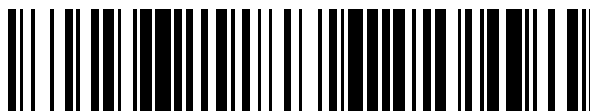


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 404 685**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/48** (2006.01)

**A61K 47/34** (2006.01)

**C08G 65/329** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.10.1999 E 99951885 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.01.2013 EP 1455839**

54 Título: **Derivados heterobifuncionales de poli(etilenglicol) y métodos para su preparación**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**28.05.2013**

73 Titular/es:

**NEKTAR THERAPEUTICS (100.0%)  
150 INDUSTRIAL ROAD  
SAN CARLOS, CA 94070, US**

72 Inventor/es:

**BENTLEY, MICHAEL, DAVID;  
HARRIS, J., MILTON y  
KOZLOWSKI, ANTONI**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

**ES 2 404 685 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

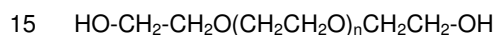
Derivados heterobifuncionales de poli(etilenglicol) y métodos para su preparación

5 **Campo de la invención**

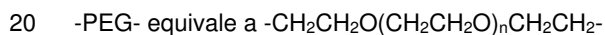
La invención se refiere a derivados heterobifuncionales de poli(etilenglicol) y a métodos para su preparación.

10 **Antecedentes de la invención**

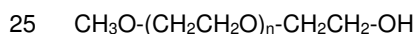
La unión covalente del polímero hidrófilo poli(etilenglicol), abreviado como (PEG), también conocido como poli(óxido de etileno), abreviado como (PEO), a moléculas y superficies tiene importantes aplicaciones en biotecnología y medicina. En su forma más común, PEG es un polímero lineal con grupos hidroxilo en cada extremo:



Esta fórmula puede representarse brevemente como HO-PEG-OH, en la que se entiende que -PEG- representa la estructura polimérica básica sin los grupos terminales:

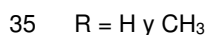


El PEG se usa normalmente como metoxi-PEG-OH, abreviado como mPEG, en donde uno de los extremos es el grupo relativamente inerte metoxi, mientras que el otro extremo es un grupo hidroxilo, de fácil modificación química.



Los expertos en la técnica entienden que el término poli(etilenglicol) o PEG representa o incluye todas las formas anteriores y otras más.

30 Los copolímeros de óxido de etileno y óxido de propileno están estrechamente relacionados con el PEG con respecto a sus propiedades químicas y pueden sustituirse por PEG en muchas de sus aplicaciones.

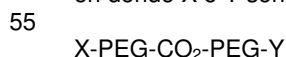


El PEG es un polímero útil con la propiedad de solubilidad en agua así como de solubilidad en numerosos disolventes orgánicos. Además, el PEG no es tóxico ni inmunógeno. Cuando el PEG se une químicamente a un compuesto insoluble en agua, generalmente, el conjugado resultante es soluble en agua así como también soluble en numerosos disolventes orgánicos. Normalmente, cuando la molécula a la que se une el PEG es biológicamente activa, como en el caso de un fármaco, esta actividad se mantiene después de la unión a PEG y el conjugado puede mostrar una farmacocinética alterada. Por ejemplo, Bentley y col., en Polymer Preprints, 38(1), 584 (1997), demostraron que la artemisinina, que es insoluble en agua, pasa a ser soluble en agua y muestra un aumento de la actividad contra la malaria cuando se acopla a PEG. Davis y col., en la patente de los EE. UU. n° 4.179.337, han demostrado que algunas proteínas acopladas a PEG presentan mayor tiempo de circulación en la sangre debido a una eliminación renal reducida y a una inmunogenicidad reducida. La falta de toxicidad del PEG y su rápida eliminación del cuerpo son ventajosas para aplicaciones farmacéuticas.

50 Dado que las aplicaciones de la química del PEG se han hecho más sofisticadas, ha aumentado la necesidad de PEG heterobifuncionales, es decir PEG con distintos grupos terminales:



en donde X e Y son grupos diferentes. Los PEG con grupos estructurales éster y grupos terminales X e Y:



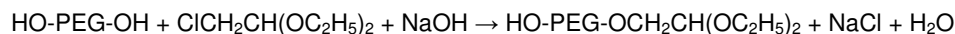
pueden considerarse como heterobifuncionales, incluso si X e Y son iguales, dado que cada unidad de PEG dentro de la estructura básica está sustituida de manera asimétrica.

60 Tales PEG heterobifuncionales con los grupos funcionales apropiados pueden usarse para enlazar los PEG a superficies o a otros polímeros, como polisacáridos o proteínas, con el otro extremo unido, por ejemplo, a un medicamento, un liposoma, otra proteína o un biosensor. Si uno de los extremos se une a un polímero y el otro extremo se une a un grupo funcional apropiado, puede producirse una reticulación para formar un hidrogel de utilidad.

65

El documento WO 1999/034833 A1 desvela acrilatos de poli(etilenglicol) heterobifuncionales degradables y geles y conjugados derivados de estos.

5 Sin embargo, con los métodos existentes, los PEG heterobifuncionales son a menudo difíciles o imposibles de preparar con alta pureza. Por ejemplo, podría llevarse a cabo la reacción siguiente con el uso de equivalentes molares de cada reactivo con el objetivo de preparar el producto acetal de PEG mostrado a continuación:



10 Sin embargo, en la práctica también se forma inevitablemente algo del dietilacetal de PEG disustituido  $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{CH}_2\text{O-PEG-OCH}_2\text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$  y también quedaría parte del PEG sin reaccionar. Para separar esta mezcla se requeriría una tediosa cromatografía.

15 La estrategia cromatográfica ha sido usada por Zalipsky (Bioconjugate Chemistry, 4: 296-299, 1993) para purificar el derivado heterobifuncional de PEG:



20 a partir de una mezcla de productos de reacción que también contiene PEG sin reaccionar y el derivado de ácido carboxílico disustituido.

25 En algunas aplicaciones es esencial que solo haya presente un mínimo de HO-PEG-OH en los monoalquil-PEG usados para preparar los PEG activados monofuncionales, ya que la presencia de HO-PEG-OH conduciría a derivados de PEG doblemente activados, lo que resultaría en productos reticulados o tendría otros efectos no deseables. De hecho, HO-PEG-OH es un contaminante común en los monoalquil-PEG. La estrategia cromatográfica se ha desvelado en la patente de los EE. UU. n° 5.298.410 para separar  $\text{CH}_3\text{O-PEG-OH}$  de HO-PEG-OH mediante formación de derivados de tritilo ( $\text{Ph}_3\text{C}$ ), separación cromatográfica de los derivados y eliminación del grupo tritilo de  $\text{CH}_3\text{O-PEG-OCPH}_3$ . En una solicitud de patente reciente, Suzawa y col. (documento WO 96/35451) desvelaron bencil-PEG ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-OPEG-OH}$ ) como un intermedio en la preparación de un PEG heterobifuncional con un grupo en un extremo con afinidad por una célula diana y una toxina en el otro extremo. Sin embargo, el bencil-PEG se preparó por bencilación de PEG, seguida de una laboriosa y exhaustiva cromatografía de gradiente para separar bencil-PEG de dibencil-PEG y de PEG sin reaccionar. El procedimiento se llevó a cabo a escala reducida y con un rendimiento de solo el 7,8%. Por lo tanto, el método tiene poco valor para una producción comercial útil.

35 Una segunda estrategia, la estrategia de polimerización, para la preparación de los PEG heterobifuncionales implica la polimerización aniónica de óxido de etileno sobre un anión X, que finalmente se convierte en el grupo terminal del polímero:



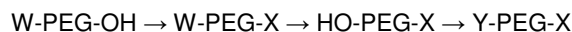
40 Este método ha sido usado por Yokoyama y col. (Bioconjugate Chemistry, 3: 275-276, 1992) para preparar un PEG con un grupo hidroxilo en un extremo y un grupo amino en el otro extremo. Cammas y col. (Bioconjugate Chemistry, 6: 226-230, 1995) han usado este método para preparar PEG con un grupo amino en un extremo y un grupo hidroxilo o metoxi en el otro extremo. También ha sido usado por Nagasaki y col. (Bioconjugate Chemistry, 6: 231-233, 1995) para preparar un PEG con un grupo formilo en un extremo y un grupo hidroxilo en el otro extremo. En general, este método solo es útil si X es un grupo adecuado y deseado sobre el que iniciar la polimerización; frecuentemente no es este el caso. Además la aplicación satisfactoria de este método requiere una rigurosa exclusión de agua para evitar la formación de HO-PEG-OH y este problema se hace más grave a medida que aumenta el peso molecular. También es necesario controlar cuidadosamente el grado de polimerización con el fin de obtener el peso molecular deseado del derivado de PEG. Este método está limitado por la degradación de muchos tipos de moléculas de fármacos en las rigurosas condiciones de la polimerización si dicha polimerización del óxido de etileno se realiza directamente sobre la molécula del fármaco. Además, el método está limitado por una falta de selectividad si hay presente más de un grupo funcional sobre el que pueda tener lugar la polimerización.

55 Sería deseable proporcionar métodos adicionales para la preparación de PEG heterobifuncionales que eliminen sustancialmente al menos algunos de los problemas y desventajas de los métodos anteriores.

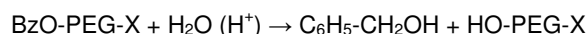
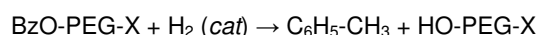
### Sumario de la invención

60 Dentro del alcance definido por las reivindicaciones adjuntas, esta invención proporciona un método para la preparación de derivados heterobifuncionales de poli(etilenglicol) a través de un intermedio de PEG que contiene un

grupo eliminable en un extremo. Se proporcionan derivados de PEG del tipo W-PEG-OH, en donde W es un grupo eliminable por métodos químicos suaves, que se alteran primeramente mediante la modificación del grupo OH para obtener un grupo deseado X, seguida de la eliminación de W para generar un segundo grupo hidroxilo. Este último grupo hidroxilo puede alterarse posteriormente para obtener un segundo grupo funcional Y, con lo que se proporciona el PEG heterobifuncional deseado:

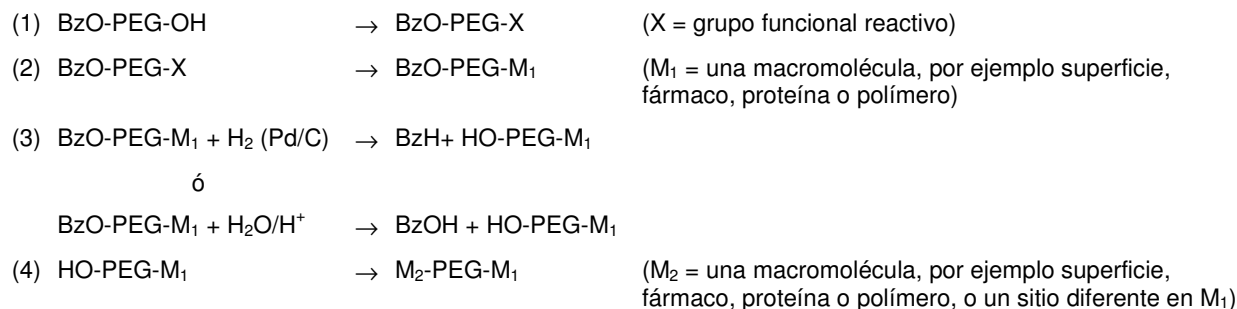


Un grupo eliminable preferido es el grupo benciloxi ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{-O-}$ ), aunque pueden usarse otros grupos arilmetilo, incluidos, pero sin limitarse a 4-metilbencilo, 3-metilbencilo, 4-clorobencilo, 4-metoxibencilo, difenilmetilo, trifenilmetilo o 1-naftilmetilo. También son suficientes grupos diarilmetilo y triarilmetilo. Por ejemplo, benciloxi-PEG-OH ( $\text{BzO-PEG-OH}$ ) puede prepararse con alta pureza por polimerización de óxido de etileno sobre el ión de óxido de bencilo,  $\text{BzO}^-$ . Al llevar a cabo la reacción en condiciones anhidras cuidadosamente controladas, el producto derivado heterobifuncional puede prepararse con una cantidad mínima de HO-PEG-OH. Una ventaja del bencilo y de otros grupos arilmetilo es que pueden eliminarse del PEG en condiciones relativamente suaves por hidrogenolisis catalítica o por hidrólisis catalizada por ácido.

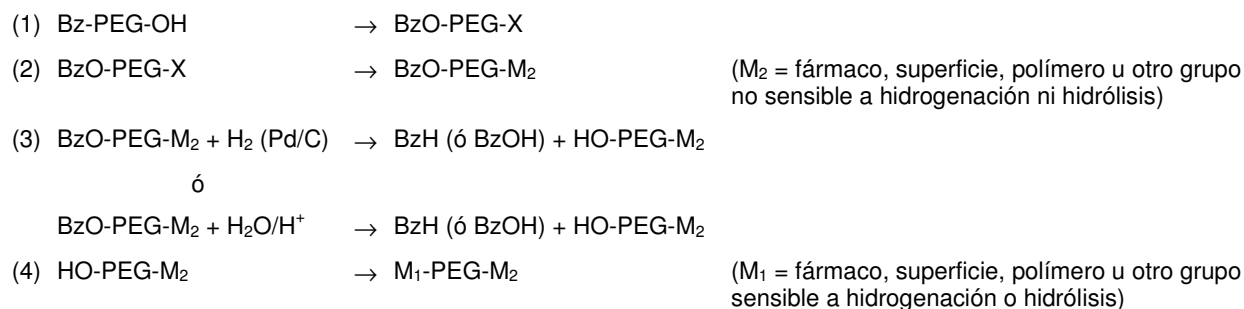


En las reacciones anteriores, *cat* es un catalizador como paladio sobre carbón.

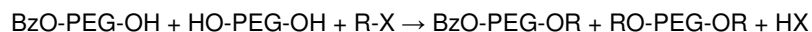
En una realización de la invención, el método se usa en la conjugación de PEG o de otros polímeros relacionados con macromoléculas como proteínas, lípidos, polisacáridos u otros polímeros o superficies. Primeramente, el grupo hidroxilo del polímero intermedio  $\text{BzO-PEG-OH}$  se convierte en un primer grupo funcional reactivo. Este grupo funcional reactivo permite la unión de  $\text{BzO-PEG-}$  a una macromolécula. El grupo bencilo se elimina entonces por hidrogenolisis o hidrólisis, sin afectar químicamente a la macromolécula, con lo que queda disponible un nuevo grupo hidroxilo terminal en el derivado de PEG. Este nuevo grupo hidroxilo puede usarse directamente para unir este extremo del derivado de PEG a la misma o a otra macromolécula. Alternativamente, el grupo hidroxilo puede convertirse posteriormente en un segundo grupo funcional reactivo que se usa entonces para unir el derivado de PEG a una macromolécula. Si el segundo grupo funcional reactivo se une a otro polímero, puede generarse un polímero reticulado de utilidad como un hidrogel. El esquema de la reacción puede ilustrarse de forma general como sigue:



Si se desea, puede manipularse el orden de la secuencia de reacción para evitar la destrucción de un grupo químico sensible a la hidrogenación o la hidrólisis:



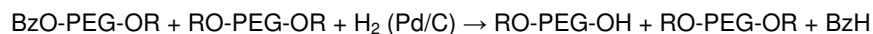
En otra realización de la invención, se desvela un método para inhibir la reactividad de HO-PEG-OH en una mezcla de W-O-PEG-OH y HO-PEG-OH. En esta estrategia, la alquilación de un W-O-PEG-OH que contiene HO-PEG-OH produce una mezcla de W-O-PEG-OR y RO-PEG-OR, en donde R es un grupo alquilo.



X es un grupo saliente como mesilato o tosilato.

5

La hidrogenación catalítica convierte BzO-PEG-OR en RO-PEG-OH.



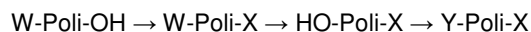
10 Por lo tanto, se produce una mezcla de RO-PEG-OH y RO-PEG-OR. A diferencia de HO-PEG-OH, RO-PEG-OR es inerte y no reactivo. Por lo tanto, la mezcla es equivalente a un producto puro de RO-PEG-OH en la mayoría de las reacciones.

15 Los anteriores y otros objetos, ventajas y características de la invención y la manera en la que estos se logran serán más evidentes si se considera la siguiente descripción detallada de la invención.

### Descripción detallada de la invención

20 Esta invención proporciona un método para la preparación, con gran pureza y rendimiento, de derivados heterobifuncionales de poli(etilenglicol) o polímeros relacionados. En el método no es necesaria ninguna etapa de purificación cromatográfica. De acuerdo con el método de la invención, se proporciona un polímero intermedio con la fórmula W-Poli-OH que contiene un grupo eliminable W en un extremo. El polímero intermedio W-Poli-OH se altera primeramente mediante la modificación del grupo OH para obtener un primer grupo funcional X, seguida de la eliminación de W para generar un segundo grupo hidroxilo. Este último grupo hidroxilo puede convertirse posteriormente en un segundo grupo funcional Y, con lo que se proporciona el derivado heterobifuncional deseado.

25



30 En la discusión a continuación, por conveniencia, Poli se denominará frecuentemente PEG o poli(etilenglicol). Sin embargo, deberá entenderse que otros polímeros relacionados, según se definen en las reivindicaciones adjuntas, también son adecuados para su uso en la práctica de la invención y que se pretende que el uso de los términos PEG o poli(etilenglicol) sea inclusivo y no exclusivo a este respecto.

35 El poli(etilenglicol) o PEG tiene utilidad en aplicaciones biológicas porque presenta propiedades muy deseables y generalmente está autorizado para aplicaciones biológicas o de biotecnológicas. Típicamente, el PEG es claro, incoloro, inodoro, soluble en agua, estable al calor, inerte frente a numerosos agentes químicos, no se hidroliza ni deteriora y no es tóxico. Se considera que el poli(etilenglicol) es biocompatible, lo que quiere decir que el PEG es capaz de coexistir con tejidos u organismos vivos sin causarles ningún daño. Más específicamente, el PEG no es inmunógeno, lo que quiere decir que el PEG no tiende a producir una respuesta inmunitaria en el cuerpo. Cuando está unido a una fracción que tiene una función deseable en el cuerpo, el PEG tiende a enmascarar dicha fracción y puede reducir o eliminar cualquier respuesta inmunitaria, de modo que un organismo puede tolerar la presencia de la fracción. Por consiguiente, el derivado heterobifuncional de la invención debería ser sustancialmente no tóxico y no debería tener tendencia sustancial a producir una respuesta inmunitaria ni causar coagulación u otros efectos no deseables.

45

50 El PEG con la fórmula  $-\text{CH}_2\text{CHO}_2-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ , en donde n es de aproximadamente 8 a aproximadamente 4.000, es un polímero útil en la práctica de la invención. Otros polímeros no peptídicos difuncionales, solubles en agua, distintos de PEG, según se definen en las reivindicaciones adjuntas son también adecuados para la presente invención. Estos otros polímeros incluyen otros poli(óxidos de alquileo) como poli(propilenglicol) ("PPG") y similares; y poli(polioloxietilados) como poli(glicerol oxietilado), poli(sorbitol oxietilado) y poli(glucosa oxietilada). Los polímeros pueden ser homopolímeros o copolímeros y terpolímeros al azar o de bloques basados en los monómeros de los polímeros anteriores, de cadena lineal o ramificados.

55 Un polímero adicional adecuado es poli(acrililmorfolina) difuncional ("PACM"), cuya síntesis y uso se describen en las patentes de EE. UU. n<sup>os</sup> 5.629.384 y 5.631.322.

60 Los términos "grupo", "grupo funcional", "fracción", "fracción activa" y "sitio reactivo" son en cierto modo sinónimos en las técnicas químicas y se usan en la técnica y en este documento para referirse a porciones o unidades distintas y definibles de una molécula y a unidades que realizan alguna función o actividad y que son reactivas con otras moléculas o porciones de moléculas.

El término "enlace" se usa para referirse a grupos que normalmente se forman como resultado de una reacción química y típicamente son enlaces covalentes.

65 Deberá entenderse que con "fármaco" se indica cualquier sustancia destinada al diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de una enfermedad en humanos y en otros animales o para mejorar de otra manera el

bienestar físico o mental.

El término "macromolécula" se usa para indicar moléculas de gran tamaño que incluyen, pero no se limitan a lípidos, polisacáridos, proteínas, secuencias nucleotídicas, fármacos, polímeros, etc. A menudo es deseable conjugar los polímeros descritos anteriormente con tales macromoléculas.

De acuerdo con la invención, el grupo eliminable W puede eliminarse del polímero W-Poli-X mediante reacciones químicas suaves. Tales reacciones químicas pueden llevarse a cabo en condiciones en las que otras fracciones del polímero W-poli-X, en particular el primer grupo funcional X, no se modifiquen de manera no deseada. Preferentemente, W tiene la fórmula  $Ar-C(R_1)(R_2)-O-$ , en donde Ar representa una fracción seleccionada del grupo que consiste en fenilo, fenilo sustituido, bifenilo, bifenilo sustituido, arilos policíclicos, arilos policíclicos sustituidos y arilos heterocíclicos, en donde  $R_1$  y  $R_2$  son H, alquilo o Ar, el cual se define anteriormente. Por lo tanto, algunos ejemplos ilustrativos del grupo eliminable W incluyen, pero no se limitan al grupo benciloxi ( $C_6H_5CH_2-O-$ ) y otros grupos arilmetiloxi incluidos, pero si limitarse a 4-metilbenciloxi, 3-metilbenciloxi, 4-clorobenciloxi, 4-metoxibenciloxi, difenilmetiloxi, trifenilmetiloxi y 1-naftilmetiloxi. Los grupos arilmetiloxi pueden eliminarse del polímero en condiciones relativamente suaves por hidrogenólisis catalítica o por hidrólisis catalizada por ácido.

De acuerdo con la invención, el polímero intermedio W-Poli-OH se sintetiza preferentemente, por ejemplo, por polimerización de los monómeros de los polímeros adecuados sobre el ión de óxido de arilmetilo. Por ejemplo, benciloxi-PEG-OH (BzO-PEG-OH) puede prepararse con gran pureza y rendimiento por polimerización de óxido de etileno sobre el ión de óxido de bencilo  $BzO^-$ . Preferentemente, la reacción de polimerización se realiza en condiciones anhidras. De acuerdo con este aspecto de la invención, se minimiza la producción de HO-PEG-OH. No se requiere una exhaustiva purificación por cromatografía de gradiente y el rendimiento de BzO-PEG-OH es alto. Esto está en contraste con el método anterior de la técnica de bencilación de PEG, seguida de una laboriosa y exhaustiva cromatografía de gradiente, que inevitablemente conduce a costes elevados y bajo rendimiento, lo que hace que el método sea poco valioso para la producción comercial.

De acuerdo con la invención, el producto final del derivado heterobifuncional de poli(etilenglicol) o polímeros relacionados tiene la fórmula Y-Poli-X. El primer grupo funcional X y el segundo grupo funcional Y son fracciones reactivas capaces de reaccionar con otras moléculas con las que se desea conjugar a los derivados de PEG, por ejemplo, macromoléculas, incluidas, pero sin limitarse a proteínas, lípidos, polisacáridos y otros polímeros. El primer grupo funcional X se selecciona entre mesilato; tosilato; tresilato;  $-O-(CH_2)_n-CO_2R_3$ , en donde  $n = 1-6$  y  $R_3$  es un grupo alquilo;  $-NHR_4$ , en donde  $R_4$  es H o alquilo o un grupo protector de aminas como t-Boc y Fmoc;  $-O-(CH_2)_n-CH(ZR_5)_2$ , en donde n es un número de 1 a 6, Z es O o S,  $R_5$  es H o un grupo alquilo; arilos y arilos heterocíclicos; y  $-O-(CH_2)_n-CHO$ .

Algunos ejemplos del segundo grupo funcional Y incluyen, pero no se limitan a un grupo hidroxilo; mesilato; tosilato; tresilato;  $-O-(CH_2)_n-CO_2H$ , en donde  $n = 1-6$ ;  $-O-(CH_2)_n-CO_2R_3$ , en donde  $n = 1-6$  y  $R_3$  es un grupo alquilo;  $-NHR_4$ , en donde  $R_4$  es H o alquilo o un grupo protector de aminas como t-Boc o Fmoc;  $-O-(CH_2)_n-CH(ZR_5)_2$ , en donde n es un número de 1 a 6, Z es O o S,  $R_5$  es H o un grupo alquilo;  $Ar-CH=CH-CH=CH-CO_2-$ , en donde Ar representa una fracción seleccionada del grupo que consiste en fenilo, fenilo sustituido, bifenilo, bifenilo sustituido, arilos policíclicos, arilos policíclicos sustituidos y arilos heterocíclicos;  $-O-(CH_2)_n-CHO$ ;  $-O_2CCH_2CH_2CO_2R_6$ , en donde  $R_6$  es H o NHS, que representa N-succinimidilo; y  $CH_2=CH-CO_2-$ . En un derivado de poli(etilenglicol) de fórmula Y-Poli-X, el primer grupo funcional X y el segundo grupo funcional Y son distintos entre sí, con lo que asegura que el polímero sea heterobifuncional.

Preferentemente, cuando X es  $-O-(CH_2)_n-CH(ZR_5)_2$ , en donde n es un número de 1 a 6, Z es O o S y  $R_5$  es H o un grupo alquilo, Y es  $-O_2CCH_2CH_2CO_2R_6$ , en donde  $R_6$  es H o NHS.

Aunque el esquema de reacción del método de la presente invención se demuestra anteriormente en las ecuaciones:  $W-Poli-OH \rightarrow W-Poli-X \rightarrow HO-Poli-X \rightarrow Y-Poli-X$ , deberá entenderse que puede haber más de una etapa de reacción química entre dos cualesquiera de los productos de las ecuaciones. Por ejemplo, pueden tener lugar varias etapas secuenciales de reacción para convertir el grupo hidroxilo termina de W-poli-OH en el primer grupo funcional X. Igualmente, pueden llevarse a cabo varias etapas de reacción para modificar el nuevo grupo hidroxilo de HO-Poli-X para producir el segundo grupo funcional Y.

Además, en una realización de la invención, antes de la etapa de eliminación del grupo eliminable W, el polímero W-Poli-X puede enlazarse con una macromolécula o superficie a través de un enlace formado entre el primer grupo funcional reactivo X y una fracción adecuada en la superficie de la macromolécula, con lo que se conjuga la porción W-Poli- del polímero con la macromolécula:  $W-Poli-M_1$ , en donde  $M_1$  es una macromolécula como una proteína, péptido, lípido, fármaco, polisacárido u otros polímeros o la superficie de una sustancia, por ejemplo, un microorganismo. A continuación, el grupo eliminable W en el conjugado  $W-Poli-M_1$  se elimina mediante reacciones químicas suaves como, por ejemplo, hidrogenólisis catalítica o hidrólisis catalizada por ácido. El -OH resultante puede hacerse reaccionar directamente, por ejemplo, con otra macromolécula  $M_2$ , como una proteína, péptido, lípido, fármaco, polisacárido u otros polímeros o con la superficie de una sustancia, por ejemplo, un microorganismo, para formar  $M_2-Poli-M_1$ . Opcionalmente, si no se desea la conjugación con otra macromolécula, el grupo -OH puede

convertirse en un grupo no reactivo inerte, por ejemplo protegido por alquilación. Alternativamente, el grupo -OH resultante puede convertirse en un grupo funcional reactivo Y según se describe anteriormente: Y-Poli-M<sub>1</sub>. El grupo funcional Y puede hacerse reaccionar después con M<sub>2</sub> para formar M<sub>2</sub>-Poli-M<sub>1</sub>.

- (1) W-Poli-OH → W-Poli-X (X = grupo funcional reactivo)
- (2) W-Poli-X → W-Poli-M<sub>1</sub> (M<sub>1</sub> = una macromolécula, por ejemplo superficie, fármaco, proteína o polímero)
- (3) W-Poli-M<sub>1</sub> + H<sub>2</sub> (Pd/C) → WH + HO-Poli-M<sub>1</sub>
- ó
- W-Poli-M<sub>1</sub> + H<sub>2</sub>O/H<sup>+</sup> → WOH + HO-Poli-M<sub>1</sub>
- (4) HO-Poli-M<sub>1</sub> → Y<sub>2</sub>-Poli-M<sub>1</sub>
- (5) Y-Poli-M<sub>1</sub> + M<sub>2</sub> → M<sub>2</sub>-Poli-M<sub>1</sub> (M<sub>2</sub> = una macromolécula, por ejemplo superficie, fármaco, proteína o polímero o un sitio diferente en M<sub>1</sub>)

5

En este método pueden producirse hidrogeles a través de la reticulación de varias macromoléculas diferentes por medio del polímero relacionado con PEG, Poli. Sin embargo, deberá entenderse que, de acuerdo con esta invención, los dos grupos funcionales X e Y también pueden enlazarse con la misma macromolécula, en lo que la conjugación de los polímeros relacionados con PEG con la macromolécula puede dar lugar a una cubierta de polímero sobre dicha macromolécula.

10

En otra realización de la invención, el derivado heterobifuncional de PEG o un polímero relacionado, Y-Poli-X, preparado según se describe anteriormente, puede hacerse reaccionar con macromoléculas u otras sustancias a través de los grupos funcionales X e Y y las fracciones reactivas en las macromoléculas u otras sustancias. Por ejemplo, X e Y pueden seleccionarse de modo que dos tipos diferentes de macromolécula u otra sustancia puedan enlazarse a X e Y, respectivamente. También es posible seleccionar X e Y de modo que reaccionen con los mismos tipos de macromoléculas.

15

Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar la invención, pero no deberán considerarse una limitación de dicha invención.

20

Ejemplo 1. Síntesis de HO-PEG-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> Cl<sup>-</sup>

Ejemplo 2. Síntesis de HO-PEG-OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H

25

Ejemplo 5. Síntesis de C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH=CH-CH=CH-CO<sub>2</sub>PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>

Ejemplo 9. Síntesis de NHS-O<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>

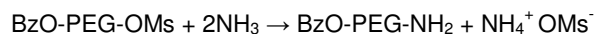
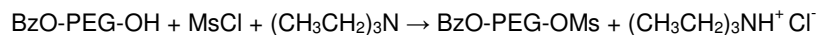
30

### Ejemplo 1

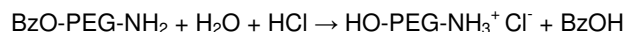
#### Preparación de HO-PEG-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> Cl<sup>-</sup>

REACCIONES:

35



40



a) Preparación de BzO-PEG-OMs: BzO-PEG-OH (PM = 3.400, 34 g, 10 mmol) en 150 ml de tolueno se destiló azeotrópicamente durante dos horas en atmósfera de nitrógeno y la disolución se enfrió a temperatura ambiente. A la disolución se le añadieron 40 ml de cloruro de metileno seco y 2,1 ml de trietilamina seca (15 mmol). La disolución se enfrió en un baño de hielo y se le añadieron gota a gota 1,2 ml de cloruro de mesilo seco (15 mmol). La disolución se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante la noche y la reacción se detuvo mediante la adición de 2 ml de etanol absoluto. La mezcla se evaporó al vacío para eliminar los disolventes, principalmente aquellos distintos de tolueno, se filtró, se concentró de nuevo al vacío y después se precipitó con 100 ml de éter etílico. El producto se recogió por filtración y se secó al vacío. Rendimiento: 34 g (100%), RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 3,5 (m ancho, PEG), 4,31 (t, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMs), 4,49 (s, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>-OPEG-), 7,33 (s + multiplete complejo, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>-OPEG-).

50

b) Preparación de BzO-PEG-NH<sub>2</sub>: BzO-PEG-OMs (25 g, 7,35 mmol) se disolvió en 500 ml de una disolución

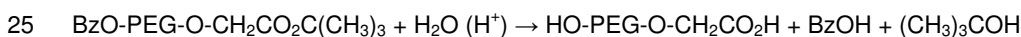
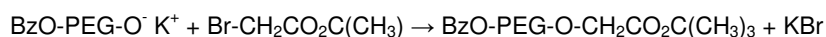
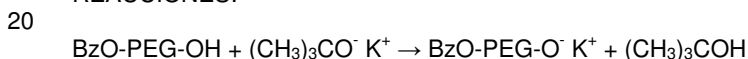
amónica acuosa que contenía 5 g de cloruro de amonio y la disolución se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. Después, la disolución se extrajo tres veces con cloruro de metileno. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró, se condensó al vacío y el producto se precipitó con 100 ml de éter etílico. El producto se recogió por filtración y se secó al vacío. Rendimiento: 23 g (92%), RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 3,5 (m ancho, PEG), 2,9 (t, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 4,49 (s, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>-OPEG-), 7,33 (s + multiplete complejo, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>-OPEG-).

c) Preparación de HO-PEG-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> Cl<sup>-</sup>: una disolución de BzO-PEG-NH<sub>2</sub> (46 g, 14 mmol) en 200 ml de HCl concentrado (12 M) se agitó a temperatura ambiente durante 44 horas. Después se diluyó a 1.200 ml con agua y se añadió NaCl para obtener una disolución al 15%. La disolución acuosa se extrajo tres veces con cloruro de metileno y los extractos combinados se secaron sobre sulfato de sodio. El cloruro de metileno se concentró al vacío y el producto se precipitó por la adición de éter. El producto se recogió por filtración y se secó al vacío a temperatura ambiente. Rendimiento: 42 g (95%). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 2,96 (t, CH<sub>2</sub>-N), 3,5 (m ancho, PEG), 4,6 (ancho, OH), 7,9 (ancho, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>).

## 15 Ejemplo 2

### Preparación de HO-PEG-OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H

REACCIONES:



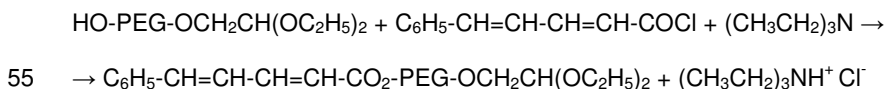
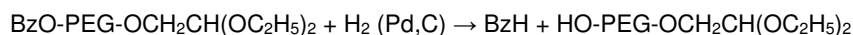
a) Preparación de BzO-PEG-OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>: BzO-PEG-OH (PM = 3.400, 40 g, 11,7 mmol) se secó azeotrópicamente con 250 ml de tolueno en atmósfera de N<sub>2</sub>. Después de dos horas, la disolución se enfrió a temperatura ambiente. A la disolución de PEG anterior se le añadieron *tert*-butóxido de potasio (2,8 g, 23,5 mmol) disuelto en 90 ml de *tert*-butanol y 90 ml de tolueno. La mezcla se agitó durante dos horas a temperatura ambiente. Se añadió bromoacetato de *tert*-butilo (4 ml, 26,3 mmol) y la disolución se agitó en atmósfera de N<sub>2</sub> a temperatura ambiente durante la noche. La disolución se filtró, se condensó al vacío y se precipitó con 300 ml de éter. El producto se recogió por filtración y se secó al vacío. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,5 (s, t-Bu), 3,51 (m, PEG), 3,98 (s, -OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>-), 4,49 (s, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>O-), 7,33 (s + multiplete complejo, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>O-).

b) Preparación de HO-PEG-OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H: BzO-PEG-OCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (10 g) se disolvió en 100 ml de ácido clorhídrico (37%) y la disolución se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. La disolución se diluyó con un litro de agua destilada y el pH se ajustó a 2 con una disolución de hidróxido de sodio 1 N. Después, la disolución se extrajo tres veces con cloruro de metileno. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró para eliminar la sal, se condensó al vacío y se precipitó con éter. El producto se recogió por filtración y se secó al vacío. Rendimiento: 8,5 g (85%), RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 3,51 (m ancho, PEG), 4,01 (s, -PEGOCH<sub>2</sub>COOH).

## Ejemplo 5

### 45 Preparación de C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH=CH-CH=CH-CO<sub>2</sub>PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>

REACCIONES:



a) Preparación de BzO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>: en un matraz de fondo redondo y tres bocas de 500 ml se pusieron 300 ml de dioxano y 14 g de BzO-PEG-OH (PM = 3.400, 0,0040 mol). La disolución resultante se secó después azeotrópicamente por destilación de 130 ml de disolvente en atmósfera de N<sub>2</sub>. Después de enfriar la disolución, se le añadió NaOH finamente pulverizado (0,8 g, 0,02 mol) y ClCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (3 ml, 0,02 mol) en atmósfera de N<sub>2</sub> y la suspensión resultante se agitó rápidamente mientras se mantenía a reflujo durante 24 horas. Después se eliminaron 30 ml de dioxano por destilación y la disolución agitada rápidamente se mantuvo a reflujo en atmósfera de N<sub>2</sub> durante 24 horas más. A continuación, la suspensión se enfrió y se filtró con la adición de Celite®. El filtrado se evaporó al vacío y al aceite residual se le añadieron 200 ml de éter etílico. El precipitado resultante se recogió por filtración y se secó al vacío a temperatura ambiente para obtener un polvo de color tostado (13,6 g). El polvo se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (35 ml) y se reprecipitó mediante la adición de 500 ml de éter etílico frío. El precipitado se recogió



por filtración y se secó al vacío a temperatura ambiente para obtener 13,0 g de BzO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> como un polvo blanco (pureza del 94-98% por RMN <sup>1</sup>H). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,11 (t, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,51 (m ancho, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O), 4,48 (s, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>O), 4,55 (t, -CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>), 7,32 (s, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

5 b) Preparación de HO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>: BzO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (13 g) se disolvió en 150 ml de etanol al 95% y se añadieron 6,5 g de Pd al 10% sobre carbón en atmósfera de N<sub>2</sub>. La suspensión se agitó durante 70 horas en atmósfera de H<sub>2</sub> (40 psi / 0,28 MPa) y se filtró. El catalizador residual se lavó con 2 x 25 ml de cloroformo en ebullición, los lavados se combinaron con el filtrado de etanol y la mezcla se evaporó al vacío para obtener un aceite claro e incoloro. Al aceite se le añadieron 400 ml de éter etílico frío y el precipitado resultante se recogió por filtración para, después de secarlo al vacío a temperatura ambiente, obtener 11,3 g de HO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> como un polvo blanco (pureza del 92% por RMN <sup>1</sup>H). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,10 (t, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,51 (m ancho, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O), 4,55 (m, HO + -CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

15 c) Preparación de C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH=CH-CH=CH-CO<sub>2</sub>PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>: una disolución de ácido cinamilidenoacético (1,7 g, 0,01 mol) y cloruro de tionilo (3 ml, 0,04 mol) en 50 ml de hexano se calentó a reflujo en atmósfera de N<sub>2</sub> durante cuatro horas, después se filtró para eliminar una pequeña cantidad de un sólido oscuro y el filtrado se evaporó al vacío. El residuo se secó al vacío durante la noche a temperatura ambiente para obtener 1,5 g de cloruro de cinamilidenoacetilo como un sólido amarillo (p. f. 51-52 °C).

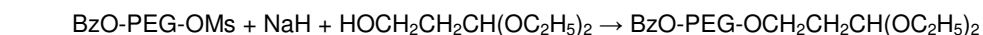
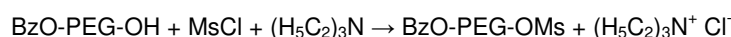
20 Una disolución de HO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (3,4 g, 1,0 mmol) en tolueno (50 ml) se destiló azeotrópicamente en atmósfera de nitrógeno durante dos horas para eliminar los restos de agua y después se enfrió a temperatura ambiente. Se destiló trietilamina de KOH en atmósfera de nitrógeno y 0,28 ml (2 mmol) del destilado fresco se inyectaron en atmósfera de nitrógeno en la disolución de HO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> en tolueno. A la disolución resultante se le añadió gota a gota cloruro de cinamilidenoacetilo (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH=CH-CH=CHCOCl) en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente con agitación rápida. La agitación se continuó durante tres días en las mismas condiciones y el precipitado blanco se eliminó por filtración. El filtrado se evaporó al vacío hasta 20 ml y se le añadieron 300 ml de éter frío. El precipitado amarillo pálido se recogió por filtración y se secó al vacío para obtener 3,4 g de un polvo amarillo pálido. El polvo se disolvió en cloruro de metileno y se extrajo una vez con 50 ml de cloruro de sodio acuoso saturado y una vez con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se evaporó hasta 25 ml y se le añadieron 300 ml de éter frío en agitación. El precipitado resultante se recogió por filtración y se secó al vacío a temperatura ambiente para obtener 3,05 g (86%) de C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH=CH-CH=CH-CO<sub>2</sub>PEG-OCH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> como un polvo amarillo pálido. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,11 ppm (t, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O-), 3,51 ppm (m, PEG-O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-O + CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O-); 4,20 ppm (t, -CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>C-), 4,52 ppm (t, -CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>), 6,11 (d, =CH), 7,57-7,12 (multiplete complejo, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>- + =CH). Pureza del 89-96% por RMN.

35

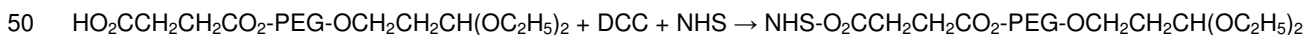
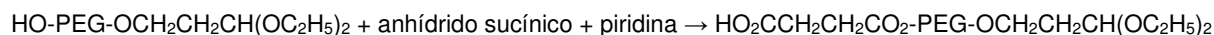
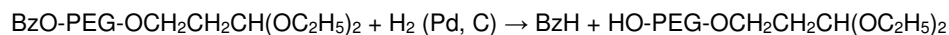
### Ejemplo 9

#### Preparación de NHS-O<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>

40 REACCIONES:



45



55 a) Preparación de BzO-PEG-OMs: BzO-PEG-OH (PM = 3.400, 25 g, 7,35 mmol) en 150 ml de tolueno se destiló azeotrópicamente durante una hora en atmósfera de nitrógeno y la disolución se enfrió a temperatura ambiente. A la disolución se le añadieron 20 ml de cloruro de metileno seco, 1,14 ml de trietilamina seca (8,16 mmol) y 0,61 ml de cloruro de mesilo seco (7,86 mmol) gota a gota. La disolución se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante la noche y la reacción se detuvo mediante la adición de 5 ml de etanol absoluto. La mezcla se concentró al vacío, se filtró, se concentró de nuevo al vacío y se precipitó con éter etílico. El producto se recogió por filtración y se secó al vacío. Rendimiento: 23 g (100%). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 3,5 (m ancho, PEG), 4,31 (t, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMs), 4,49 (s, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>-O-PEG-), 7,33 (s + multiplete complejo, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>-OPEG-).

60

65 b) Preparación de BzO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>: una disolución de 3,3-dietoxipropanol (9,806 g, 66,2 mmol) se destiló azeotrópicamente en 90 ml de tolueno durante una hora en atmósfera de nitrógeno. Después de enfriarla a temperatura ambiente, la disolución se añadió a una dispersión de hidruro de sodio (al 60% en aceite mineral, 2,75 g, 68,7 mmol) en 50 ml de tolueno anhidro. La disolución se mezcló durante dos horas con calentamiento suave a 35 °C y después se filtró. El filtrado se añadió a una disolución destilada azeotrópicamente de BzO-PEG-OMs (23 g, 6,76 mmol) en 150 ml de tolueno. La mezcla se agitó durante 20 horas a 125 °C en atmósfera de nitrógeno. La

- mezcla se concentró al vacío y el residuo se disolvió en 80 ml de cloruro de metileno. La disolución se filtró y el producto se precipitó con un litro de alcohol isopropílico frío. El producto se recogió por filtración y se secó al vacío. El polvo se disolvió en 100 ml de agua desionizada y se extrajo tres veces con 200 ml de cloruro de metileno. La mezcla se concentró al vacío, se filtró y se precipitó con éter etílico. El producto se recogió por filtración y se secó al vacío. Rendimiento: 19 g (100%). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,10 (t, -CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1,73 (q, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH), 3,5 (m ancho, PEG), 4,49 (s, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>-OPEG-), 4,56 (m, -CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 7,33 (s + multiplete complejo C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>-OPEG-).
- 5
- c) Preparación de HO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>: BzO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (10 g, 2,94 mmol) se disolvió en 100 ml de etanol al 96% y se le añadieron 5,0 g de Pd al 10% sobre carbón en atmósfera de nitrógeno. La suspensión se agitó durante 48 horas en atmósfera de H<sub>2</sub> (40 psi / 0,28 MPa) y se filtró. El catalizador residual se lavó con cloruro de metileno. El producto en el filtrado combinado de cloruro de metileno y etanol se concentró al vacío y se filtró. La disolución viscosa se precipitó en éter etílico frío y el producto se recogió por filtración y se secó al vacío. Rendimiento: 15 g. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,10 (t, -CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1,72 (q, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH), 3,5 (m ancho, PEG), 4,55 (m, -CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).
- 10
- d) Preparación de HO<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>-PEG-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: HO-PEG-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (3 g, 0,88 mmol) y BHT (5 mg) se disolvieron en 20 ml de tolueno anhidro y se destilaron azeotrópicamente a 120°C durante una hora en atmósfera de nitrógeno. Después de enfriar la disolución a 75°C, se le añadieron piridina (0,36 ml) y anhídrido succínico (0,353 g) y se agitó a 75°C durante 24 horas. La disolución se concentró al vacío, se filtró y se precipitó con éter etílico frío. El precipitado se recogió por filtración y se secó al vacío. El polvo se reconstituyó en 50 ml de agua desionizada y se le añadió hidróxido de sodio 1 M gota a gota para mantener un pH constante de 7,2 durante una hora. A continuación se añadió rápidamente HCl 1 N gota a gota para obtener un pH de 3,0 e inmediatamente se extrajo tres veces con 100 ml de cloruro de metileno. El producto en la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se concentró al vacío, se precipitó con éter etílico frío, se recogió por filtración y se secó al vacío. Rendimiento: 2,0 g (88%). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,10 (t, -CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1,72 (q, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH), 3,5 (m ancho, PEG), 4,12 (t, -CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 4,55 (t, -CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).
- 15
- e) Preparación de NHS-O<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>-PEG-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: HO<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>-PEG-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (2,0 g, 0,56 mmol) se disolvió en 20 ml de cloruro de metileno anhidro en atmósfera de nitrógeno. A la disolución se le añadió en primer lugar N-hidroxisuccinimida (105 mg, 0,91 mmol) y después dicitohexilcarbodiimida (174 mg, 0,84 mmol). La disolución se agitó durante la noche a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. El producto se concentró al vacío, se filtró, se precipitó con éter etílico frío, se recogió por filtración y se secó al vacío. Rendimiento: 1,5 g (99%). RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1,10 (t, -CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1,72 (q, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH), 2,80 (s, NHS), 3,5 (m ancho, PEG), 4,12 (t, -CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 4,55 (t, -CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).
- 20
- 25
- 30
- 35

La invención se ha descrito en realizaciones de ejemplo concretas. Sin embargo, la descripción anterior no pretende limitar la invención a las realizaciones de ejemplo.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para la preparación de un derivado polimérico heterobifuncional, que comprende:

5 (i) proporcionar un polímero de fórmula W-O-Poli-OH, en donde W es un grupo que puede eliminarse por hidrogenolisis catalítica o por hidrólisis catalizada por ácido y Poli representa una fracción de polímero seleccionada del grupo que consiste en poli(óxidos de alquileo), poli(poliolios oxietilados), poli(alcoholes olefínicos) y poli(acriloilmorfolina);

10 (ii) modificar la fracción -OH para producir un primer grupo funcional, en donde dicho primer grupo funcional se selecciona del grupo que consiste en:

mesilato, tosilato, tresilato,

15  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}_2\text{R}_3$ , en donde  $n = 1-6$  y  $\text{R}_3$  es un grupo alquilo,

$-\text{NHR}_4$ , en donde  $\text{R}_4$  es H, alquilo o un grupo protector de aminas,

20  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}(\text{ZR}_5)_2$ , en donde  $n$  es un número de 1 a 6, Z es O o S y  $\text{R}_5$  es H o un grupo alquilo,

$-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{CHO}$ , en donde  $n$  es 1-6; y

(iii) convertir dicho W en un segundo grupo funcional, en donde dicho segundo grupo funcional es distinto de dicho primer grupo funcional.

25 2. El método de la reivindicación 1, en el que W tiene la fórmula  $\text{Ar}-\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)-$ , en donde Ar representa una fracción seleccionada del grupo que consiste en fenilo, fenilo sustituido, bifenilo, bifenilo sustituido, arilos policíclicos, arilos policíclicos sustituidos y arilos heterocíclicos, en donde  $\text{R}_1$  y  $\text{R}_2$  son H, alquilo o Ar, el cual se define anteriormente.

30 3. El método de la reivindicación 1, en el que dicho segundo grupo funcional es -OH.

4. Un método para la preparación de un derivado polimérico heterobifuncional, que comprende:

35 (i) proporcionar un polímero de fórmula  $\text{Ar}-\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)\text{O}-\text{Poli}-\text{OH}$ , en donde Ar se selecciona del grupo que consiste en fenilo, fenilo sustituido, bifenilo, bifenilo sustituido, arilos policíclicos, arilos policíclicos sustituidos y arilos heterocíclicos, en donde  $\text{R}_1$  y  $\text{R}_2$  son H, alquilo o Ar, el cual se define anteriormente, y en donde Poli es una fracción polimérica seleccionada del grupo que consiste en poli(óxidos de alquileo), poli(poliolios oxietilados), poli(alcoholes olefínicos) y poli(acriloilmorfolina);

40 (ii) modificar químicamente el grupo -OH para producir un primer grupo funcional  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}(\text{ZR}_5)_2$ , en donde  $n$  es un número de 1 a 6, Z es O o S y  $\text{R}_5$  es H o un grupo alquilo;

(iii) eliminar el grupo  $\text{Ar}-\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)\text{O}-$  para producir un nuevo grupo hidroxilo;

45 (iv) convertir el nuevo grupo hidroxilo en un segundo grupo funcional, en donde dicho segundo grupo funcional es diferente de dicho primer grupo funcional.

5. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 4, en el que Poli es poli(etilenglicol), representado por  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ , en donde  $n'$  es de aproximadamente 8 a aproximadamente 4.000.

50 6. El método de las reivindicaciones 1 ó 4, en el que Poli es un copolímero de óxido de etileno y óxido de propileno.

7. El método de la reivindicación 4, en el que dicho primer grupo funcional es metoxi.

55 8. El método de las reivindicaciones 1 ó 4, en el que dicho segundo grupo funcional se selecciona del grupo que consiste en:

mesilato, tosilato, tresilato,

60  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}_2\text{H}$ , en donde  $n = 1-6$ ,

$-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}_2\text{R}_3$ , en donde  $n = 1-6$  y  $\text{R}_3$  es un grupo alquilo,

$-\text{NHR}_4$ , en donde  $\text{R}_4$  es H, alquilo o un grupo protector de aminas,

65  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}(\text{ZR}_5)_2$ , en donde  $n$  es un número de 1 a 6, Z es O o S y  $\text{R}_5$  es H o un grupo alquilo, y

-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CHO, en donde n es 1-6.

- 5 9. El método de la reivindicación 4, en el que dicho segundo grupo funcional es -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH(ZR<sub>5</sub>)<sub>2</sub>, en donde n es un número de 1 a 6, Z es O o S y R<sub>5</sub> es H o un grupo alquilo.
10. El método de la reivindicación 4, en el que dicho segundo grupo funcional es -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CHO, en donde n es 1-6.
- 10 11. El método de la reivindicación 1, en el que dicho primer grupo funcional es -O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH(ZR<sub>5</sub>)<sub>2</sub>, en donde n es un número de 1 a 6, Z es O o S y R<sub>5</sub> es H o un grupo alquilo.
12. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 4, en el que el polímero en la etapa (i) tiene la fórmula C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>-CH<sub>2</sub>-O-Poli-OH.
- 15 13. El método de la reivindicación 4, en el que dicha etapa de eliminación (iii) comprende una hidrogenolisis catalítica o una hidrólisis catalizada por ácido.
14. El método de la reivindicación 4 para uso en la inhibición de la reactividad de HO-PEG-OH en una mezcla, en el que:
- 20 Poli es poli(etilenglicol) (PEG),  
Ar-C(R<sub>1</sub>)(R<sub>2</sub>)O- es C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>-CH<sub>2</sub>-O-,
- 25 la etapa (ii) comprende la modificación química del grupo -OH por alquilación para producir un grupo -OR, en donde R es alquilo, y
- la etapa (iii) comprende una hidrogenación catalítica.
- 30 15. El método de la reivindicación 14, en el que el grupo alquilo es metilo.
16. Un método para la unión de un derivado polimérico a un fármaco o una macromolécula que comprende la preparación del derivado polimérico por medio de los métodos de las reivindicaciones 1, 4 o 14 y la etapa adicional de la unión del derivado polimérico a dicho medicamento o macromolécula.