

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 838**

51 Int. Cl.:
C08F 290/02 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07711990 .7**
96 Fecha de presentación: **20.03.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2147031**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.01.2010**

54 Título: **HIDROGEL FOTOESTÉRICO, UN PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR DICHO HIDROGEL FOTOESTÉRICO, POLÍMEROS PARA USO PARA OBTENER TAL HIDROGEL Y UN KIT FARMACÉUTICO QUE COMPRENDE TALES POLÍMEROS.**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.04.2012

73 Titular/es:
**UNIVERSITY OF TWENTE
P.O. BOX 217
7500 AE ENSCHEDE, NL**

72 Inventor/es:
**HIEMSTRA, Christine;
ZHONG, Zhiyuan y
FEIJEN, Jan**

74 Agente/Representante:
de Elizaburu Márquez, Alberto

ES 2 378 838 T3

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

DESCRIPCIÓN

Hidrogel fotoestérico, un procedimiento para producir dicho hidrogel fotoestérico, polímeros para uso para obtener tal hidrogel y un kit farmacéutico que comprende tales polímeros.

5 La presente invención se refiere a un hidrogel fotoestérico, a un procedimiento para producir hidrogeles fotoestéricos, a polímeros para uso como tales hidrogeles fotoestéricos y a un kit farmacéutico que comprende tales polímeros.

Introducción

10 Los hidrogeles se han usado ampliamente para aplicaciones biomédicas, tales como ingeniería de tejidos y suministro de fármacos, debido a sus favorables características¹⁻³. Los hidrogeles son redes hinchadas por agua de polímeros hidrófilos reticulados. Su elevado contenido de agua los hace muy biocompatibles y también conduce a una mínima absorción de proteínas. Las propiedades mecánicas de los hidrogeles son paralelas a las de los tejidos blandos, lo que los hace particularmente interesantes para el diseño ingenieril de tejidos. Los hidrogeles se pueden formar in situ, permitiendo que células y moléculas bioactivas, tales como proteínas, se mezclen fácilmente con soluciones de polímeros antes de la gelación⁴⁻⁶. Además, la formación de hidrogel in situ permite la preparación de formas complejas y el uso de cirugía mínimamente invasiva. Se han preparado biogeles in situ por procedimientos de reticulación físicos y químicos. Entre los hidrogeles reticulados físicamente figuran los basados en interacciones hidrófobas y enlaces de hidrógeno entre polímeros de bloque o polímeros de injerto termosensibles⁷⁻¹¹, estereoformación de complejos entre copolímeros de injerto de poli(L-lactidas) (PLLA) y poli(D-lactidas) (PDLA)¹² y copolímeros de bloque¹³⁻¹⁵, complejación de inclusión usando polímeros de α -dextrina¹⁶⁻²⁰ e interacciones entre micropartículas cargadas opuestamente²¹ o péptidos²². Las condiciones de reticulación para estos geles generalmente son muy suaves, lo que permite la captación de compuestos lábiles tales como proteínas. Sin embargo, en general son mecánicamente débiles en comparación con hidrogeles reticulados químicamente y los cambios en el medio exterior (por ejemplo, fuerza iónica, pH, temperatura) pueden originar la ruptura de la red.

25 Se han formado in situ hidrogeles reticulados químicamente por adición de Michael entre tioles y acrilatos o vinilsulfonas²³⁻²⁹, por reacción entre aldehídos y dihidrazidas³⁰ o aminas³¹, reacción entre ésteres activados y aminas³² y polimerización en cadena iniciada por radicales redox de (met)acrilatos³³⁻³⁷. La fotopolimerización de (met)acrilatos⁵ usando luz UV³⁸⁻⁴¹ o luz visible⁴²⁻⁴⁴ se ha usado mayoritariamente para la formación in situ de hidrogeles reticulados químicamente. El grupo de Hubbell⁴² es quien ha dado a conocer por vez primera hidrogeles biodegradables, preparados por fotorreticulación de derivados diacrilato de poli(etilenglicol) polilactida (PEG-PLA). Más recientemente, este grupo ha preparado hidrogeles degradables por incorporación de secuencias de péptidos de plasmina degradables^{39,43}. Cuando se modificaron con secuencias de péptido de RGD adherentes a células, estos hidrogeles soportaron el crecimiento tridimensional de fibroblastos humanos embebidos como cúmulo dentro del hidrogel. Otro tipo de hidrogel degradable se preparó por copolimerización de un derivado metacrilato de ácido hialurónico y diacrilato de PEG⁴⁴. Los fibroblastos se adhirieron y proliferaron cuando se cultivaron en los hidrogeles funcionalizados RGD. El grupo de Anseth ha trabajado mucho en hidrogeles degradables basados en dimetacrilatos de PEG-PLA⁴⁰. Se ha visto que usando combinaciones de dimetacrilatos de PEG y PDEG-PLA y/o cambiando la longitud del bloque de PLA, la velocidad de degradación, el módulo a compresión y la densidad de reticulación del hidrogel se pueden ajustar para obtener andamios adecuados para el diseño ingenieril de tejido de cartílago⁴¹. La ventaja principal de la fotopolimerización es el control espacial y temporal de la polimerización. Sin embargo, la fotopolimerización in vivo está lastrada por la absorción de luz ultravioleta por la piel (>99%). En aplicaciones clínicas, se desea una gelación rápida para evitar la difusión de precursores de hidrogel o moléculas bioactivas al tejido circundante. Elisseeff y otros han dado cuenta de la fotopolimerización transdérmica de una solución acuosa al 20% en peso de dimetacrilato de PEG inyectada subcutáneamente en ratones nude por irradiación con UV durante 3 min a una intensidad de 2 mW/cm² de la luz incidente⁴⁵. En este estudio se usó PEG de alto peso molecular (100.000) como aditivo para evitar una difusión rápida de los precursores de gel después de la inyección y para aumentar las propiedades mecánicas del hidrogel fotopolimerizado. Un inconveniente es que es muy difícil que los riñones excreten PEG de alto peso molecular⁴⁶. Elisseeff y otros han estudiado la atenuación de luz UV por la piel usando como modelo piel de cerdo⁴⁷. La intensidad de la luz incidente de 100 mW/cm² se atenuó por la piel a aprox. 0,05 mW/cm². Después de 3 min de irradiación de UV de una solución acuosa de dimetacrilato al 20% en peso con una concentración del fotoiniciador de 0,04% en peso se alcanzó una conversión de aprox. 10%. Los enlaces insaturados que quedan pueden causar problemas de toxicidad y la conversión incompleta puede dar por resultado hidrogeles con débiles propiedades mecánicas⁴⁸. La velocidad de polimerización se puede aumentar aumentando la concentración de fotoiniciador o la intensidad de la luz incidente. Sin embargo, debido a su toxicidad, los fotoiniciadores sólo se pueden usar a concentraciones bajas (aprox. 0,01-0,05% en peso)⁴⁹ y la intensidad de la luz UV está limitada a aprox. 5-10 mW/cm² para evitar dañar las células. La luz visible es atenuada menos por la piel, pero se requieren iniciadores eficientes con menor citotoxicidad^{49,50}. Otro problema de la fotopolimerización es que, generalmente, una polimerización rápida está acompañada por efectos térmicos sustanciales⁴⁸. El aumento de temperatura resultante puede causar morbosidad local de las células y necrosis del tejido que rodea el implante.

II. Sumario de la invención

La presente invención tiene por objeto proporcionar un hidrogel que sea rápido de formar in situ y sea robusto. La presente invención está basada en la idea de que mediante el uso combinado de estereocomplejación y fotopolimerización la gelación será rápida y se facilitará la fotopolimerización. Después de una formación rápida del hidrogel estereocomplejado, la posterior fotopolimerización se puede realizar a una velocidad de polimerización relativamente baja para formar geles con las propiedades mecánicas deseadas.

Además, se limitará el aumento de la temperatura local generado por la fotopolimerización. Adicionalmente, la fotopolimerización puede tener lugar a concentraciones más bajas del iniciador y a una intensidad de irradiación más baja en comparación con la formación de gel sin utilizar estereocomplejos preformados.

En circunstancias particulares, el hidrogel fotoestérico formado tendrá propiedades mecánicas acrecentadas y, si se desea, tiempos de degradación prolongados. Finalmente, la estereocomplejación coadyuva a la fotopolimerización del componente fotorreticulado. Los hidrogeles fotoestéricos formados tendrán módulos de recuperación incrementados y, si se desea, tiempos de degradación mejorados en comparación con fotorreticulados formados sólo por fotopolimerización. Consecuentemente, la presente invención proporciona hidrogeles fotoestéricos formados por polímeros estereocomplejados y fotorreticulados, polímeros que comprenden al menos dos tipos de polímeros que tienen al menos un componente hidrófilo, al menos un componente hidrófobo mutuamente estereocomplejante, y al menos uno de los tipos comprende un componente fotorreticulado. Consecuentemente, el hidrogel fotoestérico está formado por polímeros estereocomplejados y fotorreticulados. Estos polímeros comprenden al menos dos tipos de polímeros. Los polímeros de ambos tipos tienen al menos un componente hidrófilo requerido para formar el hidrogel. Los polímeros comprenden además al menos un componente hidrófobo estereocomplejante que estereocomplejará mutuamente, formando así el estereohidrogel. Al menos uno de los dos tipos de polímeros comprende al menos un componente fotorreticulado. Consecuentemente, después de la formación del estereohidrogel, los polímeros de al menos uno de los dos tipos son reticulables por fotopolimerización, formando por ello el hidrogel fotoestérico.

Los dos tipos de polímeros comprenden al menos un componente mutuamente fotorreticulado. Consecuentemente, ambos tipos de polímeros están fotorreticulados mutuamente de manera que ambos tipos de polímeros están unidos covalentemente formando un hidrogel fotoestérico muy robusto.

Son ejemplos del componente hidrófilo para cada uno de los dos tipos de polímero, PEG, dextrano, ácido hialurónico, pululano, sulfato de condroitina, poli(alcohol de vinilo), poli(metacrilato de hidroxietilo), poli(ácido aspártico), poli(ácido glutámico), poli(ácido acrílico) y poli(alquil C₁₋₆ oxazolona), tal como poli(metil- o etil-oxazolona). Se prefiere PEG que tiene un peso molecular numérico medio de, por ejemplo, 10.000-50.000, como puede ser de 20-30.000.

Un ejemplo de componente hidrófobo estereocomplejante comprende poli(L-lactida) o poli(D-lactida). En general, cada poli(L-lactida) o poli(D-lactida) puede comprender 3-30 unidades de lactilo por poli(L- o D-lactida). Más preferiblemente, el número de unidades de lactilo por poli(L- o D-lactida) es 10-20, más preferiblemente 12-16. Esto depende del carácter hidrófobo requerido para el componente estereocomplejante respecto al carácter hidrófilo del componente hidrófilo y el carácter del componente fotorreticulado.

El componente fotorreticulado puede comprender acrilato, metacrilato, acrilamida y fumarato. Son preferidos como componentes fotorreticulables acrilato y metacrilato.

El componente fotorreticulado se puede reticular usando irradiación visible o ultravioleta, dependiendo del uso. Para la formación in vivo del hidrogel fotoestérico, se prefiere usar irradiación ultravioleta de longitud de onda larga. Cuando se usa irradiación ultravioleta de longitud de onda larga, la intensidad de la irradiación UV puede ser relativamente baja. Por razones debidas a la formación previa del estereohidrogel, la fotorreticulación se puede realizar a velocidades menores. La irradiación UV puede ser tan baja como de 0,05-20 mW/cm² cuando hay una barrera de tejido (tal como piel intacta) o de 2-20 mW/cm² cuando no hay barrera de tejido. Cuando se usa luz visible, se prefiere que la intensidad de la luz visible sea de 30-100 mW/cm².

Los dos tipos de polímeros de tejido pueden tener la misma estructura o estructuras mutuamente diferentes. De acuerdo con una de las estructuras, el componente estereocomplejante y el componente fotorreticulado están ambos unidos directamente al componente hidrófobo. De acuerdo con la otra estructura, el componente fotorreticulado está unido al componente estereocomplejante que a su vez está unido al componente hidrófilo.

Los hidrogeles se pueden formar con ambos tipos de estructura, teniendo los polímeros constituyentes la forma de un tribloque o la forma de una estructura multibrazo. Cuando tienen una estructura multibrazo, preferiblemente el número de brazos es de 3-12, más preferiblemente estructuras de 8-10 brazos.

Se señala que en el documento U.S. 2003/0087985, en las figuras 1A-1J se consideran varios tipos de estructuras

(de una composición diferente a la de los polímeros de acuerdo con la presente invención)

Los hidrogeles de acuerdo con la invención tienen propiedades ventajosas. Una de las propiedades ventajosas es que tienen módulos de recuperación G' mayores que 1 kPa. Se pueden obtener módulos de recuperación G' de hasta 150 kPa. Consecuentemente, los hidrogeles pueden tener módulos de recuperación G' dentro del intervalo de aproximadamente 1-150 kPa, preferiblemente dentro del intervalo de 1-100 kPa.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al procedimiento de producción de los hidrogeles fotoestéricos de acuerdo con la invención. Sobre la base de la idea de la presente invención, el hidrogel fotoestérico se forma estereocomplejando primeramente dos tipos de polímeros (descritos antes). Posteriormente, el hidrogel estereocomplejado formado se somete a fotorreticulación formándose el hidrogel fotoestérico.

Consecuentemente, la presente invención proporciona un procedimiento para producir hidrogel fotoestérico, que comprende las etapas de:

(a) proporcionar una mezcla de como mínimo dos tipos de polímeros que tienen al menos un componente hidrófilo, al menos un componente hidrófobo mutuamente estereocomplejante, comprendiendo al menos uno de los tipos al menos un componente fotorreticulable;

(b) estereocomplejar los dos tipos de polímero, formando así un hidrogel estereocomplejado, y

(c) fotorreticular el hidrogel estereocomplejado usando irradiación visible o UV, formando así el hidrogel fotoestérico.

Consecuentemente, se mezclan los dos tipos de polímeros, lo que, dependiendo de las circunstancias, dará por resultado la estereocomplejación de ambos tipos de polímeros dentro de un período de tiempo dado. En este tiempo se forma el hidrogel estereocomplejado. Posteriormente, el hidrogel estereocomplejado se somete a fotorreticulación formándose así el hidrogel fotoestérico. La irradiación puede ser irradiación de UV (de baja intensidad) o luz visible.

Ambos tipos de polímeros comprenden un componente fotorreticulable. Consecuentemente, ambos tipos de polímeros están fotorreticulados, lo que da por resultado un hidrogel fotoestérico robusto. Si se desea, la fotorreticulación se puede hacer en presencia de un fotoiniciador. Cuando la fotorreticulación tiene lugar dentro del cuerpo humano o animal, se prefiere usar un fotoiniciador in situ compatible (preferiblemente en una cantidad de 0,001 a 0,05% en peso). Son ejemplos adecuados 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (Irgacure 651), 1-hidroxiclohexil fenil cetona (Irgacure 184), 2-metil-1-[4-(metiltio)fenil]-2-(4-morfolinil)-1-propanona (Irgacure 907), y 2-hidroxil-1-(hidroxietoxi)fenil]-2-metil-1-propanona (Darocur 2959), canforquinona (CQ) con 4-N,N-dimetilaminobenzoato de etilo (4EDMAB) y trietanolamina (TEA) y el fotosensibilizador isopropiltioxantona.

La mezcla de los dos tipos de polímeros puede comprender los polímeros en cualquier concentración adecuada para posterior estereocomplejación. En general, la concentración de polímero está en el intervalo de 5-30% p/v. Preferiblemente, la concentración de polímero está en el intervalo de 20% en peso-volumen. Dependiendo del tipo de polímeros, su estructura y concentración, el tiempo de estereocomplejación está en el intervalo de 1 minuto a 3 días. Consecuentemente, es posible seleccionar como se requiere el tiempo de estereocomplejación en función del uso previsto de los hidrogeles fotoestéricos. En particular, se pueden seleccionar tiempos cortos o relativamente cortos de estereocomplejación cuando se desea incluir dentro del hidrogel estereocomplejado y posteriormente dentro del hidrogel fotoestérico un componente que puede lixivarse o que puede difundir hacia fuera del hidrogel fotoestérico a lo largo de un extenso período de tiempo y no durante la etapa de formación del complejo estérico y la formación del hidrogel fotoestérico. Luego se pueden seleccionar tiempos relativamente cortos para la estereocomplejación. Preferiblemente, el tiempo de estereocomplejación está en el intervalo de 2 horas a 1 día y, más preferiblemente, dentro de 4 a 10 horas.

Los hidrogeles fotoestéricos se someterán a hidrólisis y por tanto a la degradación del hidrogel. La hidrólisis tiene lugar preferiblemente por hidrólisis del componente hidrófobo y más preferiblemente por hidrólisis de la cadena de la polilactida. Cuando el hidrogel fotoestérico está formado por polímeros que tienen estructuras en las que el componente fotorreticulable está al final de algunos o todos los componentes hidrófobos, la degradación dará por resultado una solución transparente en un tiempo de aproximadamente 1 día a 7 semanas, como puede ser de 1 a 3 semanas.

Si el hidrogel fotoestérico está formado por estructuras en las que el componente hidrófobo y el componente fotorreticulables está ambos unidos directamente al componente hidrófilo, la degradación por hidrólisis del componente hidrófobo dará por resultado un hidrogel hinchado que posteriormente se degradará por hidrólisis del componente fotorreticulable y luego formará una solución transparente. La degradación del hidrogel hinchable que da por resultado la formación de la solución transparente tarda 2-30 semanas, como puede ser 5-25 semanas, más preferiblemente 7-21 semanas. Con claridad, el hidrogel hinchado tiene propiedades diferentes a las de los

hidrogeles fotoestéricos.

Los hidrogeles pueden comprender un agente farmacéuticamente activo o un resto que se une a un agente farmacéuticamente activo. Pueden ser agentes farmacéuticamente activos cualesquier compuestos farmacéuticamente activos usados para terapia, diagnosis o profilaxis de un cuerpo humano o animal. El agente farmacéuticamente activo puede comprender células y moléculas biológicamente activas tales como proteínas, anticuerpos y similares.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a los polímeros de ambos tipos discutidos antes. Ambos tipos de polímeros son adecuados para uso en la preparación de un hidrogel que puede comprender un agente farmacéuticamente activo o resto que se une a un agente farmacéuticamente activo. Tal hidrogel puede tener la forma de medicamento para tratamiento del cuerpo humano o animal. El tratamiento está relacionado con la actividad biológica del agente farmacéuticamente activo según se ha discutido antes.

Finalmente, la presente invención se refiere a un kit farmacéutico que se puede usar para formar in situ o in vitro un hidrogel fotoestérico de acuerdo con la presente invención. Tal kit farmacéutico comprende dos recipientes, cada uno de los cuales comprende uno de los dos tipos de polímeros que tienen al menos un componente hidrófilo, al menos un componente hidrófobo mutuamente estereocomplejante, y al menos uno de los tipos comprende al menos un componente fotoreticulable. Cuando el hidrogel fotoestérico es para que contenga el agente farmacéuticamente activo o un resto que acopla un agente farmacéuticamente activo, se prefiere que el agente farmacéuticamente activo se contenga en uno o en ambos recipientes para cada uno de los dos tipos de polímeros. Si es posible o necesario, el agente farmacéuticamente activo o el resto que se une a un agente farmacéuticamente activo está presente en un recipiente separado. Antes de la formación del estereohidrogel y el hidrogel fotoestérico, se mezcla el contenido de uno o varios recipientes.

Seguidamente se ilustran más los rasgos y características mencionados y otros del estereohidrogel, el hidrogel fotoestérico y el procedimiento para producir estos hidrogeles mediante ejemplos que se dan sólo a fines informativos y que no tienen la finalidad de restringir de manera alguna la presente invención. En estos ejemplos, se hace referencia a las figuras, de las que:

La figura 1 muestra las estructuras moleculares de (A) copolímeros de bloque en estrella PEG-PLA₁₂-MA de ocho brazos y (B) copolímeros de bloque en estrella PEG-MA/PLA (n = 12 o 16). Como ejemplo, se han dibujado tres grupos metacrilato por molécula;

la figura 2 muestra el módulo de recuperación (G') y el módulo de pérdida (G'') de hidrogeles que contienen cantidades equimolares de copolímeros de bloque en estrella de PEG-PLLA₁₂ y PEG-PDLA₁₂, PEG-PLLA₁₂-MA y PEG-PDLA₁₂-MA o PEG-MA/PLLA₁₂ y PEG-MA/PDLA₁₂ en solución salina tamponada con HEPES (pH 7) a 37°C, (a) PEG-PLA₁₂, PEG-PLA₁₂-MA y PEG-MA/PLA₁₆ a una concentración de polímero de 15% p/v en función del tiempo; (b) PEG-PLA₁₂-MA y PEG-MA/PLA₁₆, 48 h después de mezclar, en función de la concentración de polímero;

la figura 3 muestra el módulo de recuperación (G') y el módulo de pérdida (G'') en función del tiempo de irradiación de UV (350-400 nm, 16 mW/cm²) de soluciones de PEG-PLLA₁₂-MA en solución salina tamponada con HEPES (pH 7) a 37°C, (a) concentración de polímero 12,5, 15 y 17,5% p/v y concentración de iniciador de 5% en moles (en relación a grupos metacrilato); (b) concentración de iniciador 1, 2 y 5% en moles y concentración de polímero de 15% p/v;

la figura 4 muestra la reología de PEG-PLA₁₂-MA irradiado con UV (350-400 nm, 16 mW/cm²) en solución salina tamponada con HEPES (pH 7) a una concentración de polímero de 15% p/v a 37°C, (a) módulo de recuperación y módulo de pérdida (G'') en función del tiempo de un estereohidrogel (D+L) y un hidrogel fotoestérico (D+L e irradiado con UV) después de 10 min de equilibrado del estereocomplejo, y una solución de PEG-PLLA₁₂-MA (L) irradiado a una concentración del iniciador de 1% en moles (en relación con los grupos metacrilato); (b) relación del valor de la meseta del módulo de recuperación de un hidrogel fotoestérico (G'_{D+L} e irradiado con UV) y el valor de la meseta del módulo de recuperación de un estereohidrogel (G'_{D+L}) después de 8 min de irradiación de UV en función del tiempo de equilibrado de la estereocomplejación;

la figura 5 muestra una representación esquemática de la preparación de estereohidrogeles e hidrogeles fotoestéricos basados en copolímeros de bloque en estrella de PEG-PLA-MA o PEG-MA/PLA;

la figura 6 muestra fotografías de microscopía electrónica de barrido (SEM) de hidrogeles fotopolimerizados liofilizados preparados en solución salina tamponada con HEPES (pH 7) a una concentración de polímero de 15% p/v y una concentración de iniciador de 8% en moles respecto a los grupos metacrilato) por irradiación con UVA durante 10 min (los estereohidrogeles se equilibraron durante aprox. 15 min después de mezclar las soluciones enantiómeras). (A) hidrogel fotoestérico de PEG-PLA₁₂-MA; (B) fotohidrogel de PEG-PLLA₁₂-MA; (C) hidrogel fotoestérico de PEG-MA/PLA₁₆; (D) fotohidrogel de PEG-MA/PLLA₁₆;

la figura 7 muestra perfiles de relación de hinchamiento (W_t/W_0) de hidrogeles fotopolimerizados preparados en solución salina tamponada con HEPES (pH 7) a una concentración de iniciador de 8% en moles (respecto a los grupos metacrilato) y 37°C por irradiación con UVA durante 10 min (los estereohidrogeles se equilibraron durante aprox. 15 min después de mezclar las soluciones enantiómeras), (a) hidrogeles fotoestéricos de PEG-PLA₁₂-MA a una concentración de polímero de 12,5, 15 y 17,5% p/v y fotohidrogeles de PEG-PLLA₁₂-MA a una concentración de polímero de 15% p/v; (b) hidrogeles fotoestéricos de PEG-MA/PLA₁₆ a una concentración de polímero de 12,5, 15 y 17,5% p/v. (*) hidrogeles fotoestéricos de PEG-MA/PLA₁₆ a una concentración de polímero de 15 y 17,5% p/v retuvieron su integridad después de 16 semanas, y

la figura 8 muestra una representación esquemática de la degradación de hidrogeles fotoestéricos basados en copolímeros de bloque en estrella de PEG-PLA-MA y PEG-MA/PLA.

III. EJEMPLOS

III.1 Materiales

Se adquirieron L-lactida y D-lactida de Purac y se recrystalizaron en tolueno seco. Nectar suministró PEG de estrella de 8 brazos ($M_n, RMN = 21.800$) y se usó en estado de recepción. El catalizador de complejo de Zn de sitio individual ($Zn(Et)[OC_6H_4(CH_2N(Me)_2)_2, Me-4]$) fue proporcionado amablemente por el Profesor G. van Koten, de la Universidad de Utrecht (Holanda). El anhídrido metacrílico se compró a Merck e Irgacure 2559 se compró a Ciba Specialty Chemicals. Ambos se usaron en estado de recepción. El diclorometano (DCM) y la trietilamina (TEA) se secaron sobre hidruro cálcico e hidróxido potásico, respectivamente, y se destilaron antes de su uso. Se prepararon previamente como se ha dado cuenta antes copolímeros de bloque en estrella de 8 brazos de poli(etilenglicol)-poli(L-lactida) y poli(etilenglicol)-poli(D-lactida) con 12 unidades de lactilo por poli(lactida) (PLA) bloque (PLA-PLLA₁₂ y PEG-PDLA₁₂) respectivamente ($M_n, PEG = 21.800$)⁵³.

III.2. Síntesis

Se sintetizaron PEG-PLLA₁₂ y PEG-PDLA₁₂-MA por metacrilación parcial de los grupos hidroxilo de PEG-PLLA₁₂ y PEG-PDLA₁₂ respectivamente de acuerdo con el procedimiento descrito por Lin-Gibson y otros⁵⁴. Típicamente, se disolvió en 18 ml de DCM PEG-PLLA₁₂ (5,0 g, 0,174 mmol, secado durante la noche en vacío sobre pentóxido de fósforo). Se añadió una solución de TEA (0,171 g, 1,690 mmol) en 1 ml de DCM y la mezcla de reacción se enfrió en baño de hielo. Seguidamente se añadió a gotas una solución de anhídrido metacrílico (0,244 g, 1,583 mmol) en 2 ml de DCM. La mezcla de reacción se agitó durante 2 días a 30°C y se recuperó el producto por precipitación en una mezcla fría de dietil éter/hexano/metanol (10/1/1 v/v). Grado de metacrilación; 40%, rendimiento: 88%. RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,4 (m, PLA de grupo terminal CH(CH₃)OH), 1,5 (m, CHCH₃), 1,9 (s, C(CH₃)=CH₂), 3,6 (m, protones de metileno de PEG), 4,2-4,3 (m, CH₂PCO, unidad de enlace de PEG-PLA), 4,3-4,4 (q, PLA de grupo terminal CH(CH₃)OH), 5,1 (m, CHCH₃), 5,6 y 6,2 (C(CH₃)=CH₂).

Se sintetizaron por polimerización con apertura de anillo de lactida PEG-MA/PLLA y PEG-MA/PDLA, en los que los bloques de MA y PLA están unidos directamente a PEG, usando PEG (PEG-MA) en estrella de 8 brazos parcialmente funcionalizado metacrilato. Para la síntesis de PEG-MA, típicamente, el PEG (16,0 g, 0,734 mmol) estaba disuelto en 33 ml de DCM. Se añadió una solución de TEA (0,442 g, 4,368 mmol) en 1 ml de DCM y la mezcla de reacción se enfrió en baño de hielo. Seguidamente se añadió a gotas una solución de anhídrido metacrílico (0,654 g, 4,242 mmol) en 2 ml de DCM. La mezcla de reacción se agitó durante 2 días a 30°C y el producto se recuperó por precipitación en una mezcla fría de dietil éter/hexano/metanol (10/1/1 v/v). Grado de metacrilación: 42%, rendimiento: 90%. RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,9 (s, C(CH₃)=CH₂), 3,6 (m, protones de metileno de PEG), 4,2 (m, CH₂OCO, unidad de enlace de PEG-MA), 5,6 y 6,2 (C(CH₃)=CH₂).

Se sintetizaron PEG-MA/PLLA y PEG-MA/PDLA por polimerización con apertura de anillo de L-lactida y D-lactida, respectivamente, en DCM a temperatura ambiente, iniciada por los grupos hidroxilo remanentes de PEG-MA (secado durante la noche en vacío sobre pentóxido de fósforo). Se usó como catalizador el complejo de zinc de sitio individual $Zn(Et)[OC_6H_3(CH_2Me)_2-2-Me-4]$. Típicamente, se disolvió en 14 ml de DCM ($[LLA]_0 = 0,25M$) PEG-MA (3,0 g, 0,136 mmol) (grado de metilación 42%) y L-lactida (0,532 g, 3,694 mmol). Se añadió una solución del catalizador complejo de Zn de sitio individual (0,064 g, 0,247 mmol) en 1 ml de DCM y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. La polimerización se terminó añadiendo un exceso de ácido acético glacial y el polímero se precipitó en una mezcla fría de dietil éter/metanol (20/1 v/v). Conversión de la lactida: 95%, rendimiento 85%. RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,4 (m, PLA de grupo terminal CH(CH₃)OH), 1,5 (m, CHCH₃), 1,9 (s, C(CH₃)=CH₂), 3,6 (m, protones de metileno de PEG), 4,2 (m, CH₂OCO, unidad de enlace de PEG-MA), 4,2-4,3 (m, CH₂OCO, unidad de enlace de PGA-PLA), 4,3-4,4 (q, PLA de grupo terminal (CH₃)OH), 5,1 (m, CHCH₃), 5,6 y 6,2 (C(CH₃)=CH₂).

Caracterización.

Los espectros de RMN ^1H (CDCl_3) se registraron en un espectrómetro Varian Inova (Varian, Palo Alto, USA) que funciona a 300 MHz. El número de unidades de lactilo por bloque de PLA se calculó basándose en los protones de metilo de las unidades de lactilo (δ 1,4-1,5) y los protones de metileno de PEG (δ 3,6). El número de grupos metacrilato por molécula de PEG se determinó basándose en los protones de metileno de PEG (δ 3,6) y los protones de metileno del grupo metacrilato (δ 5,6 y 6,2).

Las concentraciones de gel críticas (CGC) se determinaron como se ha descrito antes⁵³. En resumen, se prepararon soluciones de polímero disolviendo los polímeros durante la noche en agua desionizada. Posteriormente se mezclaron soluciones de polímero de cantidades equimolares de copolímeros de bloque en estrella de PEG-PLLA-MA y PEG-PDLA-MA o PEG-MA/PLLA y PEG-MA/PDLA y se equilibraron durante la noche. Las CGC se determinaron a temperatura ambiente invirtiendo los viales. Cuando la muestra no fluía en 20 s, se consideró que era gel.

Los experimentos de reología se realizaron con un reómetro US 200 (Anton Paar) como se ha descrito anteriormente⁵³. En resumen, se usaron una placa plana que mide la geometría (25 mm de diámetro, separación 0,5 mm), una frecuencia de 1 Hz y una deformación de 1%. Se mezclaron soluciones de polímero en solución salina tamponada con HEPES (pH 7,0, 100 mM, ajustadas a 300 mOsm con NaCl) que contenían cantidades equimolares de copolímeros de bloque en estrella de PEG-PLLA-MA y PEG-PDLA-MA o PEG-MA/PLLA y PEG-MA/PDLA, se homogeneizaron, se aplicaron rápidamente al reómetro y se midieron a 37°C.

Se realizaron experimentos combinados de irradiación de UV y de reología en un reómetro US 200 (Anton Para) equipado con una fuente de luz UV (350-400 nm, 16 mW/cm²). Las muestras se irradiaron desde arriba. Se usó una placa plana que mide la geometría (100 mm de diámetro, separación de 0,1 mm), la frecuencia fue de 1 Hz y las deformaciones fueron de 1% o de 5%. Ambas deformaciones están dentro de la región viscoelástica lineal. Los hidrogeles estereocomplejados (estereohidrogeles) de PEG-PLA-MA o PEG-MA/PLA y las soluciones de enantiómeros individuales de PEG-PLLA-MA o PEG-MA/PLA en solución salina tamponada con HEPES se irradiaron con UV y se midieron al mismo tiempo a 37°C. Como fotoiniciador se usó Irgacure 2959 a una concentración de 1-5% en moles en relación a los grupos metacrilato. Los estereohidrogeles se midieron 10 min después de mezclar las soluciones enantiómeras, a no ser que se indique lo contrario.

Los hidrogeles para los experimentos de microscopía electrónica de barrido (SEM) y ensayos de hinchamiento/degradación se prepararon similarmente en una placa de 96 pocillos con volúmenes de muestra de 125 μl , resultando cilindros de aprox. 4 mm de altura y 6 mm de diámetro. Los hidrogeles fotoestéricos de PEG-PLA₁₂-MA o PEG-PLA₁₆/MA se prepararon por irradiación de UV (250 mW/cm²) durante 10 min de los estereohidrogeles (equilibrados durante aprox. 15 min después de mezclar las soluciones enantiómeras) con una concentración del iniciador de 8% en moles (en relación a los grupos metacrilato) preparados en solución salina tamponada con HEPES. Los fotohidrogeles se formaron análogamente por irradiación de uV de soluciones de enantiómero individual de PEG-PLLA₁₂-MA o PEG-MA₁₆/PLLA en solución salina tamponada con HEPES.

Los experimentos de SEM se realizaron con hidrogeles liofilizados usando un aparato LEO Gemini 1550 FEM-SEM provisto de una pistola de emisión de campo, y a un voltaje de 2 kV. Los hidrogeles liofilizados se prepararon por liofilización en nitrógeno líquido y posterior liofilización a -50°C y 5×10^{-7} bar durante la noche.

Para los ensayos de hinchamiento/degradación, los cilindros de hidrogel se pusieron en viales y, después de añadir 1 ml de solución salina tamponada con HEPES, se dejó que se hincharan los hidrogeles. El experimento de hinchamiento se realizó por duplicado o triplicado. Los hidrogeles hinchados se pesaron a intervalos regulares después de eliminar el tampón. Después de cada pesada se puso tampón nuevo. La relación de hinchamiento de los hidrogeles se calculó a partir del peso inicial de hidrogel después de la preparación del gel (W_0) y el peso del hidrogel hinchado después de ser expuesto al tampón (W_t):

$$\text{Relación de hinchamiento} = \frac{W_t}{W_0}$$

III.3 Síntesis 2

Se diseñaron dos tipos de copolímeros de bloque en estrella de poli(etilenglicol)-poli(lactida) funcionalizado metacrilato (PEG-PLA), PEG-poli(L-lactida)-metacrilato PEG-PLLA-MA) y PEG-poli(D-lactida)-metacrilato (PEG-PDLA-MA) (Figura 1A) y poli(etilenglicol)metacrilato/poli(L-lactida) (PEG-MA/PLLA) y poli(etilenglicol)-metacrilato/poli(D-lactida) (PEG-MA/PDLA) (Figura 1B). Se prepararon copolímeros de PEG-PLLA-MA y PEG-PDLA-MA por un procedimiento de síntesis en dos etapas. Primeramente se sintetizaron como se ha dado cuenta previamente (Tabla 1, entradas 1 y 2)⁵³ copolímeros de bloque en estrella de 8 brazos PEG-PLLA₁₂ y PEG-PDLA₁₂, $M_n, \text{PEG} = 21.800$.

Seguidamente se hicieron reaccionar con anhídrido metacrílico los grupos terminales hidroxilo de PLA usando trietilamina (TEA) como catalizador y diclorometano (DCM) como disolvente a 30°C. Los copolímeros PEG-PLLA₁₂-MA y PEG-PDLA₁₂-MA se recuperaron por precipitación en una mezcla de dietil éter/hexano/metanol (10/1/1 v/v) (Tabla 1, entradas 3 y 4). La RMN ¹H reveló un grado de metacrilación de aprox. 40%, determinado por comparación de las integrales de los picos correspondientes a los protones de metileno del grupo metacrilato (δ 5,6 y 6,2) y los protones de metileno de PEG (δ 3,6).

Se prepararon copolímeros de PEG-MA/PLA por un procedimiento de síntesis en dos etapas. Primeramente se metacriló aprox. el 40% de los grupos terminales hidroxilo de un PEG en estrella de 8 brazos ($M_n = 21.800$). Seguidamente se inició la polimerización por apertura de cadena de L-lactida o D-lactida por los grupos hidroxilo remanentes de PEG funcionalizado metacrilato, usando como catalizador el complejo de Zn de sitio individual y diclorometano (DCM) como disolvente, a temperatura ambiente. Se obtuvieron copolímeros de PEG-MA/PLLA y PEG-MA/PDLA por precipitación en una mezcla de dietil éter/metanol (20/1 v/v). Se prepararon copolímeros de PEG-MA/PLA con 12 y 16 unidades de lactilo por bloque de PLA variando la relación de suministro de lactida a PEG (Tabla 1, entradas s 5-8). El uso del catalizador de Zn de sitio individual permitió un control excelente sobre el grado de polimerización de los bloques de PLA y la reacción de metacrilación fue reproducible, dando grados de metacrilación similares (Tabla 1).

Tabla 1. Síntesis de copolímeros de bloque en estrella de PEG-PLLA-MA y PEG-PDLA-MA y PEG-MA/PLLA y PEG-MA/PDLA^a

Entrada	Polímero	Conversión de lactida	$N_{LA}^{b)}$		Grado de metacrilación%	$M_n \times 10^{-3}$ RMN ¹ H
			Teoría ^{c)}	RMN ¹ H		
1	PEG-PLLA ₁₂	94	12	12	—	28,7
2	PEG-PDLA ₁₂	96	12	12	—	28,7
3	PEG-PLLA ₁₂ -MA	94	12	12	40	28,8
4	PEG-PDLA ₁₂ -MA	96	12	12	42	28,9
5	PEG-MA/PLLA ₁₂	95	12	12	46	25,6
6	PEG-MA/PDLA ₁₂	94	12	12	46	25,6
7	PEG-MA/PLLA ₁₆	99	17	16	42	27,4
8	PEG-MA/PDLA ₁₆	95	16	16	42	27,4

^a La polimerización con apertura de cadena de la lactida se realizó en DCM durante 1 h a t.a. usando PEG o PEG parcialmente funcionalizado metacrilato como iniciador y el complejo de zinc de sitio individual Zn(Et)[OC₆H₃(CH₂Me₂)-2-Me-4] como catalizador, ($[LA]_0 = 0,25$ M, grupos hidroxilo de PEG:catalizador de Zn = 2:1). La metacrilación se realizó en DCM durante 2 días a 30°C ($[OH]_0 = 5$ mM, MA:H:TEA = 1:1,5:1,1).

^b Número de unidades de lactilo por bloque de PLA.

^c Sobre la base de la composición de suministro y la conversión.

III.4 Gelación por estereocomplejación

Se estudió a temperatura ambiente la influencia de los grupos metacrilato y la longitud del bloque de PLA sobre la formación de hidrogel estereocomplejo (designado estereohidrogel). Se mezclaron soluciones acuosas de cantidades equimolares de copolímeros de bloque en estrella PEG-PLLA-MA y PEG-PDLA-MA o PEG-MA/PLLA y PEG-MA/PDLA y, después de equilibrado, se ensayó si la muestra se había convertido en gel por el procedimiento de volteo del vial. La Tabla 2 muestra que las concentraciones críticas de gel (CGC) para estereocomplejación de PEG-PLA₁₂-MA y PEG-PLA₁₂ son iguales, lo que indica que los grupos metacrilato terminales no influyen sobre la estereocomplejación. Los enantiómeros individuales de PEG-PLLA₁₂, PEG-PLLA-MA y PEG-MA/PLLA también fueron capaces de formar geles a concentraciones de polímero relativamente altas. La CGC del enantiómero individual de PEG-PLLA₁₂-MA es algo más baja en comparación con el enantiómero individual de PEG-PLLA₁₂, lo que se atribuye a la incrementada hidrofobia de PEG-PLLA₁₂-MA. Se pudieron preparar soluciones acuosas del enantiómero individual de PEG-MA/PLLA₁₂ a concentraciones de polímero mucho más altas en comparación con el enantiómero individual de PEG-PLLA₁₂-MA. También se pudieron formar estereohidrogeles a partir de copolímeros de PEG-MA/PLLA₁₂ y PEG-MA/PDLA₁₂, pero a concentraciones de polímero mucho más altas comparativamente con los copolímeros PEG-PLLA₁₂-MA y PEG-PDLA₁₂-MA. La mayor CGC para la estereocomplejación de PEG-MA/PLA₁₂ en comparación con PEG-PLA₁₂-MA es debida a la más baja funcionalidad de reticulación (esto es, número de bloques de PLA por molécula) y la menor hidrofobia de PEG-MA/PLA₁₂ en comparación con PEG-PLA₁₂-MA. Los inventores han demostrado previamente que la CGC para la estereocomplejación de copolímeros tribloque PLA-PEG-PLA es más alta en comparación con la CGC de los copolímeros de bloque en estrella de 8 brazos PEG-PLA¹³. Los copolímeros PEG-MA/PLA₁₆ presentaron valores de CGC más bajos para estereocomplejación en

comparación con los copolímeros PEG-MA/PLA₁₂ debido a la incrementada longitud del bloque de PLA.

Tabla 2. Concentraciones de gel críticas (CGC) de soluciones que contienen copolímeros de bloque en estrella de enantiómeros individual que contienen PEG-PLLA, PEG-PLLA-MA y PEG-MA/PLLA o cantidades equimolares de PEG-PLLA y PEG-PDLA, PEG-OLLA-MA y PEG-PDLA-MA o copolímeros de bloque en estrella PEG-MA/PLLA y PEG-MA/PDLA en agua desionizada a temperatura ambiente.

Polímero	CGC de enantiómero individual (% p/v)	CGC de enantiómeros mezclados (% p/v)
PEG-PLA ₁₂	20	7,5
PEG-PLA ₁₂ -MA	17,5	7,5
PEG-MA/PLA ₁₂	30	22,5
PEG-MA/PLA ₁₆	20	12,5

III. 5 Reología

Se estudiaron por experimentos de reología a 37°C las propiedades mecánicas de estereohidrogeles. Los estereohidrogeles se prepararon mezclando soluciones acuosas de cantidades equimolares de copolímeros de bloque en estrella PEG-PLLA₁₂ y PEG-PDLA₁₂, PEG-PLLA₁₂-MA y PEG-PDLA₁₂-MA, o PEG-MA/PLLA₁₂ y PEG-MA/PDLA₁₂ en solución salina tamponada con HEPES (pH 7) en un intervalo de concentración de polímero de 12,5 a 17,5% en peso. Después de mezclar, las soluciones se aplicaron rápidamente al reómetro y se registraron las evoluciones del módulo de recuperación (G') y el módulo de pérdida (G'') (Figura 2a). Debido a la rápida gelación, no pudo determinarse por reología el punto de gelación de PEG-PLA₁₂, PEG-PLA₁₂-MA y PEG-MA/PLA₁₆ en un intervalo de concentración de polímero de 12,5 a 17,5% en peso. Después de aplicar la muestra al reómetro, se necesitaron aprox. 1-2 min para ajustar el instrumento antes de iniciar la medida. Esto revela que los hidrogeles de PLA₁₂, PEG-PLA₁₂-MA y PEG-MA/PLA₁₆ se formaron en 1-2 min. El módulo de recuperación aumentó con el tiempo debido a la estereocomplejación hasta alcanzar el valor de la meseta, finalizando el proceso de reticulación (Figura 2a). La Figura 2a muestra que las evoluciones del módulo de recuperación y los valores de la meseta de los copolímeros de PEG-PLA₁₂-MA y PEG-PLA₁₂ eran similares, lo que está en buen acuerdo con los ensayos de volteo de viales, lo que indica que los grupos metacrilato apenas influyen sobre la estereocomplejación (Tabla 2). Para los copolímeros PEG-PLA₁₂ y PEG-PLA₁₂-MA, el valor de la meseta del módulo de recuperación se alcanzó en aprox. 5 h después de mezclar (Figura 2a). A diferencia, los módulos de recuperación de los estereohidrogeles PEG-MA/PLA₁₆ aumentaron a lo largo de 48 h. Los módulos de recuperación de los estereohidrogeles aumentaron de 2,4 a 12,5 kPa para PEG-PLA₁₂-MA y de 0,1 a 5,2 kPa para PEG-MA/PLA₁₂ al aumentar la concentración de polímero de 12,5 a 15% p/v (figura 2b). Los estereohidrogeles PEG-PLA₁₂-MA mostraron factores de recuperación más bajos ($\delta = G''/G'$) en comparación con los hidrogeles PEG-MA/PLA₁₆ (Figura 2b), lo que indica una perfección mayor de la red.

III. 6 Control in situ de las propiedades mecánicas durante la fotopolimerización

Las propiedades mecánicas de los hidrogeles fotopolimerizados se determinaron por reología combinada con irradiación de UV (350-400 nm, 16 mW/cm²) de estereohidrogeles de PEG-PLA₁₂-MA o PEG-MA/PLA₁₆ (resultando hidrogeles fotoestéricos) o soluciones de los enantiómeros individuales de PEG-PLLA₁₂-MA o PEG-MA/PLLA₁₆ (resultando fotohidrogeles) en solución salina tamponada con HEPES (pH 7) a 37°C (Figuras 3 y 4). La Figura 3a muestra que el tiempo de gelación del enantiómero de PEG-PLLA₁₂-MA disminuyó de aprox. 3 a 0,5 min al aumentar la concentración de polímero de 12,5 a 17,5% p/v para una concentración de iniciador de 5% en moles (en relación a los grupos metacrilato). El valor de la meseta del módulo de recuperación se alcanzó en aprox. 8 min y aumentó de 0,9 a 4,1 kPa al aumentar la concentración de polímero de 12,5 a 17,5% p/v (Figura 3a). La Figura 3b muestra que el tiempo de gelación del enantiómero individual de PEG-PLLA₁₂-MA a una concentración de polímero de 15% p/v disminuyó rápidamente al aumentar la concentración de inhibidor. A concentraciones del inhibidor de 2 y 5% en moles (respecto a los grupos metacrilato), los tiempos de gelación del enantiómero individual PEG-PLLA₁₂-MA fueron, respectivamente, 6,5 y 1,7 min. A una concentración del inhibidor de 1% en moles, la solución del enantiómero individual de PEG-PLLA₁₂-MA al 15% p/v no formó gel en 15 min (Figura 3b).

Como se ha señalado antes, se formó un estereohidrogel en 1-2 min después de mezclar soluciones acuosas de cantidades equimolares de copolímeros PEG-PLLA₁₂-MA y PEG-PDLA₁₂-MA. La irradiación de UV del estereohidrogel a 1% en moles de iniciador y una concentración de polímero de 15% p/v 10 min después de mezclar aumentó el módulo de recuperación de 5,6 a 9,6 kPa en 15 min debido a la fotorreticulación (4a). Aquí, una concentración de iniciador de 1% en moles (respecto a los grupos metacrilato) corresponde a 0,003% en peso, que es un valor muy bajo en comparación con la concentración de 0,05% en peso que es la concentración comúnmente usada⁴⁹. Se prefieren concentraciones de inhibidor bajas debido a la toxicidad del iniciador. La fotorreticulación a este bajo nivel de concentración implica a su vez que se pueden usar intensidades de luz bajas para obtener hidrogeles fotoestéricos.

El módulo de recuperación del hidrogel fotoestérico depende mucho del tiempo de equilibrado antes de la irradiación de UV. La Figura 4 b muestra un gráfico de la relación del módulo de recuperación de un hidrogel fotoestérico de PEG-PLA₁₂-MA y el valor de la meseta del módulo de recuperación del correspondiente estereohidrogel) (alcanzado después de aprox. 5 h, Figura 2a) en función del tiempo de equilibrado del estereocomplejo. El valor de la meseta del módulo de recuperación del hidrogel fotoestérico (después de 8 min de irradiación de UV) aumentó linealmente al aumentar el tiempo de equilibrado del estereocomplejo a una concentración del iniciador de 5% en moles (que corresponde a 0,015% en peso). Esta concentración de iniciador es baja en comparación con la concentración generalmente usada de 0,05% en peso⁴⁹. La irradiación de UV después de 6 h de equilibrado dio por resultado un aumento de casi 6 veces del módulo de recuperación del hidrogel fotoestérico de PEG-PLA₁₂-MA en comparación con el correspondiente estereohidrogel de PEG-PLA₁₂-MA (31,6 frente a 5,6 kPa) y un aumento de 17 veces en comparación con el correspondiente fotohidrogel de PEG-PLLA₁₂-MA (31,6 frente a 1,8 kPa). Puesto que los grupos hidrófobos metacrilato están en los extremos de la cadena de PLA, muy probablemente las reticulaciones químicas se han formado en los dominios de PLA. En la Figura 5 se muestra una representación esquemática de la preparación de hidrogel fotoestérico para los copolímeros PEG-PLA-MA y PEG-MA/PLA. Además, el fotoiniciador usado, Irgacure 2959, es bastante hidrófobo (la concentración máxima en agua es 0,7% en peso⁴⁹) y preferiblemente puede por ello repartirse en los dominios hidrófobos de PLA, aumentando así la concentración inicial de iniciador y consecuentemente la velocidad de fotopolimerización en estos dominios. Por tanto, el incrementado módulo de recuperación al aumentar el tiempo de equilibrado del estereocomplejo puede ser debido a la formación de más dominios de PLA, dando por resultado una red más densamente reticulada y una fotopolimerización intensificada. Los hidrogeles fotoestéricos de PEG-MA/PLA₁₆ también presentan módulos de recuperación mucho más altos en comparación con los estereohidrogeles o fotohidrogeles de PEG-MA/PLLA₁₆ (no representados los resultados). Por ello, la combinación de estereocomplejación y fotorreticulación puede proporcionar una gelación rápida in vitro e in vivo⁵⁵, dando hidrogeles con buenas propiedades mecánicas.

III. 7 Morfología de hidrogeles fotopolimerizados

Para estudiar la influencia de la estereocomplejación sobre la morfología de hidrogeles fotopolimerizados, las medidas por microscopía electrónica de barrido (SEM) se realizaron en hidrogeles fotoestéricos y fotohidrogeles de PEG-PLA₁₂-MA y PEG-MA/PLA₁₆ liofilizados. Los hidrogeles fotoestéricos y los fotohidrogeles se prepararon por irradiación de UVA (250 mW/cm²) de estereohidrogeles de PEG-PLA₁₂-MA o PEG-MA/PLA₁₆ (equilibrados durante aprox. 15 min después de mezclar las soluciones enantiómeras) y soluciones de enantiómeros individuales de PEG-PLLA₁₂-MA o PEG-MA/PLLA₁₆, respectivamente, en solución salina tamponada con HEPES (pH 7) a una concentración de iniciador de 8% en moles y de 15% p/v de polímero. Las Figuras 6A y 6B muestran que los hidrogeles fotoestéricos de PEG-PLA₁₂-MA tienen tamaños de poro de aprox. 5 μm, mientras que los fotohidrogeles de PEG-PLLA₁₂-MA tienen tamaños de poro de aprox. 10 μm, lo que indica que la estereocomplejación tiene una influencia significativa sobre el tamaño de poro de los hidrogeles de PEG-PLA-MA liofilizados. A diferencia, los hidrogeles fotoestéricos de PEG-MA/PLA₁₆ liofilizados y los fotohidrogeles de PEG-MA/PLLA₁₆ presentaban tamaños de poro similares (aprox. 10 μm, Figuras 6C y 6D). Aparentemente, la posición del grupo de reticulación tiene mucha influencia sobre el tamaño de poro de hidrogeles fotoestéricos liofilizados.

III. 8 Hinchamiento y degradación de hidrogeles

Los hidrogeles basados en los copolímeros de PEG-PLA-MA y PEG-MA/PLA eran degradables en condiciones fisiológicas. Para estudiar la velocidad de degradación se prepararon hidrogeles fotoestéricos y fotohidrogeles por irradiación de UVA (250 mW/cm²) de estereohidrogeles de PEG-PLA₁₂-MA o PEG-MA/PLA₁₆ (equilibrados durante aprox. 15 min después de mezclar las soluciones enantiómeras) y soluciones que contenían enantiómero individual de PEG-PLLA₁₂-MA o PEG-MA/PLLA₁₆, respectivamente, en solución salina tamponada con HEPES (pH 7) a una concentración de inhibidor de 8% en moles. Después de haberse formado los hidrogeles, se aplicó la solución salina tamponada con HEPES por encima y se dejó que se hincharan los geles a 37°C. A intervalos de tiempo regulares se calculó la relación de hinchamiento como cociente entre el peso de hidrogel expuesto a la solución tampón y el peso inicial del hidrogel después de su preparación (W_t/W_0). La Figura 7a muestra que los hidrogeles fotoestéricos de PEG-PLA₁₂-MA se hincharon a aproximadamente dos veces su peso inicial en 1 día, independientemente de la concentración de polímero. La relación de hinchamiento de fotohidrogeles de PEG-PLLA₁₂-MA también se duplicó después de 1 día a una concentración de polímero de 15% p/v (Figura 7a). Después del hinchamiento inicial, la relación de hinchamiento permaneció constante para los hidrogeles fotoestéricos de PEG-PLA₁₂-MA, mientras que la relación de hinchamiento de fotohidrogeles de PEG-PLLA₁₂-MA continuó creciendo. Con el tiempo se desintegraron ambos hidrogeles, como lo demostró la disminución de la relación de hinchamiento, hasta que finalmente se disolvieron completamente. El tiempo de degradación se define como el tiempo requerido para que se disuelva al menos uno de los dos o tres hidrogeles usados para ensayar un tipo de hidrogel. La Figura 7a demuestra que los hidrogeles fotoestéricos de PEG-PLA₁₂-MA se degradaron completamente al cabo de aproximadamente 3 semanas y el aumento de la concentración de polímero de 12,5 a 17,5% p/v apenas afectó al tiempo de degradación. Es interesante que el tiempo de degradación de los estereohidrogeles de PEG-PLA₁₂-MA era de dos veces en comparación con los fotohidrogeles de PEG-PLLA₁₂-MA (aprox. 3 frente a 1,5 semanas, Figura 7A). Esto puede ser

debido a una densidad de reticulación mayor de los hidrogeles fotoestéricos de PEG-PLA₁₂MA en comparación con los fotohidrogeles de PEG-PLLA₁₂-MA, como también lo indican las medidas de reología. Los hidrogeles fotoestéricos de PEG-MA/PLA₁₂ se hincharon durante un período de aprox. 5 semanas hasta alcanzar dos veces su peso inicial, independientemente de la concentración de polímero (Figura 7b). El hinchamiento en curso muy probablemente es debido a la degradación de PLA, después del cual se pierden las reticulaciones físicas, dando por resultado una red menos densamente reticulada mantenida junta sólo por reticulaciones químicas (Figura 8). Los hidrogeles fotoestéricos de PEG-MA/PLA₁₆ con una concentración de polímero de 12,5% p/v se degradaron completamente después de 7 semanas, mientras que a una concentración de polímero de 15 y 17,5% p/v, los hidrogeles fotoestéricos retuvieron su integridad después de 16 semanas.

La degradación mucho más lenta de los hidrogeles fotoestéricos de PEG-MA/PLA₁₆ en comparación con los hidrogeles fotoestéricos de PEG-PLA₁₂-MA se atribuye a la hidrólisis más lenta de los enlaces éster de los grupos metacrilato polimerizados en comparación con los enlaces éster de los bloques de PLA, lo que concuerda bien con los resultados obtenidos por Bryant y otros para hidrogeles fotopolimerizados de dimetacrilato de PEG y dimetacrilato de PEG-PLA⁵⁶. Los hidrogeles fotoestéricos de PEG-PLA-MA se degradan principalmente mediante hidrólisis de los enlaces éster del bloque de PLA, después de lo cual se pierden las reticulaciones físicas y las químicas (Figura 8). A diferencia, la degradación de PLA en los hidrogeles fotoestéricos de PEG-MA/PLA conduce a la formación de una red químicamente reticulada menos densamente, con un hinchamiento acrecentado (Figura 8). Los hidrogeles fotoestéricos hinchados de PEG-MA/PLA se degradan finalmente mediante hidrólisis de los enlaces éster de los grupos metacrilato polimerizados. Es posible combinar copolímeros PEG-PLA-MA y PEG-MA/PLA para variar el tiempo de degradación.

IV. Conclusiones

Se prepararon copolímeros de PEG-PLA-MA por metacrilación de aprox. 40% de los grupos terminales hidroxilo de PLA de copolímeros de bloque en estrella de 8 brazos de PEG-PLA. Los copolímeros PEG-MA/PLA se prepararon por polimerización con apertura de anillo, iniciada por lactida, de PEG en estrella de 8 brazos con 40% de sus grupos terminales hidroxilo metacrilados. Los hidrogeles estereocomplejados de PEG-PLA-MA y PEG-MA/PLA se pudieron formar rápidamente in situ después de mezclar soluciones acuosas que contenían cantidades equimolares de copolímeros de PEG-PLLA-MA y PEG-PDLA-MA, o PEG-MA/PLLA y PEG-MA/PDLA. Es interesante que la estereocomplejación ayudaba a la fotopolimerización de los grupos metacrilato. La fotorreticulación de estereohidrogeles, dando hidrogeles fotoestéricos, dio por resultado módulos de recuperación del hidrogel acrecentados, en comparación con los hidrogeles reticulados sólo por estereocomplejación (estereohidrogeles) o sólo fotorreticulación (fotohidrogeles). Además, la fotorreticulación de estereohidrogeles se realizaba ya a concentraciones muy bajas de iniciador. El tiempo de degradación de hidrogeles fotoestéricos de PEG-PLA-MA era dos veces el de fotohidrogeles de PEG-PLLA-MA (aprox. 3 frente a 1,5 semanas). Los hidrogeles fotoestéricos de PEG-MA/PLA se degradaron en aprox. 7 a 16 semanas, dependiendo de la concentración de polímero. En principio, se pueden combinar PEG-PLA-MA y PEG-MA/PLA para variar la velocidad de degradación. La rápida gelación in vitro e in vivo debida a la estereocomplejación sortea la necesidad de una rápida fotopolimerización, evitando así efectos térmicos sustanciales debidos a la fotopolimerización y potenciando el uso de concentraciones de iniciador bajas e intensidades de luz bajas. Además, la rápida gelación permite una fácil manipulación.

Se entenderá que los hidrogeles fotoestéricos y en particular los procedimientos para su formación situ dentro del cuerpo humano o animal tendrán una capacidad grande para aplicaciones in vivo, incluida la ingeniería de tejidos y el suministro de fármacos.

V. Referencias

1. Peppas, N.A.; Bures, P.; Leobandung, W.; Ichikawa, H. *Eur. J. Pharm. and Biopharm.* 2000, 50, 27-46.
2. Peppas, N.A.; Hilt, J.Z.; Khademhosseini, A.; Langer, R. *Adv. Mater.* 2006, 18, 1345-1360.
3. Qiu, Y.; Park, K. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001, 53, 321-339.
4. Ruel-Gariepy, E.; Leroux, J.C. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004, 58, 409-426.
5. Nguyen, K.T.; West, J.L. *Biomaterials* 2002, 23, 4307-4314.
6. Temenoff, J.S.; Mikos, A.G. *Biomaterials* 2000, 21, 2405-2412.
7. Jeong, B.; Bae, Y.H.; Kim, S.W. *Macromolecules* 1999, 32, 7064-7069.
8. Zhong, Z.Y.; Dijkstra, P.J.; Feijen, J.; Kwon, Y.M.; Bae, Y.H.; Kim, S.W. *Macromol. Chem. Phys.* 2002, 203, 1797-1803.

9. Shim, W.S.; Kim, J.H.; Park, H.; Kim, K.; Kwon, I.C.; Lee, D.S. *Biomaterials* 2006, 27, 5178-5185.
10. Kang, G.D.; Cheon, S.H.; Khang, G.; Song, S.C. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2006, 63, 340-346.
11. Seong, J.Y.; Jun, Y.J.; Jeong, B.; Sohn, Y.S. *Polymer* 2005, 46, 5075-5081.
- 5 12 de Jong, S.J.; van Eerdenbrugh, B.; van Nostrum, C.F.; Kettenes-van de Bosch, J.J.; Hennink, W.E. *J. Contr. Rel.* 2001, 71, 261-275.
13. Hiemstra, C.; Zhong, Z.Y.; Li, L.B.; Dijkstra, P.J.; Feijen, J. *Biomacromolecules* 2006, 7, 2790-2795.
14. Mukose, T.; Fujiwara, T.; Nakano, J.; Taniguchi, I.; Miyamoto, M.; Kimura, Y.; Teraoka, I.; Lee, C.W.; *Macromol, Biosci.* 2004, 4, 361-367.
15. Li, S.M.; El Ghazaoui, A.; Dewink, E. *Macromol. Symp.* 2005, 222, 23-35.
- 10 16. Li, J.; Ni, X.P.; Leong, K.W. *J. Biomed. Mater. Res.* 2003, 65A, 196-202.
17. Li, J.; Li, X.; Ni, X.P.; Wang, X.; Li, H.Z.; Leong, K.W. *Biomaterials* 2006, 27, 4132-4140.
18. Zhao, S.P.; Zhang, L.M.; Ma, D. *J. Phys. Chem. B* 2006, 110, 12225-12229.
19. Huh, K.M.; Cho, Y.W.; Chung, H.; Kwon, I.C.; Jeong, S.Y.; Ooya, T.; Lee, W.K.; Sasaki, S.; Yui, N. *Macromol. Biosci.* 2004, 4, 92-99.
- 15 20. Sabadini, E.; Cosgrove, T. *Langmuir* 2003, 19, 9680-9683.
21. Van Tomme, S.R.; van Steenberghe, M.J.; De Smedt, S.C.; van Nostrum, C.F.; Hennink, W.E. *Biomaterials* 2005, 26, 2129-2135.
22. Ramachandran, S.; Tseng, Y.; Yu, Y.B. *Biomacromolecules* 2005, 6, 1316-1321.
23. Elbert, D.L.; Pratt, A.B.; Lutolf, M.P.; Halstenberg, S.; Hubbell, J.A. *J. Contr. Rel.* 2001, 76, 11-25.
- 20 24. Lutolf, M.P.; Hubbell, J.A. *Biomacromolecules* 2003, 4, 713-722.
25. Lutolf, M.P.; Raeber, G.P.; Zisch, A.H.; Tirelli, N.; Hubbell, J.A. *Adv. Mater.* 2003, 15, 888-892.
26. Shu, X.Z.; Liu, Y.C.; Palumbo, F.S.; Lu, Y.; Prestwich, G.D. *Biomaterials* 2004, 25, 1339-1348.
27. Peattie, R.A.; Rieke, E.R.; Hewett, E.M.; Fisher, R.J.; Shu, X.Z.; Prestwich, G.D. *Biomaterials* 2006, 27, 1868-1875.
- 25 28. Ghosh, K.; Ren, X.D.; Shu, X.Z.; Prestwich, G.D.; Clark, R.A.F. *Tissue Eng.* 2006, 12, 601-613.
29. Hiemstra, C.; van der Aa, L.J.; Zhong, Z.Y.; Dijkstra, P.J.; Feijen, J. *Macromolecules* 2006, 2007, 40, 1165-1173.
30. Maia, J.; Ferreira, L.; Carvalho, R.; Ramos, M.A.; Gil, M.H. *Polymer* 2005, 46, 9604-9614.
31. Balakrishnan, B.; Jayakrishnan, A. *Biomaterials* 2005, 26, 3941-3951.
32. Yoshida, T.; Aoyagi, T.; Kokufuta, E.; Okano, T. *J. Polym.Sci. Polym. Chem.* 2003, 41, 779-787.
- 30 33. Cadee, J.A.; De Kerf, M.; De Groot, C.J.; Den Otter, W.; Hennink, W.E. *Polymer* 1999, 40, 6877-6881.
34. Kasper, F.K.; Seidlits, S.K.; Tang, A.; Crowther, R.S.; Carney, D.H.; Barry, M.A.; Mikos, A.G. *J. Contr. Ref.* 2005, 104, 521-539.
35. Oudshoorn, M.H.M.; Rissmann, R.; Bouwstra, J.A.; Hennink, W.E. *Biomaterials* 2006, 27, 5471-5479.
36. Temenoff, J.S.; Park, H.; Jabbari, E.; Conway, D.E.; Sheffield, T.L.; Ambrose, C.G.; Mikos, A.G. *Biomacromolecules* 2004, 5, 5-10.
37. Kim, S.; Chung, E.H.; Gilbert, M.; Healy, K.E. *J. Biomed. Mater. Res.* 2005, 75A, 73-88.
38. Baroli, B.J. *J. Chem. Tech. and Biotechnol.* 2006, 81, 491-499.
39. West, J.L.; Hubbell, J.A. *Macromolecules* 1999, 32, 241-244.

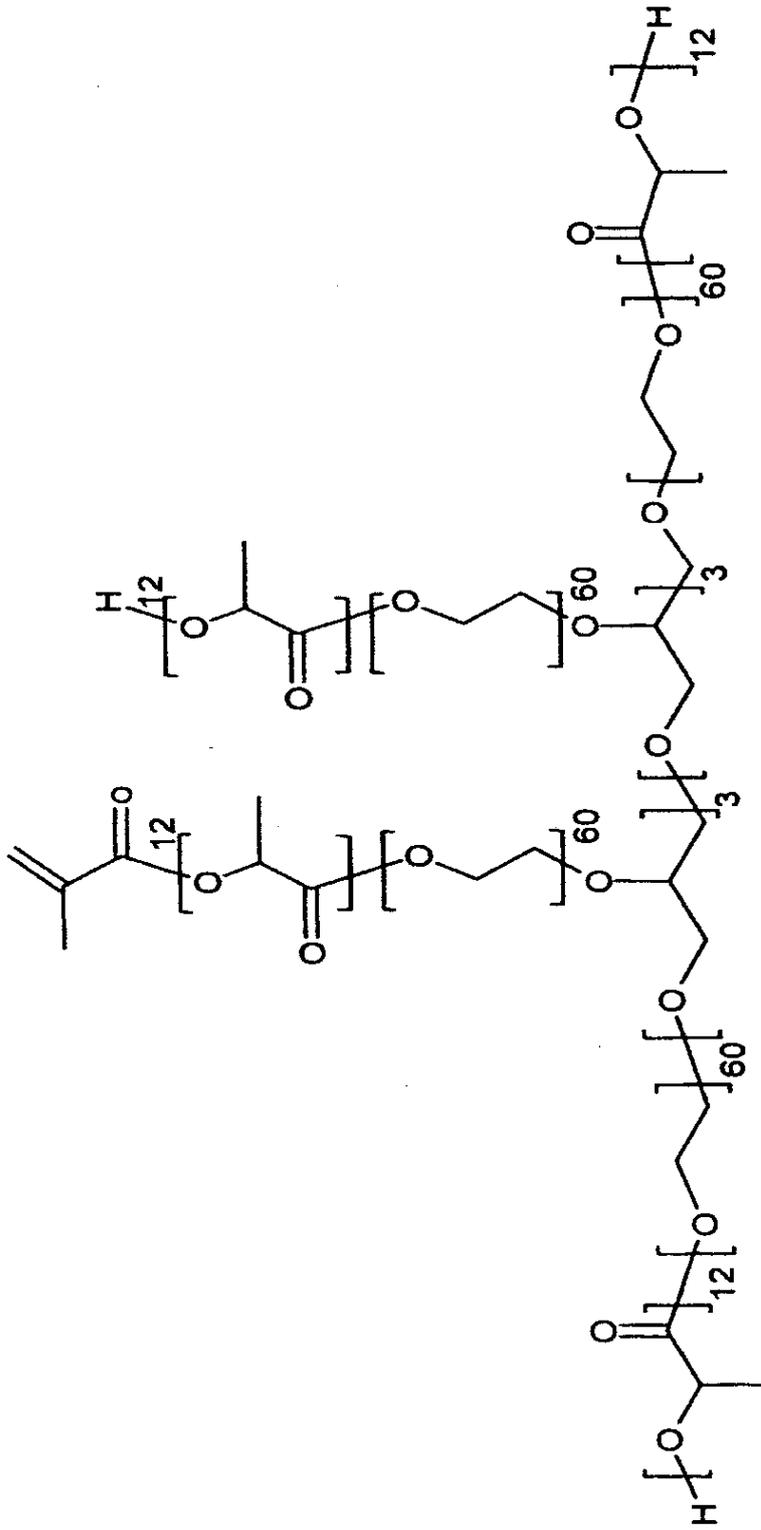
40. Bryant, S.J.; Anseth, K.S. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002, 59, 63-72.
41. Bryant, S.J.; Bender, R.J.; Durand, K.L.; Anseth, K.S. *Biotechnol. Bioeng.* 2004, 86, 747-755.
42. Sawhney, A.S.; Pathak, C.P.; Hubbell, J.A. *Macromolecules* 1993, 26, 581-587.
43. Halstenberg, S.; Panitch, A.; Rizzi, S.; Hall, H.; Hubbell, J.A. *Biomacromolecules* 2002, 3, 710-723.
- 5 44. Park, Y.D.; Tirelli, N.; Hubbell, J.A. *Biomaterials* 2003, 24, 893-900.
45. Elisseef, J.; Anseth, K.; Sims, D.; McIntosh, W.; Randolph, M.; Yaremchuck, M.; Langer, R. *Plast Reconstr. Surg.* 1999, 104, (4), 1014-1022.
46. Yamaoka, T.; Tabata, Y.; Ikada, Y. *J. Pharm. Sci.* 1994, 83, 601-606.
- 10 47. Elisseef, J.; Anseth, K.; Sims, D.; McIntosh, W.; Randolph, M.; Langer, R. *Proc. Natl. Acad. Sci. Unit. States Am.* 1999, 96, 3104-3107.
48. Burdick, J.A.; Peterson, A.J.; Anseth, K.S. *Biomater.* 2001, 22, 1779-1786.
49. Bryant, S.J.; Nuttelman, C.R.; Anseth, K.S. *J. Biomat. Sci. Polymer Edn.* 2000, 11, 439-457.
50. Muggli, D.S.; Burkoth, A.K.; Keyser, S.A.; Lee, H.R.; Anseth, K.S.R. *Macromolecules* 1998, 31, 4120-4125.
- 15 51. Hiemstra, C.; Zhong, Z.Y.; Dijkstra, P.J.; Van Tomme, S.R.; Jacobs, J.J.L.; Den Otter, W.; Hennink, W.E.; Feijen, J. *J. J. Contr.Ref.* 2007, en prensa.
52. Bos, G.W.; Jacobs, J.J.L.; Koten, J.W.; Van Tomme, S.R.; Veldhuis, T.F.J.; van Nostrum, C.F.; Den Otter, W.; Hennink, W.E. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2004, 21, 561-567.
53. Hiemstra, C.; Zhong, Z.Y.; Dijkstra, P.J.; Feijen, J. *Macromol. Symp.* 2005, 224, 119-131.
- 20 54. Lin-Gibson, S.; Bencherif, S.; Cooper, J.A.; Wetzel, S.J.; Antonucci, J.M.; Vogel, B.M.; Horkay, F.; Washburn, N.R. *Biomacromolecules* 2004, 5, 1280-1287.
55. Bos, G.W.; Hennink, W.E.; Brouwer, L.A.; den Otter, W.; Veldhuis, T.F.J.; van Nostrum, C.F.; van Luyn, M.J.A. *Biomaterials*, 2005, 26, 3901-3909.
56. Bryant, S.J.; Anseth, K.S. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002, 64A, 70-79.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Hidrogel fotoestérico formado por polímeros estereocomplejados y fotorreticulados, polímeros que comprenden dos tipos de polímeros que tienen al menos un componente hidrófilo, al menos un componente hidrófobo mutuamente estereocomplejante, y los dos tipos de polímeros comprenden al menos un componente mutuamente fotorreticulable.
- 10 2. Hidrogel de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el componente hidrófilo comprende PEG, dextrano, ácido hialurónico, pululano, sulfato de condroitina, poli(alcohol de vinilo), poli(metacrilato de hidroxietilo), poli(ácido aspártico), poli(ácido glutámico), poli(ácido acrílico), una poli(alquil C₁₋₆ oxazolona) tal como poli(metil- o etil-oxazolona), y/o
- 10 en el que el componente hidrófobo estereocomplejante comprende poli(L-lactida) o poli(D-lactida), poli(L-lactida) o poli(D-lactida) que preferiblemente comprende de 8-30, preferiblemente de 10-20, más preferiblemente 12-16 unidades de lactilo por poli(L-lactida o D-lactida), y/o
- en el que el componente fotorreticulable comprende acrilato, metacrilato, acrilamida y fumarato.
- 15 3. Hidrogel de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el componente fotorreticulable se ha reticulado usando irradiación visible o ultravioleta (de longitud de onda larga), y/o
- en el que la fotorreticulación requiere irradiación de UV de baja intensidad, tal como de 0,05-20 mW/cm², cuando hay una barrera de tejido (tal como piel intacta), o de 2 a 20 mW/cm² cuando no hay una barrera de tejido, o luz visible a una intensidad de la luz visible preferiblemente de 30-100 mW/cm².
- 20 4. Hidrogel de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el componente estereocomplejante y el componente fotorreticulable están directamente unidos al componente hidrófilo o en el que el componente estereocomplejante une el componente fotorreticulable al componente hidrófilo.
5. Hidrogel de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que los polímeros constitutivos tienen la forma de una estructura tribloque o de multibrazos, preferiblemente una estructura de 3-12 brazos, más preferiblemente una estructura de 8-10 brazos.
- 25 6. Hidrogel de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que tiene un módulo de recuperación G' mayor que 1 kPa, tal como de 1-100 kPa.
7. Procedimiento para producir hidrogeles fotoestéricos, que comprende las etapas de
- (a) proporcionar una mezcla de al menos dos tipos de polímeros que tienen al menos un componente hidrófilo, al menos un componente hidrófobo mutuamente estereocomplejante, y al menos uno de los tipos comprende al menos un componente fotorreticulable;
- 30 (b) estereocomplejar los dos tipos de polímeros, formando así un hidrogel estereocomplejado, y
- (c) fotorreticular el hidrogel estereocomplejado usando irradiación visible o UV, formando así el hidrogel fotoestérico.
- 35 8. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que los dos tipos de polímeros comprenden al menos un componente mutuamente fotorreticulable, y/o
- en el que el componente hidrófilo comprende PEG, dextrano, ácido hialurónico, pululano, sulfato de condroitina, poli(alcohol de vinilo), poli(metacrilato de hidroxietilo), poli(ácido aspártico), poli(ácido glutámico), poli(ácido acrílico), poli(alcohol de vinilo) y poli(alquil C₁₋₆ oxazolona) tal como poli(metil- o etil-oxazolona), y/o
- 40 en el que el componente hidrófobo estereocomplejante comprende poli(L-lactida) o poli(D-lactida), poli(L-lactida) o poli(D-lactida) que preferiblemente comprende 8-30, preferiblemente 10-20, más preferiblemente 12-16 unidades de lactilo, y/o
- en el que el componente fotorreticulable comprende acrilato, metacrilato, acrilamida y fumarato y preferiblemente el componente fotorreticulable es reticulado usando radiación visible o ultravioleta (de longitud de onda larga).
- 45 9. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el fotorreticulado usa un fotoiniciador citocompatible, preferiblemente en una cantidad de 0,001 a 0,05% en peso, tal como 2,2-dimetoxi-2-fenilacetofenona (Irgacure 651), 1-hidroxiciclohexil fenil cetona (Irgacure 184), 2-metil-1-[4-(metiltio)fenil]-2-(4-morfolinil)-1-propanona (Irgacure 907) y 2-hidroxi-1-(hidroxietoxi)fenil]-2-metil-1-propanona (Darocur 2959), canforquinona (CQ) con 4-N,N-dimetilaminobenzoato de etilo (4EDMAB) y trietanolamina (TEA) y el fotosensibilizador isopropiltioxantona, y/o

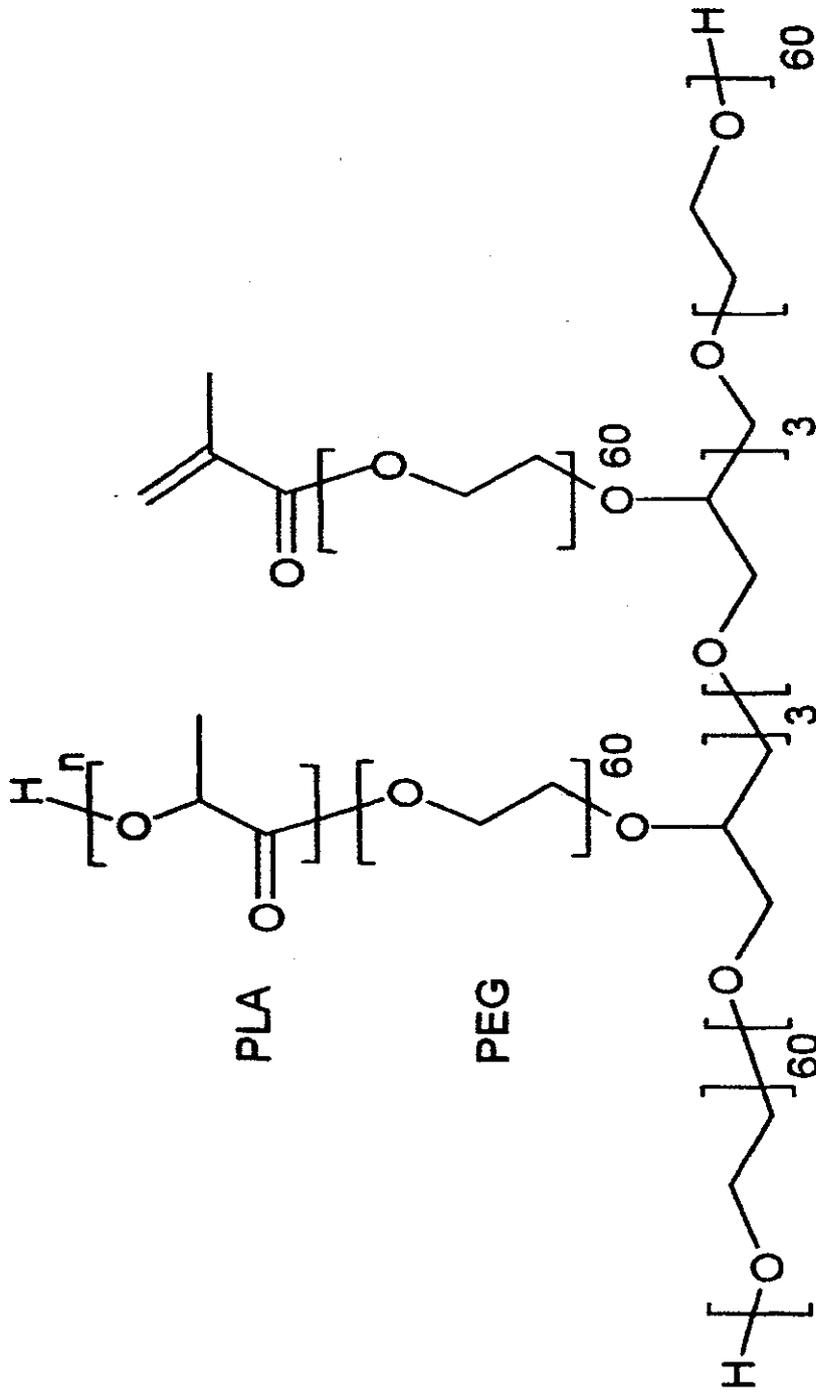
en el que el fotorreticulador requiere irradiación UV de baja intensidad, tal como de 0,05-20 mW/cm² cuando hay una barrera de tejido (tal como piel intacta), o de 20-20 mW/cm² cuando no hay barrera de tejido, o luz visible preferiblemente a una intensidad de 30-100 mW/cm².

- 5 10 Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en el que el componente estereocomplejante y el componente fotorreticulable están unidos directamente al componente hidrófilo, o
- en el que el componente estereocomplejante une el componente fotorreticulable al componente hidrófilo.
11. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-10,
- en el que los polímeros constitutivos tienen la forma de un tribloque o una estructura multibrazos, preferiblemente una estructura de 3-12 brazos, más preferiblemente de 8-10 brazos, y/o
- 10 en el que la concentración de polímero está en el intervalo de 5-30% p/v, preferiblemente de 10-20% p/v.
12. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en el que el tiempo para la estereocomplejación está en el intervalo de 1 min a 3 días, preferiblemente de 2 horas a 1 día, más preferiblemente de 4 a 10 horas.
- 15 13. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-12, que comprende la etapa de hidrolizar los componentes estereocomplejantes, formando así un hidrogel hinchado.
14. Hidrogel obtenible con el procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 8-13 y que preferiblemente comprende un agente o resto farmacéuticamente activo que se une a un agente farmacéuticamente activo.
- 20 15. Polímeros que comprenden dos tipos de polímeros que tienen al menos un componente hidrófilo, al menos un componente hidrófobo mutuamente estereocomplejante y al menos uno de los tipos comprende al menos un componente fotorreticulable para uso en la producción de un hidrogel que comprende un agente o resto farmacéuticamente activo que se une a un agente farmacéuticamente activo, dentro del cuerpo humano o animal, polímeros que preferiblemente están estereocomplejados.
- 25 16. Kit farmacéutico para formar un hidrogel según se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende dos recipientes, comprendiendo cada uno de ellos uno de los dos tipos de polímeros que tiene al menos un componente hidrófilo, al menos un componente hidrófobo mutuamente estereocomplejante, y al menos uno de los tipos comprende al menos un componente fotorreticulable, y en el que el agente farmacéuticamente activo según se ha definido en la reivindicación 14, preferiblemente se contiene en uno o ambos recipientes y/o en un recipiente separado.



PLA PEG
 Copolímero de bloque en estrella de 8 brazos PEG-PLA-MA

FIG. 1A



Copolímero de bloque en estrella de 8 brazos PEG-MA/PLA

FIG. 1B

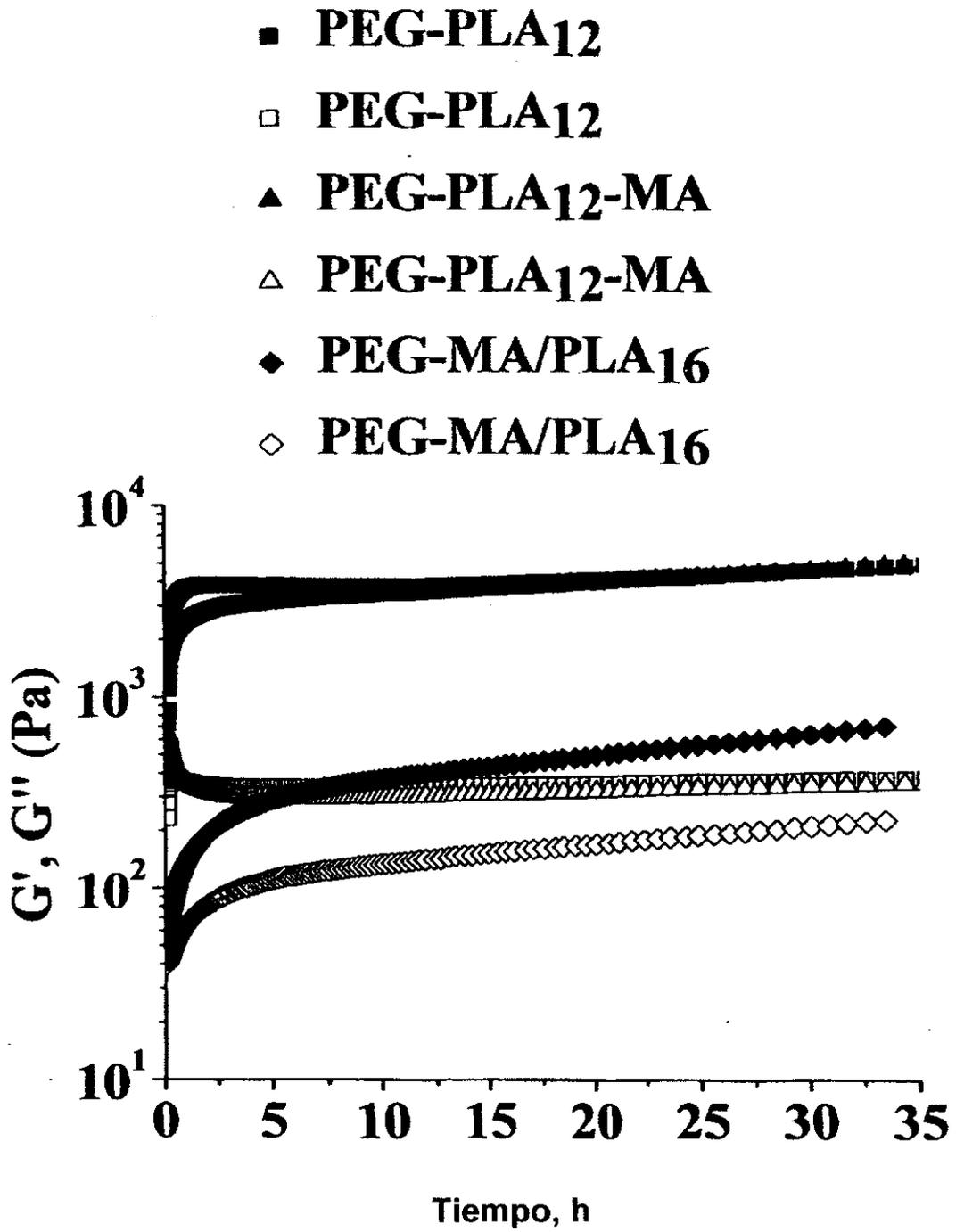


FIG. 2A

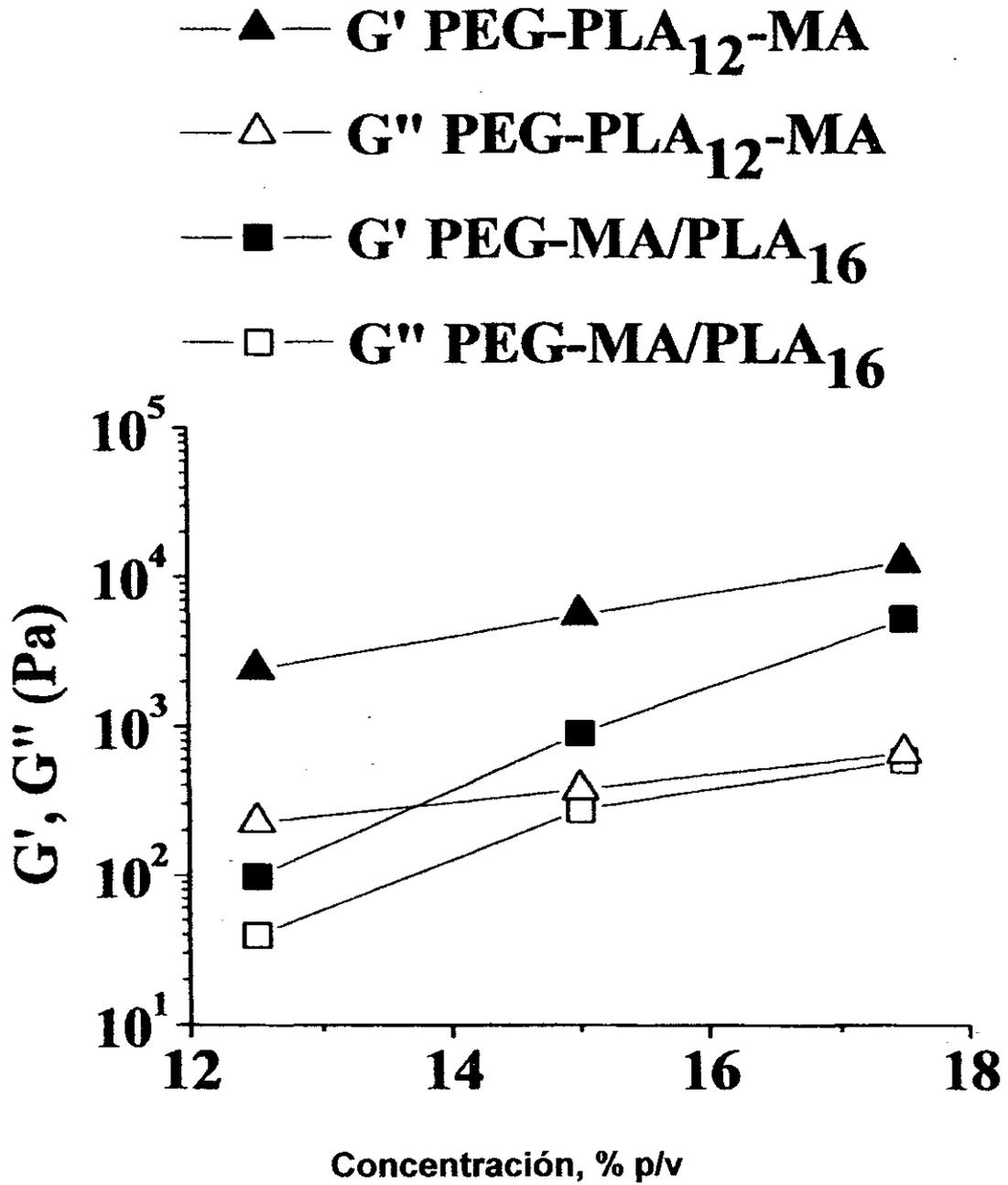


FIG. 2B

- G' 12.5 w/v%
- G' 12.5 w/v%
- ▲ G' 15 w/v%
- △ G'' 15 w/v%
- ◆ G' 17.5 w/v%
- ◇ G'' 17.5 w/v%

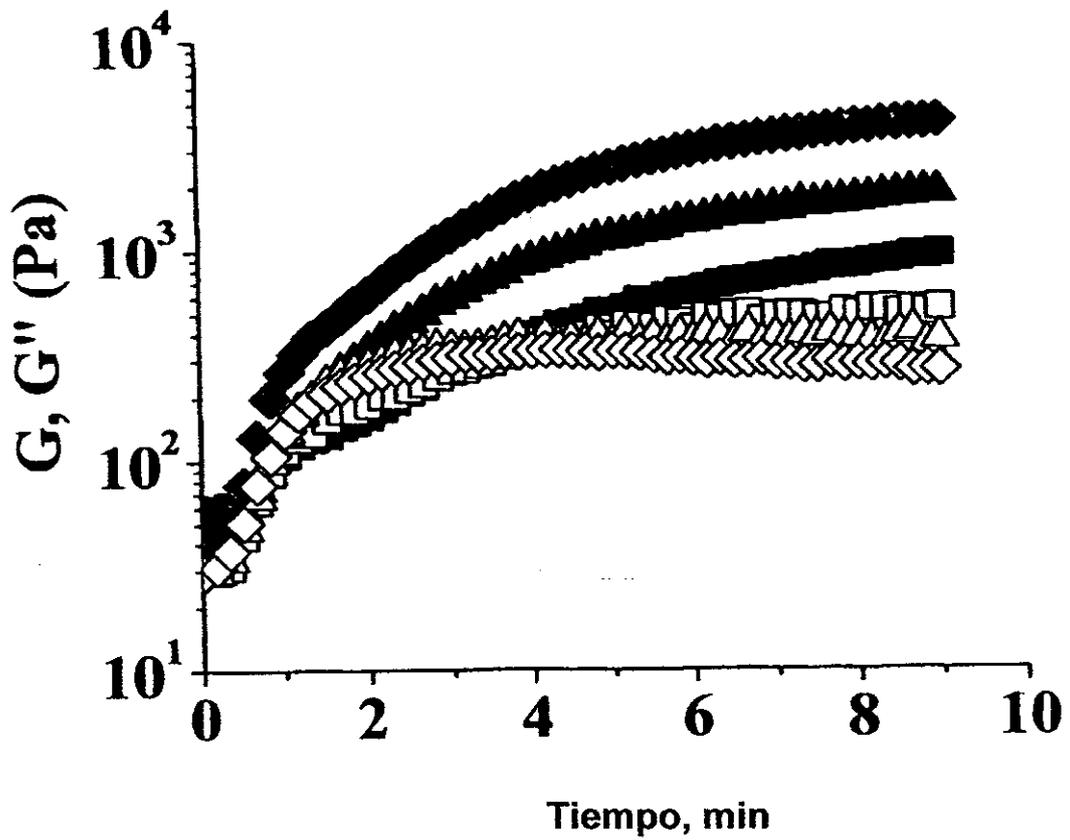


FIG. 3A

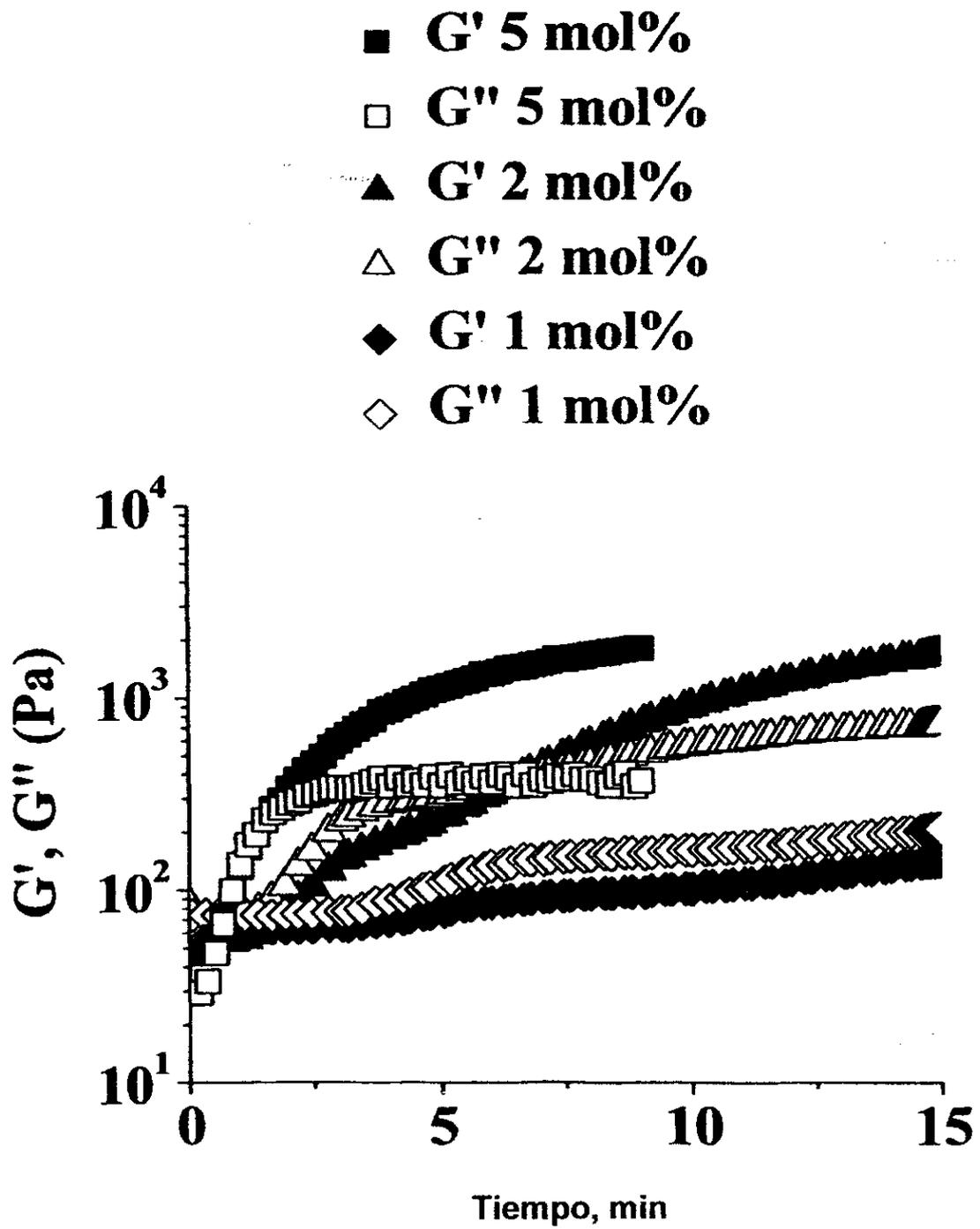


FIG. 3B

- G' D+L
- G'' D+L
- ▲ G' D+L y UV-irr
- △ G'' D+L y UV-irr
- ◆ G' L y UV-irr
- ◇ G'' L y UV-irr

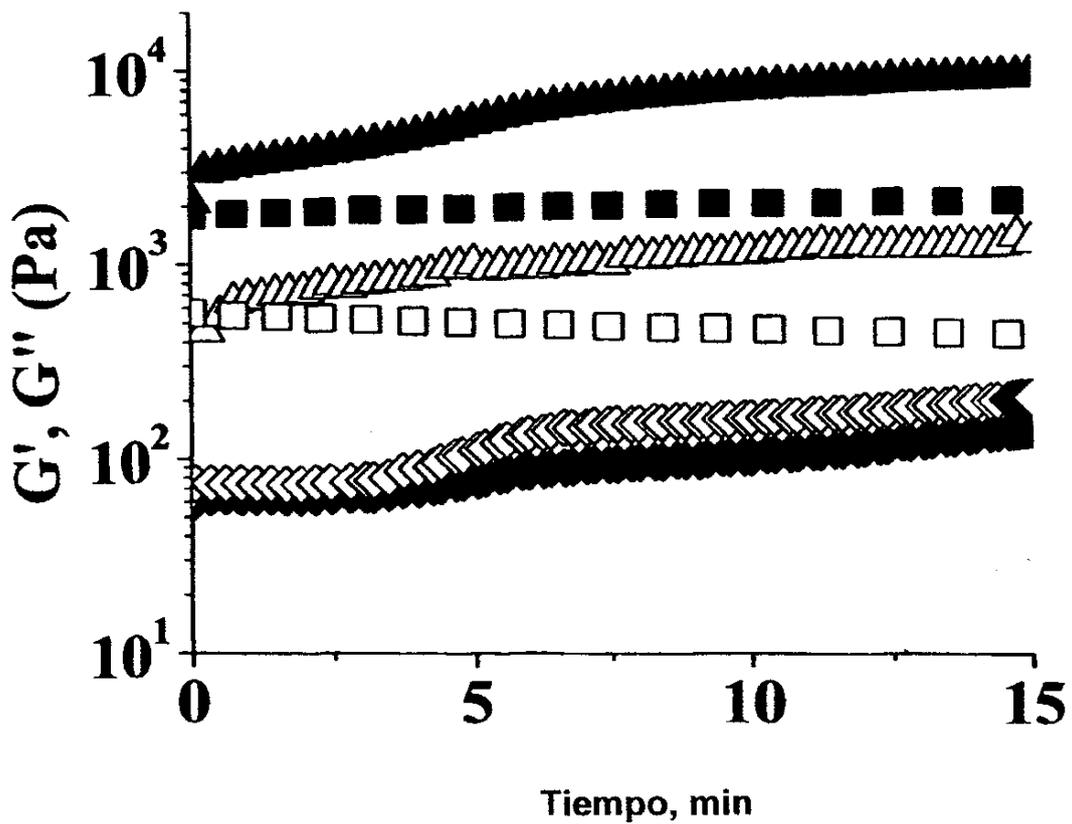


FIG. 4A

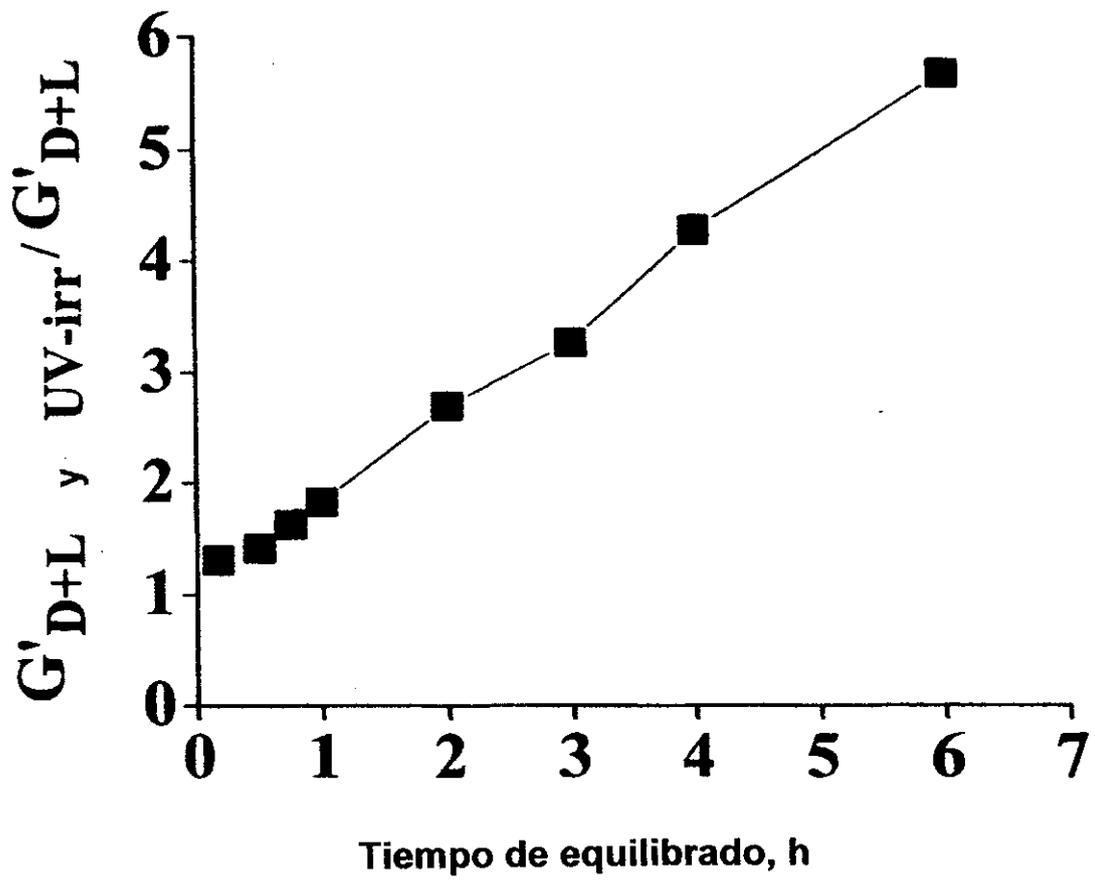


FIG. 4B

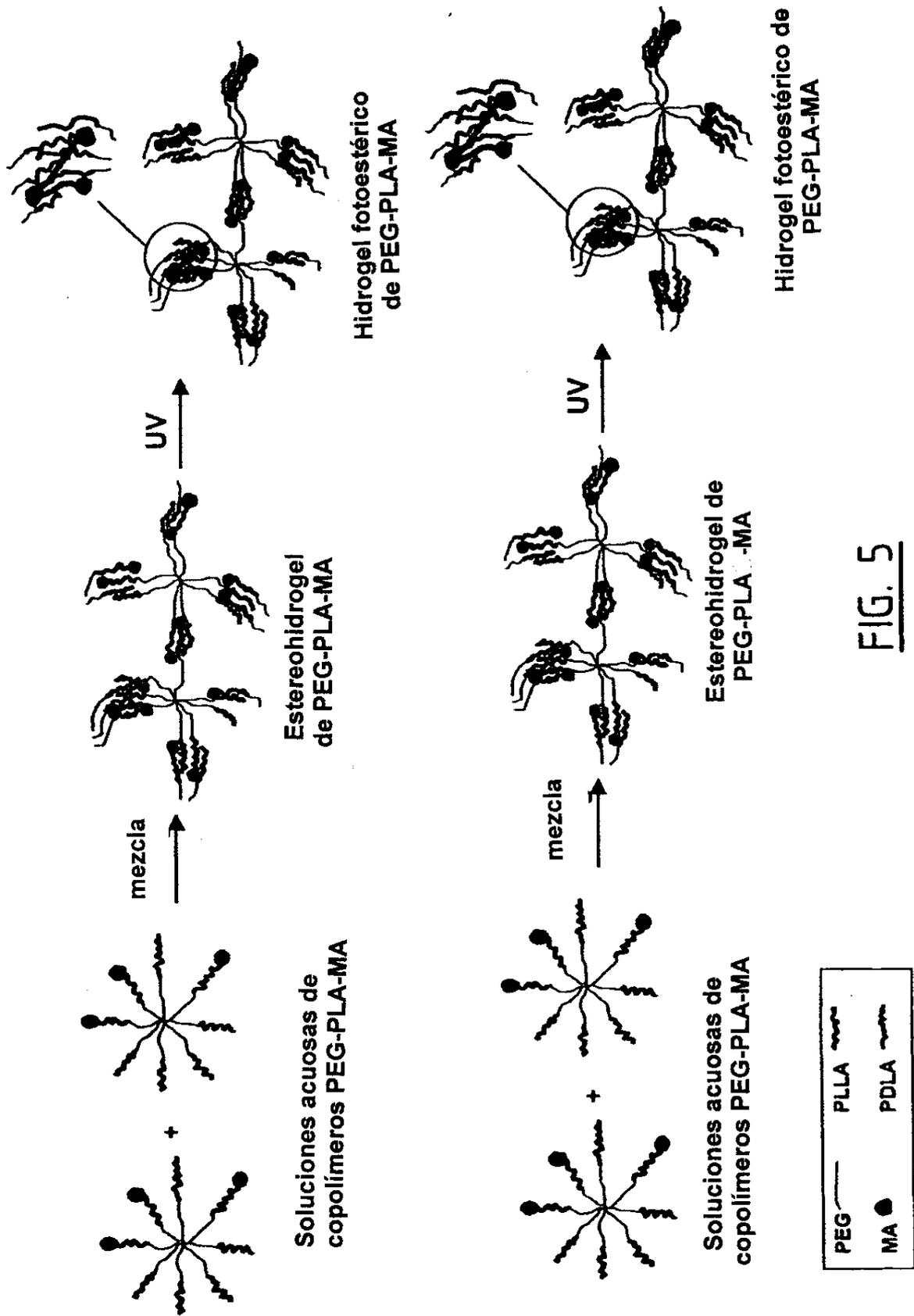


FIG. 5

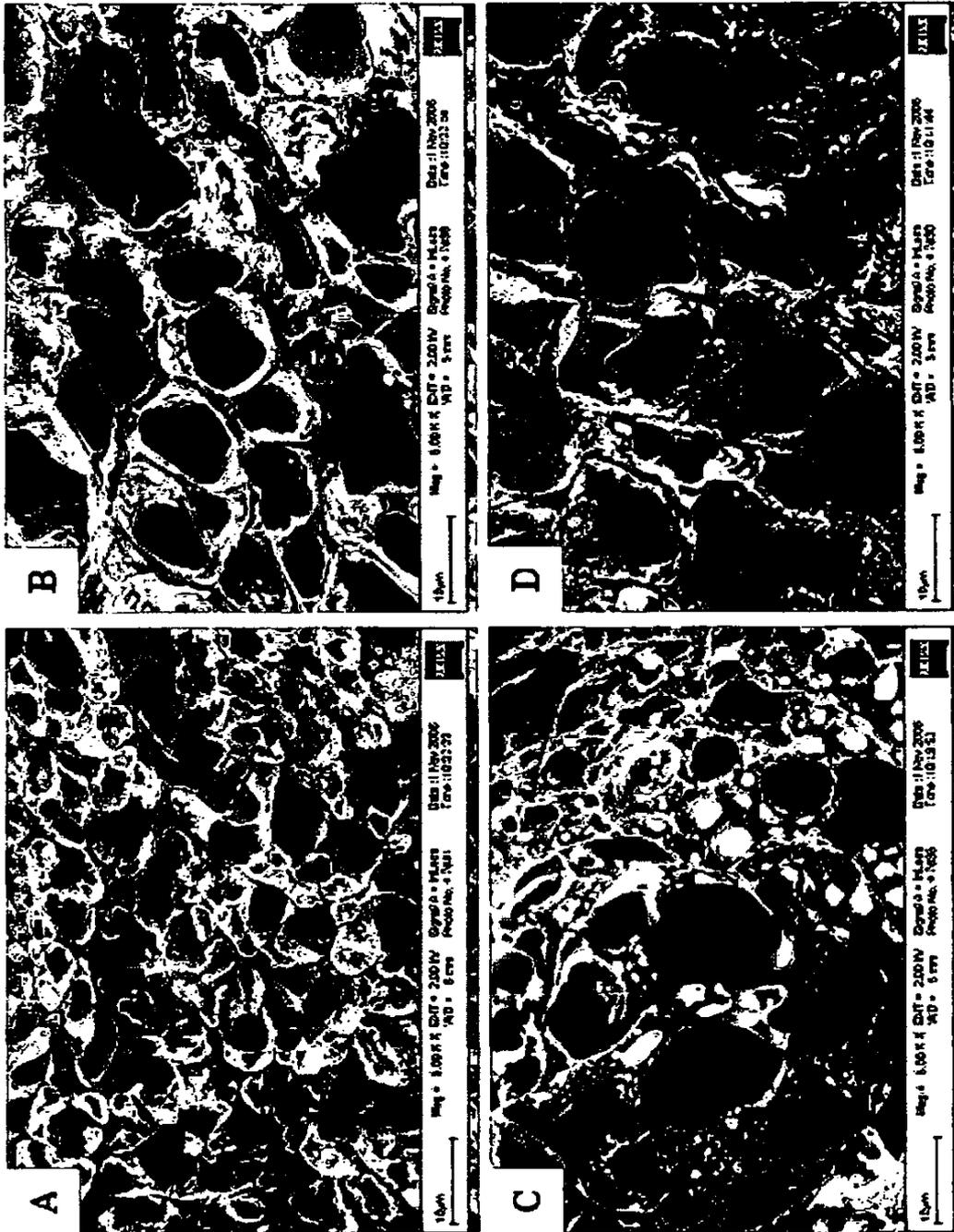


FIG. 6

PEG-PLA₁₂-MA

- 12.5 w/v% D+L
- 15 w/v% D+L
- ▲ 17.5 w/v% D+L
- △ 15 w/v% L

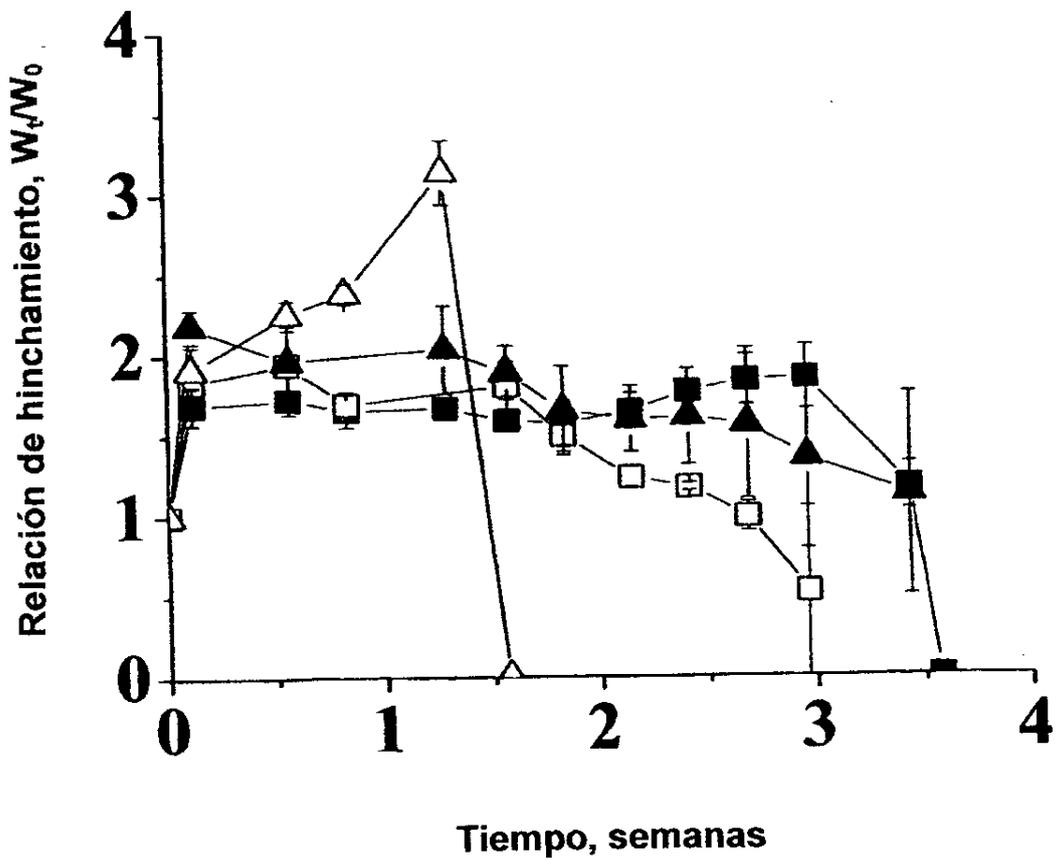


FIG. 7A

PEG-MA/PLA₁₆ D+L

- 12.5 w/v%
- 15 w/v%
- ▲ 17.5 w/v%

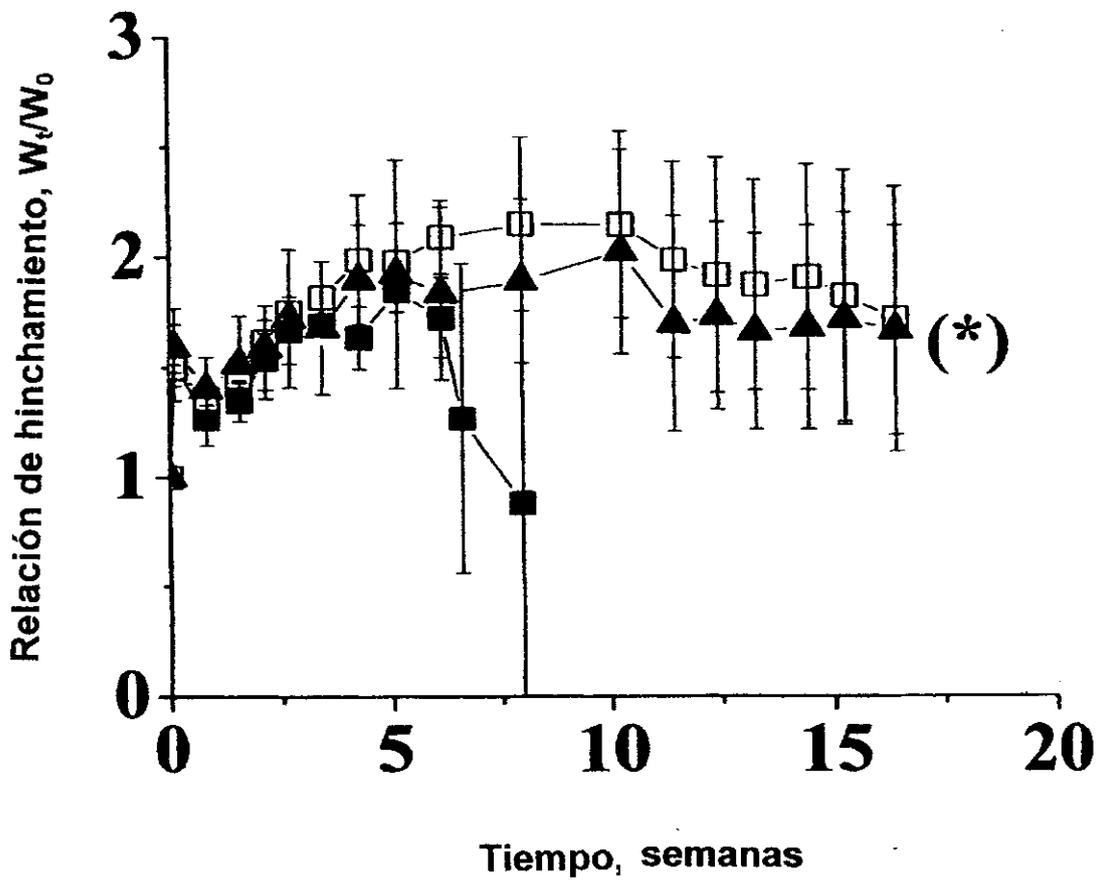


FIG. 7B

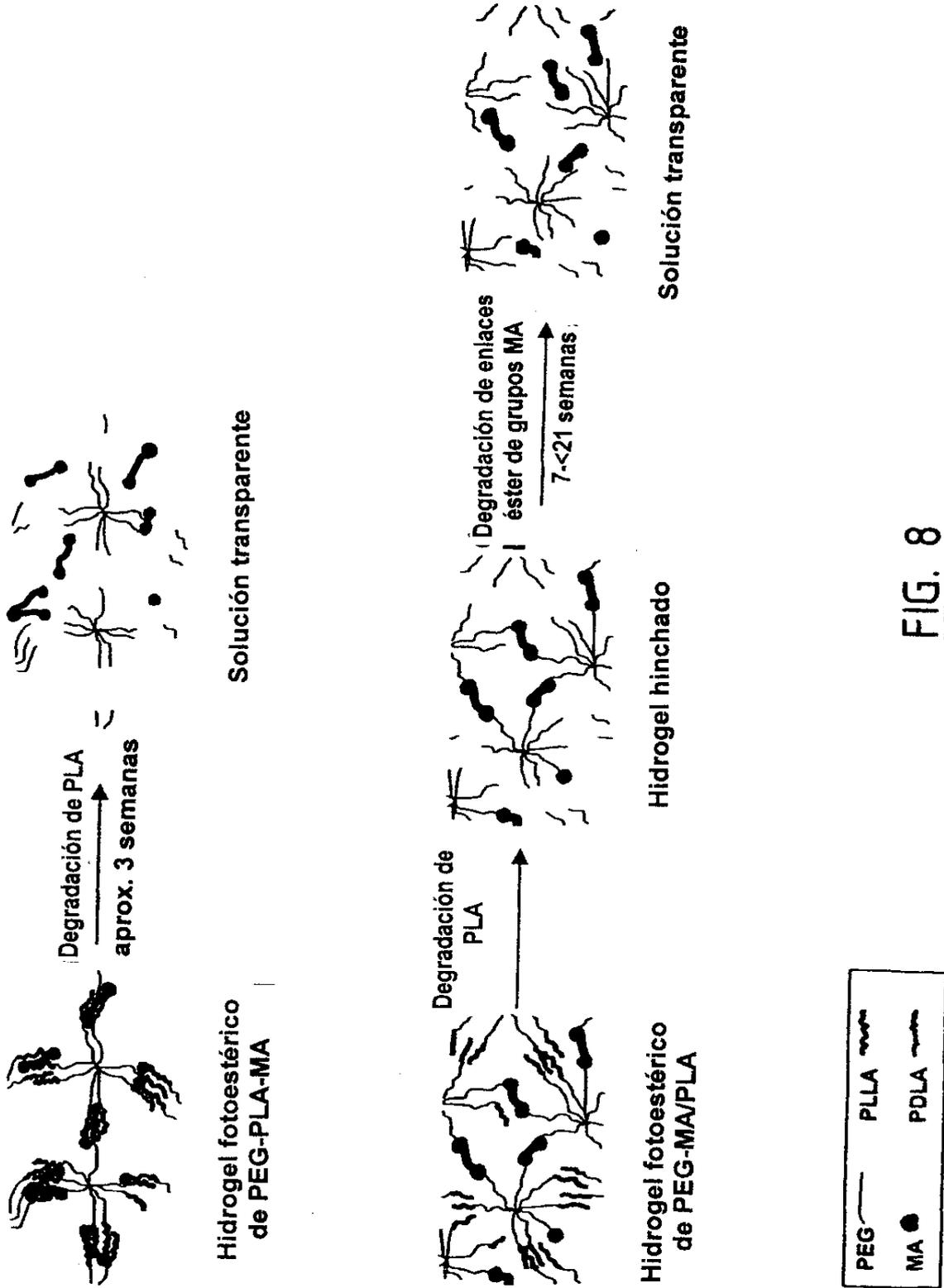


FIG. 8