

13

TRADUZIONE DEL BREVETTO EUROPEO N. 3908321 DAL TITOLO:

"COMPOSIZIONE FARMACEUTICA"

*** **

DESCRIZIONE

CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione riguarda composizioni di erogazione di farmaco o farmaceutiche a rilascio controllato, in particolare composizioni farmaceutiche idonee per generare un deposito *in situ*. Specificamente, la presente invenzione riguarda una composizione farmaceutica comprendente un copolimero multiramificato biodegradabile comprendente almeno tre bracci di poliestere attaccati a un nucleo centrale che comprende un polietere, e in cui il copolimero multiramificato è sostanzialmente insolubile in soluzione acquosa, comprendente inoltre almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo.

STATO DELL'ARTE DELL'INVENZIONE

WO2012/090070A descrive una tecnologia di deposito a formazione in situ (In Situ Forming Depot, ISFD) a scambio di solvente comprendente una miscela di (m)PEG-poliesteri lineari disciolti in un solvente organico biocompatibile. In seguito all'iniezione, il solvente si diffonde e i polimeri, insolubili in acqua, precipitano e formano un deposito che può intrappolare un ingrediente farmaceutico attivo (Active Pharmaceutical Ingredient, API). La sostanza farmacologica viene rilasciata da questo deposito durante un tempo prolungato.

C'è ancora una necessità di fornire una tecnologia migliorata per un rilascio sostenuto. L'uso di copolimeri a blocchi di PEG-poliestere ramificati è stato identificato come un modo potenziale per migliorare le tecnologie attualmente usate che risentono di svantaggi come viscosità elevata, valori di iniettabilità elevati e degradazione cinetica lenta.

I copolimeri di PEG-poliestere a forma di stella sono strutture ramificate costituite da varie (tre o più) catene lineari connesse a un nucleo centrale. I copolimeri a forma di stella possono essere classificati in due categorie: omopolimeri a forma di stella o copolimeri a forma di stella. Gli omopolimeri a forma di stella sono costituiti da una struttura simmetrica comprendente bracci radianti con composizione chimica identica e peso molecolare simile. I copolimeri a forma di stella sono costituiti da una struttura simmetrica comprendente bracci radianti con peso molecolare simile ma composti da almeno due monomeri differenti.

I copolimeri a forma di stella (anche noti come multibraccio o multiramificati) sono descritti in Cameron et al., *Chemical Society Reviews*, 40, 1761, 2011, e in Burke et al., *Biomacromolecules*, 18, 728, 2017).

Hiemstra et al, *Biomacromolecules*, 7, 2790, 2006; Buwalda et al, *Biomacromolecules*, 11, 224, 2010; Calucci et al, *Langmuir*, 26, 12890, 2010; Mayadunne et al, US2016/0058698A1, 2016 descrivono sistemi acquosi termogelificanti.

EP1404294B1 descrive l'utilizzo di (co)polimeri ramificati per formulare depositi a formazione in situ (ISFD) mediante scambio di solvente.

Jun et al, Macromolecular Research, vol. 16, n. 8, 1 dicembre 2008, pagine 704-710, divulga uno stereocomplesso di formazione di idrogel in situ composto da copolimeri a blocchi di PEG-PDLA e PEG-PLLA a quattro bracci.

CN108586775A divulga un idrogel di polietere iperramificato reticolato in situ in grado di essere usato per il riempimento intraoculare a lungo termine e un metodo per preparare un idrogel di polietere iperramificato reticolato in situ.

WO2008/006787A2 si occupa di adesivi tissutali di idrogel.

WO2017/085561A1 riguarda un metodo per morselizzare e/o indirizzare almeno un principio farmaceuticamente attivo al tessuto sinoviale e/o altro tessuto articolare come cartilagine articolare, legamenti, tendini, menisco e simili somministrando una composizione di erogazione di farmaco biodegradabile comprendente un copolimero triblocco contenente un poliestere e un polietilen glicole e un copolimero diblocco contenente un poliestere e un polietilen glicole con cappaggio terminale.

Di conseguenza, c'è una necessità di fornire nuove formulazioni ISFD a scambio di solvente basate su copolimeri a forma di stella con viscosità inferiore, iniettabilità migliorata, caratteristiche di rilascio dell'API o cinetica di degradazione di deposito differenti o migliorate.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione fornisce una composizione farmaceutica come definita nella rivendicazione 1.

Tipicamente, il peso molecolare del polietere è 10 kDa o inferiore, preferibilmente 5 kDa o inferiore, 4 kDa o inferiore, 3 kDa o inferiore, o 2 kDa o inferiore, o 1 kDa o inferiore, o 0,5 kDa o inferiore.

La presente invenzione fornisce anche una composizione farmaceutica come definita nella rivendicazione 3.

Le composizioni summenzionate sono idonee per formare un deposito in situ.

È stato sorprendentemente trovato che le formulazioni a base di copolimeri multiramificati o a forma di stella hanno una viscosità inferiore e un'iniettabilità migliorata, fornendo contemporaneamente profili di rilascio dell'ingrediente attivo migliorati o differenti, rispetto alle formulazioni comprendenti analoghi di copolimeri lineari da soli. In aggiunta, i depositi risultanti da formulazioni a base di copolimeri multiramificati o a forma di stella si degradano più rapidamente rispetto a quelle formate da copolimeri lineari analoghi.

Tipicamente, il copolimero multiramificato è sostanzialmente insolubile in soluzione acquosa.

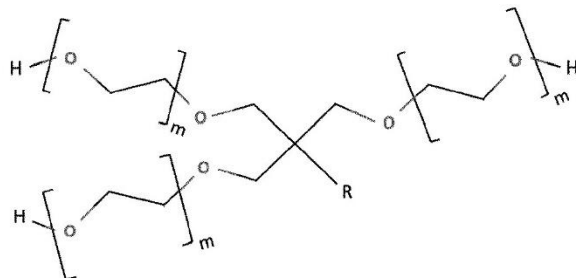
In una forma di realizzazione preferita, il copolimero multiramificato ha una solubilità in soluzione acquosa inferiore a 15 mg/ml, facoltativamente inferiore a 10 mg/ml, inferiore a 5 mg/ml,

inferiore a 2 mg/ml o inferiore a 1 mg/ml. Tipicamente, la solubilità viene misurata a 37 °C.

Tipicamente, il copolimero multiramificato è di formula $A(B)_n$, in cui A rappresenta il nucleo centrale e B rappresenta i bracci di poliestere e n è un numero intero pari ad almeno 3. Nelle forme di realizzazione dell'invenzione, n è almeno 4, o almeno 6, o almeno 8. N può essere 3, 4, 6 o 8. Preferibilmente, n è 4.

In una forma di realizzazione, il nucleo centrale è un polietere multiramificato che è derivabile da polietilen glicole (PEG) e da un poliolo. Tipicamente, il poliolo comprende almeno tre gruppi idrossile. Il poliolo è tipicamente un idrocarburo funzionalizzato con almeno tre gruppi idrossile, facoltativamente 3, 4, 5, 6 o 8 gruppi idrossile. In alcune forme di realizzazione, il poliolo comprende inoltre uno o più gruppi etere. Preferibilmente, il poliolo è pentaeritritolo (PE), dipentaeritritolo (DPE), trimetilolpropano (TMP), glicerolo, esaglicerolo, eritritolo, xilitolo, di(trimetilolpropano) (diTMP), sorbitolo o inositolo.

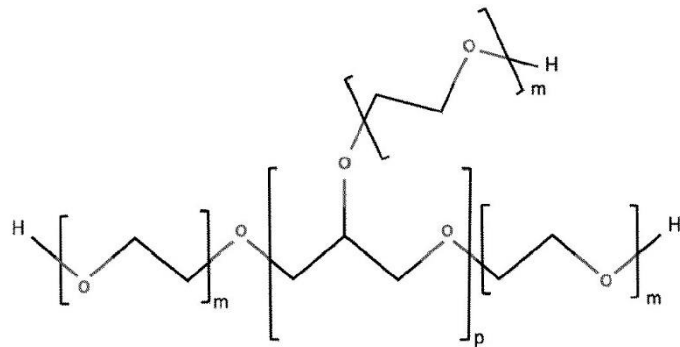
Nelle forme di realizzazione preferite, il polietere multiramificato ha formula 1 o formula 2 o formula 3 o formula 4:



in cui m è un numero intero tra 2 e 150.

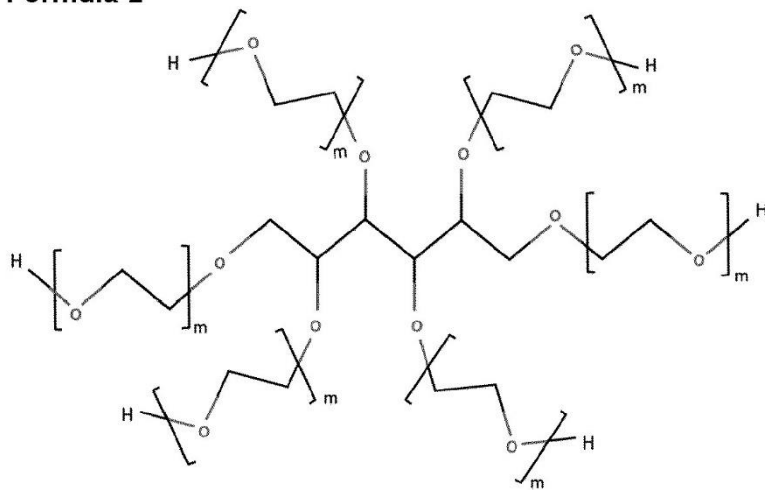
R è H o un alchile o PEG. Preferibilmente R è PEG

Formula 1



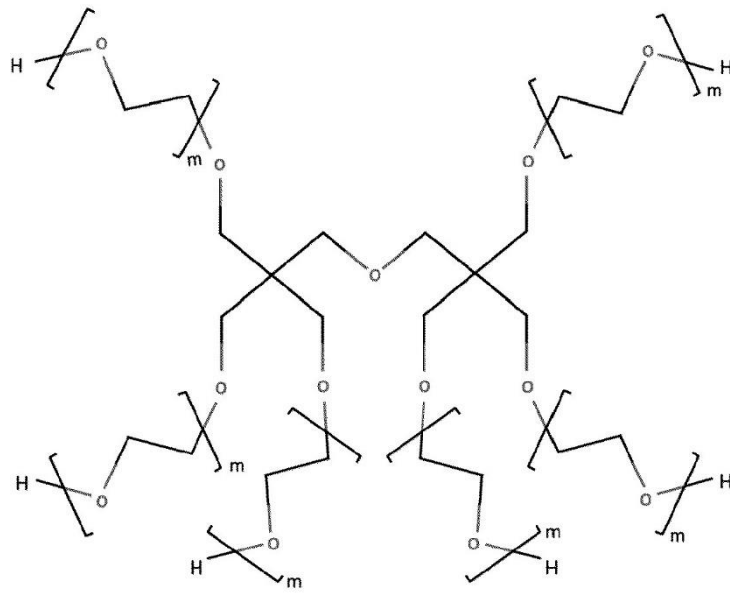
in cui m è un numero intero tra 2 e 150 e p è 6

Formula 2



in cui m è un numero intero tra 2 e 150.

Formula 3



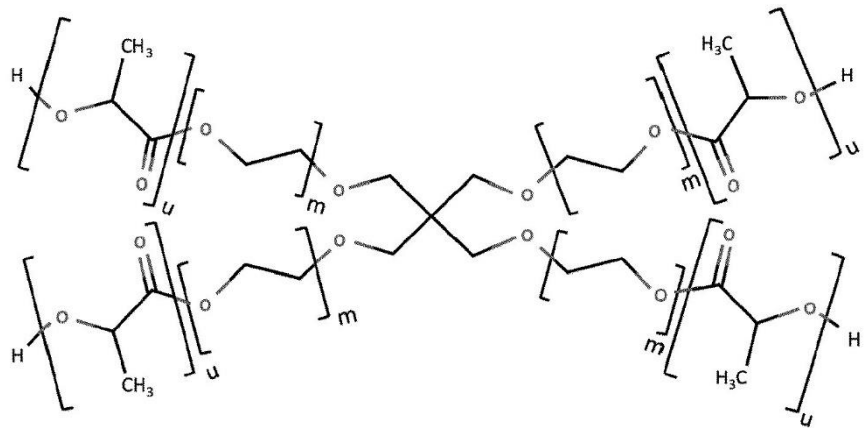
in cui m è un numero intero tra 2 e 150

Formula 4

Il copolimero multiramificato è ottenibile facendo reagire un polietere multiramificato come definito sopra con D,L-lattide. Il copolimero multiramificato può essere ottenibile mediante polimerizzazione ad apertura d'anello del D,L-lattide avviata dal polietere multiramificato.

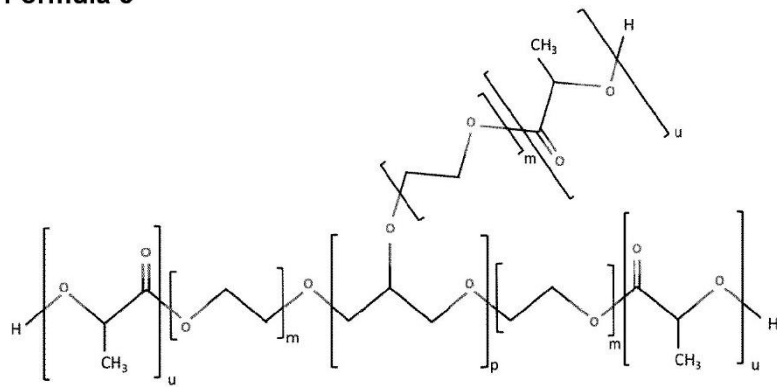
In una forma di realizzazione preferita, il copolimero multiramificato ha formula 5 o formula 6 o formula 7 o formula 8:

B



in cui u è un numero intero tra 4 e 200 e m è un numero intero tra 2 e 150

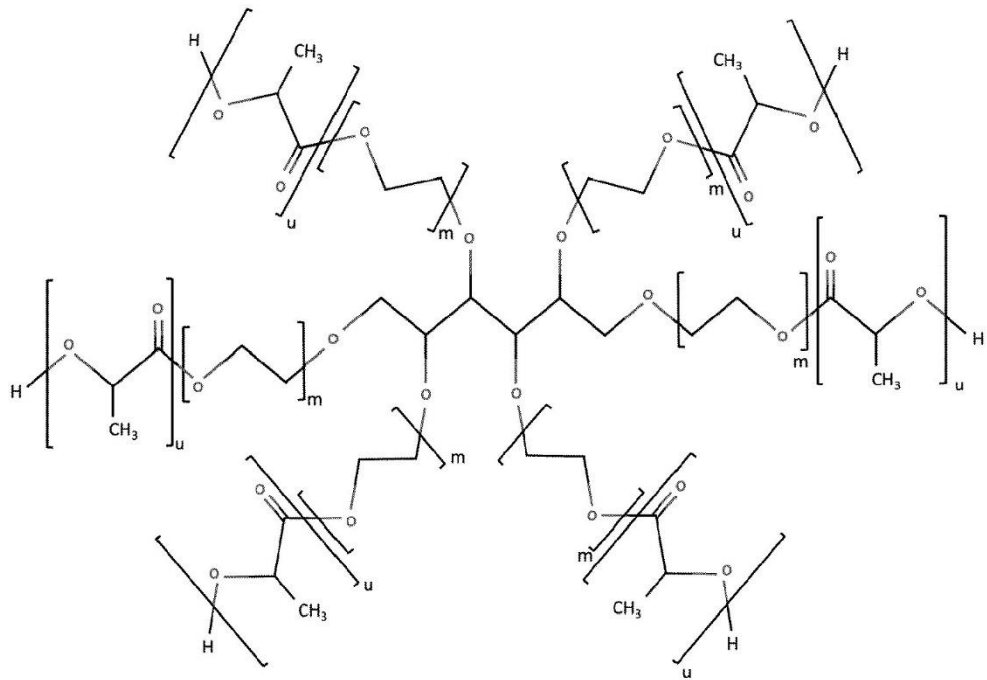
Formula 5



in cui u è un numero intero tra 4 e 200, m è un numero intero tra 2 e 150 e p è 6

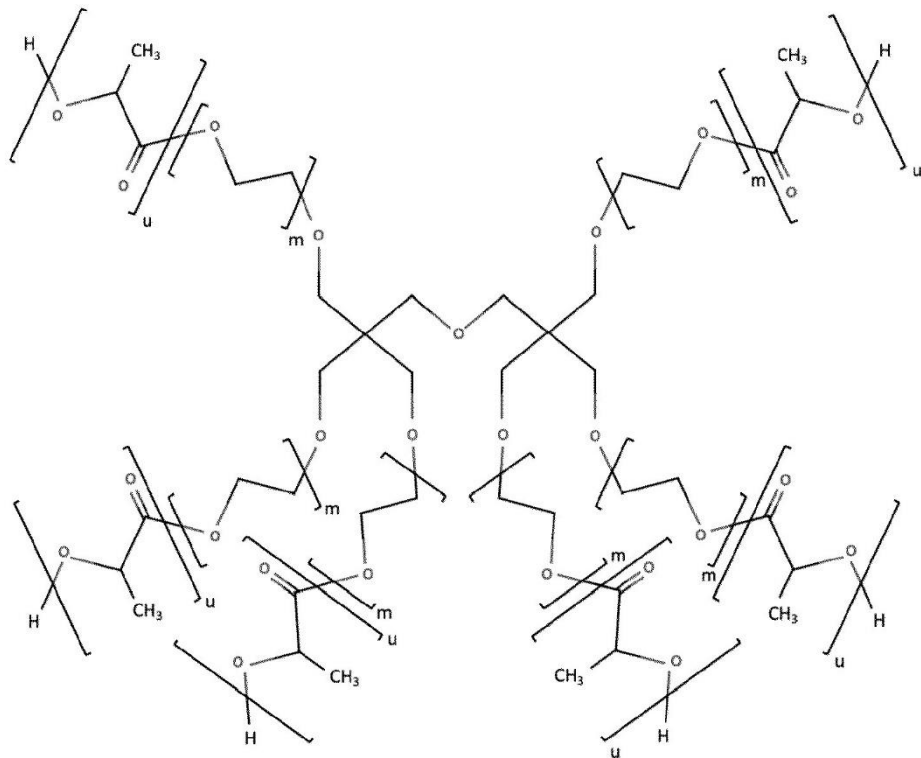
Formula 6

13



in cui u è un numero intero tra 4 e 200 e m è un numero intero tra 2 e 150.

Formula 7



in cui u è un numero intero tra 4 e 200 e m è un numero intero tra 2 e 150

Formula 8

Nelle forme di realizzazione preferite del copolimero multiramificato summenzionato di formula 5, il nucleo di polietere (vale a dire il composto di formula 5 meno i bracci di PLA) ha un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 2, 3 o 6.

In una forma di realizzazione, il numero di unità ripetute di estere in ciascun braccio è indipendentemente nell'intervallo da 4 a 200.

In una forma di realizzazione preferita, il peso molecolare del polietere varia da 0,5 kDa a 10 kDa, facoltativamente da 1 kDa a 10 kDa, preferibilmente da 2 kDa a 10 kDa, in modo massimamente preferibile

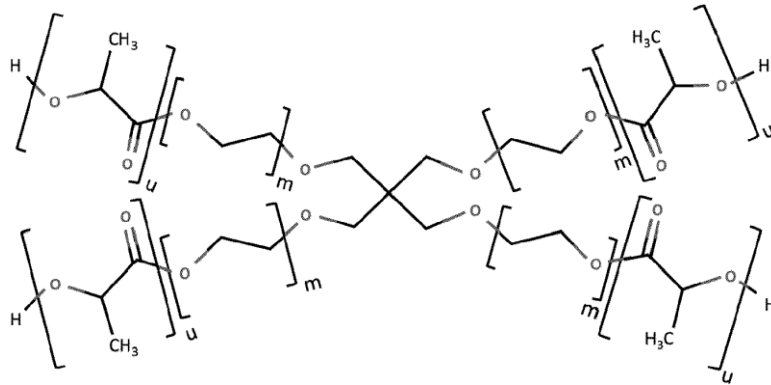
da 2 kDa a 5 kDa. In un'ulteriore forma di realizzazione, il peso molecolare del poliestere varia da 0,5 kDa a 2 kDa.

Nelle forme di realizzazione preferite, il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene del copolimero multiramificato nella composizione è da 1 a 10, preferibilmente da 2 a 6.

In una forma di realizzazione aggiuntiva, la composizione dell'invenzione può comprendere uno o più ulteriori copolimeri multiramificati biodegradabili come definiti sopra. Fornire una composizione comprendente due o più copolimeri multiramificati fornisce un ulteriore mezzo per modulare il rilascio di un agente farmaceuticamente attivo. È possibile fornire differenti combinazioni dei copolimeri multiramificati, e le quantità relative dei due o più copolimeri multiramificati possono essere alterate. Ciò consente il controllo del profilo di rilascio dell'agente farmaceuticamente attivo.

In una forma di realizzazione, la composizione comprende un primo copolimero multiramificato biodegradabile come definito sopra e un secondo copolimero multiramificato biodegradabile differente come definito sopra, facoltativamente in cui il primo copolimero multiramificato biodegradabile è presente in una quantità dal 15 al 25 (p/p%), facoltativamente dal 18 al 20 (p/p%), e il secondo copolimero multiramificato biodegradabile è presente in una quantità dal 15 al 25 (p/p%), facoltativamente dal 18 al 20 (p/p%), della composizione totale.

In una forma di realizzazione, il primo e il secondo copolimero multiramificato biodegradabile hanno ciascuno una struttura secondo la formula 5:



in cui u è un numero intero da 4 a 200 e m è un numero intero tra 2 e 150;

e in cui il primo copolimero multiramificato biodegradabile ha un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 2;

e in cui il secondo copolimero multiramificato biodegradabile ha un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 6;

il primo copolimero multiramificato biodegradabile ha un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 5 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 2;

e in cui il secondo copolimero multiramificato biodegradabile ha un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 6.

In una forma di realizzazione alternativa dell'invenzione, la composizione comprende inoltre un copolimero triblocco biodegradabile avente la formula:



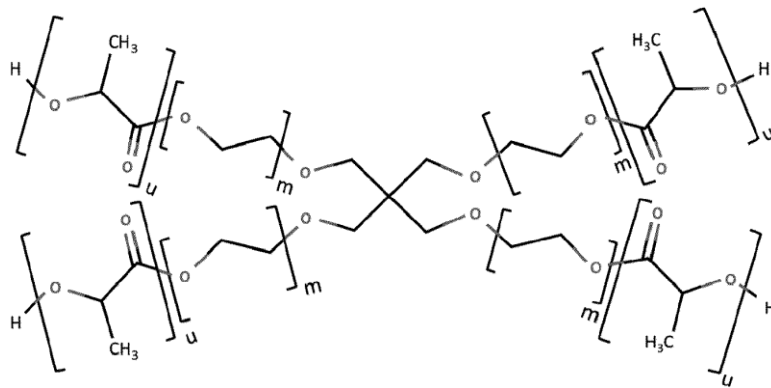
in cui A è un poliestere e B è polietilen glicole e v e x sono il numero di unità ripetute che varia da 1 a 3.000 e w è il numero di unità ripetute che varia da 3 a 300 e $v=x$ o $v \neq x$.

La combinazione di un copolimero multiramificato con un copolimero triblocco lineare porta a un'ulteriore opzione per modulare il rilascio di un ingrediente farmaceuticamente attivo.

Tipicamente, la massa della catena di polietilen glicole nel copolimero triblocco varia da 180 Da a 12 kDa o da 194 Da a 12 kDa o da 200 Da a 12 kDa o da 100 Da a 4 kDa, preferibilmente da 1 kDa a 2 kDa.

Tipicamente, il rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene nel copolimero triblocco è da 0,5 a 22,3, facoltativamente da 0,5 a 10, preferibilmente da 0,5 a 3,5.

In una forma di realizzazione preferita, il copolimero triblocco ha una catena di polietilen glicole avente una massa di 1 kDa e ha un rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene di 4, e il copolimero multiramificato ha una struttura secondo la formula 5:



in cui u è un numero intero da 4 a 200 e m è un numero intero tra 2 e 150; avente un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 3; o

in cui il copolimero triblocco ha una catena di polietilen glicole avente una massa di 2 kDa e ha un rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene di 2, e il copolimero multiramificato ha una struttura secondo la formula 5 avente un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 2; o

in cui il copolimero triblocco ha una catena di polietilen glicole avente una massa di 2 kDa e ha un rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene di 2, e il copolimero multiramificato ha una struttura secondo la formula 5 avente un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 6;

facoltativamente in cui il copolimero multiramificato è presente in una quantità dal 15 al 25 (p/p%), facoltativamente dal 18 al 20 (p/p%),

della composizione totale e il copolimero triblocco è presente in una quantità dal 15 al 25 (p/p%), facoltativamente dal 18 al 20 (p/p%), della composizione totale.

In un'ulteriore forma di realizzazione alternativa, la composizione comprende inoltre un copolimero diblocco biodegradabile avente la formula:



in cui A è un poliestere e C è un polietilen glicole con cappaggio terminale e y e z sono il numero di unità ripetute, con y variando da 2 a 250 e z variando da 1 a 3.000.

La combinazione di un copolimero multiramificato con un copolimero diblocco lineare fornisce un'opzione aggiuntiva per modulare il rilascio di un ingrediente farmaceuticamente attivo.

In una forma di realizzazione, il peso molecolare della catena di polietilen glicole con cappaggio terminale del copolimero diblocco varia da 100 Da a 10 kDa o da 164 Da a 2 kDa, preferibilmente da 1 kDa a 2 kDa.

In una forma di realizzazione, il rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene nel copolimero diblocco è da 0,8 a 15, facoltativamente da 1 a 10.

Tipicamente, il poliestere A nel copolimero triblocco o diblocco è selezionato dal gruppo di acido polilattico (PLA), acido poliglicolico, policaprolattone, polietilene adipato, poliidrossialcanoato, poli(ϵ -caprolattone-co-lattide) (PCLA), poli(acido lattico-co-glicolico) (PLGA) e

relative miscele e facoltativamente in cui il polietilen glicole con cappaggio terminale è metossi polietilen glicole. Preferibilmente, il poliestere A è acido polilattico.

In una forma di realizzazione dell'invenzione, la composizione comprende inoltre un veicolo farmaceuticamente accettabile, facoltativamente in cui il veicolo farmaceuticamente accettabile è un solvente organico, facoltativamente in cui il solvente organico è un solvente organico biocompatibile, facoltativamente in cui la quantità di detto veicolo è almeno il 25%, o almeno il 35% (p/p%), della composizione totale. Preferibilmente, il veicolo farmaceuticamente accettabile è selezionato dal gruppo di: alcol benzilico, benzil benzoato, dimetil isosorbide (DMI), dimetil solfossido (DMSO), etil acetato, etil benzoato, etil lattato, glicerolo formal, metil etil chetone, metil isobutil chetone, N-etil-2-pirrolidone, N-metil-2-pirrolidinone (NMP), pirrolidone-2, tetraglicole, triacetina, tributirina, tripropionina, glicofurolo e relative miscele.

In una forma di realizzazione, l'ingrediente farmaceuticamente attivo è idrofobico. Con ciò è inteso un ingrediente attivo farmaceutico avente valori logP o logD positivi e una solubilità in acqua a pH fisiologico (pH da 7,0 a 7,4) inferiore a 1 mg/ml.

In una forma di realizzazione preferita, l'ingrediente farmaceuticamente attivo è meloxicam, bupivacaina, tamsulosina, octreotide, tadalafil, empagliflozin, tenofovir, liotironina o relative combinazioni.

In una forma di realizzazione, l'almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo è presente in una quantità dallo 0,05% al 60% (p/p%), facoltativamente dallo 0,05% al 40%, facoltativamente dallo 0,05% al 30%, facoltativamente dallo 0,05% al 10%, facoltativamente dallo 0,05% al 7%, facoltativamente dallo 0,05% al 2%, della composizione totale.

In una forma di realizzazione preferita, la composizione è un liquido iniettabile.

In una forma di realizzazione, il copolimero multiramificato è presente in una quantità dal 2% all'80%, facoltativamente dal 2% al 70%, facoltativamente dal 2% al 60%, facoltativamente dal 10% al 60%, facoltativamente dal 10% al 50%, facoltativamente dal 20% al 40%, facoltativamente dal 20% al 35%, facoltativamente dal 30% al 50% (p/p%), della composizione totale.

In una forma di realizzazione, la composizione è come definita nella Tabella 1 o nella Tabella 4 (escludendo gli esempi comparativi).

Tipicamente, il rilascio di almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo può essere modulato dalla composizione.

In una forma di realizzazione, la composizione è idonea per erogare un ingrediente farmaceuticamente attivo a un soggetto per almeno 1 giorno, facoltativamente almeno 3 giorni, facoltativamente almeno 7 giorni, facoltativamente almeno 30 giorni, facoltativamente almeno 90 giorni, facoltativamente almeno 1 anno.

È anche descritto l'uso della composizione farmaceutica come definita sopra per modulare la cinetica di rilascio di almeno un ingrediente attivo.

In un aspetto aggiuntivo, la presente invenzione fornisce un metodo per produrre una composizione farmaceutica come definita sopra, detto metodo comprendendo disciogliere un copolimero multiramificato come definito sopra in un veicolo farmaceuticamente accettabile, come un solvente. In una forma di realizzazione, il metodo comprende inoltre aggiungere un ingrediente farmaceuticamente attivo alla composizione.

In un ulteriore aspetto, l'invenzione fornisce un deposito biorisorbibile che viene prodotto *ex vivo* mettendo a contatto la composizione come definita sopra con un mezzo acquoso, acqua o fluido corporeo. Il deposito è biorisorbibile nel senso che la frazione di PLA si degrada *in vivo*, e il PEG viene assimilato dal corpo ed escreto.

È anche descritto un metodo per il rilascio controllato di un ingrediente farmaceuticamente attivo comprendente somministrare la composizione come definita sopra e consentire la formazione *in vivo* di un deposito *in situ* a scambio di solvente.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA

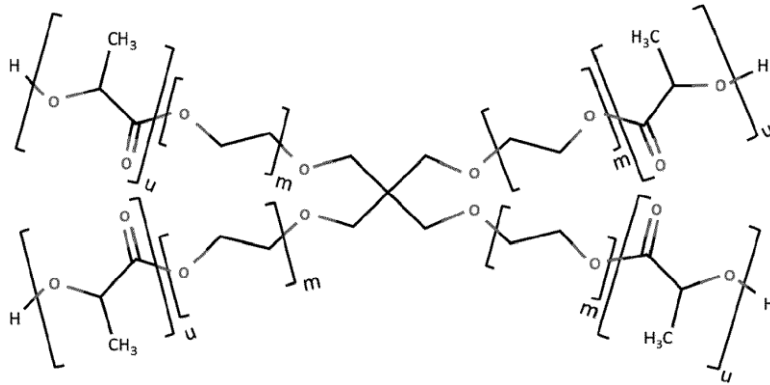
Come usato nella presente, il termine "biodegradabile" o "biorisorbibile" indica che i copolimeri a blocchi vanno incontro a idrolisi *in vivo* per formare il loro (m)PEG costituente e oligomeri o monomeri o unità ripetute derivati dal blocco di poliestere. Per esempio, PLA va incontro a idrolisi per formare acido lattico. Il risultato del processo di

idrolisi porta a una progressiva perdita di massa del deposito e in ultimo alla sua scomparsa.

Il termine "copolimero multiramificato" indica un polimero con almeno tre bracci di poliestere attaccati a un nucleo centrale che comprende un polietere come definito nella rivendicazione 1 o nella rivendicazione 3. I bracci di poliestere possono essere indicati come "ramificazioni", "bracci" o "catene". Il termine "copolimero multiramificato" ha lo stesso significato del termine "polimero a stella" o "polimero a forma di stella" o "copolimero multibraccio" e questi termini vengono usati in modo interscambiabile in tutto il testo.

Tipicamente, il peso molecolare del polietere è 10 kDa o inferiore, preferibilmente 5 kDa o inferiore, 4 kDa o inferiore, 3 kDa o inferiore, o 2 kDa o inferiore, o 1 kDa o inferiore o 0,5 kDa o inferiore. Preferibilmente, il polietere ha un peso molecolare di almeno 0,2 kDa, o almeno 0,5 kDa.

Tipicamente, il copolimero multiramificato è di formula $A(B)_n$, in cui A rappresenta il nucleo centrale e B rappresenta i bracci di poliestere e n è un numero intero pari ad almeno 3. Nelle forme di realizzazione dell'invenzione, n è almeno 4, o almeno 6, o almeno 8. Preferibilmente, n è 4. Un esempio della struttura di un copolimero a blocchi PEG-PLA multiramificato con $n = 4$ è fornito di seguito.



Formula 5

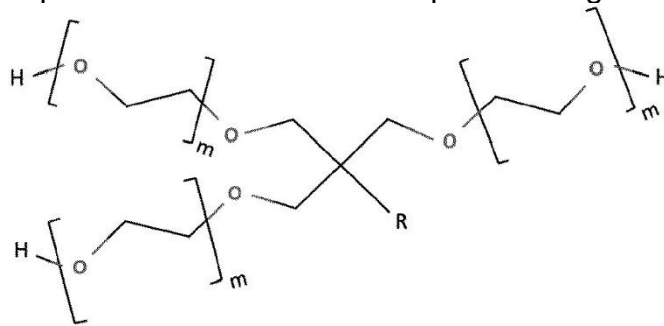
Le lettere m e u corrispondono, rispettivamente, al numero di unità ripetute di ossido di etilene e acido lattico costituenti ciascun blocco.

Un poliolo è un composto organico comprendente una pluralità di gruppi idrossile. Tipicamente, il poliolo ha almeno tre gruppi idrossile. Tipicamente, il poliolo è un idrocarburo funzionalizzato con almeno tre gruppi idrossile, per esempio 3, 4, 5, 6 o 8 gruppi idrossile. Il poliolo può anche comprendere uno o più gruppi etere. Tipicamente, il poliolo è pentaeritritolo (PE), dipentaeritritolo (DPE), trimetilolpropano (TMP), glicerolo, esaglicerolo, eritritolo, xilitolo, di(trimetilolpropano) (diTMP), sorbitolo o inositolo.

Un polietere è un composto organico comprendente una pluralità di gruppi etere.

Il polietere multiramificato è derivabile da polietilen glicole (PEG) e da un poliolo. Per esempio, il polietere multiramificato può essere formato dalla reazione di ossido di etilene con un poliolo. Il polietere multiramificato può essere indicato come un PEG a forma di stella. L'ossido di etilene reagisce con un gruppo idrossile di un poliolo per formare un braccio di PEG. Per esempio, il pentaeritritolo può essere

fatto reagire con ossido di etilene per formare il polietere a quattro o tre bracci o a quattro o tre ramificazioni esposto di seguito nella formula 1.

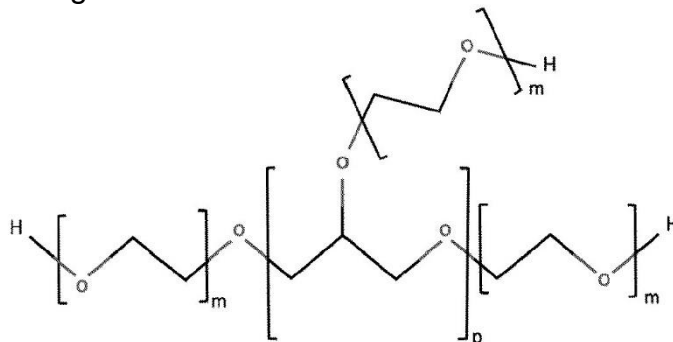


in cui m è un numero intero tra 2 e 150.

R è H o alchile o PEG.

Formula 1

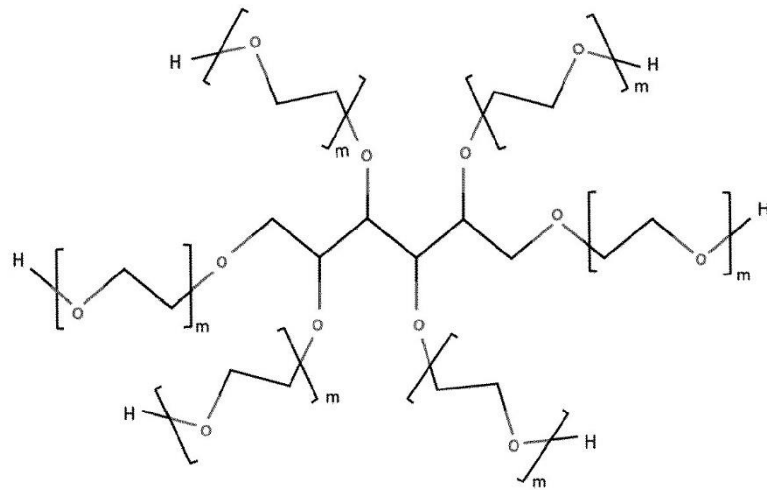
In una forma di realizzazione alternativa, il polietere multiramificato è un polietere a otto bracci o otto ramificazioni ($p=6$) come esposto di seguito nella formula 2.



in cui m è un numero intero tra 2 e 150 e p è 6

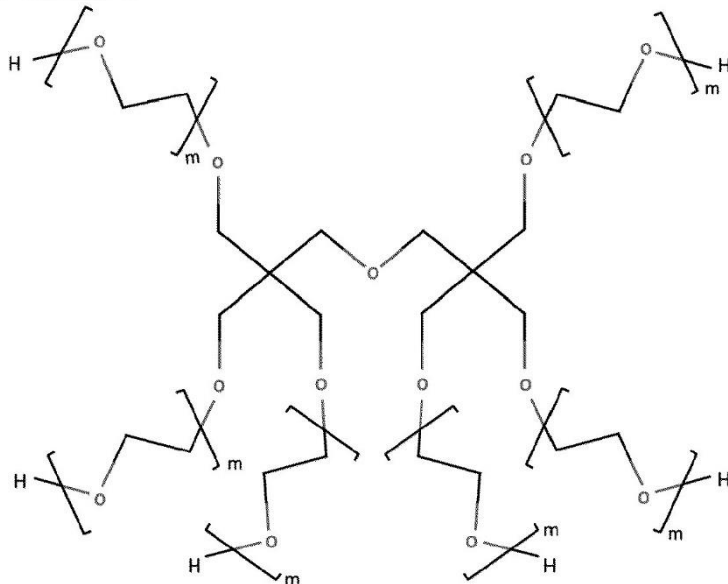
Formula 2

In una forma di realizzazione alternativa, il polietere multiramificato è un polietere a sei bracci, o sei ramificazioni, come esposto di seguito nella formula 3 e nella formula 4.



in cui m è un numero intero tra 2 e 150.

Formula 3



in cui m è un numero intero tra 2 e 150

Formula 4

Tipicamente, ciascuna ramificazione del polietere multiramificato ha un gruppo idrossile terminale, tuttavia possono anche essere contemplati altri gruppi reattivi terminali in grado di reagire con un poliesteri o relativi monomeri o precursori. Il poliesteri è PLA.

In una forma di realizzazione, il numero di unità ripetute di estere in ciascun braccio è indipendentemente nell'intervallo da 4 a 200.

Il termine "iniezione deposito" indica un'iniezione di una composizione farmaceutica fluente, solitamente sottocutanea, intradermica o intramuscolare, che deposita un farmaco in una massa localizzata, come una massa solida, denominata "deposito". I depositi come definiti nella presente sono a formazione in situ in seguito all'iniezione. Pertanto, le formulazioni possono essere preparate come soluzioni o sospensioni e possono essere iniettate nel corpo.

Un "deposito *in situ*" è una massa solida localizzata formata dalla precipitazione della composizione farmaceutica dopo l'iniezione della composizione nel soggetto. La composizione farmaceutica comprende un copolimero multiramificato che è sostanzialmente insolubile in soluzione acquosa. Pertanto, quando la composizione farmaceutica entra a contatto con l'ambiente acquoso del corpo umano o animale, si verifica un'inversione di fase che fa sì che la composizione passi da un liquido a un solido, vale a dire che si verifica una precipitazione della composizione, portando alla formazione di un "deposito *in situ*".

Un "deposito *in situ*" può essere chiaramente distinto dalle formulazioni di idrogel farmaceutiche descritte nell'arte antecedente.

Gli idrogel possono essere formati da polimeri a stella comprendenti un nucleo di polietere e ramificazioni di PLA. Determinati polimeri a stella comprendenti un nucleo di polietere e ramificazioni di PLA possono formare micelle in soluzione acquosa. I blocchi esterni di

PLA idrofobico si associano con le micelle vicine per formare una rete di micelle collegate o grossi aggregati, dando origine a gel in specifici intervalli di temperatura e concentrazione. Gli idrogel hanno reti tridimensionali che sono in grado di assorbire grosse quantità di acqua. I polimeri che costituiscono gli idrogel sono solubili in soluzione acquosa. Per contro, i polimeri multiramificati usati nella presente invenzione sono sostanzialmente insolubili in soluzione acquosa. Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione sono prive di acqua, o sostanzialmente prive di acqua. Per esempio, le composizioni farmaceutiche dell'invenzione comprendono meno dello 0,5% p/p di acqua.

Tipicamente, il copolimero multiramificato è sostanzialmente insolubile in soluzione acquosa. Tipicamente, ciò indica che il copolimero multiramificato ha una solubilità in soluzione acquosa inferiore a 15 mg/ml, facoltativamente inferiore a 10 mg/ml, inferiore a 5 mg/ml, inferiore a 2 mg/ml, facoltativamente inferiore a 1 mg/ml. Tipicamente, la solubilità viene misurata a 37 °C.

In una forma di realizzazione preferita, la solubilità del copolimero multiramificato in acqua è stata determinata come segue:

500 mg di copolimero sono stati posti in una fiala da 20 ml vuota. Sono stati aggiunti 5 ml di acqua ultrapura, la fiala è stata posta a 37 °C sotto vorticazione continua per 2 ore. Successivamente, la fiala è stata centrifugata per 10 minuti a 3000 rpm. Il surnatante è stato trasferito in un'altra fiala di peso noto che è stata posta a -80 °C durante la notte, prima della liofilizzazione durante 24 ore. La quantità di copolimero

solubilizzato è stata determinata come la differenza di peso della fiala vuota e di quella liofilizzata.

Gli idrogel sensibili alla temperatura, o termogel, come descritti nell'arte antecedente, sono tipicamente solidi a uno specifico intervallo di temperatura ristretto, per esempio da 30 a 35 °C, e questa solidificazione è reversibile. Per contro, il deposito *in situ* formato nella presente invenzione è solido quando iniettato in un intervallo di temperatura molto più ampio, per esempio da 20 °C a 37 °C.

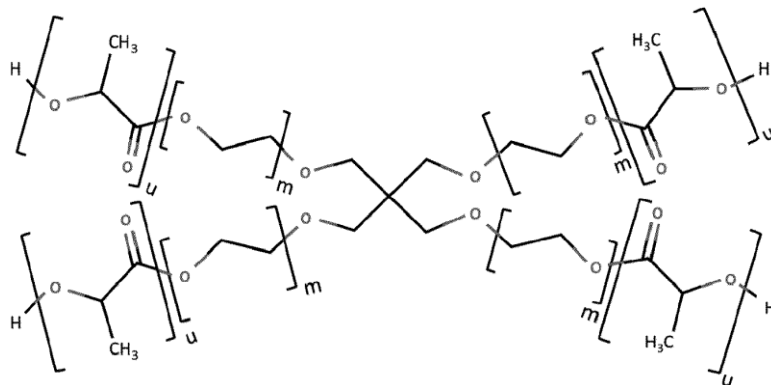
In aggiunta, è stato mostrato che gli idrogel a base di PEG e PLA operano come formulazioni a rilascio sostenuto fino a circa 6 mesi. Per contro, il deposito formato dalla composizione della presente invenzione consente il rilascio dell'API in un periodo più lungo.

In una forma di realizzazione aggiuntiva, la composizione dell'invenzione può comprendere uno o più ulteriori copolimeri multiramificati biodegradabili come definiti sopra. Fornire una composizione comprendente due o più copolimeri multiramificati fornisce un ulteriore mezzo per modulare il rilascio di un agente farmaceuticamente attivo. È possibile fornire differenti combinazioni dei copolimeri multiramificati, e le quantità relative dei due o più copolimeri multiramificati possono essere alterate.

In una forma di realizzazione, la composizione comprende un primo copolimero multiramificato biodegradabile come definito sopra e un secondo copolimero multiramificato biodegradabile differente come definito sopra. Il primo copolimero multiramificato biodegradabile può

essere presente in una quantità dal 15 al 25 (p/p%) e il secondo copolimero multiramificato biodegradabile può essere presente in una quantità dal 15 al 25 (p/p%) della composizione totale.

In una forma di realizzazione, il primo e il secondo copolimero multiramificato biodegradabile hanno ciascuno una struttura secondo la formula 5:



in cui u è un numero intero da 4 a 200 e m è un numero intero tra 2 e 150;

e in cui il primo copolimero multiramificato biodegradabile ha un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 2;

e in cui il secondo copolimero multiramificato biodegradabile ha un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 6; o

il primo copolimero multiramificato biodegradabile ha un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 5 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 2;

e in cui il secondo copolimero multiramificato biodegradabile ha un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 6.

In una forma di realizzazione alternativa dell'invenzione, la composizione comprende inoltre un copolimero triblocco biodegradabile avente la formula:



in cui A è un poliestere e B è polietilen glicole e v e x sono il numero di unità ripetute che varia da 1 a 3.000 e w è il numero di unità ripetute che varia da 3 a 300 e $v=x$ o $v \neq x$.

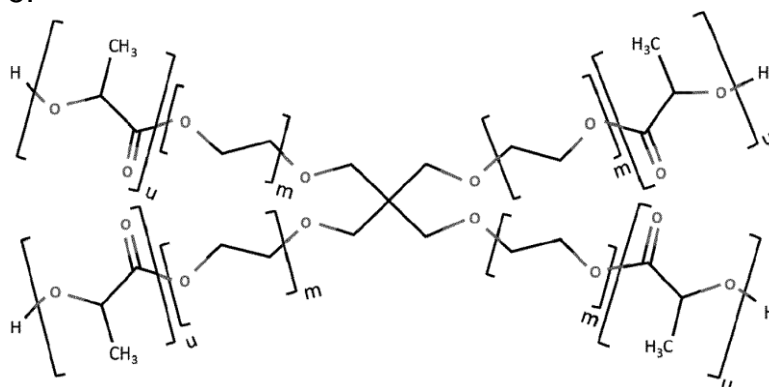
La combinazione di un copolimero multiramificato con un copolimero triblocco lineare porta a un'ulteriore opzione per modulare il rilascio di un ingrediente farmaceuticamente attivo.

Tipicamente, la massa della catena di polietilen glicole nel copolimero triblocco varia da 180 Da a 12 kDa o da 194 Da a 12 kDa o da 200 Da a 12 kDa o da 100 Da a 4 kDa, preferibilmente da 1 kDa a 2 kDa.

Tipicamente, il rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene nel copolimero triblocco è da 0,5 a 22,3, facoltativamente da 0,5 a 10, preferibilmente da 0,5 a 3,5.

In una forma di realizzazione preferita, il copolimero triblocco ha una catena di polietilen glicole avente una massa di 1 kDa e ha un rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di

etilene di 4, e il copolimero multiramificato ha una struttura secondo la formula 5:



in cui u è un numero intero da 4 a 200 e m è un numero intero tra 2 e 150; avente un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 3; o

in cui il copolimero triblocco ha una catena di polietilen glicole avente una massa di 2 kDa e ha un rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene di 2, e il copolimero multiramificato ha una struttura secondo la formula 5 avente un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 2; o

in cui il copolimero triblocco ha una catena di polietilen glicole avente una massa di 2 kDa e ha un rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene di 2, e il copolimero multiramificato ha una struttura secondo la formula 5 avente un nucleo di polietere avente un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 6;

facoltativamente in cui il copolimero multiramificato è presente in una quantità dal 15 al 25 (p/p%) della composizione totale e il copolimero triblocco è presente in una quantità dal 15 al 25 (p/p%) della composizione totale.

In un'ulteriore forma di realizzazione alternativa, la composizione comprende inoltre un copolimero diblocco biodegradabile avente la formula:



in cui A è un poliestere e C è un polietilen glicole con cappaggio terminale e y e z sono il numero di unità ripetute, con y variando da 2 a 250 e z variando da 1 a 3.000.

"Polietilen glicole con cappaggio terminale" (cPEG) si riferisce a PEG in cui un gruppo idrossile terminale viene fatto reagire e include PEG cappato con alcossi, PEG cappato con uretano, PEG cappato con estere e composti simili. Il gruppo di cappaggio è un gruppo chimico che non contiene una funzione chimica in grado di reagire con esteri ciclici come lattide, glicolattide, caprolattone e simili o altri esteri e relative miscele. La reazione di un polimero di PEG con cappaggio terminale con lattide genera un copolimero diblocco cPEG-PLA.

La combinazione di un copolimero multiramificato con un copolimero diblocco lineare fornisce un'opzione aggiuntiva per modulare il rilascio di un ingrediente farmaceuticamente attivo.

In una forma di realizzazione, il peso molecolare della catena di polietilen glicole con cappaggio terminale del copolimero diblocco varia

da 100 Da a 10 kDa o da 164 Da a 2 kDa, preferibilmente da 1 kDa a 2 kDa.

In una forma di realizzazione, il rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene nel copolimero diblocco è da 0,8 a 15, facoltativamente da 1 a 10.

Tipicamente, il poliestere A nel copolimero triblocco o diblocco è selezionato dal gruppo di acido polilattico (PLA), acido poliglicolico, policaprolattone, polietilene adipato, poliidrossialcanoato, poli(ϵ -caprolattone-co-lattide) (PCLA), poli(acido lattico-co-glicolico) (PLGA) e relative miscele e facoltativamente in cui il polietilen glicole con cappaggio terminale è metossi polietilen glicole. Preferibilmente, il poliestere A è acido polilattico.

Copolimeri lineari triblocco e diblocco idonei per l'uso nelle composizioni dell'invenzione sono descritti in WO2012/090070A1, WO2019016233A1, WO2019016234A1 e WO2019016236A1.

In una forma di realizzazione dell'invenzione, la composizione comprende inoltre un veicolo farmaceuticamente accettabile, facoltativamente in cui il veicolo farmaceuticamente accettabile è un solvente organico. Il solvente è tipicamente un solvente biocompatibile. Preferibilmente, il veicolo farmaceuticamente accettabile è selezionato dal gruppo di: alcol benzilico, benzil benzoato, dimetil isosorbide (DMI), dimetil solfossido (DMSO), etil acetato, etil benzoato, etil lattato, glicerolo formal, metil etil chetone, metil isobutil chetone, N-etil-2-pirrolidone, N-metil-2-pirrolidinone (NMP), pirrolidone-2, tetraglicole, triacetina,

tributirina, tripropionina, glicofurolo e relative miscele. La quantità di detto veicolo è tipicamente almeno il 25%, o almeno il 35% (p/p%), della composizione totale.

La composizione comprende almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo.

In una forma di realizzazione, l'ingrediente farmaceuticamente attivo è idrofobico.

In una forma di realizzazione preferita, l'ingrediente farmaceuticamente attivo è meloxicam, bupivacaina, tamsulosina, octreotide, tadalafil, empagliflozin, tenofovir, liotironina o relative combinazioni.

In una forma di realizzazione, l'almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo è presente in una quantità dallo 0,05% al 60% (p/p%), facoltativamente dallo 0,05% al 40%, facoltativamente dallo 0,05% al 30%, facoltativamente dallo 0,05% al 10%, facoltativamente dallo 0,05% al 7%, facoltativamente dallo 0,05% al 2%, della composizione totale.

In una forma di realizzazione preferita, la composizione è un liquido iniettabile.

In una forma di realizzazione, il copolimero multiramificato è presente in una quantità dal 2% all'80%, facoltativamente dal 2% al 70%, facoltativamente dal 2% al 60%, facoltativamente dal 10% al 60%, facoltativamente dal 10% al 50%, facoltativamente dal 20% al 40%, facoltativamente dal 20% al 35%, facoltativamente dal 30% al 50% (p/p%), della composizione totale. Questa può essere la quantità di un

singolo copolimero multiramificato se è presente soltanto un copolimero multiramificato o la quantità totale di copolimero multiramificato se sono presenti due o più copolimeri multiramificati. Se è presente un copolimero diblocco o triblocco, la quantità del copolimero multiramificato viene preferibilmente alterata in modo tale che la quantità totale di copolimero rimanga sostanzialmente costante.

Tipicamente, il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene nella composizione è da 1 a 10, preferibilmente da 2 a 6.

Tipicamente, il rilascio di almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo può essere modulato dalla composizione.

In una forma di realizzazione, la composizione è idonea per erogare un ingrediente farmaceuticamente attivo a un soggetto per almeno 1 giorno, facoltativamente almeno 3 giorni, facoltativamente almeno 7 giorni, facoltativamente almeno 30 giorni, facoltativamente almeno 90 giorni, facoltativamente almeno 1 anno.

È anche descritto l'uso della composizione farmaceutica come definita sopra per modulare la cinetica di rilascio di almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo.

In un aspetto aggiuntivo, la presente invenzione fornisce un metodo per produrre una composizione farmaceutica come definita sopra, detto metodo comprendendo disciogliere un copolimero multiramificato come definito sopra in un veicolo farmaceuticamente accettabile, e

successivamente aggiungere un ingrediente farmaceuticamente attivo alla composizione.

In un ulteriore aspetto, l'invenzione fornisce un deposito bioriassorbibile che viene prodotto *ex vivo* o *in situ* mettendo a contatto la composizione come definita sopra con un mezzo acquoso, acqua o fluido corporeo.

In un aspetto finale, è fornito un metodo per il rilascio controllato di un ingrediente farmaceuticamente attivo comprendente somministrare la composizione come definita sopra a un soggetto e consentire la formazione *in vivo* di un deposito *in situ*.

La composizione farmaceutica è preferibilmente idonea per la somministrazione parenterale. Il termine "somministrazione parenterale" racchiude intramuscolare, intraperitoneale, intraddominale, sottocutanea, endovenosa ed endoarteriosa. Racchiude anche la somministrazione intradermica, intracavernosa, intravitreale, intracerebrale, intratecale, epidurale, intrarticolare e intraossea.

Il soggetto può essere un animale o una pianta. Il termine "animali" racchiude tutti i membri del regno Animalia. L'animale può essere un animale umano o non umano.

Come usato nella presente, il termine "pianta" racchiude tutti i membri del regno vegetale.

"Ingrediente farmaceuticamente attivo" indica un farmaco o medicinale per trattare o prevenire varie malattie mediche. Ai fini della presente domanda, il termine "principio attivo" ha lo stesso significato di

"ingrediente attivo". Pertanto, i termini ingrediente attivo, principio attivo, farmaco o medicinale vengono usati in modo interscambiabile. Viene anche usato il termine ingrediente farmaceutico attivo, o "API". Il termine farmaco o ingrediente attivo, come usato nella presente, include, senza limitazione, sostanze fisiologicamente o farmacologicamente attive che agiscono a livello locale o sistemico nel corpo di un animale o di una pianta.

Come usato nella presente, "malattia" indica qualsiasi disturbo in un essere umano, animale o pianta causato da infezione, dieta o funzionamento difettoso di un processo.

Il termine "formulazione spaziale" racchiude qualsiasi formulazione che può essere applicata al o nel corpo dell'animale o della pianta e non necessariamente deve essere somministrata attraverso una siringa.

Come usate nella presente, le "unità ripetute" sono le unità ricorrenti fondamentali di un polimero.

Come usato nella presente, "polietilen glicole", abbreviato come PEG in tutta la domanda, è talvolta indicato come ossido di polietilene o poli(ossietilene) e i termini vengono usati in modo interscambiabile nella presente invenzione.

L'abbreviazione "PLA" si riferisce a poli(acido lattico).

L'abbreviazione "PLGA" si riferisce a poli(acido lattico-co-glicolico).

L'abbreviazione "PCLA" si riferisce a poli(ϵ -caprolattone-co-lattide).

L'abbreviazione "PE" si riferisce a poliestere.

I copolimeri sono stati denominati come segue:

I polimeri triblocco lineari descritti nella presente sono stati contrassegnati come PxRy, in cui x rappresenta il peso molecolare della catena di PEG in kDa e y è il rapporto molare unità ripetuta di estere/ossido di etilene, per esempio il rapporto molare acido lattico/ossido di etilene (LA/EO), e consente il calcolo della lunghezza di catena di PLA all'interno del copolimero.

I polimeri diblocco lineari descritti nella presente sono stati contrassegnati come dPxRy, in cui x rappresenta il peso molecolare della catena di PEG in kDa e y è il rapporto molare monomero di estere/ossido di etilene, per esempio il rapporto molare acido lattico/ossido di etilene (LA/EO).

sz-PxRy rappresenta un copolimero PEG-PLA a forma di stella con z bracci. x e y forniscono le stesse informazioni dei copolimeri lineari, ossia x rappresenta il peso molecolare del nucleo di polietere formato dalla reazione di un poliolo e PEG (spesso indicato come "PEG a forma di stella") e y è il rapporto molare monomero di estere/ossido di etilene.

Come esempio, s4-P2R6 è un copolimero a forma di stella a 4 bracci con un blocco di PEG a stella di 2 kDa con un rapporto molare LA/EO complessivo di 6.

L'"iniettabilità" di una formulazione, come usata nella presente, è definita dalla forza necessaria in newton (N) per iniettare una formulazione usando parametri predeterminati. Questi parametri includono: velocità d'iniezione, volume d'iniezione, durata d'iniezione, tipo di siringa o tipo di ago e simili. Questi parametri possono variare in base ad almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo usato, o al metodo di somministrazione desiderato, come sottocutanea, intraoculare, intrarticolare e simili. Possono essere regolati in base all' almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo presente all'interno delle formulazioni, per essere in grado di osservare le differenze e fluttuazioni tra le formulazioni. L'iniettabilità deve essere mantenuta bassa in modo tale che la formulazione possa essere facilmente somministrata da un professionista sanitario qualificato in un arco di tempo accettabile. Un valore di iniettabilità accettabile può essere da 0,1 N a 20 N con il metodo di misurazione descritto di seguito, con un'iniettabilità da 0,1 N a 10 N essendo massimamente preferita. Un'iniettabilità non ottimale può essere superiore a 20 N-30 N. Le formulazioni sono difficilmente iniettabili da 30 a 40 N e non iniettabili sopra 40 N. L'iniettabilità può essere misurata usando un testuometro, preferibilmente un testuometro Lloyd Instruments FT Plus, usando le seguenti condizioni analitiche: 500 µl di formulazione vengono iniettati attraverso una siringa da 1 ml, un ago Terumo 23G 1" con una portata di 1 ml/min come descritto nell'esempio 6.

"Viscosità," per definizione e come usata nella presente, è una misura della resistenza di un fluido al flusso e alla deformazione graduale mediante sforzo di taglio o resistenza alla trazione. Descrive l'attrito interno di un fluido in movimento. Per i liquidi, corrisponde al concetto informale di "densità". Con "viscosità dinamica" si intende una misura della resistenza al flusso di un fluido sotto una forza applicata. La velocità dinamica può variare da 1 MPa.s. a 3000 mPa.s o da 5 mPa.s a 2500 mPa.s o da 10 mPa.s a 2000 mPa.s o da 20 mPa.s a 1000 mPa.s. La viscosità dinamica viene determinata usando un reometro Anton Paar dotato di un sistema di misurazione a piastra conica. Tipicamente, 250 μ l di formulazione studiata vengono posti sulla piastra di misurazione. La temperatura è controllata a +25 °C. Il sistema di misurazione usato è una piastra conica con un diametro di 25 mm e un angolo di cono di 1 grado (CP25-1). L'intervallo di lavoro è da 10 a 1000 s^{-1} . Dopo essere state vortexate per 10 secondi, le formulazioni vengono poste al centro della piastra di misurazione termoregolata usando una spatola. Il sistema di misurazione viene abbassato e viene lasciato uno spazio di 0,051 mm tra il sistema di misurazione e la piastra di misurazione. Vengono determinati 21 punti di misurazione di viscosità attraverso l'intervallo di sforzo di taglio da 10 a 1000 s^{-1} . I valori dati sono quelli ottenuti a 100 s^{-1} .

Farmaci e agenti biologicamente attivi rappresentativi da usare nell'invenzione includono, senza limitazione, peptidi, proteine, anticorpi, frammenti di anticorpi, agenti desensibilizzanti, antigeni, vaccini, antigeni

di vaccino, antinfettivi, antidepressivi, stimolanti, oppiacei, antipsicotici, antipsicotici atipici, medicinali per il glaucoma, farmaci antiansia, antibatterici, anticoagulanti, anticonvulsivanti, antidepressivi, antiemetici, antifungini, antineoplastici, antivirali, antibiotici, antimicrobici, antiallergenici, antidiabetici, agenti antinfiammatori steroidei, decongestionanti, miotici, anticolinergici, simpaticomimetici, sedativi, ipnotici, energizzanti psichici, tranquillanti, ormoni, steroidi androgeni, estrogeni, agenti progestinici, agenti umorali, prostaglandine, analgesici, corticosteroidi, antispasmodici, antimalarici, antistaminici, agenti cardioattivi, agenti antinfiammatori non steroidei, agenti antiparkinson, agenti antipertensivi, agenti bloccanti beta-adrenergici, agenti nutrizionali, agonisti dell'ormone di rilascio della gonadotropina, insetticidi, agenti antielmintici o relative combinazioni.

L'ingrediente farmaceuticamente attivo può essere meloxicam, bupivacaina, tamsulosina, octreotide, tadalafil, empagliflozin, tenofovir, liotironina o relative combinazioni.

Nella composizione di erogazione di farmaco biodegradabile di questa invenzione possono essere usate combinazioni di farmaci. Per esempio, se è necessario trattare il lupus eritematoso, agenti antinfiammatori non steroidei e corticosteroidi possono essere somministrati insieme nella presente invenzione.

Anche i medicinali veterinari come i medicinali per il trattamento di vermi o vaccini per animali fanno parte della presente invenzione.

Anche i medicinali virali per le piante come i virus derivanti da *Potyviridae*, *Geminiviridae*, dal genere *Tospovirus* di *Bunyaviridae* e il virus della striatura della banana sono racchiusi dalla presente invenzione. Inoltre, nella composizione di erogazione di farmaco biodegradabile dell'invenzione possono essere usati i medicinali per il virus del mosaico del tabacco, il virus della rugosità della rapa, del nanismo giallo dell'orzo, delle macchie anulari dell'anguria e del mosaico del cetriolo.

Per i tecnici del ramo, nel sistema di erogazione descritto è possibile utilizzare altri farmaci o agenti biologicamente attivi che possono essere rilasciati in un ambiente acquoso. Inoltre, è possibile usare varie forme dei farmaci o agenti biologicamente attivi. Questi includono, senza limitazione, forme come molecole non cariche, complessi molecolari, sali, eteri, esteri, ammidi, eccetera, che vengono attivati biologicamente quando iniettati nell'animale o nella pianta o usati come una formulazione spaziale in modo tale che possa essere applicata al o all'interno del corpo di un animale o di una pianta o come un impianto a bastoncino.

La quantità farmaceuticamente efficace di un ingrediente attivo può variare a seconda dell'ingrediente attivo, dell'entità della condizione medica dell'animale o della pianta e del tempo richiesto per erogare l'ingrediente attivo. Non c'è alcun limite superiore critico alla quantità di ingrediente attivo incorporato nella soluzione polimerica a condizione che la soluzione o sospensione abbia una viscosità che è accettabile per

l'iniezione attraverso un ago di siringa e che possa efficacemente trattare la condizione medica senza sottoporre l'animale o la pianta a un'overdose. Il limite inferiore dell'ingrediente attivo incorporato nel sistema di erogazione è dipendente semplicemente dall'attività dell'ingrediente attivo e dal lasso di tempo necessario per il trattamento.

Nella composizione di erogazione di farmaco biodegradabile della presente invenzione, la quantità farmaceuticamente efficace può essere rilasciata gradualmente durante un periodo di tempo prolungato. Questo rilascio lento può essere continuo o discontinuo, lineare o non lineare e può variare a causa della composizione del copolimero multiramificato.

L'ingrediente attivo può essere rilasciato per una durata da 1 giorno a 1 anno o più a seconda del tipo di trattamento necessario e della composizione di erogazione di farmaco biodegradabile usata. In una forma di realizzazione, la composizione di erogazione di farmaco biodegradabile può erogare l'ingrediente attivo per almeno 1 giorno, facoltativamente almeno 3 giorni, facoltativamente almeno 7 giorni. In un'altra forma di realizzazione, la composizione di erogazione di farmaco biodegradabile può erogare l'ingrediente attivo per almeno 30 giorni. In una forma di realizzazione, la composizione di erogazione di farmaco biodegradabile può erogare l'ingrediente attivo per almeno 90 giorni. In ancora un'altra forma di realizzazione, la composizione di erogazione di farmaco biodegradabile può erogare un ingrediente attivo per 1 anno o più.

La composizione di erogazione di farmaco biodegradabile può essere un liquido iniettabile, preferibilmente a temperatura ambiente, e può essere iniettata attraverso una siringa senza forza eccessiva. Queste composizioni di erogazione di farmaco biodegradabili sono anche a formazione *in situ* e biodegradabili e si trasformano in depositi solidi quando iniettate nell'animale o nella pianta.

La composizione può comprendere inoltre un veicolante, adiuvante o veicolo farmaceuticamente accettabile.

L'adiuvante può essere formulato simultaneamente alla miscelazione del farmaco. A tal riguardo, gli adiuvanti che possono essere usati sono allume, fosfato di alluminio, fosfato di calcio, MPL™, motivi CpG, tossine modificate, saponine, adiuvanti stimolatori endogeni come citochine, adiuvanti completi e incompleti di Freund, adiuvanti di tipo ISCOM, peptidi muramili e simili.

Il veicolo può essere qualsiasi diluente, solvente, riempitivo o legante aggiuntivo che può alterare l'erogazione dell'ingrediente attivo quando necessario nella composizione di erogazione di farmaco biodegradabile. Esempi includono piccole quantità di trigliceridi come triacetina o tripropionina.

In una forma di realizzazione, la composizione può comprendere un solvente organico. Il solvente organico può essere selezionato dal gruppo di: alcol benzilico, benzil benzoato, dimetil isosorbide (DMI), dimetil solfossido (DMSO), etil acetato, etil benzoato, etil lattato, glicerolo formal, metil etil chetone, metil isobutil chetone, N-etil-2-pirrolidone, N-

metil-2-pirrolidinone (NMP), 2-pirrolidone, tetraglicole, triacetina, tributirina, tripropionina, glicofurolo e relative miscele. In una forma di realizzazione, come solventi possono essere usati DMSO, NMP, tripropionina o relative miscele.

Elenco delle abbreviazioni:

DB

Diblocco (mPEG-PLA)

DMSO

Dimetil solfossido

EO

Ossido di etilene

GPC

Cromatografia a permeazione di gel

UPLC

Cromatografia liquida a ultra prestazione

KRT

Tampone Krebs-Ringer-Tris

LA

Acido lattico

mPEG

metossi-poli(etilen glicole)

mPEG-PLA

metossi-poli(etilen glicole)-b-poli(acido lattico)

PBS

Tampone fosfato salino

PDI

Indice di polidispersità

PEG

Polietilen glicole

PLA-PEG-PLA

Poli(acido lattico)-b-poli(etilen glicole)-b-poli(acido lattico)

PLA

Poli(acido lattico)

TB

Triblocco (PLA-PEG-PLA)

BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

La figura 1 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F396 (□) contenente il 40,00% di copolimero triblocco P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F397 (△) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono espone nella Tabella 1.

I risultati indicano che la formulazione a base di copolimero a forma di stella presenta una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione a base di copolimero lineare con un peso molecolare

paragonabile e un contenuto di copolimero totale identico. Infatti, la formulazione F397 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F396.

La figura 2 presenta i valori di iniettabilità delle formulazioni F396 e F397. I dati dimostrano che, per un caricamento di copolimero identico e un peso molecolare paragonabile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella ha un'iniettabilità inferiore rispetto alla formulazione a base di copolimero lineare. Pertanto, i valori di iniettabilità per la formulazione F397 sono inferiori a quelli di F396. La Tabella 3 presenta i dettagli dei dati di iniettabilità.

La figura 3 presenta i valori di viscosità delle formulazioni F396 e F397. I dati mostrano che, per un caricamento di copolimero identico e un peso molecolare paragonabile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella ha una viscosità inferiore rispetto alla formulazione a base di copolimero lineare. Pertanto, i valori di viscosità di F397 sono inferiori ai valori di viscosità di F396. La Tabella 4 presenta i dettagli dei dati di viscosità.

La figura 4 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F511 (O) contenente il 38,00% di copolimero diblocco dP2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 60,00% di DMSO e la formulazione F397 (Δ) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le

specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono espone nella Tabella 1.

I risultati indicano che la formulazione a base di copolimero a forma di stella porta a una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione a base di copolimero lineare con un peso molecolare paragonabile e un contenuto di copolimero totale simile. Infatti, la formulazione F397 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F511.

La figura 5 presenta i valori di iniettabilità della formulazione F397 e della formulazione F511. I dati dimostrano che, per un caricamento di copolimero simile e un peso molecolare paragonabile, entrambe le formulazioni hanno valori di iniettabilità paragonabili. Pertanto, per un'iniettabilità simile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una cinetica di rilascio più lenta. La Tabella 3 presenta i dettagli dei dati di iniettabilità.

La figura 6 presenta i valori di viscosità delle formulazioni F397 e F511. I dati mostrano che, per un caricamento di copolimero simile e un peso molecolare paragonabile, sia la formulazione a base di copolimero a forma di stella sia la formulazione a base di copolimero lineare hanno valori di viscosità simili. Pertanto, per valori di viscosità simili, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una cinetica di rilascio più lenta. La Tabella 4 presenta i dettagli dei dati di viscosità.

La figura 7 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F510 (⊗) contenente il 61,00% di copolimero diblocco dP2R1.5 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 37,00% di DMSO e la formulazione F397 (△) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1.

I dati mostrano che la formulazione a base di copolimero a forma di stella porta a una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quella della formulazione a base di copolimero lineare con una lunghezza di catena di poliestere paragonabile per ramificazione. Infatti, la formulazione F397 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F510.

La figura 8 presenta i valori di iniettabilità delle formulazioni F397 e F510. I dati dimostrano che, per un'iniettabilità simile e una lunghezza di catena di poliestere simile per ramificazione, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una cinetica di rilascio più lenta. La Tabella 3 presenta i dettagli dei dati di iniettabilità.

La figura 9 mostra i valori di viscosità delle formulazioni F397 e F510. I dati dimostrano che, per una viscosità simile e una lunghezza di catena di poliestere simile per ramificazione, la formulazione a base di copolimero a forma di stella porta a una cinetica di rilascio più lenta. La Tabella 4 presenta i dettagli dei dati di viscosità.

La figura 10 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F391 (O) contenente il 40,00% di copolimero triblocco P2R3.5 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F451 (V) contenente il 47,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 51,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1.

I risultati indicano che la formulazione a base di copolimero a forma di stella porta a una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione a base di copolimero lineare con un peso molecolare paragonabile. Infatti, la formulazione F451 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F391.

La figura 11 mostra i valori di iniettabilità delle formulazioni F391 e F451. I dati dimostrano che, per un'iniettabilità simile e un peso molecolare simile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una cinetica di rilascio più lenta. La Tabella 3 presenta i dettagli dei dati di iniettabilità.

La figura 12 presenta i valori di viscosità di F391 e F451. I dati dimostrano che, per una viscosità simile e un peso molecolare simile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quella della formulazione a base di copolimero lineare. La Tabella 4 presenta i dettagli dei dati di viscosità.

La figura 13 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale totale di meloxicam nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F449 (O) contenente il 45,00% di copolimero diblocco dP2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 53,00% di DMSO e la formulazione F451 (V) contenente il 47,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 51,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono espone nella Tabella 1.

I risultati indicano che la formulazione a base di copolimero a forma di stella porta a una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quella della formulazione a base di copolimero lineare con un peso molecolare paragonabile. Infatti, la formulazione F451 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a F449.

La figura 14 presenta i valori di iniettabilità delle formulazioni F449 e F451. I dati dimostrano che, per un'iniettabilità inferiore e un peso molecolare simile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quella della formulazione a base di copolimeri lineari. La Tabella 3 presenta i dettagli dei dati di iniettabilità.

La figura 15 presenta i valori di viscosità delle formulazioni F449 e F451. I dati dimostrano che, con valori di viscosità inferiori e un peso molecolare simile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella porta a una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quella della

formulazione a base di copolimeri lineari. La Tabella 4 presenta i dettagli dei dati di viscosità.

La figura 16 presenta il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F509 (O) contenente il 68,00% di copolimero diblocco dP2R0.8 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 30,00% di DMSO e la formulazione F451 (V) contenente il 47,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 51,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1.

I dati mostrano che la formulazione a base di copolimero a forma di stella porta a una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione a base di copolimeri lineari con una lunghezza di catena di poliestere paragonabile per ramificazione. Infatti, la formulazione F451 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a F509.

La figura 17 mostra i valori di iniettabilità delle formulazioni F451 e F509. I dati dimostrano che, per valori di iniettabilità paragonabili e una lunghezza di catena di poliestere simile per braccio, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quella della formulazione a base di copolimero lineare. La Tabella 3 presenta i dettagli dei dati di iniettabilità.

La figura 18 presenta i valori di viscosità delle formulazioni F451 e F509. I dati dimostrano che, per una viscosità paragonabile e una

lunghezza di catena di poliestere simile per braccio, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quella della formulazione a base di copolimero lineare. La Tabella 4 presenta i dettagli dei dati di viscosità.

La figura 19 presenta il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F388 (O) contenente il 40,00% di copolimero triblocco P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F389 (Δ) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1.

I risultati indicano che la formulazione a base di copolimero a forma di stella presenta una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quella della formulazione a base di copolimero lineare con un peso molecolare paragonabile. La formulazione F389 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F388.

La figura 20 presenta i valori di iniettabilità delle formulazioni F388 e F389. I dati dimostrano che, per un contenuto di copolimero identico e un peso molecolare paragonabile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra un'iniettabilità inferiore e una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quelle della formulazione a base di copolimero lineare. La Tabella 3 presenta i dettagli dei dati di iniettabilità.

La figura 21 presenta i valori di viscosità delle formulazioni F388 e F389. I dati dimostrano che, per lo stesso contenuto di copolimero e un peso molecolare paragonabile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una viscosità inferiore e una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quelle della formulazione a base di copolimero lineare. La Tabella 4 presenta i dettagli dei dati di viscosità.

La figura 22 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da tre formulazioni differenti: la formulazione F483 (O) contenente il 44,00% di copolimero triblocco P2R3.5 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 54,00% di NMP; la formulazione F484 (□) contenente il 47,00% di copolimero diblocco dP2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 51,00% di NMP e la formulazione F489 (V) contenente il 51,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 47,00% di NMP. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1.

I risultati indicano che la formulazione a base di copolimeri a forma di stella porta a una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quelle delle formulazioni a base di copolimero lineare con un peso molecolare paragonabile. Infatti, la formulazione F489 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a F483 e F484.

La figura 23 presenta i valori di iniettabilità delle formulazioni F483, F484 e F489. I dati dimostrano che, per un'iniettabilità identica e

un peso molecolare paragonabile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quelle delle formulazioni a base di copolimero lineare. La Tabella 3 presenta i dettagli dei dati di iniettabilità.

La figura 24 presenta i valori di viscosità di F483, F484 e F489. I dati dimostrano che, per una viscosità simile e un peso molecolare paragonabile, la formulazione a base di copolimero a forma di stella mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quelle delle formulazioni a base di copolimero lineare. La Tabella 4 presenta i dettagli dei dati di viscosità.

La figura 25 è un grafico che mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da tre formulazioni differenti: la formulazione F485 (O) contenente il 22,00% di copolimero triblocco P2R3.5 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 76,00% di triacetina; la formulazione F486 (□) contenente il 24,00% di copolimero diblocco dP2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 74,00% di triacetina e la formulazione F488 (V) contenente il 26,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 72,00% di triacetina. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono espone nella Tabella 1.

I risultati indicano che la formulazione a base di copolimero a forma di stella porta a una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quelle delle formulazioni a base di copolimero lineare con un peso molecolare

paragonabile. La formulazione F488 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a F485 e F486.

La figura 26 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* totale percentuale di meloxicam nel tempo da tre formulazioni differenti. La formulazione F389 (◇) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO; la formulazione F405 (△) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F397 (V) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1.

I dati mostrano che un aumento della lunghezza di catena di PLA all'interno del copolimero a forma di stella porta a una modulazione della cinetica di rilascio nelle formulazioni con lo stesso contenuto di copolimero. La formulazione F397 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a F405 e F389. Similmente, la formulazione F405 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a F389.

La figura 27 presenta il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F389 (V) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F402 (△) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P5R2

con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I dati mostrano che l'aumento della lunghezza di catena di PEG all'interno del copolimero a forma di stella con un rapporto LA/EO fisso porta a un aumento del tasso di rilascio per le formulazioni con lo stesso contenuto di copolimero. La formulazione F389 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a F402.

La figura 28 presenta il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da due formulazioni differenti. La formulazione F405 (Δ) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F451 (V) contenente il 47,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 51,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I dati mostrano che un aumento del contenuto di copolimero a forma di stella porta a una diminuzione del tasso di rilascio. Infatti, la formulazione F451 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto a F405.

La figura 29 presenta il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di bupivacaina nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione

F413 (O) contenente il 40,00% di copolimero triblocco P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F414 (Δ) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I risultati indicano che la formulazione a base di copolimero a forma di stella presenta una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quella delle formulazioni a base di copolimero lineare aventi un peso molecolare paragonabile. Infatti, la formulazione F414 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F413.

La figura 30 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam, bupivacaina e tamsulosina nel tempo da tre formulazioni differenti: la formulazione F414 (Δ) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di bupivacaina e il 58,00% di DMSO; la formulazione F397 (O) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di meloxicam e il 58,00% di DMSO e la formulazione F460 (V) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di tamsulosina e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I dati mostrano che è possibile ottenere un rilascio sostenuto a lungo termine di differenti API usando le formulazioni a base di copolimero a forma di stella descritte nella presente invenzione.

La figura 31 è un grafico che mostra il rilascio cumulativo *in vitro* totale percentuale di meloxicam nel tempo da F397. La formulazione F397 (O) contiene il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I risultati dimostrano che la formulazione a base di copolimero a forma di stella porta a un rilascio sostenuto del farmaco fino ad almeno 6 mesi.

La figura 32 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di tamsulosina nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F463 (Δ) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 14,40% di ingrediente attivo (API) e il 45,60% di DMSO e la formulazione F460 (V) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I risultati dimostrano che le formulazioni a base di copolimero a forma di stella consentono un rilascio sostenuto con due carichi di API differenti.

La figura 33 mostra il tasso di rilascio in microgrammi al giorno di meloxicam nel tempo da quattro formulazioni differenti: la formulazione F391 (O) contenente il 40,00% di copolimero triblocco P2R3.5 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO; la formulazione F449 (□) contenente il 45,00% di copolimero diblocco dP2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 53,00% di DMSO; la formulazione F451 (△) contenente il 47,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 51,00% di DMSO e la formulazione F397 (V) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1.

I risultati indicano che le formulazioni a base di copolimero a forma di stella portano a una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quelle della formulazione a base di copolimero lineare avente un peso molecolare paragonabile. Infatti, le formulazioni F451 e F397 mostrano una cinetica di rilascio più lenta rispetto a F391 e F449.

È possibile osservare che la formulazione a base di copolimero a forma di stella F397 porta al tasso di rilascio più lento.

La figura 34 è un grafico che mostra la concentrazione plasmatica di frazione attiva totale espressa in nanogrammi per millilitro di meloxicam nel tempo dalle quattro formulazioni differenti presentate nella figura 33. Sono stati condotti test di rilascio *in vivo* secondo l'impostazione 1 nella tabella 5, esempio 7.

I risultati indicano che, conformemente alle osservazioni *in vitro*, le formulazioni a base di copolimero a forma di stella presentano una cinetica di rilascio più lenta *in vivo* rispetto a quelle di una formulazione a base di copolimero lineare con un peso molecolare paragonabile. Infatti, le formulazioni F451 e F397 mostrano una cinetica di rilascio più lenta rispetto a F391 e F449.

Similmente ai risultati *in vitro*, è stato osservato che la formulazione a base di copolimero a forma di stella F397 porta al tasso di rilascio più lento.

La figura 35 presenta i valori di iniettabilità delle formulazioni F391, F449, F451 e F397. I dati dimostrano che, per un'iniettabilità simile (circa 20 N), le formulazioni a base di copolimero a forma di stella mostrano una cinetica di rilascio più lenta rispetto a quelle delle formulazioni a base di copolimero lineare. La Tabella 3 presenta i dettagli dei dati di iniettabilità.

La figura 36 presenta il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di acido lattico nel tempo da due formulazioni differenti, come una misura della degradazione del copolimero di PEG-PLA. La formulazione F496 (O) contenente il 40,00% di copolimero triblocco P2R2 con il 2,00% di

tamsulosina e il 58,00% di DMSO e la formulazione F497 (□) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R2 con il 2,00% di tamsulosina e il 58,00% di DMSO. La quantificazione di acido lattico è stata condotta secondo l'esempio 4. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I dati mostrano che la formulazione a base di copolimero lineare F496 porta a un rilascio di acido lattico costante nel periodo di tempo. La formulazione a base di copolimero a forma di stella F497 porta a una cinetica di rilascio più lenta di acido lattico rispetto a F496 per i primi 50 giorni e successivamente il rilascio accelera fino al termine del periodo studiato.

Pertanto, sorprendentemente, la formulazione a base di copolimero a forma di stella porta a una degradazione di deposito accelerata rispetto alla formulazione a base di copolimero lineare.

La figura 37 è un grafico che mostra il rilascio cumulativo *in vitro* totale percentuale di acido lattico nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F498 (O) contenente il 40,00% di copolimero diblocco dP2R3 con il 2,00% di tamsulosina e il 58,00% di DMSO e la formulazione F499 (□) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 2,00% di tamsulosina e il 58,00% di DMSO. La quantificazione di acido lattico è stata condotta secondo l'esempio 4. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I dati mostrano che la formulazione a base di copolimero lineare F498 porta a un rilascio di acido lattico lento, quasi costante, per i primi 90 giorni e successivamente il rilascio accelera fino al termine del periodo studiato. La formulazione a base di copolimero a forma di stella F499 porta a una cinetica di rilascio più lenta di acido lattico rispetto a F498 per i primi 50 giorni e successivamente il rilascio accelera fino al termine del periodo studiato. Pertanto, i depositi delle formulazioni a base di copolimero a forma di stella vanno incontro a una degradazione di deposito accelerata rispetto ai depositi formati dalle formulazioni a base di copolimero lineare.

La figura 38 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da tre formulazioni differenti: la formulazione F389 (⊗) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO, la formulazione F401 (△) contenente il 20,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 e il 20,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F397 (◇) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono espone nella Tabella 1 di seguito.

I risultati dimostrano che la miscela di due copolimeri a forma di stella in una composizione di formulazione porta a un profilo di rilascio modulato o migliorato.

La figura 39 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da tre formulazioni differenti: la formulazione F397 (O) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO, la formulazione F402 (V) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P5R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F404 (□) contenente il 20,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 e il 20,00% di copolimero a forma di stella s4-P5R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1.

I risultati dimostrano che la miscela di due copolimeri a forma di stella in una composizione di formulazione porta a un profilo di rilascio modulato.

La figura 40 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da tre formulazioni differenti: la formulazione F388 (◇) contenente il 40,00% di copolimero lineare P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO, la formulazione F389 (O) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F390

(□) contenente il 20,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R2 e il 20,00% di copolimero lineare P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I dati mostrano che la miscela di copolimeri lineari e a forma di stella in una composizione di formulazione può portare a un profilo di rilascio modulato. Sorprendentemente, la formulazione mista a base di copolimero a forma di stella e lineare porta a un profilo di rilascio ottimizzato rispetto alla formulazione a base di copolimero a forma di stella o quella a base di copolimero lineare.

La figura 41 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di bupivacaina nel tempo da tre formulazioni differenti: la formulazione F407 (△) contenente il 40,00% di copolimero lineare P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO, la formulazione F408 (V) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F409 (⊗) contenente il 20,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R2 e il 20,00% di copolimero lineare P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I dati mostrano che la miscela di copolimeri lineari e a forma di stella in una composizione di formulazione potrebbe portare a un profilo

di rilascio modulato. Pertanto, sorprendentemente, la formulazione mista a base di copolimero a forma di stella e lineare porta a un profilo di rilascio ottimizzato rispetto alla formulazione a base di copolimero a forma di stella o quella a base di copolimero lineare.

La figura 42 presenta il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da tre formulazioni differenti: la formulazione F388 (◇) contenente il 40,00% di copolimero lineare P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO, la formulazione F397 (O) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO e la formulazione F399 (□) contenente il 20,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 e il 20,00% di copolimero lineare P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono espone nella Tabella 1.

I dati mostrano che la miscela di copolimeri lineari e a forma di stella in una composizione di formulazione può portare a un profilo di rilascio modulato.

La figura 43 mostra il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di empagliflozin nel tempo da tre formulazioni differenti: la formulazione F135 (△) contenente il 20,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 20,00% di ingrediente attivo (API) e il 60,00% di DMSO, la formulazione F136 (▼≡) contenente il 20,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 20,00% di ingrediente attivo (API) e il 60,00% di

DMSO e la formulazione F137 (V) contenente il 30,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 20,00% di ingrediente attivo (API) e il 50,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 2 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I risultati dimostrano che le formulazioni a base di copolimero a forma di stella presentano una cinetica di rilascio sostenuto di empagliflozin nel tempo. I dati dimostrano che la modifica del rapporto R induce una modulazione dei profili di rilascio ottenuti. Infatti, la formulazione F136 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F135. I dati mostrano che l'aumento del contenuto di copolimero totale porta a una modulazione del profilo di rilascio. F137 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F136.

La figura 44 è un grafico che mostra il rilascio cumulativo *in vitro* totale percentuale di tadalafil nel tempo da F47 e F48. La formulazione F47 (Δ) contiene il 25,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 20,00% di ingrediente attivo (API) e il 55,00% di DMSO. La formulazione F48 (V) contiene il 25,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 20,00% di ingrediente attivo (API) e il 55,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 3 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I dati mostrano che le formulazioni a base di copolimero a forma di stella consentono un rilascio sostenuto di tadalafil nel tempo. I dati

dimostrano che la modifica del rapporto R induce una modulazione dei profili di rilascio ottenuti. Infatti, la formulazione F47 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F48.

La figura 45 è un grafico che mostra il rilascio cumulativo *in vitro* totale percentuale di streptavidina nel tempo da F149. La formulazione F149 (Δ) contiene il 28,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con l'1,50% di ingrediente attivo (API) e il 70,50% di tripropionina. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 4 nella tabella 2, esempio 3. Le specifiche formulazioni di copolimero a blocchi sono esposte nella Tabella 1 di seguito.

I dati mostrano che le formulazioni a base di copolimero a forma di stella consentono un rilascio sostenuto di streptavidina nel tempo.

La figura 46 è un grafico che mostra la concentrazione plasmatica di frazione attiva totale espressa in nanogrammi per millilitro di tadalafil nel tempo per F48. La formulazione F48 (V) contiene il 25,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 20,00% di ingrediente attivo (API) e il 55,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vivo* secondo l'impostazione 2 nella tabella 5, esempio 7.

I risultati indicano che, conformemente alle osservazioni *in vitro*, la formulazione consente un rilascio sostenuto di tadalafil nel tempo in vivo.

La figura 47 è un grafico che mostra la concentrazione plasmatica di frazione attiva totale espressa in nanogrammi per millilitro di meloxicam nel tempo per la formulazione F2. F2 (O) contiene il 20,00%

di copolimero a forma di stella s4-P2R3, il 20,00% di copolimero triblocco P2R2 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 58,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vivo* secondo l'impostazione 1 nella tabella 5, esempio 7.

I risultati indicano che la combinazione di copolimero a forma di stella e lineare nella formulazione F2 portava a un profilo di rilascio sostenuto di meloxicam nel tempo *in vivo*.

La figura 48 presenta il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di tenofovir nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F19 (Δ) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con il 19,00% di ingrediente attivo (API) e il 41,00% di DMSO e la formulazione F20 ($\nabla\equiv$) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con il 19,00% di ingrediente attivo (API) e il 41,00% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 5 nella tabella 2, esempio 3.

I risultati dimostrano che le formulazioni a base di copolimero a forma di stella consentono un rilascio sostenuto di tenofovir nel tempo. I dati dimostrano che la modifica del rapporto R induce una modulazione dei profili di rilascio ottenuti. Infatti, la formulazione F20 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F19.

La figura 49 è un grafico che mostra la concentrazione plasmatica di frazione attiva totale espressa in nanogrammi per millilitro di octreotide nel tempo per la formulazione F145. F145 (O) contiene il 28,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3, il 18,00% di copolimero

triblocco P1R4 con lo 0,70% di ingrediente attivo (API) e il 53,30% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vivo* secondo l'impostazione 3 nella tabella 5, esempio 7.

I risultati indicano che la combinazione di copolimero a forma di stella e lineare nella formulazione F145 portava a un profilo di rilascio sostenuto di octreotide nel tempo *in vivo*.

La figura 50 presenta il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di tenofovir nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F29 (V) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R3 con lo 0,10% di ingrediente attivo (API) e il 59,90% di DMSO e la formulazione F30 (O) contenente il 40,00% di copolimero a forma di stella s4-P2R6 con lo 0,10% di ingrediente attivo (API) e il 59,90% di DMSO. Sono stati condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 6 nella tabella 2, esempio 3.

I risultati dimostrano che le formulazioni a base di copolimero a forma di stella consentono un rilascio sostenuto di liotironina nel tempo. I dati dimostrano che la modifica del rapporto R induce una modulazione dei profili di rilascio ottenuti. Infatti, la formulazione F29 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F30.

La figura 51 presenta il rilascio cumulativo *in vitro* percentuale di meloxicam nel tempo da due formulazioni differenti: la formulazione F521 (V) contenente il 55,00% di copolimero a forma di stella s3-P0.45R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 43,00% di DMSO e la formulazione F522 (□) contenente il 55,00% di copolimero a forma di stella s3-P1R3 con il 2,00% di ingrediente attivo (API) e il 43,00% di DMSO. Sono stati

condotti test di rilascio *in vitro* secondo l'impostazione 1 nella tabella 2, esempio 3.

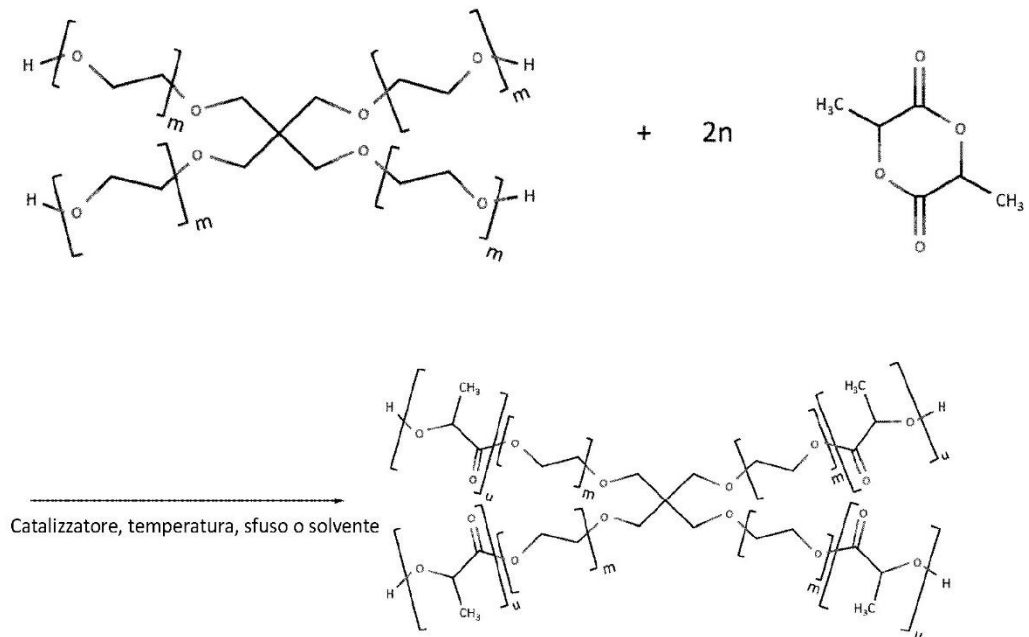
I risultati dimostrano che l'aumento della lunghezza di catena di PEG all'interno del copolimero a forma di stella con un rapporto LA/EO fisso porta a un tasso di rilascio modulato per le formulazioni con lo stesso contenuto di copolimero. Infatti, la formulazione F521 mostra una cinetica di rilascio più lenta rispetto alla formulazione F522.

ESEMPI

Esempio 1: Materiali

Copolimeri a blocchi a forma di stella

Di seguito è esposto uno schema di reazione generico per ottenere PEG-PLA multiramificato come usato in una composizione farmaceutica dell'invenzione. Le lettere m e u descrivono il numero di unità ripetute in ciascun blocco di, rispettivamente, PEG e PLA. Considerando la via sintetica e le condizioni sperimentali, si ipotizza che i polimeri multibraccio siano simmetrici, e ciascun braccio presenti la stessa struttura e composizione. Sarà inteso che, sebbene nello schema 1 di seguito venga usato un derivato di PEG a 4 bracci; può essere usato uno schema di reazione analogo con un PEG multiramificato avente un numero differente di bracci di PEG.



Schema 1

I copolimeri a blocchi multiramificati sono stati sintetizzati mediante polimerizzazione ad apertura d'anello di D,L-lattide avviata da polieteri multiramificati indicati come PEG multiramificati o PEG a stella (S.J. Buwalda et al., Influence of amide versus ester linkages on the properties of eight-armed PEG-PLA star block copolymer hydrogels, *Biomacromolecules* 11 (2010) 224-232). I PEG a stella sono disponibili in commercio, per esempio da Creative PEGWorks, per esempio PEG-OH a 4 bracci come mostrato nello schema 1. In alternativa, i PEG multiramificati possono essere formati dalla reazione dell'ossido di etilene con un poliolo.

Successivamente, il catalizzatore (in modo tale che monomero/catalizzatore mol/mol fosse 10000) è stato aggiunto al PEG a stella a 80 °C in un recipiente di reazione e lasciato agitare con il

microiniziatore prima di aggiungere la quantità appropriata di D,L-lattide (la quantità di monomero viene determinata a seconda del rapporto R mirato). Per rimuovere eventuale acqua nel sistema, la miscela è stata ulteriormente essiccata mediante vari cicli di vuoto e azoto successivi. La miscela di reazione è stata successivamente riscaldata e lasciata reagire per varie ore (fino alla completa conversione del monomero). Al termine della reazione di polimerizzazione, il polimero viene estratto dal recipiente di reazione e lasciato raffreddare. Il polimero viene successivamente ulteriormente purificato per rimuovere eventuale monomero non reagito, catalizzatore e oligomeri. Per fare ciò, la miscela di polimero viene disciolta in un solvente appropriato, ossia acetone, e lasciata disciogliere durante la notte. La soluzione di polimero viene successivamente precipitata in un non-solvente del copolimero a blocchi (vale a dire etanolo). Questa fase viene ripetuta varie volte per assicurare il recupero del solo polimero mirato. Il polimero raccolto viene lasciato essiccare sotto vuoto finché tutti i solventi non sono stati estratti dal campione.

I copolimeri a blocchi a forma di stella sono stati analizzati e caratterizzati dopo la sintesi e la purificazione per assicurare che i polimeri ottenuti avessero la struttura e la composizione mirate. Per fare ciò, sono state eseguite una ^1H NMR in CDCl_3 e un'analisi GPC in cloroformio.

La ^1H RMN è stata eseguita da un'azienda esterna secondo la loro procedura standard su uno spettrometro Bruker Advance a 300 MHz.

Per tutti gli spettrogrammi ^1H RMN, è stato usato il software MestReNova per l'integrazione dei picchi e le loro analisi. Gli spostamenti chimici sono stati riferiti al valore di solvente $\delta = 7,26$ ppm di CDCl_3 .

Le misurazioni di cromatografia a permeazione di gel (GPC) sono state eseguite su un apparecchio con triplo array di rilevatori per cromatografia a permeazione di gel (GPC-TDA) fornito da Malvern. Tra 150 e 200 mg di polimeri sono stati solubilizzati in 10 ml di cloroformio (grado HPLC) durante la notte prima di essere posti in una fiala da 1,5 ml per l'analisi con un tappo chiuso. Dopo la determinazione del valore dn/dc per ciascun polimero, 100 μl di soluzione di polimero sono stati iniettati 3 volte nel sistema GPC. Ciascun replicato è stato successivamente analizzato e integrato separatamente. I valori M_n e di indice di polidispersità (PDI) dati sopra corrispondono al valore medio determinato considerando tutte le iniezioni.

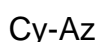
Copolimeri a blocchi lineari

I copolimeri triblocco lineari, rispetto ai copolimeri a blocchi a forma di stella, tipicamente hanno la formula:



in cui A è un poliesteri e B è polietilen glicole e v e x sono il numero di unità ripetute che varia da 1 a 3.000 e w è il numero di unità ripetute che varia da 3 a 300 e $v=x$ o $v \neq x$.

I copolimeri diblocco lineari, rispetto ai copolimeri a blocchi a forma di stella, tipicamente hanno la formula:



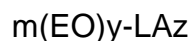
in cui A è un poliestere e C è un polietilen glicole con cappaggio terminale e y e z sono il numero di unità ripetute, con y variando da 2 a 250 e z variando da 1 a 3.000.

Tipicamente, i copolimeri triblocco lineari, rispetto ai copolimeri a blocchi a forma di stella, hanno la formula:



in cui v e x sono il numero di unità ripetute che varia da 1 a 3.000 e w è il numero di unità ripetute che varia da 3 a 300 e $v=x$ o $v \neq x$.

Tipicamente, i copolimeri diblocco lineari, rispetto ai copolimeri a blocchi a forma di stella, hanno la formula:



in cui y e z sono il numero di unità ripetute, con y variando da 2 a 250 e z variando da 1 a 3.000.

I copolimeri a blocchi sono stati sintetizzati secondo il metodo descritto nel brevetto U.S. n. 6,350,812, con modifiche minori. Tipicamente, la quantità necessaria di PEG (nel copolimero triblocco) o metossi-PEG (nel copolimero diblocco) è stata riscaldata a 80 °C ed essiccata sotto vuoto per 30 minuti in un recipiente di reattore. Sono stati aggiunti D,L-lattide (corrispondente al rapporto molare LA/EO mirato) e catalizzatore (1/1000 della quantità di lattide). Al fine di evitare qualsiasi reazione collaterale dovuta alla presenza di acqua, la miscela di reazione è stata sottoposta a due brevi cicli di vuoto/N₂. La reazione è stata successivamente riscaldata a 130 °C sotto un flusso di azoto costante (0,2 bar). Non appena la reazione è stata arrestata, il copolimero a

blocchi è stato scaricato dal recipiente e lasciato raffreddare. Il campione di polimero ottenuto è stato successivamente solubilizzato in acetone prima di essere precipitato in un volume elevato di non-solvente (rapporto non-solvente/solvente = 6-10) per rimuovere eventuale monomero non reagito, catalizzatore o oligomeri presenti nel campione. Questo processo di purificazione è stato ripetuto due volte. Il polimero raccolto è stato successivamente lasciato essiccare sotto vuoto per rimuovere eventuali tracce di solvente e recuperare solo il polimero mirato.

Il prodotto ottenuto è stato caratterizzato mediante ^1H RMN per il suo contenuto di lattide residuo e per la determinazione del rapporto R.

La spettroscopia ^1H NMR è stata effettuata usando uno spettrometro Bruker Advance a 300 MHz. Per tutti gli spettrogrammi ^1H RMN, è stato usato il software MestReNova per l'integrazione dei picchi e le loro analisi. Gli spostamenti chimici sono stati riferiti al valore di solvente $\delta = 7,26$ ppm di CDCl_3 .

Per la determinazione del rapporto R, che descrive il rapporto tra unità di acido lattico e unità di ossido di etilene (LA/EO), tutti i picchi sono stati integrati separatamente. L'intensità del segnale (valore di integrazione) è direttamente proporzionale al numero di idrogeni che costituisce il segnale. Pertanto, e per determinare il rapporto R (rapporto LA/EO), i valori di integrazione devono essere omogenei e rappresentativi dello stesso numero di protoni (per esempio tutti i valori di segnale vengono determinati per 1H). Vengono successivamente usati un picco caratteristico di PLA e uno di PEG per determinare il rapporto

LA/EO. Questo metodo è valido per un peso molecolare di PEG sopra 1000 g/mol, in cui il segnale ottenuto per le funzioni terminali polimeriche può essere trascurato.

Esempio 2: Analisi della frazione solubile dei copolimeri a forma di stella in acqua

Sono stati effettuati test di solubilità in acqua per determinare la frazione solubile di copolimero a forma di stella in acqua.

L'analisi della solubilità in acqua consisteva nelle seguenti fasi:

Sono state pesate fiale da 20 ml vuote (1). Sono stati pesati 500 mg di copolimero e sono stati aggiunti alla fiala corrispondente. A ciascuna fiala sono stati aggiunti 5 ml di acqua ultrapura. Le fiale sono state incubate per 2 ore a 37 °C con vorticazione. Sono state eseguite osservazioni visive e sono state acquisite immagini. Le fiale (1) sono state successivamente centrifugate per 10 minuti a 3000 rpm. È stata pesata una fiala in vetro da 10 ml (2). Il surnatante di (1) è stato trasferito in (2) e le masse sono state registrate. Il copolimero umido in (1) è stato pesato. (1) e (2) sono state poste a -80 °C durante la notte. (1) e (2) sono state poste nel crioessiccatore per 22 ore. Le fiale (1) e (2) sono state pesate. La solubilità in acqua è stata determinata dopo l'essiccazione e la pesatura del copolimero essiccato rimanente. La quantità di copolimero disciolto è stata determinata come la differenza di peso della fiala vuota e di quella liofilizzata. L'analisi della solubilità in acqua è stata effettuata in una singola analisi.

I risultati mostrano i valori di solubilità in acqua di 2,7 mg/ml, 1,7 mg/ml e 1,7 mg/ml per, rispettivamente, s4-P2R2, s4-P2R6 e s4-P5R4.

Esempio 3: Test di rilascio *in vitro*

Procedura dettagliata dell'impostazione 1:

50 mg di formulazione contenente meloxicam sono stati aggiunti a 20 ml di tampone in un pallone Erlenmeyer. Il tampone usato è tampone fosfato salino (PBS), pH 7,4, che era cloruro di sodio 137 mM, cloruro di potassio 2,7 mM, fosfato disodico 10 mM, fosfato monopotassico 1,8 mM e azoturo di sodio 0,1%. In seguito all'iniezione, il solvente si diffondeva lontano dalla formulazione e il polimero rimanente formava un deposito *in situ* all'interno dell'ambiente acquoso.

Palloni Erlenmeyer chiusi sono stati mantenuti sotto agitazione costante a 180 rpm (apparecchio Unimax 1010, Heidolph) a 37 °C. A intervalli di tempo predeterminati, 2 ml di mezzo sono stati raccolti e analizzati mediante UPLC; il resto del mezzo è stato scartato e all'Erlenmeyer sono stati aggiunti 20 ml di tampone fresco. Le condizioni di accumulo sono state mantenute durante l'intera durata dello studio. La quantità di meloxicam rilasciato dalla formulazione è stata calcolata da una curva di calibrazione in cui la concentrazione di meloxicam varia tra 0 e 160 µg/ml.

Il meloxicam incorporato nella soluzione di polimero è stato incapsulato all'interno della matrice di polimero a mano a mano che solidificava.

Il rilascio *in vitro* (IVR) è stato analizzato seguendo le fasi consecutive esposte in dettaglio di seguito:

Preparazione della formulazione:

In una fiala in vetro da 3 ml vuota e tarata sono state pesate le quantità di copolimero richieste. La fiala in vetro è stata tarata nuovamente. È stata aggiunta una massa di DMSO accurata usando una pipetta Pasteur. Successivamente, i veicoli (copolimero + solvente) sono stati posti su un miscelatore a rulli a temperatura ambiente (TA) da 6 a 7 ore fino alla completa dissoluzione del copolimero. Le fiale in vetro sono state successivamente tarate ed è stata pesata la quantità di API richiesta. Le formulazioni sono state successivamente poste durante la notte a temperatura ambiente su un miscelatore a rulli.

Avvio dell'IVR:

50 µl di formulazione sono stati prelevati dalla corrispondente fiala in vetro precedentemente vortexata, in una siringa Codan da 0,5 ml. La siringa è stata pulita, tarata, e la formulazione è stata iniettata direttamente dalla siringa senza ago in una fiala in vetro preriempita da 50 ml contenente 20 ml di tampone di rilascio (PBS 1X). Una volta avvenuta la precipitazione e la formazione di deposito, il deposito è stato tagliato dalla siringa usando delle forbici. La siringa è stata pesata nuovamente per determinare la massa di deposito accurata.

Una volta formati tutti i depositi, le fiale in vetro sono state poste su un agitatore a 37 °C.

Campionamento IVR e preparazione dei campioni IVR per la quantificazione dell'API

A ciascun punto temporale desiderato, una quantità sufficiente di tampone è stata prelevata per l'analisi dalla fiala in vetro da 50 ml prima del rinfresco totale del campione. 1 ml di ciascun campione è stato filtrato attraverso un filtro idrofilo da 0,2 µm in una fiala in vetro per HPLC da 1 ml. I contenuti di API nel tampone rilasciato sono stati determinati usando UPLC.

Alcuni parametri, per esempio la massa di formulazione, il tipo di tampone o il volume di tampone, possono essere adattati a seconda dell'API studiato, della sua solubilità in tamponi differenti e della sua dose e durata di rilascio mirate. L'impostazione con i differenti parametri è presentata nella Tabella 2 di seguito.

Tutte le formulazioni studiate sono presentate nella Tabella 1 di seguito.

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
zione	Nome	% (p/p)	Codice	Struttura	Dimensione di PEG (kDa)	Rapporto (LA/EO)	% (p/p)	Nome	% (p/p)
2	Meloxicam	2,00	s4-P2R3	Ramificato	2000	3	20,00	DMSO	58,00
			P2R2	Lineare	2000	2	20,00		
19	Tenofovir	19,00	s4-P2R3	Ramificato	2000	3	40,00	DMSO	41,00
20	Tenofovir	19,00	s4-P2R6	Ramificato	2000	6	40,00	DMSO	41,00
29	Liotironina	0,10	s4-P2R3	Ramificato	2000	3	40,00	DMSO	59,90

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
ziona	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/ p)	Nome	% (p/ p)
30	Liotironi na	0,10	s4- P2R 6	Ramifi cato	2000	6	40, 00	DMSO	59, 90
47	Tadalafi l	20,0 0	s4- P2R 6	Ramifi cato	2000	6	25, 00	DMSO	55, 00
48	Tadalafi l	20,0 0	s4- P2R 3	Ramifi cato	2000	3	25, 00	DMSO	55, 00
135	Empagli flozin	20,0 0	s4- P2R 3	Ramifi cato	2000	3	20, 00	DMSO	60, 00
136	Empagli flozin	20,0 0	s4- P2R 6	Ramifi cato	2000	6	20, 00	DMSO	60, 00

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
zione	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/ p)	Nome	% (p/ p)
137	Empagli flozin	20,0 0	s4- P2R 6	Ramifi cato	2000	6	30, 00	DMSO	50, 00
145	Octreoti de	0,70	s4- P2R 3	Ramifi cato	2000	3	28, 00	DMSO	53, 30
			P1R 4	Linear e	1000	4	18, 00		
149	Strepta vidina	1,50	s4- P2R 3	Ramifi cato	2000	3	28	Tripropi onina	70, 50
388*	Meloxic am	2,00	P2R 2	Linear e	2000	2	40, 00	DMSO	58, 00

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
zione	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/ p)	Nome	% (p/ p)
389	Meloxic am	2,00	s4- P2R 2	Ramifi cato	2000	2	40, 00	DMSO	58, 00
390	Meloxic am	2,00	P2R 2	Linear e	2000	2	20, 00	DMSO	58, 00
			s4- P2R 2	Ramifi cato	2000	2	20, 00		
391*	Meloxic am	2,00	P2R 3.5	Linear e	2000	3,5	40, 00	DMSO	58, 00
396*	Meloxic am	2,00	P2R 6	Linear e	2000	6	40, 00	DMSO	58, 00
397	Meloxic am	2,00	s4- P2R 6	Ramifi cato	2000	6	40, 00	DMSO	58, 00

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
zione	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/ p)	Nome	% (p/ p)
399	Meloxic am	2,00	P2R 2	Linear e	2000	2	20, 00	DMSO	58, 00
			s4- P2R 6	Ramifi cato	2000	6	20, 00	DMSO	58, 00
401	Meloxic am	2,00	s4- P2R 2	Ramifi cato	2000	2	20, 00	DMSO	58, 00
			s4- P2R 6	Ramifi cato	2000	6	20, 00		
402	Meloxic am	2,00	s4- P5R 2	Ramifi cato	5000	2	40, 00	DMSO	58, 00

13

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
zione	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/ p)	Nome	% (p/ p)
404	Meloxic am	2,00	s4- P5R 2	Ramifi cato	5000	2	20, 00	DMSO	58, 00
			s4- P2R 6	Ramifi cato	2000	6	20, 00		
405	Meloxic am	2,00	s4- P2R 3	Ramifi cato	2000	3	40, 00	DMSO	58, 00
407*	Bupivac aina	2,00	P2R 2	Linear e	2000	2	40, 00	DMSO	58, 00
408	Bupivac aina	2,00	s4- P2R 2	Ramifi cato	2000	2	40, 00	DMSO	58, 00

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
zione	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/ p)	Nome	% (p/ p)
409	Bupivac aina	2,00	s4- P2R 2	Ramifi cato	2000	2	20, 00	DMSO	58, 00
			P2R 2	Linear e	2000	2	20, 00		
413*	Bupivac aina	2,00	P2R 6	Linear e	2000	6	40, 00	DMSO	58, 00
414	Bupivac aina	2,00	s4- P2R 6	Ramifi cato	2000	6	40, 00	DMSO	58, 00
449*	Meloxic am	2,00	dP2 R3	Linear e	2000	3	45, 00	DMSO	53, 00
451	Meloxic am	2,00	s4- P2R 3	Ramifi cato	2000	3	47, 00	DMSO	51, 00

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
zione	Nome	% (p/p)	Codice	Struttura	Dimensione di PEG (kDa)	Rapporto (LA/EO)	% (p/p)	Nome	% (p/p)
460	Tamsulosina	2,00	s4-P2R6	Ramificato	2000	6	40,00	DMSO	58,00
463	Tamsulosina	14,40	s4-P2R6	Ramificato	2000	6	40,00	DMSO	45,60
483*	Meloxicam	2,00	P2R3.5	Lineare	2000	3,5	44,00	NMP	54,00
484*	Meloxicam	2,00	dP2R3	Lineare	2000	3	47,00	NMP	51,00
485*	Meloxicam	2,00	P2R3.5	Lineare	2000	3,5	22,00	Triacetina	76,00
486*	Meloxicam	2,00	dP2R3	Lineare	2000	3	24,00	Triacetina	74,00

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
zione	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/ p)	Nome	% (p/ p)
488	Meloxic am	2,00	s4- P2R 3	Ramifi cato	2000	3	26, 00	Triaceti na	72, 00
489	Meloxic am	2,00	s4- P2R 3	Ramifi cato	2000	3	51, 00	NMP	47, 00
496*	Tamsul osina	2,00	P2R 2	Linear e	2000	2	40, 00	DMSO	58, 00
497	Tamsul osina	2,00	s4- P2R 2	Ramifi cato	2000	2	40, 00	DMSO	58, 00
498*	Tamsul osina	2,00	dP2 R3	Linear e	2000	3	40, 00	DMSO	58, 00

13

TABELLA 1									
Formula zione	API		Copolimero					Solvente	
	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/ p)	Nome	% (p/ p)
499	Tamsul osina	2,00	s4- P2R 3	Ramifi cato	2000	3	40, 00	DMSO	58, 00
509*	Meloxic am	2,00	dP2 R0.8	Linear e	2000	0,8	68, 00	DMSO	30, 00
510*	Meloxic am	2,00	dP2 R1.5	Linear e	2000	1,5	61, 00	DMSO	37, 00
511*	Meloxic am	2,00	dP2 R6	Linear e	2000	6	38, 00	DMSO	60, 00
521	Meloxic am	2,00	s3- P0.4 5R3	Ramifi cato	450	3	55, 00	DMSO	43, 00
522	Meloxic am	2,00	s3- P1R 3	Ramifi cato	1000	3	55, 00	DMSO	43, 00

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
zione	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/ p)	Nome	% (p/ p)
* = Esempio comparativo									

Tabella 2						
Imposta	Formazione di deposito				Tampone	
zione	Proced	Mas	Sirin	Ago usato	Tipo	Volu
IVR	ura	sa	ga			me
		iniett	usat			(ml)
		ata	a			
		(mg)				
1	Iniettata nel mezzo dalla siringa	60	Sirin ga Coda n da 0,5 ml	nessuno	PBS- 1X	20

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
ziona	Nome	% (p/p)	Codice	Struttura	Dimensione di PEG (kDa)	Rapp. (LA/EO)	% (p/p)	Nome	% (p/p)
	senza ago								
2	Iniettata nel mezzo dalla siringa con un ago	250	Luer lock SoftJECT da 1 ml	19G*1,1x50 mm	PBS-1X	100			
3	Iniettata nel mezzo dalla siringa con un ago	150	Luer lock SoftJECT da 1 ml	21G*0,8x16 mm	PBS-1X + Tween 80 1%	150			

13

TABELLA 1									
Formula	API		Copolimero					Solvente	
ziona	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/p)	Nome	% (p/p)
4	Iniettata nel mezzo dalla siringa senza ago	100	Sirina	nessuno	SEC-1X	20			
5	Iniettata nel mezzo dalla siringa con un ago	250	Luer lock SoftJect da 1 ml	21G*1,1x50 mm	KRT-1X + Tween 80 2%	33			
6	Iniettata nel	100	Luer lock	21G 1,1x50 mm	PBS-1X +	20			

TABELLA 1										
Formula	API		Copolimero					Solvente		
ziona	Numero	Nome	% (p/p)	Codi ce	Strutt ura	Dimens ione di PEG (kDa)	Rapp orto (LA/E O)	% (p/ p)	Nome	% (p/ p)
		mezzo dalla siringa con un ago		SoftJ ect da 1 ml			Triton X100 1%			

Esempio 4: Valutazione della degradazione di deposito

La valutazione della degradazione di deposito è stata condotta quantificando l'acido lattico nel tampone usato per i test IVR a ogni punto temporale di campionamento. La quantità di acido lattico nel mezzo è collegata alla degradazione delle catene di PLA.

In primo luogo, i campioni sono stati idrolizzati. 500 µl di mezzo rilasciato sono stati trasferiti in una provetta Eppendorf da 1,5 ml. Vengono aggiunti 250 µl di NaOH 5 M. L'Eppendorf è stata posta per 1 ora a 40 °C. La reazione è stata arrestata aggiungendo 250 µl di HCl 5 M.

Il materiale usato era un kit commerciale denominato "Megazyme L-Lactic Acid Kit[®]" disponibile in commercio da Libios, Pontcharra-sur-Turdine, Francia. La quantificazione dell'acido lattico è stata effettuata usando il protocollo standard senza alcuna modifica.

Esempio 5: Iniettabilità

L'obiettivo di questo esperimento era valutare l'impatto potenziale dell'uso di copolimeri a forma di stella sull'iniettabilità delle formulazioni confrontando i valori a quello delle formulazioni con copolimeri lineari analoghi (esempi comparativi).

Le analisi di iniettabilità sono state effettuate usando un testuometro Lloyd Instruments FT Plus seguendo la procedura descritta di seguito:

Le formulazioni (copolimero disciolto nel solvente organico) sono state vortexate per 15 secondi. 500 µl di formulazione sono stati prelevati usando una siringa Codan da 1 ml senza ago. Le bolle d'aria sono state rimosse per evitare qualsiasi interferenza durante la misurazione dell'iniettabilità. Un ago Terumo 23G 1" è stato successivamente montato sulla siringa, rispettivamente per i veicoli o le formulazioni. La siringa è stata posta sul testuometro. La portata è stata fissata a 1 ml/min. La velocità è stata fissata a 56,3 mm/min. L'iniezione della formulazione iniziava alla velocità fissata. Il dispositivo di iniezione (vale a dire siringa + ago) è stato cambiato per ciascun replicato.

La forza media in Newton (N) necessaria per iniettare ciascun replicato è stata calcolata usando il software del testuometro. Usando

l'impostazione descritta sopra, gli inventori hanno definito 20 N come il valore massimo per avere una formulazione che può essere facilmente iniettata manualmente.

TABELLA 3										
Formula	API		Copolimero			Solvente		Iniettabilità		
Numero	Nome	% (p/p)	Codice	Struttura	% (p/p)	Nome	% (p/p)	Numero di replicati	Forza (N)	Deviazione standard
388*	Meloxicam	2,00	P2R2	Lineare	40,00	DM SO	58,00	6	6,3	1,1
389	Meloxicam	2,00	s4-P2R2	Ramificato	40,00	DM SO	58,00	6	4,2	0,6
391*	Meloxicam	2,00	P2R3.5	Lineare	40,00	DM SO	58,00	6	15,7	1,0
396*	Meloxicam	2,00	P2R6	Lineare	40,00	DM SO	58,00	6	57,1	3,9
397	Meloxicam	2,00	s4-P2R6	Ramificato	40,00	DM SO	58,00	6	21,6	1,6

TABELLA 3										
Formula	API		Copolimero			Solvente		Iniettabilità		
Numero	Nome	% (p/ p)	Codic e	Struttu ra	% (p/ p)	No me	% (p/ p)	Num ero di replic ati	For za (N)	Deviazi one standar d
449*	Meloxi cam	2,0 0	dP2R 3	Linear e	45, 00	DM SO	53, 00	6	20, 4	0,5
451	Meloxi cam	2,0 0	s4- P2R3	Ramifi cato	47, 00	DM SO	51, 00	6	15, 9	1,4
483*	Meloxi cam	2,0 0	P2R3 .5	Linear e	44, 00	NM P	54, 00	6	19, 2	0,9
484*	Meloxi cam	2,0 0	dP2R 3	Linear e	47, 00	NM P	51, 00	6	19, 2	1,1
489	Meloxi cam	2,0 0	s4- P2R3	Ramifi cato	51, 00	NM P	47, 00	6	17, 2	1,3
509*	Meloxi cam	2,0 0	dP2R 0.8	Linear e	68, 00	DM SO	30, 00	6	19, 0	1,1
510*	Meloxi cam	2,0 0	dP2R 1.5	Linear e	61, 00	DM SO	37, 00	6	21, 3	2,7

TABELLA 3										
Formula	API		Copolimero			Solvente		Iniettabilità		
Numero	Nome	% (p/p)	Codice	Struttura	% (p/p)	Nome	% (p/p)	Numero di replicati	Forza (N)	Deviazione standard
511*	Meloxicam	2,00	dP2R6	Lineare	38,00	DM SO	60,00	6	20,6	0,5

* = Esempio comparativo

Esempio 6: Analisi della viscosità dinamica

L'analisi della viscosità dinamica è stata effettuata usando un reometro Anton Paar dotato di un sistema di misurazione a piastra conica, con le seguenti condizioni analitiche:

- Temperatura controllata a 25 °C.
- Quantità di veicolo: 0,25 ml.
- Sistema di misurazione: piastra conica con diametro di 25 mm e angolo di cono di 1 grado (CP25-1).
- Intervallo di lavoro: da 10 a 1000 mPa.s.

La formulazione è stata vortexata per 10 secondi prima dell'analisi. 250 µl di formulazione sono stati posti al centro della piastra

di misurazione termoregolata usando una spatola. Il sistema di misurazione è stato abbassato ed è stato lasciato uno spazio di 0,051 mm tra il sistema di misurazione e la piastra di misurazione. Sono stati determinati ventuno punti di misurazioni di viscosità attraverso lo sforzo di taglio da 10 a 1000 s⁻¹ (10 punti per decina). I dati di viscosità corrispondono a quelli calcolati a un gradiente di taglio di 100 s⁻¹ che è un valore medio del plateau di curva. L'analisi della viscosità dinamica delle formulazioni è stata effettuata in triplicato.

TABELLA 4										
Formula zione	API		Copolimero			Solvent e		Viscosità		
	Numero	Nome	% (p/ p)	Codi ce	Struttu ra	% (p/ p)	No me	% (p/ p)	Num ero di repli cati	Visco sità dina mica (mP.s)
388*	Meloxi cam	2, 00	P2R2	Linear e	40, 00	DM SO	58, 00	6	341,2	5,9
389	Meloxi cam	2, 00	s4- P2R2	Ramifi cato	40, 00	DM SO	58, 00	6	213,5	1,8
391*	Meloxi cam	2, 00	P2R3 .5	Linear e	40, 00	DM SO	58, 00	6	1001, 7	3,3

TABELLA 4										
Formula	API		Copolimero			Solvent		Viscosità		
zione	Nome	%	Codi	Struttu	%	No	%	Num	Visco	Deviaz
		(p/	ce	ra	(p/	me	(p/	ero	sità	ione
		p)			p)		p)	di	dina	standa
								repli	mica	rd
								cati	(mP.s	
)		
396*	Meloxi cam	2, 00	P2R6	Linear e	40, 00	DM SO	58, 00	6	4602, 9	123,1
397	Meloxi cam	2, 00	s4- P2R6	Ramifi cato	40, 00	DM SO	58, 00	6	1790, 7	26,1
449*	Meloxi cam	2, 00	dP2R 3	Linear e	45, 00	DM SO	53, 00	6	1427, 0	28,2
451	Meloxi cam	2, 00	s4- P2R3	Ramifi cato	47, 00	DM SO	51, 00	6	1083, 7	5,7
483*	Meloxi cam	2, 00	P2R3 .5	Linear e	44, 00	NM P	54, 00	6	1286, 4	20,7
484*	Meloxi cam	2, 00	dP2R 3	Linear e	47, 00	NM P	51, 00	6	1376, 3	6,6

TABELLA 4										
Formula	API		Copolimero			Solvent		Viscosità		
zione	Nome	%	Codi	Struttu	%	No	%	Num	Visco	Deviaz
		(p/	ce	ra	(p/	me	(p/	ero	sità	ione
		p)			p)		p)	di	dina	standa
								repli	mica	rd
								cati	(mP.s	
)		
489	Meloxi cam	2, 00	s4- P2R3	Ramifi cato	51, 00	NM P	47, 00	6	1182, 0	7,1
509*	Meloxi cam	2, 00	dP2R 0.8	Linear e	68, 00	DM SO	30, 00	6	1232, 3	17,2
510*	Meloxi cam	2, 00	dP2R 1.5	Linear e	61, 00	DM SO	37, 00	6	1579, 9	15,1
511*	Meloxi cam	2, 00	dP2R 6	Linear e	38, 00	DM SO	60, 00	6	1465, 3	23,4
*= Esempio comparativo										

Esempio 7: Studio farmacocinetico

Procedura dell'impostazione 1 dettagliata in vivo:

Varie formulazioni di meloxicam sono state testate in uno studio farmacocinetico in ratti adulti maschi con un peso tra 300 e 350 g.

Prodotti farmaceutici contenenti 3,6 mg di meloxicam sono stati somministrati per via sottocutanea nell'area interscapolare dei ratti usando siringhe Soft Ject® da 1 ml e aghi Terumo® 23G (1" 0,6x25 mm). I volumi di formulazione iniettati sono stati fissati a 160 µl. Sono stati raccolti campioni ematici in provette EDTA a punti temporali differenti: T0.5h, T1h, T3h, T8h, T24h (giorno 1), T48h (giorno 2), T96h (giorno 4), T168h (giorno 7), T240h (giorno 10), T336h (giorno 14). I campioni ematici sono stati centrifugati e il plasma da ciascun punto temporale è stato conservato. I campioni di plasma sono stati analizzati mediante LC/MS/MS per quantificare il contenuto di meloxicam.

Alcuni parametri, per esempio la massa di formulazione, il modello animale o la dimensione dell'ago, possono essere adattati a seconda dell'API studiato, del suo uso medico designato e della sua dose e durata di rilascio mirate. Le impostazioni con i differenti parametri sono presentate nella Tabella 5 di seguito.

Tabella 5						
Impostazioni in vivo	Procedura			Animale		
Numero	Siringa	Ago	Volume d'iniezione (µl)	Modello	Sito d'iniezione	Via di somministrazione
1	Luer lock	Terumo® 23G	160	Ratto	Intrascapolare	Sottocutanea

13

Tabella 5						
Impostazione in vivo	Procedura			Animale		
Numero	Siringa	Ago	Volume d'iniezione (µl)	Modello	Sito d'iniezione	Via di somministrazione
	softject® da 1 ml	(1" 0,6x25 mm)				
2	Luer lock Terumo da 1,5 ml	Terumo® 21G (1" 0,80x25 mm)	1700	Minipig	Ascellare	Sottocutanea
3	Luer lock softject® da 1 ml	Terumo® 23G (1" 0,6x30 mm)	180	Ratto	Intrascapolare	Sottocutanea

RIVENDICAZIONI

1. Composizione farmaceutica comprendente:

almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo e un copolimero multiramificato biodegradabile comprendente almeno tre bracci di poliestere attaccati a un nucleo centrale che comprende un polietere, in cui il copolimero multiramificato è sostanzialmente insolubile in soluzione acquosa ed è ottenibile facendo reagire un polietere multiramificato con D,L-lattide, e il polietere multiramificato è derivabile da poli(etilen glicole) (PEG) e da un poliolo.

2. Composizione secondo la rivendicazione 1, in cui il peso molecolare del polietere è 10 kDa o inferiore, preferibilmente 5 kDa o inferiore, 4 kDa o inferiore, 3 kDa o inferiore, o 2 kDa o inferiore, o 1 kDa o inferiore, o 0,5 kDa o inferiore.

3. Composizione farmaceutica comprendente:

comprendente almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo e un copolimero multiramificato biodegradabile comprendente almeno tre bracci di poliestere attaccati a un nucleo centrale che comprende un polietere, in cui il copolimero multiramificato è ottenibile facendo reagire un polietere multiramificato con D,L-lattide, e il polietere multiramificato è derivabile da poli(etilen glicole) (PEG) e da un poliolo, e in cui il peso molecolare del polietere è 10 kDa o inferiore, preferibilmente 5 kDa o inferiore, 4 kDa o inferiore, 3 kDa o inferiore, o 2 kDa o inferiore, o 1 kDa o inferiore, o 0,5 kDa o inferiore.

4. Composizione secondo la rivendicazione 3, in cui il copolimero multiramificato è sostanzialmente insolubile in soluzione acquosa.

5. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il copolimero multiramificato ha una solubilità in soluzione acquosa inferiore a 15 mg/ml, facoltativamente inferiore a 10 mg/ml, inferiore a 5 g/ml, inferiore a 2 mg/ml o inferiore a 1 mg/ml, facoltativamente in cui la solubilità in acqua viene misurata a 37 °C.

6. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente che è idonea per formare un deposito in situ.

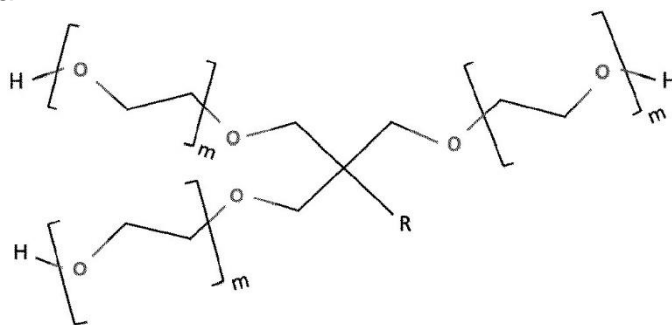
7. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il copolimero multiramificato è di formula $A(B)_n$, in cui A rappresenta il nucleo centrale e B rappresenta i bracci di poliesteri e n è un numero intero pari ad almeno 3, facoltativamente in cui n è almeno 4, o almeno 6, o almeno 8, preferibilmente in cui n è 4.

8. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il poliolo comprende almeno tre gruppi idrossile, facoltativamente in cui il poliolo è un idrocarburo sostituito con almeno tre gruppi idrossile, facoltativamente 3, 4, 5, 6 o 8 gruppi idrossile, facoltativamente in cui il poliolo comprende inoltre uno o più gruppi etere.

9. Composizione secondo la rivendicazione 8, in cui il poliolo è pentaeritritolo (PE), dipentaeritritolo (DPE), trimetilolpropano (TMP), glicerolo, esaglicerolo, eritritolo, xilitolo, di(trimetilolpropano) (diTMP), sorbitolo o inositol.

10. Composizione secondo la rivendicazione 8 o la rivendicazione 9, in cui ciascuna ramificazione del polietere multiramificato ha un gruppo reattivo terminale in grado di reagire con un poliesteri o relativo monomero o precursore, facoltativamente in cui il gruppo reattivo terminale è un gruppo idrossile.

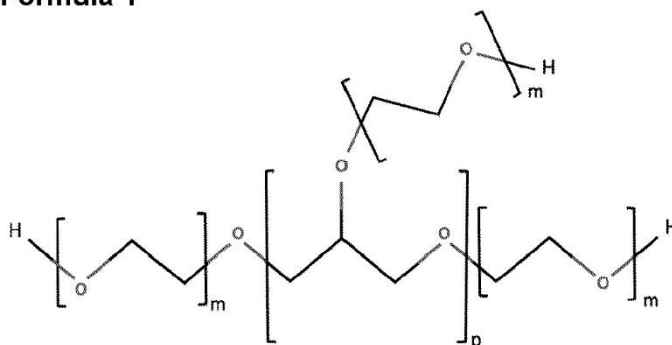
11. Composizione secondo qualsiasi delle rivendicazioni da 8 a 10, in cui il polietere multiramificato ha formula 1 o formula 2 o formula 3 o formula 4:



in cui m è un numero intero tra 2 e 150.

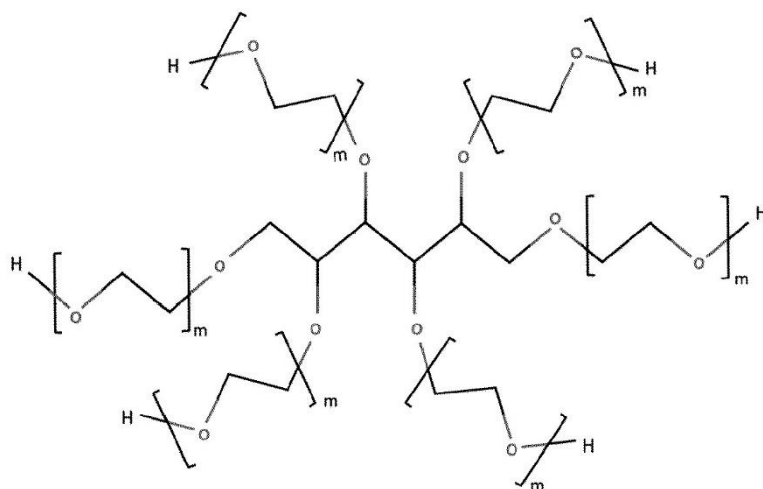
R è H o alchile o PEG.

Formula 1



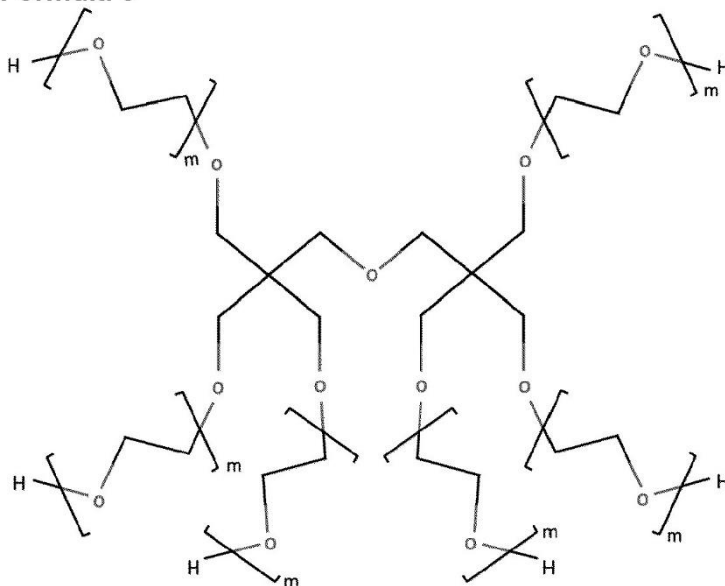
in cui m è un numero intero tra 2 e 150 e p è 6

Formula 2



in cui m è un numero intero tra 2 e 150.

Formula 3



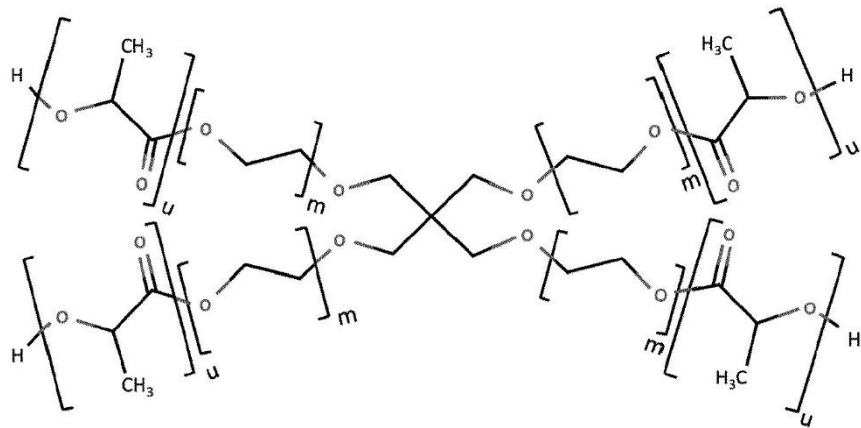
in cui m è un numero intero tra 2 e 150

Formula 4

12. Composizione di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il copolimero multiramificato è ottenibile mediante polimerizzazione ad apertura d'anello del D,L-lattide avviata dal polietere multiramificato.

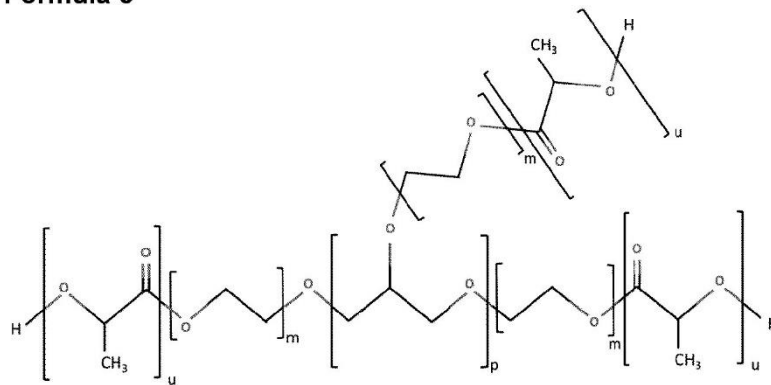
13. Composizione della rivendicazione 12, in cui il copolimero multiramificato ha formula 5 o formula 6 o formula 7 o formula 8:

13



in cui u è un numero intero tra 4 e 200 e m è un numero intero tra 2 e 150

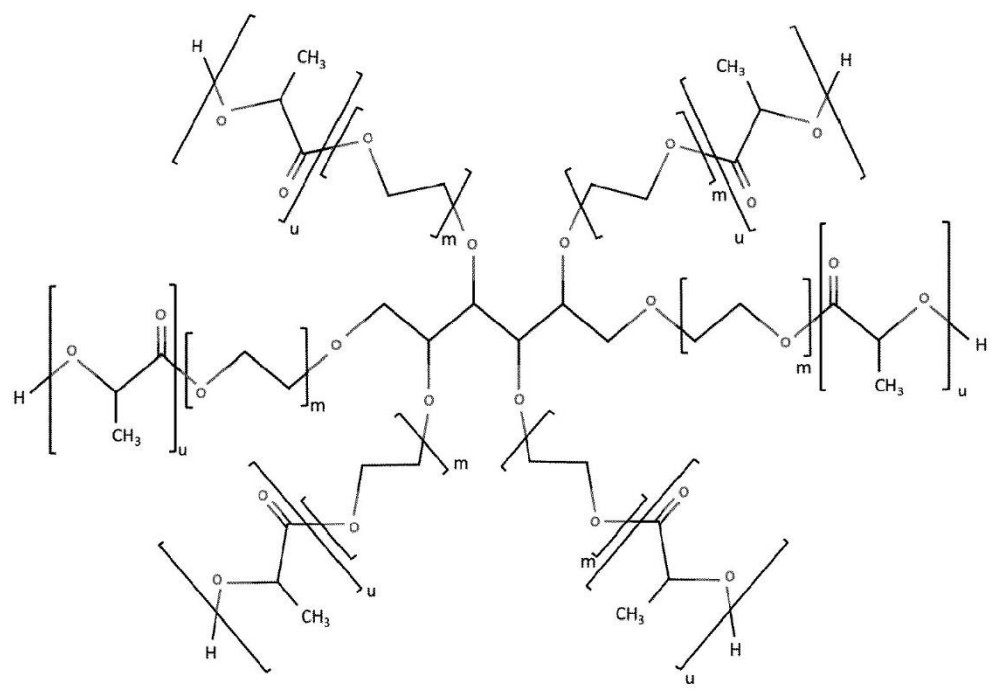
Formula 5



in cui u è un numero intero tra 4 e 200, m è un numero intero tra 2 e 150 e p è 6

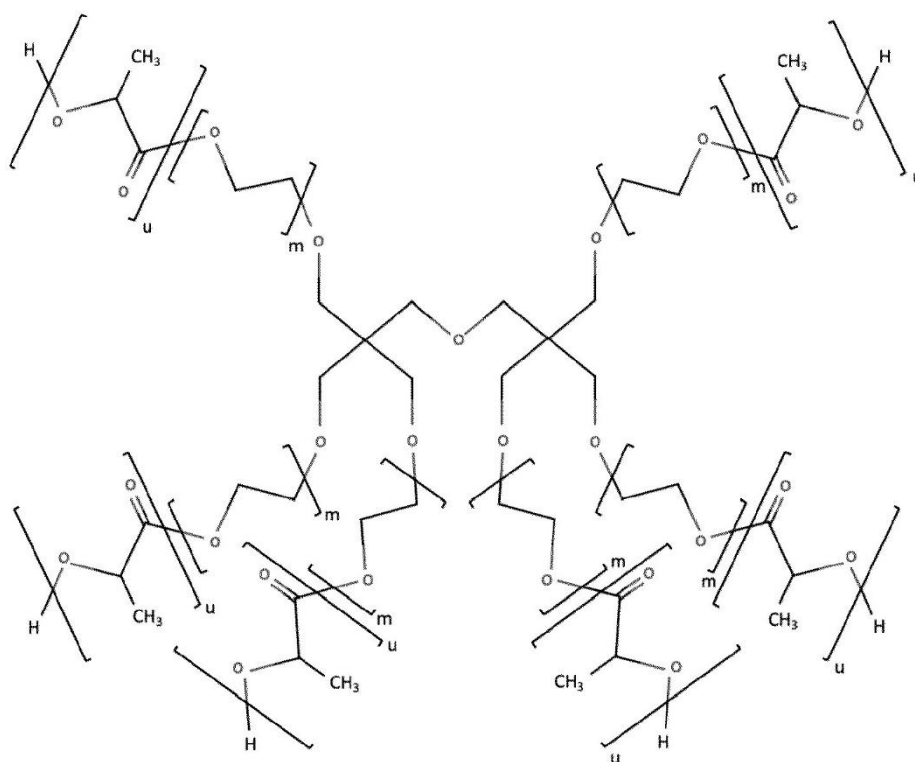
Formula 6

B



in cui u è un numero intero tra 4 e 200 e m è un numero intero tra 2 e 150.

Formula 7



in cui u è un numero intero tra 4 e 200 e m è un numero intero tra 2 e 150

Formula 8

14. Composizione secondo la rivendicazione 13, in cui il copolimero multiramificato ha formula 5, il nucleo di polietere ha un peso molecolare di 2 kDa e il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene è 2, 3 o 6.

15. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il numero di unità ripetute di poliestere in ciascun braccio è indipendentemente nell'intervallo da 4 a 200; e/o in cui il peso molecolare del polietere varia da 0,5 kDa a 10 kDa, facoltativamente da 1 kDa a 10 kDa, preferibilmente da 2 kDa a 10 kDa, o preferibilmente da 0,5 kDa a 2kDa, o in modo massimamente preferibile da 2 kDa a 5 kDa; e/o in cui il rapporto molare tra unità ripetuta di estere e ossido di etilene del

copolimero multiramificato nella composizione è da 1 a 10, preferibilmente da 2 a 6.

16. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente, comprendente uno o più ulteriori copolimeri multiramificati biodegradabili come definiti in qualsiasi rivendicazione precedente, facoltativamente comprendente un primo copolimero multiramificato biodegradabile come definito in qualsiasi rivendicazione precedente e un secondo copolimero multiramificato biodegradabile differente come definito in qualsiasi rivendicazione precedente, facoltativamente in cui il primo copolimero multiramificato biodegradabile è presente in una quantità dal 15 al 25 (p/p%) e il secondo copolimero multiramificato biodegradabile è presente in una quantità dal 15 al 25 (p/p%) della composizione totale.

17. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente comprendente inoltre un copolimero triblocco biodegradabile avente la formula:



in cui A è un poliesteri e B è polietilen glicole e v e x sono il numero di unità ripetute che varia da 1 a 3.000 e w è il numero di unità ripetute che varia da 3 a 300 e $v=x$ o $v \neq x$; facoltativamente in cui la massa della catena di polietilen glicole varia da 180 Da a 12 kDa o da 194 Da a 12 kDa o da 200 Da a 12 kDa o da 100 Da a 4 kDa, preferibilmente da 1 kDa a 2 kDa; e/o in cui il rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene nel copolimero triblocco è da 0,5 a 22,3, facoltativamente da 0,5 a 10, preferibilmente da 0,5 a 3,5.

18. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente comprendente inoltre un copolimero diblocco biodegradabile avente la formula:



in cui A è un poliestere e C è un polietilen glicole con cappaggio terminale e y e z sono il numero di unità ripetute, con y variando da 2 a 250 e z variando da 1 a 3.000; facoltativamente in cui il peso molecolare della catena di polietilen glicole con cappaggio terminale varia da 100 Da a 10 kDa o da 164 Da a 2 kDa, preferibilmente da 1 kDa a 2 kDa; e/o in cui il rapporto molare tra l'unità ripetuta di estere e l'unità ripetuta di ossido di etilene nel copolimero diblocco è da 0,8 a 15, facoltativamente da 1 a 10.

19. Composizione secondo qualsiasi delle rivendicazioni 17 o 18, in cui detto poliestere A nel copolimero triblocco o diblocco è selezionato dal gruppo di acido polilattico (PLA), acido poliglicolico, policaprolattone, polietilene adipato, poliidrossialcanoato, poli(ϵ -caprolattone-colattide) (PCLA), poli(acido lattico-co-glicolico) (PLGA) e relative miscele e facoltativamente in cui il polietilen glicole con cappaggio terminale è metossi polietilen glicole.

20. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente, comprendente inoltre un veicolo farmaceuticamente accettabile, facoltativamente in cui il veicolo farmaceuticamente accettabile è un solvente organico, facoltativamente in cui il solvente organico è un solvente organico biocompatibile, facoltativamente in cui la quantità di

detto veicolo è almeno il 25%, o almeno il 35% (p/p%), della composizione totale, facoltativamente in cui il veicolo farmaceuticamente accettabile è selezionato dal gruppo di: alcol benzilico, benzil benzoato, dimetil isosorbide (DMI), dimetil solfossido (DMSO), etil acetato, etil benzoato, etil lattato, glicerolo formal, metil etil chetone, metil isobutil chetone, N-etil-2-pirrolidone, N-metil-2-pirrolidinone (NMP), pirrolidone-2, tetraglicole, triacetina, tributirina, tripropionina, glicofurolo e relative miscele.

21. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente, in cui l'ingrediente farmaceuticamente attivo è idrofobico; e/o in cui l'ingrediente farmaceuticamente attivo è meloxicam, bupivacaina, tamsulosina, octreotide, tadalafil, empagliflozin, tenofovir, liotironina o relative combinazioni.

22. Composizione secondo qualsiasi rivendicazione precedente, in cui l'almeno un ingrediente farmaceuticamente attivo è presente in una quantità dallo 0,05% al 60%, facoltativamente dallo 0,05% al 40%, facoltativamente dallo 0,05% al 30%, facoltativamente dallo 0,05% al 10%, facoltativamente dallo 0,05% al 7%, facoltativamente dallo 0,05% al 2% (p/p%), della composizione totale; e/o in cui la composizione è un liquido iniettabile; e/o in cui il copolimero multiramificato è presente in una quantità dal 2% all'80%, facoltativamente dal 2% al 70%, facoltativamente dal 2% al 60%, facoltativamente dal 10% al 60%, facoltativamente dal 10% al 50%, facoltativamente dal 20% al 40%, facoltativamente dal 20% al 35%, facoltativamente dal 30% al 50%

(p/p%), della composizione totale; e/o che è una composizione come definita nella Tabella 1 o nella Tabella 4; e/o che è idonea per erogare un ingrediente farmaceuticamente attivo a un soggetto per almeno 1 giorno, facoltativamente almeno 3 giorni, facoltativamente almeno 7 giorni, facoltativamente almeno 30 giorni, facoltativamente almeno 90 giorni, facoltativamente almeno 1 anno.

23. Composizione come definita in qualsiasi rivendicazione precedente per l'uso come un medicinale.

24. Metodo per produrre una composizione farmaceutica di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 22, detto metodo comprendendo disciogliere un copolimero multiramificato come definito in qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 22 in un veicolo farmaceuticamente accettabile, e successivamente aggiungere un ingrediente farmaceuticamente attivo alla composizione.

25. Deposito biodegradabile che viene prodotto *ex vivo* mettendo a contatto la composizione come definita in qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 22 con un mezzo acquoso, acqua o fluido corporeo.

Si attesta la perfetta conformità della traduzione che precede.

LEGENDA DELLE TAVOLE DEI DISEGNI

TAVOLE 1-51/51

Figure 1-51

“Figure” = “Figura”

TAVOLE 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22/51

Figura 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLE 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23/51

Figura 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23

“Injectability” = “Iniettabilità”

TAVOLE 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24/51

Figura 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24

“Viscosity” = “Viscosità”

TAVOLA 25/51

Figura 25

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

“Triacetin” = “Triacetina”

TAVOLE 26-28/51

Figure 26-28

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 29/51

Figura 29

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

“Bupivacaine” = “Bupivacaina”

TAVOLA 30/51

Figura 30

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

“Bupivacaine” = “Bupivacaina”

“Tamsulosine” = “Tamsulosina”

TAVOLA 31/51

Figura 31

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 32/51

Figura 32

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

“Tamsulosine” = “Tamsulosina”

TAVOLA 33/51

Figura 33

“Release rate ($\mu\text{g}/\text{day}$)” = “Tasso di rilascio ($\mu\text{g}/\text{giorno}$)”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 34/51

Figura 34

“Total active moiety plasma concentration” = “Concentrazione plasmatica di frazione attiva totale”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 35/51

Figura 35

“Injectability” = “Iniettabilità”

TAVOLE 36-37/51

Figure 36-37

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

“Tamsulosin” = “Tamsulosina”

TAVOLE 38-40/51

Figure 38-40

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 41/51

Figura 41

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

“Bupivacaine” = “Bupivacaina”

TAVOLA 42/51

Figura 42

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 43/51

Figura 43

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 44/51

Figura 44

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 45/51

Figura 45

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

“Streptavidin” = “Streptavidina”

“Tripropionin” = “Tripropionina”

TAVOLA 46/51

Figura 46

“Total active moiety plasma concentration” = “Concentrazione plasmatica di frazione attiva totale”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 47/51

Figura 47

“Total active moiety plasma concentration” = “Concentrazione plasmatica di frazione attiva totale”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 48/51

Figura 48

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 49/51

Figura 49

“Total active moiety plasma concentration” = “Concentrazione plasmatica di frazione attiva totale”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

TAVOLA 50/51

Figura 50

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

“Liothyronine” = “Liotironina”

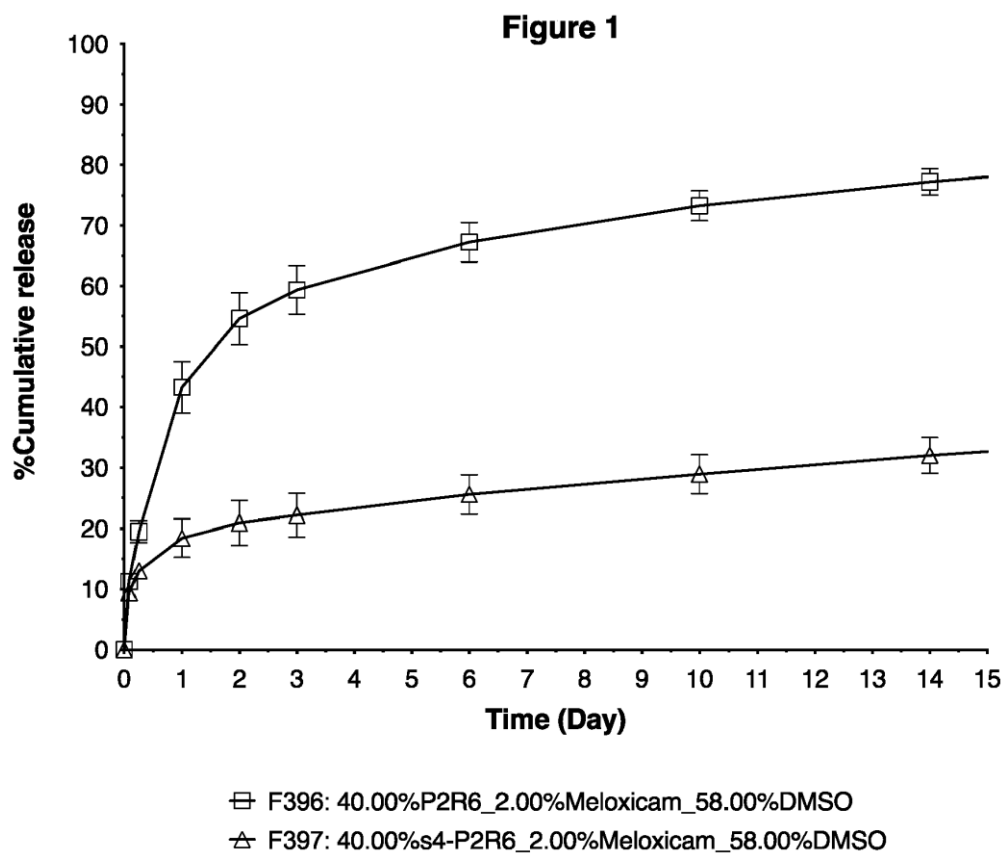
TAVOLA 51/51

Figura 51

“% Cumulative release” = “Rilascio cumulativo %”

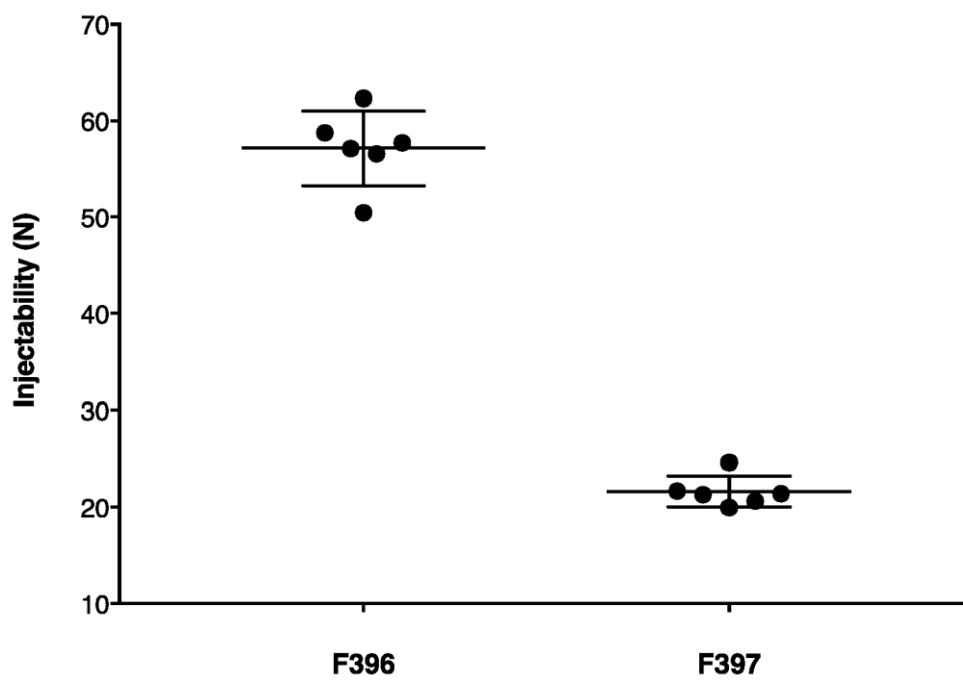
“Time (Day)” = “Tempo (giorno)”

B



B

Figure 2

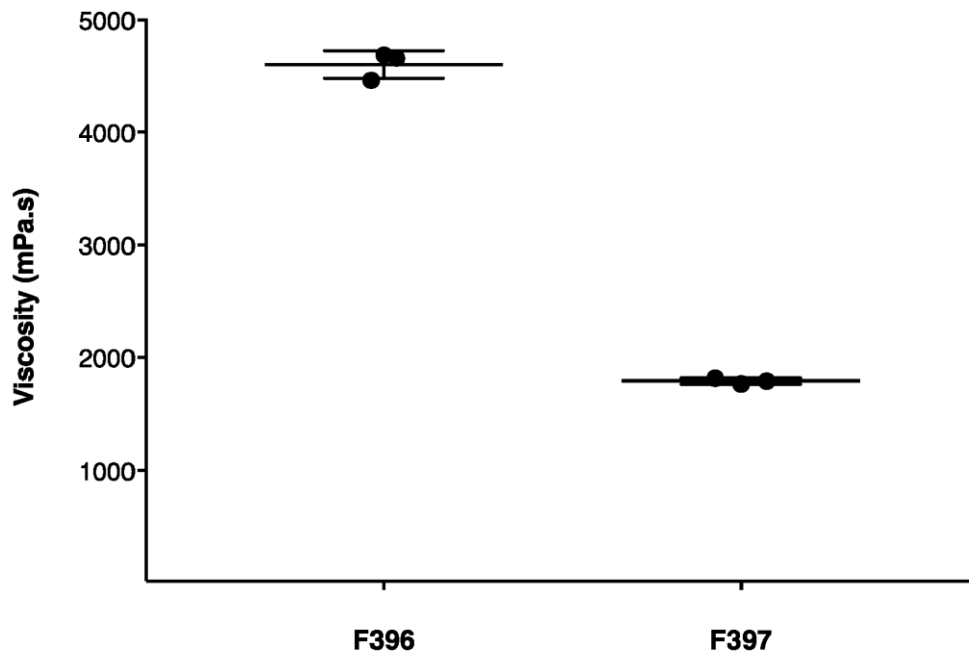


F396: 40.00%P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

F397: 40.00%*s4*-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

13

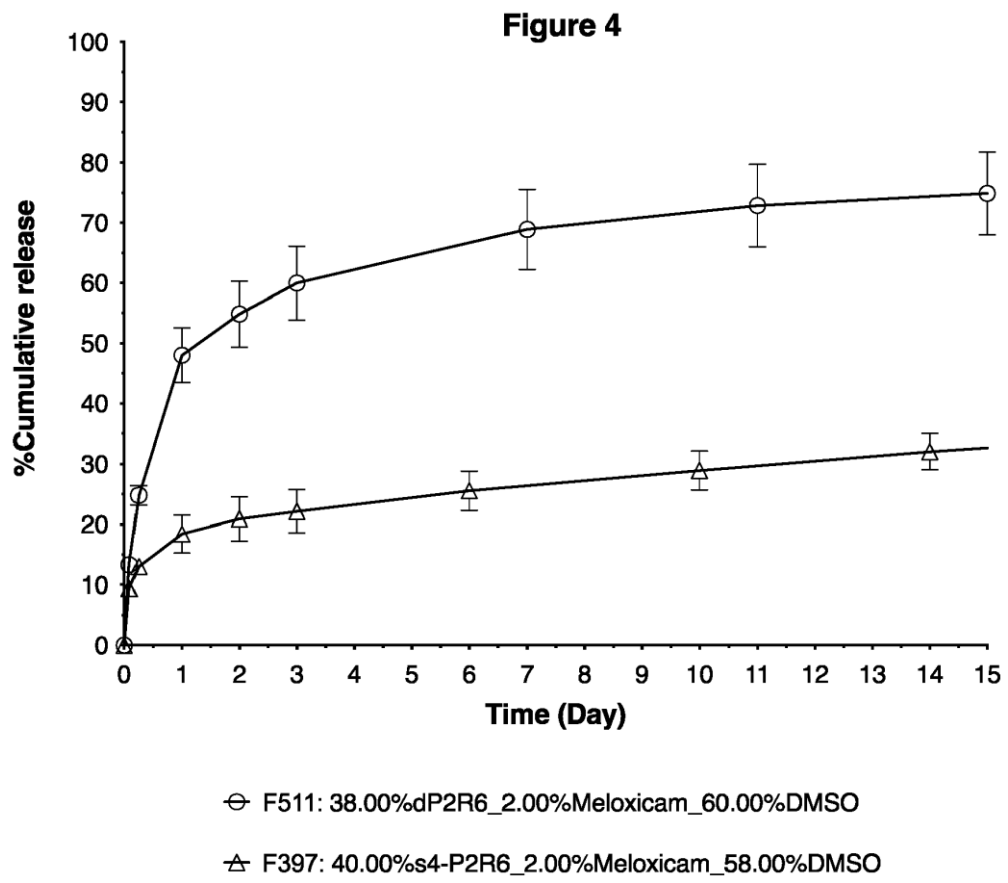
Figure 3



F396: 40.00%P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

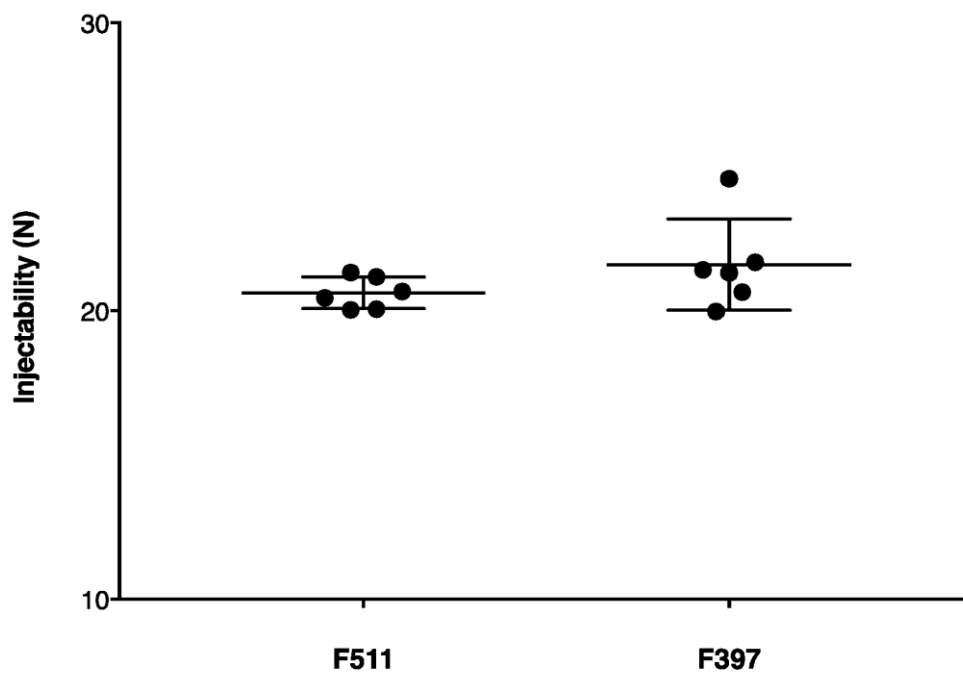
F397: 40.00%*s*4-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

13



13

Figure 5

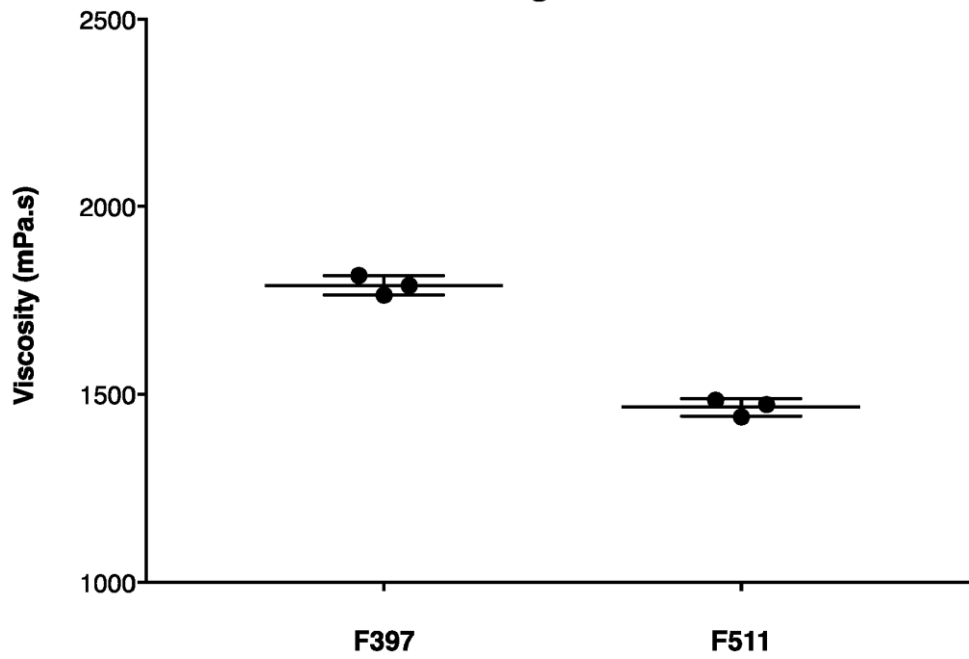


F511: 38.00%*s*-P2R6_2.00%Meloxicam_60.00%DMSO

F397: 40.00%*s*-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

13

Figure 6

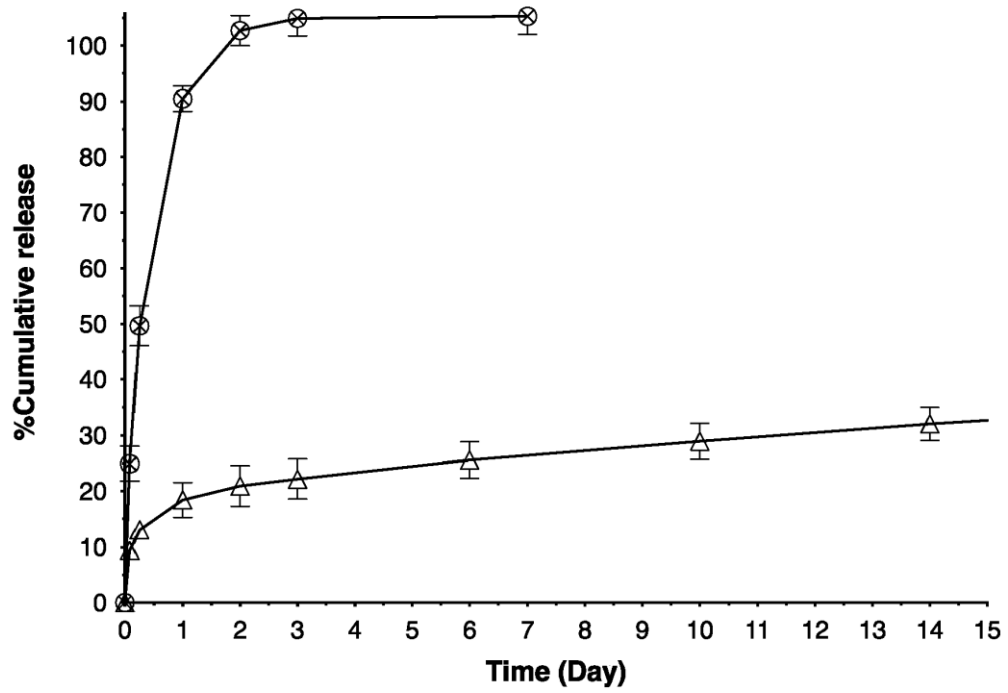


F511: 38.00%dP2R6_2.00%Meloxicam_60.00%DMSO

F397: 40.00%*s*4-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

13

Figure 7

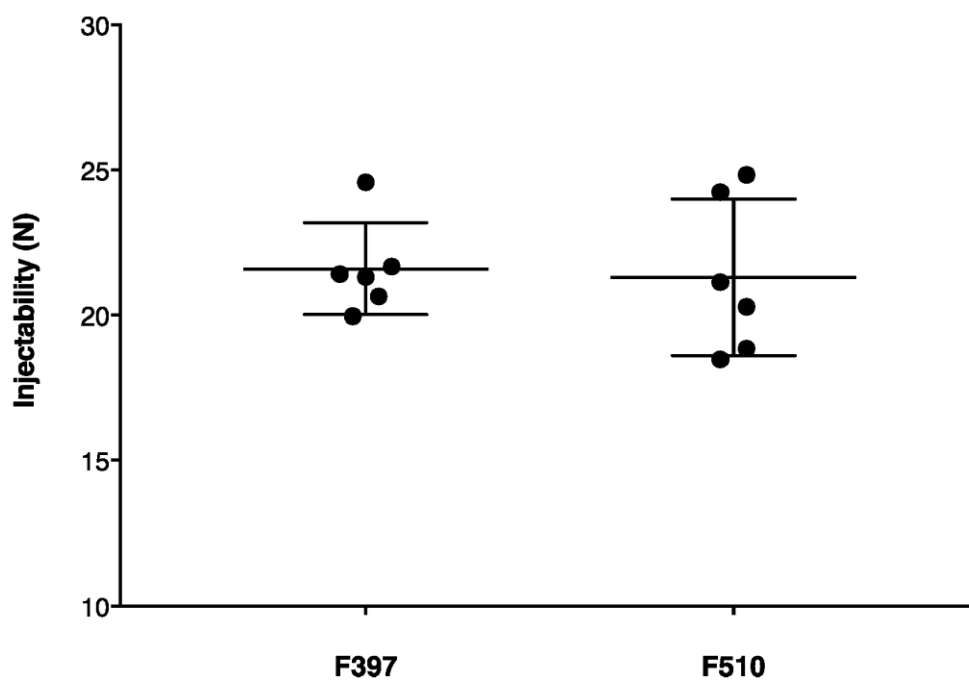


⊗ F510: 61.00% dP2R1.5_2.00% Meloxicam_37.00% DMSO

△ F397: 40.00% s4-P2R6_2.00% Meloxicam_58.00% DMSO

13

Figure 8

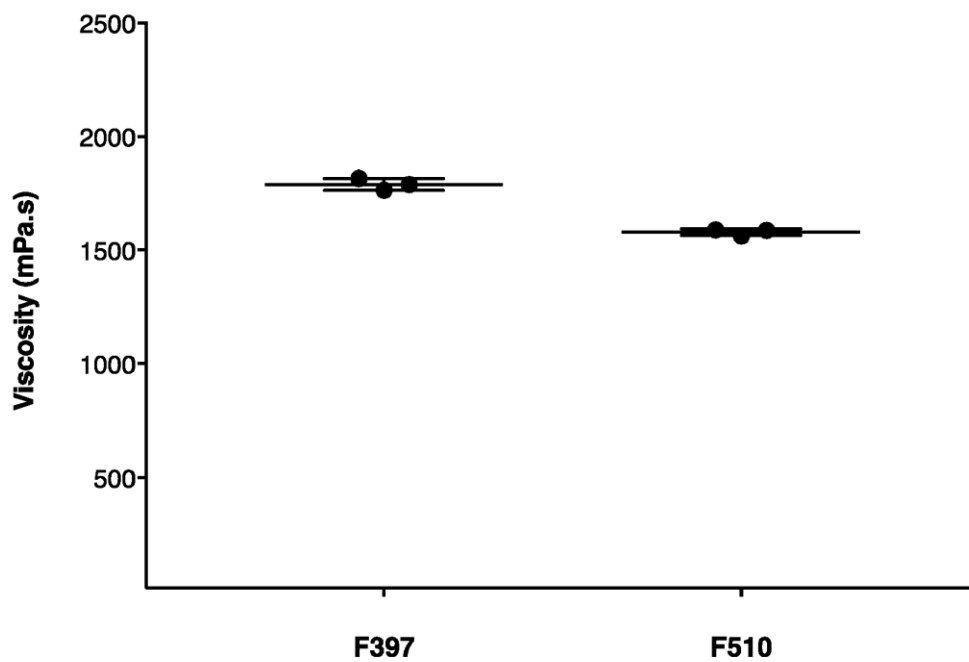


F397: 40.00%*s*4-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

F510: 61.00%*d*P2R1.5_2.00%Meloxicam_37.00%DMSO

13

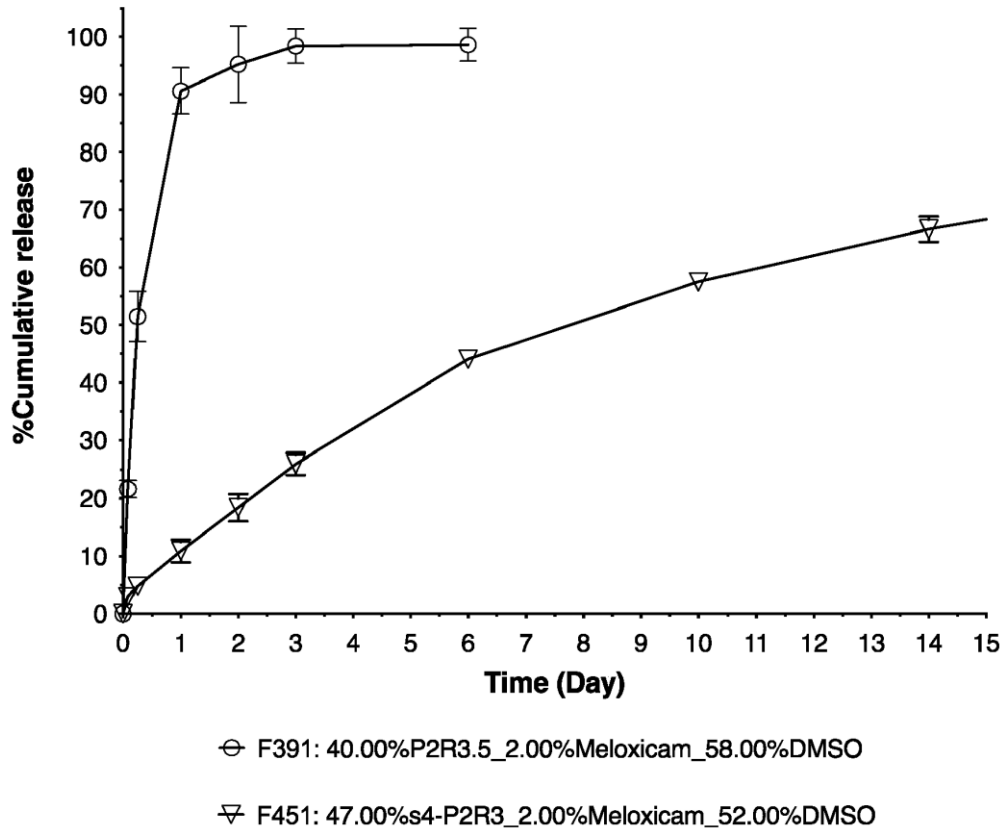
Figure 9



F397: 40.00%*s4-P2R6*_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

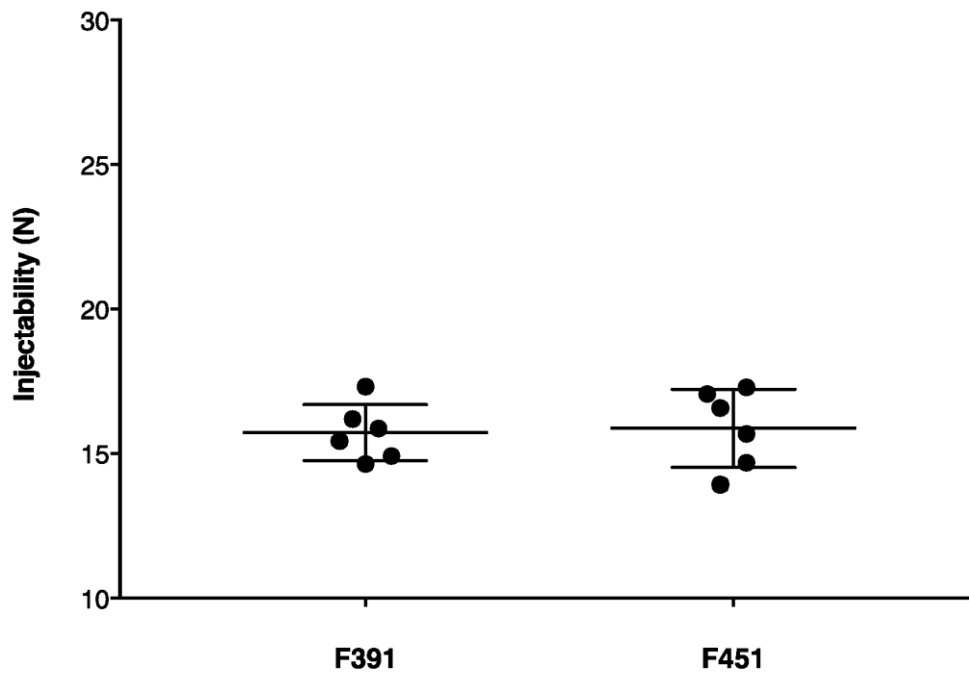
F510: 61.00%*dP2R1.5*_2.00%Meloxicam_37.00%DMSO

Figure 10



13

Figure 11

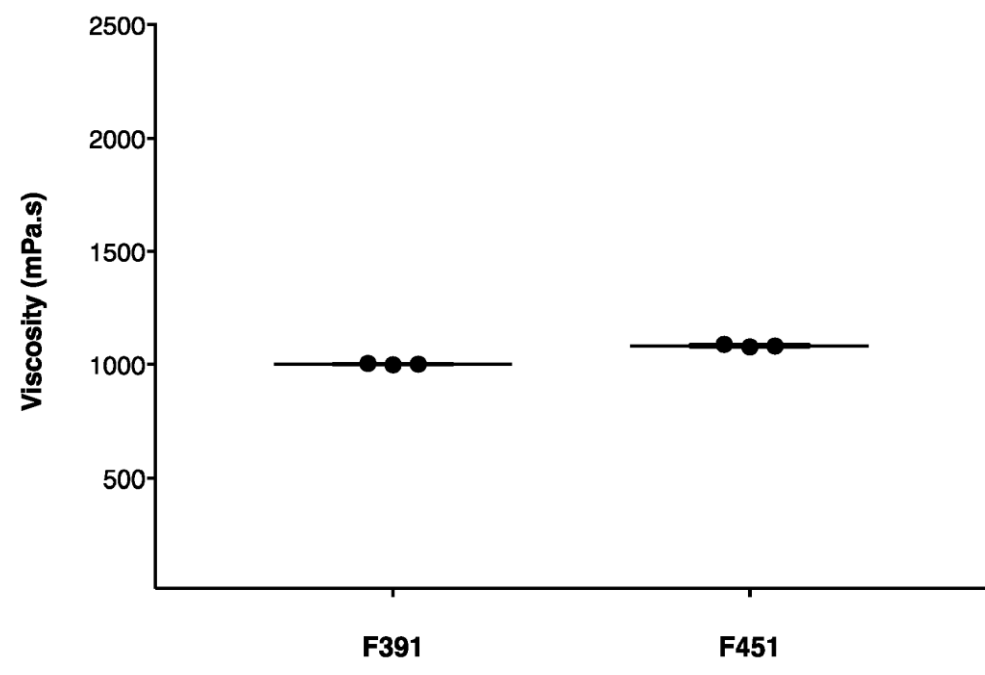


F391: 40.00%P2R3.5_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

F451: 47.00%~~s4~~-P2R3_2.00%Meloxicam_51.00%DMSO

13

Figure 12

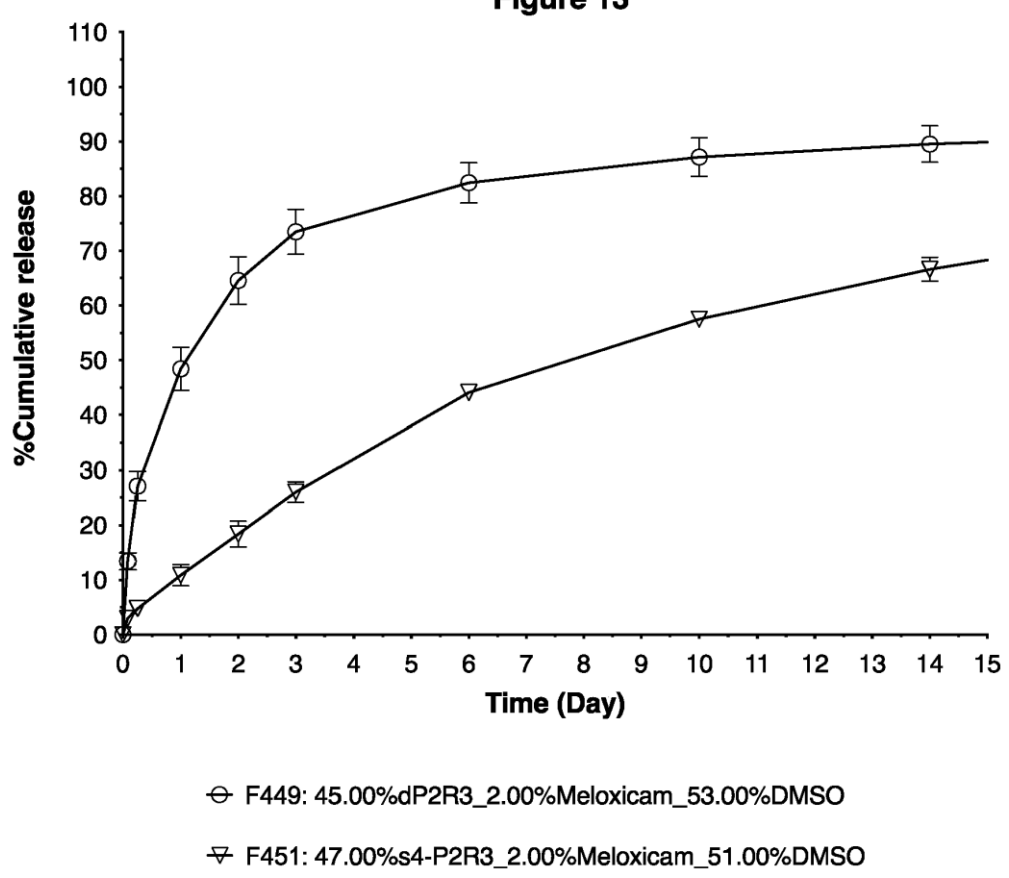


F391: 40.00%P2R3.5_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

F451: 47.00%^{s4}-P2R3_2.00%Meloxicam_51.00%DMSO

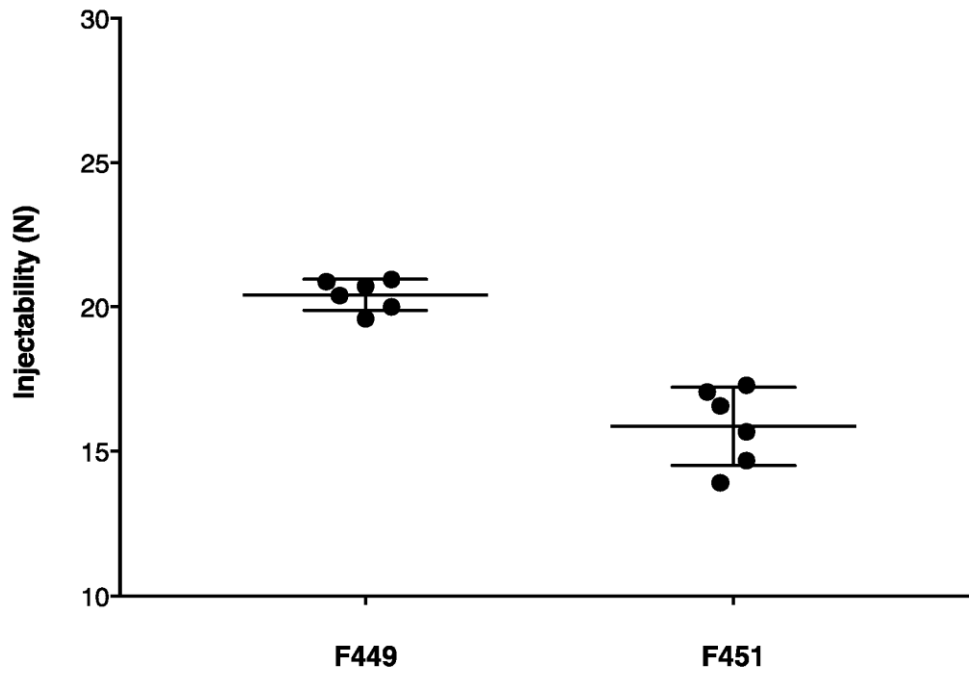
13

Figure 13



13

Figure 14

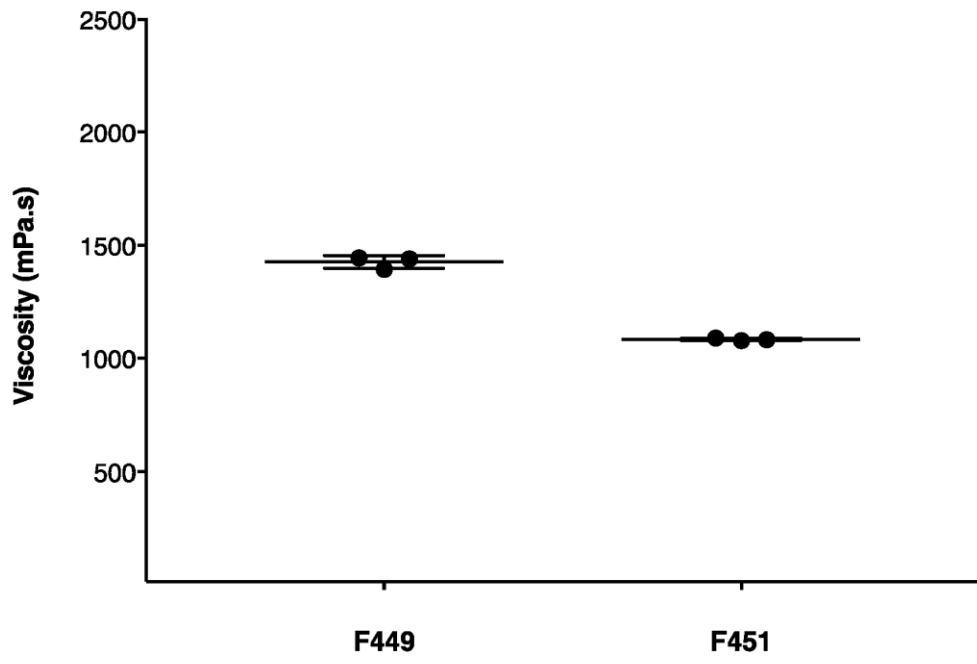


F449: 45.00%*d*P2R3_2.00%Meloxicam_53.00%DMSO

F451: 47.00%*s*4-P2R3_2.00%Meloxicam_51.00%DMSO

13

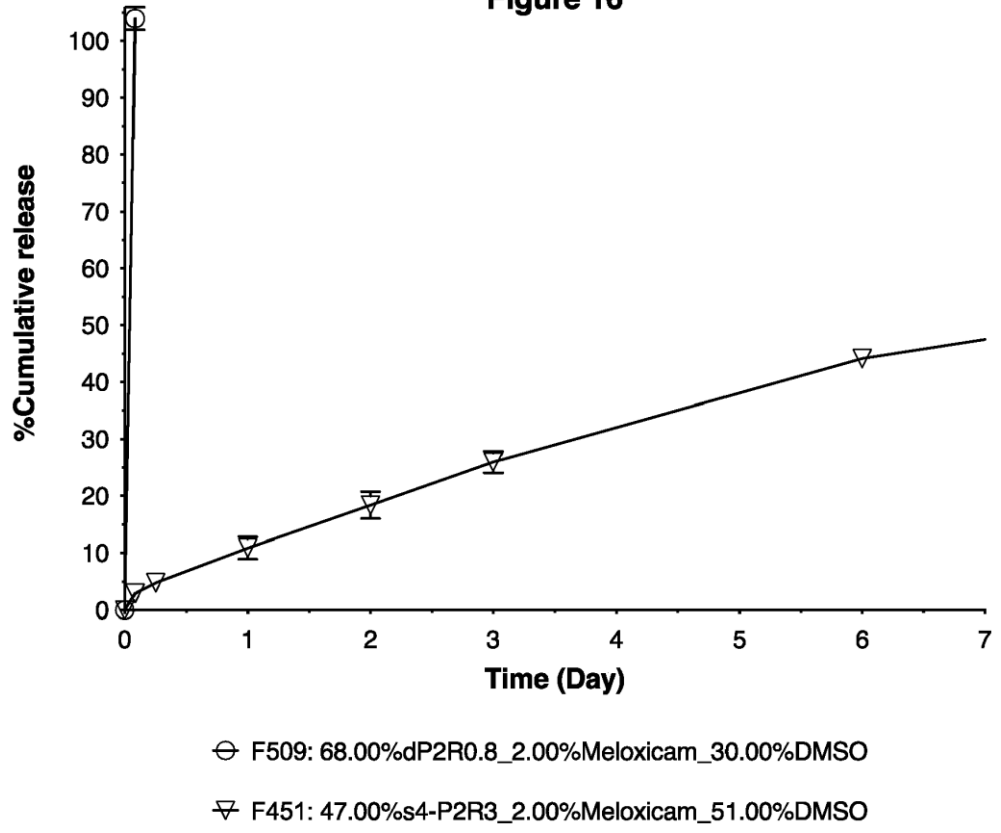
Figure 15



F449: 45.00%dP2R3_2.00%Meloxicam_53.00%DMSO
F451: 47.00%~~s4~~-P2R3_2.00%Meloxicam_51.00%DMSO

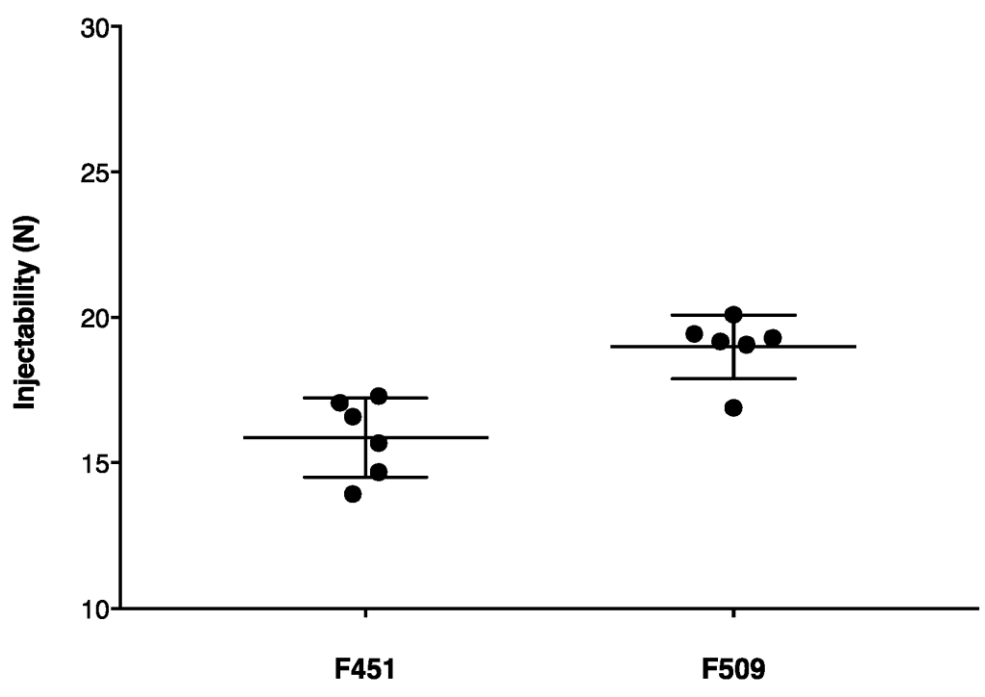
13

Figure 16



13

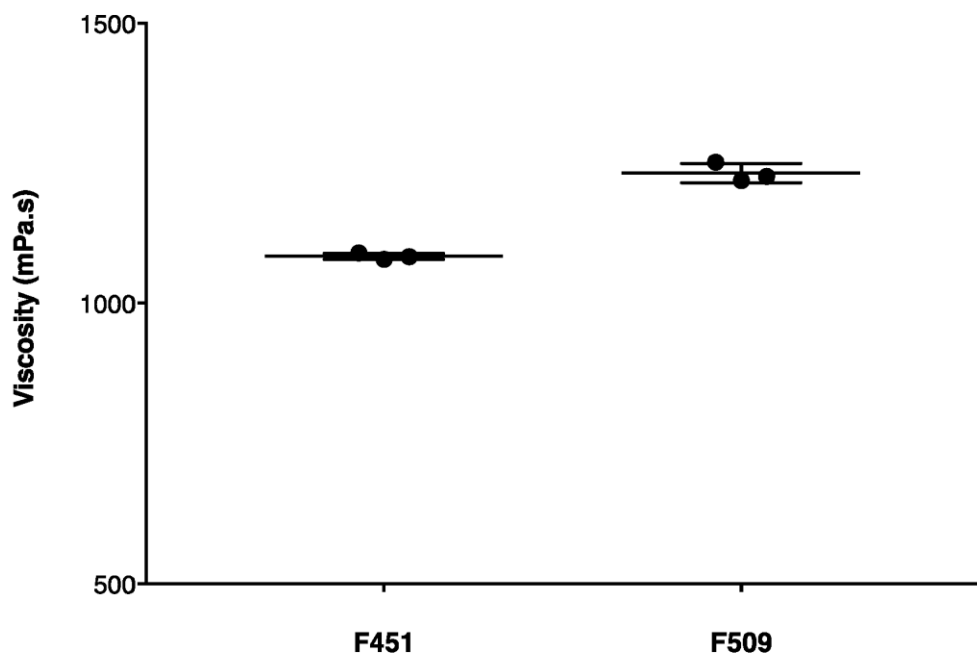
Figure 17



F509: 68.00%*dP2R0.8_2.00%*Meloxicam_30.00%DMSO
F451: 47.00%*s4-P2R3_2.00%*Meloxicam_51.00%DMSO

13

Figure 18



F509: 68.00%dP2R0.8_2.00%Meloxicam_30.00%DMSO

F451: 47.00%s4-P2R3_2.00%Meloxicam_51.00%DMSO

13

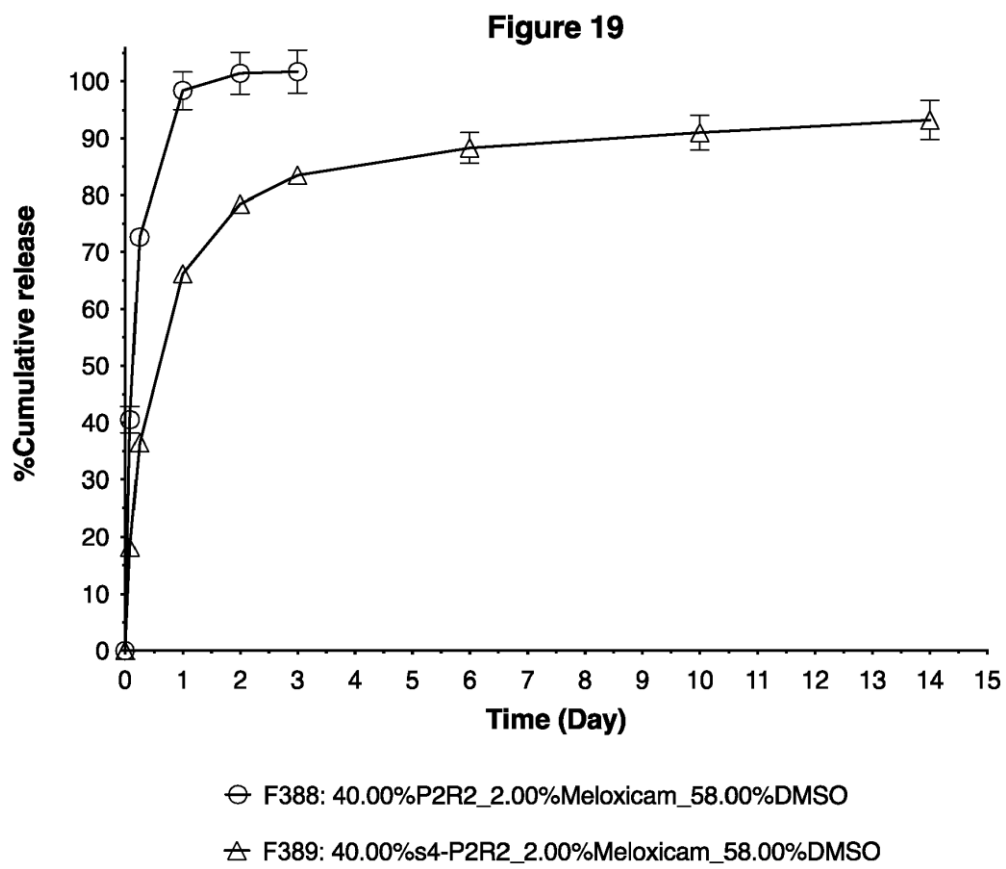
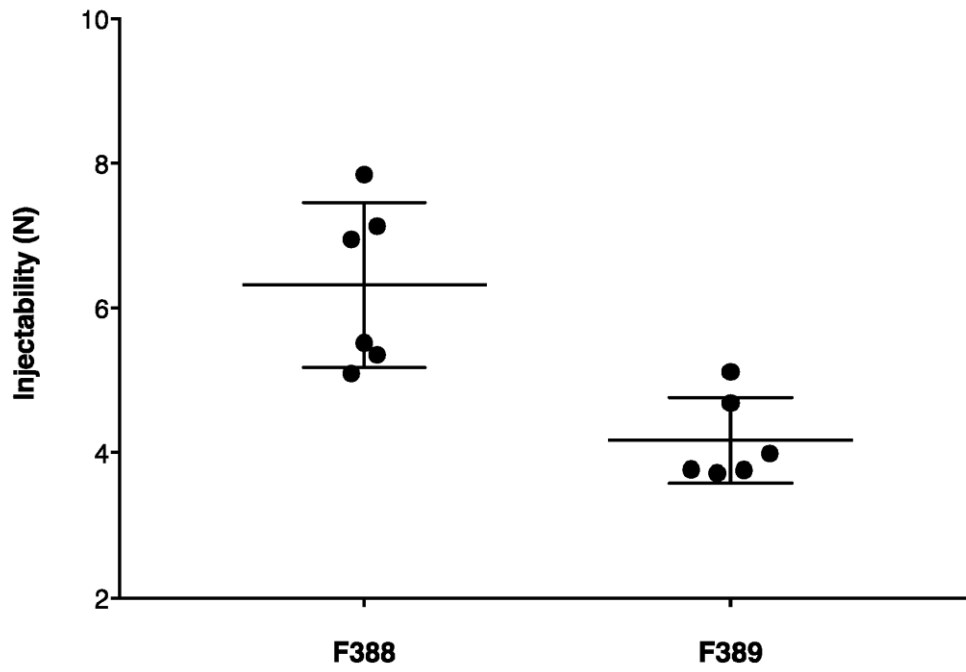


Figure 20



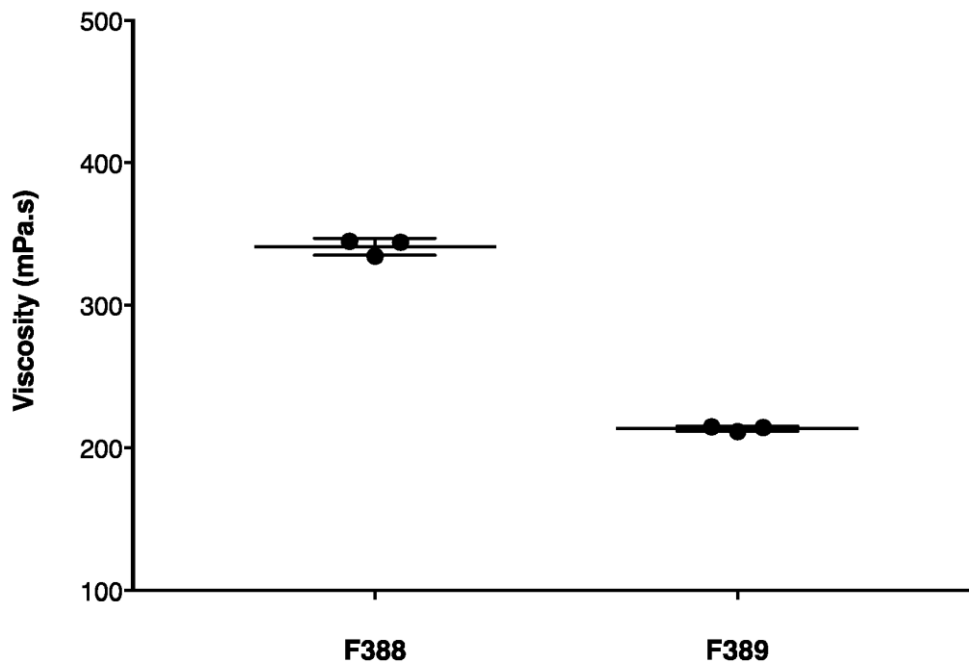
F388: 40.00%P2R2_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

F389: 40.00%~~s4~~-P2R2_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

s

13

Figure 21

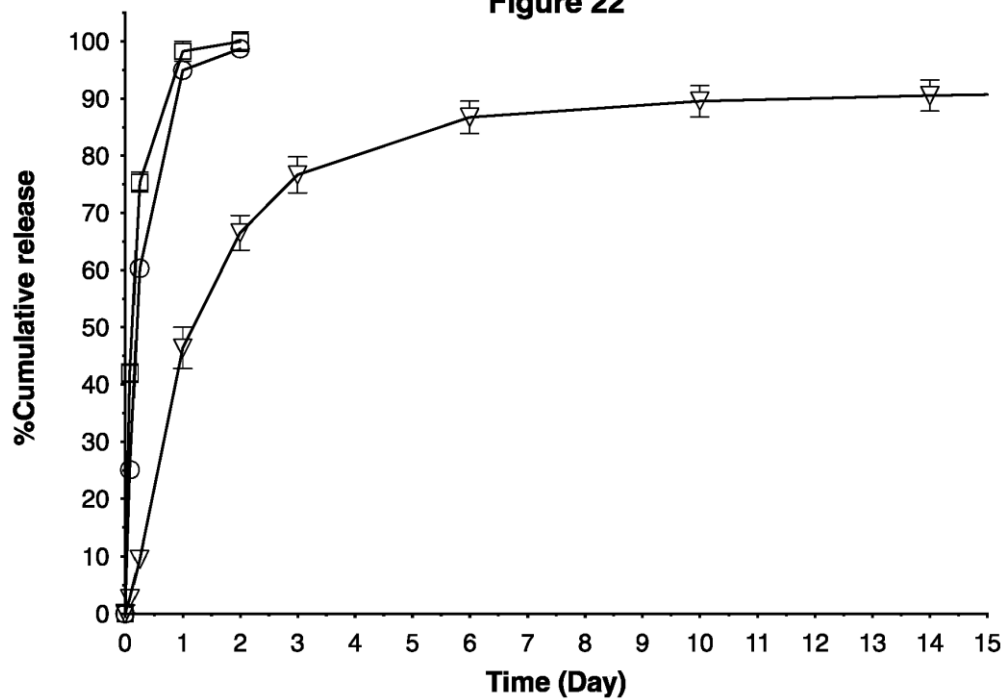


F388: 40.00%P2R2_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

F389: 40.00%^{s4}-P2R2_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

13

Figure 22



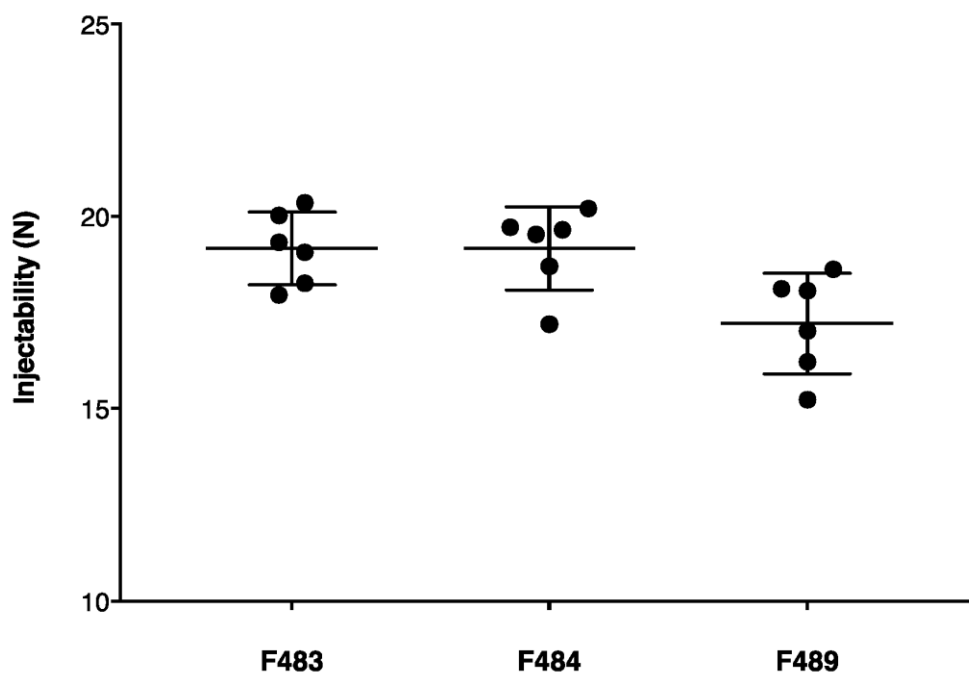
○ F483: 44.00%P2R3.5_2.00%Meloxicam_54.00%NMP

□ F484: 47.00%dP2R3_2.00%Meloxicam_51.00%NMP

▽ F489: 51.00%s4P2R3_2.00%Meloxicam_47.00%NMP

13

Figure 23



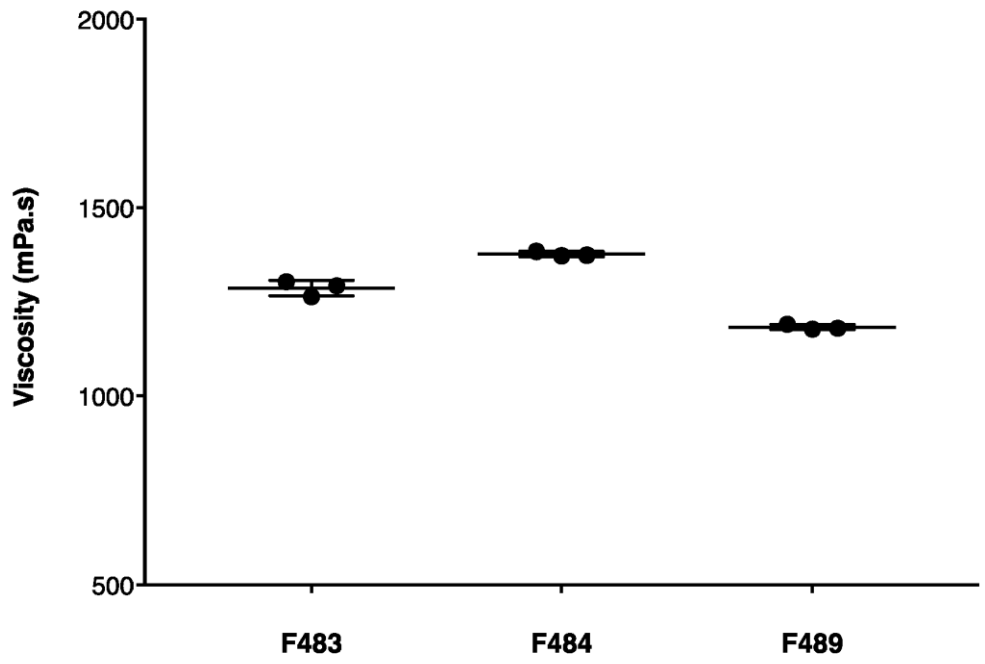
F483: 44.00%P2R3.5_2.00%Meloxicam_54.00%NMP

F484: 47.00%dP2R3_2.00%Meloxicam_51.00%NMP

F489: 51.00%s4P2R3_2.00%Meloxicam_47.00%NMP

13

Figure 24

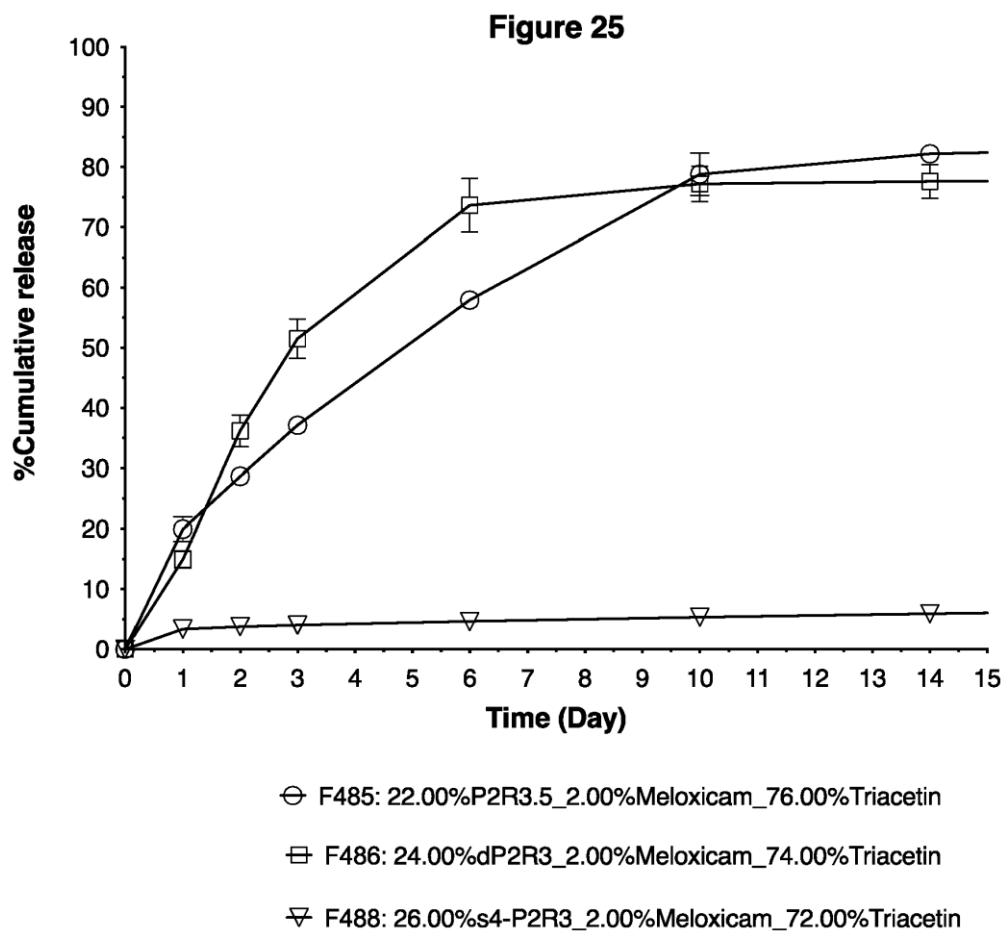


F483: 44.00%P2R3.5_2.00%Meloxicam_54.00%NMP

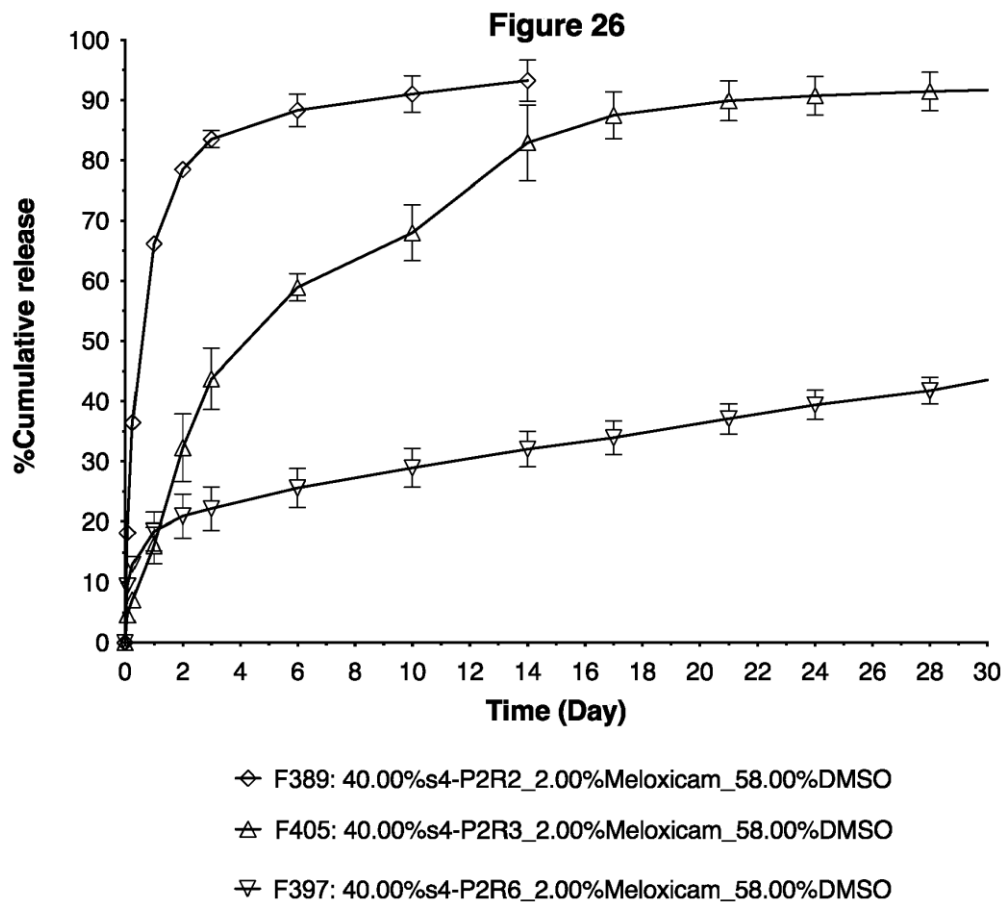
F484: 47.00%dP2R3_2.00%Meloxicam_51.00%NMP

F489: 51.00%s4P2R3_2.00%Meloxicam_47.00%NMP

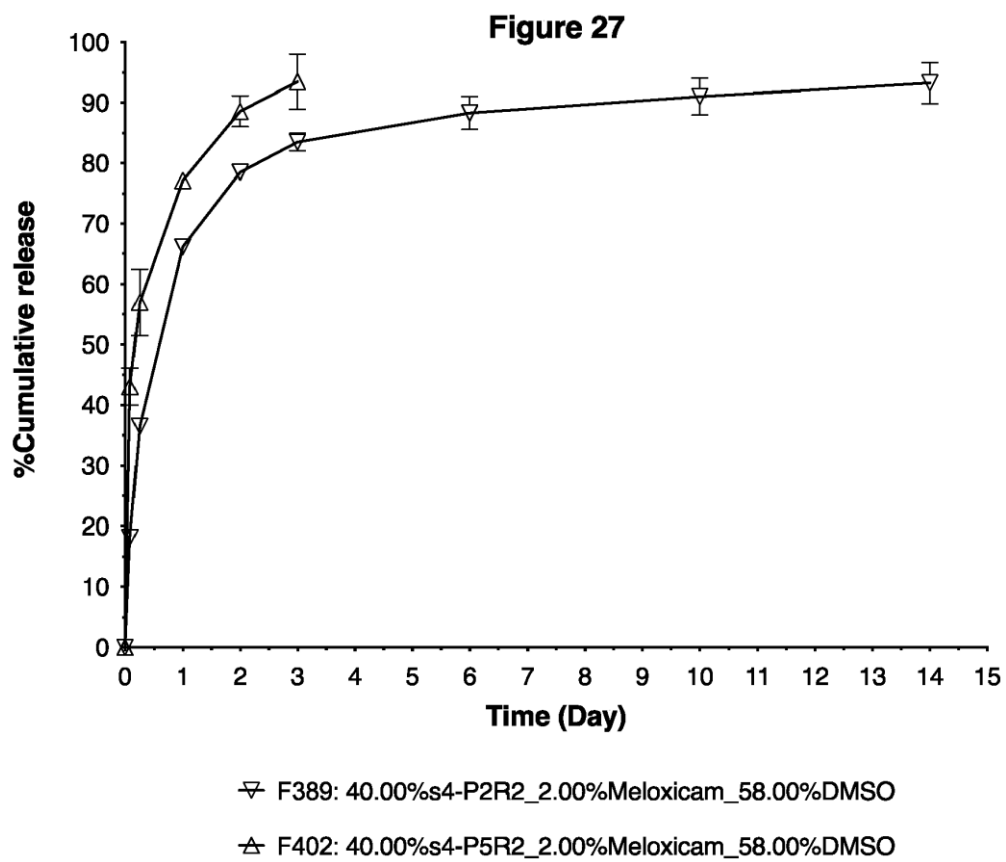
13



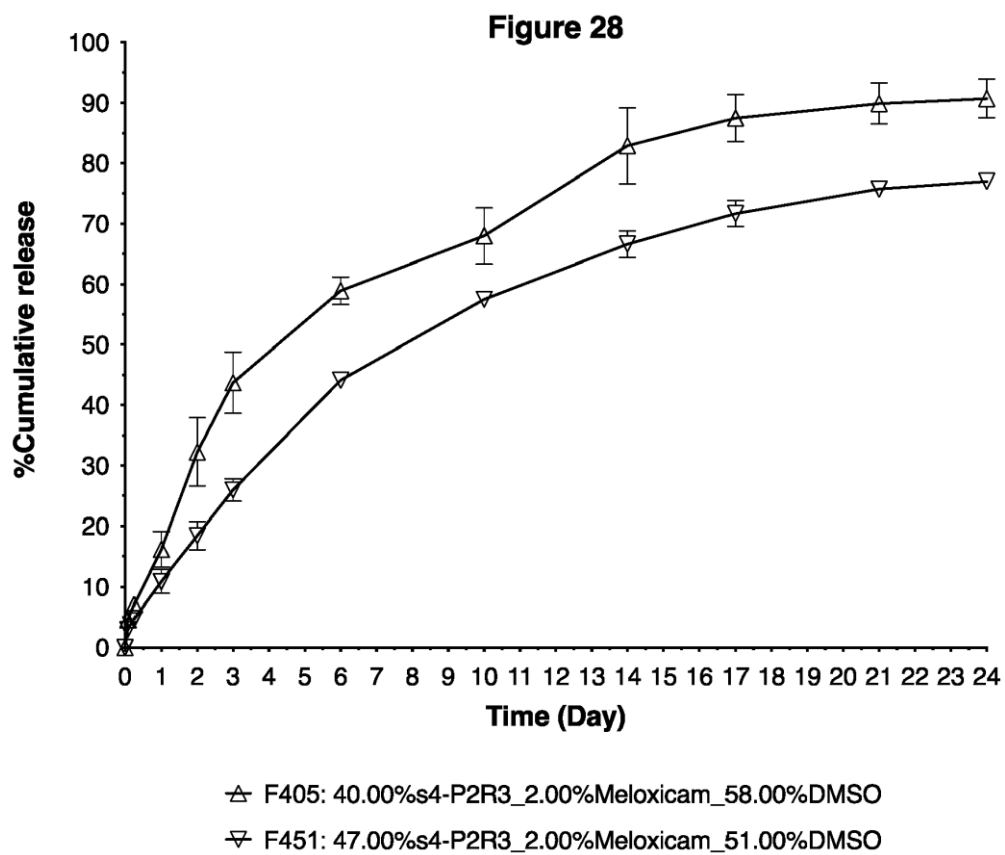
13



13



13



13

Figure 29

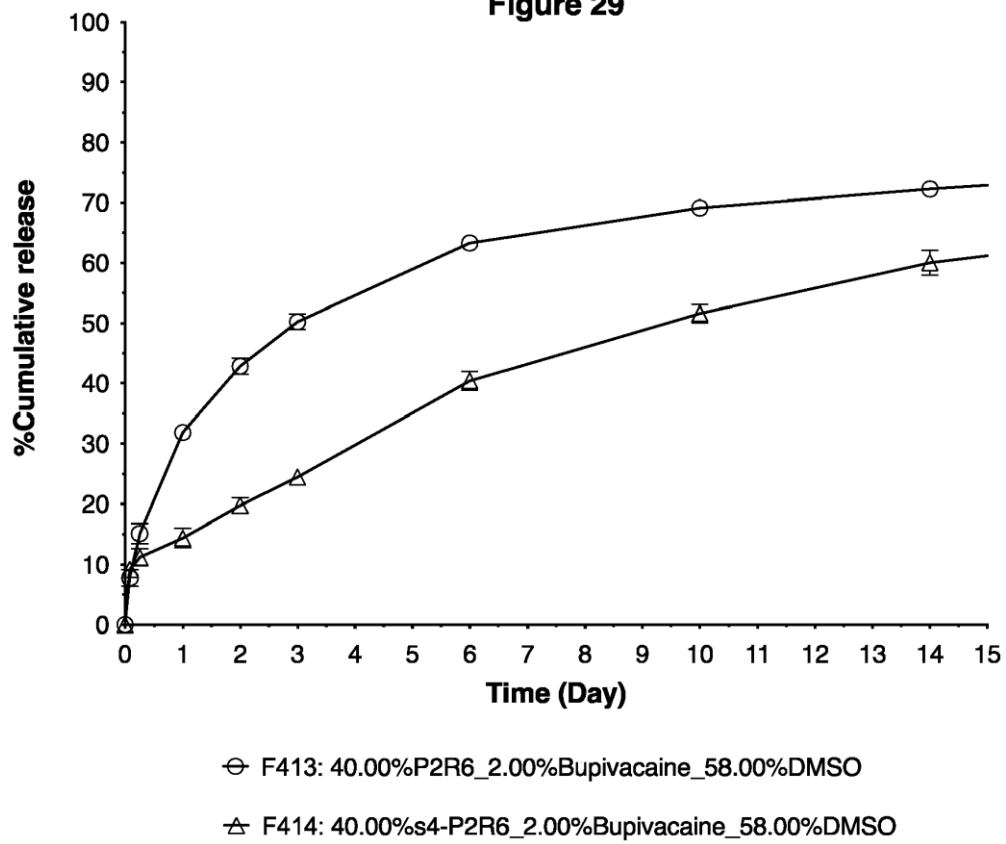
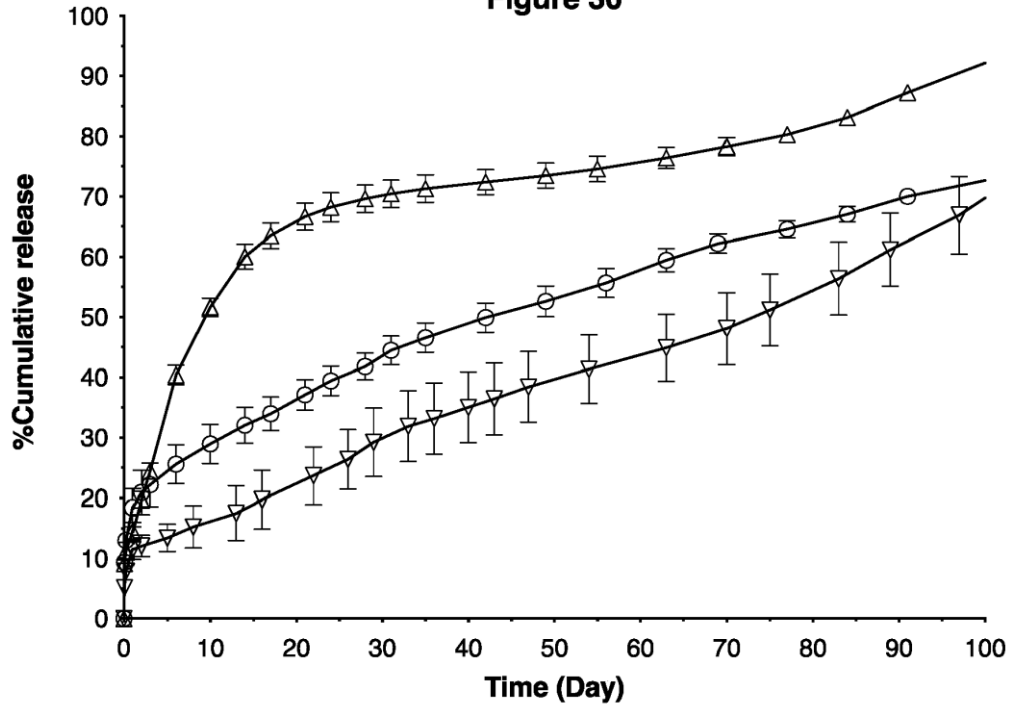


Figure 30



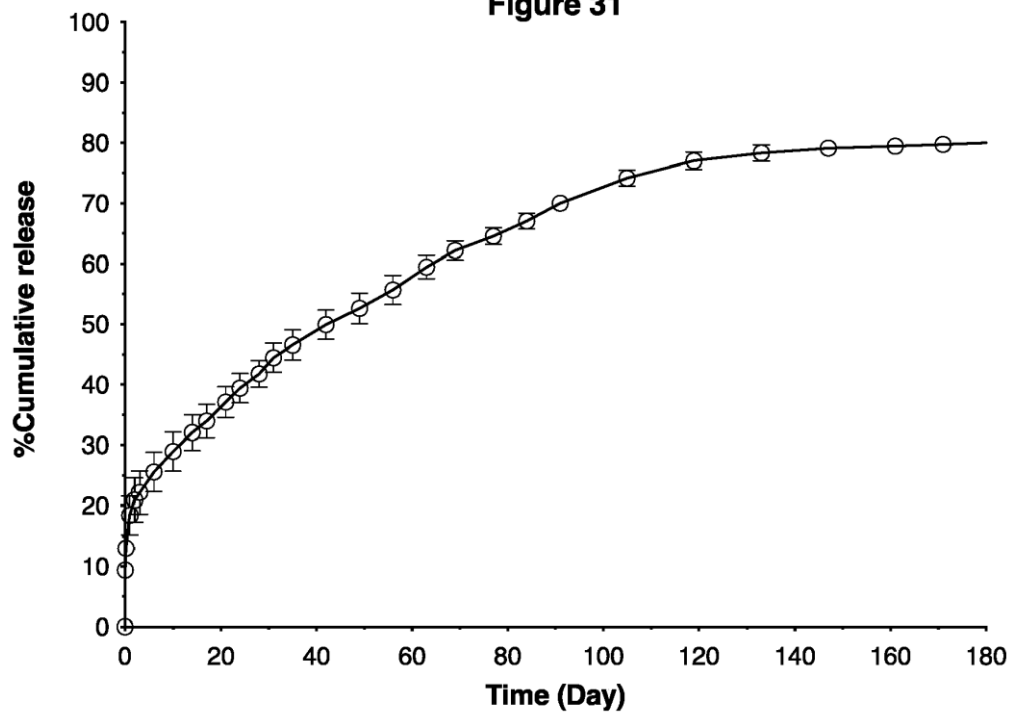
△ F414: 40.00%*s*4P2R6_2.00%Bupivacaine_58.00%DMSO

○ F397: 40.00%*s*4-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

▽ F460: 40.00%*s*4-P2R6_2.00%Tamsulosine_58.00%DMSO

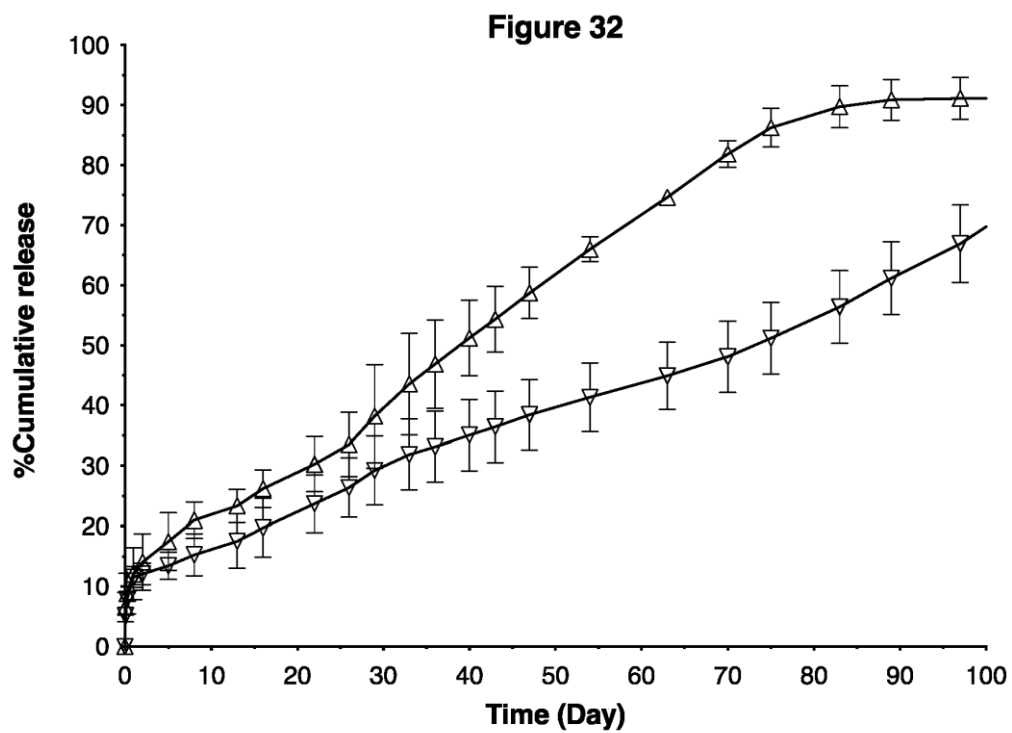
B

Figure 31



⊖ F397: 40.00% s4-P2R6_2.00% Meloxicam_58.00%DMSO

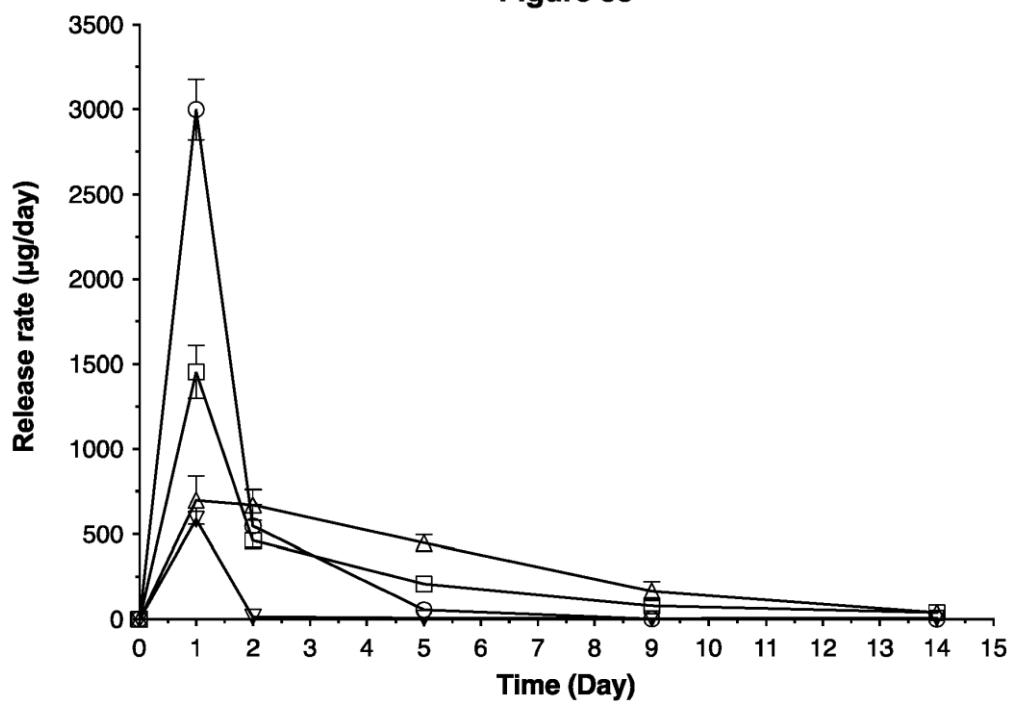
B



△ F463: 40.00%*s*4-P2R6_14.40%Tamsulosine_45.60%DMSO
▽ F460: 40.00%*s*4-P2R6_2.00%Tamsulosine_58.00%DMSO

13

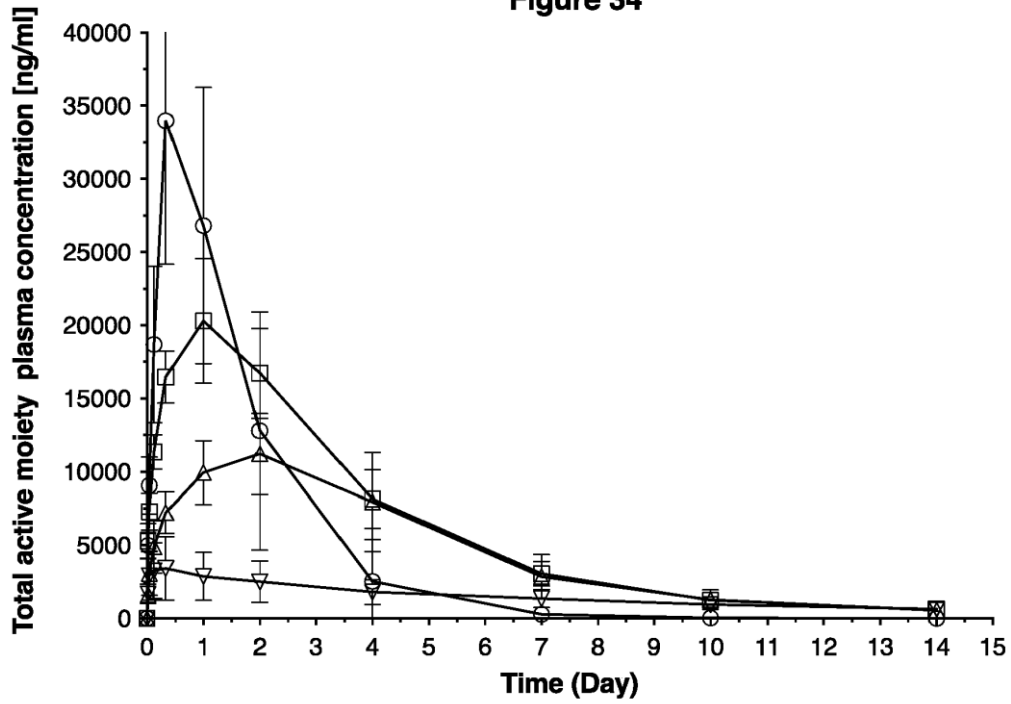
Figure 33



- ⊖ F391: 40.00%P2R3.5_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO
- ⊞ F449: 45.00%dP2R3_2.00%Meloxicam_53.00%DMSO
- ⊠ F451: 47.00%s4-P2R3_2.00%Meloxicam_51.00%DMSO
- ⊣ F397: 40.00%s4-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

13

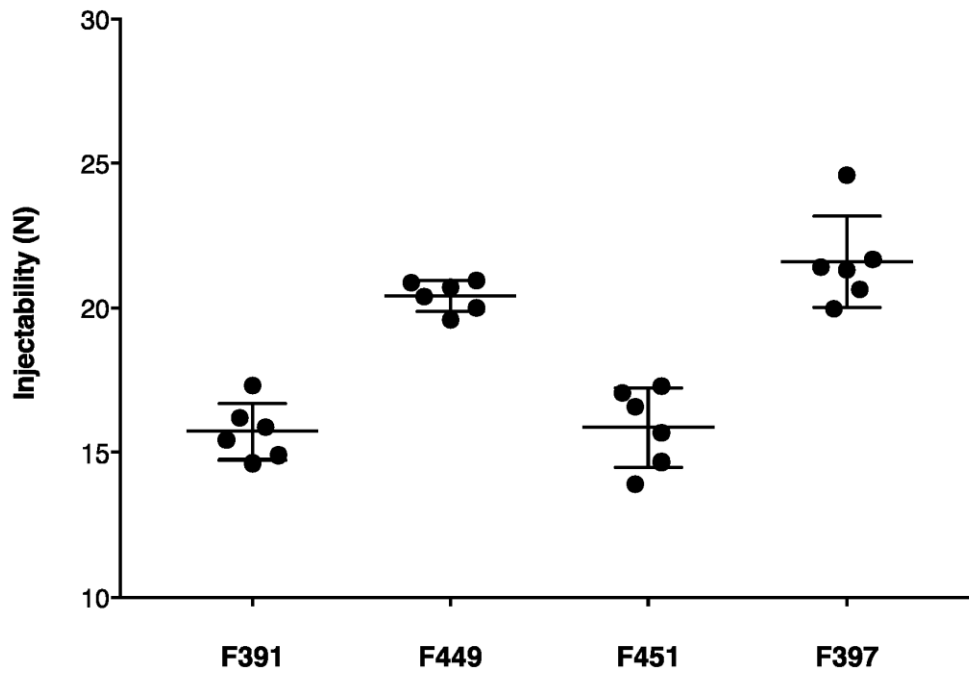
Figure 34



- F391: 40.00%P2R3.5_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO
- F449: 45.00%dP2R3_2.00%Meloxicam_53.00%DMSO
- △ F451: 47.00%s4-P2R3_2.00%Meloxicam_51.00%DMSO
- ▽ F397: 40.00%s4-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

13

Figure 35



F391: 40.00%P2R3.5_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

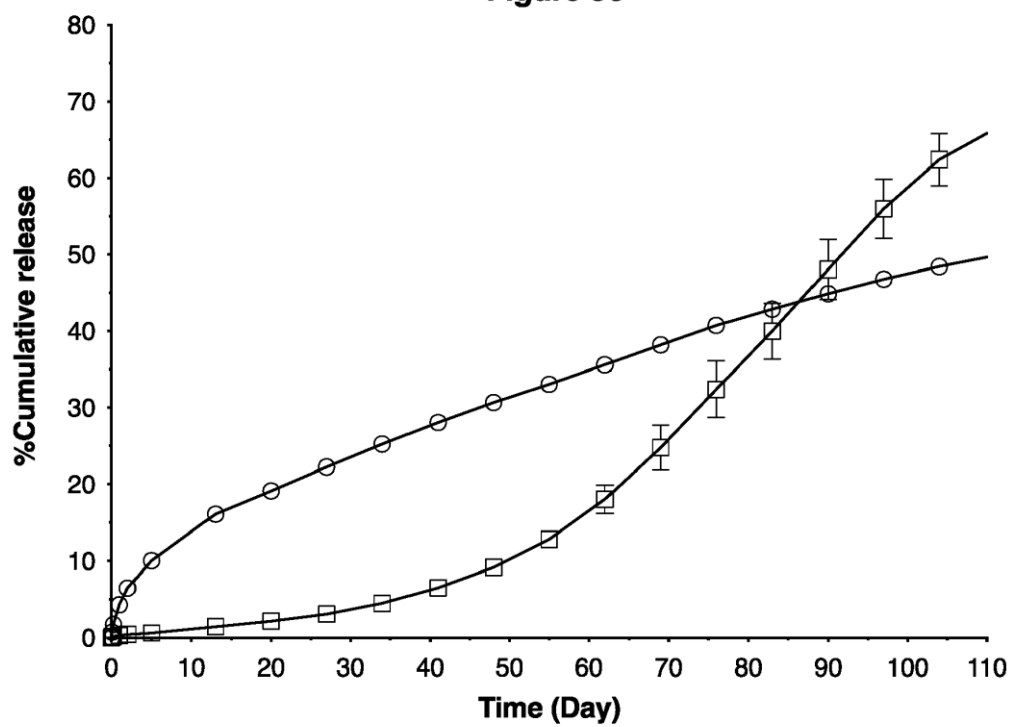
F449: 45.00%dP2R3_2.00%Meloxicam_53.00%DMSO

F451: 47.00%*s*4-P2R3_2.00%Meloxicam_51.00%DMSO

F397: 40.00%*s*4-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

13

Figure 36

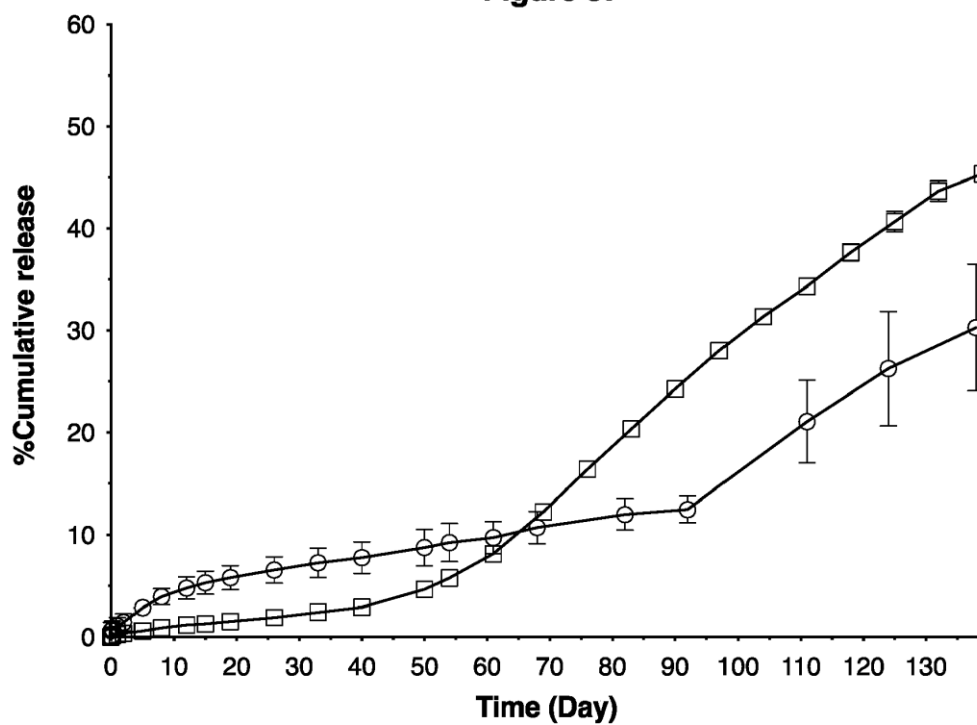


○ F496: 40.00%P2R2_2.00%Tamsulosin_58.00%DMSO

◻ F497: 40.00%^{s4}-P2R2_2.00%Tamsulosin_58.00%DMSO

13

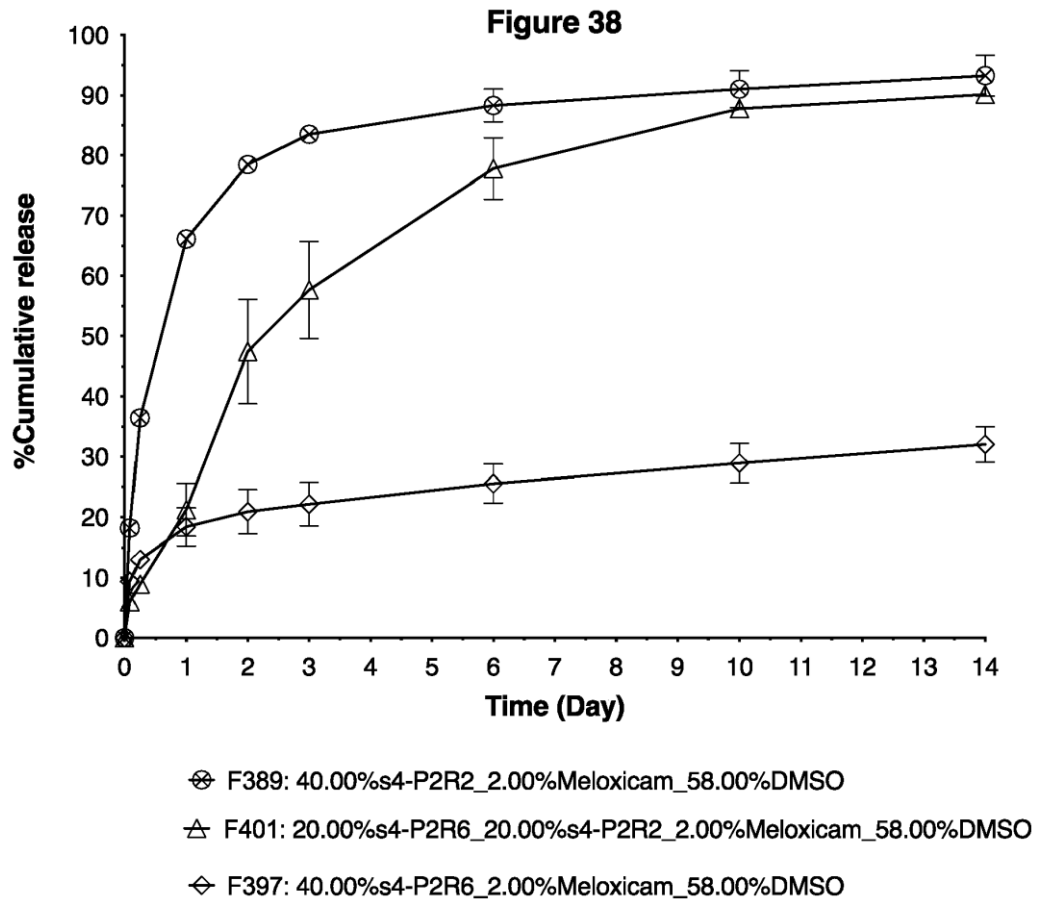
Figure 37



□ F499: 40.00%*s*4-P2R3_2.00%Tamsulosin_58.00%DMSO

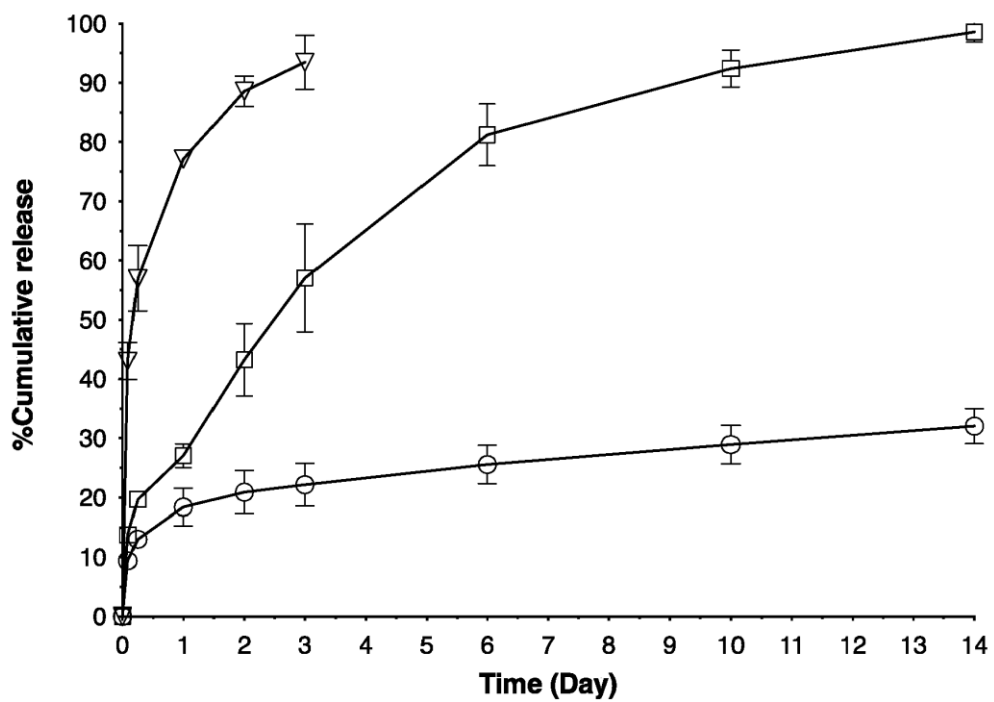
○ F498: 40.00%*d*P2R3_2.00%Tamsulosin_58.00%DMSO

13



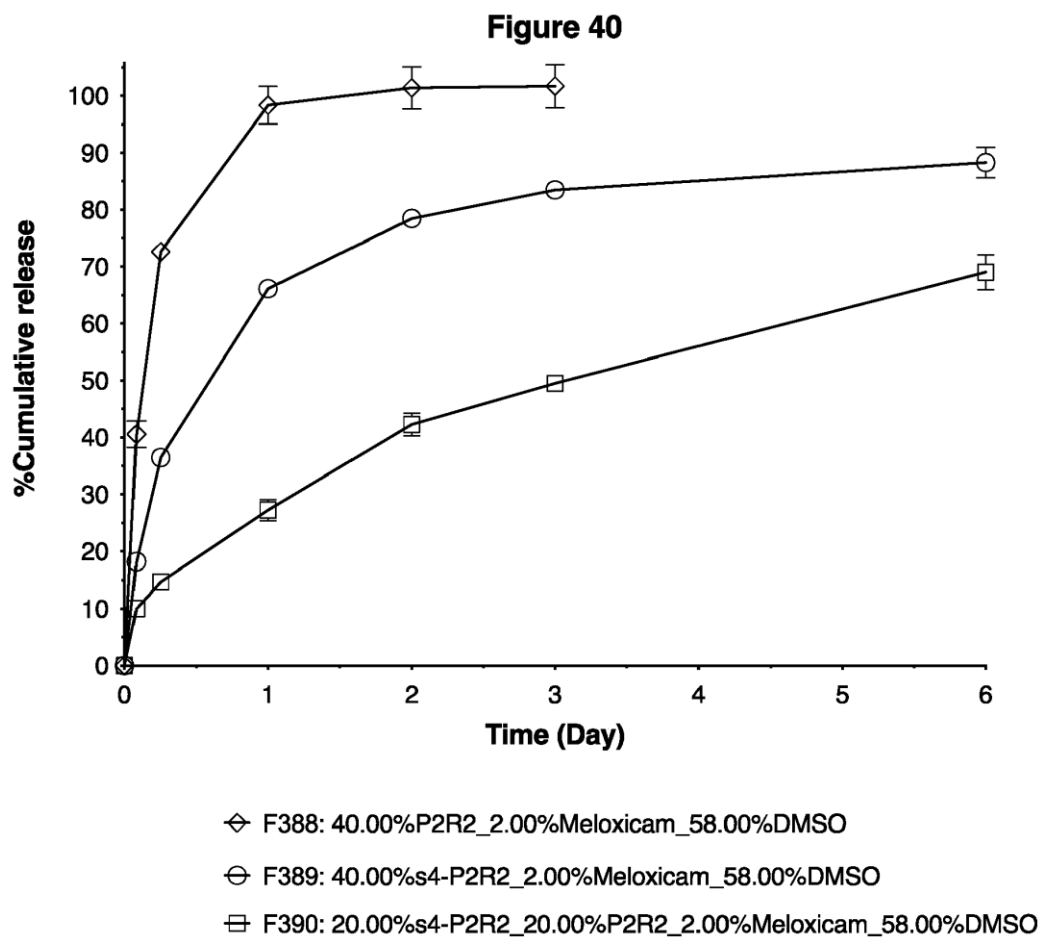
13

Figure 39

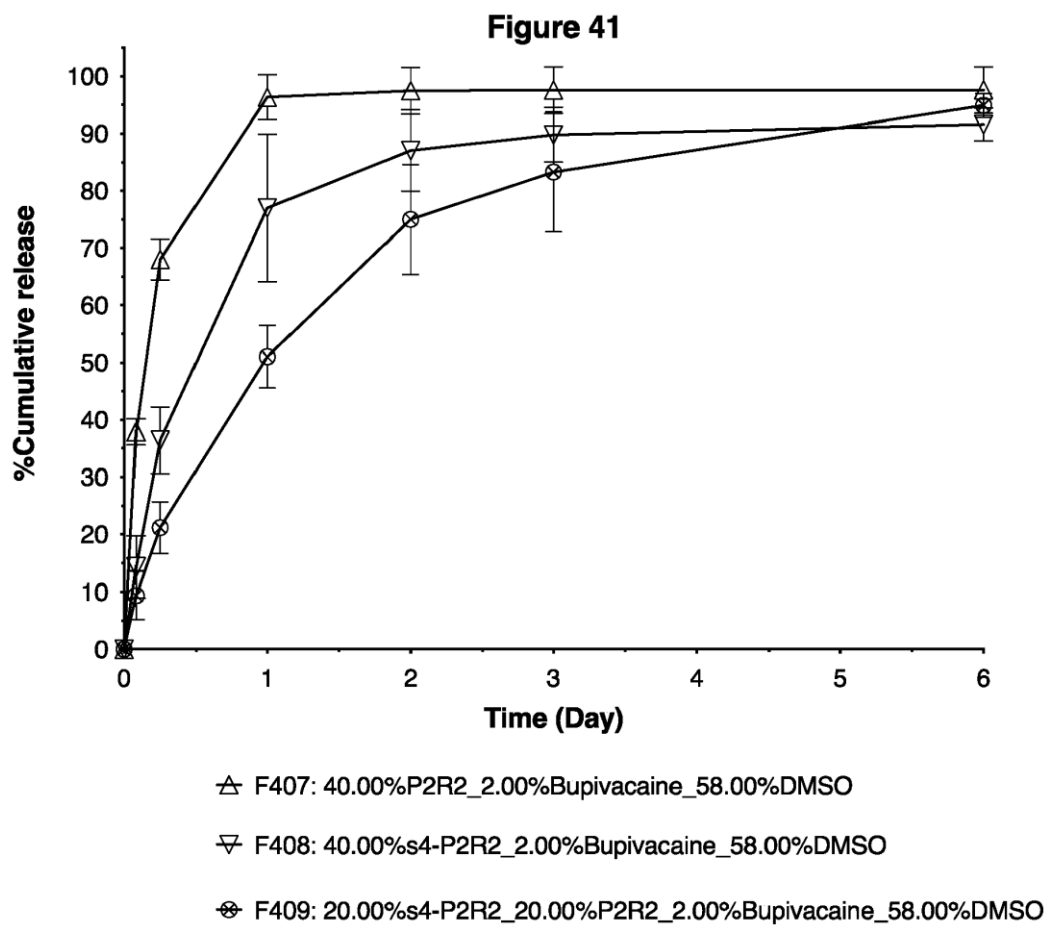


- ▽ F402: 40.00% s_4 -P5R2_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO
- F404: 20.00% s_4 -P5R2_20.00% s_4 -P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO
- F397: 40.00% s_4 -P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

B

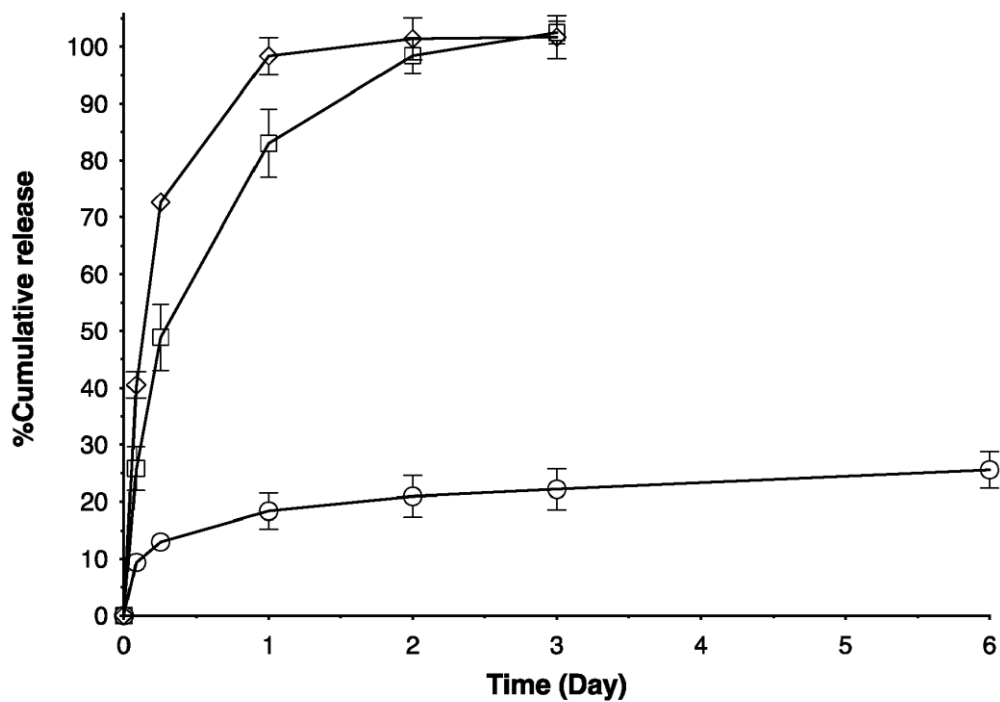


13



13

Figure 42



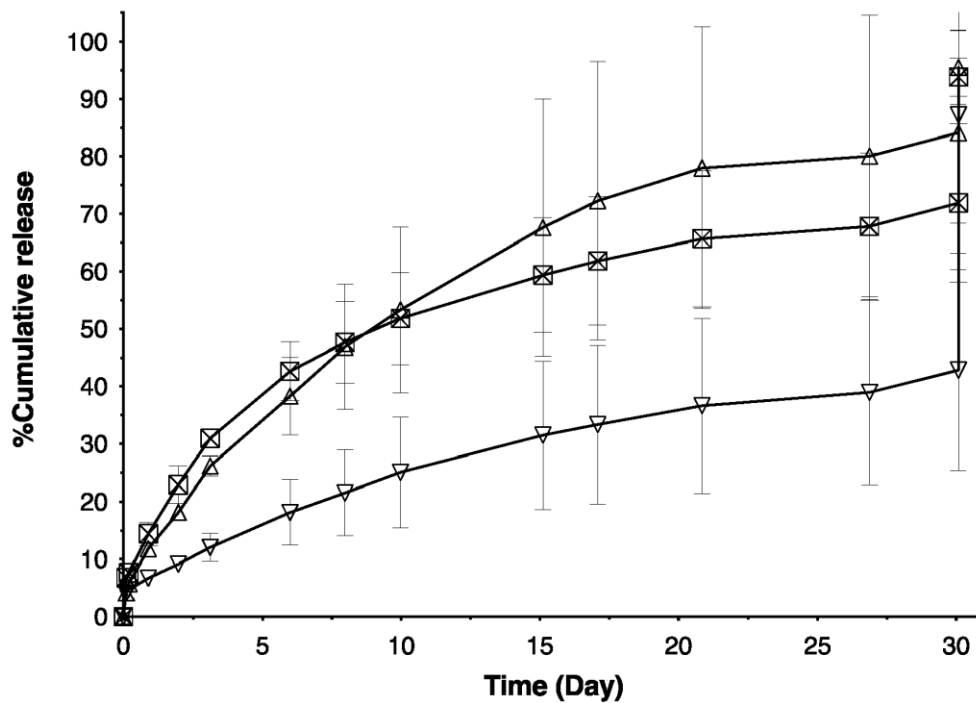
◇ F388: 40.00%P2R2_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

□ F399: 20.00%P2R2_20.00%*s4*-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

○ F397: 40.00%*s4*-P2R6_2.00%Meloxicam_58.00%DMSO

13

Figure 43



△ F135: 20.00% s4-P2R3_20.00% Empagliflozin_60.00% DMSO

⊠ F136: 20.00% s4-P2R6_20.00% Empagliflozin_60.00% DMSO

▽ F137: 30.00% s4-P2R6_20.00% Empagliflozin_50.00% DMSO

B

Figure 44

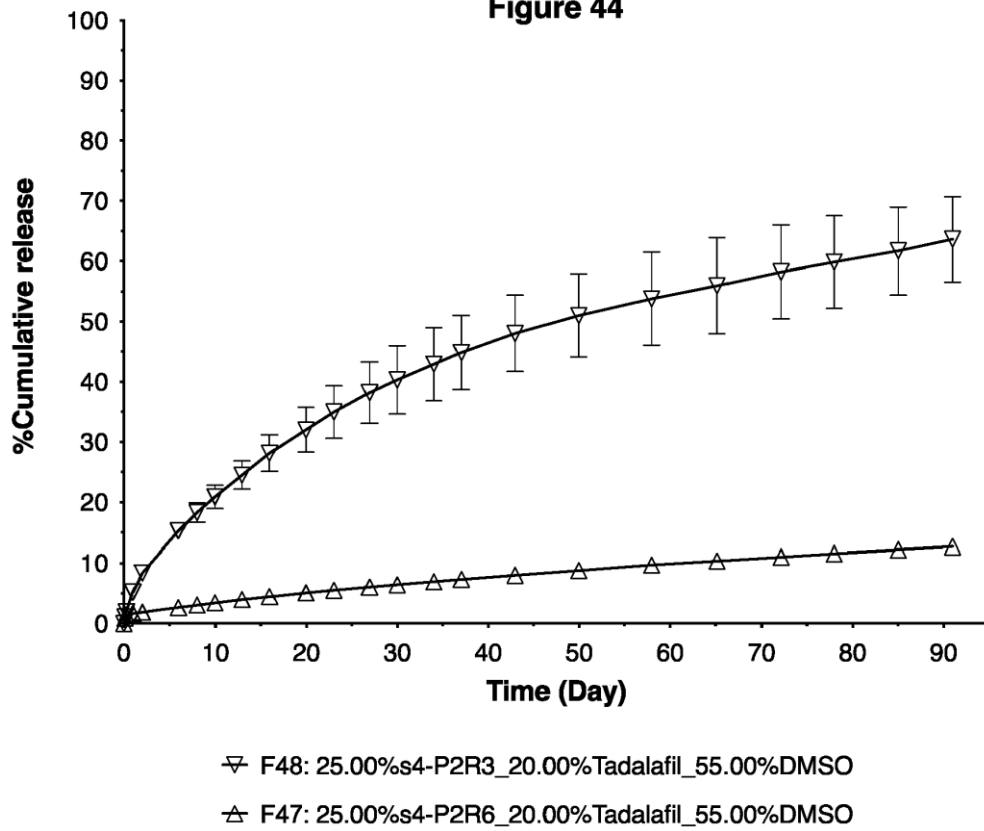
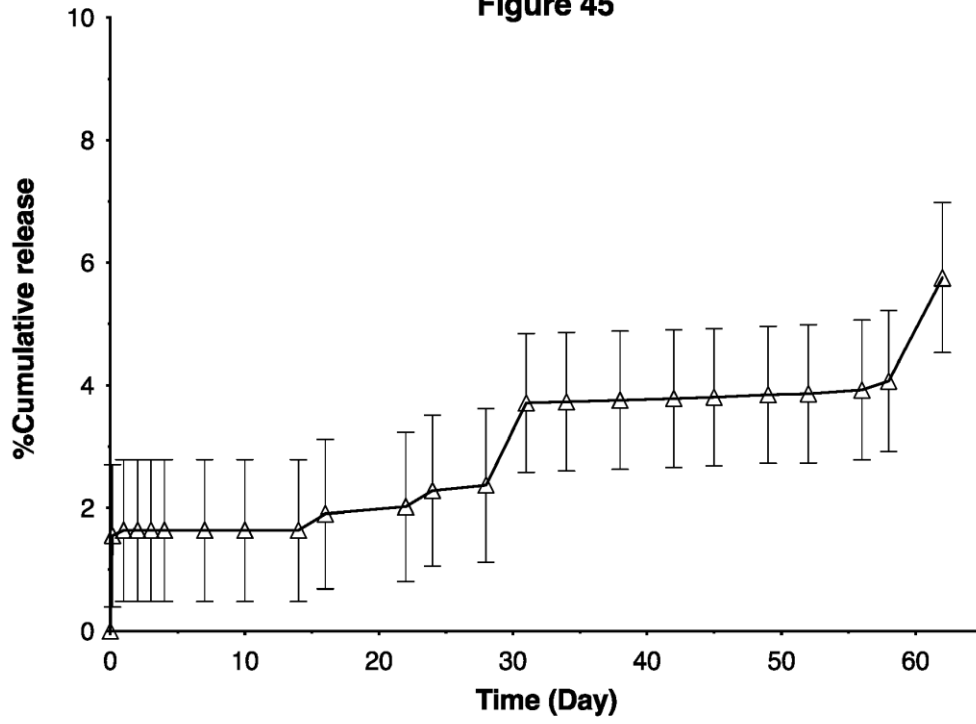
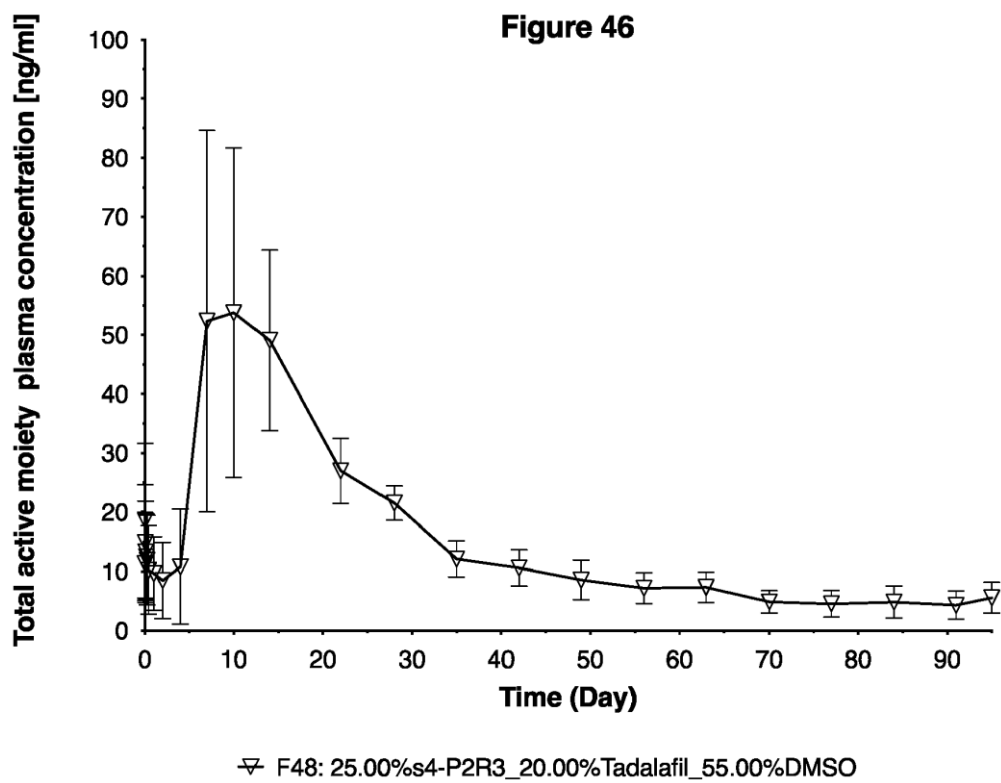


Figure 45



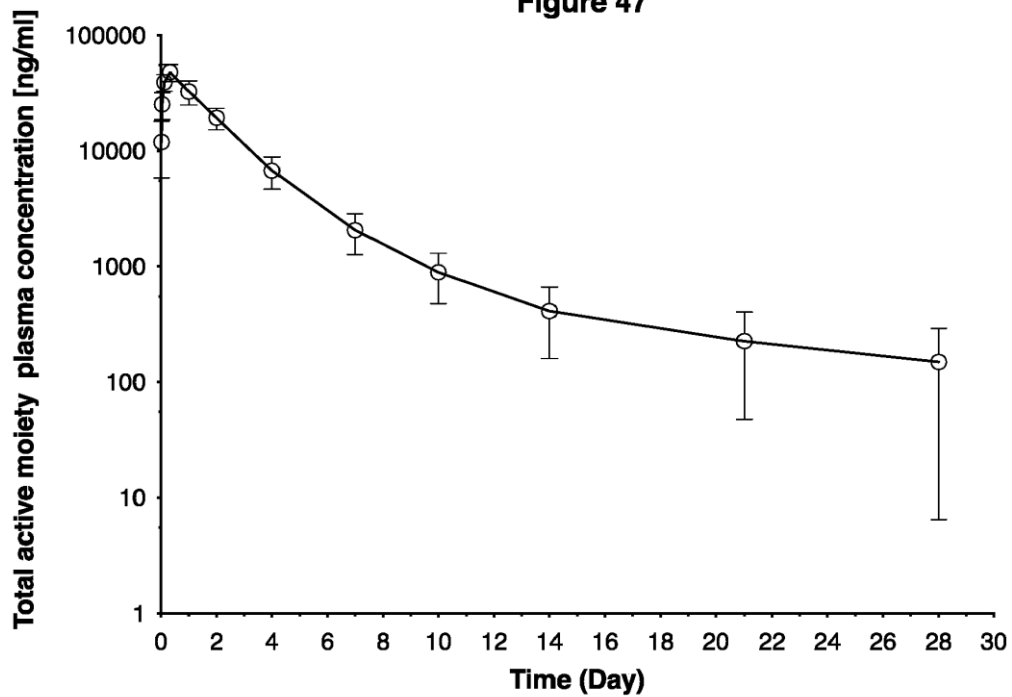
△ F149: 28.00% α -P2R3_1.50%Streptavidin_70.50%Tripropionin

13



13

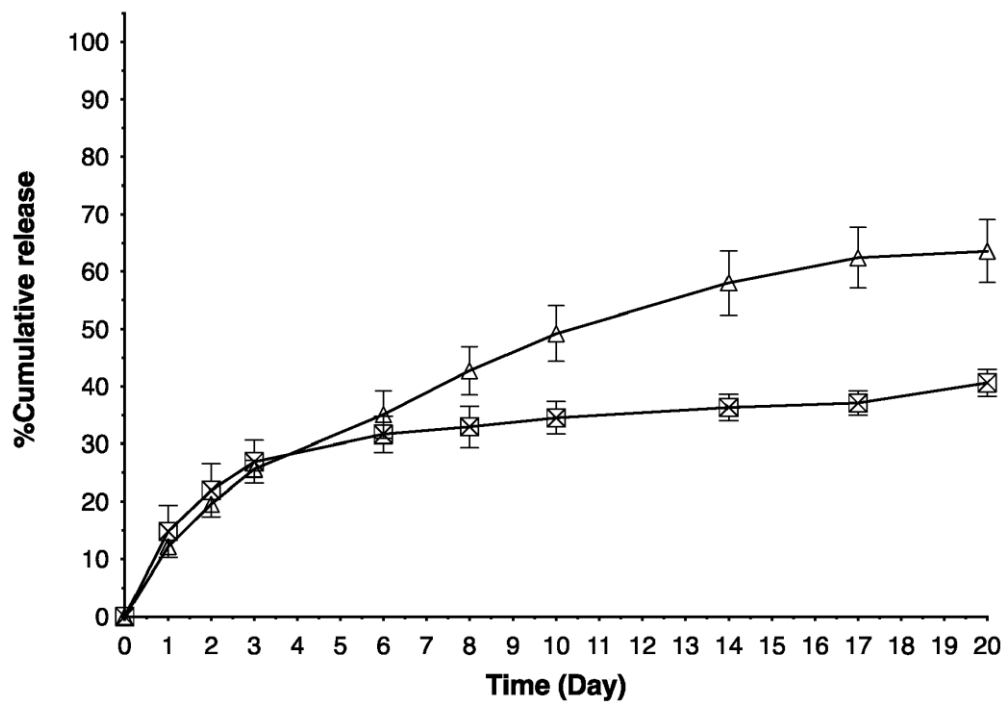
Figure 47



⊖ F2: 20.00% s4-P2R3_20.00% P2R2_2.00% Meloxicam_58.00% DMSO

13

Figure 48

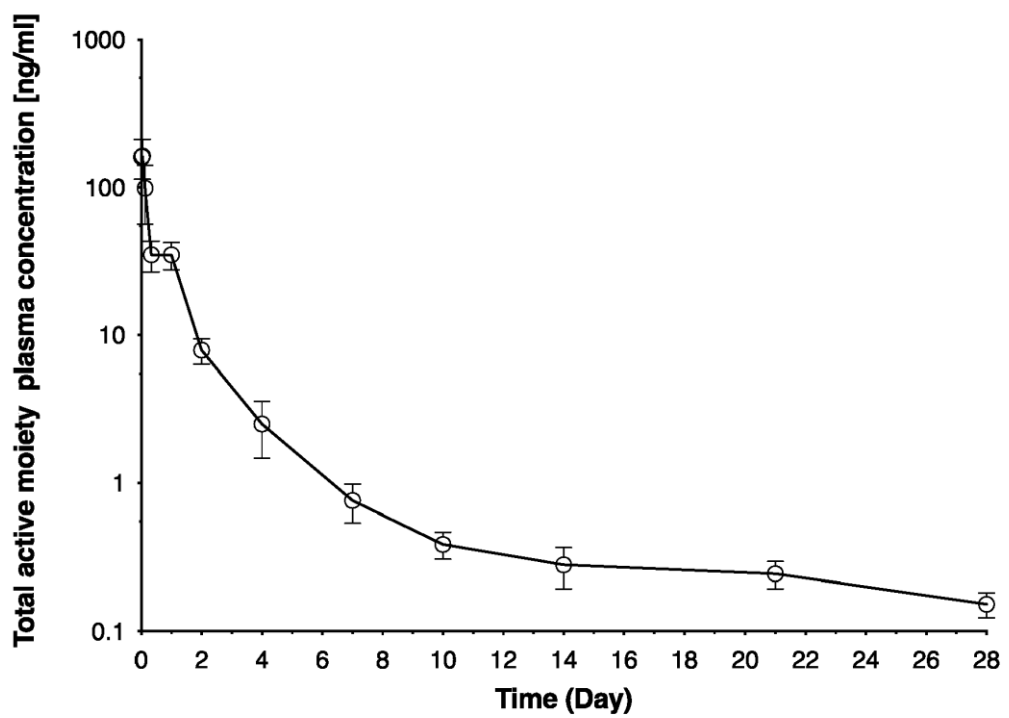


△ F19: 40.00%*s*4-P2R3_19.00%Tenofovir_41.00%DMSO

□ F20: 40.00%*s*4-P2R6_19.00%Tenofovir_41.00%DMSO

13

Figure 49



⊖ F145: 28.00% s4-P2R3_18.00% P1R4_0.7% Octreotide_53.30% DMSO

13

Figure 50

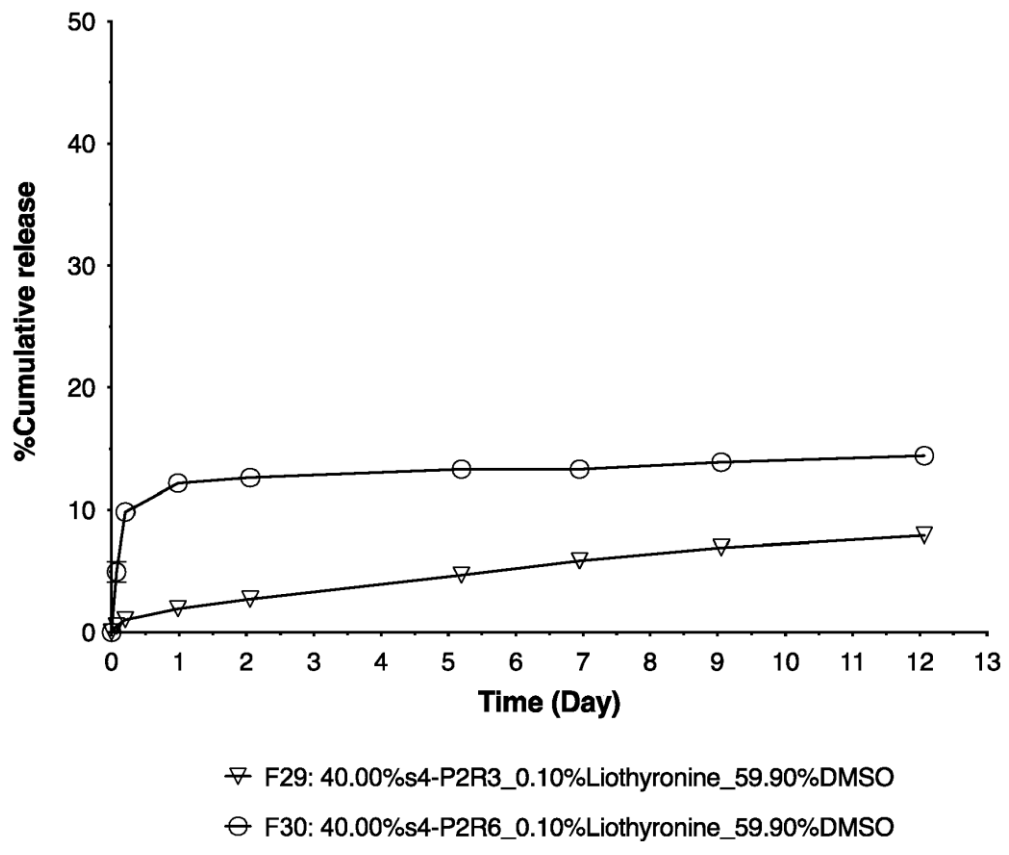
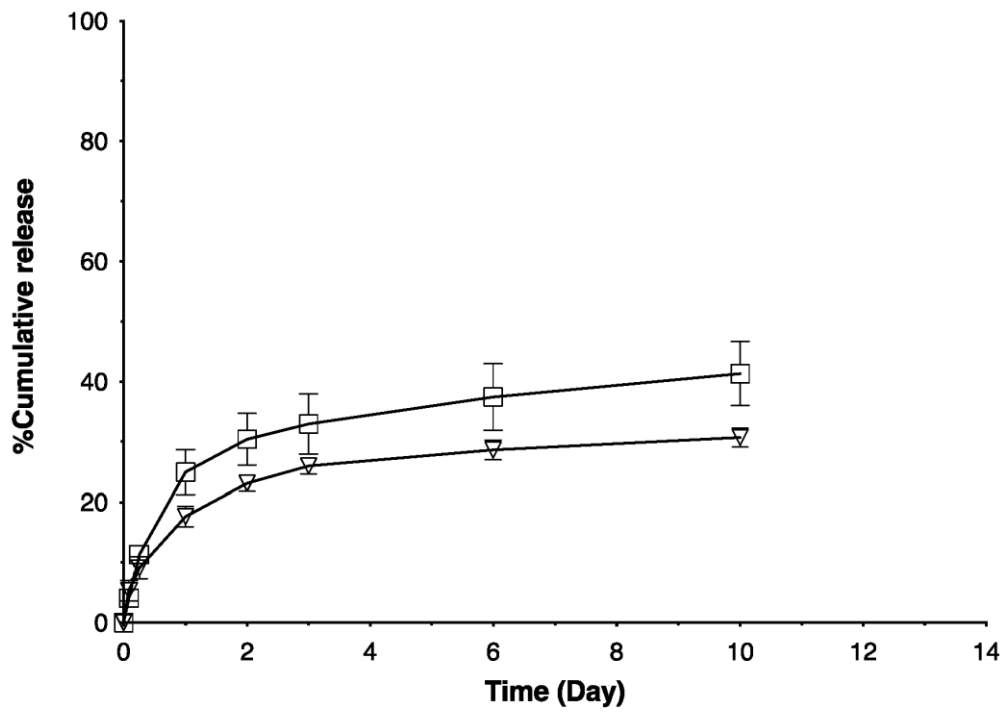


Figure 51



▽ F521: 55.00% s3-P1R3_2.00% Meloxicam_43.00% DMSO
□ F522: 55.00% s3-P0.45R3_2.00% Meloxicam_43.00% DMSO