente 1000 µm.

El fármaco dispersado dentro de una micropartícula de la descripción puede ser triamcinolona, acetónido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona y paclitaxel. Otros compuestos tales como curcumina pueden dispersarse dentro de las partículas (por ejemplo, la curcumina puede usarse para visualizar más fácilmente la cinética de liberación). La curcumina puede usarse como un sustituto de un fármaco. El fármaco puede unirse covalentemente a la partícula. El fármaco puede estar contenido dentro de la partícula mediante interacciones no covalentes. La partícula puede liberar el fármaco durante un período de al menos una semana en un entorno acuoso (p. ej., al menos 2 semanas, al menos 3 semanas, al menos 4 semanas, al menos 5 semanas, al menos 6 semanas, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 4 meses, al menos 5 meses o al menos 6 meses). La partícula puede degradarse a medida que libera el fármaco.

La cadena principal de poliéster puede comprender polivalerolactona (PVL), policaprolactona (PCL), ácido poliláctico (PLA, por sus siglas en inglés), ácido poliglicólico (PGC, por sus siglas en inglés), o una combinación de estos. La partícula puede ser una macropartícula. La partícula puede ser una micropartícula. La partícula puede ser una nanopartícula. La cadena principal de poliéster puede comprender, además, polietilenglicol (PEG). La cadena principal de polímero puede obtenerse a partir de un residuo monomérico que comprende valerolactona (p. ej., polivalerolactona), caprolactona (p. ej., policaprolactona), ácido láctico (p. ej., ácido poliláctico), ácido glicólico (p. ej., ácido poliglicólico), o una combinación de estos. El monómero de lactona puede seleccionarse del grupo que consiste en ácido láctico, ácido glicólico, valerolactona, caprolactona, láctido o una combinación de estos.

Como se describe en la presente memoria, cualquiera de la valerolactona, caprolactona, ácido láctico, láctido o ácido glicólico puede funcionalizarse con un grupo funcional. El grupo funcional puede seleccionarse de un grupo alilo, un grupo propargilo o un grupo ácido carboxílico (p. ej., los grupos funcionales pueden ser alil láctido, alilvalerolactona y similares). Alternativamente, el grupo funcional puede ser un trans-cicloocteno, norborneno o un grupo carbonilo (p. ej., un aldehído o cetona). Alternativamente, el grupo funcional puede ser un grupo tiol, una amina o una tetrazina.

Como se describe en la presente memoria, el poliéster y el reticulador pueden combinarse en un disolvente para formar la mezcla. En algunas realizaciones de cualquiera del método anterior, las partículas de la descripción se elaboran al emulsionar la mezcla, en donde el poliéster y el reticulador están en la misma fase. En algunas realizaciones, los métodos comprenden, además, evaporar al menos parte del disolvente antes de hacer reaccionar los grupos funcionales con el reticulador. El grupo funcional de la cadena principal de poliéster puede comprender un grupo olefina (p. ej., un grupo alilo), un grupo alquinilo (p. ej., un grupo propargilo), un grupo epoxi, un grupo ácido carboxílico o un derivado de ácido carboxílico (p. ej., un éster o amida).

En algunas realizaciones, las partículas (p. ej., micropartículas) de la presente descripción pueden formarse mediante electropulverización. En algunas realizaciones, las partículas (p. ej., micropartículas) de la presente descripción pueden formarse mediante secado por pulverización.

El reticulador de la invención comprende un grupo ditiol. El grupo ditiol forma un tioéter con un grupo funcional olefina en la cadena principal de poliéster. En algunos métodos descritos en la presente memoria, el reticulador comprende una diazida. En algunos métodos descritos en la presente memoria, la diazida forma un triazol con un grupo funcional propargilo en la cadena principal de poliéster. En algunos métodos descritos en la presente memoria, el reticulador comprende una diamina. En algunos métodos descritos en la presente memoria, la diamina forma una β-hidroxi amina con un grupo funcional epóxido en la cadena principal de poliéster. En algunos métodos descritos en la presente memoria, la diamina forma una amida con un grupo funcional ácido carboxílico en la cadena principal de poliéster.

Como se describe en la presente memoria, la etapa de tratar la emulsión puede comprender calentar la emulsión o agregar un catalizador (p. ej., un catalizador de ciclación tal como una sal de cobre o rodio tal como una sal de cobre (I)). En algunos métodos descritos en la presente memoria, el catalizador para formar un reticulador de amida es un catalizador de acoplamiento de amida tal como N,N'-diciclohexilcarbodiimida o diisopropilcarbodiimida. En algunos métodos descritos en la presente memoria, las cadenas principales de poliéster comprenden polivalerolactona, policaprolactona, ácido poliláctico, ácido poliglicólico o una combinación de estos. En algunos métodos descritos en la presente memoria, las cadenas principales de poliéster están reticuladas mediante tioéteres, triazoles o amidas. Por ejemplo, el acto de combinar un poliéster con una pluralidad de grupos funcionales y un reticulador puede comprender, además, también agregar un iniciador (p. ej., un fotoiniciador) y/o un catalizador (p. ej., un catalizador de cobre).

En los métodos señalados anteriormente, la disolución (p. ej., la emulsión en la que se forman las partículas comprende, además, un fotoiniciador. El método para tratar la disolución comprende irradiar el fotoiniciador con luz ultravioleta. El grupo ditiol forma un tioéter con un grupo funcional olefina en la cadena principal de poliéster. En algunas realizaciones, el tioéter se forma mediante una reacción radical. En algunas realizaciones, la reacción radical se inicia mediante un fotoiniciador y tratamiento con luz ultravioleta. En algunos métodos descritos en la presente memoria, el reticulador comprende una diazida. En algunos métodos descritos en la presente memoria, la diazida forma un triazol con un grupo funcional propargilo en la cadena principal de poliéster. En algunos métodos descritos en la presente memoria, el triazol se forma en presencia de un catalizador de cobre (I).

Definiciones

Los artículos "un" y "una" se usan en la presente descripción para hacer referencia a uno o más de uno (es decir, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

El término "y/o" se usa en la presente descripción con el significado de "y" u "o" a menos que se indique de cualquier otra manera.

"Alquilo" se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada. Los grupos alquilo C_1-C_6 contienen 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de un grupo alquilo C_1-C_6 incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo y terc-butilo, isopentilo y neopentilo.

El término "tratar" con respecto a un sujeto, se refiere a mejorar al menos un síntoma del trastorno del sujeto. Tratar incluye curar, mejorar o aliviar al menos parcialmente el trastorno.

El término "trastorno" se usa en la presente descripción con el significado de, y se usa de manera intercambiable con, los términos enfermedad, afección o dolencia, a menos que se indique de cualquier otra manera.

El término "administrar", "administrando" o "administración", como se usan en la presente descripción, se refieren a administrar directamente una partícula descrita (p. ej., una micropartícula) o sal farmacéuticamente aceptable de la partícula descrita o una composición a un sujeto.

Según se usa en la presente memoria, se entiende que el término "cadena principal" significa una cadena de poliéster. Las cadenas principales de poliéster de la presente descripción pueden reticularse para formar partículas tales como micropartículas o nanopartículas como se describen en la presente memoria.

Según se usa en la presente memoria, una "partícula" es una unidad diferenciada que comprende cadenas principales de polímero como se exponen en la presente memoria que se han reticulado. La partícula puede ser una nanopartícula, una micropartícula, o una macropartícula. La partícula puede incluir un fármaco dispersado en ella.

Una "nanopartícula" se entiende que es una partícula reticulada de la presente descripción con un diámetro de entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 999 nm, incluidos todos los rangos y subrangos de tamaño intermedios.

Una "micropartícula", según se usa en la presente memoria, se entiende que es una partícula reticulada de la presente descripción con un diámetro de entre aproximadamente 1 µm (1000 nm) y aproximadamente 999 µm, incluidos todos los rangos y subrangos de tamaño intermedios. Como se indicó anteriormente, las micropartículas pueden tener un diámetro entre aproximadamente 1 µm y aproximadamente 100 µm, incluidos todos los rangos y subrangos intermedios. En algunas realizaciones, las micropartículas de la presente descripción pueden tener un diámetro entre aproximadamente 5 µm y aproximadamente 30 µm, incluidos todos los rangos y subrangos intermedios (p. ej., entre aproximadamente 7 µm y aproximadamente 15 µm o aproximadamente 10 µm).

Una "macropartícula", según se usa en la presente memoria, se entiende que es una partícula reticulada de la presente descripción con un diámetro de entre aproximadamente 1 mm (1000 µm) y aproximadamente 100 mm, incluidos todos los rangos y subrangos de tamaño intermedios. Según se usa en la presente memoria, una "macropartícula" puede ser un dispositivo o implante. En algunas realizaciones, una única macropartícula puede ser visible a simple vista. En algunas realizaciones, las macropartículas se denominan "cilindros".

Según se usa en la presente memoria, un "fármaco" es cualquier agente terapéutico de molécula pequeña. Un fármaco puede ser, sin limitación, un esteroide tal como triamcinolona, acetónido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona o paclitaxel. Una "fármaco" también incluye un agente de visualización tal como curcumina.

Un “paciente” o “sujeto” es un mamífero, p. ej., un ser humano, ratón, rata, cobayo, perro, gato, caballo, vaca, cerdo o primate no humano, tal como un mono, chimpancé, babuino o Rhesus.

Las partículas de la presente descripción pueden usarse en aplicaciones médicas. Por ejemplo, las partículas pueden usarse para curar una herida (p. ej., como antiséptico). Una herida se entiende como una lesión en tejido vivo. Las heridas pueden ser causadas por cortes, golpes o impactos. Las heridas también pueden ser el resultado de una cirugía. Por consiguiente, en algunas realizaciones, los compuestos de la presente descripción pueden usarse para ayudar a curar heridas después de una cirugía. Las partículas de la presente descripción pueden inyectarse (p. ej., con una jeringa). En algunas realizaciones, las partículas de la presente descripción se administran durante una cirugía y permanecen después de la cirugía (p. ej., durante un período de 1-6 meses).

La definición de la densidad de reticulación de la partícula se basa en el porcentaje de la funcionalidad colgante (p. ej., alilo, propargilo o epoxi) del precursor de polímero lineal (p. ej., poliéster) (van der Ende, A.E., et al. (2008) J. Am. Chem. Soc. 130, pág. 8706). Según se usa en la presente memoria, el término "densidad de reticulación" se refiere a la proporción de monómero funcionalizado (p. ej., alilvalerolactona) usado para preparar un polímero tal como un copolímero, expresado como un porcentaje en peso de monómeros usados. Por ejemplo, si se usa alilvalerolactona al 4 % y valerolactona al 96 % (en peso) para preparar una cadena principal de polímero, entonces se entiende que

la densidad de reticulación de la partícula resultante es de 4 %. La densidad de reticulación real se puede determinar mediante técnicas analíticas que incluyen, pero no se limitan a, espectroscopía infrarroja, cromatografía de gases de pirólisis y resonancia magnética nuclear.

Las densidades de reticulación de las partículas de la presente descripción pueden estar entre 1 % y 100 %, inclusive. En algunas realizaciones, la densidad de reticulación es aproximadamente 1 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 3 %, aproximadamente 4 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 6 %, aproximadamente 7 %, aproximadamente 8 %, aproximadamente 9 % o aproximadamente 10 %.

Según se usa en la presente memoria, el término "VL" se entiende que significa valerolactona.

Preparación de micropartículas

Las micropartículas de la presente descripción pueden prepararse mediante disolución de poliésteres funcionalizados en un disolvente junto con un reticulador y la posterior reticulación de la mezcla. El producto resultante es una pluralidad de micropartículas reticuladas. Como se expone en los Ejemplos 3 y 4, las micropartículas que comprenden PCL con (polialilvalerolactona-polivalerolactona) PAVL-PVL (Ejemplo 3) y PAVL-PVL (Ejemplo 4) se reticularon al usar hexanoditiol en presencia de 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA) mediante irradiación con luz ultravioleta (UV). Las micropartículas producidas de este modo (ver, p. ej., las Figuras 1A-2D) fueron insolubles en dimetilsulfóxido (DMSO). Esto demuestra que las partículas producidas como se describe en la presente memoria son unidades diferenciadas que son estructuralmente diferentes de los precursores (o cadenas principales) de polímero (p. ej., poliéster). Sin desear limitarse a la teoría, la reticulación proporciona integridad estructural a las partículas.

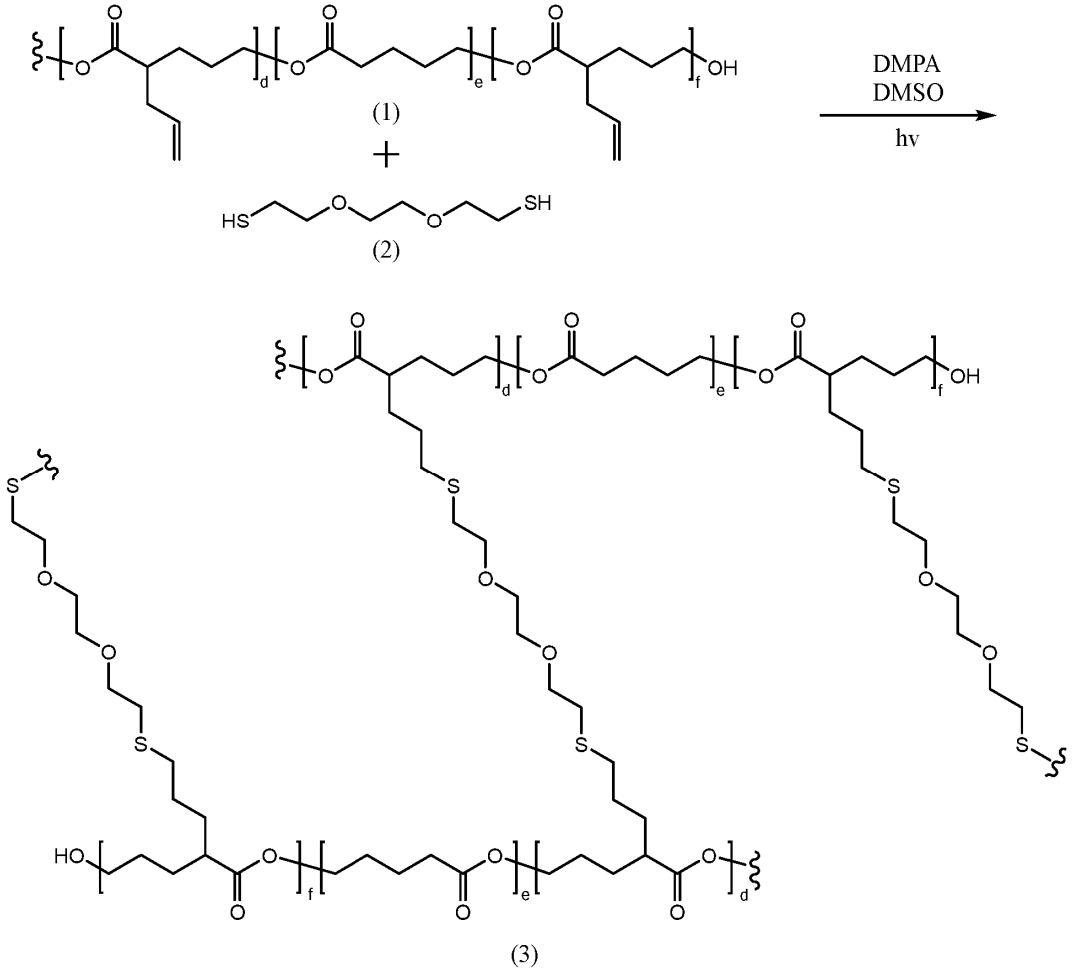
A diferencia de las partículas reticuladas, los Ejemplos comparativos 3 y 4 demuestran micropartículas que se producen en ausencia de un reticulador. Los Ejemplos comparativos 3 y 4 combinan PCL con PAVL-PVL (Ejemplo Comparativo 3) y PAVL-PVL (Ejemplo Comparativo 4) con luz UV en ausencia de un reticulador (p. ej., hexanoditiol). Dado que no se puede producir reticulación en ausencia de un reticulador, no se formaron micropartículas. Por consiguiente, los poliésteres permanecieron intactos y fueron solubles en DMSO. Por lo tanto, en algunas realizaciones, es necesario reticular los poliésteres descritos en la presente memoria para formar micropartículas y para garantizar las características deseadas tales como estabilidad y tamaño.

Sin desear limitarse a la teoría, las cadenas principales de polímero que son incapaces de reticularse (p. ej., polímeros de PLGA) pueden depender de la concentración de micelas para formarse. Por ejemplo, como se expone en la Figura 3A, los copolímeros en bloque anfífilos pueden autoensamblarse en estructuras micelares. Sin embargo, dichas micelas pueden descomponerse por debajo de la concentración micelar crítica (CMC).

En cambio, como se expone en la Figura 3B, los compuestos de la presente descripción comprenden polímeros funcionalizados y reticuladores reactivos y se reticulan covalentemente en una estructura de partícula (p. ej., nanopartícula o micropartícula). Por lo tanto, las partículas de la presente descripción permanecen intactas independientemente de la concentración y no dependen de la concentración micelar crítica.

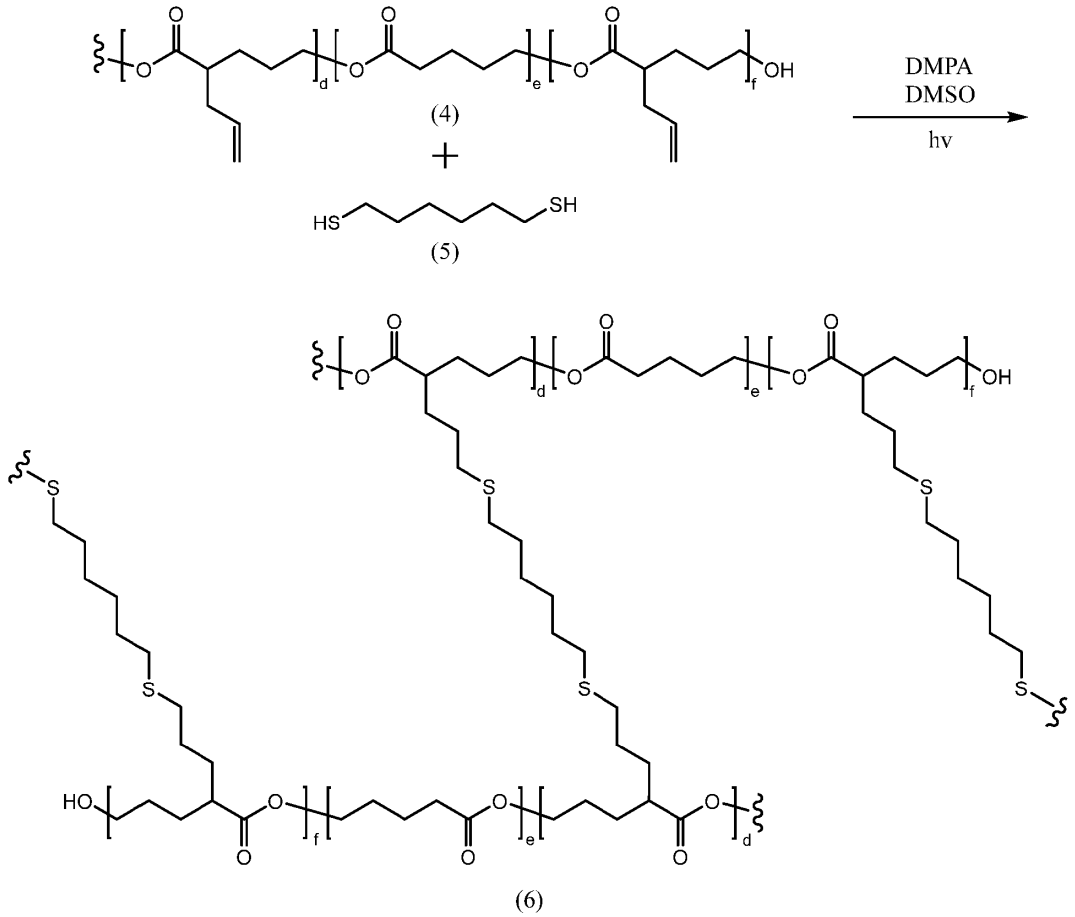
Según realizaciones de la presente descripción, las micropartículas están reticuladas. Los Esquemas 1 a 3 a continuación muestran vías generales para las partículas reticuladas de la presente descripción.

Esquema 1: Esquema de reticulación general al usar la cadena principal de PAVL-PVL y el reticulador 2,2'-(etano-1,2-diilbis(oxi))bis(etano-1-tiol)



Como se muestra en el Esquema 1, un poliéster que comprende polivalerolactona y polialilvalerolactona (1) se puede reticular al usar un disulfuro (2) en presencia de un iniciador radical (p. ej., un fotoiniciador tal como DMPA). La relación de DMPA por grupo alilo se puede ajustar para controlar las propiedades de la micropartícula resultante (p. ej., para producir más o menos reticulación). Por ejemplo, en algunas realizaciones, se pueden agregar 0,2 equivalentes de DMPA por grupo alilo. En algunas realizaciones, se puede agregar un grupo tiol en (2) por cada grupo alilo en (1). Después del tratamiento de la mezcla de (1) y (2) con luz UV (p. ej., 365 nm), los grupos alilo pueden reticularse con los grupos tiol del reticulador para producir una micropartícula reticulada (3). Como se usa en el Esquema 1, los valores para d, e y f pueden ser cada uno independientemente cualquier número entero entre 1 y 1000, inclusive.

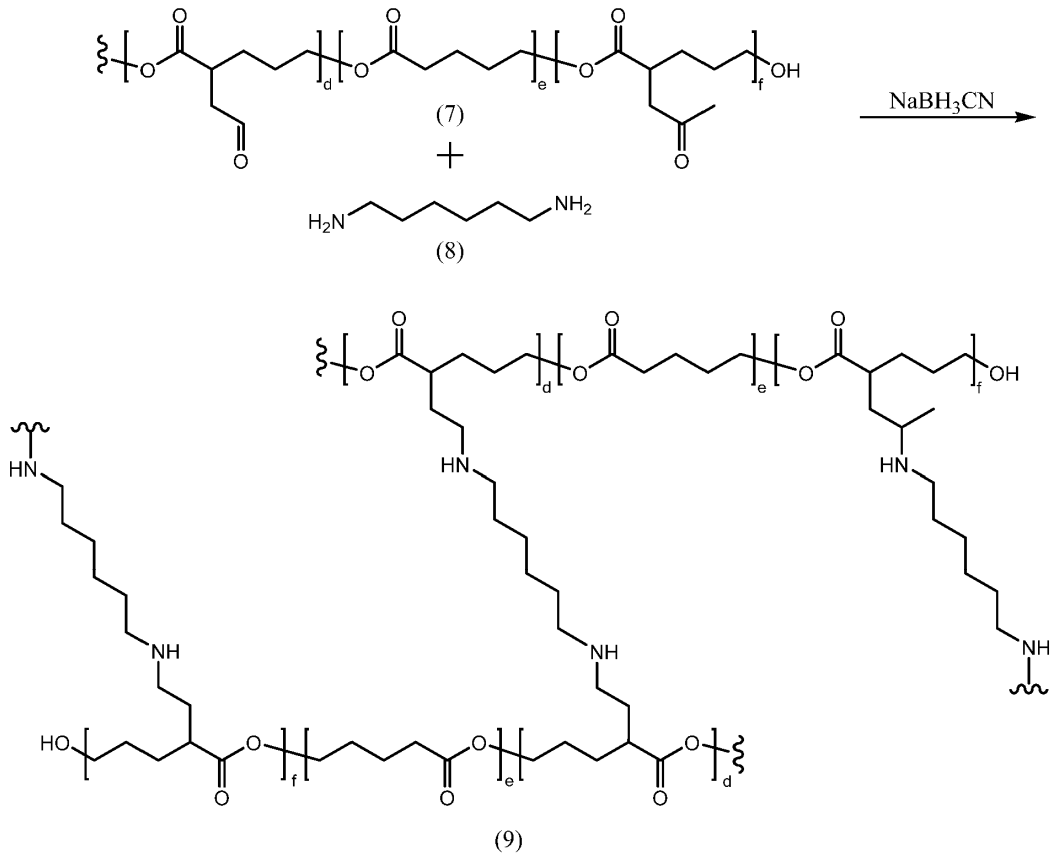
Esquema 2: Esquema de reticulación general al usar la cadena principal de PAVL-PVL y el reticulador 1,6-hexanoditiol



Como se muestra en el Esquema 2, un poliéster que comprende polivalerolactona y polialilvalerolactona (4) se puede reticular al usar un disulfuro (5) en presencia de un iniciador radical (p. ej., un fotoiniciador tal como DMPA). La relación entre DMPA y grupos alilo se puede ajustar para controlar las propiedades de la micropartícula resultante (p. ej., para ajustar la tasa de reticulación y producir más o menos reticulación). Por ejemplo, en algunas realizaciones, se pueden agregar 0,2 equivalentes de DMPA por grupo alilo. En algunas realizaciones, se puede agregar un grupo tiol en (5) por cada grupo alilo en (4). Después del tratamiento con luz UV (p. ej., 365 nm), los grupos alilo pueden reticularse con los grupos tiol del reticulador para producir una micropartícula reticulada (6). Como se usa en el Esquema 2, los valores para d, e y f pueden ser cada uno independientemente cualquier número entero entre 1 y 1000, inclusive.

Como se describe en la presente memoria, la reticulación puede llevarse a cabo mediante la reacción de un grupo amina con un carbonilo (p. ej., una aminación reductora). Como se muestra a continuación en el Esquema comparativo 3, una cadena principal de polímero funcionalizada con grupos carbonilo (p. ej., aldehídos o cetonas tales como metilcetonas) puede hacer reacción con una diamina para formar uniones carbono-nitrógeno. Dichas reacciones se pueden facilitar mediante un agente reductor (p. ej., cianoborohidruro de sodio), opcionalmente en presencia de un ácido (p. ej., ácido acético).

Esquema comparativo 3 – Esquema de reticulación general al usar cadenas principales funcionalizadas con carbonilo y reticuladores de diamina



El Esquema comparativo 3 muestra una aminación reductora entre una diamina (8) y una cadena principal de polímero que se funcionaliza con un aldehído y una metilcetona (7) para producir un polímero reticulado (9). Un experto en la técnica entenderá que es posible llevar a cabo una aminación reductora reticulante al usar, por ejemplo, solo aldehídos, o solo cetonas (p. ej., fenilcetonas, etilcetonas y similares), o una mezcla de ambos aldehídos y cetonas. Como se expone en el Esquema comparativo 3, las variables d, e y f pueden ser números enteros entre 1 y 1000, inclusive.

Como se describe en la presente memoria, las micropartículas de la presente descripción pueden producirse a partir de cadenas principales de polímero funcionalizadas. Es decir, como se expone más adelante, las cadenas principales de polímero pueden funcionalizarse con, por ejemplo, grupos olefina (p. ej., alilo), alquinilo (p. ej., propargilo) o epoxi. Por lo tanto, las partículas de la presente descripción no se producen completamente a partir de ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) no funcionalizado, que históricamente puede ser difícil de funcionalizar. Sin embargo, en algunos métodos descritos en la presente memoria, el PLGA no funcionalizado podría incorporarse en porciones de una cadena principal de copolímero que también incluye otros polímeros funcionalizados en la cadena principal de copolímero.

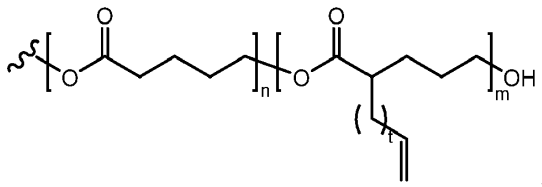
La funcionalización de los polímeros de la presente descripción puede posibilitar que un experto en la técnica adapte las características de las partículas. Por ejemplo, como se expone más adelante, el ajuste de las relaciones y tipos de reticulador y polímero puede permitir alteraciones en, p. ej., la porosidad, carga y liberación de fármaco, y tasas de degradación.

Poliésteres

Se puede usar una variedad de cadenas principales de poliéster diferentes para formar partículas de la presente descripción. Por ejemplo, en algunos métodos descritos en la presente memoria, las cadenas principales de poliéster están hechas de policaprolactona (PCL). En realizaciones de la invención, las cadenas principales de poliéster están hechas de polivalerolactona (PVL). En algunos métodos descritos en la presente memoria, la PCL o PVL se puede funcionalizar con un grupo alilo para producir polialilcaprolactona (PACL) o polialilvalerolactona (PAVL). En algunos métodos descritos en la presente memoria, los poliésteres de la presente descripción son copolímeros que comprenden dos o más monómeros diferentes. Por ejemplo, los poliésteres pueden comprender PVL y PAVL; PCL y PACL; PVL y PACL; o PCL y PAVL. En algunos métodos descritos en la presente memoria, los poliésteres de la presente descripción pueden comprender, además, ácido poliláctico y/o ácido poliglicólico. En algunos métodos

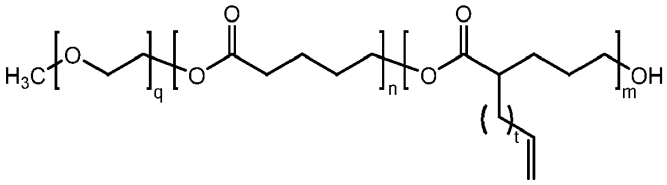
descritos en la presente memoria, cualquiera de la polivalerolactona, policaprolactona, ácido poliláctico o ácido poliglicólico puede funcionalizarse con un grupo funcional. Por ejemplo, cualquiera de la polivalerolactona, policaprolactona, ácido poliláctico o ácido poliglicólico puede incluir, además un grupo alilo, un grupo propargilo o un ácido carboxílico (o derivado de ácido carboxílico) dispuesto a lo largo de la cadena principal de polímero. El grupo funcional puede usarse para reticular la cadena principal de polímero con otra cadena principal de polímero. En algunos métodos descritos en la presente memoria, los copolímeros de la descripción pueden ser copolímeros en bloque o copolímeros aleatorios.

Por ejemplo, en una realización, la cadena principal de poliéster puede comprender un copolímero de polivalerolactona y polialilvalerolactona (PVL-co-PAVL):



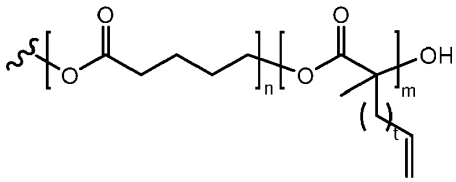
Los valores de m y n son números enteros y cada uno independientemente puede estar entre aproximadamente 1 y 1000. Por ejemplo, cuando n es aproximadamente 48 y m es aproximadamente 15, el peso molecular es aproximadamente 7000 g/mol. Cuando n es aproximadamente 128 y m es aproximadamente 14, el peso molecular es aproximadamente 14.760 g/mol.

En otra realización, la cadena principal de poliéster puede comprender un estabilizador (p. ej., un estabilizador de PEG). Por ejemplo, una cadena principal de poliéster puede comprender mPEG2k-b-PVL-co-PAVL:



Los valores de m, n y q son cada uno números enteros y cada uno independientemente puede estar entre aproximadamente 1 y 1000. Por ejemplo, cuando q es aproximadamente 50, n es aproximadamente 40 y m es aproximadamente 9, el peso molecular del poliéster es aproximadamente 7500 g/mol.

En un método descrito en la presente memoria, la cadena principal de poliéster puede comprender polialil láctido. El polialil láctido puede formarse a partir de la polimerización de alil láctido. Por ejemplo, una cadena principal de poliéster puede comprender un copolímero de polivalerolactona y polialil láctido (PVL-co-PAL):



Los poliésteres de la presente descripción pueden prepararse al usar una variedad de monómeros adecuados diferentes. Por ejemplo, se puede usar valerolactona para preparar polivalerolactona, y se puede usar alilvalerolactona para preparar polialilvalerolactona. De manera similar, se puede usar caprolactona para preparar policaprolactona, y se puede usar alilcaprolactona para preparar polialilcaprolactona. En algunos métodos descritos en la presente memoria, se puede usar ácido láctico, ácido glicólico, alil láctido, y combinaciones de estos como monómeros para preparar los poliésteres descritos en la presente memoria. Un experto en la técnica entenderá fácilmente cómo seleccionar un monómero apropiado para lograr una cadena principal de poliéster deseada.

En cualquiera de las realizaciones descritas en la presente memoria, los poliésteres de la presente descripción pueden comprender, además, polietilenglicol (PEG). En algunos métodos descritos en la presente memoria, el PEG puede conectar dos secciones diferentes del poliéster. Es decir, el PEG puede estar disperso entre porciones que contienen éster de la cadena principal de poliéster. Alternativamente, en algunas realizaciones, el PEG puede acoplarse en el

extremo del polímero (es decir, el PEG puede comprender una porción terminal del polímero). Por lo tanto, en algunas realizaciones, el PEG se encuentra principalmente orientado hacia el exterior de las micropartículas.

En algunas realizaciones, los polímeros reticulados de la presente descripción pueden incluir, además, polímeros adicionales entrelazados en ellos. En algunas realizaciones, las composiciones de la presente descripción pueden incluir cadenas principales de polímero de PVL y/o PAVL reticuladas entre sí. En algunos métodos descritos en la presente memoria, la presente descripción incluye cadenas principales de polímero de PVL y/o PAVL reticuladas entre sí con PCL entrelazado en ellas. En algunos métodos descritos en la presente memoria, la presente descripción incluye PVL y/o PAVL polimerizados en cadenas principales de PCL, o porciones de PVL y o PAVL reticuladas entre sí. En algunos métodos descritos en la presente memoria, la presente descripción puede incluir cadenas principales de polímero de PVL y/o PAVL y PEG reticuladas entre sí.

Reticuladores

La presente descripción proporciona varios reticuladores y estrategias de reticulación diferentes que se pueden usar para reticular y formar las micropartículas descritas en la presente memoria. En los métodos de la invención, la reticulación se lleva a cabo en presencia de un iniciador radical (p. ej., un fotoiniciador). La reacción de reticulación es una reacción de radical tiol-eno. Por ejemplo, como se expone en los Ejemplos 3 y 4, un fotoiniciador (es decir, 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona) puede usarse para reticular un reticulador de hexanoditiol con los grupos funcionales alilo presentes en una cadena principal de polímero de PAVL-PVL. Un experto en la técnica reconocerá que un fotoiniciador puede usarse para crear radicales (p. ej., en presencia de luz UV). En algunas realizaciones, los fotoiniciadores no requieren calor para producir radicales. Los radicales creados de este modo pueden iniciar una reacción de cadena de tiol-eno entre los tioles en el hexanoditiol con la funcionalidad de olefina (p. ej., del grupo alilo) de PAVL para reticular las cadenas principales de poliéster y producir partículas (p. ej., micropartículas o nanopartículas). Un experto en la técnica apreciará que se pueden usar iniciadores radicales comparativos adicionales para iniciar una reacción de reticulación tal como la reacción de tiol-eno. Por ejemplo, otros iniciadores radicales comparativos pueden incluir, sin limitación, iniciadores térmicos, halógenos tales como cloro, bromo, y yodo, compuestos azo tales como azobisisobutironitrilo (AIBN), y peróxidos orgánicos tales como peróxido de di-terc-butilo y peróxido de benzoilo.

En algunas realizaciones, el iniciador radical puede ser un fármaco en sí mismo. Por ejemplo, usar un fármaco que puede formar radicales para iniciar una reacción de cadena de reticulación puede conducir simultáneamente a la creación de partículas reticuladas (p. ej., micropartículas), así como garantizar que el fármaco se disperse dentro de las partículas. En algunas realizaciones, un fármaco puede ser un iniciador para la reticulación de las cadenas principales de polímero (p. ej., cadena principal de poliéster) para formar una partícula de la presente descripción. Además, los iniciadores radicales de la presente descripción no necesitan ser fotoiniciadores. En algunos métodos descritos en la presente memoria, los iniciadores radicales usados en la presente memoria pueden crear radicales, por ejemplo, térmicamente (p. ej., después del calentamiento). La cantidad de tiempo necesario para reticular poliésteres al usar exposición a UV puede ser, por ejemplo, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 60 minutos. Por ejemplo, una emulsión de la presente descripción puede exponerse a luz UV durante aproximadamente 1, aproximadamente 5, aproximadamente 10, aproximadamente 15, aproximadamente 20, aproximadamente 25, aproximadamente 30, aproximadamente 35, aproximadamente 40, aproximadamente 45, aproximadamente 50 o aproximadamente 60 minutos.

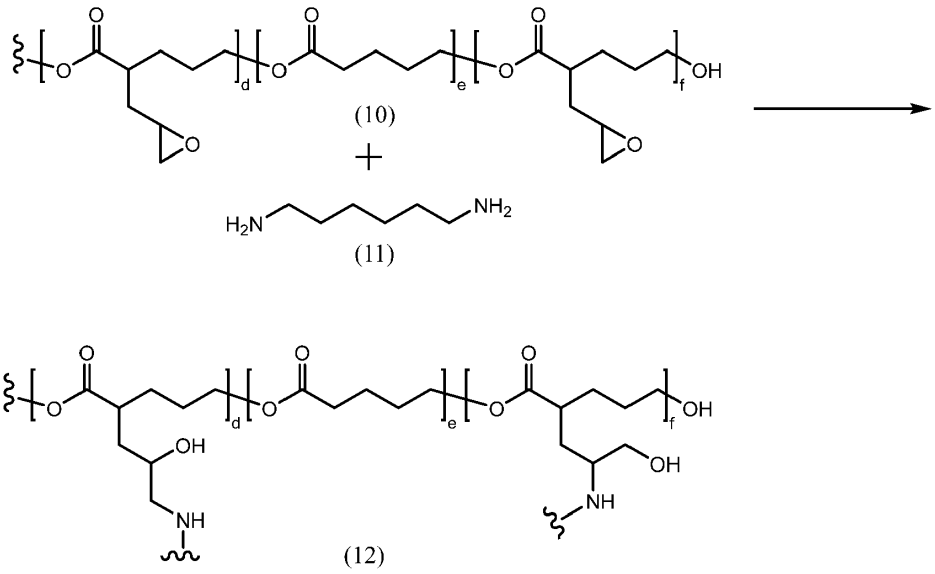
Además, la reticulación puede llevarse a cabo a través de la formación de un triazol a partir de la reacción entre un grupo alquino y un grupo azida. Por ejemplo, los poliésteres de la presente descripción pueden funcionalizarse con un grupo alquinilo (p. ej., un grupo propargilo). El grupo alquinilo puede hacer reacción en presencia de una diazida (p. ej., 1,6-hexanodiazida). Los grupos alquinilo en las cadenas de poliéster pueden hacer reacción para formar triazoles con los reticuladores (p. ej., a través de la cicloadición de azida-alquino Huisgen) y crear así partículas (p. ej., micropartículas). Un experto en la técnica entenderá que esta reacción puede llevarse a cabo en presencia de un catalizador. Por ejemplo, la reacción de cicloadición puede llevarse a cabo en presencia de una sal de cobre (I) (p. ej., bromuro cuproso o yoduro cuproso). En algunos métodos descritos en la presente memoria, la reacción puede llevarse a cabo en presencia de una sal de cobre (II) (p. ej., sulfato de cobre (II)) y un agente reductor (p. ej., ascorbato de sodio) para producir cobre (I) in situ. En algunos métodos descritos en la presente memoria, la reacción de cicloadición se lleva a cabo en ausencia de un catalizador. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la reacción de cicloadición puede llevarse a cabo después del calentamiento de la mezcla.

En algunos métodos descritos en la presente memoria, la reticulación puede llevarse a cabo a través de la formación de uniones amida (-C(O)NR-). Por ejemplo, en algunos métodos, la reticulación puede lograrse mediante la formación de amida entre un poliéster de la descripción que se ha funcionalizado con un grupo ácido carboxílico (o un derivado de ácido carboxílico) y una diamina (p. ej., 1,6 hexanodiamina). La formación de amida puede llevarse a cabo en presencia de un catalizador de acoplamiento peptídico tal como N,N'-diciclohexilcarbodiimida ("DCC"), hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio ("HBTU") o hexafluorofosfato de 1-[Bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido ("HATU"). En algunos métodos descritos en la presente memoria, el reactivo de acoplamiento de amida se puede agregar después de que el grupo ácido carboxílico y la diamina se disuelven en la misma fase. Un experto en la técnica reconocerá, además, que es posible formar ligaduras amida en la ausencia de un reactivo de acoplamiento peptídico. Por ejemplo, pueden formarse uniones amida al calentar una mezcla de grupos ácido carboxílico (p. ej., en presencia de un ácido). Alternativamente, pueden

formarse uniones amida entre aminas y derivados de ácido carboxílico. Por ejemplo, una unión amida de reticulación puede formarse mediante el tratamiento de un éster o amida no reticulada con un grupo amina de reticulación.

En algunos métodos descritos en la presente memoria, la reticulación puede llevarse a cabo a través de la formación de una β-hidroxi amina. Por ejemplo, la reticulación puede llevarse a cabo entre un grupo epóxido dispuesto a lo largo de una cadena principal de poliéster como se describe en la presente memoria y un resto amina. Las diaminas pueden hacer reacción con los epóxidos (p. ej., ataque nucleófilo) para formar uniones carbono-nitrógeno. Un experto en la técnica entenderá que la regioquímica de la reacción de formación de β-hidroxi amina puede controlarse mediante las condiciones de reacción (p. ej., uso de catálisis ácida o básica). Por ejemplo, se puede influir sobre si un epóxido monosustituido se abre en la posición terminal al usar catálisis básica. Por lo tanto, como se muestra en el Esquema 4, más adelante, un experto en la técnica entenderá que son posibles múltiples resultados de la reacción de amina-epoxi en la reacción entre una cadena principal funcionalizada con epóxido (10) y una diamina (11) para llegar a una partícula reticulada (12):

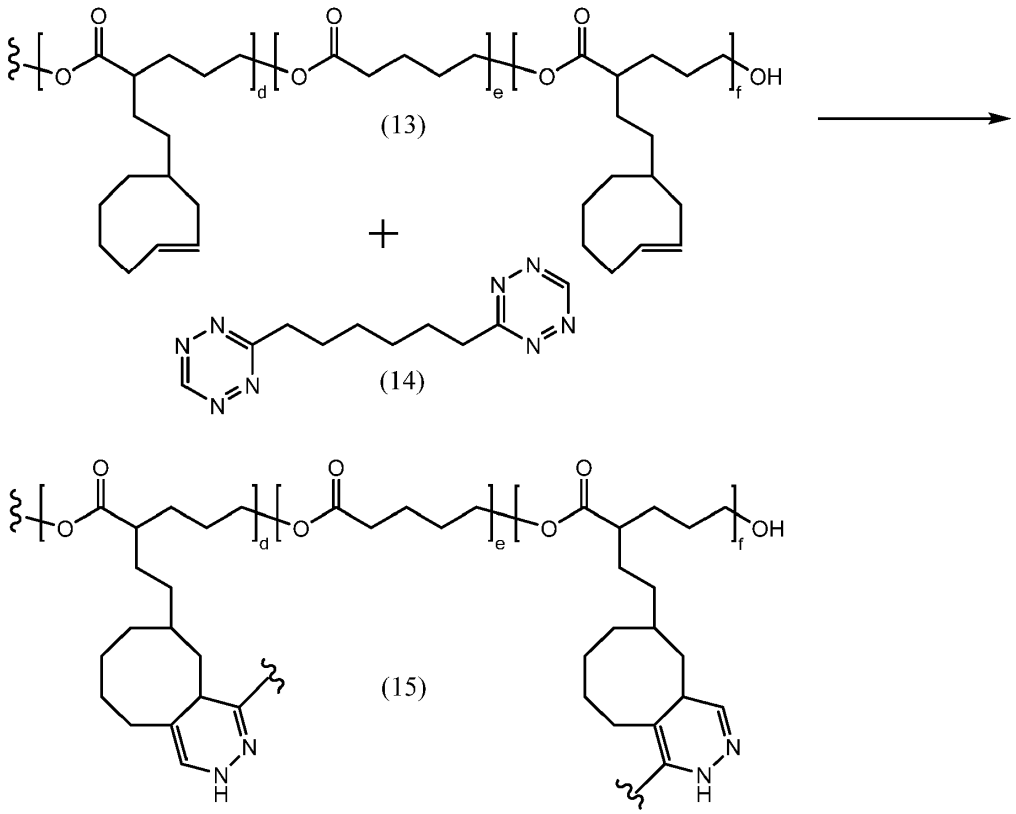
Esquema 4 – Posibles regioquímicas de la reacción de reticulación de aminas con grupos epoxi



En algunos métodos descritos en la presente memoria, el nucleófilo puede ser una molécula en donde el sitio nucleófilo tiene un átomo con un par solo adicional de átomos alfa con respecto al átomo nucleófilo (p. ej., puede ser un nucleófilo de "efecto alfa"). Por ejemplo, la porción nucleófila del reticulador puede ser una hidrazina, un peróxido o una hidroxilamina.

En algunos métodos descritos en la presente memoria, las partículas (p. ej., micropartículas) de la presente descripción pueden reticularse mediante una reacción entre una tetrazina y un *trans*-cicloocteno. Por ejemplo, la reticulación puede llevarse a cabo como se expone en el Esquema 5, más adelante. Un experto en la técnica entenderá que es posible una variedad de diferentes regioquímicas con una reacción de tetrazina-*trans*-cicloocteno.

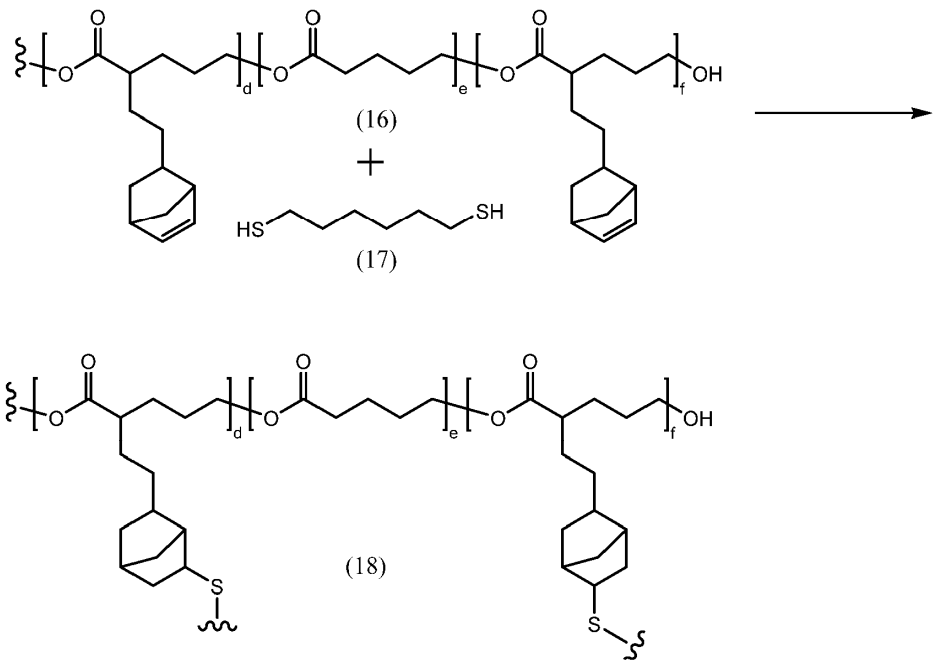
Esquema 5 – Reacción de reticulación ilustrativa entre *trans*-cicloocteno y tetrazina



Como se expone en el Esquema 5, el tratamiento de una cadena principal funcionalizada con *trans*-cicloocteno (13) puede reticularse con una ditetrazina (14). El grupo tetrazina puede hacer reacción con la *trans*-olefina del grupo cicloocteno (p. ej., una cicloadición de Diels-Alder con posterior eliminación de gas nitrógeno). Como se expuso anteriormente en el Esquema 5, la regioquímica de la adición de tetrazina puede variar. La flexibilidad en la reticulación regioquímica también se muestra en la Fórmula V. Un experto en la técnica entenderá que la Fórmula V muestra que la reacción de reticulación no está limitada a un regioquímica específica (p. ej., el *trans*-cicloocteno puede acoplarse a la cadena principal de polímero en diferentes posiciones con respecto a la posición que se muestra).

En algunos métodos descritos en la presente memoria, las partículas (p. ej., micropartículas) de la presente descripción pueden reticularse mediante una reacción entre un tiol y un norborneno. Por ejemplo, la reticulación puede llevarse a cabo como se expone en el Esquema 6, más adelante. Un experto en la técnica entenderá que es posible una variedad de diferentes regioquímicas con una reacción de tiol-norborneno y la presente descripción no se limita a una regioquímica específica.

Esquema 6 – Posibles regioquímicas de la reacción de reticulación de norborneno con grupos tiol

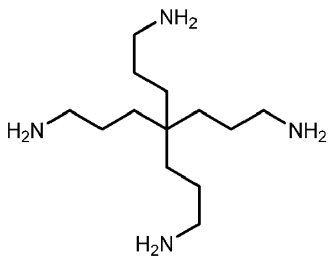


Como se expone en el Esquema 6, el tratamiento de una cadena principal funcionalizada con norborneno (16) puede reticularse con un ditiol (17) en presencia de luz ultravioleta para formar una partícula reticulada (18). En algunos métodos, se puede agregar un fotoiniciador. El grupo tiol puede hacer reacción con la olefina del grupo norbornilo para formar uniones azufre-carbono (p. ej., mediante adición radical). Como se expuso anteriormente en el Esquema 6, la regioquímica de la adición de tiol puede variar. La flexibilidad en la reticulación regioquímica también se muestra en la Fórmula VI. Un experto en la técnica entenderá que la Fórmula VI muestra que el grupo norbornilo puede conectarse a la cadena principal de polímero y reticularse a través de un ditiol con una variedad de regioquímicas de reticulación diferentes y la presente descripción no se limita a una regioquímica específica.

Un experto en la técnica entenderá fácilmente que cualquiera de los grupos funcionales descritos anteriormente (p. ej., grupos norborneno, grupos *trans*-ciclooctenо, grupos tetrazina) puede sustituirse. Por ejemplo, cualquiera de los grupos funcionales expuestos anteriormente puede tener, por ejemplo, un sustituyente metilo.

Un experto en la técnica entenderá que es posible cambiar la naturaleza de los grupos funcionales y reticuladores descritos en la presente memoria para lograr resultados similares como se describe en la presente memoria. Es decir, un experto en la técnica entenderá que es posible, por ejemplo, emplear grupos funcionales dispuestos a lo largo de la cadena principal de poliéster para la reticulación con diolefinas (p. ej., 1,5-hexadieno) y lograr resultados similares.

En algunos métodos descritos en la presente memoria, los reticuladores pueden tener dos grupos funcionales (es decir, los reticuladores pueden ser lineales y tener un grupo funcional en cada extremo). Los ejemplos de dichos reticuladores bifuncionales son 1,6-hexanoditiol. En algunos métodos descritos en la presente memoria, los reticuladores pueden ser multifuncionales (p. ej., pueden tener más de dos grupos funcionales). Por ejemplo, un reticulador tetrafuncional puede tener la estructura de 4,4-bis(3-aminopropil)heptano-1,7-diamina:



Un experto en la técnica entenderá que un reticulador tetrafuncional de tal tipo puede usarse, por ejemplo, en presencia de cadenas principales de polímero funcionalizadas con epoxi. Además, un experto en la técnica entenderá que las funcionalidades amina pueden reemplazarse con grupos tiol para admitir un reticulador tetrafuncional en una reacción de tiol-eno.

Además, un experto en la técnica entenderá que es posible usar otras reacciones químicas (p. ej., reacciones químicas contundentes tales como reacciones "click") para formar retículos como se describen en la presente memoria.

Como se usa en la presente memoria, los reticuladores de la presente descripción pueden comprender polímero (p. ej., cadenas principales de poliéster, policarbonato). En otras palabras, el reticulador puede comprender un polímero con grupos funcionales dispuestos en él que son capaces de hacer reacción con los grupos funcionales de otro polímero. Por ejemplo, una cadena principal de poliéster que comprende una pluralidad de grupos alilo dispuestos en ella puede reticularse mediante un polímero de poliéster que comprende una pluralidad de grupos tiol libres dispuesto en él. En algunas realizaciones, el polímero de reticulación puede comprender una pluralidad de unidades monoméricas (p. ej., 100 o más, 200 o más, 300 o más, o 1000 o más unidades monoméricas). En algunos métodos descritos en la presente memoria, las unidades monoméricas pueden ser unidades de valerolactona funcionalizadas o no funcionalizadas.

Técnicas de control de tamaño

La presente descripción proporciona la preparación de partículas con tamaño controlable. En algunas realizaciones, las partículas pueden ser micropartículas o nanopartículas. Por ejemplo, las partículas descritas en la presente memoria pueden tener diámetros entre aproximadamente 1 y 999 µm, incluidos todos los rangos y subrangos intermedios (p. ej., entre aproximadamente 5 µm y aproximadamente 500 µm; o aproximadamente 10 µm; aproximadamente 20 µm; aproximadamente 50 µm; aproximadamente 100 µm; o aproximadamente 200 µm).

La optimización del tamaño o control del tamaño puede lograrse mediante varios métodos diferentes descritos en la presente memoria. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los polímeros y reticuladores descritos en la presente memoria pueden disolverse en un disolvente no acuoso (p. ej., orgánico). La mezcla de los polímeros y reticuladores, fotoiniciadores (y, opcionalmente, catalizadores) se emulsionará con una fase acuosa (p. ej., agua que comprende, opcionalmente, un agente emulsionante tal como alcohol polivinílico, PVA o PEG). Los parámetros de la emulsión pueden usarse para controlar el tamaño de partícula resultante. Es decir, en algunas realizaciones, los precursores de partícula (p. ej., polímeros, agentes de reticulación e iniciadores) pueden disolverse dentro de gotículas del disolvente no acuoso de la emulsión. La reacción de reticulación a continuación puede llevarse a cabo mientras los precursores de partícula se disuelven en el disolvente no acuoso de la emulsión. En otras palabras, la emulsión (es decir, la fase no acuosa), puede actuar como un molde o matriz para permitir que las micropartículas se dispersen de manera uniforme. En algunas realizaciones, la reticulación puede llevarse a cabo dentro de la emulsión (es decir, la fase no acuosa). Por ejemplo, se irradia una emulsión que comprende gotículas no acuosas con los precursores particulares (p. ej., cadena principal de poliéster y reticulador) disueltos en ella. En algunas realizaciones, todos los componentes de la reacción son insolubles en agua y, por lo tanto, se disuelven en las gotículas no acuosas de la emulsión.

Por consiguiente, en algunas realizaciones, el tamaño de las micropartículas es una función del tamaño de las gotículas (p. ej., microgotículas) del disolvente no acuoso. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la velocidad del batido o agitación de la emulsión puede usarse para controlar el tamaño de las gotículas no acuosas y, por lo tanto, el tamaño de las micropartículas resultantes. En algunas realizaciones, se puede usar sonicación (p. ej., mediante una punta o cono de sonda) para controlar el tamaño de las gotículas no acuosas y, por lo tanto, el tamaño de las micropartículas resultantes.

Por lo tanto, en algunas realizaciones, los precursores poliméricos pueden agregarse en grandes concentraciones (p. ej., mayores que 50 mg/mL). En algunas realizaciones, la velocidad del proceso de emulsión puede ajustarse entre aproximadamente 10.000 rpm y 22.000 rpm. Por ejemplo, la velocidad del proceso de emulsión puede ser aproximadamente 10.000 rpm, aproximadamente 11.000 rpm, aproximadamente 12.000 rpm, aproximadamente 13.000 rpm, aproximadamente 14.000 rpm, aproximadamente 15.000 rpm, aproximadamente 16.000 rpm, aproximadamente 17.000 rpm, aproximadamente 18.000 rpm, aproximadamente 19.000 rpm, aproximadamente 20.000 rpm, aproximadamente 21.000 rpm o aproximadamente 22.000 rpm. En algunas realizaciones, el porcentaje de tensioactivo (p. ej., alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona o polietilenglicol) en la fase acuosa también puede usarse para controlar el tamaño de la gotícula (y, por lo tanto, el tamaño de las partículas resultantes). Por ejemplo, la viscosidad de la fase acuosa puede controlarse mediante la cantidad de alcohol polivinílico. En algunas realizaciones, el porcentaje de alcohol polivinílico puede estar entre aproximadamente 5 % (en peso) y aproximadamente 20 % (en peso). Por ejemplo, el porcentaje de alcohol polivinílico puede ser de aproximadamente 5 %, aproximadamente 6 %, aproximadamente 7 %, aproximadamente 8 %, aproximadamente 9 %, aproximadamente 10 %, aproximadamente 11 %, aproximadamente 12 %, aproximadamente 13 %, aproximadamente 14 %, aproximadamente 15 %, aproximadamente 16 %, aproximadamente 17 %, aproximadamente 18 %, aproximadamente 19 % o aproximadamente 20 % en peso. De manera similar, en algunas realizaciones, el peso molecular del tensioactivo (p. ej., alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona o polietilenglicol) puede usarse para controlar el tamaño de la gotícula (y, por lo tanto, el tamaño de las partículas resultantes).

La relación entre el disolvente acuoso y el disolvente no acuoso también puede usarse para controlar el tamaño de las partículas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se usa entre aproximadamente 1 y 100 mL de disolvente acuoso (p. ej., aproximadamente 1, aproximadamente 5, aproximadamente 10 o aproximadamente 15 mL de disolvente acuoso). En algunas realizaciones, se usa entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10 mL de disolvente no acuoso (p. ej., se usa aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4,

aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 8, aproximadamente 9 o aproximadamente 10 mL de disolvente no acuoso). En algunas realizaciones, la relación entre el disolvente acuoso y el no acuoso es entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 10:1.

Después de la reticulación de las partículas en la fase no acuosa, el disolvente (p. ej., el disolvente no acuoso, el disolvente acuoso o ambos) puede retirarse. En algunas realizaciones, retirar el disolvente incluye exponer la emulsión a una corriente de gas (p. ej., una corriente de N_2). La corriente de gas puede durar varias horas (p. ej., aproximadamente 1 hora, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 12 horas o aproximadamente 24 horas).

En otra realización, las micropartículas y las macropartículas de la presente descripción pueden controlarse mediante fotolitografía. Como se expone en el Ejemplo 12, se formaron plantillas al crear sujetadores de tamaño y forma uniformes que se usaron para crear pocillos que tienen, igualmente, tamaño y forma uniformes. Se disolvieron los poliésteres y reticuladores en los pocillos y se reticularon para crear micropartículas y macropartículas de tamaño uniforme. Las partículas resultantes después pueden retirarse de los pocillos y usarse. En algunas realizaciones, la solución moldeada también puede contener una carga (p. ej., un plastificante). En algunas realizaciones, la carga puede usarse para controlar la porosidad de las partículas resultantes.

En otro método descrito en la presente memoria, el tamaño de las partículas (p. ej., micropartículas o nanopartículas) puede controlarse al moler una macropartícula correspondiente. Por ejemplo, en algunos métodos, las reacciones de reticulación de la presente descripción pueden llevarse a cabo en una única fase (es decir, no una emulsión) para crear una partícula macroscópica (p. ej., una partícula con una masa de >10 mg). La macropartícula resultante después puede molerse (p. ej., triturarse) para crear una pluralidad de nanopartículas o micropartículas.

Técnicas antiaglomeración

Las partículas de la presente descripción comprenden polímeros de PEG acoplados a la cadena principal de partícula de poliéster. Los polímeros de PEG están acoplados de modo que están dispuestos hacia el exterior de la partícula. Los polímeros de PEG están acoplados a la porción terminal de las cadenas principales de partícula de poliéster.

En algunas realizaciones, el acoplamiento de polímeros de PEG puede ayudar a reducir la aglomeración de las partículas de la presente descripción. En algunos métodos descritos en la presente memoria, pueden usarse otros polímeros tales como polivinilpirrolidona o Pluronics en lugar de PEG para ayudar a prevenir la aglomeración. Además, el acoplamiento de polímeros de PEG puede hacer que las partículas sean más hidrófilas y ayudar a facilitar la carga de fármaco. Por ejemplo, se preparó una micropartícula de PVL-co-PAVL según los métodos descritos en la presente memoria. Sin desear limitarse a la teoría, las partículas resultantes fueron hidrófobas y demostraron un poco de aglomeración. En algunas realizaciones, podría ser difícil cargar fármacos en las partículas resultantes por tratarse de partículas no porosas e hidrófobas.

En algunas realizaciones, el acoplamiento de polímeros de PEG puede lograrse al usar una molécula de hidroxi-PEG como iniciador para una reacción de polimerización (p. ej., como un iniciador para la formación de poliéster). Por ejemplo, se puede usar un PEG multirramificado tal como un dendrímero de PEG o un PEG terminado con hidroxi de seis ramificaciones como un iniciador de polimerización.

En cambio, la preparación de partículas que comprenden mPEG-2K-PVL-co-PAVL (es decir, partículas en donde el PEG se dispuso en el exterior de la partícula) demostró una mayor hidrofilicidad, menor aglomeración y mayor facilidad para la carga de fármaco. En algunas realizaciones, puede usarse al menos aproximadamente 2,5 % de PEG (p. ej., como un codisolvente) para reducir la aglomeración de partículas de fármaco (p. ej., al menos aproximadamente 2,5 %, al menos aproximadamente 5 %, o al menos aproximadamente 10 %). Por ejemplo, la Figura 18A muestra partículas cargadas con curcumina disueltas en agua que contiene Tween al 1 % después de secarse en THF con PEG al 25 % como un codisolvente. Además, la Figura 18B muestra una vista en primer plano de partículas cargadas con curcumina disueltas en agua que contiene Tween al 1 % después de secarse en THF con PEG al 25 % como un codisolvente. Sin desear limitarse a la teoría, los resultados sugieren que disolver en agua que comprende un tensioactivo puede ayudar a reducir la aglutinación de las partículas.

Carga y liberación de fármaco

En algunos métodos, se pueden cargar fármacos en las partículas de la presente descripción al remojar las partículas en un disolvente (p. ej., agua, tetrahidrofurano (THF) o dimetilsulfóxido (DMSO)) que contiene el fármaco. En algunos métodos, el fármaco puede ser una molécula pequeña, que incluye, pero no se limita a, triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona, paclitaxel. Otros fármacos incluyen, pero no se limitan a, bimatoprost, travaprost, brimonidina, camptotecina, tamoxifeno, quercetina, tioestreptón, temozolamida, trametinib, seliciclib, fN'LFN'YK, GCGGGDHGVSSGV, factor de crecimiento de hepatocitos (HGF, por sus siglas en inglés) y proteína morfogenética ósea 2 (BMP2, por sus siglas en inglés).

En algunos métodos descritos en la presente memoria, los fármacos liberados a partir de las partículas de la presente descripción pueden ser hidrófobos. La carga de la partícula con dichos fármacos hidrófobos y la posterior liberación desde las partículas puede facilitar la administración de dichos fármacos hidrófobos (p. ej., *in vivo*). La Figura 13

proporciona las capacidades de carga de macropartículas de la presente descripción para los fármacos curcumina (como un sustituto visible de un fármaco), paclitaxel, acetónido de triamcinolona y hexacetónido de triamcinolona.

En algunos métodos, las partículas (p. ej., micropartículas tales como micropartículas de 10 µm) pueden proporcionar una liberación sostenida (p. ej., aproximadamente 3 meses de liberación sostenida de un fármaco (p. ej., hexacetónido de triamcinolona) en un modelo animal relevante.

La Figura 4 muestra un esquema del método para cargar fármacos en partículas de la presente descripción. Como se expone en la Figura 4, las partículas se suspenden en un disolvente orgánico que contiene un fármaco. La mezcla resultante se agita y el fármaco puede incorporarse en las regiones porosas de las partículas. Después de la purificación, los fármacos pueden liofilizarse y almacenarse hasta el uso.

En algunos métodos descritos en la presente memoria, el procedimiento de carga puede afectar la cantidad de fármaco que se absorbe en una partícula de la presente descripción. Por ejemplo, como se expone en los Ejemplos 7 y 8, se hincharon 25 mg de partículas (mPEG-PVL-PAVL:PVL-PAVL) 75:25 durante la noche con 2 mg/mL de hexacetónido de triamcinolona en THF. Sin embargo, sin ánimo de limitarse a la teoría, la adición lenta de grandes volúmenes de agua puede facilitar una mayor captación de hexacetónido de triamcinolona al permitir que el fármaco se divida preferencialmente en las partículas. Como se expone en los Ejemplos 7 y 8, la adición lenta de agua permitió una eficacia de carga de 67 %. Los parámetros adicionales, además de la velocidad de adición del agua, que pueden afectar la carga de un fármaco en una partícula de la presente descripción son, por ejemplo, el disolvente en el que se disuelve el fármaco, el tiempo que las partículas se remojan en el fármaco y el volumen de agua usado. Otros parámetros incluyen el pH y la fuerza iónica del disolvente. Por ejemplo, pueden usarse disolventes orgánicos próticos tales como metanol o etanol en lugar de agua para facilitar la carga del fármaco en una partícula de la presente descripción.

Sin desear limitarse a la teoría, remojar las partículas de la presente descripción, (p. ej., en THF, en presencia de un fármaco) puede causar que las partículas se hinchen. Por ejemplo, el Ejemplo 5 muestra que las partículas de la presente descripción pueden cambiar de tamaño (p. ej., pueden hincharse) dependiendo del disolvente en el que se colocan. La Figura 5 muestra un histograma de micropartículas de mPEG-b-(PVL-coPAVL) reticuladas que demuestra que tuvieron un diámetro promedio de aproximadamente 79 nm cuando se colocaron en agua. En algunos métodos, las mismas partículas se hincharon hasta un diámetro de aproximadamente 85 nm cuando se remojaron en dimetilsulfóxido (DMSO) como se expone en la Figura 6. Las partículas se hincharon hasta un diámetro de aproximadamente 208 nm cuando se remojaron en THF, como se expone en la Figura 7. En algunas realizaciones, la diferencia en volumen de una partícula puede variar en un factor de 5-20. Por ejemplo, una partícula remojada en THF puede ser aproximadamente 2 veces tan grande, aproximadamente 3 veces tan grande, aproximadamente 4 veces tan grande, aproximadamente 5 veces tan grande, aproximadamente 6 veces tan grande, aproximadamente 7 veces tan grande, aproximadamente 8 veces tan grande, aproximadamente 9 veces tan grande, aproximadamente 10 veces tan grande, aproximadamente 11 veces tan grande, aproximadamente 12 veces tan grande, aproximadamente 13 veces tan grande, aproximadamente 14 veces tan grande, aproximadamente 15 veces tan grande, aproximadamente 16 veces tan grande, aproximadamente 17 veces tan grande, aproximadamente 18 veces tan grande, aproximadamente 19 veces tan grande o aproximadamente 20 veces tan grande, como una partícula remojada en agua. A efectos de comparación, la Figura 8 expone un histograma de micropartículas de mPEG-b-PVL-co-PAVL no reticuladas después de remojarlas en agua.

Además, la Figura 9 expone la hinchazón de partículas que se han suspendido en THF. La Figura 9A muestra un histograma y una imagen de micropartículas después de la reticulación y la Figura 9B y la Figura 9C muestran histogramas e imágenes de micropartículas después de una etapa de lavado con DMSO y una etapa de lavado con etanol, respectivamente. La Figura 9D muestra imágenes y un histograma de partículas remojadas en THF. Como se expone en la Figura 9D, las partículas remojadas en THF pueden ser mayores que las partículas remojadas en otros disolventes tales como agua o etanol.

La liberación de fármacos desde partículas de la presente descripción puede depender de la densidad de reticulación de las partículas. Por ejemplo, una densidad de reticulación alta puede conducir a una liberación más lenta del fármaco dado que la densidad de reticulación alta puede conducir a una hidrólisis más lenta y, por lo tanto, una degradación más lenta de las partículas.

La liberación de fármacos desde partículas de la presente descripción puede depender de la densidad de las partículas. Por ejemplo, aumentar la longitud del reticulador puede disminuir la densidad de la partícula y permitir una liberación más rápida del fármaco desde una partícula dada.

En algunos métodos, las partículas descritas en la presente memoria exhiben baja cristalinidad. Sin desear limitarse a la teoría, la baja cristalinidad puede ser ventajosa para la liberación mediada por difusión. Las Figuras 28 y 29 muestran que las micropartículas de la presente descripción tienen baja cristalinidad con densidad de reticulación alta.

Ejemplos

La descripción se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos y ejemplos de síntesis y ejemplos comparativos.

Métodos de HPLC

A menos que se indique de cualquier otra manera, la determinación cuantitativa de medicamentos se llevó a cabo al usar métodos de HPLC. Las curvas de calibración para fármacos usados en la presente memoria (p. ej., triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona, acetónido de triamcinolona, paclitaxel y curcumina) se prepararon al inyectar concentraciones conocidas de los fármacos y medir el área bajo la curva en cada concentración. Se llevaron a cabo análisis al usar una columna Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 (150 × 4,6 mm i.d.) con una columna de guarda de 12,5 × 4,6 mm. Los parámetros para cada fármaco se proporcionan más adelante en la Tabla 1.

Tabla 1 - Parámetros de calibración para concentraciones de fármaco

Fármaco	Volumen de inyección	Tiempo de retención	Velocidad de flujo	Longitud de onda de detección	Fase móvil	Pendiente calc.	R^2
Hexacetónido de triamcinolona	20 µL	3 min	1,2 mL/min	240 nm	MeOH: H_2O 90:10	Y=57,882x	0,9999
Paclitaxel	20 µL	7,8 min	1 mL/min	227 nm	MeOH: H_2O 50:50	Y=73,156x	0,9998
Curcumina	20 µL	4,45 min	1 mL/min	420 nm	ACN: H2O:AcOH 55:45:0,1	Y=338,71x	0,9996

Ejemplo 1 — Preparación de copolímero de PVL-co-PAVL

Se disolvieron alcohol bencílico (60 µl), valerolactona (8 mL) y alilvalerolactona (2 mL) en tolueno (20 mL) y se agregó triazabiciclodeceno (catalizador) al 2 % mol : monómero y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La Figura 10 muestra un espectro de ^{1}HNMR del polímero de PVL-co-PAVL con un peso molecular de 17200 g/mol (es decir, aproximadamente 128 unidades de valerolactona y aproximadamente 14 unidades de alilvalerolactona). El peso molecular promedio en número del polímero fue aproximadamente 12.200 g/mol, con un peso molecular máximo de aproximadamente 14100 g/mol. El índice de polidispersidad fue aproximadamente 1,41. La temperatura de fusión fue aproximadamente 35 °C. La temperatura de recuperación fue aproximadamente 11 °C. La Figura 10B muestra una gráfica de cromatografía de permeación en gel de las nanopartículas de PVL-co-PAVL.

La mezcla se sometió a cromatografía de permeación en gel. El peso molecular promedio en peso fue aproximadamente 17.200 g/mol.

Ejemplo 2 — Preparación de polivalerolactona/Ácido polialil láctico (PVL-co-PAL)

El alil láctido se prepara según el método descrito en la patente estadounidense núm. 8.758.828 otorgada a Markland, et al. Se disuelven alcohol bencílico, valerolactona y alil láctido en triazabiciclodeceno y se agitan a temperatura ambiente durante 4 horas. El polímero resultante se aísla y se usa para reticular micropartículas.

Ejemplo 3 — Preparación de micropartículas reticuladas que comprenden policaprolactona y polialilvalerolactona

Se disolvieron homopolímero de policaprolactona (PCL; 50 mg; 50 kDa; 1 mmol), polivalerolactona (PVL; 50 mg) y polialilvalerolactona (PAVL; 50 mg (6700 g/mol; 19 % de alilvalerolactona y 81 % de valerolactona)) y hexanoditiol (1 grupo -SH por alqueno) en 1 mL de diclorometano. Se agregó 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA; 3,4 mg; 0,2 equivalentes por alqueno) y la disolución se agregó por goteo a 20 mL de agua que contenía alcohol polivinílico al 5 %. La mezcla se homogeneizó con agitación (es decir, un homogeneizador mecánico Polytron® a 22.000 rpm) durante cinco minutos. La mezcla homogeneizada se irradió a 365 nm — 4 mW con agitación durante 30 minutos.

La mezcla se agitó durante 3 horas para permitir que el diclorometano se evaporara. La mezcla después se centrifugó a 4000 rpm a 10 °C durante 10 minutos. La disolución acuosa que contenía alcohol polivinílico se retiró por vertido y las partículas se enjuagaron con agua destilada. Las partículas después se centrifugaron y enjuagaron con agua como anteriormente tres veces más.

Las partículas después se dispersaron en DMSO y se centrifugaron a 4000 rpm a 20 °C durante diez minutos. El DMSO se retiró por vertido y el proceso se repitió otras dos veces. Las partículas reticuladas resultantes estaban hinchadas y semitransparentes y no se disolvieron en DMSO.

La Figura 1A muestra una foto de un copolímero de PVL-co-PAVL en una escala de aproximadamente 1500 µm producido mediante el método indicado anteriormente. Las Figuras 1B, 1C y 1D muestran fotos de un copolímero de PCL-co- PAVL/PVL producido mediante el método indicado anteriormente en una escala de 400 µm, 600 µm y 20 µm, respectivamente. Las partículas comprendían entre 0,01 % y 20 % de polialilvalerolactona (PAVL), y el resto comprendía policaprolactona (PCL) y polivalerolactona (PVL).

Ejemplo comparativo 3 — Preparación tentativa de micropartículas no reticuladas que comprenden policaprolactona y polialilvalerolactona

Se disolvieron homopolímero de policaprolactona (PCL; 50 mg; 50 kDa; 1 mmol) y polialilvalerolactona (PVL-co-PAVL; 50 mg) en 1 mL de diclorometano. La disolución se agregó por goteo a 20 mL de agua que contenía alcohol polivinílico al 5 %. La mezcla se homogeneizó con agitación (es decir, un homogeneizador mecánico Polytron® a 22.000 rpm) durante cinco minutos. La mezcla homogeneizada se irradió a 365 nm - 4 mW con agitación durante 30 minutos. No se agregó reticulador ni DMPA.

La mezcla se agitó durante 3 horas para permitir que el diclorometano se evaporara. La mezcla después se centrifugó a 4000 rpm a 10 °C durante 10 minutos. La disolución acuosa que contenía alcohol polivinílico se retiró por vertido y las partículas se enjuagaron con agua destilada. Las partículas después se centrifugaron y enjuagaron con agua como anteriormente tres veces más.

La mezcla después se dispersó en DMSO y se centrifugó a 4000 rpm a 20 °C durante diez minutos. El DMSO se retiró por vertido y el proceso se repitió otras dos veces. Si bien se formaron partículas, los precursores de partícula se disolvieron en DMSO y no se recuperaron. Este ejemplo se llevó a cabo como un experimento testigo y los resultados demostraron que la reticulación es necesaria para producir micropartículas de la presente descripción.

Ejemplo 4 — Preparación de micropartículas reticuladas que comprenden polialilvalerolactona

Se disolvieron polialilvalerolactona (PAVL; 100 mg (6700 g/mol; 19 % de alilvalerolactona y 81 % de valerolactona)) y hexanoditiol (1 grupo -SH por alqueno) en 1 mL de diclorometano. Se agregó 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA; 0,2 equivalentes por alqueno) y la disolución se agregó por goteo a 20 mL de agua que contenía alcohol polivinílico al 5 %. La mezcla se homogeneizó con agitación (es decir, un homogeneizador mecánico Polytron® a 22.000 rpm) durante cinco minutos. La mezcla homogeneizada se irradió a 365 nm - 4 mW con agitación durante 30 minutos.

La mezcla se agitó durante 3 horas para permitir que el diclorometano se evaporara. La mezcla después se centrifugó a 4000 rpm a 10 °C durante 10 minutos. La disolución acuosa que contenía alcohol polivinílico se retiró por vertido y las partículas se enjuagaron con agua destilada. Las partículas después se centrifugaron y enjuagaron con agua como anteriormente tres veces más.

Las partículas después se dispersaron en DMSO y se centrifugaron a 4000 rpm a 20 °C durante diez minutos. El DMSO se retiró por vertido y el proceso se repitió otras dos veces. Las partículas reticuladas resultantes estaban hinchadas y semitransparentes y no se disolvieron en DMSO.

La Figura 2A muestra una foto de un copolímero de PVL-co-PAVL en una escala de aproximadamente 1500 µm producido mediante el método indicado anteriormente. Las Figuras 2B, 2C y 2D muestran fotos de un copolímero de PCL-co- PAVL producido mediante el método indicado anteriormente en una escala de 400 µm, 600 µm y 20 µm, respectivamente.

Ejemplo comparativo 4 — Preparación tentativa de micropartículas no reticuladas que comprenden polialilvalerolactona

Se disolvió polialilvalerolactona (PAVL; 100 mg) en 1 mL de diclorometano. La disolución se agregó por goteo a 20 mL de agua que contenía alcohol polivinílico al 5 %. La mezcla se homogeneizó con agitación (es decir, un homogeneizador mecánico Polytron® a 22.000 rpm) durante cinco minutos. No se agregó DMPA ni reticulador. La mezcla homogeneizada se irradió a 365 nm - 4 mW con agitación durante 30 minutos.

La mezcla se agitó durante 3 horas para permitir que el diclorometano se evaporara. La mezcla después se centrifugó a 4000 rpm a 10 °C durante 10 minutos. La disolución acuosa que contenía alcohol polivinílico se retiró por vertido y las partículas se enjuagaron con agua destilada. Las partículas después se centrifugaron y enjuagaron con agua como anteriormente tres veces más.

La mezcla después se dispersó en DMSO y se centrifugó a 4000 rpm a 20 °C durante diez minutos. El DMSO se retiró por vertido y el proceso se repitió otras dos veces. Si bien se formaron partículas, los precursores de partícula se disolvieron en DMSO y no se recuperaron. Este ejemplo se llevó a cabo como un experimento testigo y los resultados demostraron que la reticulación es necesaria para producir micropartículas de la presente descripción.

Ejemplo 5 — Preparación de micropartículas reticuladas que comprenden polivalerolactona, polialilvalerolactona y PEG

Se disolvieron 50 mg de mPEG-PVL-PAVL ($6,0 \times 10^{-5}$ mol alilo), 5 mg de DMPA (0,25 eq./alilo) y 4,4 µL de 1,6-hexanoditiol (0,5 eq./alilo) en 3 mL de THF. La disolución de polímero en THF se agregó por goteo con agitación a 10 mL de agua desionizada en un vial de vidrio de 20 mL. El disolvente se evaporó durante aproximadamente 18 horas y después la disolución se irradió con luz UV (365 nm) durante cinco minutos. Las micropartículas resultantes se caracterizaron a través de dispersión de luz dinámica (DLS).

La Figura 5 muestra una gráfica de DLS de partículas reticuladas en agua. Como se muestra, las partículas tienen aproximadamente 100 nm de diámetro. La Tabla 2 más adelante muestra los resultados del análisis de DLS.

Tabla 2 — Análisis de DLS de micropartículas de mPEG-b-(PVL-coPAVL) reticuladas en agua

Resultados acumulados		Resultados de distribución			
Promedio Z (nm)	78,65		Tamaño (d) (nm)	% de Int.	σ
Índice de Pd	0,140	Pico 1	90,69	97,9	30,10
Polidispersidad (nm)	29,4	Pico 2	26,81	2,1	4,420
% de polidispersidad	37,4	Pico 3	0,000	0,0	0,000
Kcps derivados	48.863,4				

La Figura 6 muestra una gráfica de DLS de las partículas reticuladas en DMSO. Como se muestra, las partículas tienen aproximadamente 100 nm de diámetro. La Tabla 3 más adelante muestra los resultados del análisis de DLS.

Tabla 3 — Análisis de DLS de micropartículas de mPEG-b-(PVL-coPAVL) reticuladas en DMSO

Resultados acumulados		Resultados de distribución			
Promedio Z (nm)	85,22		Tamaño (d) (nm)	% de Int.	σ
Índice de Pd	0,077	Pico 1	91,61	100,0	24,28
Polidispersidad (nm)	23,6	Pico 2	0,000	0,0	0,000
% de polidispersidad	27,7	Pico 3	0,000	0,0	0,000
Kcps derivados	3.424,2				

La Figura 7 muestra una gráfica de DLS de las partículas reticuladas en THF. Como se muestra, las partículas tienen entre aproximadamente 100 nm y 1000 nm de diámetro. La Tabla 4 más adelante muestra los resultados del análisis de DLS.

Tabla 4 — Análisis de DLS de micropartículas de mPEG-b-(PVL-coPAVL) reticuladas en THF

Resultados acumulados		Resultados de distribución				
Promedio Z (nm)	208,4		Tamaño (d) (nm)	% de Int.	σ	% de Pd.
Índice de Pd	0,171	Pico 1	236,4	100,0	84,76	35,9
Polidispersidad (nm)	86,1	Pico 2	0,000	0,0	0,000	0

Resultados acumulados		Resultados de distribución				
Promedio Z (nm)	208,4		Tamaño (d) (nm)	% de Int.	σ	% de Pd.
% de polidispersidad	41,3	Pico 3	0,000	0,0	0,000	0
Kcps derivados	19.181,1					

La Figura 11A muestra una imagen de microscopio de macropartículas de mPEG-b-PAVL-co-PVL (80:20) producidas mediante este método en una resolución de aproximadamente 1 mm.

La Figura 11B muestra una imagen de microscopio de macropartículas de mPEG-b-PAVL-co-PVL (80:20) producidas mediante este método en una resolución de aproximadamente 200 µm.

La Figura 11C muestra una primera imagen de microscopio de macropartículas de mPEG-b-PAVL-co-PVL (80:20) producidas mediante este método en una resolución de aproximadamente 10 µm.

La Figura 11D muestra una segunda imagen de microscopio de macropartículas de mPEG-b-PAVL-co-PVL (80:20) producidas mediante este método en una resolución de aproximadamente 10 µm.

Ejemplo 6 — Preparación de nanopartículas no reticuladas que comprenden polivalerolactona, polialilvalerolactona y PEG

Se disolvieron 50 mg de mPEG-PVL-PAVL ($6,0 \times 10^{-5}$ mol alilo) y 4,4 µL de 1,6-hexanoditiol (0,5 eq./alilo) en 3 mL de THF. La disolución de polímero en THF se agregó por goteo con agitación a 10 mL de agua desionizada en un vial de vidrio de 20 mL. No se agregó ningún fotoiniciador y la emulsión se irradió con luz UV (365 nm) durante cinco minutos como una medida testigo. El disolvente se evaporó durante aproximadamente 18 horas y las micelas resultantes se caracterizaron a través de dispersión de luz dinámica.

La Figura 8 muestra una imagen de DLS de micropartículas no reticuladas producidas como en el método indicado anteriormente en agua, y la Figura 12 muestra una gráfica de DLS de partículas no reticuladas en agua. Como se muestra, las partículas tienen aproximadamente 100 nm de diámetro. La Tabla 5 más adelante muestra los resultados del análisis de DLS. Sin desear limitarse a la teoría, debido a que las partículas no se reticularon, se redisolvieron en disolvente orgánico.

Tabla 5 — Análisis de DLS de micropartículas de mPEG-b-(PVL-coPAVL) no reticuladas en agua

Resultados acumulados		Resultados de distribución			
Promedio Z (nm)	80,89		Tamaño (d) (nm)	% de Int.	σ
Índice de Pd	0,173	Pico 1	94,69	100,0	32,66
Polidispersidad (nm)	33,6	Pico 2	0,000	0,0	0,000
% de polidispersidad	41,6	Pico 3	0,000	0,0	0,000
Kcps derivados	44.486,7				

Ejemplo 7 — Carga de micropartículas con hexacetónido de triamcinolona

Se hincharon 25 mg de partículas 75:25 (mPEG-PVL-PAVL:PVL-PAVL) durante la noche con 2 mg/mL de hexacetónido de triamcinolona en THF. Después se agregaron 10 mL de agua que incluía Tween al 0,1 % por goteo. La mezcla resultante se centrifugó, el sobrenadante se recogió y se procedió a la adición de 10 mL de agua que incluía Tween al 0,1 % por goteo nuevamente (2 veces; 30 mL en total).

Después de la primera centrifugación, se observó que las partículas no se resuspendieron fácilmente en los 10 mL de agua que contenía Tween al 0,1 %. Sin desear limitarse a la teoría, esto puede deberse al hecho de que el hexacetónido de triamcinolona se cristalizó en la superficie de las partículas. Sin desear limitarse a la teoría, esto puede deberse a la adición relativamente rápida de agua y a la limitada solubilidad del hexacetónido de triamcinolona,

que causó que se cristalizara. También sin desear limitarse a la teoría, el perfil de liberación mostró una liberación relativamente rápida desde las partículas, probablemente como resultado de la redisolución del fármaco cristalizado en la superficie en la disolución.

Ejemplo 8 — Carga de partículas con hexacetónido de triamcinolona con adición lenta de agua

Se colocaron 15 mg de macropartículas en 0,5 mL de THF que contenían 15 mg de fármaco. Después de hincharse durante 2 horas, los cilindros se lavaron con THF nuevo y se secaron a temperatura ambiente durante 24 horas.

Se hincharon 40 mg de micropartículas en 0,5 mL de tetrahidrofurano que contenían 10 mg de fármaco. Se usó adición lenta de agua en algunas realizaciones para la adición a las micropartículas.

La eficacia de la carga, que incluyó fármaco unido a la superficie o fármaco libre en la disolución, fue 67 %. Después de suspender las partículas en los medios de disolución, se liberó 20 % de hexacetónido de triamcinolona en una hora y se liberó 30 % en 2 horas.

Sin desear limitarse a la teoría, la adición muy lenta de volúmenes más grandes de agua puede dar al hexacetónido de triamcinolona la oportunidad de dividirse preferencialmente en las macropartículas. Por consiguiente, la Figura 13 muestra la capacidad de carga de las macropartículas de 15 mg de la presente descripción con curcumina (CCM), hexacetónido de triamcinolona (TAH), acetónido de triamcinolona (TAA) y paclitaxel (PTX).

La Figura 14 muestra gráficas de calorimetría diferencial de barrido de macropartículas cargadas con curcumina (CCM), hexacetónido de triamcinolona (TAH), acetónido de triamcinolona (TAA) y paclitaxel (PTX), y sin fármacos. La Figura 15 muestra espectros de FTIR de micropartículas cargadas con curcumina (CCM), hexacetónido de triamcinolona (TAH), acetónido de triamcinolona (TAA) y paclitaxel (PTX), y sin fármacos.

Ejemplo 9 — Formación de copos de micropartícula

Se cargaron micropartículas reticuladas (15 mg) con 2,5 mg de curcumina mediante remojo durante la noche en THF con posterior adición lenta de 50 mL de PBS que contenía Tween al 0,1 %. Las micropartículas se enjuagaron con THF para retirar la curcumina libre y se secaron durante la noche.

Se observó que las micropartículas producidas de este modo formaron "copos" que no pudieron resuspenderse en THF o disolución de tampón de PBS después del secado. Las imágenes de microscopio de los copos se muestran en la Figura 16 después de secarse durante la noche, y la Figura 17 muestra un perfil de liberación de curcumina a partir de copos microscópicos. Los copos no pudieron resuspenderse en el tampón de PBS.

El perfil de liberación de curcumina de los copos de micropartícula producidos mediante el método descrito anteriormente. El perfil de liberación se cuantifica adicionalmente en la Tabla 6, a continuación.

Tabla 6 - Perfil de liberación de copos de micropartícula

	AUC	Conc. (µg/mL)	Dilución	Conc. final (mg/mL)	Eficacia	% de carga
Liberación inicial	489,8	1,259093597	251,8187193	0,251818719	1,134190112	1,937067072
				Total (µg de curcumina)	% de retención en copos	
Extracción después de 48 h	2782	7,151487108	143,0297422	143,0297422	56,79869334	

Como se mostró en la Tabla 6 anteriormente, se liberó 51 % de la curcumina después de 48 horas y se recuperó 57 % en la extracción posliberación de los copos.

Para abordar las dificultades de resuspender los copos de micropartícula, las partículas se secaron con PEG_{400} al 25 % como un codisolvente. Las partículas que se secaron en PEG, incluidas aquellas que se habían cargado con curcumina, pudieron resuspenderse en agua con Tween o THF. Las Figuras 18A y 18B muestran imágenes de microscopio de micropartículas de la invención después de secarse con PEG_{400} al 25 % como un codisolvente. La Figura 19A muestra una imagen de microscopio de copos de micropartícula en agua después de secarse con PEG_{400} al 2,5 % como un codisolvente. La Figura 19B muestra una imagen de microscopio de copos de micropartícula en THF después de secarse con PEG_{400} al 2,5 % como un codisolvente. La Figura 19C muestra una imagen de microscopio de copos de

micropartícula en agua después de secarse con PEG_{400} al 5 % como un codisolvente. La Figura 19D muestra una imagen de microscopio de copos de micropartícula en THF después de secarse con PEG_{400} al 5 % como un codisolvente. Las Figuras 18 y 19 demuestran que con tan poco como PEG_{400} al 2,5 % fue posible resuspender los copos de micropartícula.

La Figura 9A muestra un histograma y una imagen de microscopio óptico de micropartículas de PVL-co-PAVL al 25 % después de la reticulación. El diámetro promedio fue 6,8 µm ± 2,5 nm. La Figura 9B muestra un histograma y una imagen de OM de las mismas micropartículas después de una etapa de lavado con DMSO (diámetro promedio 6,4 µm ± 1,8 nm) y la Figura 9C muestra un histograma y una imagen de OM de las partículas después de una etapa de lavado con etanol (diámetro promedio 8 µm ± 2,5 nm). La Figura 9D muestra un histograma y una imagen de OM de las partículas después de hincharse en THF, después de lo cual el diámetro promedio fue 11,1 µm ± 4,5 nm. Los resultados muestran que, en algunas realizaciones, suspender las partículas en THF causa que las partículas se hinchen.

Ejemplo 10 — Solubilidad acuosa de fármaco

Se disolvieron acetónido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona y paclitaxel en agua con concentraciones variables de tensioactivos como codisolventes. El dodecil sulfato sódico (SDS, por sus siglas en inglés) es un tensioactivo aniónico con una concentración micelar crítica (CDC) de 8,2 mM. El equilibrio hidrófobo lipófilo (HLB, por sus siglas en inglés) es 40. Tween 80 es un tensioactivo no iónico con una concentración micelar crítica (CMC) de 0,012 mM y un equilibrio hidrófobo lipófilo (HLB) de 15.

La Figura 20 muestra que ciertos fármacos pueden ser hidrófobos y pueden requerir la adición de tensioactivos (p. ej., dodecil sulfato sódico y Tween 80) para disolverse en agua. La Figura 20A muestra una gráfica de solubilidad acuosa de acetónido de triamcinolona en presencia de los tensioactivos Tween 80 y SDS. La Figura 20B muestra una gráfica de solubilidad acuosa de hexacetónido de triamcinolona en presencia de los tensioactivos Tween 80 y SDS. La Figura 20C muestra una gráfica de solubilidad acuosa de paclitaxel en presencia de los tensioactivos Tween 80 y SDS.

Ejemplo 11 — Liberación preliminar de fármaco a partir de macropartículas reticuladas

Se cargó una macropartícula reticulada que pesaba aproximadamente 15 mg que comprendía PVL-co-PAVL (MW = 14760 g/mol, AVL al 13 %, VL al 87 %) con 2,5 mg de paclitaxel mediante remojo durante la noche en THF con posterior adición lenta de 50 mL de PBS que contenía Tween al 0,1 %.

Las macropartículas se suspendieron en PBS (Tween al 0,1 %) y se observó la velocidad de liberación. Las macropartículas liberaron 5 % de paclitaxel después de 3 horas a temperatura ambiente y aproximadamente 5 % después de 24 horas a temperatura ambiente. Se halló que la capacidad de carga fue de 1,7 % p/p y la eficacia de carga fue de 30 %.

Un segundo cilindro (se cargó con curcumina y se disolvió en THF. La cantidad de fármaco en el cilindro fue 1,176 mg (9,64 % de la capacidad). Se muestra un perfil de liberación en la Figura 21. La Figura 21 muestra que casi toda la curcumina se liberó después de aproximadamente ocho días. Sin desear limitarse a la teoría, se sugiere que la agitación mecánica (p. ej., agitación con una barra de agitación) puede afectar los parámetros de liberación de partículas de la presente descripción y provocar una liberación más rápida.

La Figura 22 muestra un perfil de liberación de curcumina en 20 días a partir de una macropartícula de 13 mg y 12 mg.

Dos cilindros (se cargaron con hexacetónido de triamcinolona y se disolvieron en THF. La cantidad de fármaco en el primer cilindro (etiquetado con un círculo) fue 1,118 mg (9,12 % de la capacidad) y la cantidad de fármaco en el segundo cilindro (etiquetado con una "X") fue 0,901 (11,651 % de la capacidad). Se muestra un perfil de liberación de ambos cilindros en la Figura 23. La Figura 23 muestra que el perfil de liberación para ambos cilindros es muy similar, y que aproximadamente 60 % del fármaco total se liberó después de aproximadamente 6 días.

La Figura 24 muestra un perfil de liberación de hexacetónido de triamcinolona en 20 días a partir de una macropartícula de 13,3 mg y 9,2 mg.

La Figura 25 muestra una comparación de los perfiles de liberación de curcumina, hexacetónido de triamcinolona (TAH), acetónido de triamcinolona (TAA) y paclitaxel (PTX).

Ejemplo 12 — Fotolitografía de micropartículas

Se fabricaron micropartículas con una plantilla maestra de silicio con sujetadores cilíndricos de 10 µm que sirve como el inverso de una plantilla de gelatina degradable (es decir, los sujetadores pueden controlar el tamaño de los pocillos. Los pocillos en una plantilla de gelatina se cargaron con disolución de polímero, se reticularon y se recogieron. Las partículas resultantes tenían una distribución de tamaño homogénea. La Figura 26 muestra una microfotografía de ejemplo de la plantilla de fotolitografía (G. Acharyo; Journal of Controlled Release 141; 2010; págs. 314-319).

Ejemplo 13 — Método de plantilla de hidrogel de gelatina para fotolitografía

Etapa 1 — Preparación de la plantilla

Se vertieron 5 mL de disolución de gelatina al 30 % (p/v) tibia sobre una plantilla de silicio sujetada. La disolución y la plantilla se enfriaron en un refrigerador durante cinco minutos. La plantilla se desprendió del molde de gelatina para producir un molde de gelatina con pocillos individuales.

Etapa 2 — Preparación de micropartículas

Se extendieron 100 µL de PAVL-PVL al 20 % en diclorometano sobre la plantilla junto con 1,6-hexanoditiol y DPMA al 20 % (por grupo alilo). La plantilla y la mezcla de polímeros se cubrieron con una lámina de vidrio y se irradiaron con luz UV (365 nm) durante diez minutos sobre hielo. Se retiró la lámina de vidrio y el disolvente se evaporó. La plantilla se disolvió en agua y las micropartículas se recogieron mediante centrifugación.

La Figura 27A muestra una plantilla de gelatina con sujetadores bajo un microscopio. Las Figuras 27B y 27C muestran imágenes de microscopio de micropartículas preparadas mediante el método indicado anteriormente.

Ejemplo 14 — Estabilidad y caracterización de micropartículas.

Se evaluaron partículas de la presente descripción al usar calorimetría diferencial de barrido (DSC). Las partículas comprendían PVL-co-PAVL (MW = 6700 g/mol, AVL al 19 %, VL al 81 %). La Figura 28 muestra gráficas de DSC de micropartículas con diferentes grados de reticulación. Las gráficas de DSC midieron la entalpía de fusión ($\Delta°H_m$) de partículas liofilizadas durante cuatro días. La Figura 28A muestra una gráfica de DSC de una micropartícula testigo sin reticulación y muestra una cristalinidad relativamente alta. La Figura 28B muestra una gráfica de DSC de una micropartícula con 50 % de reticulación. La gráfica de DSC muestra cristalinidad relativamente baja. La Figura 28C muestra una gráfica de DSC de una micropartícula con 100 % de reticulación. La gráfica de DSC muestra una cristalinidad incluso más baja que las partículas reticuladas al 50 %.

De manera similar, la Figura 29 muestra gráficas de DSC de micropartículas con diferentes grados de reticulación. Las gráficas de DSC midieron la entalpía de fusión ($\Delta°H_m$) de partículas liofilizadas durante cuatro días. La Figura 29A muestra una gráfica de DSC de una micropartícula testigo sin reticulación (es decir, solo se analiza la cadena principal de polímero). La Figura 29B muestra una gráfica de DSC de una micropartícula con 50 % de reticulación. La gráfica de DSC muestra cristalinidad baja. La Figura 29C muestra una gráfica de DSC con 100 % de reticulación. La gráfica de DSC muestra cristalinidad baja. Sin desear limitarse a la teoría, la cristalinidad baja del fármaco puede ayudar a facilitar la liberación mediada por difusión.

La marca media muestra una marca de micropartículas de PAVL al 10 %. El peso molecular promedio en número (Mn) fue 12.000 y el peso molecular promedio en peso (Mw) fue 17.500. El índice de polidispersidad (PDI, por sus siglas en inglés) fue 1,45. Se halló que las partículas eran semicristalinas y se halló que la temperatura de fusión estaba entre aproximadamente 25-35 °C.

La marca superior muestra una marca de micropartículas de PAVL al 8 %. El peso molecular promedio en número (Mn) fue 32.700 y el peso molecular promedio en peso (Mw) fue 50.000. El índice de polidispersidad (PDI) fue 1,55. Se halló que las partículas eran una goma amorfa.

Ejemplo 15 — Eficacia de partículas contra tumores en ratones

Se implantaron células de glioma GL261 en la extremidad posterior de ratones lampiños y se trataron con el péptido GIRLRG etiquetado de manera fluorescente y radiación diaria de 3 Gy durante 3 días. Los ratones se trataron de manera similar con taxol sistémico, partículas peptídicas testigo cargadas con taxol, micropartículas dirigidas cargadas con taxol y partículas no marcadas.

Ejemplo 16 — Preparación de partículas mediante reticulación con tetrazina-*trans*-ciclooctено

Se disuelven polivalerolactona (PVL; 50 mg) y poli(*trans*-ciclooctено)valerolactona (P^{t}COVL; 50 mg (6700 g/mol; 19 % de (*trans*-ciclooctено)valerolactona y 81 % de valerolactona)) y hexanodi-tetrazina (1 grupo tetrazina por *trans*-ciclooctено) en 1 mL de diclorometano. La disolución se agrega por goteo a 20 mL de agua que contiene alcohol polivinílico al 5 %. La mezcla se homogeneiza con agitación (es decir, un homogeneizador mecánico Polytron® a 22.000 rpm) durante cinco minutos. La mezcla homogeneizada se agita durante aproximadamente 12-48 horas adicionales.

La mezcla después se centrifuga a 4000 rpm a 10 °C durante 10 minutos. La disolución acuosa que contiene alcohol polivinílico se retira por vertido y las partículas se enjuagan con agua destilada. Las partículas después se centrifugan y enjuagan con agua como anteriormente tres veces más.

Ejemplo 17 — Formación de micropartículas mediante electropulverización

Se disuelven polialilvalerolactona (PAVL; 100 mg (6700 g/mol; 19 % de alilvalerolactona y 81 % de valerolactona)) y hexanoditiol (1 grupo -SH por alqueno) en 1 mL de diclorometano. Se agrega 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA; 0,2 equivalentes por alqueno) y la disolución se pulveriza sobre un baño de 20 mL de agua que contiene alcohol polivinílico al 5 % al usar un electropulverizador. Las gotículas electropulverizadas y la mezcla homogeneizada se irradian a 365 nm — 4 mW con agitación durante 30 minutos.

La mezcla se agita durante 3 horas para permitir que el diclorometano se evapore. La mezcla después se centrifuga a 4000 rpm a 10 °C durante 10 minutos. La disolución acuosa que contiene alcohol polivinílico se retira por vertido y las partículas se enjuagan con agua destilada. Las partículas después se centrifugan y enjuagan con agua como anteriormente tres veces más.

Las partículas después se dispersan en DMSO y se centrifugan a 4000 rpm a 20 °C durante diez minutos. El DMSO se retira por vertido y el proceso se repite otras dos veces.

Ejemplo 18 — Formación de micropartículas mediante secado por pulverización

Se disuelven polialilvalerolactona (PAVL; 100 mg (6700 g/mol; 19 % de alilvalerolactona y 81 % de valerolactona)) y hexanoditiol (1 grupo -SH por alqueno) en 1 mL de diclorometano. Se agrega 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (DMPA; 0,2 equivalentes por alqueno) y la disolución se pulveriza sobre un baño de 20 mL de agua que contiene alcohol polivinílico al 5 % al usar un electropulverizador. Las gotículas secadas por pulverización y la mezcla homogeneizada se irradian a 365 nm — 4 mW con agitación durante 30 minutos.

La mezcla se agita durante 3 horas para permitir que el diclorometano se evapore. La mezcla después se centrifuga a 4000 rpm a 10 °C durante 10 minutos. La disolución acuosa que contiene alcohol polivinílico se retira por vertido y las partículas se enjuagan con agua destilada. Las partículas después se centrifugan y enjuagan con agua como anteriormente tres veces más.

Las partículas después se dispersan en DMSO y se centrifugan a 4000 rpm a 20 °C durante diez minutos. El DMSO se retira por vertido y el proceso se repite otras dos veces.

REIVINDICACIONES

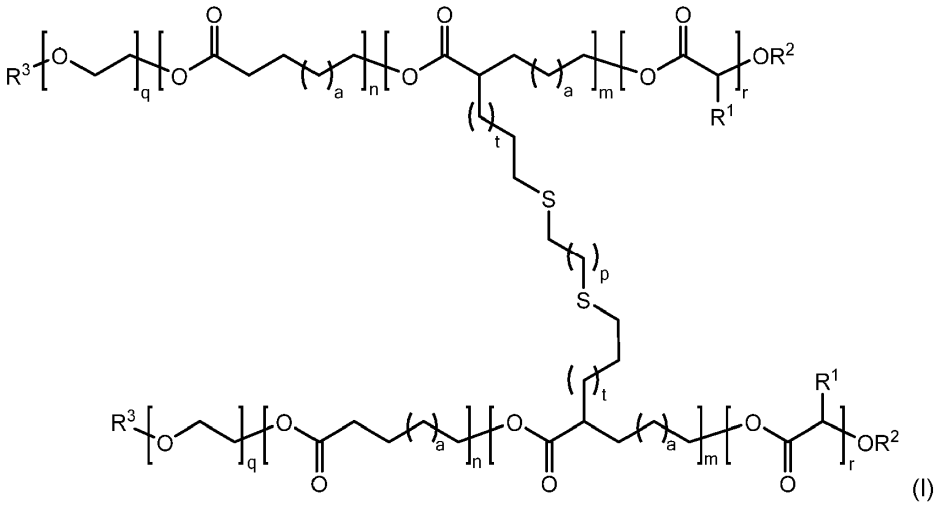
1. Un método para preparar una partícula biodegradable reticulada que comprende:

disolver cadenas principales de polivalerolactona que contienen una pluralidad de grupos alilo, un ditiol y un fotoiniciador en al menos un disolvente para formar una disolución;

emulsionar la disolución en una fase acuosa para formar una emulsión;

irradiar la emulsión con luz UV para hacer reaccionar el ditiol con dos de los grupos alilo para formar un retículo; y

evaporar al menos una porción del disolvente de la emulsión; en donde la partícula degradable reticulada comprende poliéster reticulado de la Fórmula I:



(I)

en donde:

R^1 es independientemente, en cada aparición, —H o —alquilo C_1-C_6;

R^2 es independientemente, en cada aparición, —H o —alquilo C_1-C_6;

R^3 es independientemente, en cada aparición, —H o —alquilo C_1-C_6;

a es 0, 1 o 2;

m es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 1 y 1000, inclusive;

n es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 1 y 1000, inclusive;

p es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 0 y 5, inclusive;

q es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 0 y 1000, inclusive;

r es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 0 y 1000, inclusive; y

t es independientemente, en cada aparición, un número entero entre 0 y 5, inclusive.

2. El método de la reivindicación 1, en donde las cadenas principales de polivalerolactona comprenden, además, policaprolactona, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, polialil láctido o una combinación de estos.

3. El método de cualquier reivindicación anterior, en donde el ditiol es 1,6-hexanoditiol.

4. El método de cualquier reivindicación anterior, en donde el fotoiniciador es 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona.

5. El método de cualquier reivindicación anterior, en donde el disolvente es tetrahidrofurano.

6. El método de cualquier reivindicación anterior, que comprende, además, aislar la partícula biodegradable reticulada, en donde el aislamiento comprende centrifugación.

7. El método de la reivindicación 1, en donde la partícula biodegradable reticulada tiene un diámetro de entre 5 µm y 30 µm.

8. El método de cualquier reivindicación anterior, en donde la partícula biodegradable reticulada comprende, además, un fármaco dispersado en ella.

9. El método de la reivindicación 8, en donde el fármaco se selecciona del grupo que consiste en triamcinolona, acetónido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona y paclitaxel.

10. El método de la reivindicación 8, en donde el fármaco está unido covalentemente a la partícula biodegradable reticulada.

11. El método de la reivindicación 8, en donde el fármaco está contenido dentro de la partícula biodegradable reticulada mediante interacciones no covalentes.

12. El método de la reivindicación 1, en donde el ditiol incluye un 1,6-hexanoditiol, el fotoiniciador incluye una 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona, el disolvente incluye tetrahidrofurano y el retículo es un tioéter.

13. El método de la reivindicación 12, en donde la partícula biodegradable reticulada comprende, además, un fármaco dispersado en ella, en donde el fármaco se selecciona del grupo que consiste en triamcinolona, acetónido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona y paclitaxel.

14. El método de la reivindicación 1, en donde el disolvente es diclorometano.

FIG. 1A

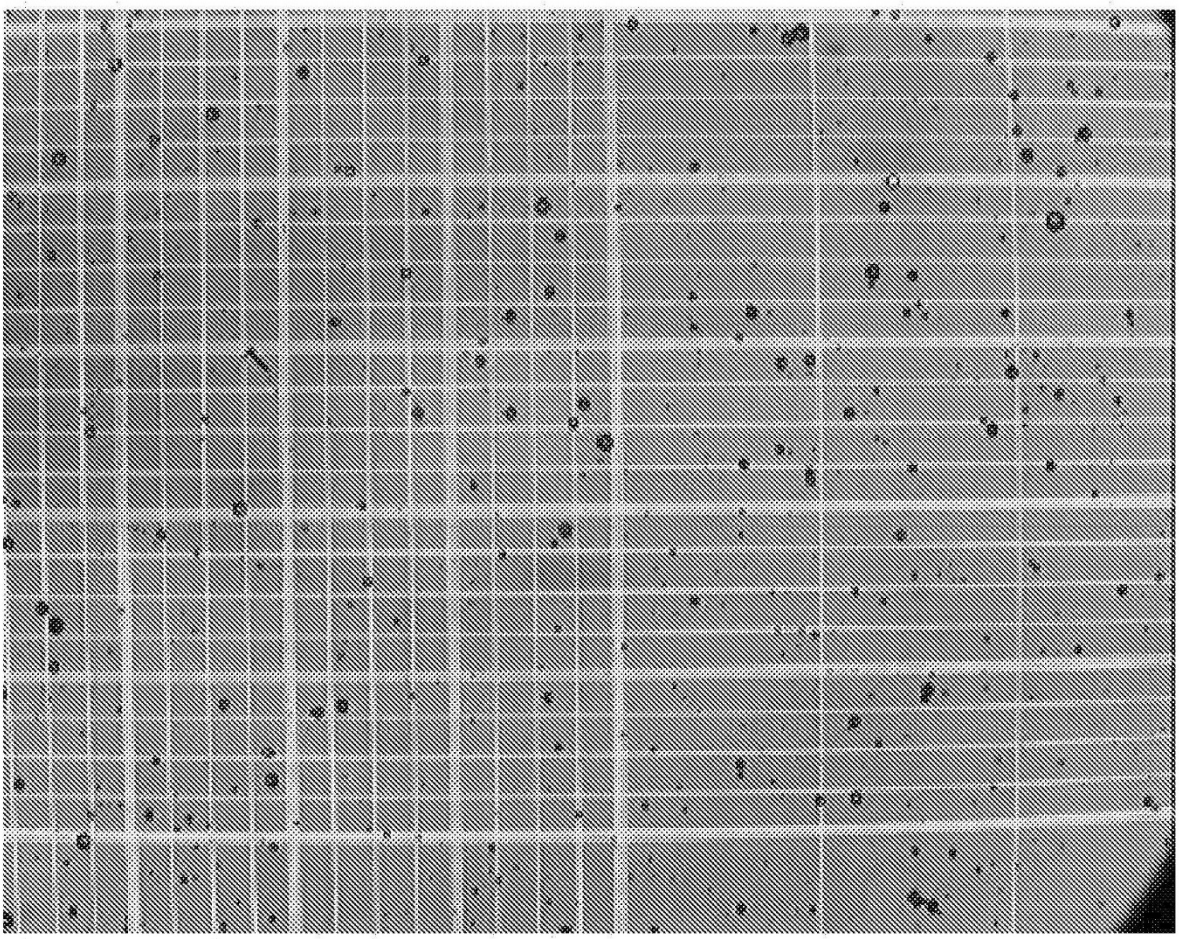


FIG. 1B

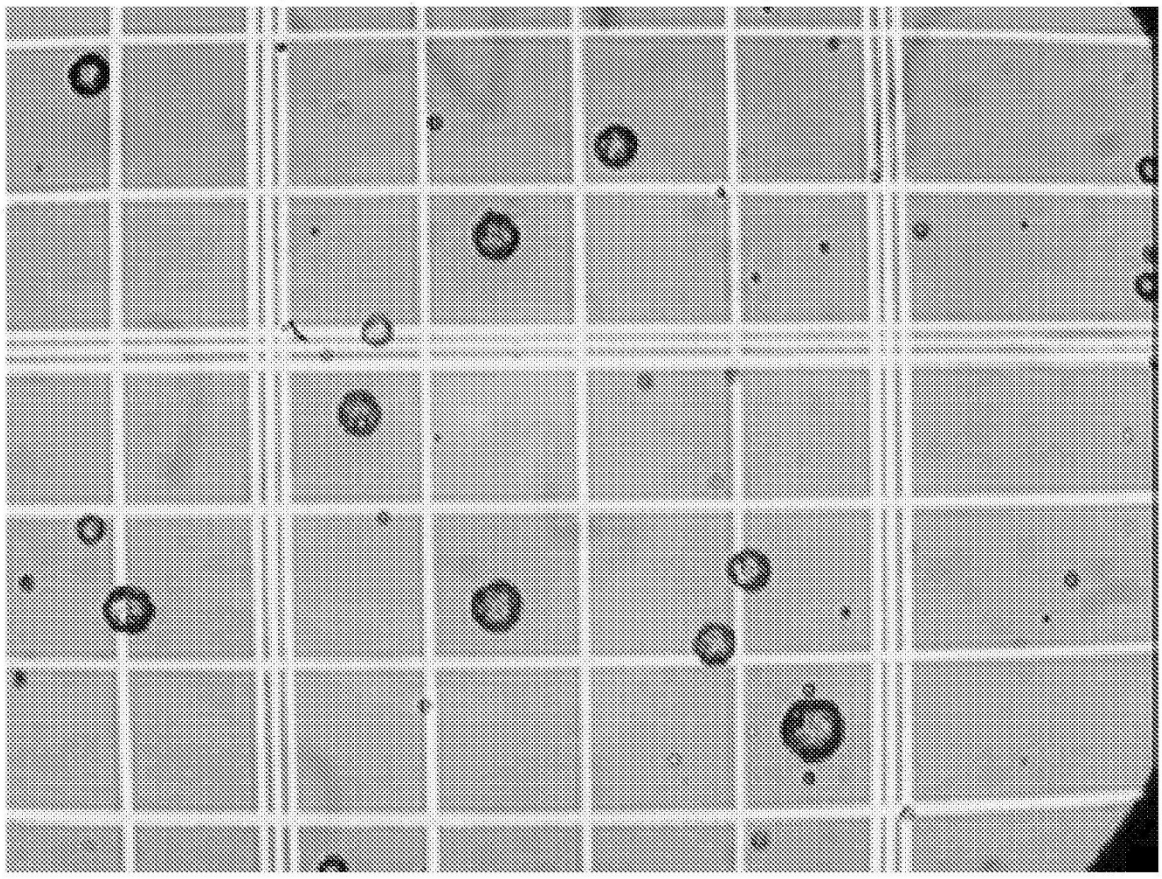


FIG. 1C

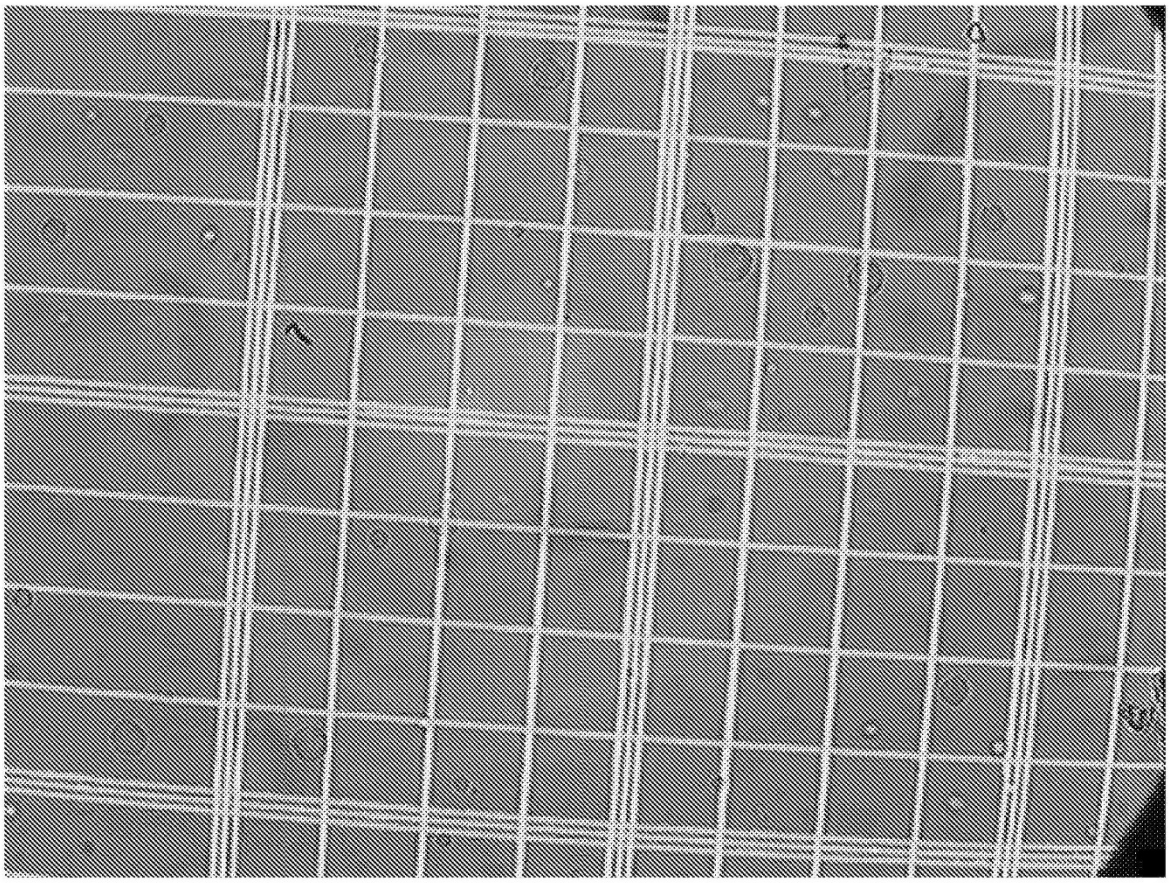


FIG. 1D

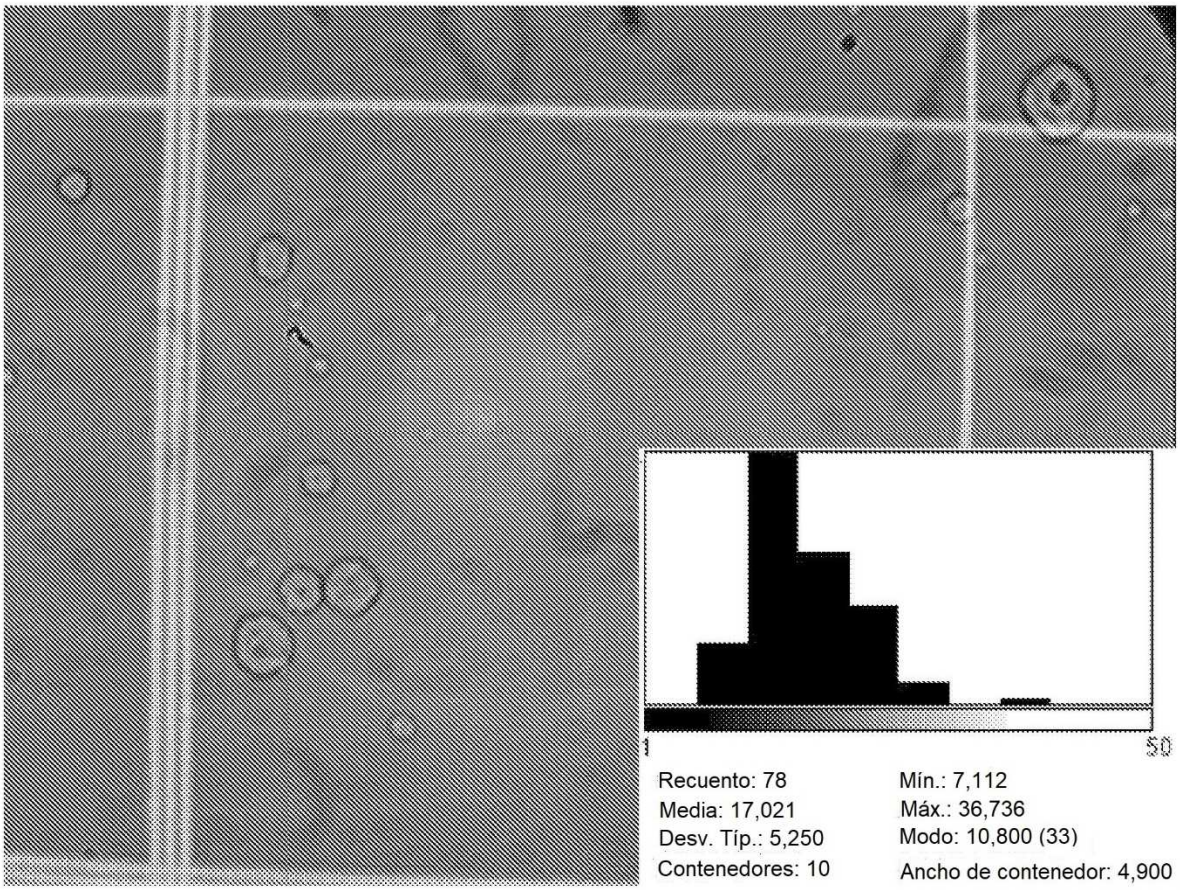

1
50
Recuento: 78
Media: 17,021
Desv. Típ.: 5,250
Contenedores: 10
Mín.: 7,112
Máx.: 36,736
Modo: 10,800 (33)
Ancho de contenedor: 4,900

FIG. 2A

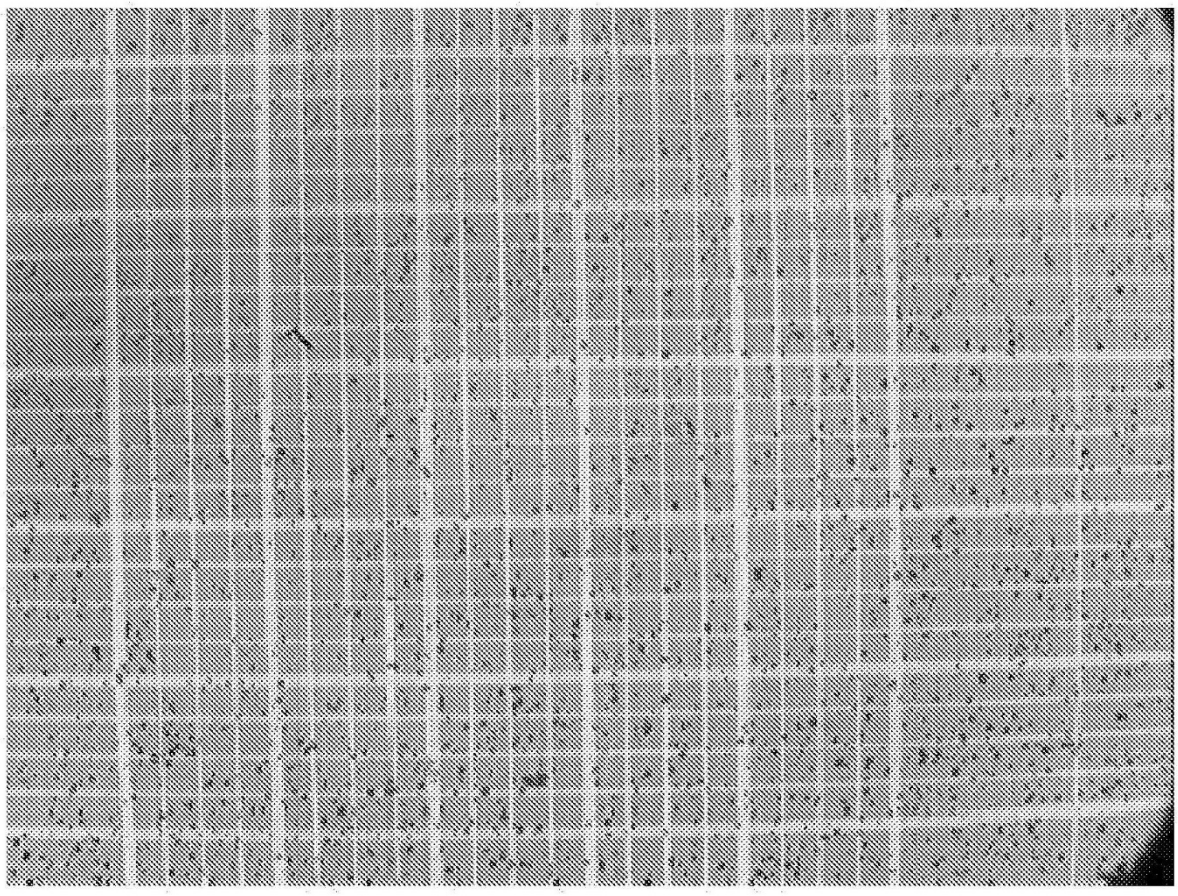


FIG. 2B

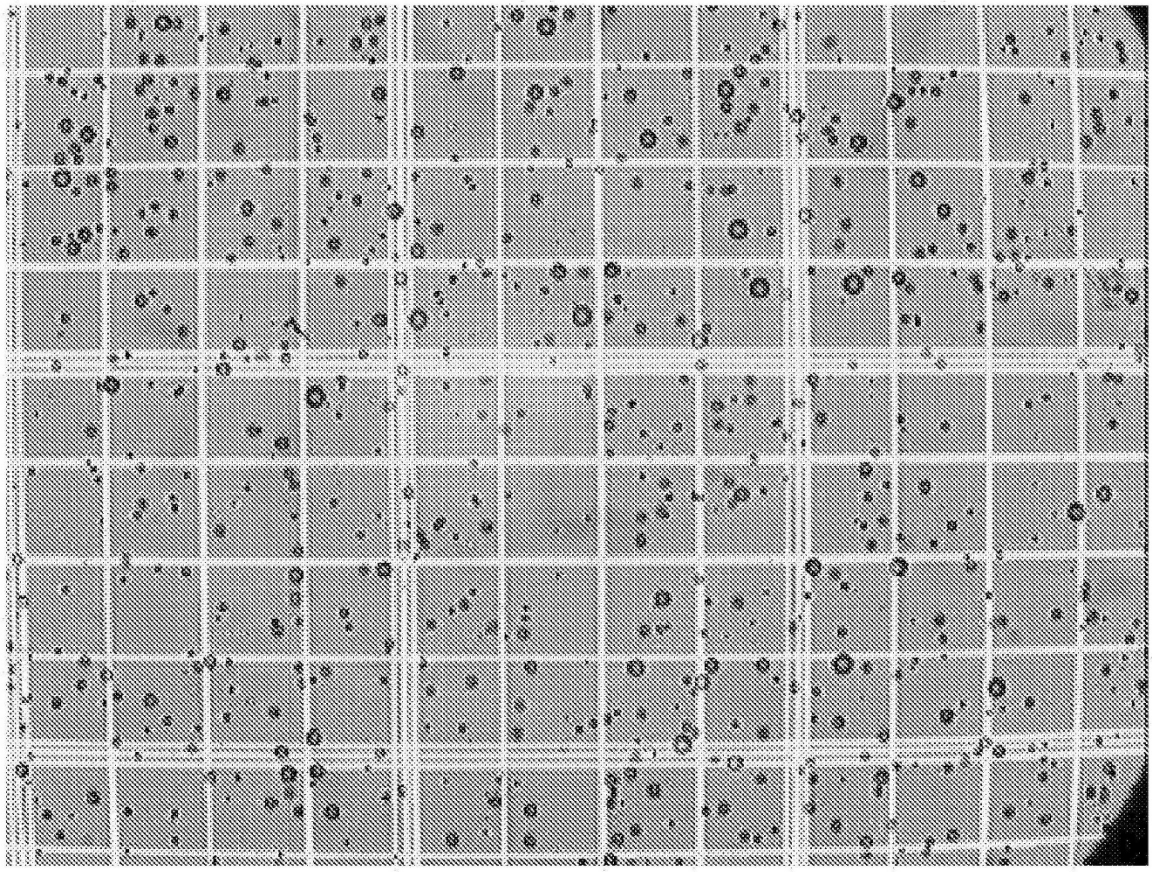


FIG. 2C

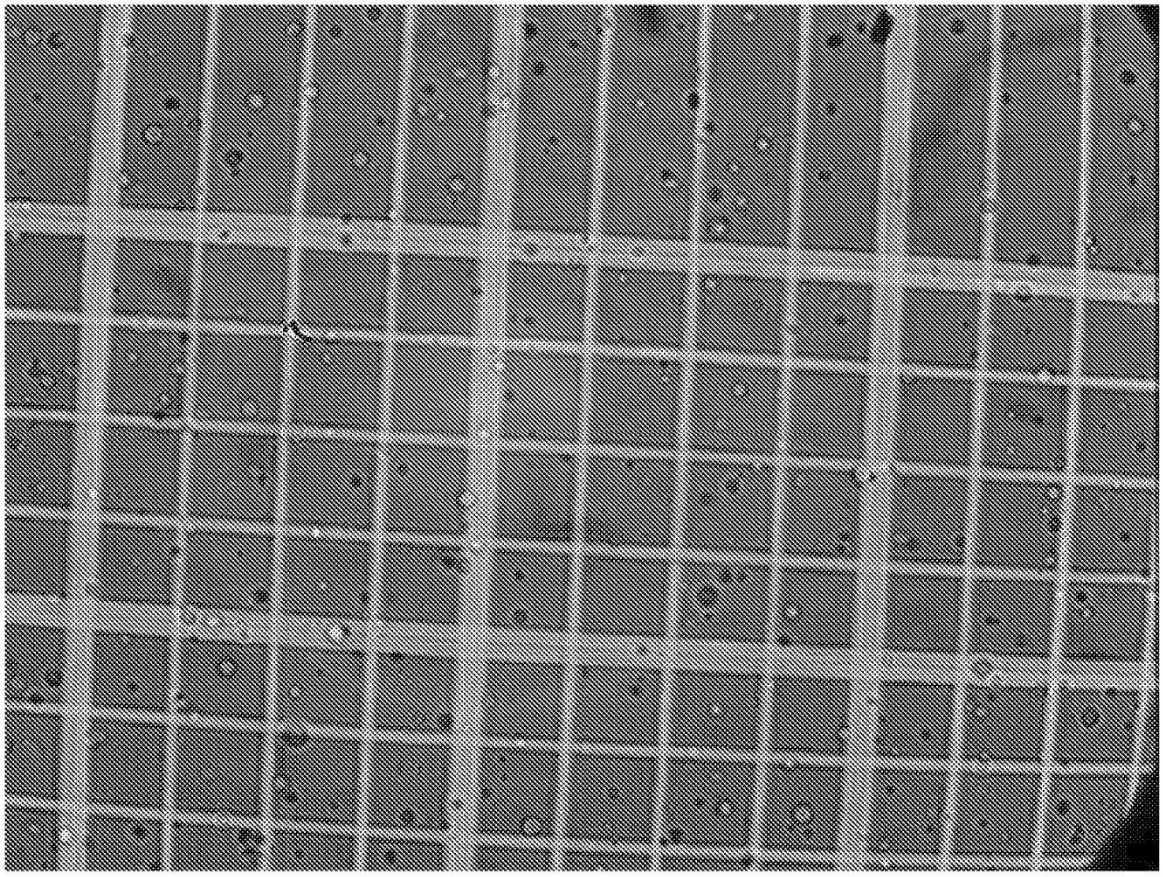


FIG. 2D

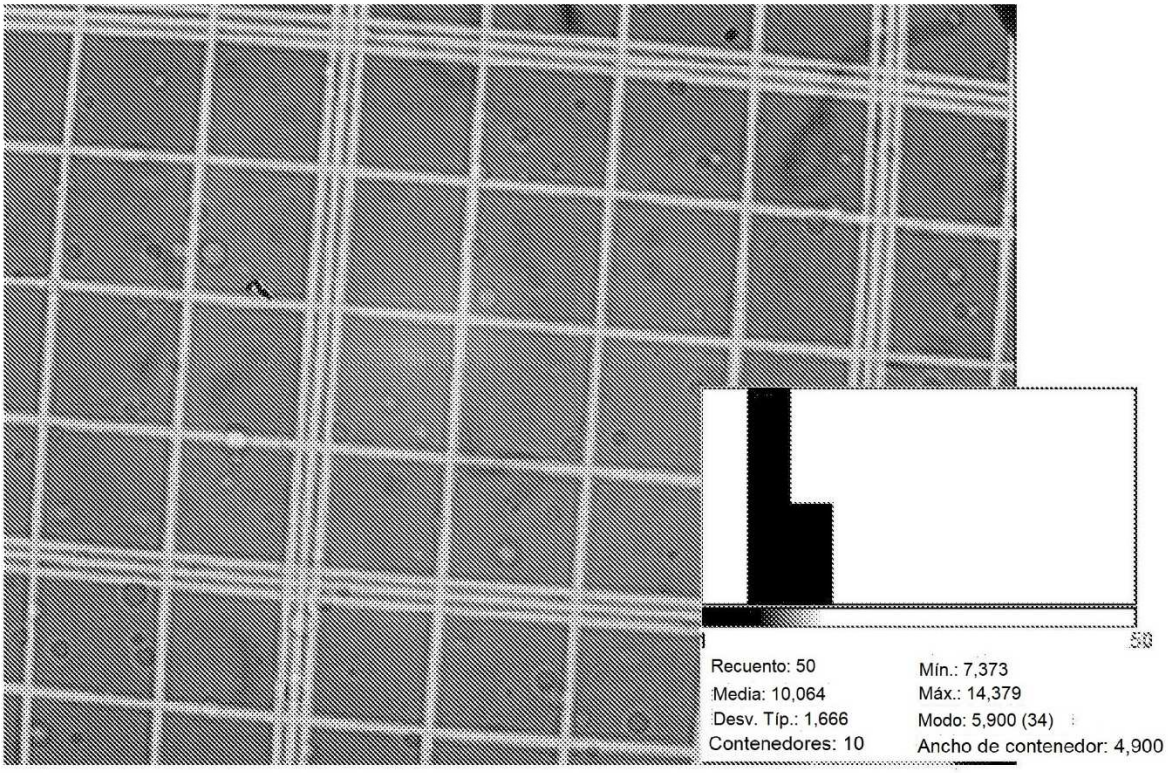

50
Recuento: 50
Media: 10,064
Desv. Típ.: 1,666
Contenedores: 10
Mín.: 7,373
Máx.: 14,379
Modo: 5,900 (34)
Ancho de contenedor: 4,900

FIG. 3A

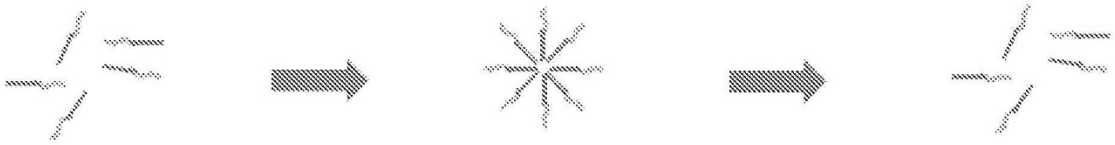


FIG. 3B

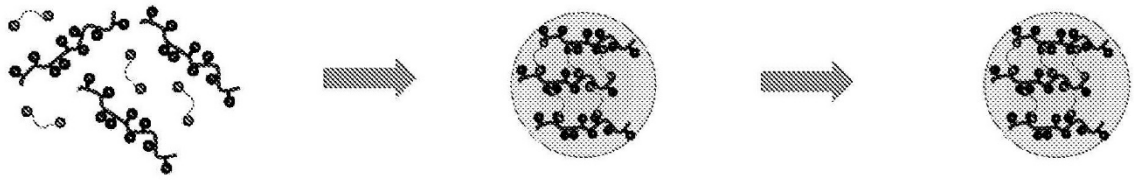


FIG. 4

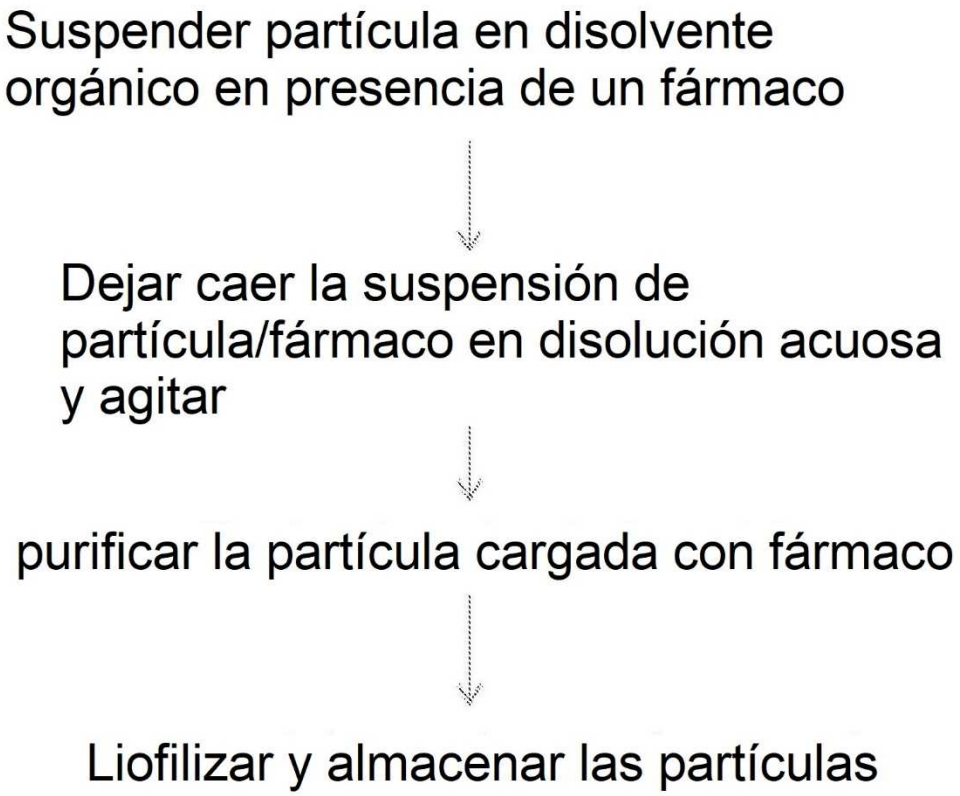

Suspender partícula en disolvente orgánico en presencia de un fármaco
Dejar caer la suspensión de partícula/fármaco en disolución acuosa y agitar
purificar la partícula cargada con fármaco
Liofilizar y almacenar las partículas

FIG. 5

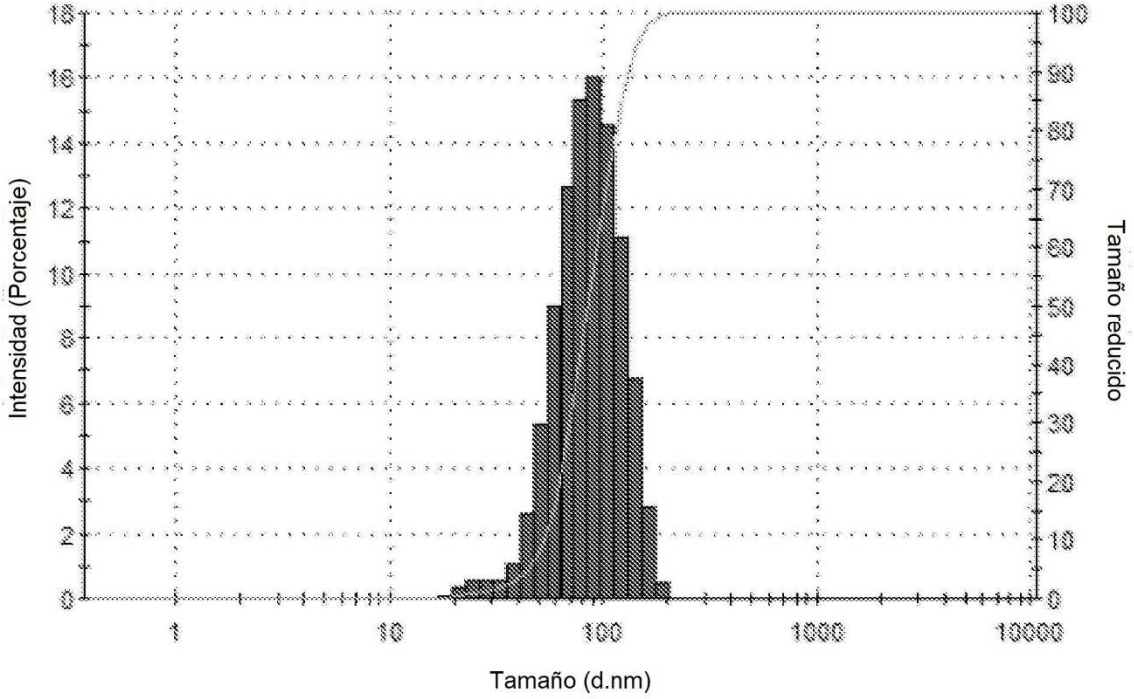

Intensidad (Porcentaje)
Tamaño reducido
Tamaño (d.nm)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
1
10
100
1000
10000

FIG. 6

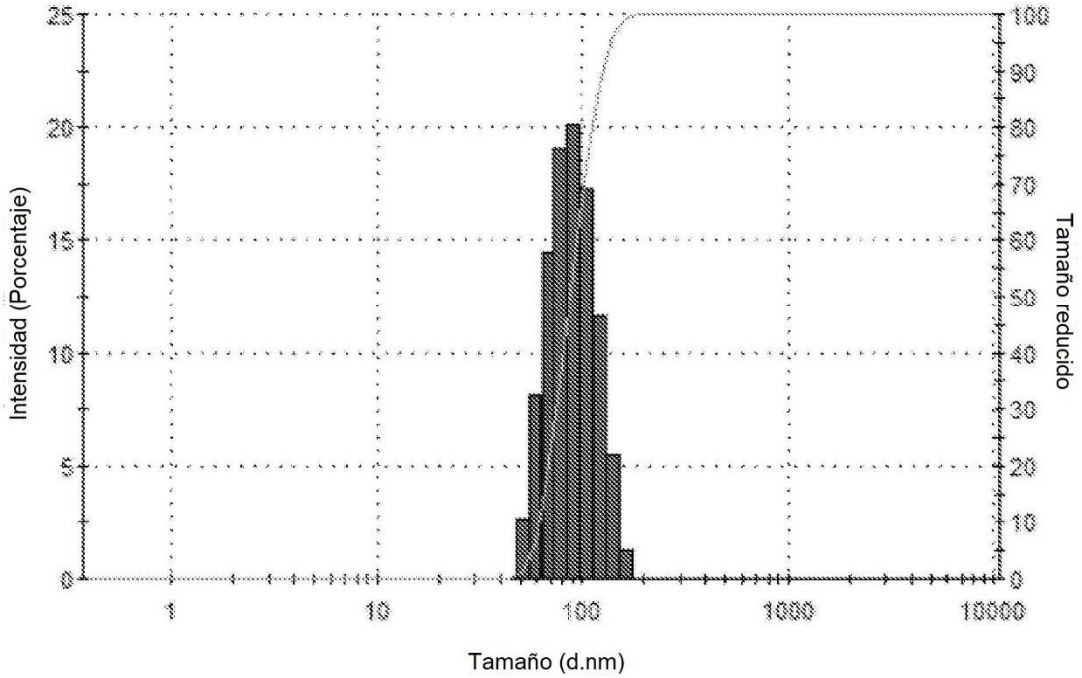

Intensidad (Porcentaje)
Tamaño reducido
Tamaño (d.nm)
25
20
15
10
5
0
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
10
100
1000
10000

FIG. 7

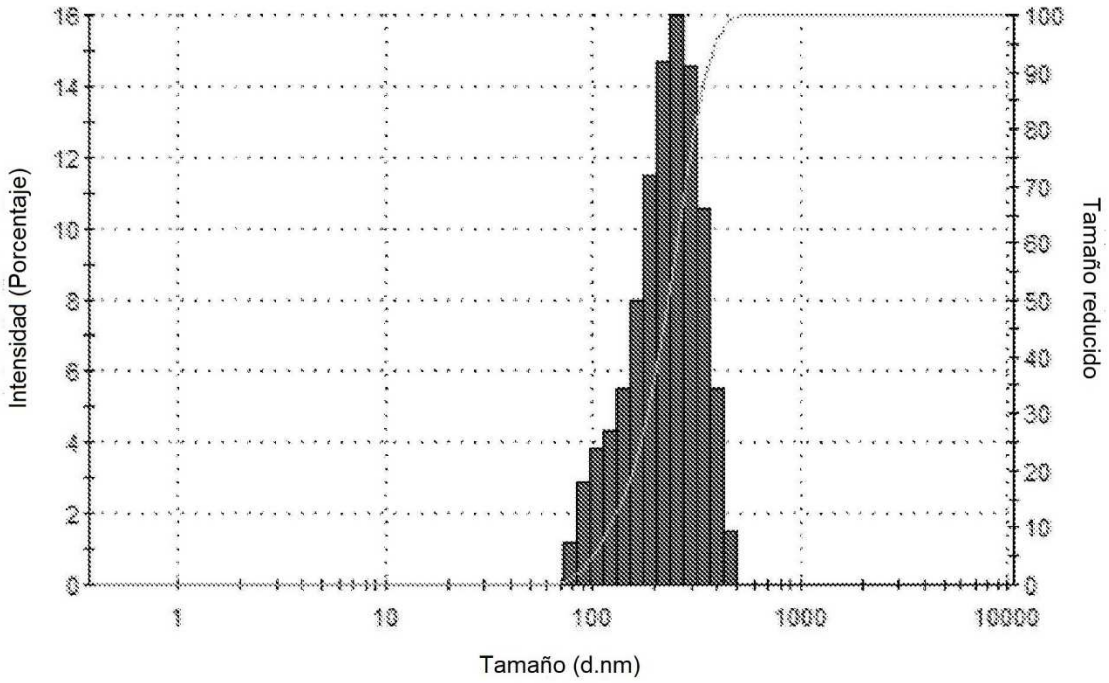

Intensidad (Porcentaje)
Tamaño reducido
Tamaño (d.nm)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
1
10
100
1000
10000

FIG. 8

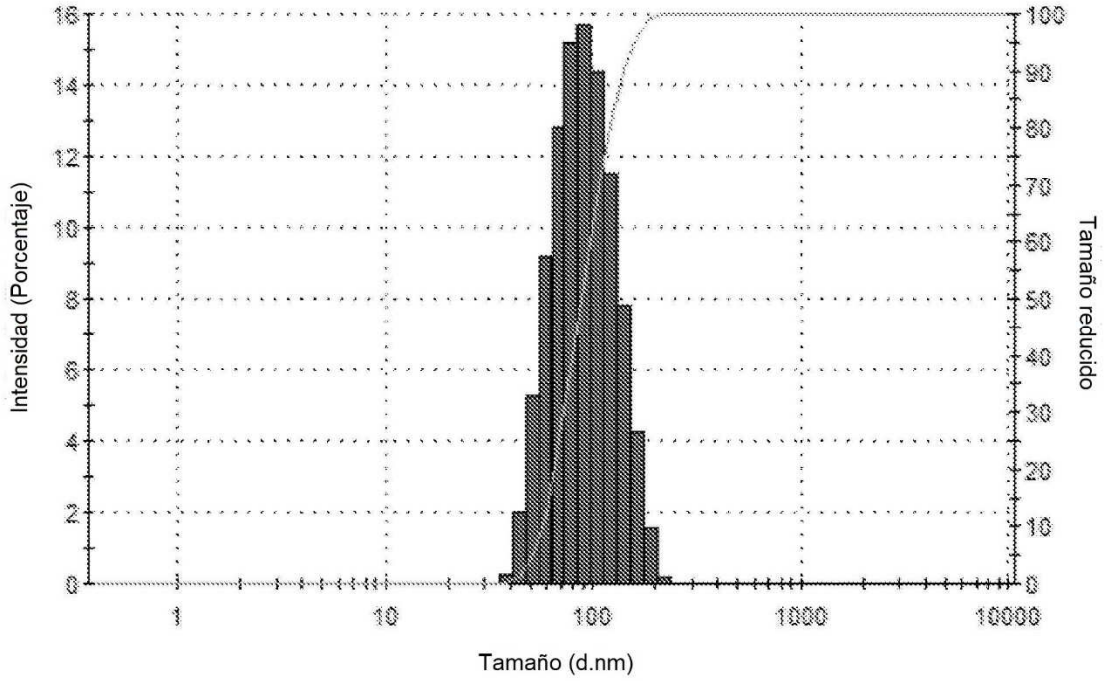

Intensidad (Porcentaje)
Tamaño reducido
Tamaño (d.nm)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
1
10
100
1000
10000

FIG. 9A

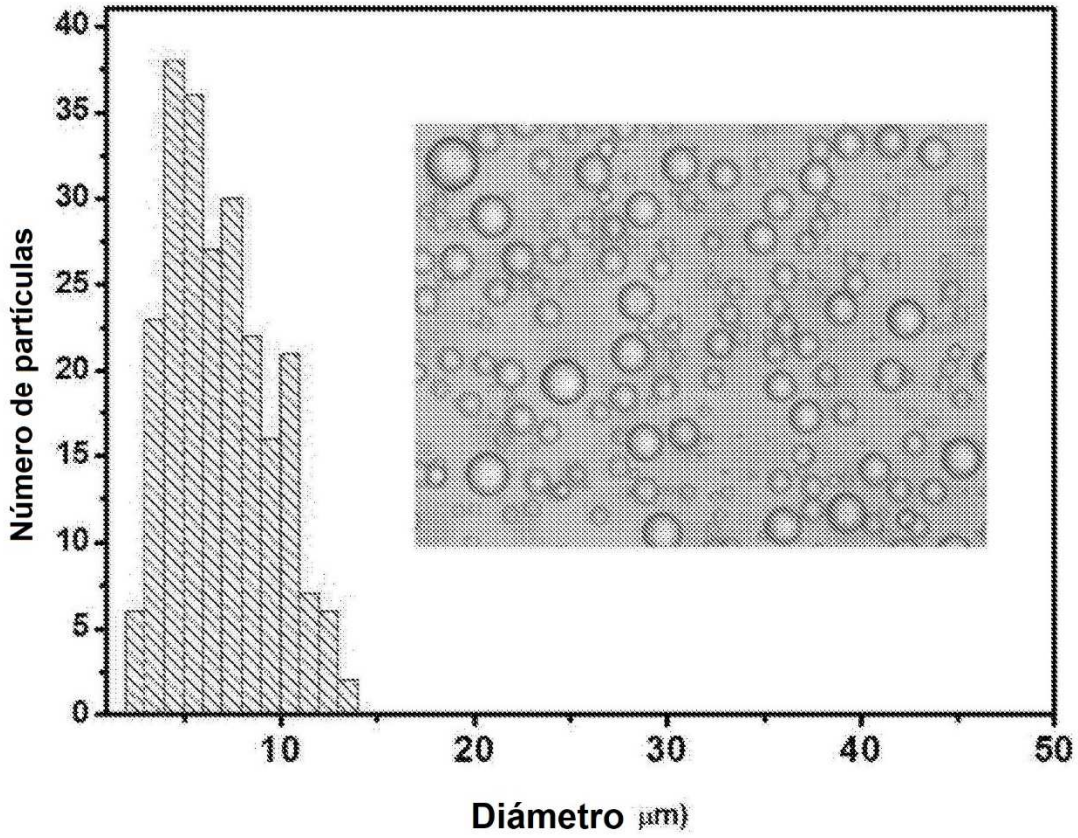

Número de partículas
0
5
10
15
20
25
30
35
40
10
20
30
40
50
Diámetro (μm)

FIG. 9B

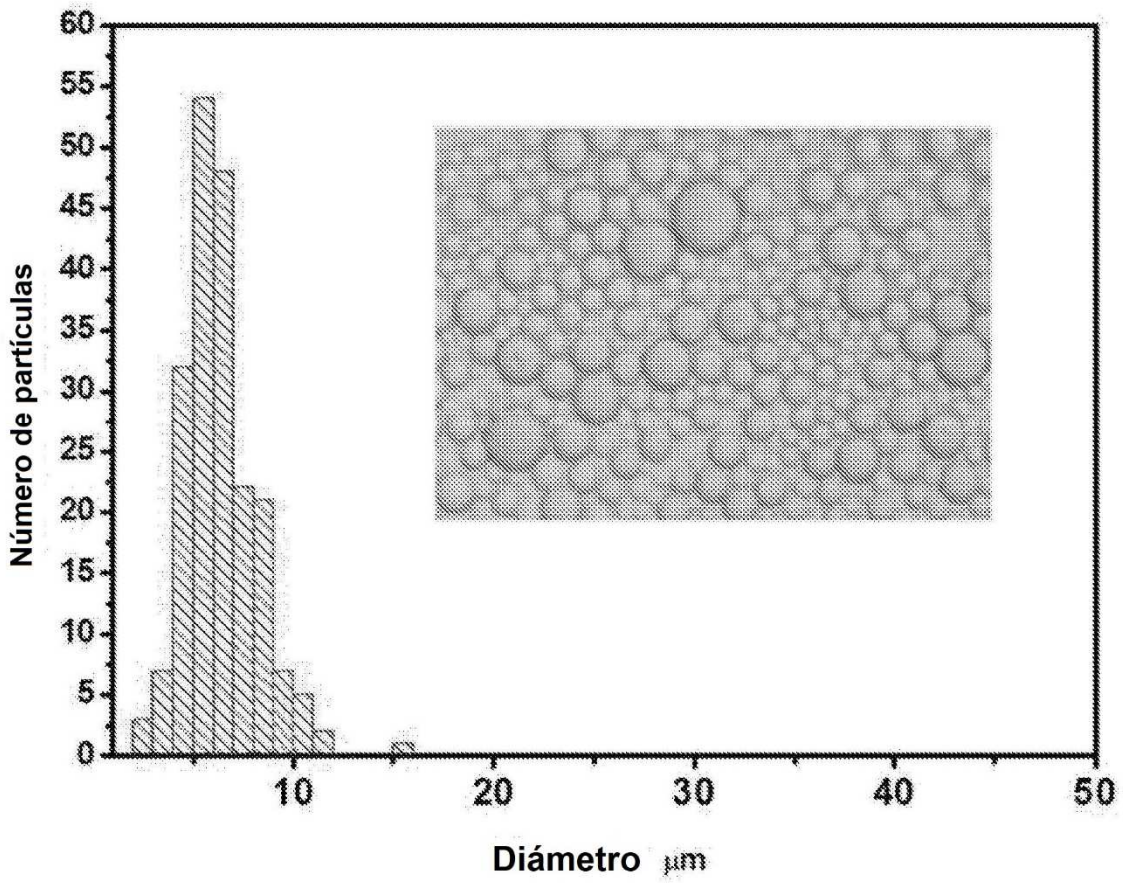

Número de partículas
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
10
20
30
40
50
Diámetro μm

FIG. 9C

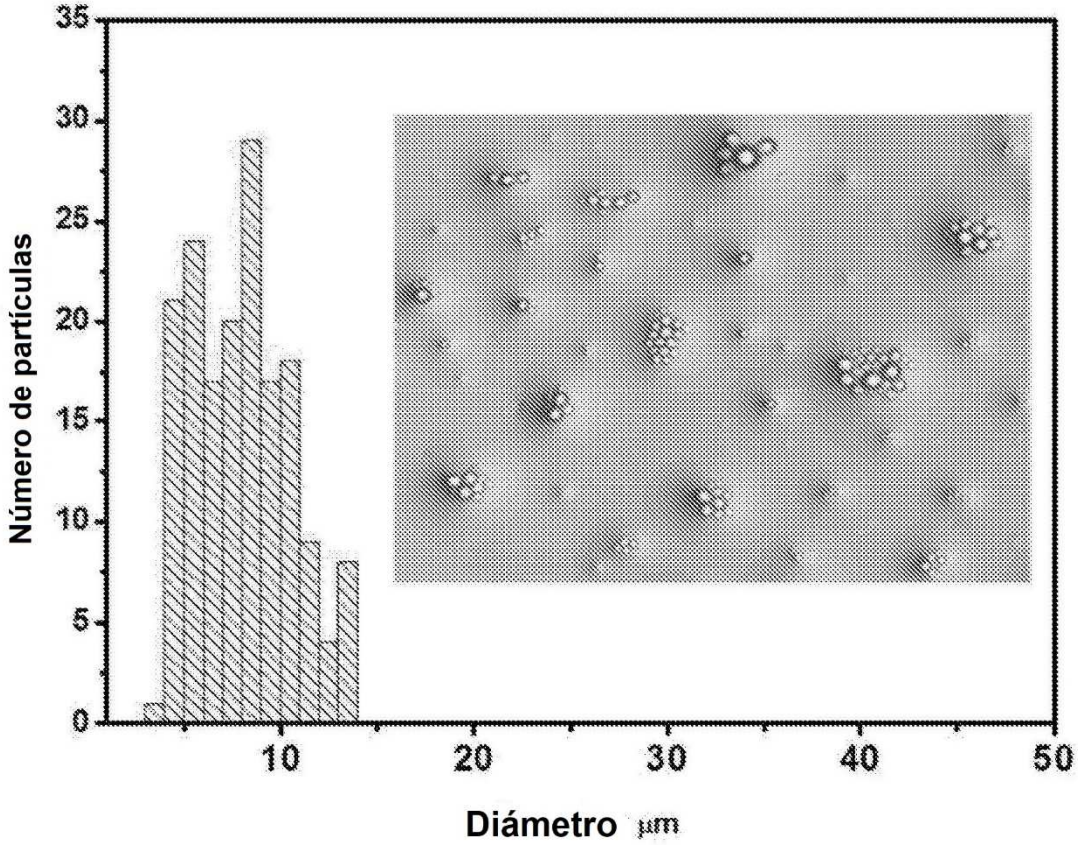

Número de partículas
0
5
10
15
20
25
30
35
10
20
30
40
50
Diámetro µm

FIG. 9D

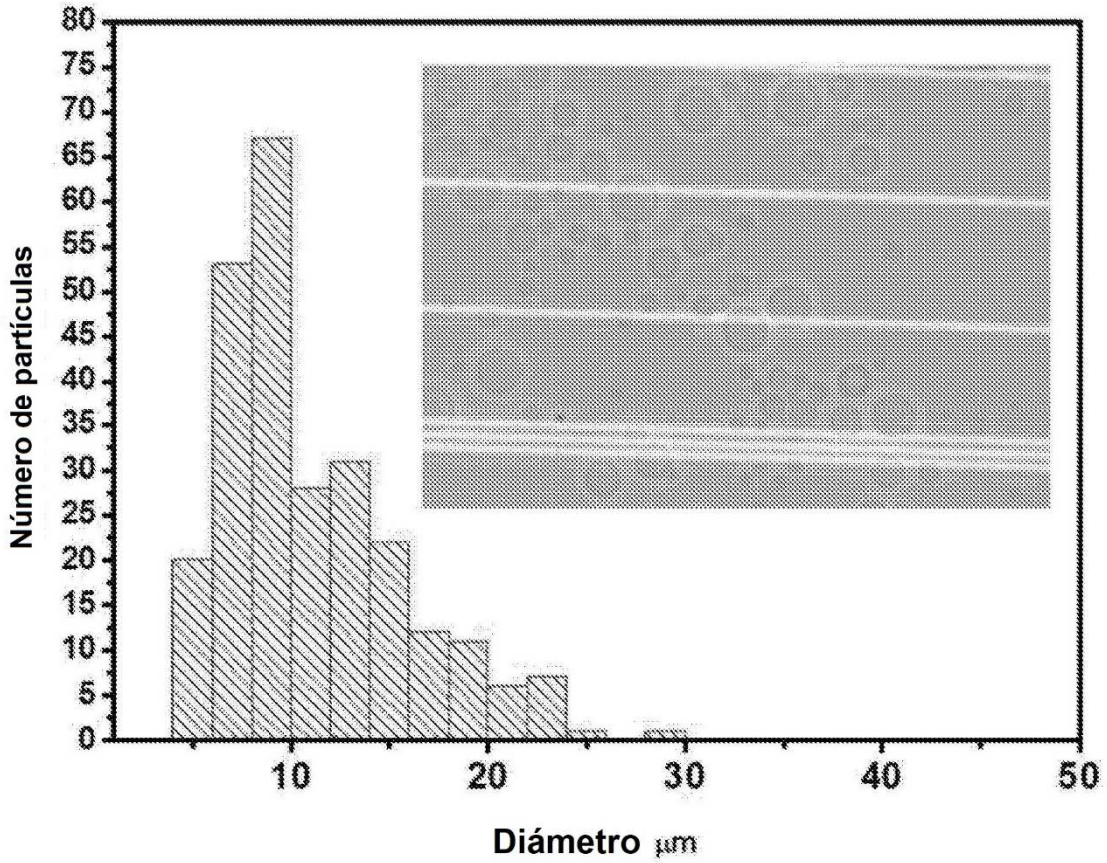

Número de partículas
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
70
75
80
10
20
30
40
50
Diámetro μm

FIG. 10A

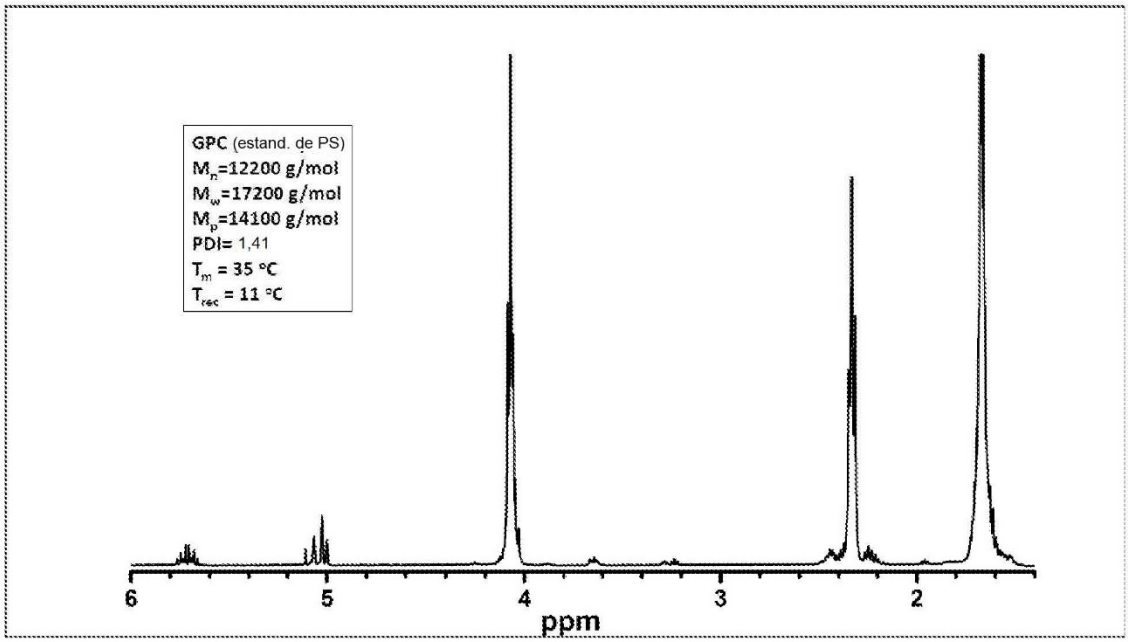

GPC (estand. de PS)
M_n=12200 g/mol
M_w=17200 g/mol
M_p=14100 g/mol
PDI= 1,41
T_m = 35 °C
T_{rec} = 11 °C
6
5
4
3
2
ppm

FIG. 10B

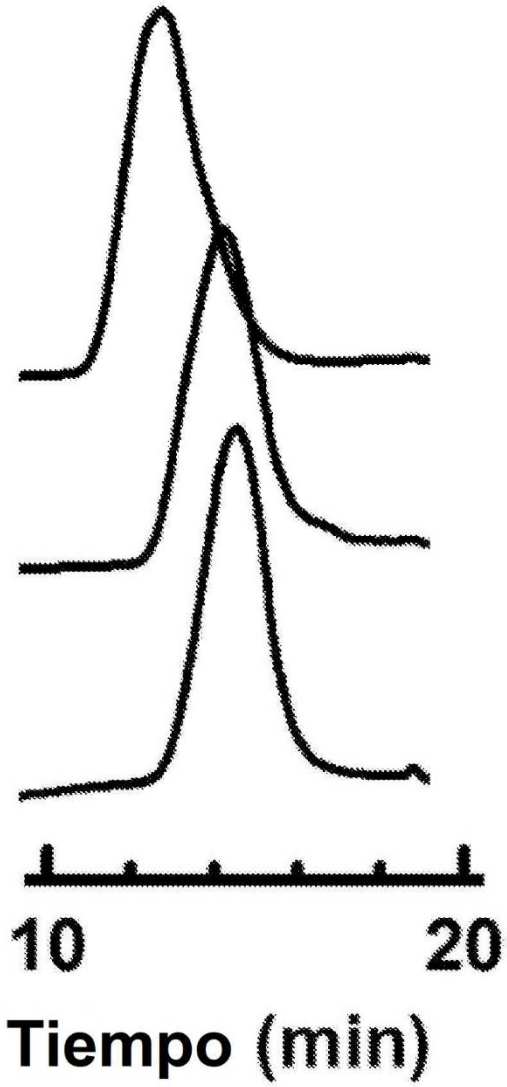


FIG. 11A

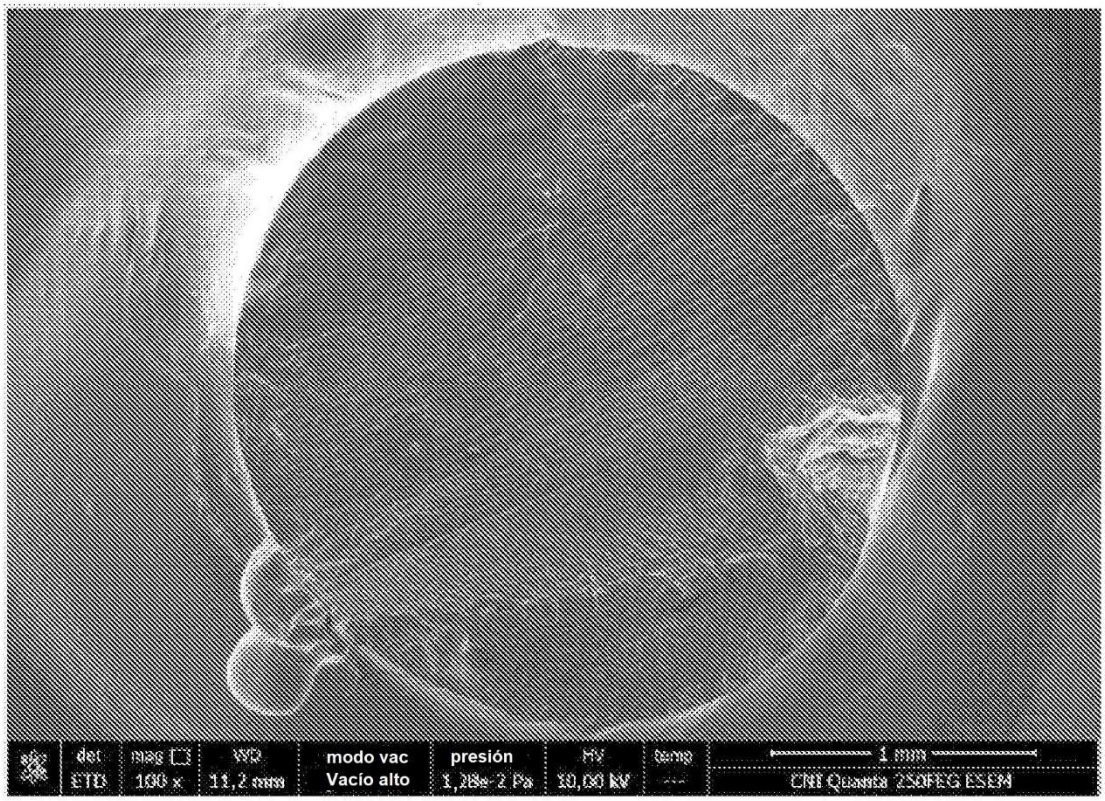

det
ETD
mag
100 x
WD
11,2 mm
modo vac
Vacío alto
presión
1,28e-2 Pa
HV
10,00 kV
temp
1 mm
CNT Quanta 250FEG ESEM

FIG. 11B

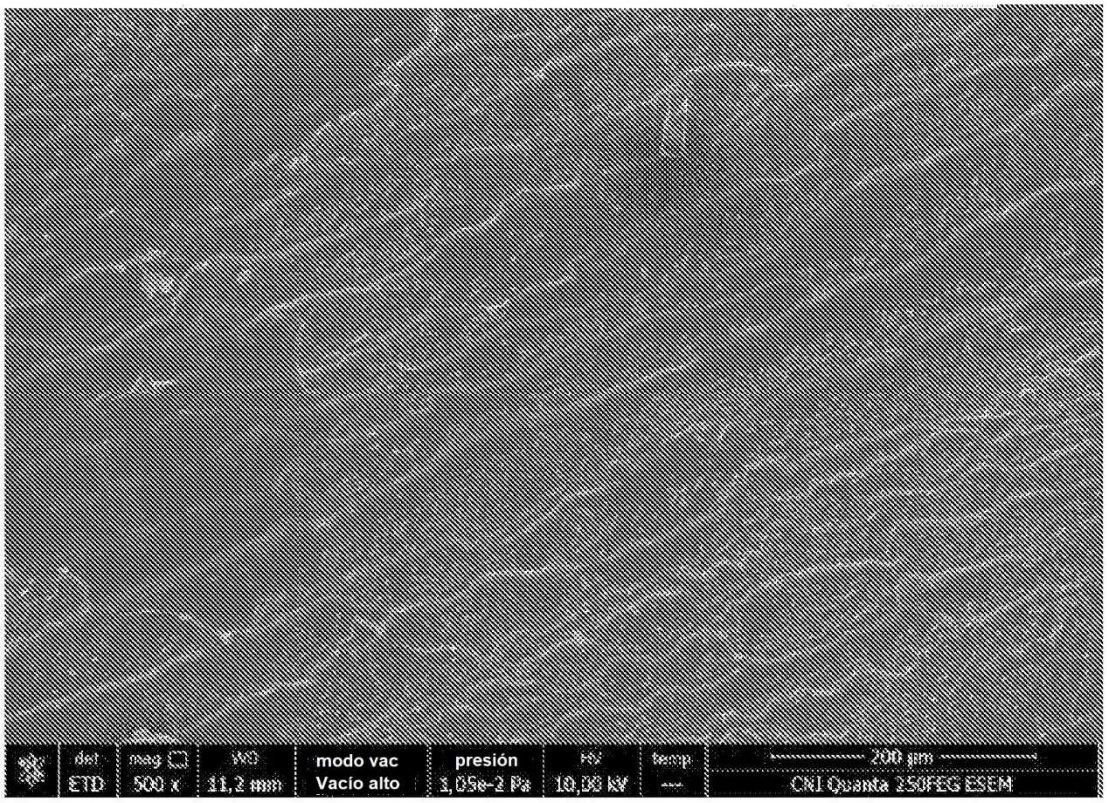

det
ETD
mag
500 x
WD
11,2 mm
modo vac
Vacío alto
presión
1,05e-2 Pa
HV
10,00 kV
temp
---
200 µm
CNI Quanta 250FEG ESEM

FIG. 11C

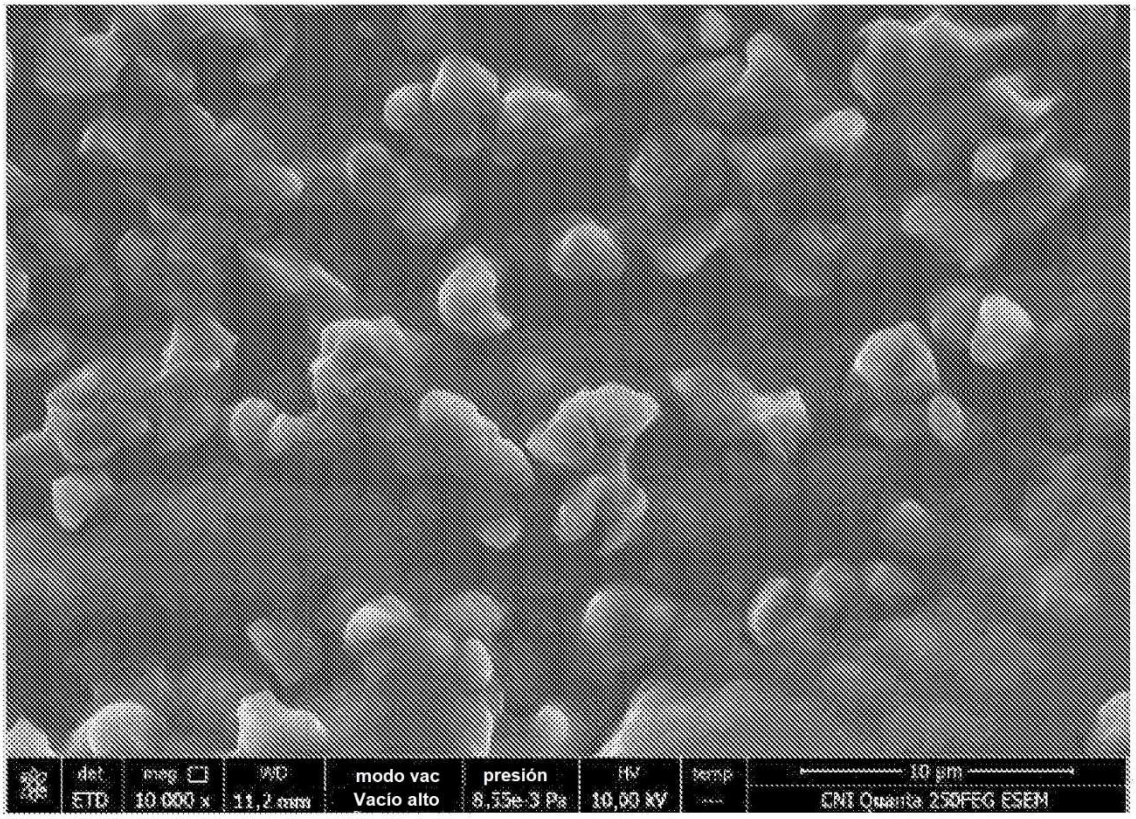

det
ETD
mag
10 000 x
WD
11,2 mm
modo vac
Vacío alto
presión
8,55e-3 Pa
HV
10,00 kV
temp
10 µm
CNI Quanta 250FEG ESEM

FIG. 11D

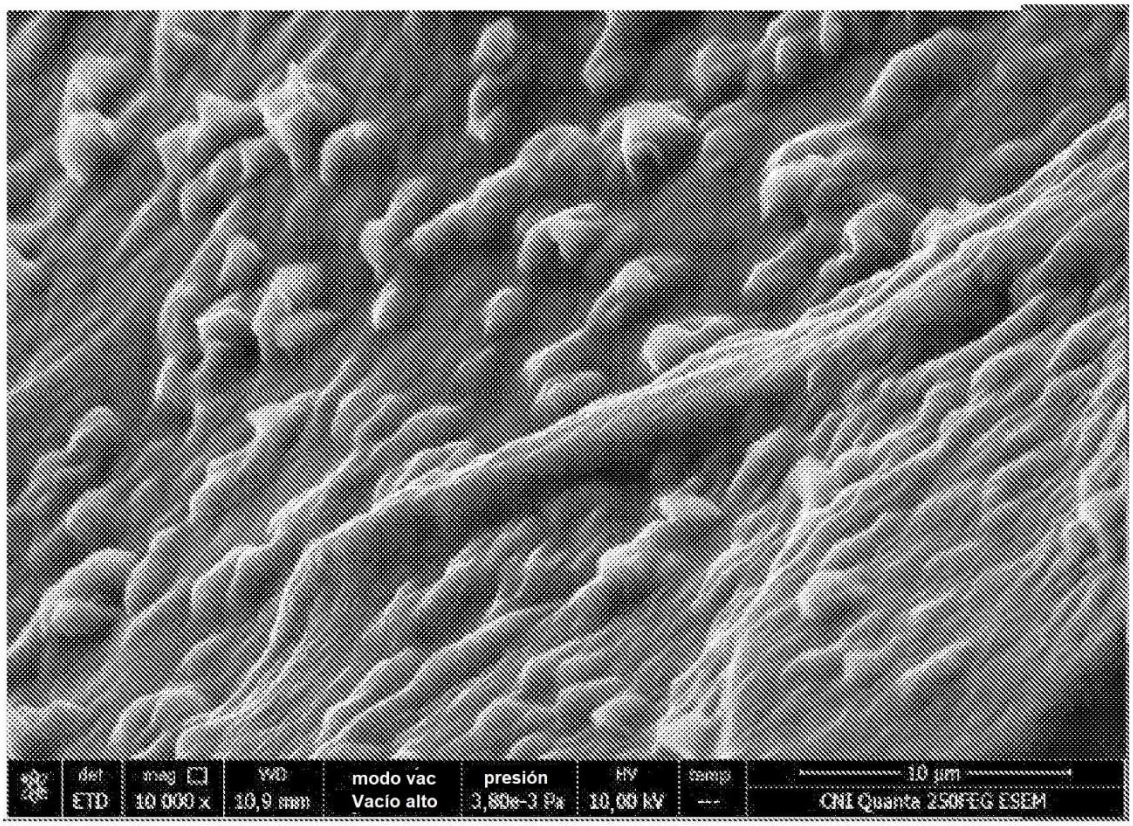

det
ETD
mag
10 000 x
WD
10,9 mm
modo vac
Vacío alto
presión
3,80e-3 Pa
HV
10,00 kV
comp
---
10 µm
CNI Quanta 250FEG ESEM

FIG. 12

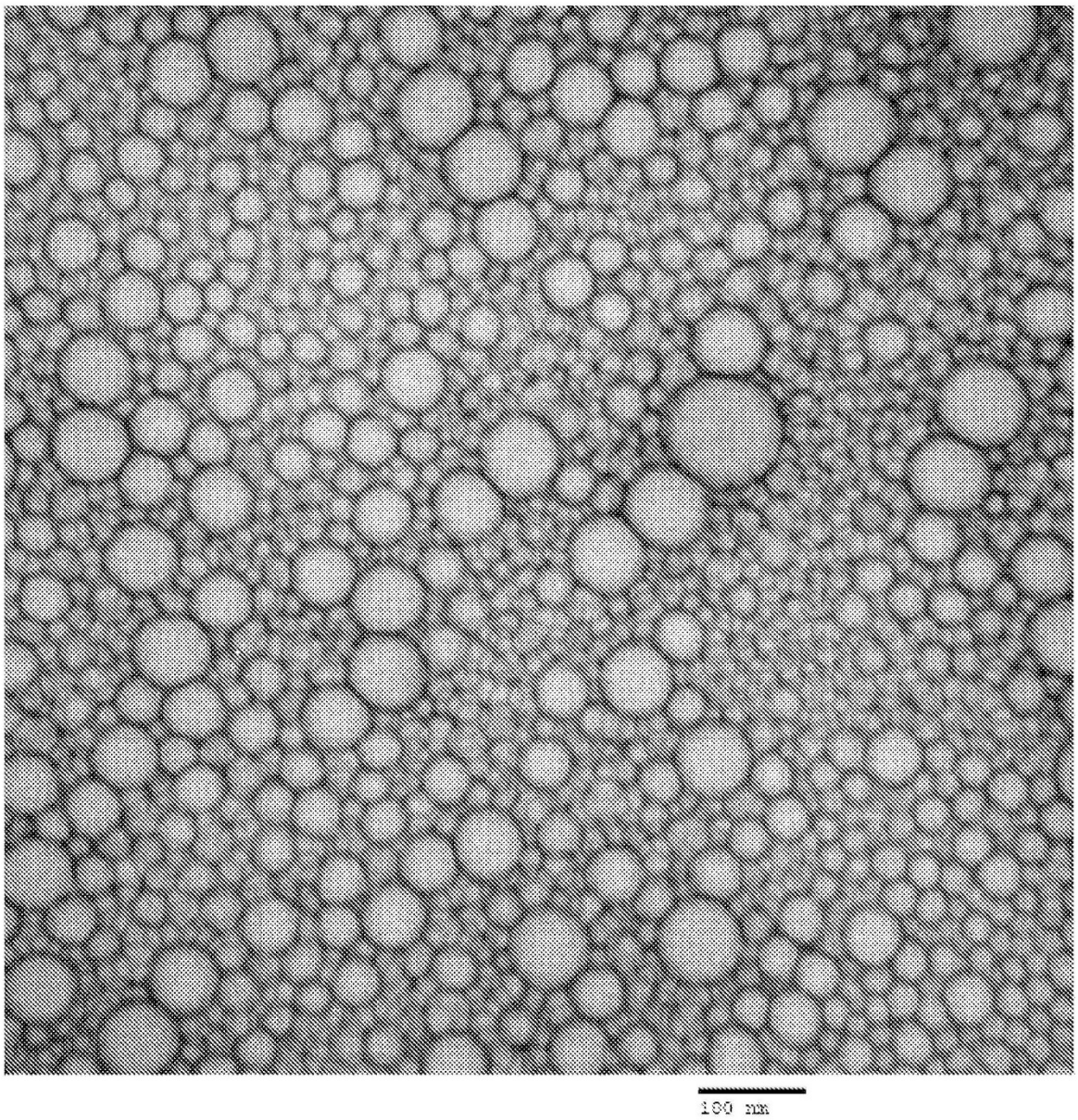


FIG. 13

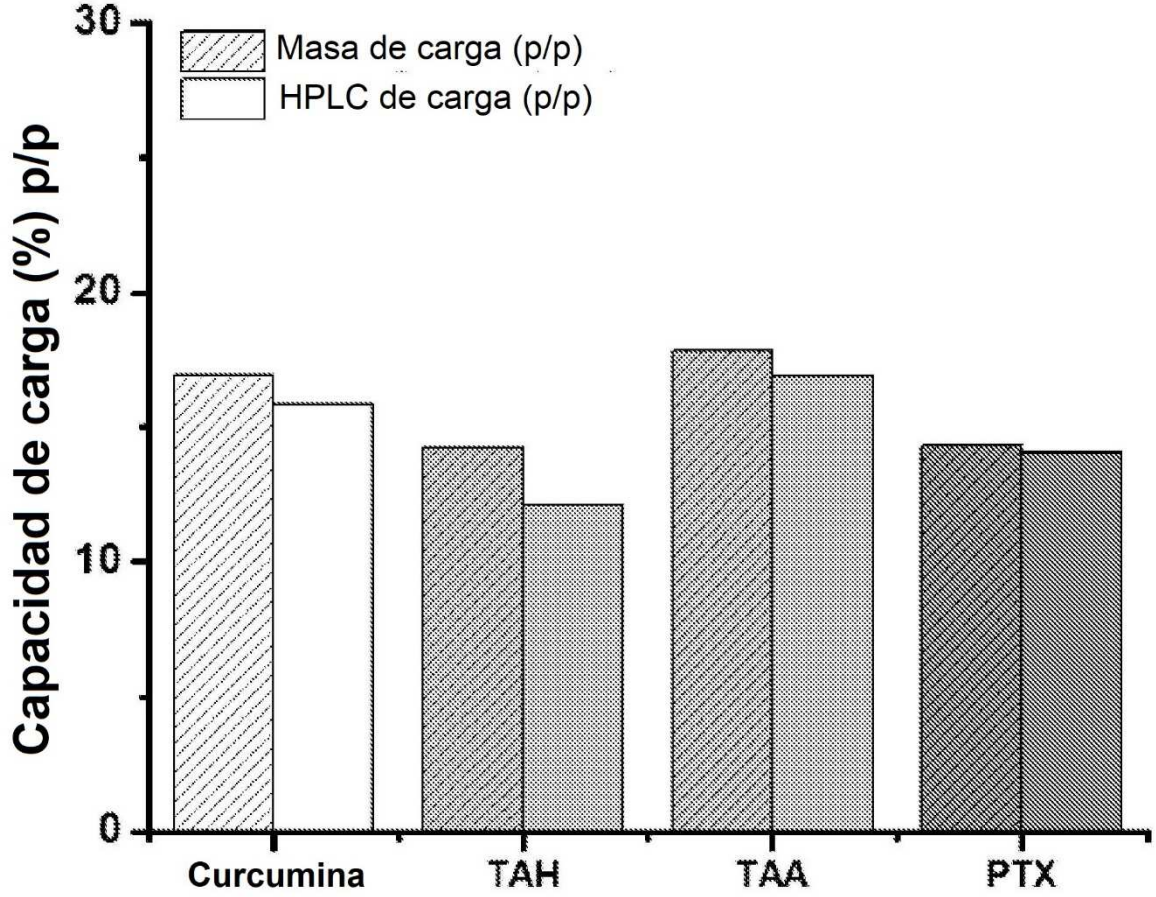

Masa de carga (p/p)
HPLC de carga (p/p)
Capacidad de carga (%) p/p
30
20
10
0
Curcumina
TAH
TAA
PTX

FIG. 14

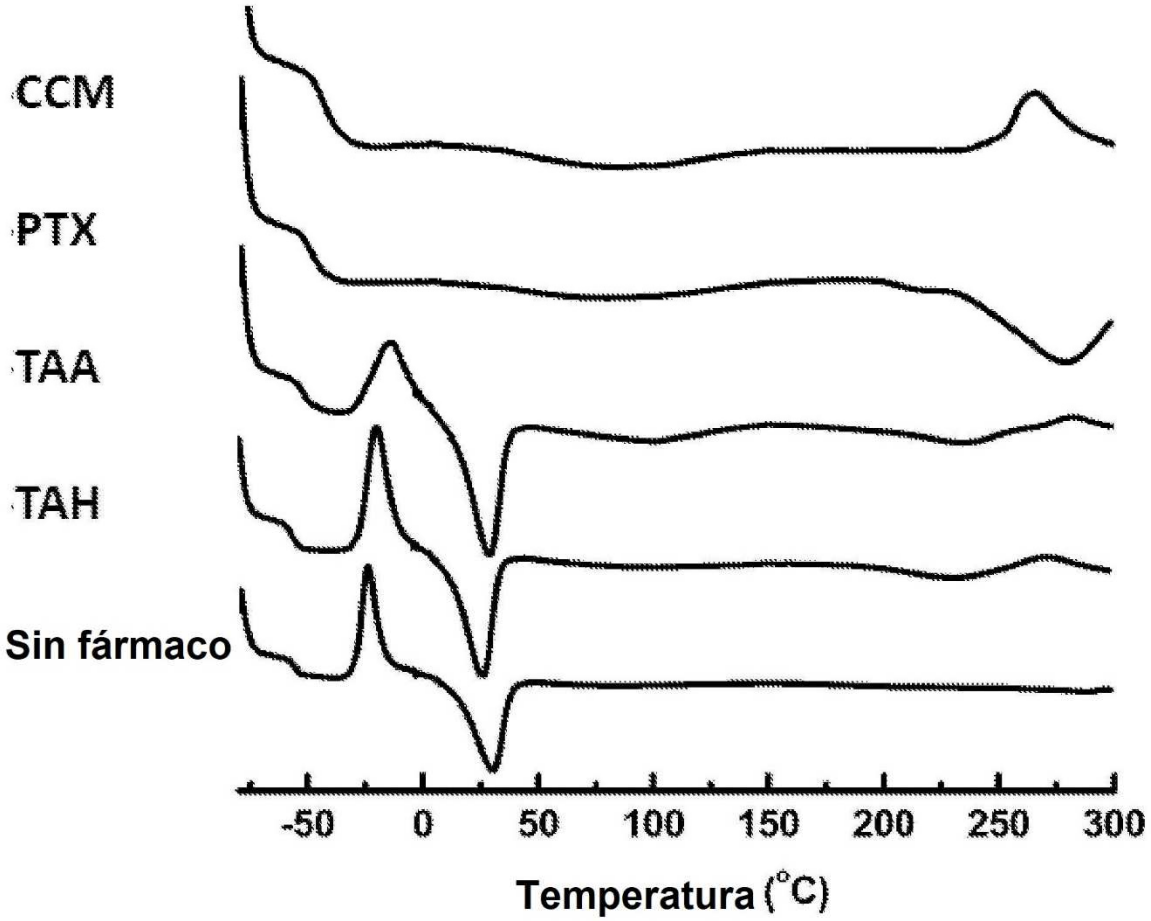

CCM
PTX
TAA
TAH
Sin fármaco
-50
0
50
100
150
200
250
300
Temperatura (°C)

FIG. 15

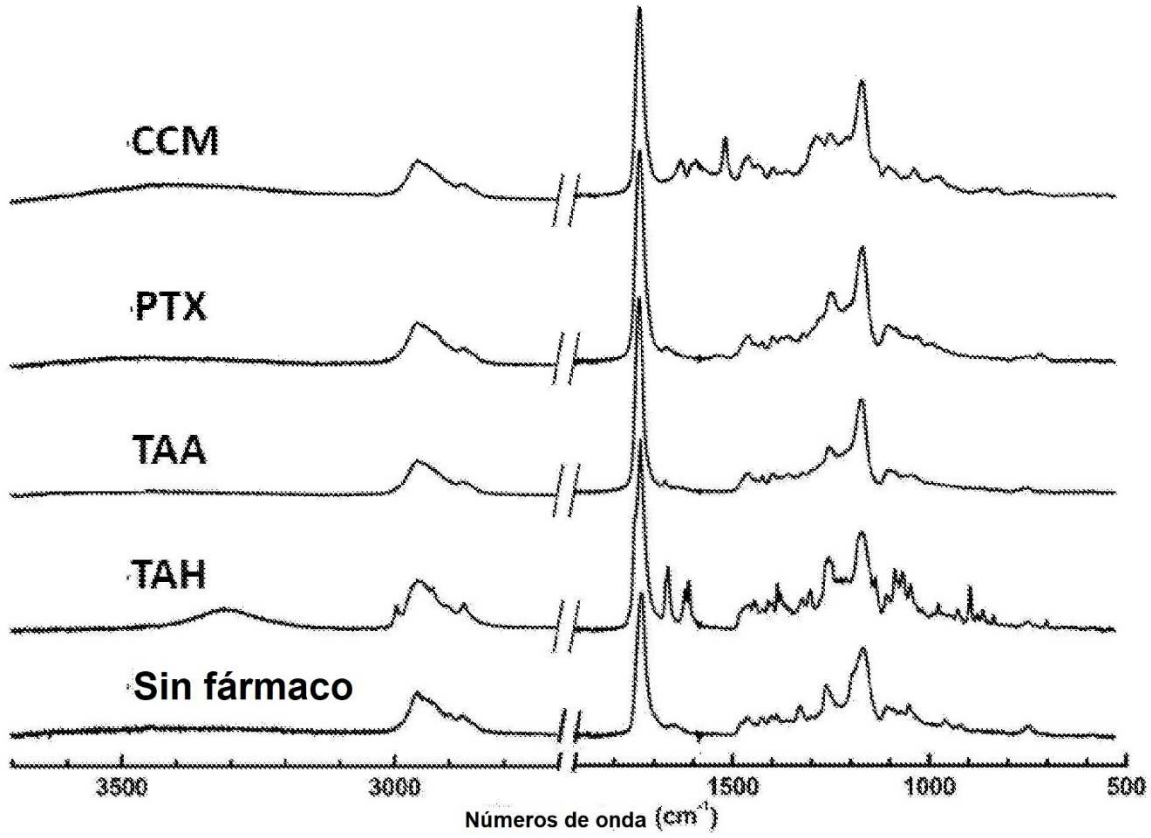

CCM
PTX
TAA
TAH
Sin fármaco
3500
3000
1500
1000
500
Números de onda (cm-1)

FIG. 16

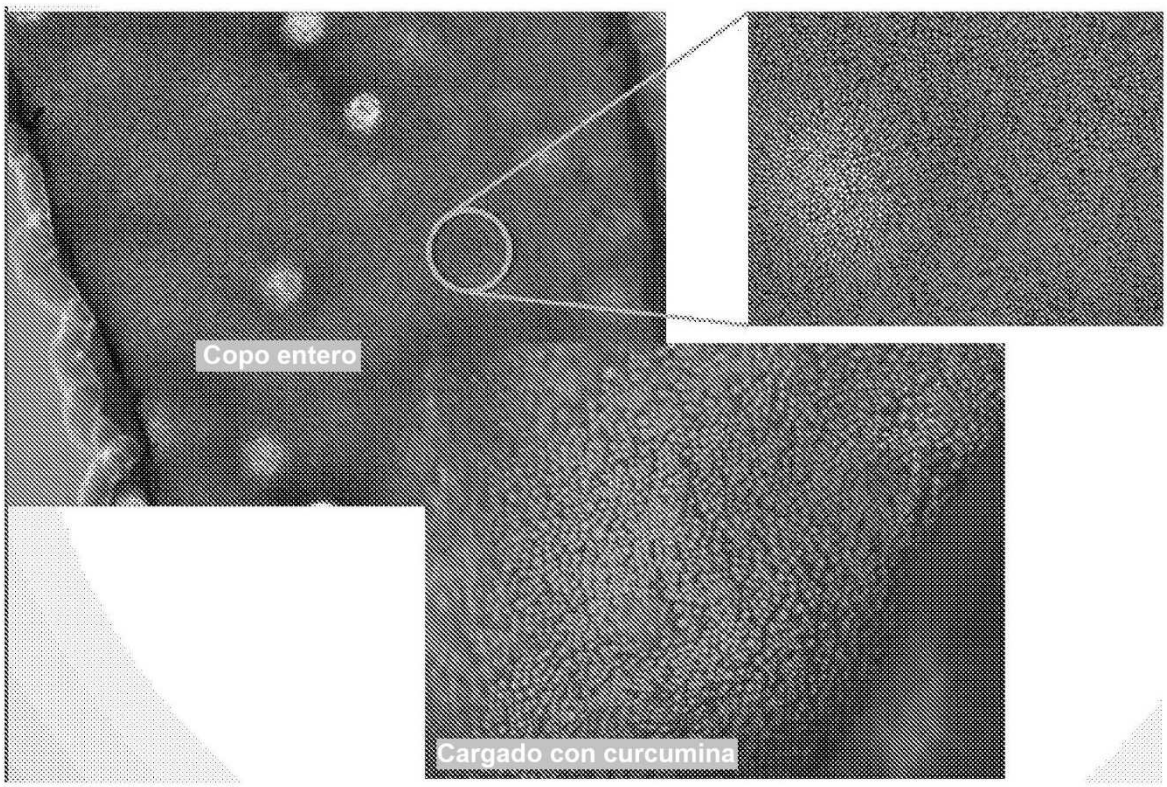


FIG. 17

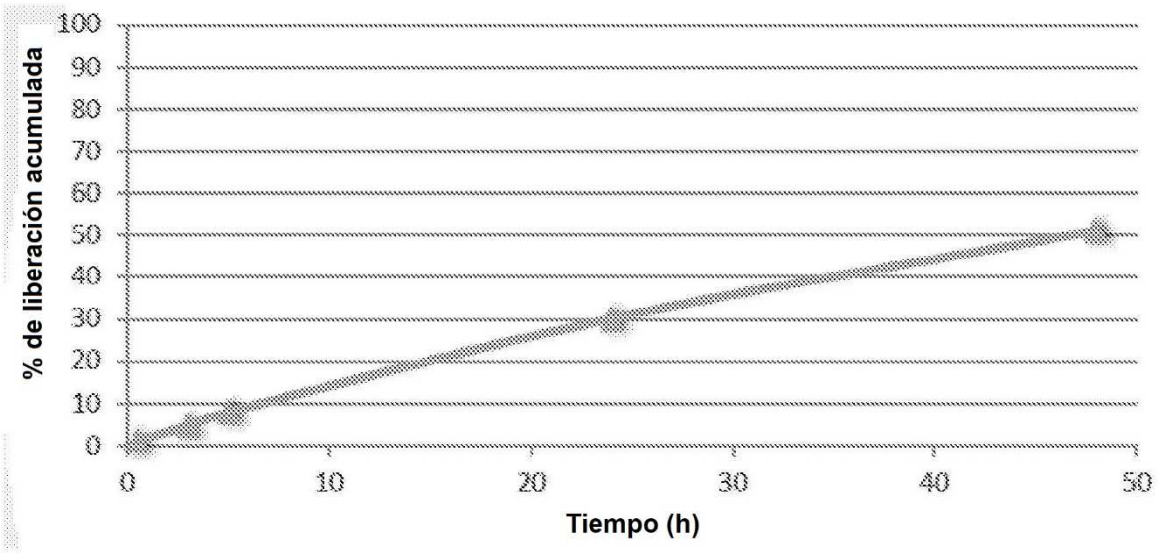

% de liberación acumulada
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
Tiempo (h)

FIG. 18A

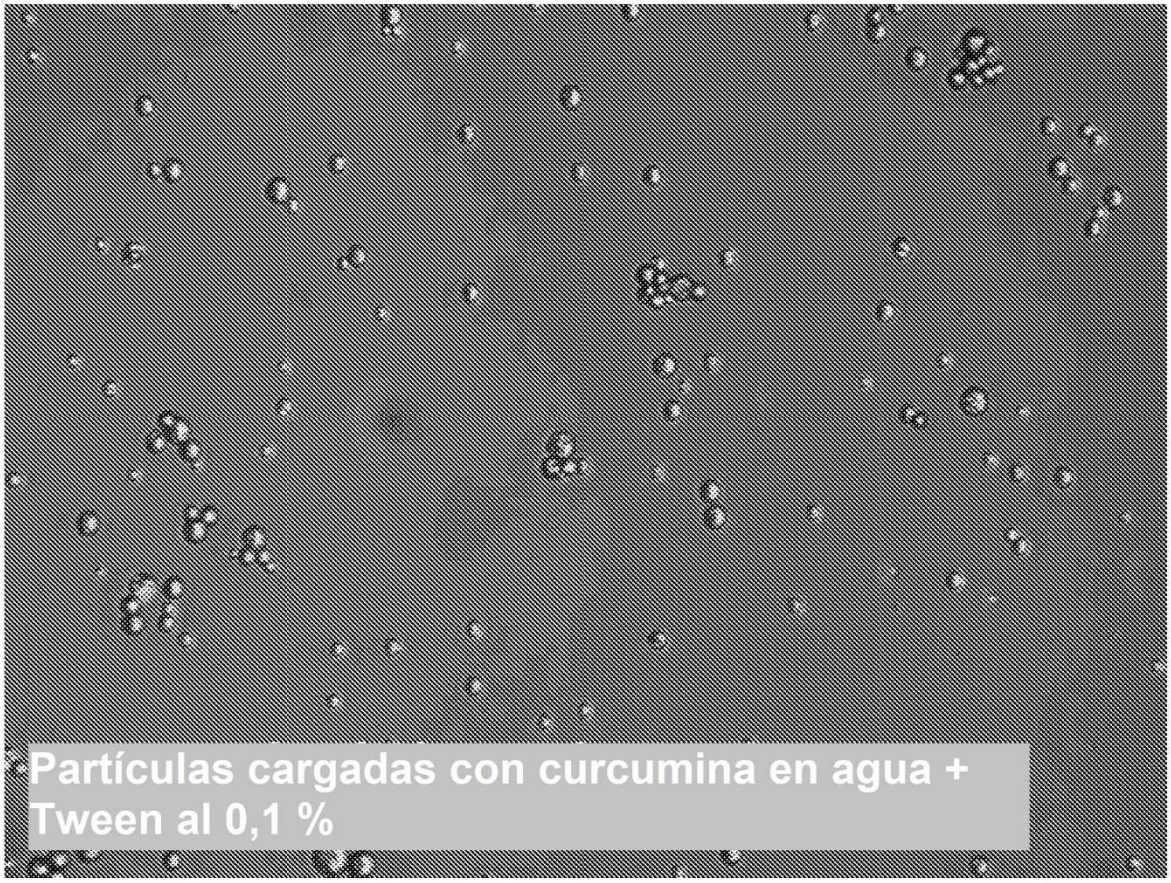


FIG. 18B

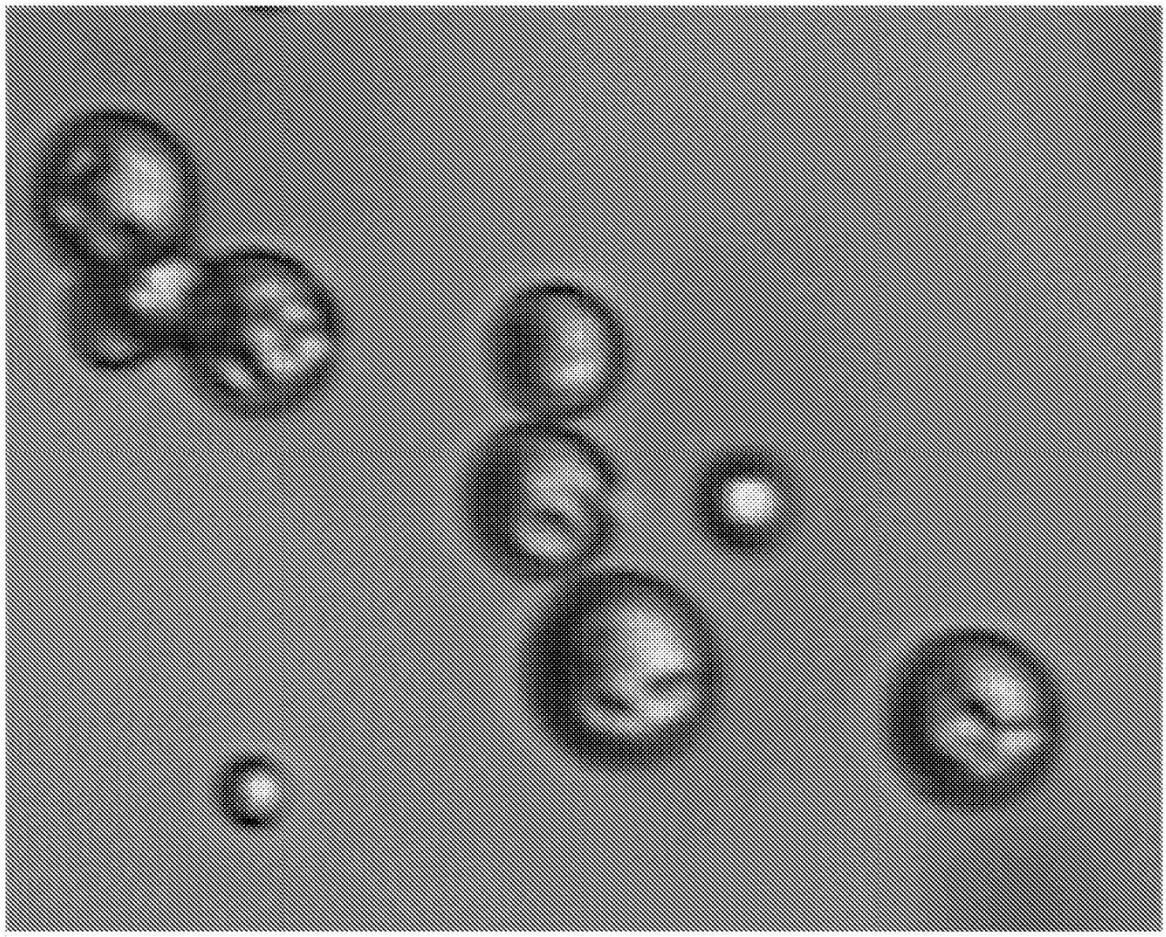


FIG. 19A

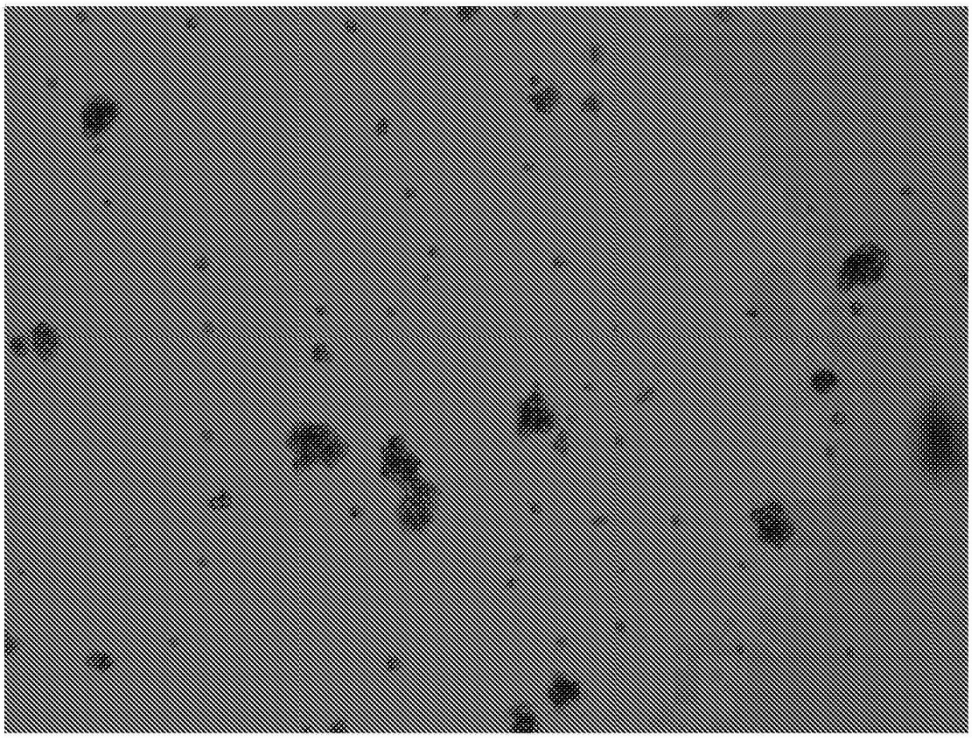


FIG. 19B

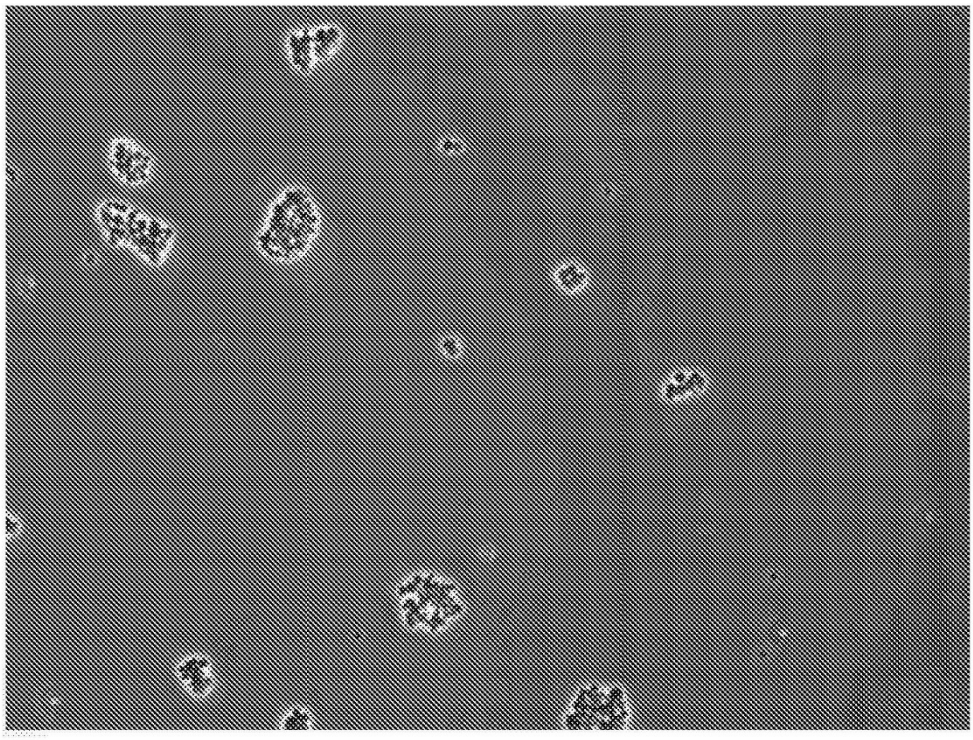


FIG. 19C

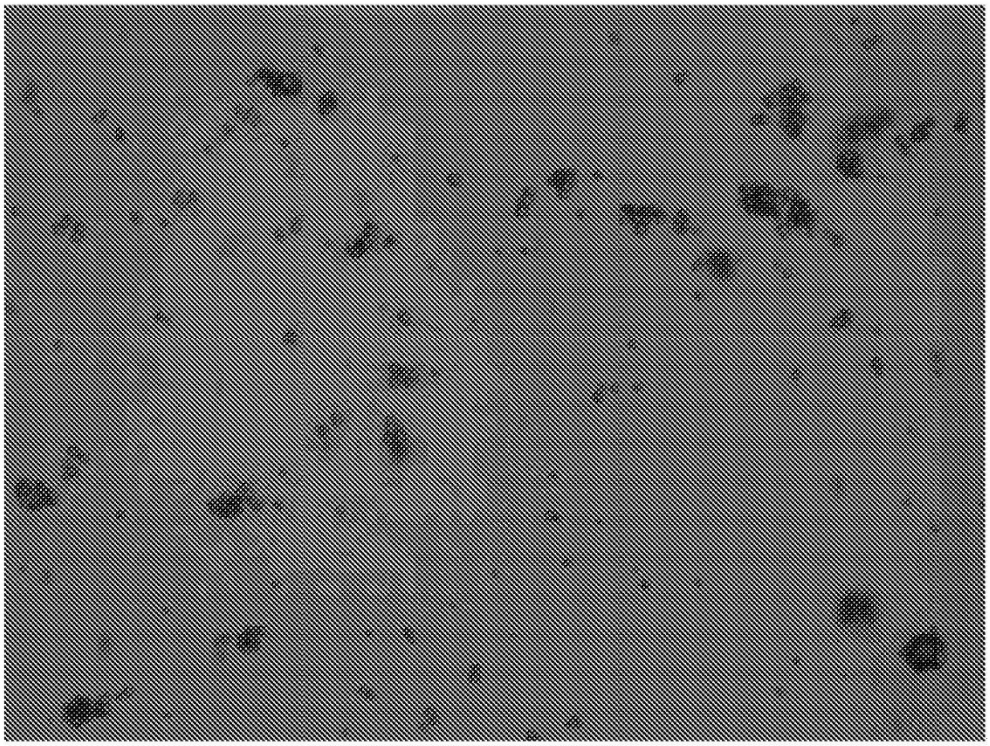


FIG. 19D

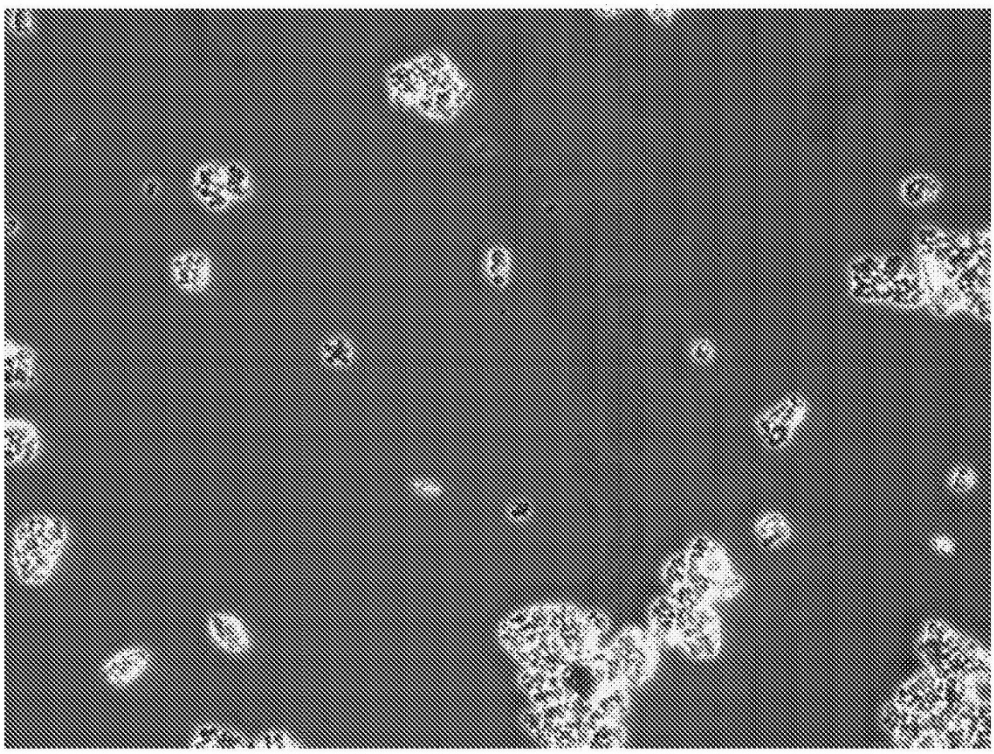


FIG. 20A

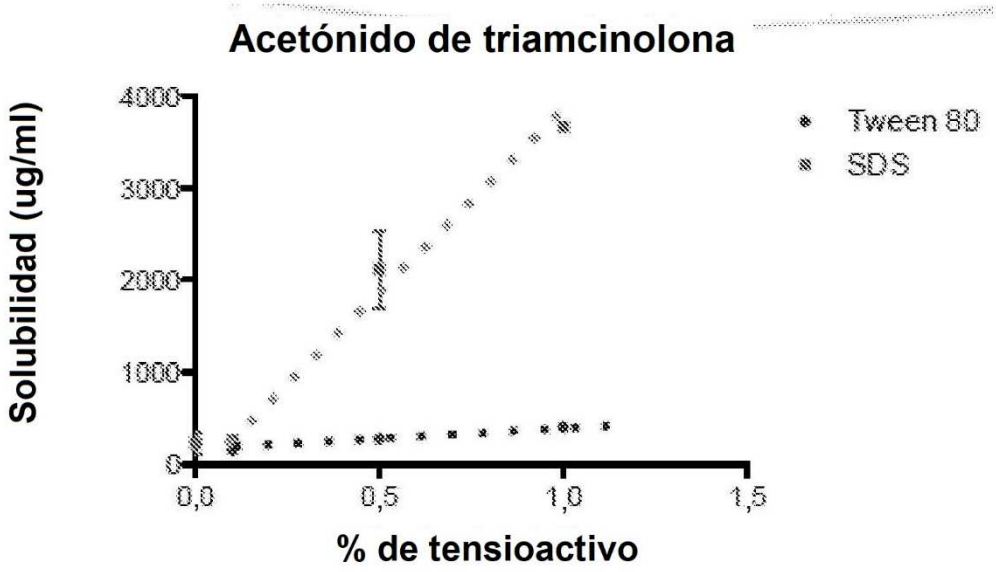

Acetónido de triamcinolona
Solubilidad (ug/ml)
4000
3000
2000
1000
0
0,0
0,5
1,0
1,5
% de tensioactivo
Tween 80
SDS

FIG. 20B

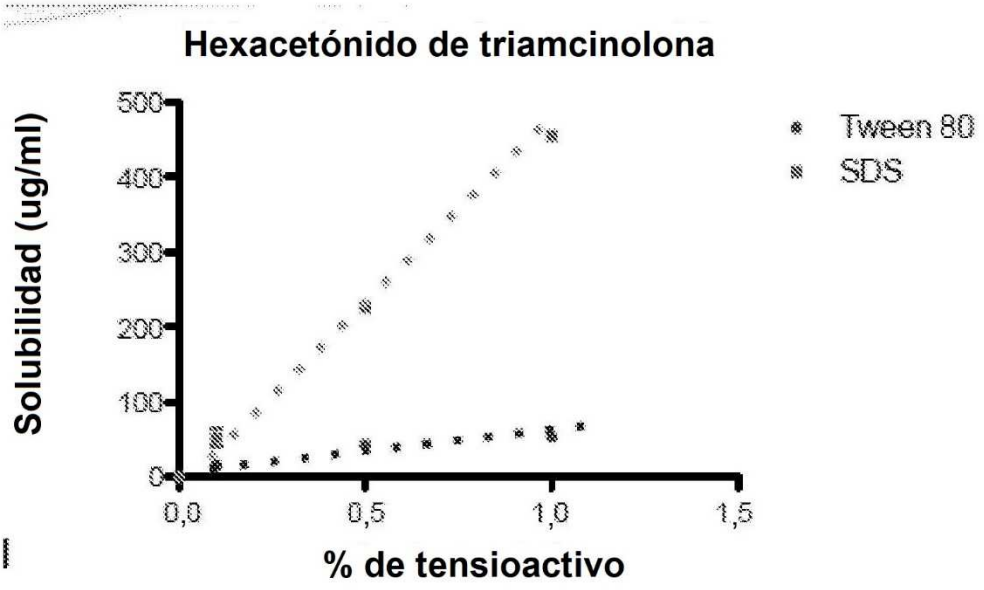

Hexacetónido de triamcinolona
Solubilidad (ug/ml)
500
400
300
200
100
0
0,0
0,5
1,0
1,5
% de tensioactivo
Tween 80
SDS

FIG. 20C

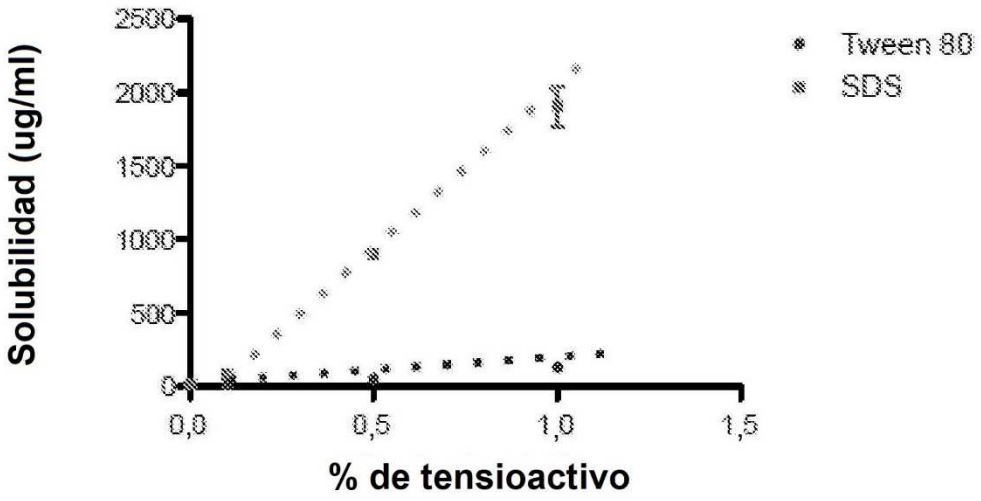

Solubilidad (ug/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
0,0
0,5
1,0
1,5
% de tensioactivo
Tween 80
SDS

FIG. 21

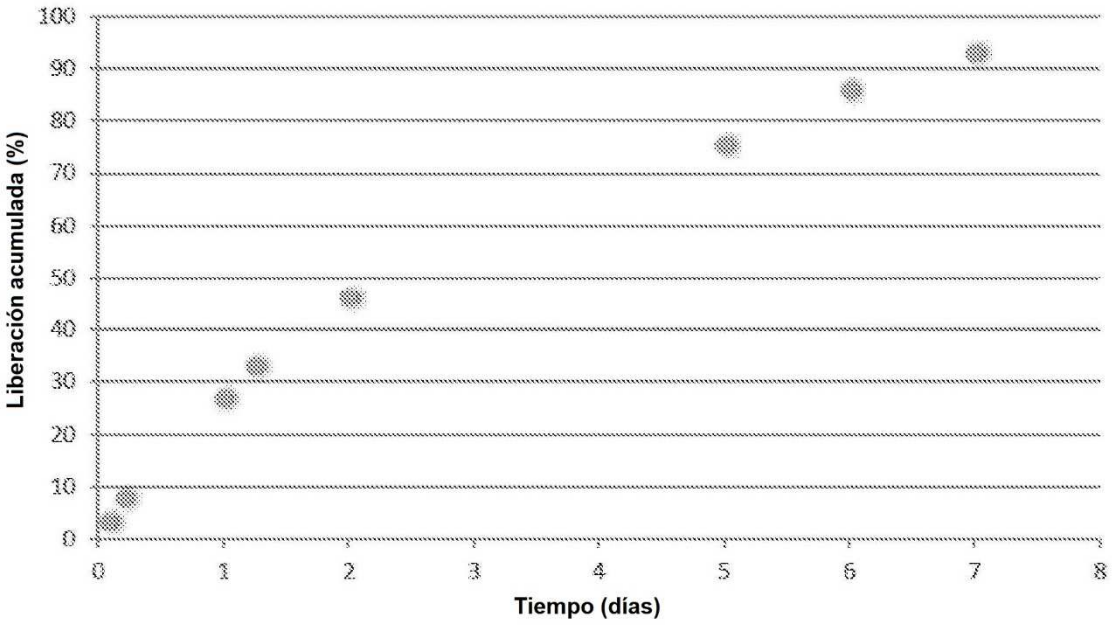

Liberación acumulada (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Tiempo (días)

FIG. 22

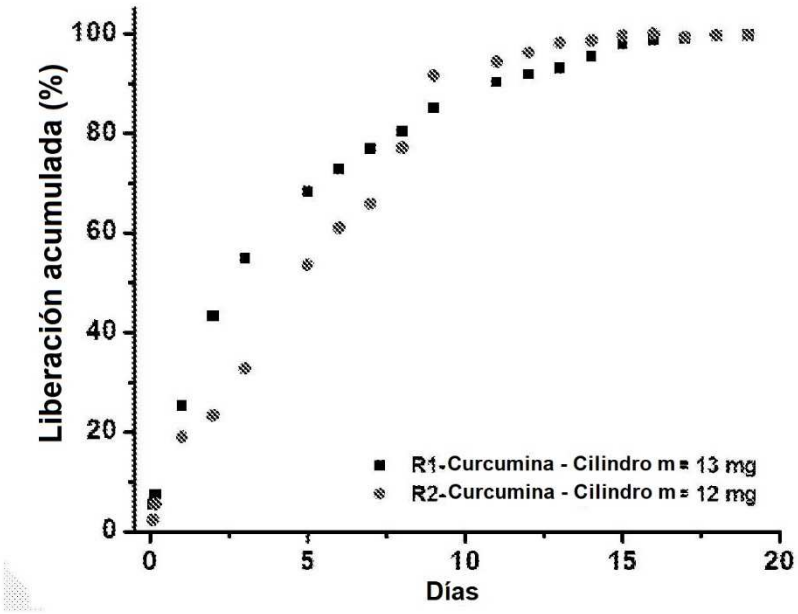

Liberación acumulada (%)
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
20
Días
R1-Curcumina - Cilindro m = 13 mg
R2-Curcumina - Cilindro m = 12 mg

FIG. 23

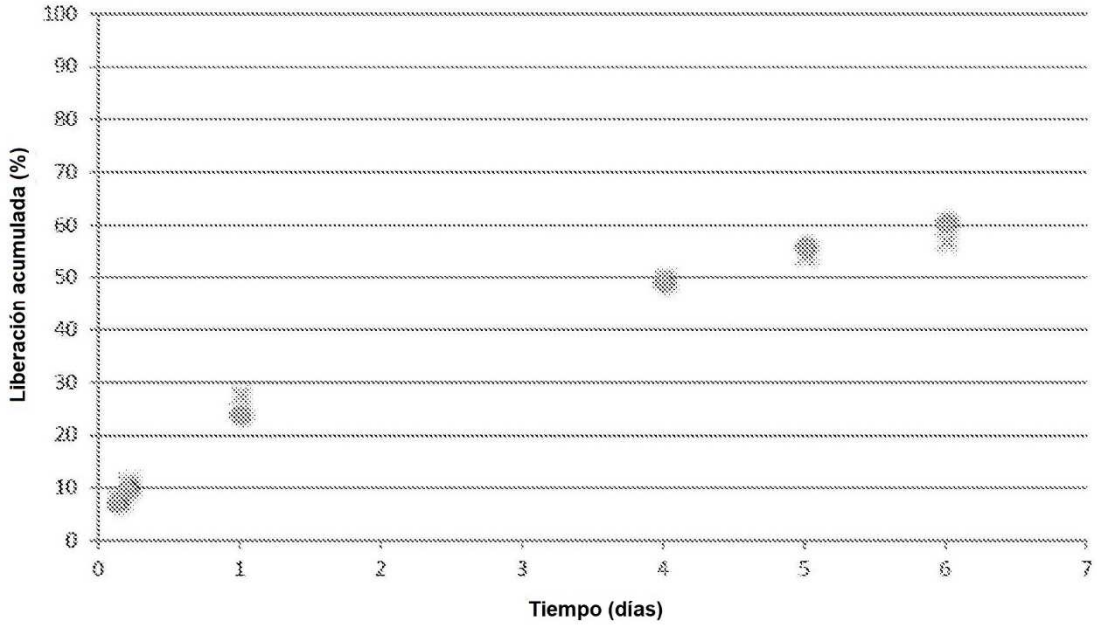

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Liberación acumulada (%)
0
1
2
3
4
5
6
7
Tiempo (días)

FIG. 24

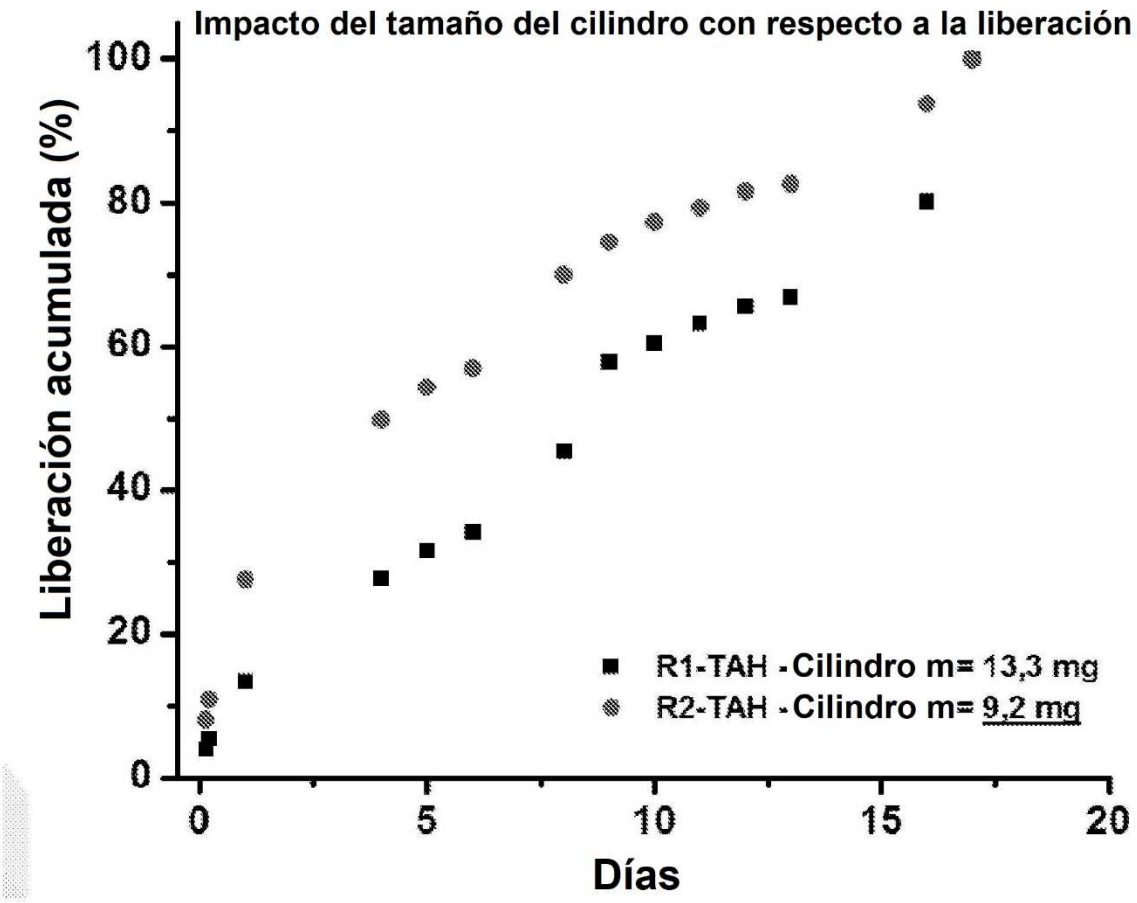

Impacto del tamaño del cilindro con respecto a la liberación
Liberación acumulada (%)
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
20
Días
R1-TAH - Cilindro m= 13,3 mg
R2-TAH - Cilindro m= 9,2 mg

FIG. 25

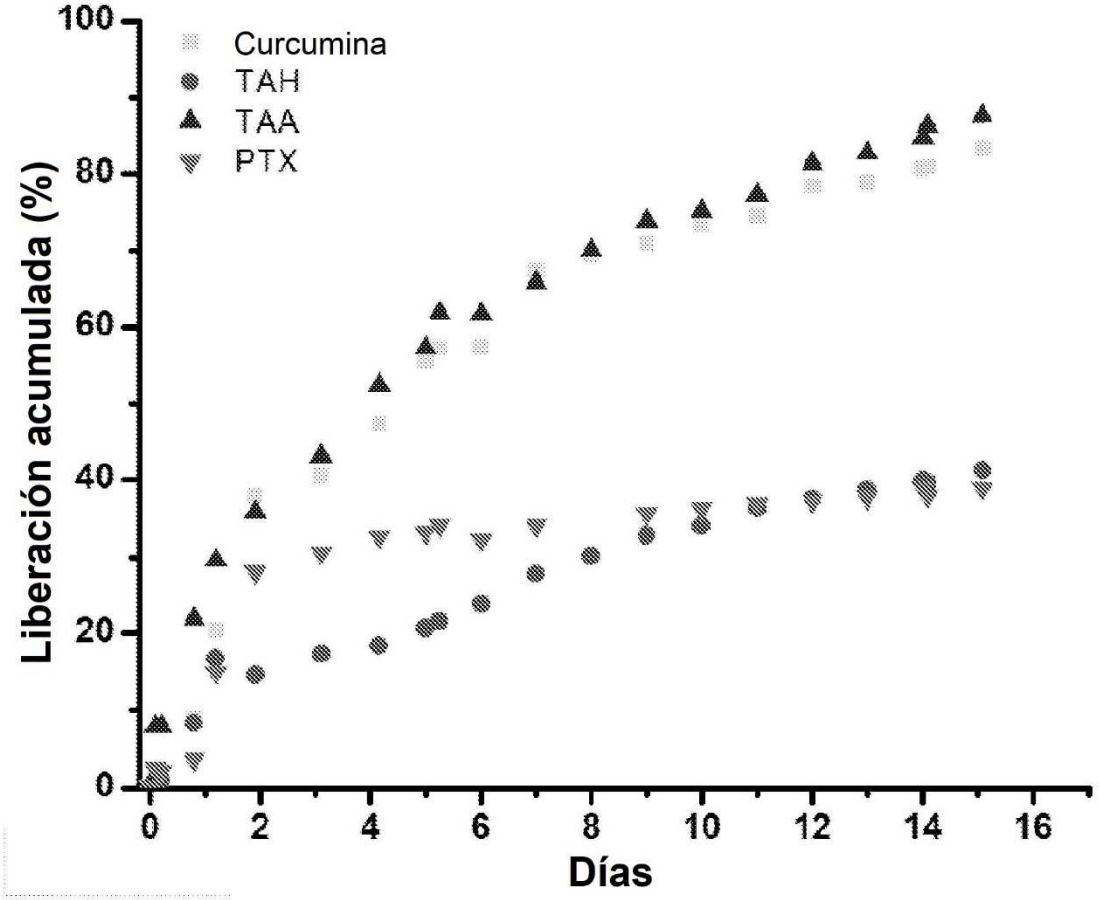

Curcumina
TAH
TAA
PTX
Liberación acumulada (%)
Días
0
20
40
60
80
100
0
2
4
6
8
10
12
14
16

FIG. 26

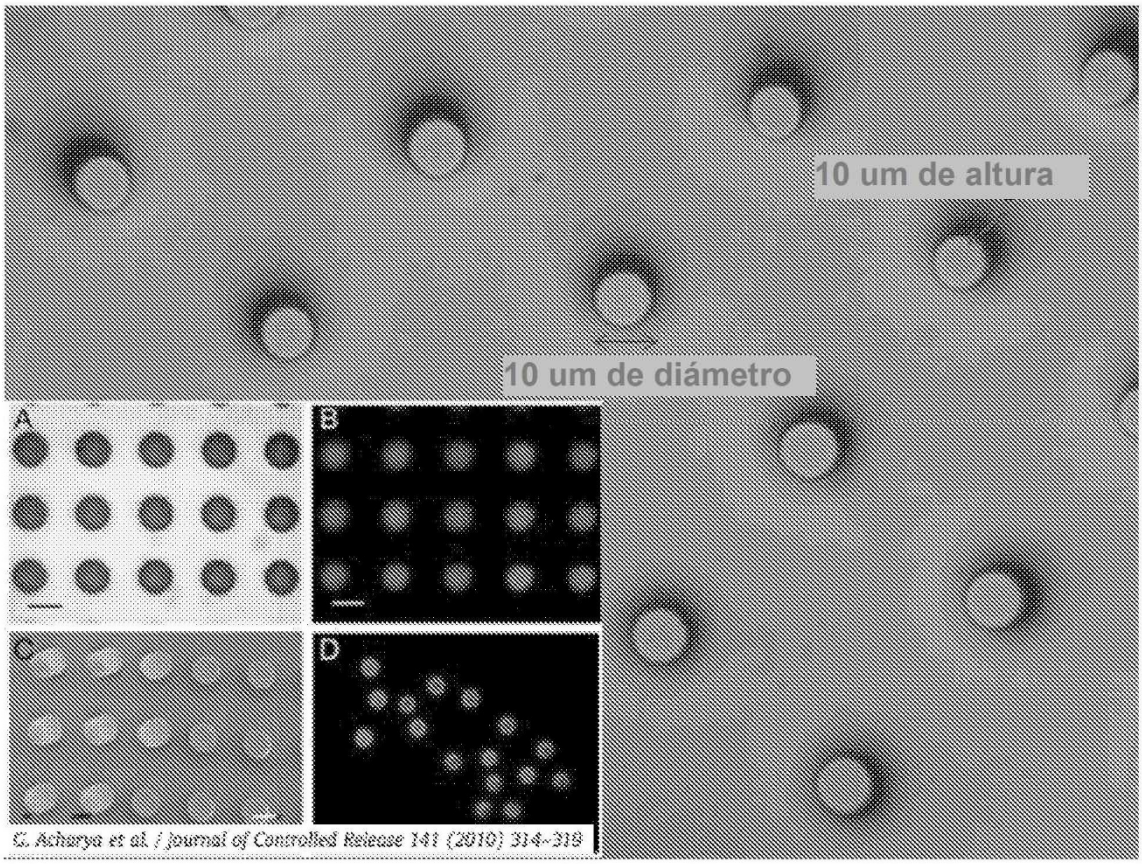

10 um de altura
10 um de diámetro
A
B
C
D
S. Acharya et al. / Journal of Controlled Release 141 (2010) 314–318

FIG. 27A

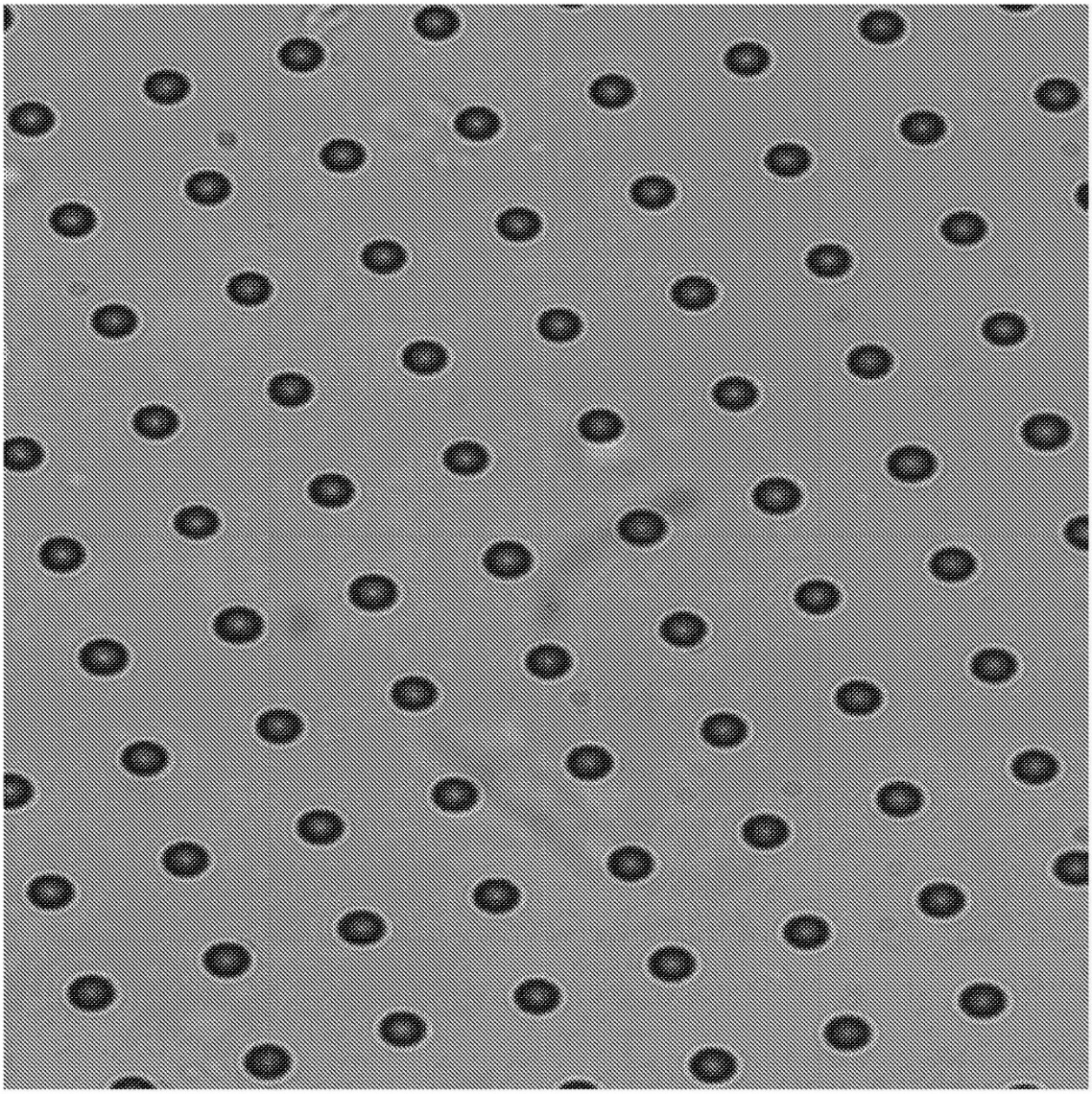


FIG. 27B

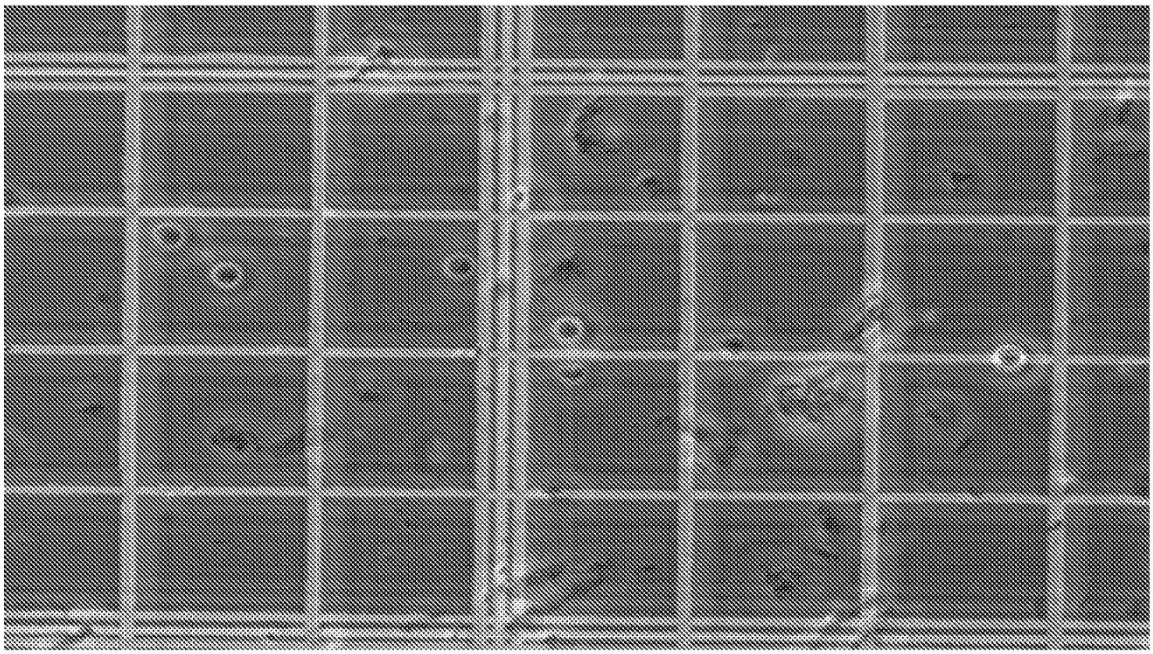


FIG. 27C

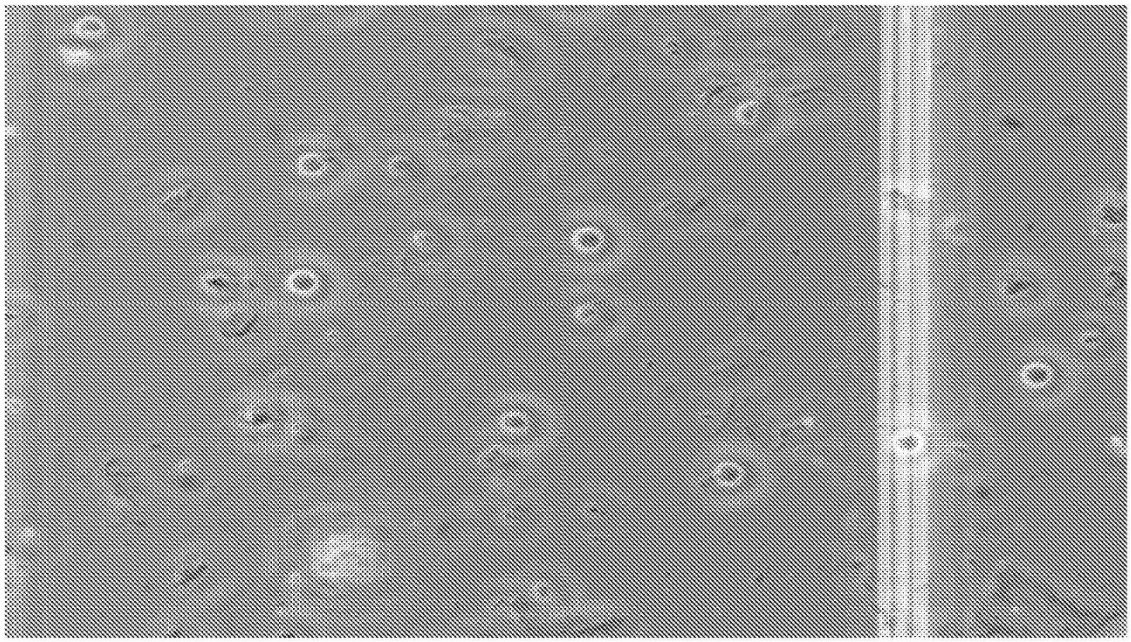


FIG. 28A

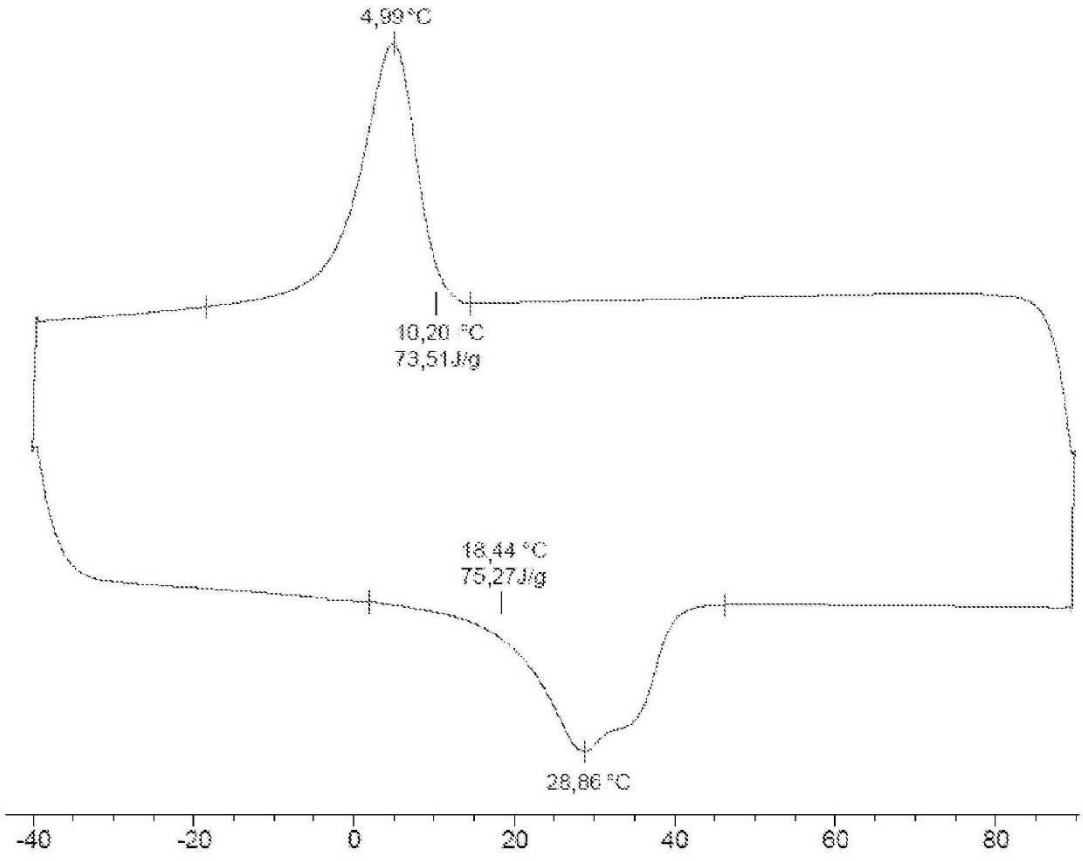


FIG. 28B

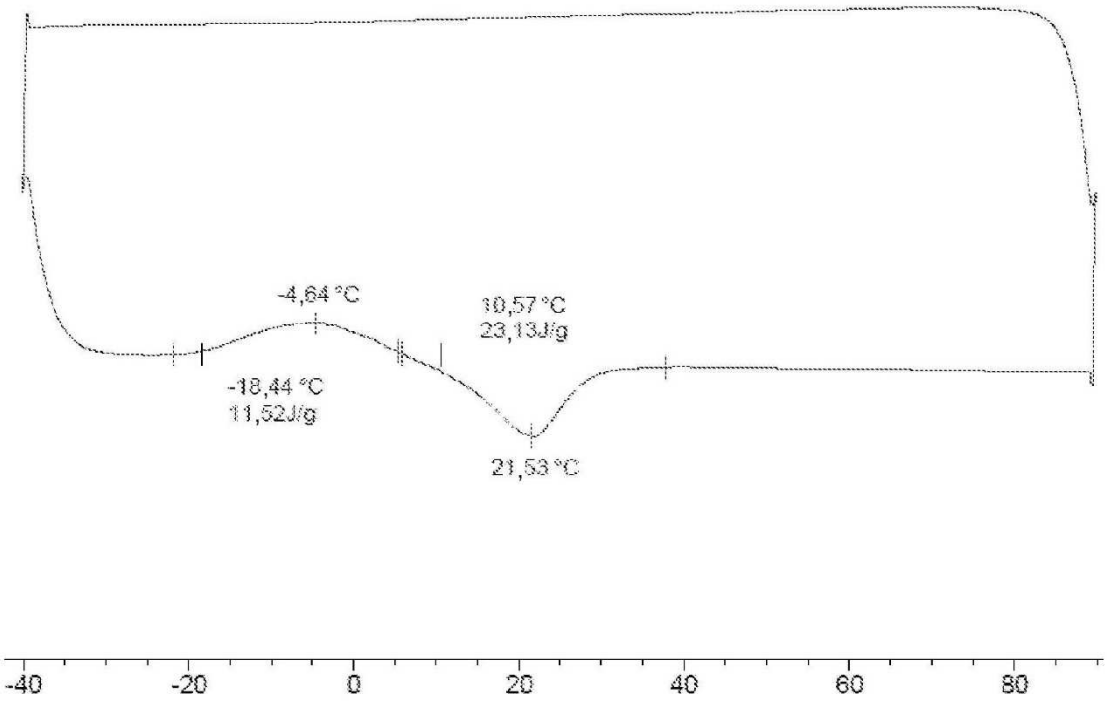


FIG. 28C

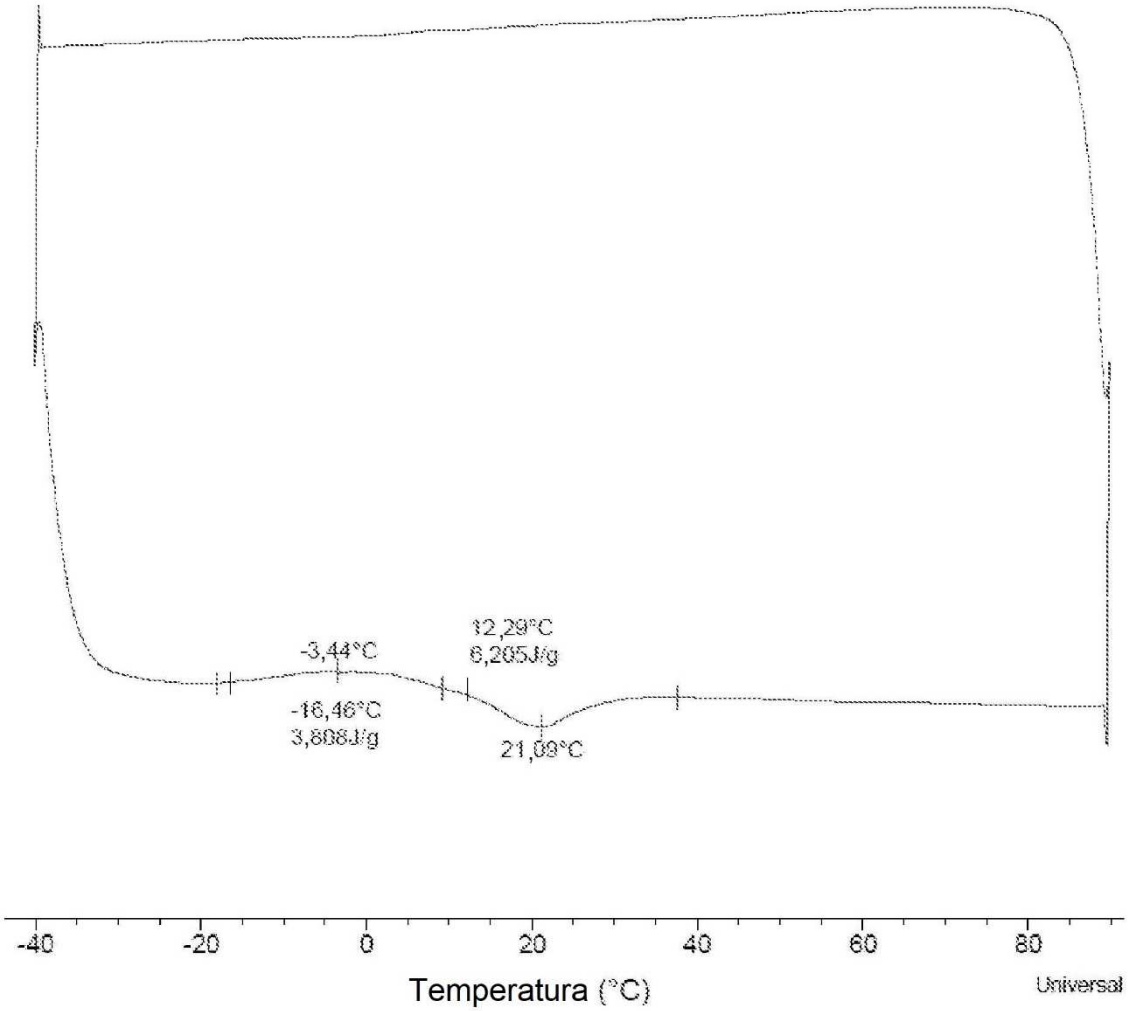

12,29°C
6,205J/g
-3,44°C
-16,46°C
3,808J/g
21,09°C
-40
-20
0
20
40
60
80
Temperatura (°C)
Universal

FIG. 29A

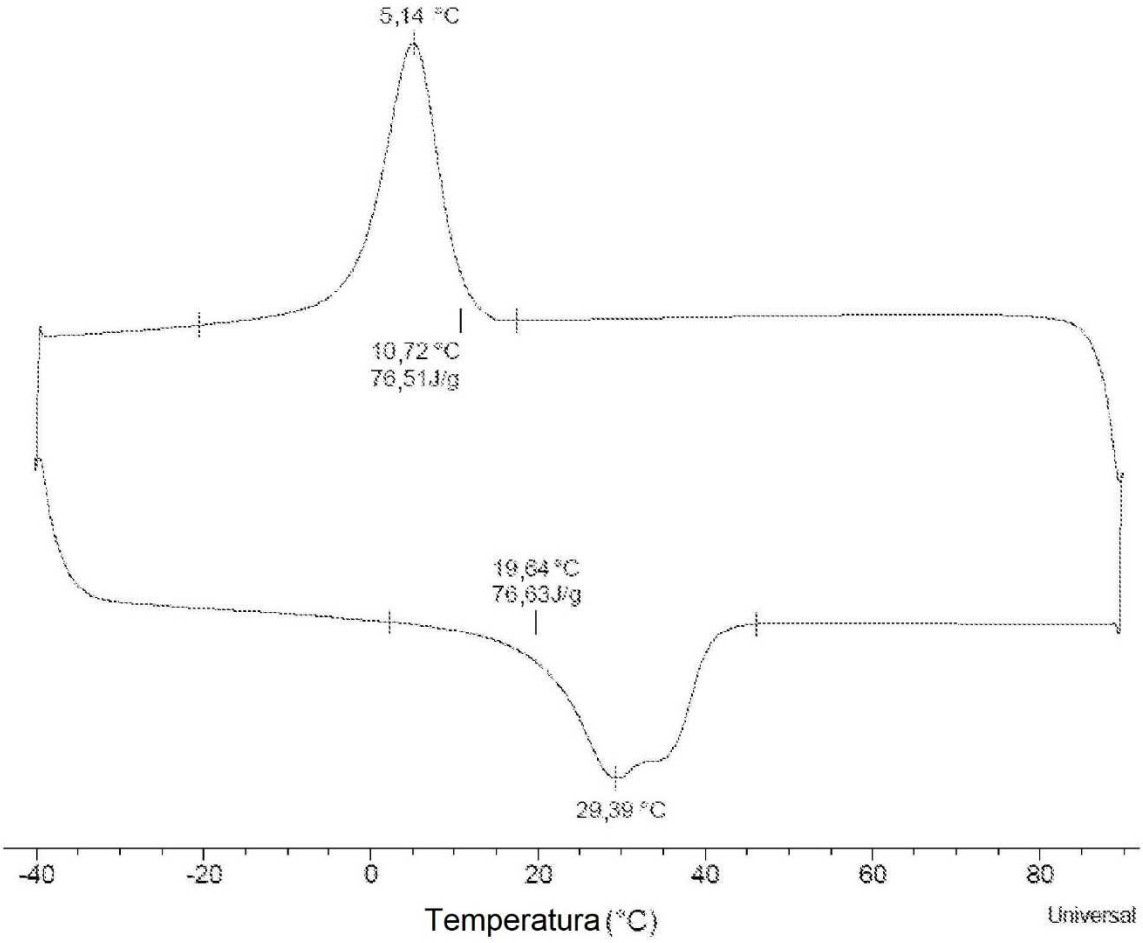

5,14 °C
10,72 °C
76,51J/g
19,64 °C
76,63J/g
29,39 °C
-40
-20
0
20
40
60
80
Temperatura (°C)
Universal

FIG. 29B

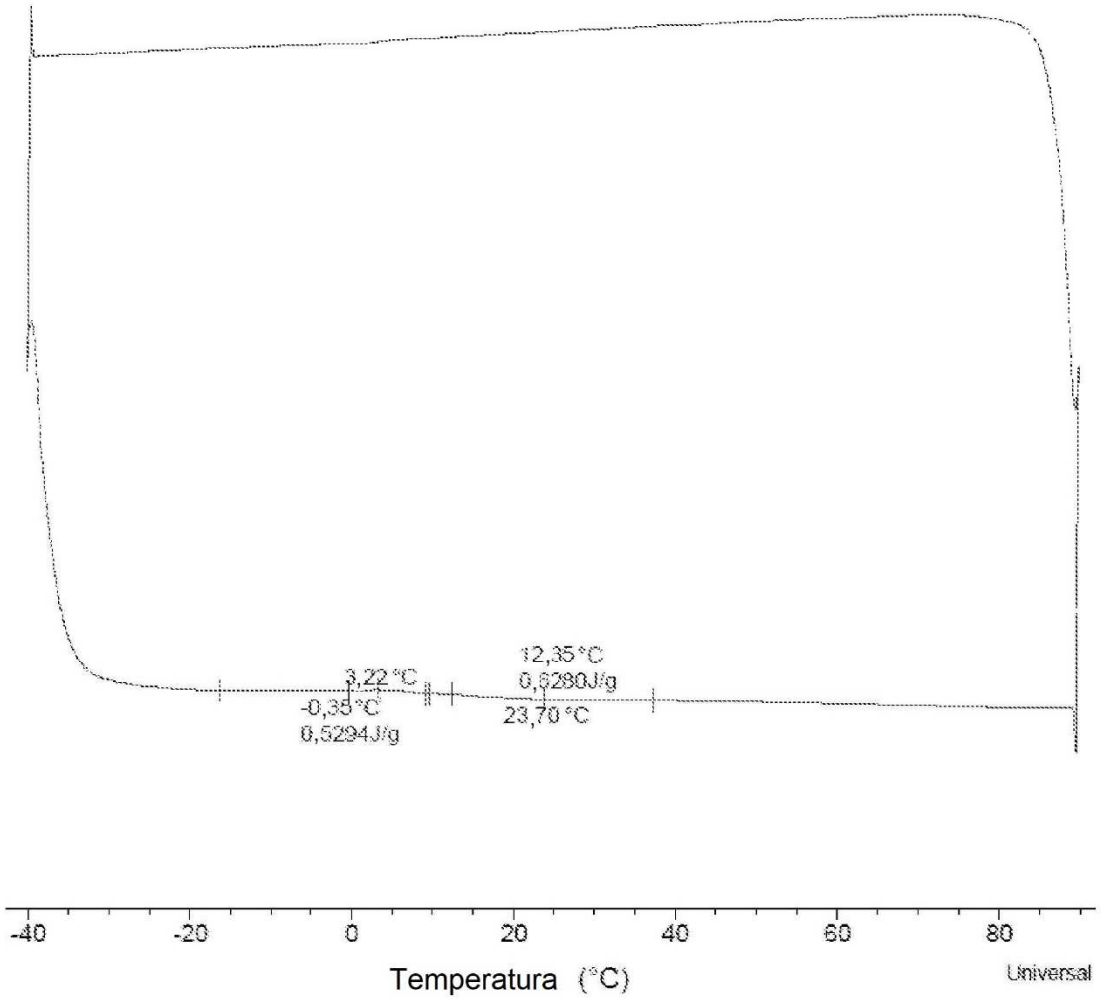
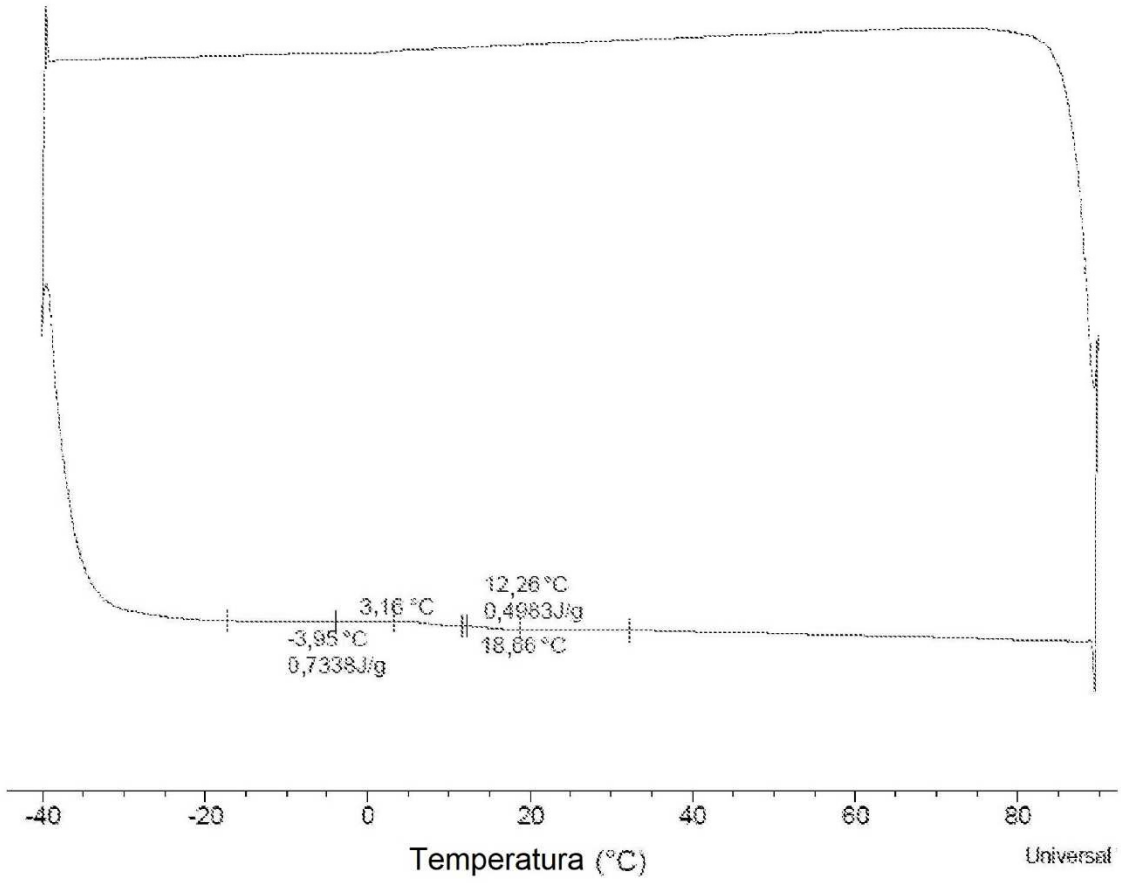

12,35 °C
0,6280J/g
3,22 °C
-0,38 °C
0,5294J/g
23,70 °C
-40
-20
0
20
40
60
80
Temperatura (°C)
Universal

FIG. 29C


12,26 °C
0,4983J/g
3,16 °C
-3,95 °C
0,7338J/g
18,66 °C
-40
-20
0
20
40
60
80
Temperatura (°C)
Universal