

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 015 278**

51 Int. Cl.:

| | | |
|-------------------|-----------------------------|-----------|
| A61K 9/06 | (2006.01) A61K 47/54 | (2007.01) |
| A61F 2/02 | (2006.01) A61L 26/00 | (2006.01) |
| A61L 27/34 | (2006.01) A61P 1/02 | (2006.01) |
| A61L 29/08 | (2006.01) | |
| A61K 38/18 | (2006.01) | |
| A61K 45/06 | (2006.01) | |
| A61K 47/10 | (2007.01) | |
| A61K 47/32 | (2006.01) | |
| A61K 47/69 | (2007.01) | |
| A61K 47/58 | (2007.01) | |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.05.2020 PCT/US2020/035378**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **03.12.2020 WO20243607**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.05.2020 E 20812658 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.01.2025 EP 3975927**

54 Título: **Composiciones de microgel mucoadhesivas y métodos para usar las mismas**

30 Prioridad:

31.05.2019 US 201962855687 P

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

30.04.2025

73 Titular/es:

**THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY (33.33%)
Office of the General Counsel, Building 170 3rd Floor, Main Quad, P.O. Box 20386
Stanford, California 94305-2038, US;
UNIVERSITÉ DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR (33.33%) y
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (33.33%)**

72 Inventor/es:

**MASSA, SOLANGE;
SANTA MARIA, PETER LUKE;
BILLON, LAURENT;
DIEUZY, EVA y
AGUIRRE, GARBINE**

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 3 015 278 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones de microgel mucoadhesivas y métodos para usar las mismas

5 **Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

De conformidad con el 35 U.S.C. §119(e), esta solicitud reivindica prioridad a la fecha de presentación de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos con N.º de Serie 62/855.687, presentada el 31 de mayo de 2019.

10 **Introducción**

El siguiente análisis de la técnica anterior tiene como objetivo facilitar la comprensión de la presente invención únicamente. El análisis no supone el reconocimiento ni la admisión de que el material al que se hace referencia sea o fuera parte del conocimiento general común a la fecha de prioridad de la solicitud.

15 La mucositis oral es la inflamación dolorosa y ulceración de las membranas mucosas (mucosa oral) que revisten la cavidad oral, y es causada por una lesión en las células epiteliales de la mucosa oral que a menudo es resultado del tratamiento con agentes quimioterápicos o radiación, y el efecto inhibitorio que lo acompaña sobre la división y renovación de estas células epiteliales. La mucositis afecta con mayor frecuencia a la mucosa no queratinizada de las mejillas, el paladar blando, la superficie ventral de la lengua y la base de la boca. El desarrollo de la mucositis oral asociada a la radioterapia o la quimioterapia depende de la intensidad del tratamiento de quimioterapia, el uno o más agentes quimioterápicos específicos implicados, la frecuencia e intensidad del tratamiento con radiación, si el tratamiento con radiación se realiza o no de forma concomitante con la quimioterapia, el posible uso de agentes radiosensibilizadores y el tipo y la localización del tumor. La mucositis oral varía desde un eritema leve que causa molestias en las mucosas hasta úlceras bucales profundas y graves, y se produce durante la quimioterapia o la radioterapia en aproximadamente el 80 % de los pacientes con cáncer de cabeza y cuello, así como en aproximadamente el 40 % de los pacientes con cáncer diferente al de cabeza y cuello, lo que a menudo limita la frecuencia de la radiación y/o la exposición a la radiación que sería óptima para un paciente en particular (Georgiou y col., "Oral Mucositis: understanding the pathology and management", Hippokratia. (2012)16(3):215-6; Scully y col., "Oral mucositis: a challenging complication of radiotherapy, chemotherapy, and radiochemotherapy: part 1, pathogenesis and prophylaxis of mucositis". Head Neck. (2003) 25(12):1057-70; y Treister y Sonis "Mucositis: biology and management", Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. (2007)15(2):123-9). Anualmente, hay aproximadamente 400.000 casos de daño inducido por tratamiento en la cavidad oral, y el daño se produce en muchos casos casi inmediatamente después de la administración de quimioterapia, radioterapia o una combinación de ambas. Estas realizaciones se usan para tratar cánceres tales como leucemia, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, como un adyuvante para la eliminación del cáncer o para trasplantes de médula ósea (Georgiou y col.). El documento de patente WO 2019/036378 describe un material polimérico adhesivo supramolecular, en donde las subunidades repetidas de dicho polímero comprenden: i) al menos un monómero que tiene un 1,2 dihidroxi bencenodiol sustituido o un 1,2,3 trihidroxi bencenotriol sustituido; ii) al menos un monómero que puede formar interacciones no covalentes direccionales con una fuerza de interacción sustancial; y iii) una combinación de monómeros sustancialmente hidrófobos e hidrófilos que permiten el hinchamiento controlado del material.

45 En pacientes que reciben varias rondas de quimioterapia, radioterapia o una combinación de ambas, el desarrollo de mucositis oral suele ser recurrente. Las consecuencias graves incluyen dolor intenso, infecciones graves, nutrición inadecuada y hospitalización prolongada. En la actualidad, no existe un tratamiento eficaz para la mucositis oral y las opciones de tratamiento limitadas actuales comprenden cuidado bucal, agentes analgésicos y antiinflamatorios, por ejemplo, bencidamina, crioterapia, por ejemplo, tragar trozos de hielo inmediatamente antes de la radioterapia, y tratamiento de infecciones secundarias que pueden originarse a partir de la flora bacteriana dinámica dentro de la cavidad oral (Worthington y col., "Interventions for preventing oral mucositis for patients with cancer receiving treatment", Cochrane Database Syst Rev. (2006)19(2):CD000978). El factor de crecimiento de queratinocitos (KGF) (Palifermin/Kepivance, Amgen) es una alternativa de tratamiento, pero tiene poca eficacia fuera de las neoplasias hematológicas y debe administrarse sistémicamente (Elting y col. "Economic impact of palifermin on the costs of hospitalization for autologous hematopoietic stem-cell transplant: analysis of phase 3 trial results", Biol Blood Marrow Transplant. (2007)13(7):806-13). Aunque existen tratamientos tópicos para la mucositis oral y proporcionan cierto alivio, sólo reducen la carga de los síntomas, pero no reducen la aparición del problema ni curan las células epiteliales de la mucosa.

Resumen

60 Se proporcionan composiciones de microgel mucoadhesivas, que incluyen un agente activo (tal como HB-EGF). Los aspectos de la invención incluyen un microgel que comprende un polímero de metacrilato de poli(etilenglicol) metil éter reticulado que comprende una funcionalidad mucoadhesiva. También se proporcionan métodos para elaborar y usar las composiciones de microgel mucoadhesivas, por ejemplo, en aplicaciones terapéuticas. En una realización, se proporcionan composiciones de microgel mucoadhesivas cargadas con HB-EGF, por ejemplo, para la prevención o el tratamiento de afecciones de mucositis, tales como afecciones de mucositis oral inducidas por terapia.

Breve descripción de las figuras

5 La figura 1A proporciona un esquema de síntesis para la producción de dopamina acrilamida. Las figuras 1B y 1C proporcionan las estructuras de reactivos usados en la producción de microgeles mucoadhesivos según realizaciones de la invención. La figura 1D proporciona una micrografía electrónica de barrido de un microgel mucoadhesivo.

10 La figura 2A proporciona una ilustración esquemática de un microgel mucoadhesivo cargado con HB-EGF según una realización de la invención. La figura 2B proporciona una imagen SEM de un microgel mucoadhesivo cargado con HB-EGF según una realización de la invención. La figura 2C proporciona un gráfico que muestra los datos de liberación del microgel mucoadhesivo cargado con HB-EGF que se muestra en la figura 2A.

Figura 3: El HB-EGF con suministro de microgel protege la cavidad oral de la mucositis inducida por radiación.

15 Figura 4: El HB-EGF con suministro de microgel protege la cavidad oral de la mucositis inducida por radiación.

Figura 5: Estudio de biodistribución.

Definiciones

20 Una “herida” es una ruptura o discontinuidad en la estructura de un órgano o tejido, incluyendo epitelio, tejido conectivo y tejido muscular. Los ejemplos de heridas incluyen, pero sin limitación, heridas, hematomas, úlceras, llagas, raspaduras, desgarros, cortes, punciones, heridas por psoriasis, perforaciones de la membrana timpánica, abrasiones y roturas corneales y quemaduras. Una herida puede producirse por radioterapia o quimioterapia. Esta herida puede adoptar la forma de una úlcera o mucositis o inflamación que rompe el epitelio. La aplicación “tópica” se refiere a la
25 administración local no sistémica de un principio activo, e incluye la aplicación de la composición en cuestión a las membranas mucosas, particularmente a las membranas mucosas dentro de la cavidad oral, por ejemplo, dentro de la boca de un sujeto.

30 El término “sujeto” incluye tanto vertebrados como invertebrados, incluyendo, sin limitación, mamíferos, incluyendo mamíferos humanos y no humanos tales como primates no humanos, incluyendo chimpancés y otros simios y especies de monos; animales de laboratorio tales como ratones, ratas, conejos, hámsteres, cobayas y chinchillas; animales domésticos tales como perros y gatos; animales de granja tales como ovejas, cabras, cerdos, caballos y vacas; y aves tales como aves domésticas, silvestres y de caza, incluyendo pollos, pavos y otras aves galliformes, patos, gansos y similares. En algunas realizaciones, el término “sujeto” (como alternativa, denominado en la presente memoria
35 “paciente”), como se usa en la presente memoria, se refiere a un animal, tal como un mamífero, incluyendo un ser humano, que ha sido objeto de tratamiento, observación o experimento.

40 “Tratamiento” de un sujeto o “tratar” a un sujeto por una enfermedad o afección en la presente memoria significa reducir o aliviar los síntomas clínicos de la enfermedad o afección tal como la cicatrización de heridas lenta o deteriorada.

45 “Promover”, “potenciar” o “mejorar” la curación después, durante o antes de la quimioterapia o la radioterapia, o una combinación de ambas, generalmente significa aumentar la velocidad con la que se cura una herida dentro de la cavidad oral o reducir la gravedad de la herida por mucositis oral o el tejido necrótico durante o después de la curación de la herida.

50 La expresión “agente terapéuticamente activo”, al que se hace referencia indistintamente en la presente memoria como “fármaco” o “agente activo”, describe un compuesto que exhibe un efecto farmacológico beneficioso cuando se administra a un sujeto y, por lo tanto, se puede usar en el tratamiento de una afección que se beneficia de este efecto farmacológico. Una “cantidad eficaz” o una “cantidad terapéuticamente eficaz” significa una cantidad de agente terapéuticamente activo que proporciona un efecto terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede mejorar, es decir, facilitar, o presentar una respuesta clínicamente significativa en un sujeto. Como alternativa, una cantidad terapéuticamente eficaz es suficiente para mejorar una afección clínicamente significativa en el hospedador.

55 “Epitelio” se refiere al recubrimiento de las superficies internas y externas del cuerpo, incluyendo el revestimiento de los vasos y otras cavidades pequeñas. Consiste en células unidas por pequeñas cantidades de sustancias cementantes. El epitelio se clasifica en tipos basándose en el número de capas profundas y la forma de las células superficiales. En este contexto se refiere a la capa superficial de células que cubre la cavidad oral, incluyendo el esófago y la orofaringe.

60 Como se usa en la presente memoria, la expresión “mucosa oral” significa la mucosa bucal, la mucosa alveolar, la base de la boca, la lengua, particularmente las superficies dorsal y ventral de la lengua, el paladar duro y blando, la úvula, los músculos palatogloso y palatofaríngeo, la orofaringe posterior, incluida la pared faríngea posterior, la hipofaringe y el esófago superior.
65

Como se usa en la presente memoria, “alrededor de” o “aproximadamente” significan dentro del 50 por ciento, preferiblemente dentro del 20 por ciento, más preferiblemente dentro del 5 por ciento, de un valor o intervalo dado.

5 Un valor que es “sustancialmente diferente” de otro valor puede significar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los dos valores. Se puede usar cualquier método estadístico adecuado conocido en la técnica para evaluar si las diferencias son significativas o no.

10 Una diferencia “estadísticamente significativa” significa que la significación se determina en un intervalo de confianza de al menos el 90 %, más preferiblemente en un intervalo de confianza del 95 %.

15 “Excipiente o portador farmacéuticamente aceptable” se refiere a un excipiente que puede incluirse opcionalmente en las composiciones de la invención y que no provoca efectos toxicológicos adversos significativos al paciente.

20 “Sal farmacéuticamente aceptable” incluye, pero sin limitación, sales de aminoácidos, sales preparadas con ácidos inorgánicos, tales como sales de cloruro, sulfato, fosfato, difosfato, bromuro y nitrato, o sales preparadas a partir de la forma de ácido inorgánico correspondiente de cualquiera de los anteriores, por ejemplo, clorhidrato, etc., o sales preparadas con un ácido orgánico, tales como malato, maleato, fumarato, tartrato, succinato, etilsuccinato, citrato, acetato, lactato, metanosulfonato, benzoato, ascorbato, para-toluenosulfonato, palmoato, salicilato y estearato, así como sales de estolato, gluceptato y lactobionato. De manera similar, las sales que contienen cationes farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, sodio, potasio, calcio, aluminio, litio y amonio (incluido el amonio sustituido).

Descripción detallada

25 Se proporcionan composiciones de microgel mucoadhesivas, que incluyen un agente activo (tal como HB-EGF). Los aspectos de la invención incluyen un microgel que comprende un polímero de metacrilato de poli(etilenglicol) metil éter reticulado que comprende una funcionalidad mucoadhesiva. También se proporcionan métodos para elaborar y usar las composiciones de microgel mucoadhesivas, por ejemplo, en aplicaciones terapéuticas. En una realización, se proporcionan composiciones de microgel mucoadhesivas cargadas con HB-EGF, por ejemplo, para la prevención o el tratamiento de afecciones de mucositis, tales como afecciones de mucositis oral inducidas por terapia.

30 Antes de que la presente invención se describa con mayor detalle, se debe entender que esta invención no se limita a las realizaciones particulares descritas, ya que, por supuesto, pueden variar. También debe entenderse que la terminología usada en la presente memoria tiene el propósito de describir realizaciones particulares únicamente, y no pretende ser limitante, ya que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

35 Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor indicado o intermedio en ese intervalo indicado, está comprendido dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse independientemente en los intervalos más pequeños y también están comprendidos dentro de la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen uno o ambos de esos límites incluidos también se incluyen en la invención.

40 En la presente memoria se presentan determinados intervalos con valores numéricos precedidos por el término “aproximadamente”. El término “aproximadamente” se usa en la presente memoria para proporcionar un respaldo literal para el número exacto al que precede, así como un número que está cerca o aproximado al número al que precede el término. Al determinar si un número está cerca o aproximado a un número específicamente mencionado, el número no mencionado cercano o aproximado puede ser un número que, en el contexto en el que se presenta, proporciona el equivalente sustancial del número mencionado específicamente.

45 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Aunque también se puede usar en la práctica o prueba de la presente invención cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente memoria, a continuación se describen métodos y materiales ilustrativos representativos. La mención de cualquier publicación es para su descripción antes de la fecha de presentación y no debe interpretarse como una admisión de que la presente invención no tiene derecho a anteceder a dicha publicación en virtud de una invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación reales que pueden necesitar ser confirmadas de manera independiente.

50 Se observa que, como se usa en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular “un”, “una” y “el/la” incluyen referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Se observa además que las reivindicaciones pueden redactarse para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta declaración pretende servir como base antecedente para el uso de tal terminología exclusiva como “únicamente”, “solamente” y similares en relación con la mención de elementos de reivindicación, o el uso de una limitación “negativa”.

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, métodos convencionales de medicina, farmacología, química, bioquímica, biología molecular y técnicas de ADN recombinante, dentro de la habilidad de la técnica. Dichas técnicas se explican completamente en la bibliografía. Véanse, por ejemplo, K.J. Lee Essential Otolaryngology: Head and Neck Surgery, Décima Edición (McGraw-Hill Education/Medical, 10.ª edición, 2012); E.N. Myers Operative Otolaryngology: Head and Neck Surgery: Expert Consult (Saunders, 2.ª edición, 2008); A.L. Lehninger, Biochemistry (Worth Publishers, Inc., adición actual); Sambrook y col., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3.ª edición, 2001); Methods In Enzymology (S. Colowick y N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); y Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins (The Taylor & Francis Series in Pharmaceutical Sciences, Lars Hovgaard, Sven Frokjaer y Marco van de Weert eds., CRC Press; 1.ª edición, 1999).

Como se ha resumido anteriormente, se proporcionan composiciones de microgel mucoadhesivas. Al describir con más detalle los diversos aspectos de la invención, primero se revisan las realizaciones de las composiciones de microgel mucoadhesivas con mayor detalle, seguido de una revisión de las realizaciones de los métodos para elaborar y usar las composiciones, así como una revisión de las realizaciones de los kits que incluyen las composiciones.

Composiciones de microgel mucoadhesivas

Como se ha resumido anteriormente, se proporcionan composiciones de microgel mucoadhesivas. Como las composiciones de microgel de la invención son mucoadhesivas, pueden adherirse a la capa mucosa de un sujeto, por ejemplo, durante un período de tiempo prolongado, por ejemplo, 0,5 h o más, tal como 1 h o más, 2 h o más, 3 h o más, 6 h o más, etc., mediante fuerzas interfaciales. Las propiedades mucoadhesivas de las composiciones de microgel pueden evaluarse usando cualquier protocolo conveniente, por ejemplo, métodos *in vitro/ex vivo*, tales como métodos que determinan la resistencia a la tracción, métodos que determinan la tensión de corte, método de peso de adhesión, método de sonda fluorescente, método de canal de flujo, método espectroscópico mecánico, método de película líquida descendente, método de tinción con oro coloidal, método de viscosímetro, método del pulgar, número de adhesión, conductancia eléctrica, propiedades de hinchamiento, estudios de liberación de fármacos *in vitro*, estudios de mucoretenibilidad, etc. Las propiedades mucoadhesivas de las composiciones de microgel también pueden evaluarse usando métodos *in vivo*, por ejemplo, uso de radioisótopos, uso de gammagrafía, uso de farmacogammagrafía, uso de oximetría de resonancia paramagnética electrónica (EPR, por sus siglas en inglés), estudios de rayos X, técnica de bucle aislado (Tangri y col. "Recent Advances in Oral Mucoadhesive Drug Delivery System: A review", International Journal of Pharma. Research and Development (2011) 3(2): 151-162). También se describen métodos para evaluar las propiedades mucoadhesivas en: Mackie y col., "Innovative Methods and Applications in Mucoadhesion Research", Macromolecular Bioscience (2017) 17(8). Las propiedades mucoadhesivas de las composiciones de microgel también pueden evaluarse usando un protocolo mediado por un chip integrado (IC, por sus siglas en inglés) BIACORE®, por ejemplo, como se describe en Kumar y col., "Mucoadhesive Polymers: Means of Improving the Mucoadhesive Properties of Drug Delivery System", J. chem. pharm. Res. (2010) 2(5): 418-32). En dichos ensayos, el polímero (polvo) se inmoviliza sobre la superficie del IC con el paso posterior de la solución de mucina sobre el mismo. Esto da como resultado la interacción de la mucina con la de la superficie del polímero. La interacción polímero-mucina se mide mediante un fenómeno óptico llamado resonancia de plasmón superficial (SPR, por sus siglas en inglés), que mide el cambio en el índice de refracción cuando la mucina se une a la superficie del polímero. Véase también Takeuchi y col., "Novel mucoadhesion tests for polymers and polymer-coated particles to design optimal mucoadhesive drug delivery systems", Adv. Drug Deliver. Rev. (2005) 57(11):1583-1594 y Thongborisute y Takeuchi, "Evaluation of mucoadhesiveness of polymers by BIACORE method and mucin-particle method", Int J Pharm. (2008) 354(1-2):204-9. Usando el ensayo de microscopía de fuerza atómica (AFM, por sus siglas en inglés), las composiciones de microgel mucoadhesivas según las realizaciones de la invención exhiben propiedades mucoadhesivas con respecto a la superficie que muestran un aumento de la adhesión en el canal de adhesión del ensayo descrito. Los resultados de resistencia a la tracción (Instron) también proporcionan evidencia de que los microgeles en forma de película aumentan la adhesión entre dos superficies de mucosa porcina usando saliva humana entre las superficies.

Los microgeles reticulados mucoadhesivos de la invención incluyen un polímero de metacrilato de poli(etilenglicol) metil éter reticulado que incluye una funcionalidad mucoadhesiva. "Microgeles", en el sentido de la presente descripción, son composiciones en forma de una dispersión acuosa de partículas de microgel o en forma de una película que comprende partículas de microgel, donde las partículas de microgel son polímeros reticulados en forma de partículas esféricas que tienen un tamaño que varía, por ejemplo, de 100 nm a 500 nm en estado seco (es decir, que contienen menos del 2 % en peso de agua), tal como entre 350 y 450 nm, y en algunos casos entre 375 y 425 nm, por ejemplo, del orden de 400 nm. Cuando se presenta una película, la película puede tener un grosor que varía, en algunos casos de 10 a 500 micrómetros, tal como de 100 a 400 micrómetros. Los microgeles de la invención pueden incluir sólo un tipo de copolímero reticulado. La densidad de reticulación del copolímero en los microgeles puede variar dentro del volumen de la partícula generando de este modo una estructura de "núcleo-cubierta" que comprende dos partes: una de las dos partes tiene una densidad de reticulación que es menor que la otra parte. El polímero reticulado puede tener una tasa de reticulación constante dentro de todo el volumen de la partícula de microgel. En otros casos, la densidad de reticulación puede ser mayor o menor en la superficie de las partículas.

Los microgeles según las realizaciones de la invención incluyen al menos un polímero de metacrilato de poli(etilenglicol) metil éter reticulado que tiene una funcionalidad mucoadhesiva, en donde el polímero reticulado comprende cadenas de copolímero que tienen unidades monoméricas de metacrilato de dietilenglicol, unidades monoméricas de metacrilato de oligoetilenglicol, por ejemplo, que comprenden de 6 a 10 restos de etilenglicol, unidades monoméricas de ácido metacrílico, unidades monoméricas mucoadhesivas y restos de reticulación.

Según una realización, el polímero reticulado del microgel comprende cadenas de copolímero que tienen unidades monoméricas de metacrilato de dietilenglicol, unidades monoméricas de metacrilato de oligoetilenglicol, por ejemplo, que comprenden de 4 a 10 restos de etilenglicol, unidades monoméricas de ácido metacrílico y unidades monoméricas con funcionalidad mucoadhesiva. Las unidades monoméricas pueden ser: metacrilato de di(etilenglicol) metil éter; metacrilato de oligo(etilenglicol) metil éter que tiene de 7 a 9 restos de etilenglicol; y ácido metacrílico. Las unidades monoméricas de metacrilato de oligo(etilenglicol) metil éter también pueden tener de 8 a 9 restos de etilenglicol.

Las unidades monoméricas con funcionalidad mucoadhesiva pueden obtenerse de monómeros con funcionalidad mucoadhesiva. Dichos monómeros pueden incluir una diversidad de diferentes funcionalidades mucoadhesivas, tales como, pero sin limitación: dopamina, polímeros tiolados (tiómeros), lectinas y similares. En algunos casos, el monómero con funcionalidad mucoadhesiva es dopamina acrilamida.

Las cadenas de copolímero pueden estar unidas con un enlace cruzado procedente de cualquier agente de reticulación conveniente. Un "enlace cruzado" es un resto (parte de una molécula) que une las cadenas de copolímero. Este enlace cruzado procedente de una molécula "reticulante" o agente de reticulación que se mezcla con los monómeros durante el proceso de polimerización del polímero reticulado. Los ejemplos de agentes de reticulación adecuados que pueden emplearse incluyen, pero sin limitación: diacrilato de oligo(etilenglicol) que comprende de 1 a 10, tal como de 4 a 5, unidades de etilenglicol, diacrilato de 1,3-butanodiol, diacrilato de 1,4-butanodiol, diacrilato de 1,6-hexanodiol, diacrilato monoestearato de pentaeritritol, 1,3-diglicerolato diacrilato de glicerol, diacrilato de neopentilglicol, diacrilato de poli(propilenglicol), etoxilato diacrilato de 1,6-hexanodiol, benzoato diacrilato de trimetilolpropano, dimetacrilato de etilenglicol, dimetacrilato de 1,3-butanodiol, dimetacrilato de 1,4-butanodiol, dimetacrilato de 1,6-hexanodiol, dimetacrilato de glicerol, N,N-divinilbenceno, N,N'-metilbisacrilamida, N,N-(1,2-dihidroxietileno)bisacrilamida, poli(etilenglicol)diacrilamida, disulfuro de alilo, disulfuro de bis(2-metacrilato)oxietilo y N,N-bis(acrilato)cistamina. Según una realización, el reticulante tiene grupos terminales de di(met)acrilato y un resto seleccionado del grupo que consiste en $-(CH_2-CH_2-O)_n-CH_2-CH_2-$, donde n es de 0 a 6, $-NH-CH_2-NH-$ y mezclas de los mismos. El agente de reticulación es, por ejemplo, N,N'-metilbisacrilamida, dimetacrilato de etilenglicol o diacrilato de oligo(etilenglicol). En algunos casos, el agente de reticulación representa, por ejemplo, del 1 al 5 % en moles del número total de moles de las tres unidades monoméricas.

En algunos casos, un polímero reticulado comprende unidades monoméricas de metacrilato de dietilenglicol, unidades monoméricas de metacrilato de oligoetilenglicol que comprenden de 8 a 9 restos de etilenglicol, y un enlazador que comprende grupos terminales de di(met)acrilato y un resto seleccionado del grupo que consiste en $-CH_2-CH_2-$, $-(CH_2-CH_2-O)_n-CH_2-CH_2-$, donde n es de 4 a 5, y $-NH-CH_2-NH-$. La estructura interna de los microgeles puede depender del reticulante usado. Por ejemplo, las sustancias activas que tienen un peso molecular inferior a 1000 g/mol se pueden encapsular en un copolímero que tiene puentes $-NH-CH_2-NH-$, las sustancias activas que tienen un peso molecular que está entre 1.000 y 4.000 g/mol se pueden encapsular en un copolímero que tiene puentes $-CH_2-CH_2-$, y las sustancias activas que tienen un peso molecular de 4.000 a 10.000 g/mol se pueden encapsular en un copolímero que tiene $-(CH_2-CH_2-O)_n-CH_2-CH_2-$, donde n es de 4 a 5 puentes.

Según una realización, los microgeles de la invención se pueden obtener mediante polimerización por precipitación en fase acuosa de los siguientes monómeros:

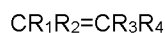
- metacrilato de di(etilenglicol) metil éter,
- un metacrilato de oligo(etilenglicol) metil éter que comprende de 6 a 10 restos de etilenglicol, tal como de 7 a 9 restos de etilenglicol, e incluyendo de 8 a 9 restos de etilenglicol,
- un monómero de ácido (met)acrílico, y
- un comonómero con funcionalidad mucoadhesiva,

en presencia de un agente de reticulación.

En la mezcla monomérica inicial, el metacrilato de di(etilenglicol) metil éter puede estar presente, por ejemplo, del 50 % en moles al 90 % en moles del número total de moles de los monómeros, el metacrilato de oligo(etilenglicol) metil éter puede estar presente preferiblemente del 5 al 50 % en moles del número total de moles de los monómeros, el monómero de ácido (met)acrílico puede estar presente preferiblemente del 0,1 % en moles al 20 % en moles, por ejemplo, en un intervalo del 0,1 al 5 % en moles, del número total de moles de los monómeros, y el comonómero con funcionalidad mucoadhesiva, por ejemplo, dopamina acrilamida, puede estar presente del 0,1 % en moles al 20 % en moles, por ejemplo, en un intervalo del 0,1 al 5 % en moles, del número total de moles de los monómeros, siendo la

suma de estos contenidos igual al 100 %. La relación molar (a:b) entre el metacrilato de di(etilenglicol) metil éter (a) y el metacrilato de oligo(etilenglicol) metil éter (b) puede variar y, en algunos casos, varía entre 1:1 y 20:1, por ejemplo entre 5:1 y 10:1. En el sentido de la invención, el término “entre” excluye los límites numéricos que le siguen. Por el contrario, la expresión “que varía de... a” incluye los límites indicados.

El monómero de metacrilato de di(etilenglicol) metil éter que se usa para preparar el polímero reticulado de la invención representa, por ejemplo, del 80 al 90 % en moles del número total de moles de los tres monómeros, el monómero de metacrilato de oligo(etilenglicol) metil éter representa preferiblemente del 5 al 15 % en moles del número total de moles de los monómeros, y el ácido metacrílico representa preferiblemente del 0,1 al 10 % en moles del número total de moles de los monómeros, siendo la suma de estos tres contenidos igual al 100 %. El monómero de ácido (met)acrílico puede tener la fórmula



en la que R₁, R₂, R₃ y R₄ representan un hidrógeno, un halógeno o un grupo hidrocarburo, comprendiendo al menos uno de los cuatro grupos un grupo -COOH o -COO⁺M⁺, representando M⁺ un catión. El monómero de ácido (met)acrílico puede seleccionarse del grupo que consiste en ácidos metilacrílico, metilmetacrílico, etilacrílico, etilmetacrílico, n-butilacrílico y n-butilmetacrílico, metacrílico, itacónico o acrílico. El ácido metacrílico está presente en algunos casos.

En una realización, la fracción molar de unidades monoméricas de metacrilato de dietilenglicol es del 80 % en moles al 90 % en moles, tal como del 82 % en moles al 86 % en moles, la fracción molar de unidades monoméricas de metacrilato de oligoetilenglicol es del 5 % en moles al 15 % en moles, tal como del 7 % en moles al 11 % en moles, la fracción molar de unidades monoméricas de ácido (met)acrílico es del 2 % en moles al 8 % en moles, tal como del 3 % en moles al 7 % en moles, la fracción molar de unidades monoméricas con mucoadhesivo, por ejemplo, unidades monoméricas de dopamina acrilamida, es del 2 % en moles al 8 % en moles, tal como del 3 % en moles al 7 % en moles, y la fracción molar del enlace cruzado es del 1 al 3 % en moles, siendo las fracciones molares las fracciones molares en el polímero reticulado.

Los microgeles mucoadhesivos como se describen en la presente memoria están cargados con uno o más agentes activos.

Se describen más detalles sobre los microgeles y la fabricación de los mismos que pueden adaptarse incorporando un componente monomérico con funcionalidad mucoadhesiva para producir microgeles mucoadhesivos según las realizaciones de la invención en las Publicaciones de Solicitudes PCT publicadas N.º WO/2016/110615 y WO/2019/077404, así como en la Patente de EE. UU. N.º 10.287.403.

Microgeles mucoadhesivos cargados con agente activo

Los microgeles mucoadhesivos están cargados con un agente activo. Por “cargado” se entiende que las partículas de microgel incluyen una cantidad de uno o más agentes activos. Como tal, una cantidad de agente activo está presente en la partícula de microgel, y puede considerarse atrapada en la partícula de microgel. El término “atrapar” significa que el agente activo está ubicado dentro de la red polimérica del microgel. La red del polímero reticulado puede formar una barrera alrededor de la molécula que se puede suprimir mediante algún cambio físico en la red, por ejemplo, con un desencadenante de variación del pH, un desencadenante de variación de la temperatura o un desencadenante de variación del disolvente. La molécula orgánica atrapada puede no estar unida al polímero reticulado con un enlace covalente. El agente activo atrapado puede tener interacciones electrostáticas, enlaces de Van der Waals o enlaces de hidrógeno con el polímero reticulado, que se pueden acoplar entre enlaces C=C de grupos -OH de las moléculas orgánicas y restos de etilenglicol del polímero reticulado. Si bien la cantidad de agente activo cargado en las partículas de microgel puede variar, en algunos casos, la relación en peso entre el agente activo y el polímero reticulado en el microgel es de 250 microgramos/mg a 10 mg/mg. En algunos casos, la relación en peso entre la sustancia activa y el polímero reticulado es inferior a 10 mg/mg y superior a un límite inferior seleccionado en el grupo que consiste en 250 microgramos/mg, 350 microgramos/mg, 400 microgramos/mg, 450 microgramos/mg, 500 microgramos/mg, 550 microgramos/mg, 600 microgramos/mg, 650 microgramos/mg, 700 microgramos/mg, 750 microgramos/mg, 800 microgramos/mg, 850 microgramos/mg, 900 microgramos/mg y 1 mg/mg. Según una realización, la relación en peso entre la sustancia activa y el polímero reticulado es superior a 550 microgramos/mg.

Pueden cargarse diversos agentes activos en las partículas de microgel. En algunos casos, el agente activo es una molécula pequeña. Los compuestos de moléculas pequeñas sintéticos o de origen natural de interés incluyen numerosas clases químicas, tales como moléculas orgánicas, por ejemplo, compuestos orgánicos pequeños que tienen un peso molecular de más de 50 y menos de aproximadamente 2.500 daltons. Los compuestos pueden incluir grupos funcionales para la interacción estructural con proteínas, particularmente la formación de enlaces de hidrógeno, y típicamente incluyen al menos un grupo amina, carbonilo, hidroxilo o carboxilo, preferiblemente al menos dos de los grupos químicos funcionales. Los agentes candidatos pueden incluir estructuras de carbono cíclicas o heterocíclicas y/o estructuras aromáticas o poliaromáticas sustituidas por uno o más de los grupos funcionales anteriores. Las pequeñas moléculas de interés incluyen, pero sin limitación, fármacos para reducir el acné, antibióticos, antivíricos,

antifúngicos, antineoplásicos, antiangiogénicos, antiarrítmicos, fármacos antiparkinson, anticoagulantes, anticonvulsivos, fármacos antineoplásicos, fármacos antialérgicos, antidepresivos, fármacos antidiabéticos, antihistamínicos, antihipertensivos, fármacos antimigrañosos, antipsicóticos, ansiolíticos, sedantes, hipnóticos, secuestrantes de ácidos biliares, bisfosfonatos, inhibidores de la resorción ósea, broncodilatadores, fármacos hipolipemiantes, fármacos cardiovasculares, fármacos para el sistema nervioso central, agentes quelantes, inhibidores de la absorción de colesterol, anticonceptivos, descongestionantes, agentes dermatológicos, agentes de diagnóstico, radiofármacos, diuréticos, expectorantes, fármacos usados para tratar la dependencia del alcohol, el tabaco y las drogas ilegales, fármacos de ácido fibrótico, fármacos gastrointestinales, anestésicos generales, hormonas de crecimiento, heparinas, antagonistas de heparina, productos a base de hierbas, agentes inmunológicos, inmunosupresores, agentes inotrópicos, interferones, estabilizadores de mastocitos, fármacos para la boca, la nariz y la garganta, relajantes musculares, productos nutricionales, fármacos oftálmicos, fármacos antibióticos, probióticos, fármacos psicoterapéuticos, agentes radiológicos, fármacos respiratorios, hormonas sexuales, agentes espermicidas, estatinas, trombolíticos, fármacos tiroideos, preparaciones vaginales, vitaminas y similares.

En algunos casos, el agente activo es un agente activo de ácido nucleico. Los agentes activos de ácido nucleico pueden variar e incluir, pero sin limitación, ácidos nucleicos que codifican polipéptidos de interés, cuyos ácidos nucleicos pueden estar presentes en un vector. Se pueden usar diversos vectores (por ejemplo, vectores víricos, vectores bacterianos o vectores capaces de replicarse en hospedadores eucariotas y procariotas) según la presente invención. Se conocen en la técnica y están disponibles comercialmente numerosos vectores que pueden replicarse en hospedadores eucariotas y procariotas. En algunos casos, dichos vectores usados según la invención están compuestos por un origen de replicación bacteriano y un promotor eucariota unido operativamente a un ADN de interés. También son de interés los agentes inhibidores de ácidos nucleicos, por ejemplo, ADN, ARN (por ejemplo, agentes de ARNi), ARN/ADN quimérico, ácido nucleico proteico y otros derivados de ácidos nucleicos

En algunos casos, el agente activo es un agente activo peptídico o polipeptídico. Los agentes activos polipeptídicos son polipéptidos que, tras la administración a un sujeto, exhiben una actividad deseada. Como se usa en la presente memoria, el término "polipéptido" se refiere a proteínas de longitud completa, así como a porciones o fragmentos de las mismas que exhiben la actividad deseada. También se incluyen en este término variaciones de las proteínas de origen natural, donde dichas variaciones son homólogas o sustancialmente similares a la proteína de origen natural, como se describe con mayor detalle a continuación, ya sea la proteína de origen natural, la proteína humana, la proteína de ratón o la proteína de alguna otra especie que expresa de forma natural una proteína TIMP. Los polipéptidos de interés pueden variar en términos de longitud de secuencia de aminoácidos y peso molecular. En algunos casos, los polipéptidos tienen una longitud que varía de 175 a 350, tal como de 200 a 250, e incluyendo de 200 a 225 residuos de aminoácidos. Los polipéptidos descritos en la presente memoria pueden obtenerse de fuentes naturales, por ejemplo, mediante técnicas de purificación, sintetizarse químicamente o producirse usando protocolos recombinantes, según se desee.

Los términos "péptido", "oligopéptido" y "polipéptido" se refieren a cualquier compuesto que comprenda polímeros de aminoácidos sintéticos o de origen natural o moléculas similares a aminoácidos, incluyendo, pero sin limitación, compuestos que comprenden moléculas de amino y/o imino. El uso de los términos "péptido", "oligopéptido" o "polipéptido" no implica ningún tamaño en particular y estos términos se usan indistintamente. Dentro de la definición se incluyen, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), polipéptidos con enlaces sustituidos, así como otras modificaciones conocidas en la técnica, tanto de origen natural como de origen no natural (por ejemplo, sintéticos). Por lo tanto, los oligopéptidos sintéticos, los dímeros, los multímeros (por ejemplo, repeticiones en tándem, péptidos unidos linealmente), las moléculas cicladas, ramificadas y similares, se incluyen dentro de la definición. Los términos también incluyen moléculas que comprenden uno o más peptoides (por ejemplo, residuos de glicina N-sustituidos) y otros aminoácidos o péptidos sintéticos. (Véanse, por ejemplo, Patentes de EE. UU. N.º 5.831.005; 5.877.278; y 5.977.301; Nguyen y col. (2000) Chem Biol. 7(7):463-473; y Simon y col. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89(20):9367-9371 para descripciones de peptoides). Las longitudes no limitantes de péptidos adecuados para su uso en la presente invención incluyen péptidos de 3 a 5 residuos de longitud, de 6 a 10 residuos de longitud (o cualquier número entero entre los mismos), de 11 a 20 residuos de longitud (o cualquier número entero entre los mismos), de 21 a 75 residuos de longitud (o cualquier número entero entre los mismos), de 75 a 100 (o cualquier número entero entre los mismos), o polipéptidos de más de 100 residuos de longitud. Típicamente, los polipéptidos útiles en la presente invención pueden tener una longitud máxima adecuada para la aplicación prevista. Preferiblemente, el polipéptido tiene una longitud de entre aproximadamente 3 y 100 residuos. Generalmente, un experto en la técnica puede seleccionar fácilmente la longitud máxima en vista de las enseñanzas de la presente memoria. Además, los péptidos y polipéptidos, como se describen en la presente memoria, por ejemplo, los péptidos sintéticos, pueden incluir moléculas adicionales, tales como marcadores u otros restos químicos.

Por lo tanto, las referencias a polipéptidos o péptidos también incluyen derivados de las secuencias de aminoácidos de la invención que incluyen uno o más aminoácidos que no son de origen natural. Un primer polipéptido o péptido "procede de" un segundo polipéptido o péptido si (i) está codificado por un primer polinucleótido procedente de un segundo polinucleótido que codifica el segundo polipéptido o péptido, o (ii) muestra identidad de secuencia con el segundo polipéptido o péptido como se describe en la presente memoria. La identidad de secuencia (o porcentaje) se puede determinar como se describe a continuación. Preferiblemente, los derivados muestran al menos

aproximadamente un 50 % de identidad, más preferiblemente al menos aproximadamente un 80 %, e incluso más preferiblemente entre aproximadamente un 85 % y un 99 % (o cualquier valor entre los mismos) con la secuencia de la que se obtuvieron. Dichos derivados pueden incluir modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido o péptido, por ejemplo, glicosilación, acetilación, fosforilación y similares.

Los derivados de aminoácidos también pueden incluir modificaciones de la secuencia natural, tales como deleciones, adiciones y sustituciones (generalmente de naturaleza conservadora), siempre que el polipéptido o péptido mantenga la actividad deseada (por ejemplo, promover la proliferación de células epiteliales y la curación de heridas). Estas modificaciones pueden ser deliberadas, como a través de mutagénesis de sitio dirigido, o pueden ser accidentales, tales como a través de mutaciones de los hospedadores que producen las proteínas o errores debidos a la amplificación por PCR.

Por "fragmento" se entiende una molécula que consiste únicamente en una parte de la secuencia y la estructura de longitud completa intactas. El fragmento puede incluir una deleción en el extremo C, una deleción en el extremo N y/o una deleción interna del polipéptido. Los fragmentos activos de una proteína o polipéptido particular generalmente incluirán al menos aproximadamente 5-14 residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud completa, pero pueden incluir al menos aproximadamente 15-25 residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud completa, y pueden incluir al menos aproximadamente 20-50, 60-90, o más residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud completa, o cualquier número entero entre 5 aminoácidos y la secuencia de longitud completa, siempre que el fragmento en cuestión conserve la actividad biológica, tal como la actividad HB-EGF, como se define en la presente memoria (por ejemplo, la capacidad de unirse a y activar un receptor de EGF y promover la proliferación de células epiteliales y/o la curación de heridas).

Como tal, los agentes terapéuticamente activos incluyen hormonas, receptores, citocinas, factores hematopoyéticos, factores de crecimiento, factores antiobesidad, factores tróficos, factores antiinflamatorios, proteínas, polipéptidos, anticuerpos, enzimas y similares. Los agentes activos polipeptídicos/proteicos de interés incluyen, pero sin limitación, oxitocina, vasopresina, hormona adrenocorticotrópica, factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento epidérmico de unión a heparina, prolactina, luliberina, hormona del crecimiento, factor liberador de la hormona del crecimiento, insulina, somatostatina, glucagón, interleucina-2, interferón-alfa, interferón-beta, interferón-gamma, gastrina, tetragastrina, pentagastrina, urogastrona, secretina, calcitonina, encefalinas, endorfinas, angiotensinas, hormona liberadora de tirotrópina, factor de necrosis tumoral, factor de crecimiento nervioso, factor estimulante de colonias de granulocitos, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, factor estimulante de colonias de macrófagos, heparinasa, proteína morfogénica ósea, hANP, péptido similar a glucagón, interleucina-11, renina, bradiquinina, bacitracinas, polimixinas, colistinas, tirocidina, gramicidinas, ciclosporina, enzimas, citocinas, anticuerpos monoclonales, vacunas y similares.

Los microgeles mucoadhesivos cargados con agente activo de la invención se pueden preparar según las etapas de:

- preparar una dispersión de partículas de microgel no cargadas en agua,
- preparar una solución del agente activo,
- mezclar la dispersión y la solución provocando la encapsulación del agente activo en las partículas de microgel, y
- recuperar las partículas de microgel cargadas con agente activo.

Las partículas de microgel no cargadas se preparan, por ejemplo, mediante un método de polimerización por precipitación que comprende una etapa de poner en contacto en una fase acuosa, en presencia de un agente de reticulación, los monómeros descritos anteriormente, a una temperatura de entre 40 °C y 90 °C, tal como del orden de 70 °C. El proceso de la invención no requiere la presencia de un tensioactivo, tal como SDS (dodecilsulfato de sodio), y la polimerización puede iniciarse mediante la adición de un iniciador de radicales soluble en agua, por ejemplo, persulfato de potasio (KPS).

Las moléculas de agente activo se pueden encapsular en microgeles que están en forma de una dispersión acuosa, o en microgeles que se han preparado en forma de una película según la descripción anterior, en una etapa anterior. La etapa de mezcla de la solución de sustancia activa y la dispersión de microgel no cargada comprende preferiblemente una etapa de calentamiento a una temperatura que es superior a la temperatura de transición de fase de volumen de las partículas de microgel no cargadas, y una etapa de enfriamiento de la dispersión obtenida de microgeles cargados a temperatura ambiente (25 °C).

La solución de alimentación del agente activo se puede obtener por disolución de una cantidad determinada de la sustancia activa en un disolvente apropiado tal como agua o un disolvente que sea miscible con agua, tal como alcoholes. Los alcoholes pueden ser etanol, propilenglicol, butilenglicol. También se pueden usar otros disolventes tales como isododecano, isohexadecano o decametilciclopentasiloxano. Un disolvente polar que sea soluble o miscible con agua puede ser particularmente ventajoso para mejorar la cantidad de carga de la sustancia activa en los

microgeles. La disolución completa de una cantidad determinada de la sustancia activa en el disolvente se puede realizar a una temperatura que va desde la temperatura ambiente hasta una temperatura que está por encima de la temperatura de transición de fase de volumen de las partículas de microgel no cargadas.

5 En una realización particular, una dispersión de partículas de microgel no cargadas en agua (0,1 a 10 mg de partículas/ml de agua) se calienta a una temperatura de proceso. Una solución del agente activo en un disolvente (0,5-125 mM o 0,5-2,5 mM) se calienta también a esta temperatura de proceso y, a continuación, se mezcla con la dispersión acuosa de partículas de microgel no cargadas con agitación mientras se mantiene la misma temperatura. La temperatura de proceso puede ser una temperatura que sea mayor o menor que la VPTT de las partículas de microgel no cargadas, estando las partículas respectivamente en estado de colapso o hinchado. Por ejemplo, la temperatura de proceso es 10 °C o superior, tal como 15 °C o superior, con respecto a la VPTT, o 10 °C o inferior, tal como 15 °C o inferior con respecto a la VPTT. La eliminación del disolvente y la eliminación de las moléculas de sustancia activa que no han quedado atrapadas en las partículas de microgel se pueden realizar posteriormente, con el fin de obtener microgeles según la invención. La eliminación de las moléculas activas que no han quedado atrapadas se puede realizar mediante filtrado y/o centrifugación.

En realizaciones, los microgeles mucoadhesivos presentan una alta eficiencia de atrapamiento para los agentes activos. La eficiencia de atrapamiento (% de EA) se define como la relación entre el peso del agente activo que está atrapado en los microgeles cargados y la cantidad del agente activo que está contenido en la solución de alimentación. La eficiencia de atrapamiento (% de EA) también se puede definir como la relación A/B de la cantidad de sustancia atrapada (A) y la cantidad de sustancia de alimentación (B), como se ha definido en la presente memoria anteriormente. La “cantidad de agente activo en la solución de alimentación” - también denominada “la cantidad de agente activo de alimentación” en la siguiente descripción - es el peso del agente activo en la solución de alimentación (en pg o mg) por 1 mg de partículas de microgel no cargadas que se usan para atrapar la sustancia activa. La unidad de cantidad de agente activo de alimentación puede escribirse de forma más corta “mg/mg” o “microgramo/mg”. Las realizaciones permiten una alta eficiencia de atrapamiento % de EA del agente activo, lo que significa que una proporción muy alta de la cantidad inicial de agente activo que se mezcla con partículas de microgel no cargadas (en forma de una dispersión acuosa de partículas de microgel, o en forma de una película de partículas de microgel ensambladas) se atrapa con éxito dentro de las partículas de microgel. En algunos casos, el % de EA es superior a un límite superior seleccionado en el grupo del 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, cuando la cantidad del agente activo en la sustancia de alimentación es de 500 microgramos/(1 mg de microgeles no cargados) a 10 mg/(1 mg de microgeles no cargados). En algunos casos, la eficiencia de atrapamiento (% de EA) varía desde un límite inferior seleccionado en el grupo que consiste en el 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, hasta un límite superior del 100 %.

En algunos casos, los microgeles mucoadhesivos cargados con agente activo de la invención proporcionan una liberación continua de su carga útil de agente activo fuera de los microgeles, cuya liberación se puede observar durante 6 horas o más, tal como 12 horas o más, incluyendo 24 horas o más o incluso 48 horas o más. Al final de este período, la liberación puede detenerse y un porcentaje máximo de liberación total del agente activo puede ser inferior al 100 % y superior a un valor seleccionado en el grupo que consiste en el 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 90 % y el 95 %.

Se describen más detalles sobre los microgeles y la fabricación de los mismos que pueden adaptarse incorporando un componente monomérico con funcionalidad mucoadhesiva para producir microgeles mucoadhesivos según las realizaciones de la invención en las Publicaciones de Solicitudes PCT publicadas N.º WO/2016/110615 y WO/2019/077404, así como en la Patente de EE. UU. N.º 10.287.403.

Microgeles mucoadhesivos de factor de crecimiento epidérmico de unión a heparina (HB-EGF)

50 En algunas realizaciones, el agente activo que se carga en los microgeles mucoadhesivos es un agente activo de HB-EGF. Los agentes activos de HB-EGF son compuestos que exhiben la actividad de HB-EGF deseada. En la práctica de la invención puede usarse cualquier forma de HB-EGF, incluida la forma inmadura de proproteína de HB-EGF y diversas formas activas de HB-EGF producidas por procesamiento proteolítico de la proproteína, incluidas las formas ancladas a la membrana y solubles de HB-EGF, así como fragmentos biológicamente activos, variantes, análogos y derivados de los mismos que conservan la actividad biológica de HB-EGF (por ejemplo, promueven la proliferación de células epiteliales y la curación de heridas). El HB-EGF para su uso en los métodos de la invención puede ser natural, obtenido mediante técnicas recombinantes o producido sintéticamente, y puede proceder de cualquier fuente. Las secuencias representativas de HB-EGF humano se enumeran en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), incluidas las secuencias de HB-EGF de varias especies diferentes. Véanse, por ejemplo, las entradas del NCBI:

N.º de registro: L17032, L1703, NP_001936, NM_001945, NP_037077, NP_990180, NP_001_137562, NP_034545, NP_001104696, NP_001093871, XP_003829241, XP_005425426, NP_001244398, XP_014126447, XP_014131937, XP_013998941, XP_005523504, XP_005617336, XP_005617335, XP_005617334, XP_005617333, XP_848614, XP_013914901, XP_013821061, XP_013809984, XP_005382088, XP_005382087, XP_005503713, XP_005327340, XP_005356014, XP_005238935, XP_013047270, XP_012996694, XP_010869528, XP_005065318, XP_003477196,

XP_012956154, XP_004841917, XP_004744871, XP_012875794, XP_004696718, XP_004652486, XP_002937773, XP_004610052, XP_004586534, XP_004586533, XP_012697566, XP_003782186, XP_012604548, XP_004686855, XP_012501863, XP_012501862, XP_012501861, XP_004397849, XP_002190931, XP_004280331, XP_003756676, XP_004643289, XP_004477893, XP_00326651 1, XP_012327017, XP_012006016, XP_012006015, XP_012006014, XP_012006013, XP_004008912, XP_011714646, NP_001158639, NP_001273220.

Cualquiera de estas secuencias, o un fragmento biológicamente activo de las mismas, o una variante de las mismas que comprenda una secuencia que tenga al menos aproximadamente un 70-100 % de identidad de secuencia con las mismas, incluyendo cualquier porcentaje de identidad dentro de este intervalo, tal como un 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o un 99 % de identidad de secuencia con las mismas, se puede usar para producir una composición que comprenda HB-EGF como se describe en la presente memoria. De forma adicional, el HB-EGF puede comprender modificaciones postraduccionales, tales como glicosilación o fosforilación. Aunque se puede utilizar cualquier fuente de HB-EGF para poner en práctica la invención, preferiblemente el HB-EGF procede de una fuente humana, en particular cuando el sujeto sometido a terapia es humano. Se proporcionan detalles adicionales sobre los agentes activos de HB-EGF y la preparación de los mismos que pueden emplearse en realizaciones de la presente invención en las Solicitudes de Patente Publicadas de Estados Unidos N.º 20170232065 y 20180256684.

Composiciones farmacéuticas

Los microgeles mucoadhesivos cargados con agente activo tales como los descritos anteriormente pueden combinarse con uno o más componentes adicionales para producir una composición farmacéutica adecuada para su suministro a un sujeto. Los microgeles mucoadhesivos cargados con agente activo se pueden formular en composiciones farmacéuticas que comprenden opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes de ejemplo incluyen, sin limitación, hidratos de carbono, sales inorgánicas, agentes antimicrobianos, antioxidantes, tensioactivos, tampones, ácidos, bases y combinaciones de los mismos. Los excipientes de hidratos de carbono específicos incluyen, por ejemplo: monosacáridos, tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa, y similares; disacáridos, tales como lactosa, sacarosa, trehalosa, celobiosa y similares; polisacáridos, tales como rafinosa, melecitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones y similares; y alditoles, tales como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol, sorbitol (glucitol), piranosil sorbitol, mioinositol y similares. El excipiente también puede incluir una sal inorgánica o un tampón tal como ácido cítrico, cloruro de sodio, cloruro de potasio, sulfato de sodio, nitrato de potasio, fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio dibásico y combinaciones de los mismos. Los ejemplos no limitantes de agentes antimicrobianos adecuados para la presente invención incluyen cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, alcohol bencílico, cloruro de cetilpiridinio, clorbutanol, fenol, alcohol feniletílico, nitrato fenilmercúrico, timerosal y combinaciones de los mismos. Los antioxidantes se usan para prevenir la oxidación, previniendo así el deterioro del agente activo (por ejemplo, HB-EGF) u otros componentes de la preparación. Los antioxidantes adecuados para su uso en la presente invención incluyen, por ejemplo, palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido hipofosforoso, monotioglicerol, galato de propilo, bisulfito de sodio, formaldehído sulfoxilato sódico, metabisulfito de sodio, y combinaciones de los mismos. Los tensioactivos de ejemplo incluyen: polisorbatos, tales como "Tween 20" y "Tween 80", y plurónicos tales como F68 y F88 (BASF, Mount Olive, Nueva Jersey); ésteres de sorbitán; lípidos, tales como fosfolípidos tales como lecitina y otras fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas (aunque preferiblemente no en forma liposomal), ácidos grasos y ésteres grasos; esteroides, tales como colesterol; agentes quelantes, tales como EDTA; y cinc y otros cationes adecuados similares. Los ejemplos no limitantes de ácidos que se pueden usar incluyen los ácidos seleccionados del grupo que consiste en ácido clorhídrico, ácido acético, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido málico, ácido láctico, ácido fórmico, ácido trifluoroacético, ácido nítrico, ácido perclórico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, y combinaciones de los mismos. Los ejemplos de bases adecuadas incluyen, sin limitación, bases seleccionadas del grupo que consiste en hidróxido de sodio, acetato de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, acetato de amonio, acetato de potasio, fosfato de sodio, fosfato de potasio, citrato de sodio, formiato de sodio, sulfato de sodio, sulfato de potasio, fumarato de potasio y combinaciones de los mismos.

La cantidad de agente activo, por ejemplo, HB-EFG, en la composición farmacéutica variará dependiendo de una serie de factores, pero será óptimamente una dosis terapéuticamente eficaz cuando la composición esté en una forma farmacéutica unitaria o un recipiente (por ejemplo, un vial). Una dosis terapéuticamente eficaz se puede determinar experimentalmente mediante la administración repetida de cantidades crecientes de la composición para determinar qué cantidad produce un extremo clínicamente deseado.

La cantidad de cualquier excipiente individual en la composición variará dependiendo de la naturaleza y función del excipiente y las necesidades particulares de la composición. Típicamente, la cantidad óptima de cualquier excipiente individual se determina mediante experimentación de rutina, es decir, preparando composiciones que contienen cantidades variables del excipiente (que varían desde bajas a altas), examinando la estabilidad y otros parámetros, y a continuación determinando el intervalo en el que se logra el rendimiento óptimo sin efectos adversos significativos. Generalmente, sin embargo, el uno o más excipientes estarán presentes en la composición en una cantidad de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 99 % en peso, preferiblemente de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 98 % en peso, más preferiblemente de aproximadamente el 15 a aproximadamente el 95 % en peso del excipiente, siendo las concentraciones inferiores al 30 % en peso las más preferidas. Estos excipientes

farmacéuticos anteriores junto con otros excipientes se describen en “Remington: The Science & Practice of Pharmacy”, 19.^a ed., Williams & Williams, (1995), “Physician's Desk Reference”, 52.^a ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), y Kibbe, A.H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3.^a edición, American Pharmaceutical Association, Washington, D.C., 2000.

5 Las composiciones abarcan todos los tipos de formulaciones, incluyendo composiciones farmacéuticas líquidas, soluciones y suspensiones, por ejemplo, para suministro oral, tópico o localizado. En algunos casos, la composición es una formulación de enjuague bucal o aerosol.

10 En algunos casos, las composiciones pueden incluir uno o más componentes mucoadhesivos adicionales. En tales casos, los microgeles pueden combinarse con, pero no unirse covalentemente a, el uno o más agentes poliméricos mucoadhesivos adicionales. Los componentes mucoadhesivos adicionales de interés incluyen, pero sin limitación: agentes poliméricos mucoadhesivos, que pueden ser agentes poliméricos de origen natural o sintéticos. Como tal, los agentes poliméricos mucoadhesivos incluyen los seleccionados del grupo que consiste en agentes poliméricos mucoadhesivos de origen natural, agentes poliméricos mucoadhesivos sintéticos y combinaciones de los mismos. Los agentes de origen natural incluyen, pero sin limitación, polisacáridos, por ejemplo, almidones, quitosano, heparina, polímeros y similares. Los agentes que no se producen de forma natural incluyen, pero sin limitación, plurónicos (es decir, poloxámeros), polímeros, péptidos, peptoides y similares. Cuando están presentes, la cantidad de dichos agentes poliméricos mucoadhesivos adicionales puede variar, variando en algunos casos del 1 % al 50 % de la solución total.

20 Las composiciones de la presente memoria pueden incluir opcionalmente uno o más agentes activos adicionales, según se desee. Por ejemplo, las composiciones mucoadhesivas, por ejemplo, como se han descrito anteriormente, pueden combinarse con uno o más agentes activos adicionales, tales como otros fármacos para tratar la cavidad oral y la orofaringe antes, durante y/o después de la quimioterapia o la radioterapia. Por ejemplo, pueden prepararse y usarse preparaciones que incluyen HB-EGF y uno o más fármacos adicionales para tratar una herida posoperatoria, tales como, pero sin limitación, agentes analgésicos, agentes anestésicos, antibióticos, agentes antiinflamatorios, sustancias que aumentan la adherencia neopitelial u otros factores de crecimiento u otros agentes que promueven la curación de heridas. Como alternativa, dichos agentes pueden estar contenidos en una composición separada de la composición que comprende HB-EGF y coadministrarse de forma concomitante, antes o después de la composición que comprende HB-EGF.

Composiciones para uso en los métodos

35 Los aspectos de la invención incluyen además composiciones para su uso en métodos para administrar microgeles mucoadhesivos, tales como microgeles mucoadhesivos cargados con agente activo (por ejemplo, microgeles mucoadhesivos cargados con HB-EGF) a un sujeto. En general, las composiciones para su uso en métodos de la invención incluyen el suministro de una cantidad de un microgel mucoadhesivo, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente, tal como en forma de una composición farmacéutica, a una ubicación de un sujeto. En algunos casos, los métodos incluyen la administración por vía oral de la composición a un sujeto que la necesite, por ejemplo, de modo que la composición y las partículas de microgel en la misma entren en contacto con una o ambas de la cavidad oral y la orofaringe. En la puesta en práctica de los métodos, se administrará a un sujeto al menos un ciclo terapéuticamente eficaz de tratamiento con una composición. Un ciclo de tratamiento dado puede incluir la administración de una o más dosificaciones, donde las dosificaciones pueden administrarse según una pauta posológica prescrita, que puede variar, por ejemplo, de 1 a 4 veces al día, durante 1 o más días, por ejemplo, 1 o más semanas, etc.

50 Como se ha descrito anteriormente, en algunos casos, el agente activo es HB-EGF. En algunos casos, se administrará al menos un ciclo terapéuticamente eficaz de tratamiento con una composición de microgel mucoadhesiva que comprende HB-EGF a un sujeto que lo necesite, por ejemplo, que necesite tratamiento/prevención para la mucositis oral inducida por terapia, por ejemplo, asociada a radioterapia o quimioterapia; que necesite tratamiento para el tratamiento/prevención de enfermedad epitelial oral donde el daño al ADN es la causa subyacente; que necesite tratamiento/prevención para la mucositis del tubo aerodigestivo superior o donde el daño al ADN es la causa subyacente; etc. En ejemplos de tales realizaciones, los métodos son métodos para modular la mucositis oral en un sujeto, donde por modulación se entiende prevenir la aparición de mucositis o tratar la mucositis, por ejemplo, reduciendo la gravedad de la mucositis, mejorando la recuperación de la mucositis, etc.

60 Por “ciclo de tratamiento terapéuticamente eficaz” se entiende un ciclo de tratamiento que, cuando se administra, produce una respuesta terapéutica positiva con respecto al tratamiento de un individuo que recibe quimioterapia, radioterapia o una combinación de ambas. En algunas realizaciones, resulta de interés un ciclo de tratamiento con una composición que comprenda HB-EGF que mejora la curación de heridas y la regeneración epitelial cuando se aplica después de la quimioterapia, la radioterapia o una combinación de ambas. La mejora de la curación de heridas y la regeneración epitelial puede incluir el aumento de la velocidad con la que se cura una herida en la cavidad oral o la rapidez con la que se regenera la capa epitelial en la cavidad oral, según se evalúa en relación con el área epitelial total en la cavidad oral medida, o la rapidez con la que crecen los queratinocitos en la cavidad oral, según se evalúa por el grosor de la capa de queratina. La curación de heridas mejorada y la regeneración epitelial también pueden incluir la disminución de la profundidad o el tamaño de la herida que puede desarrollarse dentro de la cavidad oral, la

disminución del número de heridas (úlceras por mucositis) que se desarrollan, o la disminución de la gravedad de una herida, o la reducción de la extensión de la cicatriz residual o la formación de tejido queloide o necrótico. De forma adicional, una dosis o cantidad terapéuticamente eficaz puede reducir o prevenir la hemorragia posoperatoria.

5 En determinadas realizaciones, se administrarán múltiples dosis terapéuticamente eficaces de composiciones que comprenden HB-EGF y/o uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales, tales como otros factores de crecimiento o fármacos o agentes para tratar una herida, u otros medicamentos. Las composiciones de la presente invención se administran típicamente, aunque no necesariamente, por vía oral, mediante inyección transepitelial, por vía tópica o de forma local.

10 Las composiciones que comprenden HB-EGF y/o uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales pueden administrarse directamente sobre la superficie de una herida dentro de la cavidad oral o adyacente a una herida. Por ejemplo, la composición puede administrarse rociándola sobre la herida, como una pasta tópica. La composición también puede añadirse a los apósitos para heridas. Como alternativa, la composición puede administrarse por vía oral como lavado, gárgaras o enjuague. La composición particular y el método de administración apropiado se eligen para dirigir el agente activo, por ejemplo, HB-EGF, al sitio que necesita regeneración epitelial y curación de la herida.

15 La preparación farmacéutica de la composición que comprende HB-EGF y/o uno o más agentes terapéuticamente activos puede ser líquida o semisólida, una solución o suspensión, una emulsión, un jarabe, una crema, un ungüento, una loción, un parche, un comprimido, una cápsula, un polvo, un gel, una matriz, un supositorio o similares. Las composiciones farmacéuticas que comprenden HB-EGF y otros agentes pueden administrarse usando la misma o diferentes vías de administración según cualquier método médicamente aceptable conocido en la técnica.

20 En otra realización, las composiciones farmacéuticas que comprenden HB-EGF y/u otros agentes se administran de forma profiláctica con la intención de prevenir o mitigar el desarrollo de mucositis oral asociada a radioterapia o quimioterapia antes de una o más rondas de quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas. Dichos usos profilácticos serán de particular valor para sujetos que padecen una afección que perjudica o ralentiza la curación de una herida que da como resultado el contexto de mucositis oral asociada a radioterapia o quimioterapia, y también serán de valor para sujetos sin curación de heridas afectada de otro modo.

25 En otra realización, las composiciones farmacéuticas que comprenden HB-EGF y/u otros agentes se administran de forma concomitante, por ejemplo, al mismo tiempo que se aplican una o más rondas de quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas, a un sujeto con la intención de prevenir o mitigar el desarrollo de mucositis oral asociada a radioterapia o quimioterapia. En algunas realizaciones, la administración concomitante de las composiciones farmacéuticas que comprenden HB-EGF y/u otros agentes va seguida de una o más administraciones de composiciones farmacéuticas que comprenden HB-EGF y/u otros agentes según una pauta de tratamiento definida después de que se completa la quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas.

30 En otra realización, las composiciones farmacéuticas que comprenden HB-EGF y/u otros agentes se administran a) antes de una o más rondas de quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas, b) de forma concomitante, por ejemplo, al mismo tiempo que se aplican una o más rondas de quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas, a un sujeto, y/o c) después de que se completa la quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas.

35 En otra realización, las composiciones farmacéuticas que comprenden HB-EGF y/u otros agentes se administran a) antes de una o más rondas de quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas, y b) de forma concomitante, por ejemplo, al mismo tiempo que se aplican una o más rondas de quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas, a un sujeto.

40 En otra realización, las composiciones farmacéuticas que comprenden HB-EGF y/u otros agentes se administran a) de forma concomitante, por ejemplo, al mismo tiempo que se aplican una o más rondas de quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas, a un sujeto, y b) después de que se completa la quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas.

45 En otra realización, las composiciones farmacéuticas que comprenden HB-EGF y/u otros agentes se administran a) antes de una o más rondas de quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas, y b) después de que se completa la quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas.

50 En otra realización, las composiciones farmacéuticas que comprenden HB-EGF y/u otros agentes se administran después de que se completa la quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas.

55 Los expertos en la técnica apreciarán qué condiciones puede tratar eficazmente el HB-EGF. La dosis real que se administrará variará dependiendo de la edad, el peso y el estado general del sujeto, así como de la gravedad de la afección que se esté tratando, el criterio del profesional de la salud y la composición o conjugado que se esté administrando. Los expertos en la técnica pueden determinar las cantidades terapéuticamente eficaces, y se ajustarán a los requisitos particulares de cada caso particular. La cantidad de HB-EGF dentro de una composición o conjugado

60

65

administrado dependerá de la potencia de la forma particular de HB-EGF (por ejemplo, HB-EGF maduro o pro-HB-EGF), la magnitud de su efecto sobre la curación de heridas y la regeneración epitelial, y la vía de administración.

5 Las composiciones que comprenden HB-EGF, preparadas como se describe en la presente memoria (de nuevo, preferiblemente proporcionadas como parte de una preparación farmacéutica), se pueden administrar solas o en combinación con uno o más agentes terapéuticamente activos para tratar una herida en el contexto de la mucositis oral asociada a radioterapia o quimioterapia, tales como, pero sin limitación, agentes analgésicos, agentes anestésicos, antibióticos, agentes antiinflamatorios, sustancias que disminuyen la neovascularización, sustancias que aumentan la adherencia neoepitelial u otros factores de crecimiento, u otros agentes que promueven la curación de heridas, u otros medicamentos usados para tratar una afección o enfermedad particular según una diversidad de pautas posológicas que dependen del criterio del médico, las necesidades del paciente, etc. La pauta posológica específica será conocida por los expertos en la técnica o puede determinarse experimentalmente usando métodos rutinarios. Las pautas posológicas de ejemplo incluyen, sin limitación, la administración varias veces al día, incluyendo, pero sin limitación, cinco veces al día, cuatro veces al día, tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, tres veces a la semana, dos veces a la semana, una vez a la semana, dos veces al mes, una vez al mes y cualquier combinación de las mismas. Las composiciones preferidas son las que requieren una administración no más de una vez al día.

20 Las composiciones que comprenden HB-EGF pueden administrarse antes, concomitante con o después de otros agentes. Si se proporciona al mismo tiempo que otros agentes, el HB-EGF se puede proporcionar en la misma composición o en una diferente. Por lo tanto, el HB-EGF y uno o más agentes adicionales pueden presentarse al individuo a modo de terapia concomitante. Por "terapia concomitante" se entiende la administración a un sujeto de manera que el efecto terapéutico de la combinación de las sustancias se produzca en el sujeto sometido a terapia. Por ejemplo, la terapia concomitante puede lograrse administrando una dosis de una composición farmacéutica que comprende HB-EGF y una dosis de una composición farmacéutica que comprende al menos otro agente, tal como otro factor de crecimiento o fármaco para tratar una herida dentro de la cavidad oral, que en combinación comprenden una dosis terapéuticamente eficaz, según una pauta posológica particular. De manera similar, el HB-EGF y uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales pueden administrarse en al menos una dosis terapéutica. La administración de las composiciones farmacéuticas separadas se puede realizar simultáneamente o en diferentes momentos (es decir, secuencialmente, en cualquier orden, en el mismo día o en días diferentes), siempre que el efecto terapéutico de la combinación de estas sustancias se produzca en el sujeto sometido a terapia.

Kits

35 La invención también proporciona kits que comprenden uno o más envases, por ejemplo, recipientes, que contienen composiciones de microgel mucoadhesivas, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente. La composición de microgel mucoadhesiva puede incluir cualquier tipo de agente terapéuticamente activo deseado, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente. En algunos casos, los kits incluyen una composición de microgel mucoadhesiva cargada con HB-EGF, y opcionalmente uno o más fármacos adicionales, por ejemplo, para tratar una afección determinada, tales como heridas en la cavidad oral y orofaringe antes, durante y/o después de la quimioterapia o radioterapia, o una combinación de ambas, tal como, pero sin limitación, agentes analgésicos, agentes anestésicos, antibióticos, agentes antiinflamatorios, sustancias que disminuyen la neovascularización, sustancias que aumentan la adherencia neoepitelial u otros factores de crecimiento, u otros agentes que promueven la curación de heridas. Los recipientes pueden estar formados a partir de una diversidad de materiales, incluidos vidrio o plástico. Un recipiente puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón que es perforable por una aguja de inyección hipodérmica).

50 El kit también puede comprender un prospecto que contenga instrucciones escritas que describan métodos para el cuidado de una herida en la cavidad oral o herida orofaríngea debido a mucositis oral asociada a radioterapia y quimioterapia como se describe en la presente memoria. El prospecto puede ser un borrador de prospecto no aprobado o puede ser un prospecto aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) u otro organismo regulador.

Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración y no de limitación.

Experimentos

55 Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la técnica una descripción y divulgación completas de cómo realizar y usar la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención ni tienen la intención de representar que los experimentos a continuación son todos o los únicos experimentos realizados. Se han hecho esfuerzos para asegurar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio en peso, la temperatura está en grados centígrados y la presión es igual o cercana a la atmosférica.

65 Se pueden encontrar métodos generales en bioquímica molecular y celular en libros de texto estándar como Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3.^a Ed. (Sambrook y col., HaRBor Laboratory Press 2001); Short Protocols in Molecular

Biology, 4.^a Ed. (Ausubel y col. eds., John Wiley & Sons 1999); Protein Methods (Bollag y col., John Wiley & Sons 1996); Nonviral Vectors for Gene Therapy (Wagner y col. eds., Academic Press 1999); Viral Vectors (Kaplift & Loewy eds., Academic Press 1995); Immunology Methods Manual (I. Lefkovits ed., Academic Press 1997); y Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures in Biotechnology (Doyle & Griffiths, John Wiley & Sons 1998).

Los reactivos, vectores de clonación, células y kits para los métodos a los que se hace referencia en esta descripción o que están relacionados con la misma están disponibles en proveedores comerciales tales como BioRad, Agilent Technologies, Thermo Fisher Scientific, Sigma-Aldrich, New England Biolabs (NEB), Takara Bio USA, Inc., y similares, así como en repositorios tales como, por ejemplo, Addgene, Inc., Colección Americana de Cultivos Tipos (ATCC), y similares.

I. Fabricación de microgel mucoadhesivo

A. Síntesis de dopamina acrilamida (DA)

La dopamina-acrilamida (DA) se sintetizó y se caracterizó siguiendo el procedimiento descrito por Patil y col. (N. Patil, C. Falentin-Daudré, C. Jérôme, C. Detrembleur, Polym. Chem., 2015, 6, 2919-2933) con algunas modificaciones. En resumen, se disolvieron 31,6 mmol de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ y 47,2 mmol de Na_2CO_3 en 475 ml de agua de calidad "Milli-Q" y la solución se desgasificó mediante burbujeo con nitrógeno durante 1 h. Se añadieron 15,8 mmol de clorhidrato de dopamina en atmósfera de nitrógeno y se dejó que la mezcla continuara agitándose durante 30 minutos. A continuación, la solución se enfrió a 0 °C y se añadieron gota a gota 63,2 mmol de cloruro de acrilóilo. Para mantener la solución por encima del pH 9, se añadieron 84,9 mmol de Na_2CO_3 y la solución se agitó durante 12 h a temperatura ambiente. Después de esto, se añadió HCl a la solución acidificada a un pH de 1-2 y se dejó continuar agitando durante 1 h en un recipiente abierto. La mezcla se extrajo 5 veces con acetato de etilo y la solución orgánica de color parduzco obtenida de la extracción se recogió y se secó sobre Na_2SO_4 . Posteriormente, el volumen de la solución se redujo por evaporación rotatoria y se precipitó DA con hexano. La suspensión formada se almacenó en el frigorífico durante la noche para facilitar la cristalización. Finalmente, el sólido obtenido por filtración de la suspensión se secó en una estufa de vacío durante una noche a temperatura ambiente. La síntesis se ilustra en la figura 1A.

B. Síntesis de microgel a base de DA

Los microgeles se sintetizaron mediante polimerización por precipitación en un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 250 ml. Brevemente, en un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 250 ml se pusieron 83,90 mmol de MeO_2MA (metacrilato de di(etilenglicol) metil éter), 0,573 mmol de OEGMA₇₋₈ (metacrilato de oligo(etilenglicol) metil éter), 0,117 mmol de OEGDA₄₋₅ (diacrilato de poli(etilenglicol)) y 57,5 g de agua de calidad "Milli-Q". Véase la figura 1B para las estructuras y la figura 1C para el esquema de síntesis. El contenido del reactor se agitó a 150 rpm y se purgó con nitrógeno durante 45 min para eliminar el oxígeno a temperatura ambiente. A continuación, se añadieron al reactor de vidrio encamisado 0,305 mmol de MAA (ácido metacrílico) disuelto en 2 ml de agua de calidad "Milli-Q" y el 3 % en moles de DA disueltos en 2 ml de etanol y la mezcla se calentó hasta 70 °C. Tras añadir el iniciador (14,3 mg de peroxidisulfato de potasio (KPS) disuelto en 2,5 ml de agua desgasificada), la reacción de polimerización se dejó continuar en una atmósfera de nitrógeno mientras se agitó durante 6 h.

A continuación, la mezcla de reacción se enfrió posteriormente a 25 °C manteniendo la agitación, y la dispersión final se purificó mediante varios ciclos de centrifugación-redispersión (10.000 rpm, 30 min) con agua de calidad "Milli-Q". Después de la centrifugación, el sobrenadante se descartó para obtener el microgel mucoadhesivo.

La figura 1D proporciona fotografías de microscopía electrónica de barrido de los microgeles mucoadhesivos liofilizados preparados como se ha descrito anteriormente. En la figura 1D, panel izquierdo, las flechas de color rojo muestran ganchos adhesivos del material; el panel central muestra un primer plano de los ganchos; el panel derecho, los hidrogeles hidratados muestran estructuras redondeadas.

II. Producción de microgeles mucoadhesivos cargados con HB-EGF

Los microgeles mucoadhesivos purificados producidos como se ha descrito anteriormente se combinaron con 100 µg/ml de HB-EGF humano. La mezcla resultante se mantuvo durante horas y se observó que la eficiencia de encapsulación era del 93 %. Se proporciona un esquema de los microgeles resultantes en la figura 2A y se muestra una imagen AFM de los microgeles resultantes en la figura 2B. Los microgeles resultantes pudieron liberar 5 µg/ml de HB-EGF a los 30 minutos, según lo determinado mediante espectrometría de masas (véase la figura 2C).

III. Eficacia de los microgeles mucoadhesivos cargados con HB-EGF

Se realizaron estudios que muestran que la formulación de microgel mucoadhesivo cargado con HB-EGF producida en el punto II anterior se suministra *in vivo* y que la formulación es eficaz para prevenir la mucositis oral inducida por radiación (véanse las figuras 3 y 4).

5 Como se muestra en la figura 3, el HB-EGF con suministro de microgel previene la gravedad de la mucositis inducida por radiación en la cavidad oral. Puntuación histopatológica con ocultación (Sunavala-Dossabhoy G, Abreo F, Timiri Shanmugam PS, Caldito G. Histopathologic grading of oral mucositis. Oral Dis. 2015;21(3):355-60) de la lengua (fila superior) y la mucosa bucal (fila inferior) el día 8 posterior a la radiación. ≥ 3 animales por afección, ≥ 3 portaobjetos por área. Los microgeles de HB-EGF no mostraron casos de mucositis oral grave (grado 3 o superior). n/e representa cuando el patólogo no pudo evaluar la lámina debido a un artefacto.

10 Como se muestra en la figura 4, superficie dorsal de la lengua el día 9 después de la radiación (fila superior) en la condición normal, radiación solamente sin tratamiento y radiación tratada con microgeles de HB-EGF. La radiación solamente muestra una falta de epitelio con ulceración completa (flecha de color rojo). En el suelo o la boca (fila inferior) los ratones tratados con microgeles de HB-EGF muestran conservación epitelial (flecha de color negro) en comparación con la radiación solamente.

15 Los microgeles de HB-EGF fueron el único grupo de tratamiento que no experimentó mucositis oral grave (grado 3 o superior). También demostramos que esta formulación por sí sola tuvo un beneficio sobre el control, probablemente debido a una mayor lubricación y también que esta combinación de formulación de HB-EGF tuvo un beneficio adicional sobre la formulación sola. Estos resultados muestran que se puede suministrar el fármaco al objetivo usando esta formulación con una excelente respuesta *in vivo*.

20 V. Biodistribución

25 Se realizaron exploraciones PET CT y HB-EGF se marcó con Cu64 para evaluar la biodistribución del mismo. Los resultados se muestran en la figura 5. El grupo A es la solución de Cu64-HB-EGF, donde solo se administró localmente (boca de los ratones) HB-EGF marcado con Cu64 en forma de una solución (sol). En el grupo B, el Cu64-HB-EGF se encapsuló en los microgeles mucoadhesivos y después de 24 h se administró por vía oral a los ratones. Ambos grupos se sometieron a exploraciones PET CT a los 30 min, 1 hora, 2 h, 3 h y 4 horas. La señal de Cu64 se midió dividiendo el cuerpo de la imagen de los ratones en las regiones de interés (ROI, por sus siglas en inglés) superior (S) e inferior (I). Si la señal proviene de la ROI superior, indica que el compuesto se retuvo en el tubo GI superior. Si la señal proviene de la ROI inferior, indica que el compuesto se encuentra en los riñones y la vejiga, lo que indica eliminación.

30 La absorción y eliminación del grupo A es mucho más rápida en comparación con el grupo B, que mantiene el Cu64-HB-EGF en la cavidad oral, evitando la absorción sistémica, lo que demuestra las propiedades mucoadhesivas del microgel. Incluso después de 4 horas, el cu64-HBEGF encapsulado en microgel muestra una cantidad muy pequeña en la ROI inferior y una fuerte señal en la ROI superior, lo que indica una alta retención y una baja eliminación del producto marcado.

35

REIVINDICACIONES

1. Una composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo que comprende un agente terapéuticamente activo cargado en un microgel mucoadhesivo reticulado que comprende un polímero de metacrilato de poli(etilenglicol) metil éter reticulado que comprende una funcionalidad mucoadhesiva, en donde el polímero de metacrilato de poli(etilenglicol) metil éter reticulado comprende cadenas de copolímero que tienen unidades monoméricas de metacrilato de dietilenglicol, unidades monoméricas de metacrilato de oligoetilenglicol, unidades monoméricas de ácido metacrílico, unidades monoméricas mucoadhesivas que comprenden unidades monoméricas de dopamina acrilamida y restos de reticulación.
2. La composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según la reivindicación 1, en donde las unidades monoméricas de metacrilato de oligoetilenglicol comprenden de 6 a 10 restos de etilenglicol.
3. La composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición comprende además uno o más agentes mucoadhesivos adicionales.
4. La composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según la reivindicación 3, en donde el uno o más agentes mucoadhesivos adicionales son agentes poliméricos mucoadhesivos.
5. La composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según la reivindicación 4, en donde el uno o más agentes mucoadhesivos adicionales son agentes poliméricos mucoadhesivos seleccionados del grupo que consiste en agentes poliméricos mucoadhesivos naturales, agentes poliméricos mucoadhesivos sintéticos y combinaciones de los mismos.
6. La composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según la reivindicación 5, en donde los agentes poliméricos mucoadhesivos de origen natural son polisacáridos.
7. La composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según la reivindicación 6, en donde los polisacáridos se seleccionan del grupo que consiste en almidones, quitosano, heparina y combinaciones de los mismos.
8. La composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde el agente polimérico mucoadhesivo sintético es un poloxámero.
9. La composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el agente terapéuticamente activo comprende una molécula pequeña, un ácido nucleico, un péptido o polipéptido, o una proteína o fragmento activo de la misma.
10. La composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición comprende un lavado acuoso o una película.
11. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso en el suministro de un agente terapéuticamente activo a un sujeto.
12. La composición para su uso según la reivindicación 11, para modular la progresión de la mucositis oral en un sujeto y en donde el agente terapéuticamente activo es un agente activo de HB-EGF.
13. Un método para preparar una composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, comprendiendo el método:
 - preparar un microgel de polímero de metacrilato de poli(etilenglicol) metil éter reticulado mucoadhesivo que comprende un polímero de metacrilato de poli(etilenglicol) metil éter reticulado que comprende una funcionalidad mucoadhesiva, en donde el polímero de metacrilato de poli(etilenglicol) metil éter reticulado comprende cadenas de copolímero que tienen unidades monoméricas de metacrilato de dietilenglicol, unidades monoméricas de metacrilato de oligoetilenglicol, unidades monoméricas de ácido metacrílico, unidades monoméricas mucoadhesivas que comprenden unidades monoméricas de dopamina acrilamida y restos de reticulación; y
 - cargar el microgel reticulado mucoadhesivo con un agente terapéuticamente activo.
14. Un kit que comprende:
 - una dosificación de una composición de agente terapéuticamente activo en microgel mucoadhesivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10; y
 - un envase.

Figura 1A

Síntesis de dopamina acrilamida (DA)

- Para la síntesis de DA se siguió el protocolo descrito por Patil y col. con algunas modificaciones

Reacción de amidación

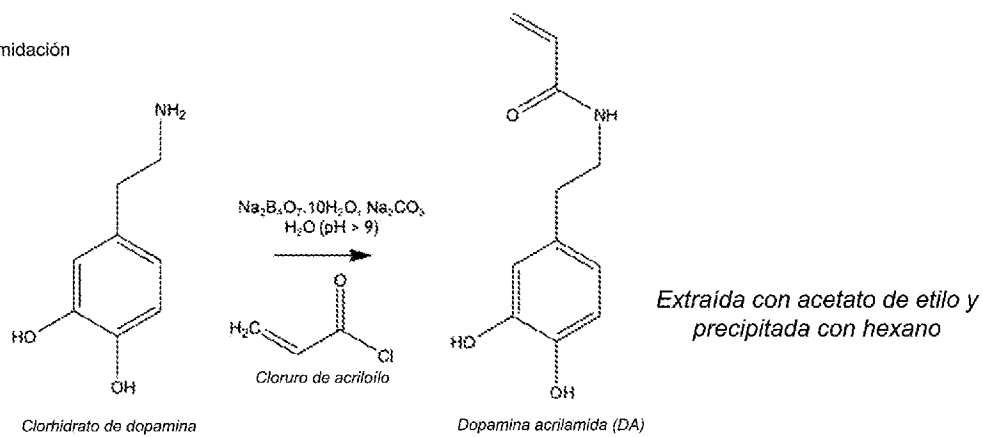


Figura 1B

Síntesis de microgeles usando comonomero de DA

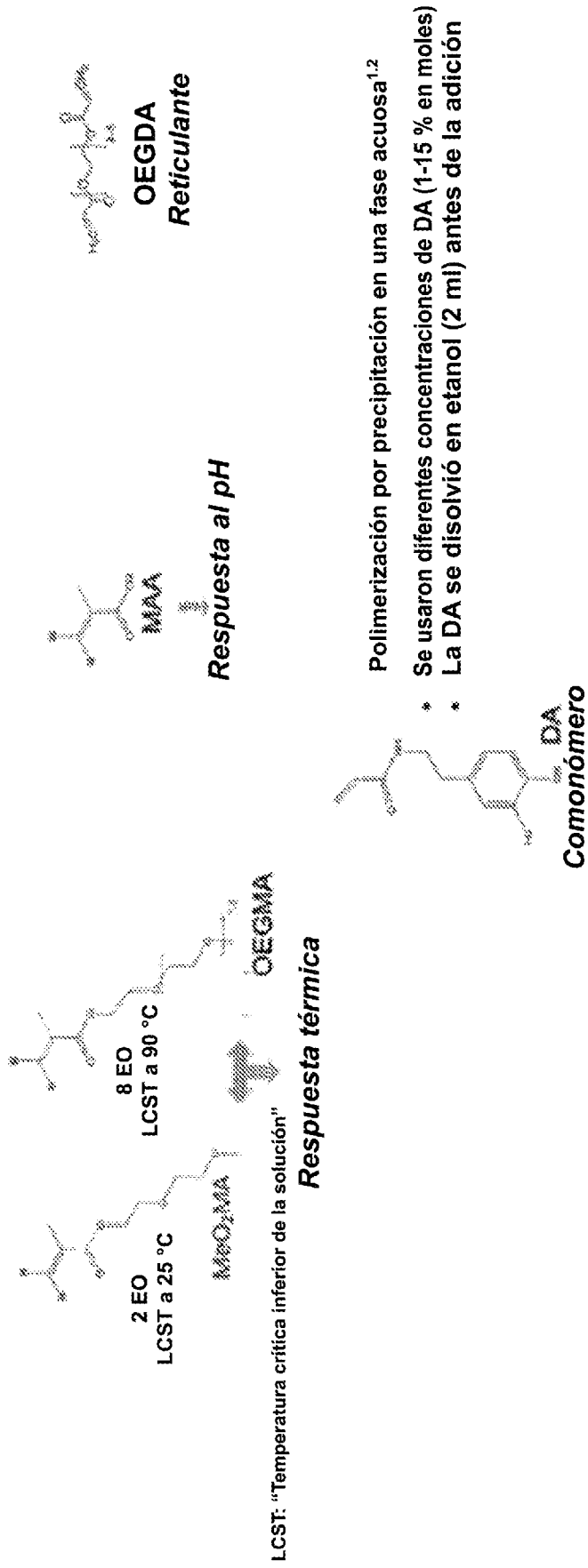


Figura 1C

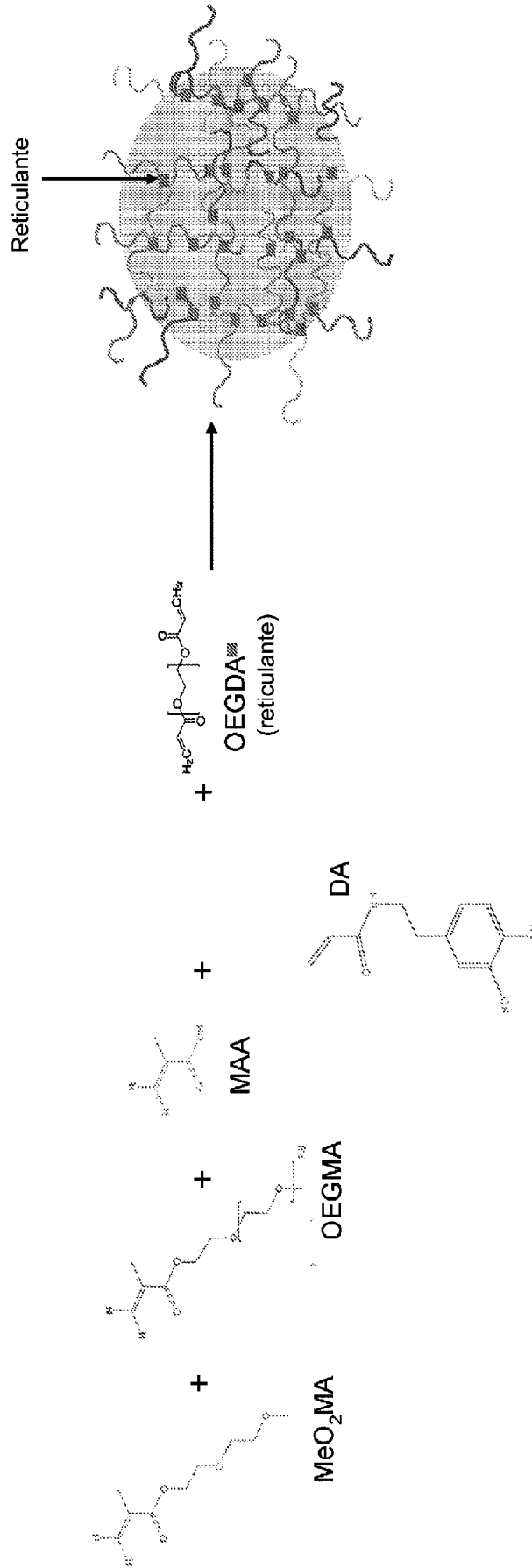


Figura 1D

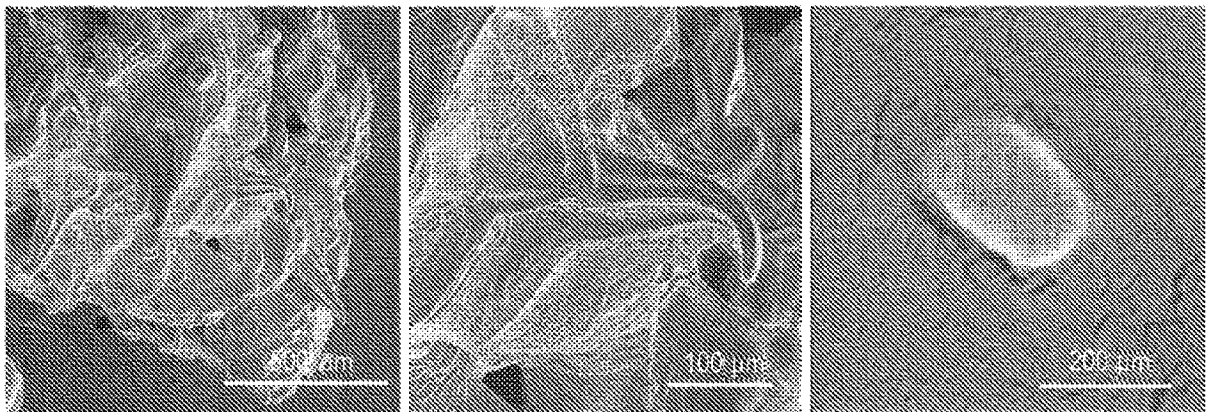


Figura 2C

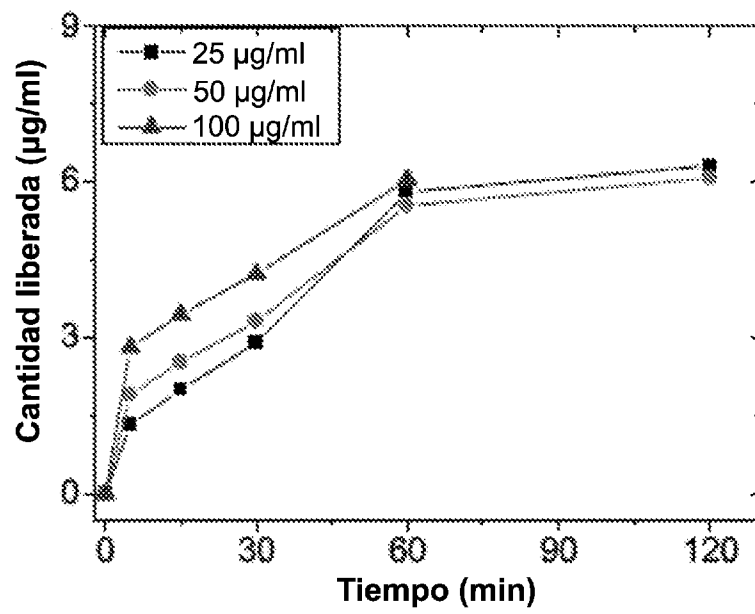


Figura 3

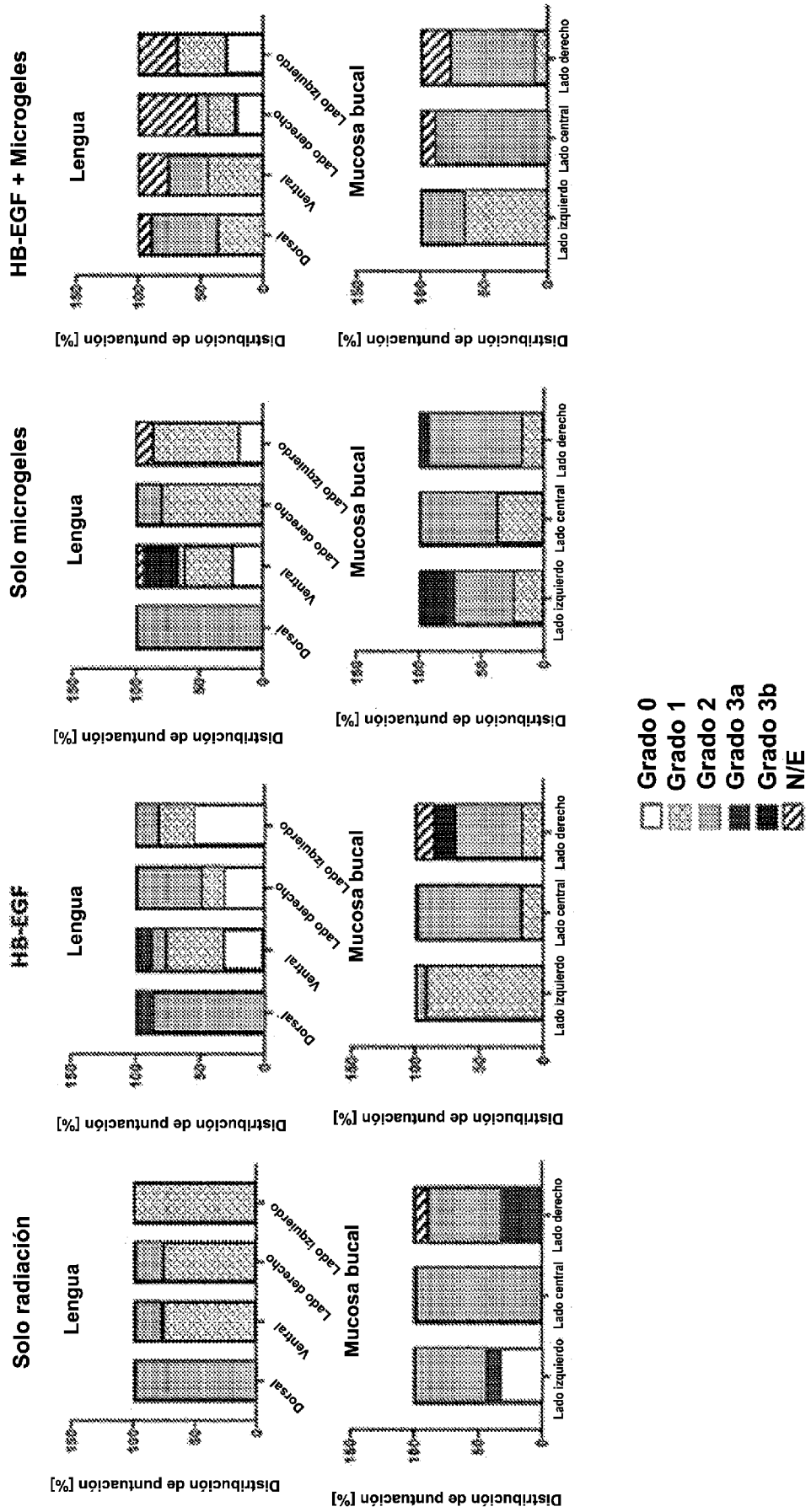


Figura 4

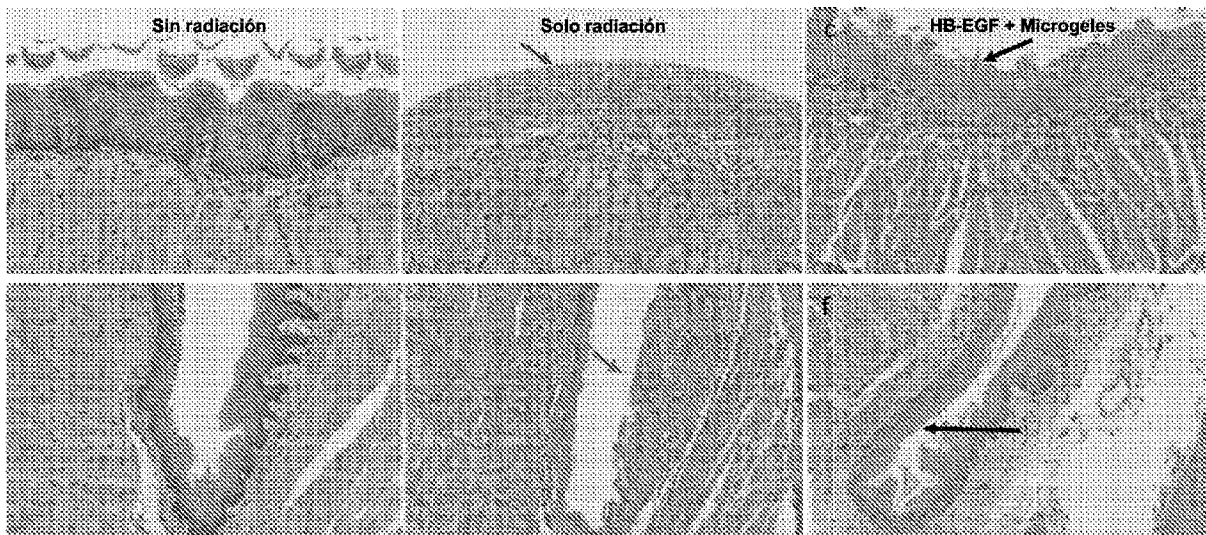


Figura 5

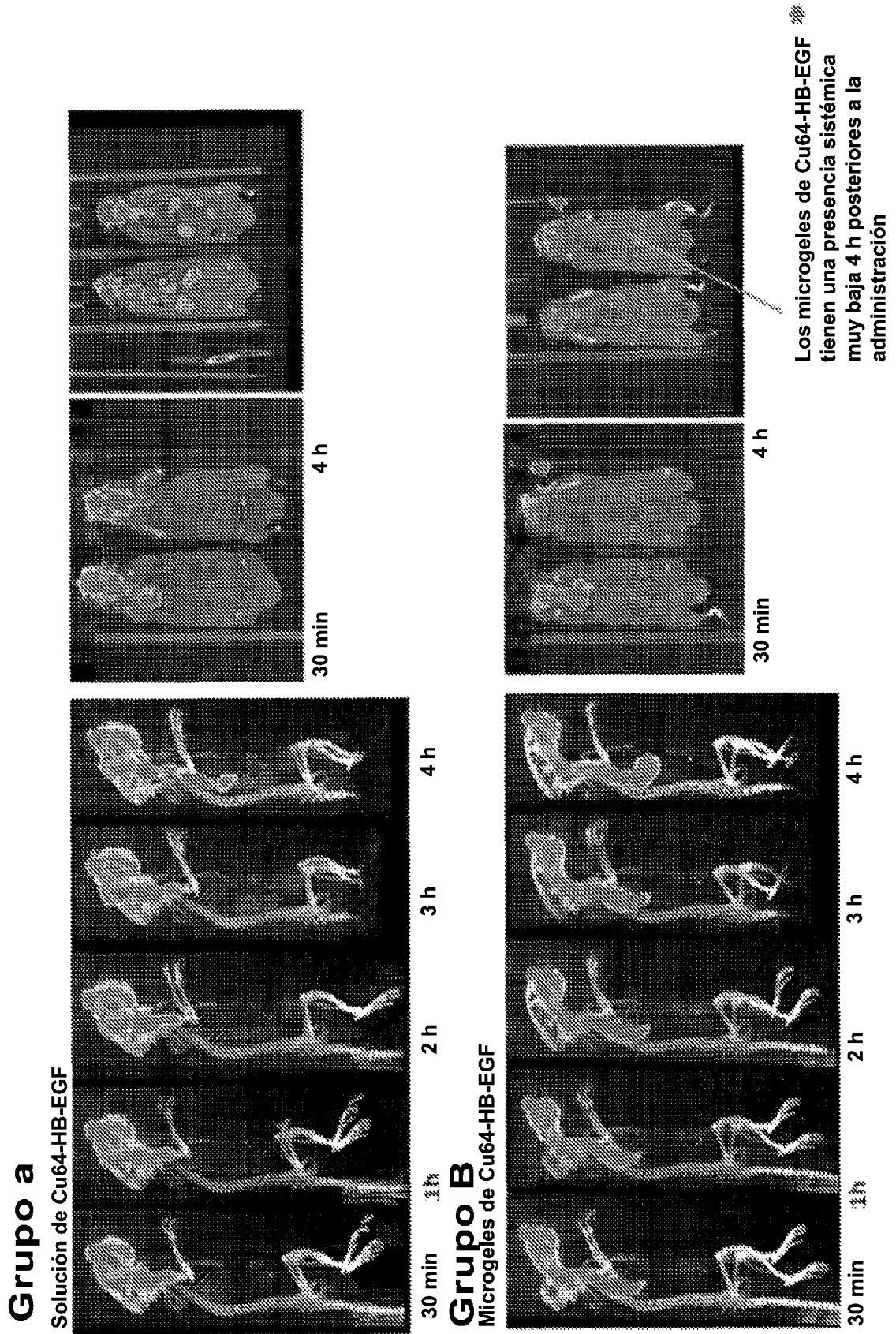


Figura 5 (Continuación)

PET/CT de ⁶⁴Cu-HBEGF

