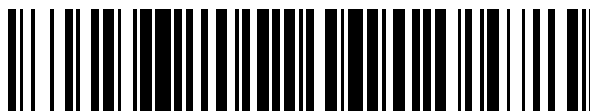


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 523 431**

51 Int. Cl.:

C08K 5/05 (2006.01)

C08F 8/34 (2006.01)

A61K 47/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.01.2006 E 06733750 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.08.2014 EP 1979407**

54 Título: **Solubilización y suministro dirigido de fármacos con polímeros anfifílicos de autoensamblaje**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.11.2014

73 Titular/es:

**ALLEXCEL, INC. (100.0%)
135 WOOD STREET
WEST HAVEN, CT 06516, US**

72 Inventor/es:

**DIWAN, ANIL;
ONTON, ANN, LOUISE y
TATAKE, JAYANT, G.**

74 Agente/Representante:

LLAGOSTERA SOTO, María Del Carmen

ES 2 523 431 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**CAMPO DE LA INVENCION**

- 5 La presente invención se refiere a los campos de los polímeros anfífilicos, y específicamente a polímeros de tipo peine, formadores de micelas biocompatibles. La invención también se refiere a los campos de solubilización de fármacos y del suministro dirigido de fármacos.

ANTECEDENTES

- 10 Los copolímeros de bloque anfífilicos que comprenden un bloque hidrofóbico y un bloque hidrofílico han sido bien estudiados en los años recientes, debido a su capacidad de autoensamblaje en diversas nanoestructuras a medida que se varía el disolvente circundante. Véase Cameron et al, Can. J Chem./Rev. Can. Chim. 77:1311–1326 (1999). En soluciones acuosas, el compartimiento hidrofóbico de un polímero anfílico tiene tendencia al autoensamblaje, a fin de evitar el contacto con agua y minimizar la energía libre interfacial del sistema. Al mismo tiempo, los bloques hidrofílicos forman una “corona” hidratada en el ambiente acuoso y, de esta manera, los agregados mantienen una estructura termodinámicamente estable. El resultado es una suspensión coloidal similar al látex estable de partículas de agregado de polímero que tiene centros hidrofóbicos y coronas hidrofílicas.

- 20 Los copolímeros anfífilicos tipo peine difieren de los copolímeros en bloque en que el esqueleto es mayormente hidrofóbico o hidrofílico, con cadenas de polímeros de polaridad opuesta pendientes del esqueleto en lugar de incorporados a él. Los copolímeros de tipo peine han sido preparados a partir de esqueletos hidrofóbicos y ramas hidrofílicas (Mayes et al., patente de los Estados Unidos N° 6.399.700), y también con esqueletos hidrofílicos y ramas hidrofóbicas (Watterson et al, patente de los Estados Unidos N° 6.521.736). Los primeros se usaron para proveer la presentación multivalente de ligandos de receptores de superficie celular, mientras que los últimos se usaron para solubilizar fármacos y suministrarlos a las células.

- Los agregados de polímeros anfífilicos han sido estudiados como portadores para solubilizar fármacos insolubles, como vehículo para el suministro dirigido de fármacos, y como sistemas de provisión de genes. Tienen una estructura más estable que las micelas convencionales de bajo peso molecular, debido al arrollamiento de las cadenas y/o al carácter cristalino de la región hidrofóbica interior. La naturaleza polimérica del vehículo hace que los agregados sean relativamente inmunes a la desintegración que sufren los liposomas comunes cuando se diluyen por debajo de su concentración crítica de micela. También tienen una ventaja sobre las composiciones de suministro liposomal de fármacos tradicionales en que la ausencia de una membrana bicapa les permite fusionarse más fácilmente con las membranas celulares y suministrar su carga directamente a la célula. La naturaleza anfífilica de los agregados también confiere actividad simil detergente, y los agregados dirigidos adecuadamente parecen ser capaces de fusionarse con las proteínas de la cubierta viral y alterarlas.

- Debido a la excelente biocompatibilidad del poli(etilenglicol) (PEG) y a la aparente capacidad de las partículas “firmes” recubiertas por PEG para evitar el sistema reticuloendotelial, las micelas, los liposomas y los polímeros que incorporan PEG han sido considerados extensamente como materiales para los sistemas de suministro de fármacos. Existen muchos informes sobre el uso de poli(etilenglicol) (PEG) como componente hidrofílico de los PEG–lípidos (que forman liposomas y micelas); véase por ejemplo Krishnadas et al., *Pharm. Res.* 20:297–302 (2003). También se han estudiado los copolímeros de bloque anfífilicos autoensamblados, que se autoensamblan para formas “polimerosomas” más robustos, como vehículos para la solubilización y el suministro de fármacos (Photos et al., *J. Controlled Release*, 90:323–334 (2003)). Véase también Gref et al., *Int. Symp. Controlled Release Mater.* 20:131 (1993); Kwon et al., *Langmuir*, 9:945 (1993); Kabanov et al., *J. Controlled Release*, 22:141 (1992); Allen et al., *J. Controlled Release*, 63:275 (2000); Inoue et al., *J. Controlled Release*, 51:221 (1998); Yu y Eisenberg, *Macromolecules*, 29:6359 (1996); Discher et al., *Science*, 284:113 (1999); Kim et al., patente de los Estados Unidos N° 6.322.805; Seo et al., patente de los Estados Unidos N° 6.616.941 y Seo et al., patente europea N° EP 0583955. También se ha informado el uso de poli(etilenimina) (PEI) con esta función, con atención centrada en el suministro de oligonucleótidos (Nam et al., patente de los Estados Unidos N° 6.569.528; Wagner et al., publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos N° 20040248842). En una vena similar, Luo et al., en *Macromolecules* 35:3456 (2002), describe dendrímeros de poliamidoamina conjugados con PEG (“PAMAM”) adecuados para el suministro de polinucleótidos.

- Además de la necesidad de solubilizar, distribuir y suministrar fármacos, hay una necesidad de sistemas de suministro dirigido de fármacos que se alojen específicamente en un tejido, tumor u órgano blanco. Esto usualmente se logra por fijación de anticuerpos u otros ligandos con afinidad específica por las paredes celulares en el sitio blanco. Sin embargo, PEG carece de grupos funcionales, excepto en los extremos de las cadenas de polímeros, y la mayor parte de los grupos terminales son inevitablemente capturados por enlaces con el otro componente del copolímero de bloque. Por esta razón, por lo general la fijación de los restos blanco, tales como anticuerpos o moléculas de adhesión celular, a los copolímeros de bloque PEG generalmente se limita al bloque no PEG, el cual lamentablemente no es la parte del copolímero normalmente expuesto en la corona del agregado autoensamblado.
- 65 El fenómeno de separación de fase que da por resultado el autoensamblaje de los copolímeros de bloque en agregados de polímero es fácilmente reversible, y se ha intentado aumentar la estabilidad de los agregados

mediante la formación de enlaces cruzados con el centro hidrofóbico (véase patente europea N° EP 0552802). También se ha intentado la fijación covalente del fármaco al componente hidrofóbico de un copolímero de bloque (Park y Yoo, patente de los Estados Unidos N° 6.623.729; patente europea N° EP 0397307).

5 El documento US5919442 divulga conjugados de polímeros hiper-ramificados tipo peine que comprenden un núcleo alargado con una pluralidad de brazos que se ramifican desde el mismo dando el aspecto de un peine, es decir, estos polímeros comprenden generaciones sucesivas de ramificaciones que se desvían antes de la generación de nuevas ramificaciones.

10 El documento US WO 03/078489 divulga copolímeros dibloque, tribloque y de estrella que consisten en componentes hidrofóbicos e hidrofílico alternos.

Además, el documento US 2004/248842 divulga polietilenimina lineal conjugada aleatoriamente con cadenas laterales hidrofílicas (por ejemplo, polietilenglicol) y muestra la complejación de estos copolímeros ramificados aleatoriamente con el ADN.

Aún persiste una necesidad de un sistema de suministro de fármacos que sea estable, biocompatible, capaz de fijarse a los restos blanco en el exterior de los agregados, y eficiente para suministrar fármacos a los blancos celulares deseados.

20 RESUMEN DE LA INVENCION

Se proporcionan en la presente polímeros de acuerdo con las presentes reivindicaciones, así como composiciones farmacéuticas que comprenden estos polímeros y métodos que emplean estos polímeros de acuerdo con las presentes reivindicaciones.

Además, se describen en la presente moléculas de polímeros tipo peine biocompatibles que comprenden un esqueleto hidrofílico que tiene restos en los puntos de las ramificaciones, y ramas hidrofóbicas adosadas a estos restos de los puntos de las ramificaciones. Se describen en la presente suspensiones acuosas de agregados de polímeros formados a partir de dichos polímeros, y métodos para solubilizar compuestos orgánicos insolubles o muy poco solubles, tales como fármacos, tinturas, vitaminas y similares, al incorporar dichos compuestos en los centros hidrofóbicos de los agregados de polímeros. El método para solubilizar las especies orgánicas insolubles en agua en un disolvente acuoso comprende básicamente poner en contacto las especies orgánicas insolubles en agua con un polímero descrito en la presente en un disolvente acuoso o acuoso mixto.

En formas de realización particulares, los puntos de las ramificaciones comprenden además grupos funcionales reactivos capaces de servir como puntos de fijación para los restos blanco. En formas particularmente preferidas de realización, los restos blanco tales como ligandos o anticuerpos están covalentemente unidos a los restos de los puntos de las ramificaciones de los polímeros descritos en la presente, y un fármaco es incorporado en el centro de los agregados, a fin de formar un complejo dirigido del fármaco.

Se proveen además métodos para la preparación de los polímeros de tipo peine, los agregados y los complejos dirigidos de fármacos descritos en la presente. Los polímeros descritos en la presente se autoensamblan en agregados de polímeros que de manera eficiente solubilizan, distribuyen y suministran fármacos in vivo, no son tóxicos, y son biocompatible, son estables, y son capaces de portar múltiples restos celulares blanco en sus superficies exteriores.

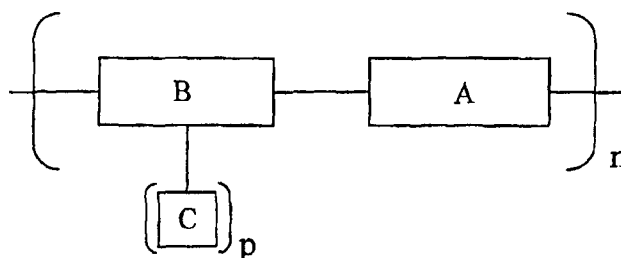
BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

50 La Fig. 1 presenta muestras de 20 μ l de soluciones saturadas de tres tinturas lipofílicas (A, Sudán IV; B, diclorofluoresceína; C, Eosina Y soluble en alcohol) en agua desionizada, por aplicación de mancha sobre una placa de TLC de gel de sílice. Fila superior: con 50 mg/ml del polímero π del Ejemplo 1; fila inferior: sin polímero π .

55 La Fig. 2 presenta muestras de 50 μ l de soluciones saturadas de cuatro fármacos insolubles (fila 1, Purpurina; fila 2, Camptotecina; fila 3, Anfotericina B; fila 4, Doxorubicina) en agua desionizada, por aplicación de mancha sobre una placa de TLC de gel de sílice. Columna A, Polímero A folato; columna B, Polímero A, columna C, sin polímero. Tres marcas con lápiz alrededor de cada mancha indicaban la extensión de la dispersión del disolvente en la placa. Los círculos centrales en las columnas A y B se dispersan uniformemente en la sílice, indicando soluciones transparentes; los círculos centrales en la columna C consisten en gran medida en depósitos sólidos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Los polímeros descritos en la presente, referidos en la presente como " π -polímeros", tienen una arquitectura de tipo peine, con un esqueleto formado por restos alternados de los puntos de las ramificaciones B y polímeros de bloque hidrofílicos, solubles en agua A; y que tienen una pluralidad de cadenas laterales hidrofóbicas C fijadas a cada resto de punto de ramificación. Consisten esencialmente en la estructura mostrada en la Fórmula 1. Las cadenas laterales C son restos hidrofóbicos relativamente cortos que pueden ser moléculas alifáticas, cadenas u oligómeros. El valor de p es idealmente un entero, por ejemplo 2, 3 ó 4. En la práctica, las cadenas laterales, por lo general, se introducen con eficiencia menor que perfecta a través de reacciones químicas, lo cual da por resultado un valor promedio de p para la preparación del polímero en su totalidad que no es el entero pretendido. También se pueden obtener valores promedio no enteros por diseño, tal como se analiza más adelante. En consecuencia, el valor promedio de p en los polímeros de la invención es mayor de uno y puede ser de hasta cuatro ($1 < p \leq 4$). En formas de realización preferidas, P varía de aproximadamente 2 a 4, y con mayor preferencia $1,5 < p \leq 2$.



1

El bloque de polímero del esqueleto A se selecciona de cadenas de polímeros hidrofílicas y/o solubles en agua, incluso sin limitaciones poli(etilenglicol), poli(propilenglicol), poli(etilenimina), poli(alcohol vinílico), poli(vinilpirrolidona), polisacáridos y similares. De preferencia, las unidades de polímero A con cadenas de poli(etilenglicol) de la fórmula $-(CH_2CH_2O)_m$ en donde m está entre 1 y 10.000, de preferencia entre 3 y 3.000. Los grupos funcionales terminales de las cadenas de polímeros no se han caracterizado, y no son relevantes para la invención.

Para la fabricación de poli(etilenglicol) de diversos grados, se sabe en la industria del acoplamiento de un resto ligador divalente (por ejemplo, diglicidiléter de bisfenol A) con dos cadenas de poli(etilenglicol), lo cual duplica efectivamente el peso molecular del polímero mientras retiene un rango de peso molecular relativamente angosto. Las moléculas resultantes de "poli(etilenglicol)" luego se interrumpen en el punto medio de la cadena de polímero mediante el resto ligador no glicol (véase, por ejemplo, el aducto de poli(etilenglicol)-diglicidiléter de bisfenol A, registro CAS N° 37225-26-6). También se conocen oligómeros superiores, es decir los que tienen tres cadenas PEG separadas por dos restos de diglicidiléter de bisfenol A, véase por ejemplo la solicitud de patente internacional WO 00/24008. En consecuencia, tal como se usan en la presente, los términos "poli(etilenglicol)" y "poli(propilenglicol)" abarcan las cadenas poliméricas de poli(etilenglicol) y poli(propilenglicol) que incorporan unidades ligadoras no glicol, incluso sin limitaciones diglicidiléter de bisfenol A, diglicidiléter de bisfenol B, diglicidiléter de bisfenol S, diglicidiléter de hidroquinona, y similares. A los fines de la presente memoria descriptiva, cualquiera de dichos restos ligadores no se cuenta con "unidades de monómero".

El bloque de polímero A tiene con máxima preferencia una longitud promedio de entre veinte y cincuenta unidades de monómero. Las cadenas de polietilenglicol pueden estar sustituidas en los extremos por grupos funcionales adecuados como ligadores de otros restos, incluso sin limitaciones amino, mercapto, acrilato, acrilamida, maleato, maleimida y similares, en uno o ambos extremos. El valor de n varía de 1 a 1000 y de preferencia es de entre 3 y 100. El peso molecular global del π -polímero puede variar de 1000 a 100.000 dalton o más; de preferencia es superior a 2.000 dalton, y con mayor preferencia superior a 7.000 dalton.

Los restos hidrofóbicos C pueden ser iguales o diferentes, y pueden ser por ejemplo hidrocarburos lineales (opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos), hidrocarburos policíclicos (opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos), aminoácidos, péptidos y polímeros hidrofóbicos. Los sustituyentes hidrofílicos adecuados incluyen, sin limitaciones, grupos funcionales hidroxilo, éter, ciano y amida. Se contemplan específicamente los grupos alquilo C_8 a C_{20} portadores de sustituyentes ω -hidroxi, ω -ciano, ω -amido o ω -alcoxi. En este contexto, el término "sustituyente" incluye la sustitución de un heteroátomo, tal como O, N o S, por un átomo de carbono en la cadena hidrocarbonada o el sistema de anillo del resto C. En consecuencia, se pueden incorporar a C enlaces éter y amido, y anillos heterocíclicos.

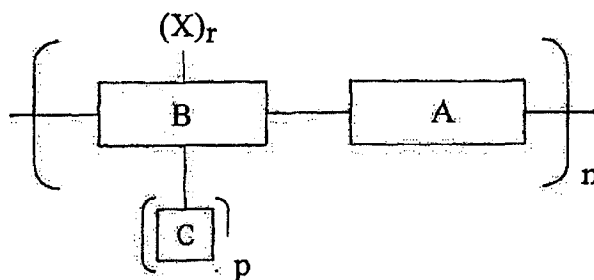
Los restos hidrofóbicos C de preferencia son cadenas alifáticas relativamente cortas (C_8 - C_{20}), pero también pueden

ser oligómeros cortos. Los oligómeros adecuados incluyen oligohidroxiácidos tales como poli(ácido glicólico), poli(ácido DL-láctico), poli(ácido L-láctico), y copolímeros de hidroxiácidos de poli(ácido glicólico) y poli(ácido láctico), y poli(aminoácidos), poli(anhídridos), poli(ortoésteres) y poli(fosfoésteres), polilactonas tales como poli(epsilon-caprolactona), poli(delta-valerolactona), poli(gamma-butirolactona) y poli(beta-hidroxibutirato). Los

restos C también se pueden seleccionar de moléculas hidrofóbicas tales como colesterol, ácido cólico, ácido litocólico, péptidos hidrofóbicos, y similares. El peso molecular de cada resto C es superior a 40, de preferencia entre 50 y 1,000, y con máxima preferencia entre 100 y 500. En general, se considera que cualquier resto C que no es apreciablemente soluble en agua cuando está en la forma molecular C-H es adecuado para el uso descrito en la presente.

Uno de los rasgos distintivos de los polímeros tipo peine descritos en la presente es que las cadenas laterales C no están distribuidas en forma regular y uniforme a lo largo de la cadena de polímero, sino más bien que aparecen en cúmulos [C]_p. Estos cúmulos están espaciados en forma más o menos regular a lo largo de la cadena de polímero, según el grado de monodispersión de las unidades de polímero A. En consecuencia, la distancia entre dos cadenas laterales C adosadas a un resto ramificado común B es diferente de la distancia entre dos cadenas laterales adosadas a diferentes restos ramificados.

En una segunda forma de realización descrita en la presente, los restos de los puntos de las ramificaciones B también comprenden uno o más grupos funcionales reactivos X, y los polímeros consisten esencialmente en la estructura como se muestra en la Fórmula 2.



2

En la Fórmula 2, cada uno de los grupos reactivos X pueden ser iguales o diferentes entre sí, y opcionalmente pueden ser bloqueados o protegidos según necesidad durante el ensamblaje del polímero 2. El valor promedio de r varía de 0 (sin grupos X) a aproximadamente 4. Generalmente, los grupos reactivos se seleccionan de los grupos funcionales conocidos en la técnica por su utilidad para formar enlaces covalentes entre las especies moleculares. Los grupos X sirven como puntos de fijación para las moléculas de fármacos, los restos blanco tisulares o celulares, los restos dirigidos a virus, o los restos de fijación a la matriz (tales como para el fin de recubrir la superficie de una endoprótesis u otro dispositivo médico). En ciertas formas de realización, puede haber un único punto de fijación X. En otras formas de realización, puede haber tres o cuatro tipos diferentes de grupos reactivos. El resto de fijación de la matriz se puede fijar a una matriz por enlaces covalentes, interacciones no covalentes específicas (por ejemplo, anticuerpo-antígeno) o interacciones no específicas (por ejemplo, por apareamiento iónico o interacción "hidrofóbica"). Los grupos reactivos X adecuados incluyen sin limitaciones -OH, -NH₂, -SH, -CHO, -NHNH₂, -COOH, -CONHNH₂, haloacilo, acetoacetilo, -CN, -OCN, -SCN, -NCO, -NCS y similares; dobles enlaces reactivos tales como vinílico, acrílico, alílico, maleico, cinámico, y similares, y grupos con triples enlaces reactivos tales como acetilencarboxi y acetilencarboxamido (adecuados para adiciones de Michael, reacciones de Diels-Alder y reacciones de adición de radicales libres).

Los ejemplos de restos dirigidos a células blanco incluyen sin limitaciones los ligandos específicos de receptor, anticuerpos y otros restos blanco, tales como péptidos que poseen una secuencia de aminoácidos de arginina-glicina-ácido aspártico (RGD) o un motivo de tirosina-isoleucina-serina-arginina-glicina (YISRG); factores de crecimiento que incluyen factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento endotelial vascular y factor de crecimiento de fibroblastos; ligandos de superficie viral tales como derivados de ácido siálico y ácido N-acetilneuramínico; ligandos de receptor celular tales como folato, metotrexato, ácido pterico, estradiol, estratriol, testosterona y otras hormonas; manosa-6-fosfato, azúcares, vitaminas, triptófano y similares. Los anticuerpos son de preferencia anticuerpos monoclonales dirigidos a antígenos específicos de superficie celular; los restos blanco adecuados incluyen no solo los anticuerpos completos sino también fragmentos de anticuerpo que contienen las secuencias fijadoras de antígeno activas, tales como los fragmentos Fab'2, los fragmentos Fab' o los análogos de péptidos de cadenas cortas de las secuencias fijadoras de antígeno activas de dichos anticuerpos.

Los ejemplos de restos dirigidos a virus incluyen ligandos de moléculas pequeñas que se fijan a un virus, tales como aminoalquiladamantanos, FuzeonTM, PRO-542, BMS-488043, ácido siálico, ácido 2-desoxi-2,3-dideshidro-N-

acetilneuramínico, 4-guanidino-NeuSAc2en (zanamivir), oseltamivir, RWJ-270201, y similares; oligopéptidos, oligosacáridos y glucopéptidos que se fija a las superficies virales, y anticuerpos y fragmentos de anticuerpos dirigidos contra los antígenos específicos de superficie de virus. En las formas de realización preferidas, la presente invención provee π -polímeros portadores de ligandos para neuraminidasa o hemaglutinina viral. Está bien establecido que dichos polímeros tienen propiedades antivirales por derecho propio; véase por ejemplo T. Masuda et al., Chemical & Pharmaceutical Bulletin 51:1386-98 (2003); M. Itoh et al, Virology 212:340-7 (1995), y Reece et al, patente de los Estados Unidos N° 6.680.054 (2004). Los centros hidrofóbicos de los polímeros y agregados de polímero antivirales descritos en la presente opcionalmente se pueden cargar con uno o más fármacos antivirales convencionales, los cuales ventajosamente se liberan en la cercanía de la partícula viral.

Otros grupos de fijación de relevancia médica pueden ser compuestos químicos pequeños, péptidos, anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, enzimas, o ingredientes farmacéuticos activos que pueden afectar los procesos biológicos tales como hormonas o agonistas o antagonistas de hormonas, sustancias que interfieren con la fijación del virus, sustancias que interfieren con el ciclo celular o los procesos celulares después del ingreso a la célula y similares. Pueden ser blancos las células de organismos unicelulares y multicelulares, incluso bacterias, hongos, animales superiores y plantas. La biotina se puede fijar al π -polímero y usar como punto de fijación de proteínas acopladas a avidina y estreptavidina, péptidos y otros agentes blancos o farmacológicamente activos, tales como anticuerpos, hormonas de crecimiento, reactivos para la representación por imágenes, y similares.

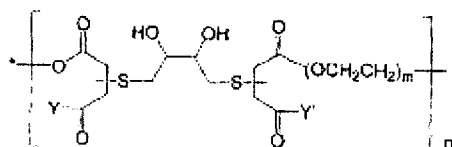
"Matriz" se refiere a materiales, superficies y depósitos orgánicos o inorgánicos, tales como superficies de vidrio, silicio o metal, una matriz extracelular, depósitos de proteína tales como placas amiloides de diversos tipos, la superficie celular, la superficie de un virus, y superficies generales homogéneas o heterogéneas que pueden o no estar bien caracterizadas, incluso priones.

Los ejemplos de restos de fijación de matrices de vidrio o silicio incluyen diversos halosilanos, alcoxisilanos, acilsilanos, así como compuestos químicos que exhiben grupos funcionales que incluyen polímeros. Se pueden diseñar otros grupos de fijación sobre la base de las características fisicoquímicas particulares de la matriz. Los restos de fijación adecuados, por ejemplo los usados en la cubierta de endoprótesis, son conocidos por los expertos en la técnica.

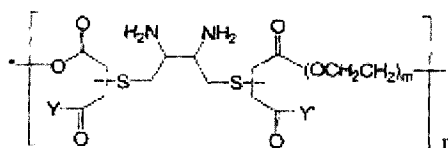
En un tercer aspecto descrito en la presente, los restos de los puntos de las ramificaciones B se conectan con otros restos de puntos de ramificaciones de otras partes de la cadena de polímeros, a fin de formar una estructura de hidrogel con enlaces cruzados. Dicha formación de enlaces cruzados puede ser efectuada al hacer reaccionar el polímero con restos multifuncionales que contienen grupos funcionales homofuncionales o heterofuncionales, en donde al menos uno de ellos reacciona con X o un grupo reactivo en C ubicado en un primer resto del punto de ramificación, y al menos uno de ellos reacciona con X o con un grupo reactivo funcional presente en C en un segundo resto de punto de ramificación. La formación de enlaces cruzados también se puede efectuar a través de un enlace con los grupos funcionales terminales de la cadena de polímero A. Dichos polímeros con enlaces cruzados opcionalmente pueden contener grupos funcionales reactivos adecuados para la fijación de las moléculas de fármacos o los restos blanco.

El resto del punto de ramificación B generalmente deriva de una molécula multifuncional que tiene una pluralidad de grupos reactivos, dos de los cuales son adecuados para la fijación a la unidad de polímero hidrofílico A, y dos de los cuales son adecuados para la fijación de los restos hidrofóbicos C. El resto B opcionalmente puede tener grupos reactivos adicionales X tal como se describió con anterioridad.

Los restos de los puntos de las ramificaciones particularmente preferidos son los conjugados de ditiotreitól (DTT), ditioeritritol (DTE) o 2,3-diaminobutano-1,4-ditíol con dos moléculas de ácido maleico. La combinación de este resto de punto de ramificación con polietilenglicol como resto A genera el esqueleto de polímero de las fórmulas 3 y 3a



3

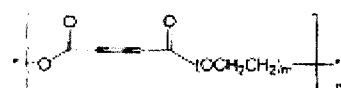


3a

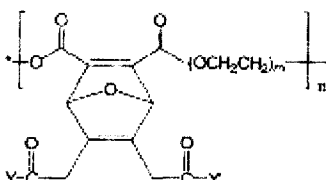
en las cuales Y e Y' pueden ser iguales o diferentes, y de preferencia se seleccionan de OH, NH₂, ONH₂, NHOH y NHHNH₂. En una forma de realización preferida, los grupos hidroxilo o amino del ditiol son los grupos reactivos X, que sirven como puntos de fijación para los restos blanco o de fármaco, mientras que los grupos funcionales Y e Y' sirven como puntos de fijación para los restos C. De modo alternativo, los grupos Y e Y' pueden servir como puntos de fijación, mientras que los grupos hidroxilo o amino se usan para fijar los restos C.

Las Fórmulas 3 y 3a pretenden representar que cada átomo de azufre puede estar independientemente adosado alfa o beta a un grupo PEG-éster carbonilo. Lo que se describe en la presente abarca composiciones isoméricas únicas además de mezclas de regioisómeros en uno o ambos enlaces C-S. Además, debido a los cuatro carbonos asimétricos de la Fórmula 1, lo que se describe en la presente abarca todos los isómeros quirales, meso y diastereoméricos y sus mezclas.

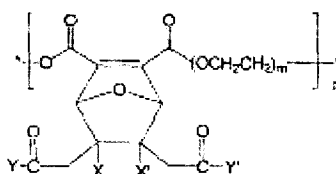
El aducto de Diels-Alder de ácido acetilendicarboxílico y un furano también puede servir como resto de punto de ramificación adecuado. Por ejemplo, es sabido que el poliéster 4 derivado de PEG y ácido acetilendicarboxílico sufre reacciones de Diels-Alder con furanos (M. Delerba et al., *Macromol. Rapid Commun.* 18(8):723-728 (1997)).



4



[oxidación]

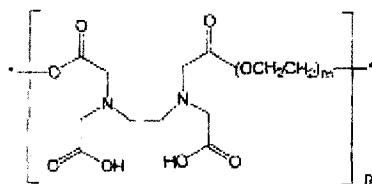


5

Esquema 1

En consecuencia, puede ser sometido a una reacción de Diels-Alder con un furano 3,4 sustituido para generar una especie tal como 5, y el polímero 5 se puede modificar por hidroxilación o por epoxidación para proveer grupos reactivos (por ejemplo X y X' en el Esquema 1).

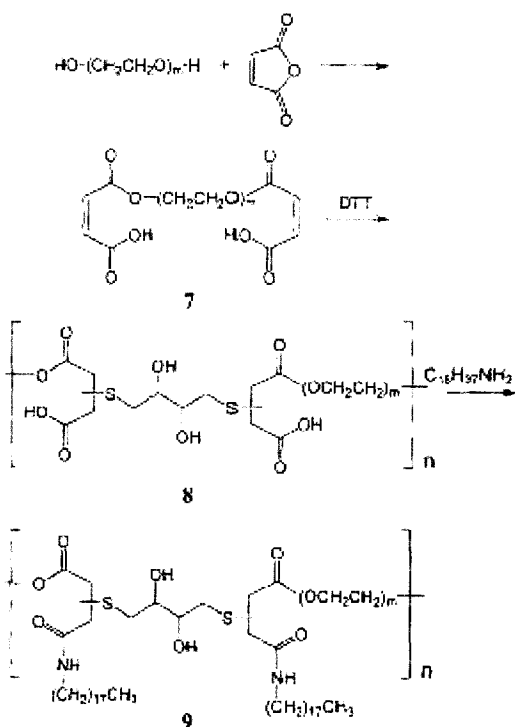
De modo similar, la reacción de PEG con dianhídrido de ácido etilendiamintetraacético provee un poliéster de la fórmula 6:



6

- Otros restos de puntos de ramificación adecuados se pueden derivar de ácido tartárico, ácido acetilendicarboxílico, ácido nitriltriácético, dianhídrido de ácido 3,4,3',4'-difenilsulfonatetracarboxílico, difeniléter de dianhídrido de ácido 3,4,3',4'-tetracarboxílico, dianhídrido piromelítico, alcanoditioles tales como 1,2-etanoditio y 1,4-butaneditio, bis(2-mercaptoetil)éter, 2-mercaptoetilsulfuro, dimercaptopropanol, dimercaptopurina, dimercaptotiadiazol, ácido dimercaptosuccínico, bencenodimetanotioles, bencenoditioles, bencenodimetanotioles dihalogenados, 4,4'-tiobisbencenotiol dihalogenado, y similares.
- 10 Cuando Y e Y' son OH, los grupos hidrofóbicos C pueden estar ligados al polímero por amidación o esterificación de los grupos de ácido carboxílico. Los grupos hidrofóbicos C de preferencia son relativamente pequeños (C_8 - C_{20}) y predominantemente restos hidrocarbonatos, y pueden ser lineales o ramificados o contener uno o más anillos. Los ejemplos incluyen sin limitaciones restos dodecilamina, pentadecilamina, colesterol y ácido cólico adosados en forma covalente. Si bien los polímeros descritos en la presente están representados, por conveniencia, con como
- 15 máximo dos cadenas laterales hidrofóbicas diferentes, se debe entender que se pueden usar mezclas de dos o más compuestos hidrofóbicos para introducir diversas cadenas laterales hidrofóbicas en un polímero particular.

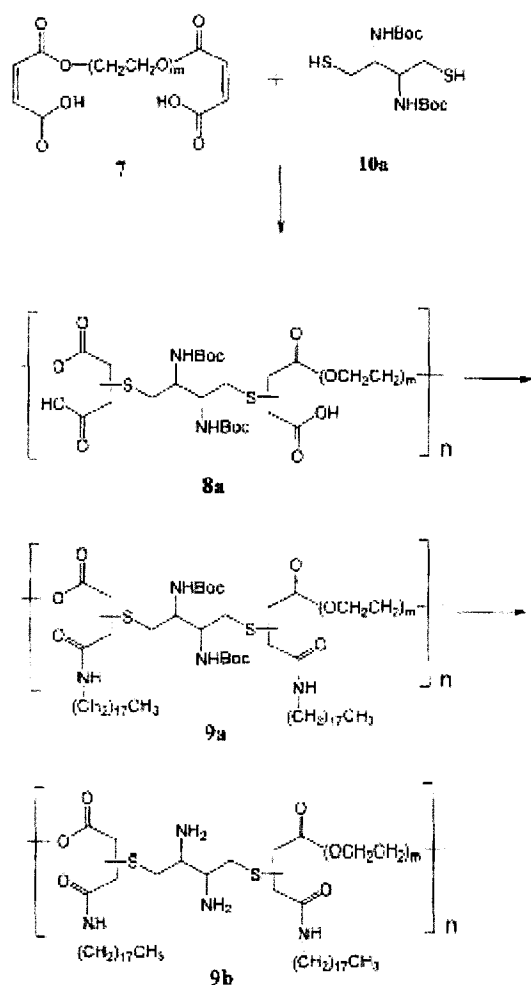
Como ejemplo específico, se preparó un polímero de la fórmula 2, en el cual $X = OH$ y $r = 2$, al hacer reaccionar un polietilenglicol con anhídrido maleico para formar el poliéster 7, seguido de reacción con ditiotreitolo para formar 8. El ácido 7 luego se amidó con octadecilamina para formar el polímero tipo peine 9 (Esquema 2). Los polímeros tipo peine amida derivados de DTT representados por la fórmula 9 se refieren en la presente como " π -Polímero A"; en donde el polímero 9 específico del Esquema 2 se designaría " C_{18} - π -Polímero A".



Esquema 2

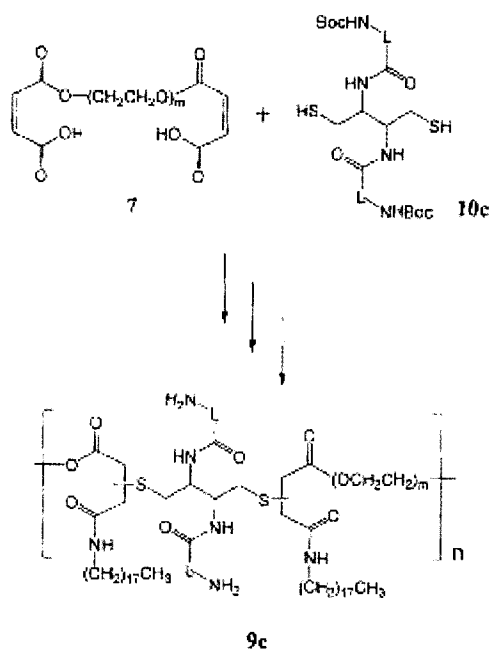
- 25 La sustitución de 2,3-bis(t-butoxicarbonilamino)-butano-1,4-ditio (preparado por el método de DuPriest et al., patente de los Estados Unidos N° 4.755.528) para ditiotreitolo conduce, después de la desprotección, al

correspondiente π -polímero **9b** con función amina (Esquema 3).



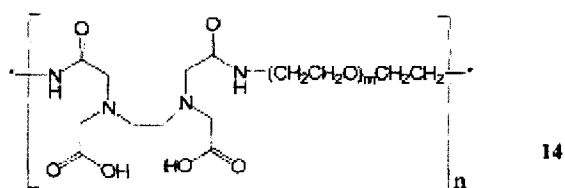
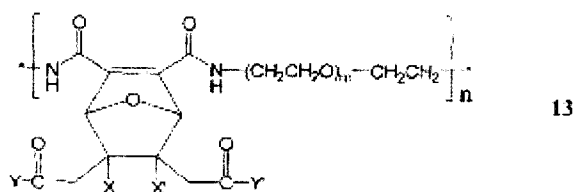
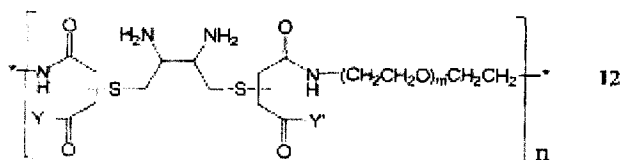
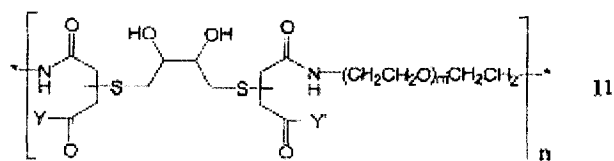
Esquema 3

- 5 De modo similar, el uso de butanoditiol **10c** conduce a los polímeros de la estructura general **9c**, con grupos espaciadores L ubicados para la posterior fijación de restos blanco (Esquema 4). Los grupos espaciadores L pueden ser cualquiera de los grupos espaciadores conocidos en la técnica para usar en la fijación de ligandos o rótulos a moléculas de sustrato, incluso pero sin limitaciones alquilenos C₂ a C₂₀ y oligoespaciadores (etilenglicol).

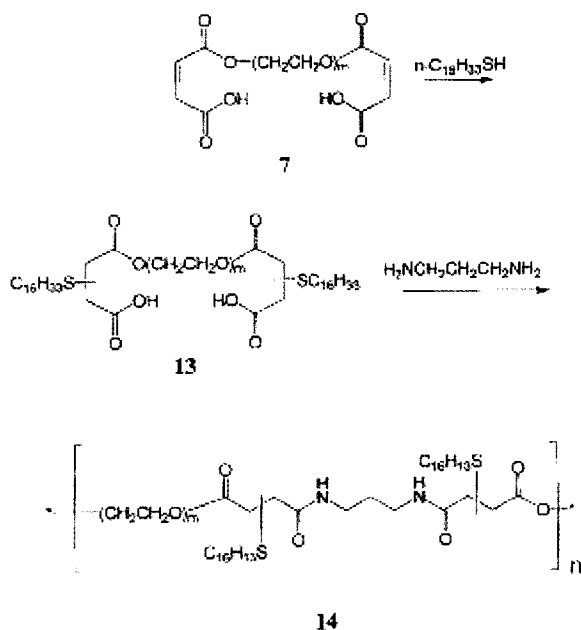


Esquema 4

En otras formas de realización, se puede usar un polímero PEG con grupos amino terminales para preparar ejemplos que tienen enlaces amida entre las unidades A y B, tal como se muestra en las estructuras 10–14 más adelante. Cada una de estas poliamidas se puede derivar por reacción de la PEG diamina $H_2N-(CH_2CH_2O)_mCH_2CH_2-NH_2$ con el anhídrido cíclico adecuado:

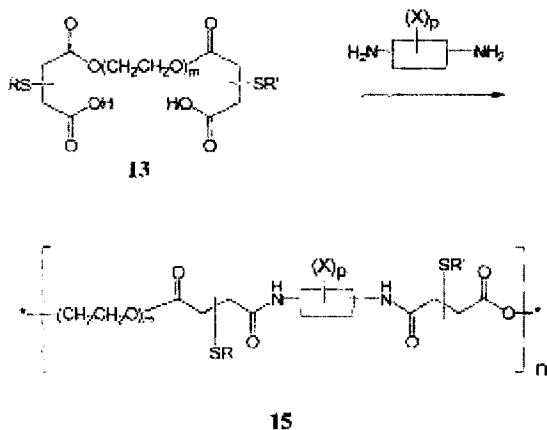


5 En condiciones poco rigurosas, los amidoácidos anteriores son los productos esperados. Con calentamiento cabe esperar la formación de imidas, lo cual conduce a polímeros con menos grupos reactivos, pero aún adecuados para la fijación de restos C hidrofóbicos. De modo alternativo, se pueden añadir las cadenas laterales pendientes C a los bloques de polímero A, y los restos del punto de ramificación pueden aparecer en el momento de la polimerización (Esquema 5).



Esquema 5

Además de diaminas simples tales como 1,3-diaminopropano, como se muestra en el Esquema 5, se pueden emplear diaminas que tienen (opcionalmente enmascarados) grupos funcionales reactivos X, lo cual conduce a polímeros **15** adecuados para la fijación de restos blanco (Esquema 6). En las siguientes fórmulas, p puede variar de 0-4, y cada X es independientemente igual o diferente de cualquier otro grupo X que pueda estar presente. Un grupo reactivo X no necesariamente está pendiente, pero por ejemplo puede ser un grupo NH dentro de la cadena de átomos que componen la diamina, como en el monómero $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$.



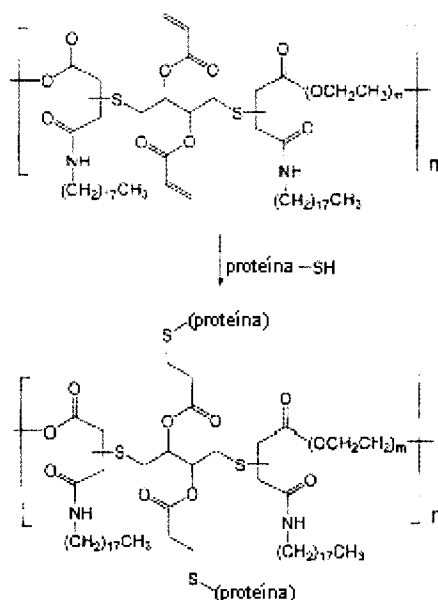
Esquema 6

Algunos de los π -polímeros preparados con anterioridad poseen grupos reactivos X adecuados para la derivación ulterior, para fijar restos blanco tales como moléculas pequeñas, péptidos, nucleótidos, azúcares, anticuerpos, etc., o efectuar enlaces cruzados de las cadenas de polímeros mediante agentes formadores de enlaces cruzados bifuncionales o multifuncionales. En formas particulares de realización, se realiza la derivación parcial de los grupos reactivos en la cadena del polímero a fin de generar π -polímeros que tienen diversos grupos reactivos diferentes, lo cual permite la fijación de diversos restos blanco y de fármacos a una única cadena de polímero. En consecuencia, la adición de una cantidad subestequiométrica de cloruro de acrililo (o anhídrido maleico) al π -polímero del Ejemplo 1 provee un polímero con acrililo (o maleilo) y grupos residuales hidroxilo. La posterior adición de Michael de una cantidad subestequiométrica de un ácido mercaptocarboxílico, por ejemplo $\text{HS}-(\text{CH}_2)_3-\text{COOH}$, provee un polímero con grupos hidroxilo, acrililo y carboxilo. La adición de cisteína introduce grupos amino y carboxilo, además de

cualquier grupo reactivo residual restante de las cantidades subestequiométricas de reactivos.

Otro enfoque a los π -polímeros polifuncionales incluye la omisión deliberada de una fracción de las cadenas hidrofóbicas C. El π -polímero del Ejemplo 1, por ejemplo, se puede preparar con grupos de ácido carboxílico que no han reaccionado mediante el simple expediente de limitar la cantidad de alquilamina formadora de pendientes en la etapa de amidación. Aún otro enfoque consiste en la amidación con una mezcla de aminas, una fracción de la cual contiene un grupo reactivo X. Además, en condiciones adecuadas (exceso de anhídrido maleico en la etapa A y un exceso de DTT en la etapa B), se puede generar una preparación de polímero que tiene una cantidad deseada de grupos tiol libres.

El π -polímero del Ejemplo 1 contiene, por diseño, grupos hidroxilo derivados del resto DTT en el esqueleto, que sirven como grupos reactivos X. La esterificación de estos grupos con cloruro de acilo o cloruro de metacrililo en medio acuoso en presencia de un buffer carbonato/bicarbonato da por resultado la sustitución de acilo en los grupos-OH. El polímero acilado se puede someter fácilmente a una polimerización de radicales (con el agregado o no de radicales monómeros tales como un compuesto acrílico o un formador de enlaces cruzados tal como un compuesto bisacrílico) a fin de obtener hidrogeles adecuados para el suministro controlado de fármacos (que actúan como depósito o reservorio de polímero) y para aplicaciones tópicas (tales como parches cutáneos o ungüentos).



Esquema 7

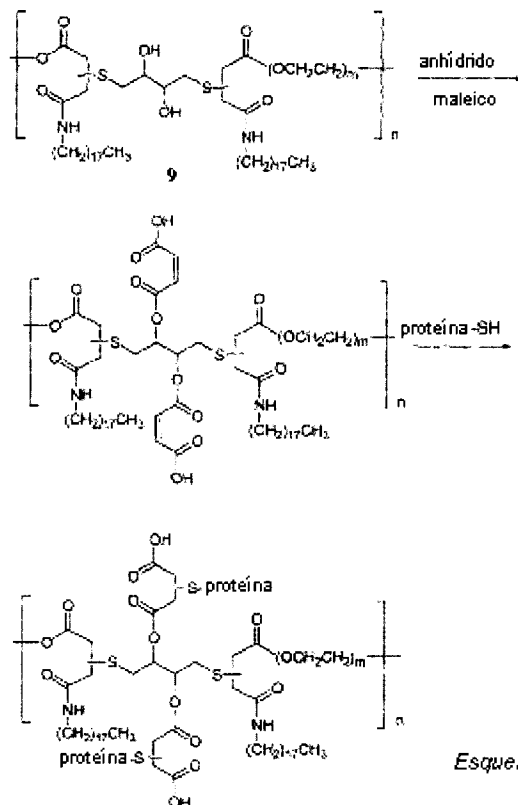
El grupo acilo también puede ser sometido a una adición de Michael, en particular con un tiol tal como el de un residuo de cisteína en una proteína, enzima, péptido, anticuerpo, fragmento Fab'2 o fragmento Fab', u otro residuo blanco (Esquema 7). Un π -polímero que posee grupos hidroxilo reactivos, después del secado también se puede esterificar con anhídrido maleico para fijar el grupo maleato, un aceptor de Michael, al mismo tiempo que se genera un grupo carboxílico libre. En el polímero obtenido, el doble enlace maleico queda disponible para una adición de Michael, en particular con un tiol, tal como el de un residuo de cisteína en una proteína, enzima, péptido, anticuerpo, fragmento Fab'2 o fragmento Fab', u otro resto blanco (Esquema 8), y el grupo carboxilo está disponible para el acoplamiento a grupos amino de los fármacos o ligandos, o los residuos de lisina en las proteínas y los péptidos.

Un resto diferente también se puede fijar al grupo carboxílico recién introducido (o previamente disponible) por amidación. En consecuencia, se pueden fijar al menos dos restos blanco diferentes incluso en condiciones de reacción saturadas (es decir, el resto que se adosa está presente en exceso estequiométrico).

Los polímeros portadores de grupos carboxilato pendientes se pueden amidar con aminas en condiciones de acoplamiento características, y también se pueden convertir en grupos isocianato por reordenamiento de Curtius y luego acoplar con aminas o alcoholes para formar ureas y carbamatos, respectivamente. Dichas reacciones se pueden usar para introducir los grupos hidrofóbicos C, o para fijar restos blanco.

Se pueden introducir grupos amina libres en el polímero por reacción al menos parcial de uno de los grupos reactivos con una diamina. La diamina debe ser elegida de manera tal que uno de los grupos amina esté protegido o no sea reactivo en las condiciones de la reacción. Esto último con frecuencia se puede lograr al utilizar etilendiamina a un pH de aproximadamente 7,5, dado que los pKa de los dos grupos amino difiere considerablemente. De

preferencia, esta amidación se lleva a cabo como etapa separada después de la introducción de los grupos hidrofóbicos pendientes. Entonces se puede fijar un péptido de otra molécula que tenga un grupo carboxílico por amidación en esta amina libre.



Esquema 8

En consecuencia, incluso en condiciones de saturación, se pueden fijar hasta tres péptidos diferentes u otros restos blanco al π -polímero: uno a través del tiol, uno a través de la amina o el hidroxilo, y uno por el grupo de ácido carboxílico.

Los grupos hidroxilo y tiol también se pueden convertir en aminas primarias por reacción con aziridina o una haloalquilamina (tal como bromoetilamina o cloroetilamina). La amidación con cisteamina introduce un disulfuro, el cual se puede hacer reaccionar directamente con la cisteína de un péptido o anticuerpo para fijar al péptido o anticuerpo; o se puede reducir primero, por ejemplo, con aminoetanotiol o DTT, para luego hacer reaccionar con un péptido o anticuerpo.

Mediante la realización de reacciones parciales, se pueden introducir otros grupos funcionales reactivos a un polímero descrito en la presente, incluso sin limitaciones (1) grupos reactivos tiales como derivados de ácidos acrílico o maleico, (2) grupos reactivos de ácido carboxílico tales como amino o hidroxilo, (3) grupos reactivos de amina tales como carboxilo, y (4) grupos reactivos disulfuro tales como mercapto. La cantidad de dichos grupos funcionales agregados por molécula de polímero pueden variar de $1/r$ hasta varios múltiplos de r , según los reactivos usados y la cantidad utilizada.

De modo alternativo, dos o más ligandos específicos se pueden fijar para mejorar la especificidad de la fijación, por ejemplo a un virus, o a una superficie celular. También se pueden usar dos o más ligandos específicos para causar una interacción entre diferentes blancos celulares, por ejemplo, un ligando puede ser dirigido a una partícula de virus, y otro ligando puede facilitar la fijación a un fagocito, por lo que se coloca a la partícula del virus en proximidad o contacto con el fagocito y se promueve la fagocitosis.

Dicha derivación permite la fijación de tres o más restos blanco y/o terapéuticos diferenciados al polímero a través de diferentes fijaciones de grupos funcionales (tales como amina, carboxilato y tiol). En consecuencia, se puede fijar un agente dirigido a un blanco específico de tejido, un agente para la representación por imágenes y un agente terapéutico para una única cadena de polímero, y el posterior autoensamblaje del polímero producirá un terapéutico blanco cuya distribución y eficiencia dirigida al blanco puede ser monitoreada.

La fijación de los ligandos a las unidades repetidas de los polímeros de la invención permite una disposición

multivalente del ligando sobre la cadena del polímero y en la superficie de las nanopartículas. La disposición multivalente a menudo conduce a grandes incrementos de afinidad por el blanco. Por ejemplo, los anticuerpos multivalentes pueden ser mucho más efectivos en depurar sus blancos que los anticuerpos divalentes normales. Es sabido que las proteínas fijadoras de hidratos de carbono y los hidratos de carbono son multivalentes por naturaleza e ineficaces si son monovalentes. De modo similar, los restos blanco multivalentes de péptidos e hidratos de carbono serán mucho más efectivos que el monómero solo. El incremento de PM debido a la fijación del polímero produce reducción de las tasas de depuración renal de los péptidos y otros ligandos. Además, el esqueleto PEG genera en el péptido beneficios similares a los de la PEGilación, incluso la evasión del control inmunológico.

Además, un resto dirigido a blanco multivalente decora un blanco multivalente (por ejemplo, una partícula de virus) y lo neutraliza en forma mucho más efectiva que el resto monomérico dirigido al blanco. La capacidad para presentar múltiples péptidos (diferentes) en formato multivalente conducen a un aumento de la especificidad. Por ejemplo, se puede construir un polímero verdaderamente específico para HIV (fijación al virus de HIV) al fijar un péptido correspondiente a la región de fijación de CD4, y otro péptido correspondiente a la región CCR-5 o CXCR-4 del virus, y posiblemente un tercer péptido correspondiente al otro receptor (CXCR-4 o CCR-5, respectivamente). Dicho polímero podría enmascarar completamente las regiones fijadoras del virus y hacer que el virus sea incapaz de atacar las células y, por lo tanto, sea ineficaz. Además, las propiedades tensioactivas del polímero conducirían a la desestabilización de la propia estructura del virus tras la fijación. En lugar de péptidos, se pueden emplear moléculas pequeñas que interfieren con los mismos patrones de fijación (CD4, CCR-5, CXCR-4) o una mezcla de péptidos y moléculas pequeñas, de preferencia con actividades complementarias. Los polímeros obtenidos harán que los virus libres sean ineficaces, y en consecuencia pueden ser ideales para detener la diseminación de la infección, al usarlos como componentes de lubricantes de condones y similares. Además, dichos polímeros se pueden inyectar en pacientes para reducir la carga de HIV.

Por lo general, cuando se emplea un reactivo polifuncional tal como DTT, puede haber enlaces cruzados parciales de cadenas de polímeros por esterificación del ácido carboxílico con DTT o reacciones secundarias similares. Los grupos hidroxilo secundarios de la región central de las cadenas PEG, por ejemplo los asociados con residuos de diglicidiléter de bisfenol A, también pueden contribuir a los enlaces cruzados si están presentes en el material de inicio del PEG. Las estructuras de hidrogel con enlaces cruzados obtenidas también son materiales útiles. Por ejemplo, mediante el incremento adecuado del grado de esta formación de enlaces cruzados mediante la formación explícita de enlaces cruzados mediante formadores alternativos de enlaces cruzados (tales como bisoxiranos, por ejemplo), se puede preparar materiales que son hidrogeles flexibles que pueden servir como depósitos de reposición para fármacos. Mediante la modificación adecuada de los materiales (por ejemplo menor longitud de PEG, mayor cantidad de grupos carboxílicos abiertos, y la incorporación de grupos acrílico adecuados) se pueden preparar materiales de hidrogel lineales o con enlaces cruzados que puedan servir como repositorios que puedan ser sostenidos en forma inmovilizada sobre dispositivos tales como endoprótesis o absorbidos en dispositivos tales como almohadillas para parches adhesivos o parches de inserción subdérmica. En general, dichos materiales con enlaces cruzados serían adecuados para la liberación controlada más que para la liberación dirigida aumentada.

Los polímeros tipo peine descritos en la presente son útiles para solubilizar, en sistemas de disolventes acuosos, materiales poco solubles en agua. El método para solubilizar una sustancia en un disolvente acuoso comprende poner en contacto la sustancia poco soluble con un polímero de tipo peine de la invención en presencia de agua, a fin de formar un complejo soluble en agua de la sustancia y el polímero. De modo alternativo, el polímero y la sustancia que se desea solubilizar se pueden combinar en una emulsión de dos fases acuosa-orgánica, y se extrae el disolvente orgánico por evaporación. Un ejemplo del proceso se describe en la patente de los Estados Unidos N° 6.838.089. Se cree que en la mayoría de los casos, el polímero se autoensambla en nanopartículas que tienen la sustancia poco soluble disuelta entre las cadenas C hidrofóbicas que coalescen en el centro de las partículas, mientras que los bloques A forman una corona hidrofílica que reduce lo suficiente la energía libre interfacial para permitir que una suspensión acuosa de las partículas se mantenga estable.

En algunos casos, la sustancia poco soluble puede no disolverse totalmente en el centro, pero puede existir como una nanopartícula sólida rodeada y suspendida en las cadenas C en el centro de las partículas. A los fines de lo que se describe en la presente, esto es una diferencia de grado, dado que la puesta en práctica de la presente no depende de cualquier grado particular de mezclado de las cadenas C con la sustancia poco soluble. En algunos casos, la sustancia se puede disolver en el nivel molecular entre las cadenas C, pero en otros casos puede exhibir cualquier grado de separación de fases respecto del ambiente de la cadena C. En algunos casos, se puede esperar que el sistema se desplace de un estado al otro como función de la temperatura.

El poder de solvatación del centro hidrofóbico de las partículas de polímero se puede modificar al modificar los restos hidrofóbicos C. Las modificaciones adecuadas incluyen sin limitaciones a la introducción de uno o más sustituyentes hidrofílicos, tales como grupos funcionales hidroxilo, éter, amida y ciano, a fin de incrementar la polaridad y/o la polarizabilidad del centro hidrofóbico.

Los materiales poco solubles que se pueden transformar en solubles mediante estos polímeros incluyen vitaminas y nutrientes liposolubles, incluso sin limitaciones las vitaminas A, D, E y K, carotenos, colecalférol y coenzima Q; fármacos insolubles tales como docetaxel, anfotericina B, nistatina, paclitaxel, doxorubicina, epirubicina, rubitecan,

tenipósido, etopósido, daunomicina, metotrexato, mitomicina C, ciclosporina, metabolito de irinotecano (SN-38), estatinas y esteroides; tinturas, agentes fotodinámicos y agentes de representación de imágenes, y ácidos nucleicos, análogos de ácidos nucleicos, y complejos de ácidos nucleicos. Los análogos de ácidos nucleicos incluyen especies tales como tiofosfatos y ácidos nucleicos peptídicos; los complejos de ácidos nucleicos son complejos iónicos de ácidos oligonucleicos con una cantidad sustancialmente neutralizadora de carga de especies catiónicas o policatiónicas.

A los fines de la presente descripción, un fármaco que es insoluble a pH neutro se considera "poco soluble", porque en muchos casos hay una necesidad de una composición farmacéutica neutra. Por ejemplo, la ciprofloxacina es razonablemente soluble en agua a un pH inferior a 4,5, pero este pH puede ser muy irritante cuando se formula el fármaco para administración ocular. Un polímero descrito en la presente solubilizará la ciprofloxacina en solución fisiológica normal a pH 7. Además, a los fines de la presente descripción, "poco soluble" se debe entender con referencia a cualquier sustancia cuya solubilidad en un vehículo acuoso es tal que un aumento de solubilidad generaría una composición mejorada o más útil. En consecuencia, un fármaco que es moderadamente soluble, por ejemplo hasta el grado de 2 g/litro, es "poco soluble" si la dosis unitaria para administración intravenosa es de 5 g.

Como consecuencia de la capacidad de los polímeros de la invención para solubilizar especies farmacológicamente activas, la presente invención también provee composiciones farmacéuticas, las cuales comprende uno o más π -polímeros de la invención en combinación con una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más agentes farmacológicamente activos. Los polímeros descritos en la presente pueden transformar en efectivo lo que de otro modo sería una cantidad ineficaz de un agente farmacológicamente activo. A los fines de la presente descripción, en consecuencia, una "cantidad terapéuticamente efectiva" es la cantidad del agente que transforma en efectiva a toda la composición.

EXPERIMENTAL

1. Procedimientos generales

Lo que se describe en la presente provee procesos para la preparación de los polímeros tipo peine descritos en la presente. La síntesis de estos polímeros es realizada fácilmente por un experto en la materia de la síntesis orgánica, mediante los procedimientos descritos a continuación. El material de inicio clave es polietilenglicol, que de preferencia se seca antes del uso. Esto se realiza de manera conveniente por agitación del PEG fundido en vacío a temperatura elevada, hasta que dejan de formarse burbujas. Esto puede tardar 8-12 horas, según la calidad del PEG. Una vez seco, el PEG se puede almacenar con argón por tiempo indeterminado. Se pueden emplear grados industriales y de investigación de PEG disponibles en el comercio para preparar los polímeros de la invención, por ejemplo el polidisperso "PEG 1500" del comercio que tiene una distribución de peso molecular de 1430 - 1570. Dicho material puede incorporar diglicidiléter de bisfenol A, el cual introduce grupos hidroxilo secundarios en el centro de la cadena de PEG. A fin de asegurar que los polímeros descritos en la presente tienen las propiedades más reproducibles y constantes, de preferencia el PEG está libre de bisfenol A, y es de baja dispersión. De máxima preferencia son los polímeros de PEG que tienen >95% de monodispersión, tales como los disponibles en el comercio de Nektar Therapeutics (antes Shearwater Polymers), Huntsville AL, y Polypure AS, Oslo, Noruega. Un ejemplo de una PEG particularmente preferida es "PEG-28" de Polypure, que es >95% de $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{28}\text{H}$, con peso molecular 1252.

Todas las reacciones se llevan a cabo en atmósfera inerte, por ejemplo de nitrógeno o argón, con agitación magnética o de preferencia mecánica.

En la etapa A, se funde PEG seco se añade anhídrido maleico (2 moles por mol de PEG) con agitación. La cantidad de anhídrido maleico debe coincidir con la cantidad de grupos hidroxilo terminales de PEG tan exactamente como sea posible. Una cantidad insuficiente de anhídrido maleico dará por resultado cadenas de polímeros terminadas en hidroxilo, mientras que un exceso de anhídrido maleico consume grupos tiol en la siguiente etapa, lo cual conduce a la terminación prematura de la cadena y a grupos carboxilo terminales. La temperatura de reacción no es crítica y el proceso se puede llevar a cabo convenientemente a temperaturas entre 45 °C y 100 °C. La temperatura preferida de la reacción es de entre 65 °C y 90 °C. Si se emplean temperaturas elevadas, el anhídrido maleico tiende a sublimarse, y se deben adoptar las etapas necesarias para asegurar que el anhídrido maleico permanezca en solución. Entre los métodos efectivos se cuentan minimizar el espacio superior y sumergir el vaso de reacción en un baño de aceite.

Según la temperatura seleccionada, la reacción se puede completar en 2 horas o menos, o se puede conducir durante la noche. La reacción se puede monitorear por TLC en placas de gel de sílice, y se continúa hasta después de la desaparición del anhídrido maleico. El contraste visual, UV, y la tinción con yodo se pueden usar para examinar las placas de TLC.

En la etapa B, el éster bis-maleato de PEG crudo producido en la etapa A se combina con ditiotreitól (DTT) y N,N,N',N'-tetrametiletilendiamina (TEMED) (con agregado de agua, de ser necesario para la fluidez), y la mezcla se agita a 70 °C. La reacción se completa dentro de los 30 min., según se indica por el rápido incremento de viscosidad.

El peso molecular del producto se reduce si se utiliza más o menos de la cantidad óptima de DTT. El peso molecular del producto también se puede reducir, si se desea, al reemplazar TEMED con una amina terciaria menos efectiva tal como TEA.

- 5 En la etapa C se añade suficiente agua a la mezcla de reacción a fin de reducir la viscosidad, y se añade 0,1 mol de N-hidroxisuccinimida (NHS) y 1,05 mol de hexadecilamina por mol de grupos de ácido carboxílico en el polímero (esta cantidad de NHS parece minimizar óptimamente el grado de reacciones secundarias). Un exceso de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC) (1,4 mol de EDC por mol de grupos de ácido carboxílico) se agrega luego en porciones, con agregado de agua adicional según necesidad para mantener la agitación. El pH de la
- 10 mezcla de reacción se mantiene por encima 7, y de preferencia entre 9 y 11, a fin de optimizar la reactividad de la alquilamina. Con dodecilamina, esta reacción se puede llevar a cabo a aproximadamente 40–45 °C, mientras que con octadecilamina, la temperatura es de aproximadamente 55 °C–57 °C. La reacción es seguida por TLC hasta observar un nivel constante de alquilamina sobrante, generalmente después de continuarla durante la noche.
- 15 La mezcla de reacción se acidifica a un pH de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 4,5 y se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas para destruir EDC sin reaccionar, luego se titula a un pH de 7,0 mediante 1 N de NaOH. La mezcla de reacción final se centrifuga a aproximadamente 800 xg durante 1 a 3 horas, para extraer los contaminantes y subproductos sólidos.
- 20 Después de la centrifugación, el sobrenadante se puede someter a cromatografía en una columna de GPC (Toyopearl(TM), Sephadex(TM), Sephacryl(TM), Biogel(TM), etc.). Los π -polímeros son materiales anfipáticos y exhiben afinidad para la mayoría de los empaquetamientos de columna GPC, complicando por tanto la extracción de contaminantes. De modo alternativo, el polímero se puede someter a cromatografía en una columna de interacción
- 25 hidrofóbica de poro grande (por ejemplo, TOYOPEARLTM Phenyl 650C, Toshoh Biosciences, Montgomeryville, PA, EE. UU.), que se eluye con un gradiente de metanol en agua. De preferencia, la mezcla de reacción se dializa contra varios cambios de agua acidificada y neutra para extraer materiales de inicio de bajo peso molecular y subproductos de reacción.
- 30 La mezcla de reacción también se extrae con butanona, isopropanol, butanol u otros disolventes orgánicos polares para extraer impurezas orgánicas, pero se pierden cantidades sustanciales del polímero anfílico en el disolvente de extracción. De preferencia la mezcla de reacción se somete a ultrafiltración mediante membranas adecuadas para fraccionar el producto por grados de peso molecular, tales como 5 kDa a 10 kDa; 10 kDa a 30 kDa, 30 kDa a 50 kDa, etc. según el corte de la membrana de filtración empleada. Una solución acuosa del polímero se puede someter a filtración de terminación para producir una solución estéril o libre de virus, según la elección de la
- 35 membrana de filtración o medio.

2. Síntesis de π -polímeros

Ejemplo 1: Polímero PEG-Di(alquilamidossuccinil)ditioéter de Peso Molecular Medio (C16- π -Polímero A)

- 40 El polietilenglicol (PEG-1500, Sigma Chemical Co.) se secó al vacío a 80 °C hasta que dejen de formarse burbujas (8–12 horas, según la calidad del PEG). El PEG seco se puede almacenar desecado con argón indefinidamente.
- 45 El PEG seco se fundió con argón en un baño de aceite, y se añadió anhídrido maleico (2 moles por mol de PEG, corregido para impurezas) gradualmente con agitación. La mezcla se agitó con argón a 90 °C. Dado que el anhídrido maleico tiende a sublimar, se minimiza la parte superior y la totalidad del vaso de reacción se mantiene a la temperatura de reacción. Cualquier anhídrido maleico condensado en las paredes del vaso se raspa y vuelve a la mezcla de reacción. El progreso de la reacción se monitorea por TLC en placas de gel de sílice, con etanol y hexano como disolventes por separado, con visualización por UV y tinción con yodo. La reacción se continuó durante una
- 50 hora después de la desaparición del anhídrido maleico.
- 55 El dimaleato de PEG crudo se diluyó con dos volúmenes de agua. Una solución de ditiotreitól (DTT, 1,01 equivalentes por equivalente de PEG) y N,N,N',N'-tetrametiletildiamina (TEMED, 1,02 equivalentes) en agua (2 volúmenes de agua por volumen de TEMED) se agregó entonces a la mezcla de reacción con agitación. La reacción se agitó a 70 °C con argón durante 2,5 h, se dejó a temperatura ambiente durante la noche, y luego se volvió a agitar a 70 °C durante 2 horas. La reacción se monitoreó por TLC y se consideró completa ante la desaparición completa de DTT.
- 60 Se añadió agua a la mezcla de reacción anterior para reducir la viscosidad hasta que la mezcla se podía agitar (a aproximadamente 25% de sólidos), la mezcla se agitó a 65 °C con argón, y se añadió N-hidroxisuccinimida (0,1 mol por mol de grupos de ácido carboxílico en el polímero de PEG-dimaleato-DTT), seguido de hexadecilamina (1,05 mol por grupos de ácido carboxílico en el polímero) y N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC, 0,56 mol por mol de grupos de ácido carboxílico en el polímero). La mezcla se agitó con argón durante 1 hora y se añadió una
- 65 segunda porción de EDC (0,56 mol por mol de grupos de ácido carboxílico en el polímero). Después de otra hora, se agregó también una tercera porción de EDC (0,28 mol por mol de grupos de ácido carboxílico en el polímero, para un total de 1,4 mol de EDC por mol de ácido carboxílico) para compensar la pérdida de EDC por hidrólisis. Se

añadió agua adicional según necesidad para mantener la fluidez, dado que los sólidos agregados hicieron que la suspensión sea difícil de agitar, y el pH se mantuvo entre 8 y 10 por adición de 1 N NaOH según necesidad. La mezcla se agitó a 65 °C con argón durante la noche, se monitoreó por TLC (sílice con etanol) hasta que la alquilamina parecía haber alcanzado una concentración estable, y luego se agitó durante otras 4 h. La mezcla de reacción luego se acidificó con 1 N HCl hasta un pH de aproximadamente 4,5, se agitó durante 24 h a fin de destruir el EDC que no haya reaccionado, y se ajustó a pH 7,0 por adición gota a gota de 1 N de NaOH. Con dodecilamina, esta reacción se condujo a aproximadamente 40~45 °C, mientras que con octadecilamina, la temperatura de preferencia 55–57 °C.

La mezcla se transfirió a frascos de centrifuga y se agitó en una centrifuga de mesada a aproximadamente 800 xg durante 2 horas para separar los sólidos residuales. Después de la centrifugación, la mezcla de reacción se extrajo con isopropanol para extraer las impurezas orgánicas. Se prefiere la ultrafiltración como alternativa a la extracción con isopropanol.

Por este método, los siguientes compuestos amino se conjugan con el polímero:

Ejemplo 1a: undecilamina

Ejemplo 1b: octadecilamina

Ejemplo 1c: 4–nonilbencilamina

Ejemplo 1d: 3–[(4–fenoxi)fenil]propilamina

Ejemplo 2: Polímero PEG–Di(alquilamidossuccinil)ditioéter de Alto Peso Molecular

Se siguió el procedimiento reseñado en el Ejemplo 1, excepto en que se usaron 0,55 mol de DTT y 0,55 mol de TEMED por mol de anhídrido maleico. Era necesaria la agitación vigorosa dado que la viscosidad se acumula rápidamente. En apariencia, la mayoría de la reacción se completó dentro de los 5–10 minutos, seguido de la compleción lenta durante las siguientes 4 horas a medida que se elevó la temperatura de 55 °C a 80 °C.

Ejemplo 3: Polímero PEG–ditioéter Di(alquilamidossuccínico)

Se siguió el procedimiento reseñado en el Ejemplo 1, excepto en que se emplearon 1,5 mol de dodecilamina por mol de grupos de ácido carboxílico. Se añadió N–hidroxisuccinimida (NHS, 1,0 por mol de grupos de ácido carboxílico) y 1,1'–Carbonildiimidazol (CDI, 3,0 mol por mol de grupos de ácido carboxílico) y la mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 4 horas y se trabajó como anteriormente.

Por este método se conjugaron los siguientes compuestos amino al polímero:

Ejemplo 3a: undecilamina

Ejemplo 3b: tetradecilamina

Ejemplo 3c: octadecilamina

Ejemplo 3d: deshidroabietilamina

Ejemplo 3e: 2–aminoetiléter de colesterol

Ejemplo 3f: 10–fenoxidecilamina

Ejemplo 3g: hidracida de ácido sebácico

Ejemplo 3h: hidracida de ácido oleico

Ejemplo 3i: hidracida de ácido deshidroabiético

Ejemplo 3j: hidracida de ácido cólico

Ejemplo 3k: hidracida de ácido palmítico

Ejemplo 4: Polímero de PEG–co–(alquilamidossuccinato)

Una solución de PEG (6,66 mmol) y trietilamina (2,32 ml, 16,65 mmol) en éter dietílico seco (10 ml) se enfrió a 0 °C con argón y se trató gota a gota con cloruro de metansulfonilo (1,03 ml, 13,32 mmol). Se continuó la agitación

durante 1 h a 0 °C y luego a temperatura ambiente durante 2 h. El éter se evaporó y se añadió acetona seca (15 ml) al residuo a fin de precipitar el clorhidrato de trietilamina, que se extrajo por filtración de la solución. El filtrado se trató con bromuro de litio (2,31 g, 26,64 mmol) y se calentó a reflujo durante 20 h. Luego la mezcla se diluyó con hexano y se filtró a través de una corta columna de sílice (3 cm) cubierta con Celite™ (0,5 cm), y se eluyó con hexano. El filtrado se secó, se filtró y se evaporó para dar α,ω -dibromo-PEG como aceite.

α,ω -Dibromo-PEG se hizo reaccionar con un equivalente de 2,2-dibutil-4,5-bis(metoxycarbonil)-1,3,2-dioxastanolano por el método de Godjoian et al., Tetrahedron Letters, 37:433-6 (1996). El poliéter de dimetiltartrato-PEG obtenido se saponificó con KOH en metanol y luego se amidó con dodecilamina o hexadecilamina como en los ejemplos 1 y 3 anteriores, o con las aminas de los ejemplos 3a-3k.

Ejemplo 5: Copolimerización de PEG con dianhídrido EDTA

El PEG seco se hizo reaccionar con dianhídrido de ácido etilendiamintetraacético por el método descrito en el Ejemplo 1, y luego se amidó con dodecilamina como en el Ejemplo 1 o hexadecilamina como en el ejemplo 3, o con las aminas en los ejemplos 3a-3k.

De la misma manera, los siguientes dianhídridos se copolimerizaron con PEG y luego se amidaron:

Ejemplo 5a: Dianhídrido naftalentetracarboxílico

Ejemplo 5b: Dianhídrido perilentetracarboxílico

Ejemplo 5c: Dianhídrido benzofenonatetracarboxílico

Ejemplo 5d: Anhídrido 4,4'-(hexafluoroisopropiliden)-difáltico

Ejemplo 5e: Dianhídrido de ácido butano-tetracarboxílico

Ejemplo 5f: Dianhídrido biciclo(2,2,2)oct-7-en-2,3,5,6-tetracarboxílico

Ejemplo 5g: Dianhídrido de ácido dietilen-tetraminopentaacético

Ejemplo 5h: Dianhídrido de ácido 3,4,3',4'-difenilsulfonatetracarboxílico

Ejemplo 5i: 3,4,3',4'-Difeniléter de dianhídrido de ácido tetracarboxílico

Ejemplo 5j: Dianhídrido piromelítico

Ejemplo 6A: copolímero de PEG-diamina con tioéteres pendientes.

Se hizo reaccionar PEG dimaleato preparado como en el Ejemplo 1 con dodecanotiol (dos equivalentes por equivalente de PEG dimaleato) por el mismo procedimiento usado para DTT en el Ejemplo 1. No fue necesario hacer dilución, dado que no hubo polimerización, y la reacción se condujo con PEG-dimaleato fundido. Se añadió el catalizador TEMED y luego se añadió tiol. La reacción se siguió por la desaparición de los materiales de inicio con TLC. Se pueden usar las temperaturas hasta el punto en que la pérdida del alquiltiol por vaporización son significativas (hasta aproximadamente 100 °C). Se puede emplear un ligero exceso de alquiltiol para saturar totalmente los grupos maleico. El exceso de alquiltiol se eliminó al final de la reacción por chispas de nitrógeno o argón, y/o por calentamiento con vacío, hasta que no se detectaron por olor o por TLC.

Por este método se pueden conjugar los siguientes tioles a PEG dimaleato:

Ejemplo 6Aa: éster di-t-butílico de ácido mercaptosuccínico

Ejemplo 6Ab: tetradecanotiol

Ejemplo 6Ac: hexadecanotiol

Ejemplo 6Ad: ácido 2-mercaptopetanosulfónico

Ejemplo 6Ae: ácido 3-mercaptopropanosulfónico

Ejemplo 6Af: éster t-butílico de ácido 6-mercaphexanoico

Ejemplo 6Ag: éster t-butílico de ácido 4-mercaphbenzoico

Ejemplo 6Ah: éster *t*-butílico de ácido mercaptoacético

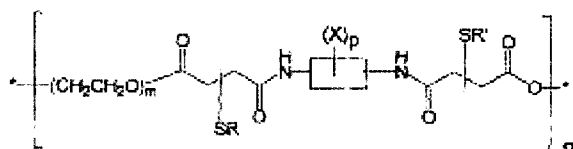
Ejemplo 6Ai: 4-(*t*-butoxicarbonilamino)butanotiol

5 Ejemplo 6Aj: 3-(*t*-butoxicarbonilamino)bencilmercaptano

Ejemplo 6Ak: 4-decibencilmercaptano

10 Los tioles que tienen grupos funcionales reactivos son adecuados para la fijación de cadenas C y/o los grupos funcionales reactivos pueden servir como puntos de fijación (X) para restos blanco.

Ejemplo 6B: copolímero de PEG-diamina con tioéteres pendientes.



15 El aducto de tior obtenido en el Ejemplo 6A se amidó con 1,4-diaminobutano (un equivalente de diamina por dos grupos COOH), usando el mismo procedimiento utilizado para dodecilamina en el Ejemplo 1, con dilución con agua según necesidad para mantener la fluidez de la mezcla de reacción. Se añadieron alícuotas adicionales de EDC según necesidad para asegurar la polimerización completa. Por este método, los aductos de tior del Ejemplo 6A y
20 6Aa a 6Ak se convirtieron en poliamida de PEG-diaminobutano.

Por este método, las siguientes diaminas se pueden convertir en una PEG poliamida (BOC = *t*-butoxicarbonilo):

Ejemplo 6Ba: 2-(O-BOC)-1,3-diamino-2-propanol

25 Ejemplo 6Bb: N',N''-di(BOC)hexaetilentaamina

Ejemplo 6Bc: N',N''-di(BOC)espermina

30 Ejemplo 6Bd: N'-BOC-espermina

Ejemplo 6Be: N',N'',N'''-tri(BOC)pentaetilen hexamina

Ejemplo 6Bf: agmatina

35 Ejemplo 6Bg: *t*-butiléster de lisina

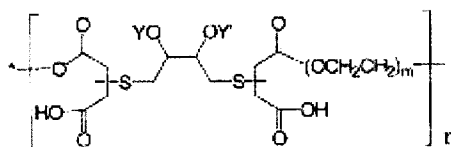
Ejemplo 6Bh: 1,6-diaminohexano

40 Ejemplo 6Bi: 1,4-fenilendiamina

Ejemplo 6Bj: 1,3-fenilendiamina

Ejemplo 6Bk: acetona de 1,4-diaminobutan-2,3-diol

45 *Ejemplo 7: PEG-ditioéter de Di(alquilsuccinato)*



50 El 2,3-bis-O-hexadeciléter de DTT (meso-2,3-bis(hexadeciloxi)butano-1,4-ditior) se preparó por una modificación del procedimiento de S. Sasaki et al., Chem. Pharm. Bull. 33(10):4247-4266 (1985). Éste se añadió a PEG-dimaleato por el método del Ejemplo 1.

Por este método se acoplaron los siguientes éteres de ditior al polímero de PEG:

Ejemplo 7a: meso-2,3-bis(n-butoxi)butano-1,4-ditíol

Ejemplo 7b: meso-2,3-bis(4-nonilfenilmetoxi)butano-1,4-ditíol

Ejemplo 7c: meso-2,3-bis(bifenil-4-metoxi)butano-1,4-ditíol

Ejemplo 7d: 4,6-bis(deciloxi)benceno-1,3-dimetanotíol

Ejemplo 7e: 4,5-bis(deciloxi)benceno-1,2-dimetanotíol

Ejemplo 7f: 3,4-bis(deciloxi)tiofen-2,5-dimetanotíol

Ejemplo 8A: PEG succinatos sustituidos

Se siguió el método del Ejemplo 1, excepto en que se usó anhídrido 2-dodecen-1-ilsuccínico en lugar de anhídrido maleico. El sustituyente dodecenilo proveyó las cadenas C pendientes en el polímero final.

Por este método se esterificaron los siguientes anhídridos succínicos sustituidos con PEG:

Ejemplo 8Aa: anhídrido isobutenilsuccínico

Ejemplo 8Ab: anhídrido 2-octen-1-ilsuccínico

Ejemplo 8Ac: anhídrido octadecenilsuccínico

Ejemplo 8Ad: 3-oxabicyclo-hexano-2,4-diona

Ejemplo 8Ae: anhídrido ciclohexanodicarboxílico

Ejemplo 8Af: anhídrido ftálico

Ejemplo 8Ag: anhídrido 4-decilftálico

Ejemplo 8Ah: anhídrido hexahidrometilftálico

Ejemplo 8Ai: anhídrido tetrahidroftálico

Ejemplo 8Aj: anhídrido norbornenodicarboxílico

Ejemplo 8Ak: cantaridina

Ejemplo 8Al: anhídrido biciclooctenodicarboxílico

Ejemplo 8Am: anhídrido exo-3,6-epoxi-1,2,3,6-tetra-hidroftálico

Ejemplo 8An: anhídrido S-acetilmercaptosuccínico

Ejemplo 8B: PEG-ditioéter de Di(alquilamidossuccinilo) grupos alquilo pendientes

Por este método del ejemplo 1, los PEG-succinatos sustituidos obtenidos tal como se describe en los Ejemplos 8A y 8Aa a 8An se hicieron reaccionar con DTT.

Por este método, los siguientes ditíoles se hicieron reaccionar con cualquiera de los PEG succinatos sustituidos obtenidos tal como se describió en los Ejemplos 8A y 8Aa a 8An:

Ejemplo 8Ba: etano-1,2-ditíol

Ejemplo 8Bb: propano-1,3-ditíol

Ejemplo 8Bc: butano-1,4-ditíol

Ejemplo 8Bd: pentano-1,5-ditíol

Ejemplo 8Be: hexano-1,6-ditíol

Ejemplo 8Bf: 1,4-bencenoditiol

Ejemplo 8Bg: 1,3–bencenoditiol

5 Ejemplo 8Bh: 1,4-bencenodimetanol

Ejemplo 8Bi: 1,3-bencenondimetanol

Ejemplo 8Bj: 1,2-bencenoedimetanol

Ejemplo 8C: copolímero de PEG–diamina con grupos alquilo pendientes

Por el método del ejemplo 6B, los PEG succinatos sustituidos obtenidos tal como se describió en el Ejemplo 8A se copolimerizaron con 1,4-diaminobutano.

Por este método, las siguientes diaminas se copolimerizaron con cualquiera de los PEG succinatos sustituidos de los Ejemplos 8A y 8Aa a 8An:

Ejemplo 8Ca: 2O-BOC 1,3-diamino-2-propanol

Ejemplo 8Cb: N',N''-di(BOC) hexaetilentetraamina

Ejemplo 8Cc: N',N''-di(BOC) espermina

Ejemplo 8Cd: N'-BOC espermidina

Ejemplo 8Ce: N',N'',N'''-tri(BOC)-pentaetilenhexamina

Ejemplo 8Cf: agmatina

Ejemplo 8Cq: t-butiléster de lisina

Ejemplo 8Ch: 1,6–diaminohexano

Ejemplo 8Ci: 1,4–fenilendiamina

Ejemplo 8Cj: 1,3–fenilendiamina

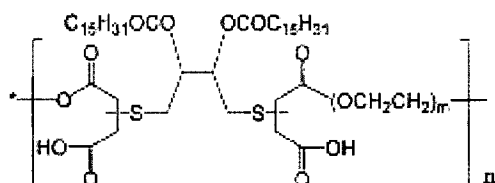
Ejemplo 8Ck: acetono de 1,4-diaminobutano-2,3-diol

Ejemplo 9: Transesterificación de PEG mediante el Uso de Ácidos Sustituidos

PEG ditosilato: a 1 mol de PEG (disuelto en DMF o fundido como tal) se añadió 2,1 mol de cloruro de tosilo (5% molar de exceso) con agitación con argón. A esta mezcla de reacción se añadió 2,2 mol de tetrametiletilendiamina (TEMED). La mezcla de reacción luego se incubó a 45 °C durante 2 h. Los productos se resolvieron mediante el uso de TLC en acetato de etilo, tolueno o etanol como disolventes de TLC. El PEG ditosilato se extrajo de la mezcla de reacción con tolueno. En cambio de cloruro de toluensulfonilo, también se pueden usar otros agentes sulfonilantes tales como cloruro de mesilo (véase Ejemplo 4), anhídrido trifílico o cloruro de tresilo (véase solicitud de patente de los Estados Unidos N° 10/397332, Publicación N° 20040006051).

Poliesterificación de PEG ditosilato: a 1 mol de PEG–ditosilato fundido con agitación con argón, se añadió 1 mol de ácido S,S'–didecil–meso–2,3–dimercaptosuccínico y 2 mol de TEMED. Se añadió DMF según necesidad para mantener la fluidez. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C y se agitó durante 24 h o hasta su finalización por TLC.

Ejemplo 10: Polímero de PEG-tioéter Di(succinil)-di-(O-Acilado) de Peso Molecular Medio (C16- π -Polímero B)



PEG-dimaleato (10,24 g, 6,1 mmol) preparado como en el Ejemplo 1 se colocó en un frasco seco de 125 ml y se calentó hasta 70 °C con argón para fundir el PEG-dimaleato. A este material fundido con agitación se añadió agua (10 ml) y una solución de DTT (0,961 g, 6,168 mmol) y TEMED (0,723 g, 6,166 mmol) en agua (3 ml). La solución se agitó a 70 °C durante aproximadamente 4 h. La extracción de agua *en vacío* dio el polímero sólido con un rendimiento de aproximadamente 90%.

El polímero seco (5 g, 2,7 mmol) se calentó a 70–90 °C con argón para fundirlo, y se añadió TEMED (0,635 g, 5,5 mmol). Se añadió cloruro de palmitoilo (1,689 g, 5,5 mmol) con agitación, y la mezcla se agitó con argón durante la noche (la proporción de polímero respecto de cloruro de acilo se puede variar para obtener grados de sustitución de 0–100% de estequiometría). Se añadió agua a la mezcla de reacción a fin de aislar el “C16- π -Polímero B”.

Por este método se esterificaron los siguientes ácidos con los grupos hidroxilo del copolímero de di(succinil)PEG-DTT:

Ejemplo 10a: Ácido oleico

Ejemplo 10b: Succinato de colesterol

Ejemplo 10c: Ácido bifenil-4-carboxílico

Ejemplo 10d: Ácido 4-octilfenilacético

Ejemplo 10e: Ácido hexadeca-6-inoico

Como alternativa del uso de haluros ácidos, también se pueden activar los grupos hidroxilo derivados de DTT de polímeros con 1,3-bis(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-ilmetil) carbodiimida (BDDC) y acoplar directamente con ácidos carboxílicos; véase *Handbook of Reagents for Organic Synthesis, Reagents for Glycoside, Nucleotide, and Peptide Synthesis*, Ed. David Crich, Wiley, 2005 p 107–108 y sus referencias).

Ejemplo 11: Dimaleato de C16- π -Polímero A.

Los dimaleatos de Polímero A se preparan haciendo reaccionar anhídrido del ácido maleico con los grupos hidroxilo del Polímero A. El doble enlace activado introducido puede usarse para añadir ligandos que contienen tiol al polímero. La relación de polímero A a anhídrido maleico puede variar para obtener sustituciones que varían de 0–100% de esterificación estequiométrica total.

El C16- π -Polímero A (2 g) y anhídrido maleico (0,85 g) se molieron en un mortero seco y se transfirieron a un frasco de base redonda de 50 ml. El frasco se calentó a 90 °C, con argón durante 2–3 h con agitación. La mezcla de reacción sólida luego se transfirió con ayuda de agua a una bolsa de diálisis (3,5 kDa de corte) y se dializó contra agua para extraer el exceso de ácido maleico y de subproductos de bajo peso molecular. El retenido luego se extrajo de la bolsa y se secó a 60 °C hasta peso constante, a fin de obtener dimaleato de C16- π -Polímero A (1,79 g).

Ejemplo 12: Aducto de Cisteína de Dimaleato de C16- π -Polímero A:

Dimaleato de C16- π -Polímero A en polvo (Ejemplo 11) (253 mg) se añadió a agua (5 ml) y la mezcla se agitó vigorosamente. Se añadieron cisteína (24 mg) y TEMED (30,5 μ l) a la mezcla de reacción, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente con atmósfera de argón. El progreso de la reacción se monitoreó por TLC (placas de gel de sílice, ácido n-butanolacético-agua, 3:1:1) con detección con ninhidrina. La mezcla de reacción mostró una mancha positiva para ninhidrina que comigraba con el polímero. La cisteína también dio una mancha positiva para ninhidrina, mientras que el polímero de inicio no dio color con ninhidrina.

3. Uso de π -Polímeros para Solubilizar Sustancias Insolubles o Débilmente Solubles

Ejemplo 1: Solubilización de Tinturas

A alícuotas de 1,0 ml de una solución acuosa de 50mg/ml de polímero PEG1500-cosuccinil-DTT-bis-C16-amida (C16-Polímero A, Ejemplo 1), centrifugadas para extraer materiales insolubles, pero no purificadas de otra manera, se añadieron cantidades en exceso de las tinturas Eosina Y, diclorofluoresceína, y Sudán IV en contenedores separados (botes de peso FlexExcel™ de polipropileno transparente, de tamaño WB2.5, producto de AllExcel, Inc., West Haven, CT), y los componentes se agitaron juntos para formar una pasta. Las bases de los contenedores luego se adosaron a la base de un pequeño baño ultrasónico limpiador de joyas mediante cinta adhesiva de doble faz resistente a agua. Se añadió cantidad de agua apenas suficiente para sumergir los botes de peso hasta aproximadamente un tercio de la altura. Se realizó sonicación durante 15 minutos en etapas de 5 minutos. Los líquidos se transfirieron a tubos de centrifuga y se centrifugaron dos veces durante 30 min en una centrifuga de mesada para eliminar por sedimentación la tintura no disuelta. Los sobrenadantes se transfirieron a tubos limpios y

se volvieron a centrifugar, a fin de extraer los sólidos arrastrados. Suspensiones de las mismas cantidades de tintura en la misma cantidad de agua destilada que la cantidad de la solución de polímero se trataron de la misma manera, como controles. Las soluciones obtenidas se sembraron en manchas (25 μ l) en placas de TLC para formar círculos a partir de las gotas. Las intensidades de las manchas se compararon con manchas hechas de soluciones de tintura realizadas con etanol o etanol/agua a fin de determinar las concentraciones aproximadamente; las manchas se muestran en la Figura 1. Las solubilidades de las tinturas en agua se determinaron por disolución de la cantidad adecuada de la tintura en 1 l o más agua desionizada (sin buffer) a temperatura ambiente, y el agregado de agua (es decir, la titulación) con más agua según necesidad para obtener soluciones saturadas.

La concentración de Sudán IV en 50 mg/ml de polímero era de aproximadamente 0,2 mg/ml, en oposición a 0.000 mg/ml en H_2O (Sudán IV es insoluble a pH neutro). La concentración de diclorofluoresceína era de aproximadamente 5 mg/ml en 50 mg/ml de polímero, en oposición a 0,010 mg/ml en H_2O . La concentración de Eosina Y en 50 mg/ml de polímero era de aproximadamente 5 mg/ml, en oposición a 0,007 mg/ml en H_2O . Las relaciones de carga (cantidad de fármaco por cantidad unitaria de polímero, g/g) se calculó en aproximadamente 1:250 para Sudán IV, 1:10 para diclorofluoresceína y 1:10 para Eosina Y.

Las relaciones de carga de 1:10 para compuestos polares que se asemejan a las sustancias farmacéuticamente activas en las propiedades fisicoquímicas son superiores a las que generalmente se obtienen con liposomas, ciclodestrinas, CremophorTM, o detergente u otros sistemas solubilizantes. Eosina Y es un generador fotoactivable de singulete de oxígeno con muy alta eficiencia, y es de esperar que dichas soluciones concentradas de Eosina Y tal como se prepararon en el polímero del Ejemplo 1 sean farmacológicamente activas como agentes citotóxicos fotoactivables.

El cambio del espectro de fluorescencia de la diclorofluoresceína en la solución de polímero (amarillo rojizo/naranja) respecto del agua (amarillo verdoso) se observó visualmente y provee una indicación de que la tintura no está en ambiente acuoso, sino encapsulada en el ambiente orgánico de los centros de la partícula de polímero autoensamblada. De hecho, se han usado cambios del espectro de fluorescencia como método para determinar cambios de la polaridad del microambiente (por ejemplo "sondas lipídicas"). El color de la solución de Sudán IV en el polímero era marrón rojizo, en oposición a la rojo en la solución de etanol y polvo marrón cuando se suspendió en agua. La Eosina Y no mostró cambio visual significativo (rosa en agua a rosa rojizo en la solución de polímero).

Ejemplo 2: Solubilización de Sustancias de Relevancia Médica

Purpurina, Anfotericina B, Camptotecina y Doxorrubicina fueron seleccionados como representantes de ingredientes farmacéuticamente activos poco solubles (API). La Anfotericina B se usó en una formulación liposomal como antifúngico inyectable, mientras que Camptotecina y Doxorrubicina son agentes anticancerosos. La Purpurina es una tintura que se intercala en el ADN con posible utilidad farmacéutica, y la Eosina Y es un reactivo fotosensible a singulete de oxígeno con posible uso en terapia fotodinámica. Cada API se solubilizó en agua con C16- π -Polímero A, C18- π -Polímero B, y/o conjugado de C16- π -Polímero A-ácido fólico (véase más adelante). Se demostró la solubilización por manchas de los API solubilizados y controles no solubilizados en placas de TLC, tal como se describió con anterioridad para las tinturas.

Los polímeros secos se reconstituyeron con agua, con calentamiento, agitación y sonicación según necesidad. Cuando la solución era demasiado viscosa se diluyó. Se usó C16- π -Polímero A a 10% p/v, C16- π -Polímero A con folato se usó a 5% p/v, y C18- π -Polímero B se usó a 2% p/v.

La sustancia farmacológica (20 mg) se añadió directamente a 1 ml de solución de polímero, lo cual dio por resultado relaciones en masa de polímero:API de 5:1 para C16- π -Polímero A, 2,5:1 para C16- π -Polímero A con folato, y 1:1 para C18- π -Polímero B, excepto para doxorrubicina (véase más adelante). Las mezclas se sometieron a sonicación durante 1 h a baja potencia, y luego se centrifugaron dos veces a 2000 xg para extraer los sólidos no disueltos. La cantidad de sólidos sedimentados no era significativa. La aplicación de mancha con las soluciones sobre una placa de TLC de gel de sílice mostró que los fármacos se solubilizaban, con migración retardada desde el frente del disolvente (Fig. 2).

El clorhidrato de doxorrubicina se combinó con polímeros como antes a una relación en masa de 10:1 de C16- π -Polímero A respecto de clorhidrato doxorrubicina, o en una relación en masa de 5:1 de C16- π -Polímero A con folato de doxorrubicina, seguido de la adición de suficiente 3M de acetato de sodio para neutralizar el clorhidrato de doxorrubicina. Las mezclas se agitaron vigorosamente durante 24 horas y luego se centrifugaron dos veces a 2000 xg para extraer los sólidos no disueltos. La cantidad de sólidos sedimentados no era significativa.

Las relaciones en masa de los API solubilizados respecto del polímero se muestran en la Tabla 1. No se intentó maximizar la carga del polímero, por lo que estas relaciones representan límites inferiores de la cantidad de API que los polímeros son capaces de portar a la solución.

Una muestra de 50 μ l de cada solución se colocó en mancha en una placa de gel de sílice de TLC de BakerflexTM y

se dejó difundir. La solución acuosa forma un límite externo del círculo y un círculo interno seguido de migración del polímero con el material encapsulado (Figura 2). En todos los casos, había poco API en el margen periférico de la zona sólo acuosa, que indica una solubilización exitosa y mínima pérdida del material encapsulado.

Tabla 1: Solubilización de API

	Relaciones de Masa de Polímero:Sustrato		
	C16- π -Polímero A	C16- π -Polímero A con folato	C18- π -Polímero B
	10% p/v	5% p/v	2% p/v
Purpurina	5:1	2,5:1	No realizada
Camptotecina	5:1	2,5:1	No realizada
Anfotericina B	5:1	2,5:1	No realizada
Doxorrubicina	10:1	5:1	No realizada
Eosina Y	No realizada	No realizada	1:1

4. Biocompatibilidad de π -Polímeros

Ejemplo 1: Adecuación para emolientes tópicos, cremas o pastas

Una cera oleosa concentrada del polímero del Ejemplo 1 se frotó en la piel interna de la muñeca por el inventor y se observó la captación. El material pareció ser absorbido de modo similar a cremas cerosas farmacológicas, con ligero aspecto suavizante de la zona. No se observaron respuestas alérgicas inmediatas o retardadas, tales como enrojecimiento, erupción o prurito después de una única aplicación tópica.

Muchos de estos polímeros son ceras higroscópicas a temperatura ambiente, con un punto de fusión esperado de aproximadamente 45 °C a 60 °C o superior, según la composición. Los polímeros fabricados con PEG de menor PM incluso pueden ser líquidos a temperatura ambiente. Algunos polímeros pueden ser sólidos a temperatura ambiente, y se funden a la temperatura corporal. En consecuencia, las propiedades de estos π -polímeros los hacen excelentes sustratos para fabricar lociones, cremas, ungüentos, emolientes y otras formas de suministro, sea por sí mismos, o en una mezcla con diversas sustancias, incluso agentes farmacéuticos activos.

Ejemplo 2: Adecuación para la administración parenteral

Se preparó una solución acuosa del polímero del Ejemplo 1 en solución fisiológica con buffer fosfato y luego se filtró en tubos estériles a través de filtros de 0,22 μ m.

Se empleó un protocolo de máxima dosis tolerada, en el cual ratones CD-1 fueron sometidos a una dosis de 10 ml por kg de peso corporal por inyección en la vena de la cola de hasta 5% p/v de la solución acuosa del polímero. Los ratones fueron observados durante 12 horas continuamente y cada 2 h después hasta las 48 a 72 h, según el grupo. Se obtuvieron muestras de sangre y se analizaron. Algunos ratones fueron sacrificados y se examinaron primero en la histología macroscópica. Luego se efectuó histología microscópica en cortes seleccionados.

No se hallaron diferencias observables en la química de la sangre entre los ratones control y los ratones tratados. No se hallaron diferencias observables o lesiones al comparar con animales control en la histología macroscópica de diversos órganos, incluso el corazón, los pulmones, los riñones, el bazo, el hígado, los intestinos, el estómago, la vejiga, la piel, los músculos, los huesos, el cerebro y los ganglios linfáticos. Se estudiaron múltiples muestras de diferentes grupos de animales con los mismos resultados observados. No se hallaron diferencias observables en la estructura de tejido celular de los tejidos examinados. Algunos de los riñones mostraron algunos cilindros que disminuyeron con el tiempo de exposición al polímero. Esto implica que la formación de cilindros es una fase temporaria y que a medida que transcurre el tiempo se normaliza.

Se concluyó que el polímero es seguro para uso médico como agente farmacéutico en preparaciones inyectables y otras formulaciones parenterales. Es razonable esperar que el polímero sea seguro en soluciones orales, capsulitas y comprimidos, rocíos nasales, aerosoles orales/bronquiales, sublinguales, crema/parches/loción cutánea, gotas oculares, otras vías tópicas y otras vías de administración.

5. Fijación de Restos Dirigidos al Blanco a los π -Polímeros

Ejemplo 1: Fijación de galactosamina a C-16 π -Polímero B por formación de enlace amida.

La galactosamina (GA) se dirige al receptor hepático de asialoglicoproteína (ASGPR), y los polímeros portadores de galactosamina ligados covalentemente son suministrados al hígado; véase L. Seymour et al., "Hepatic Drug Targeting: Phase I Evaluation of Polymer-Bound Doxorubicin" *J. Clin. Oncology*, 20(6):1668-1676 (2002) y sus

referencias.

C16- π -Polímero B (Ejemplo 10 en la sección de métodos de síntesis anteriores) (461 mg, 0,2 mmol equivalentes a COOH por unidad repetida) se dispersó en 14 ml de agua, y a esta dispersión se añadió EDC HCl (0,485 mmol) y N-hidroxisuccinimida (0,464 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos y se añadió una solución de galactosamina HCl (0,386 mmol) y TEMED (0,387 mmol) en 1 ml de agua. La solución se agitó y se siguió la reacción por TLC en gel de sílice y desarrollo en 1-butanol-ácido acético-agua (3:1:1). Se añadió una cantidad adicional de TEMED (0,079 mmol), NHS (0,078 mmol) y EDC HCl (0,193 mmol) para forzar la compleción de la reacción. Cuando TLC mostró un estado estable con respecto al consumo de GA, se dializó la mezcla de reacción (3500 Da de membrana de corte) contra 3 x 1000 ml de agua desionizada para extraer los reactivos y subproductos de bajo peso molecular. Se extrajo el retenido y se secó a 60 °C hasta peso constante (348 mg).

El TLC del producto no mostró GA libre (ninhidrina negativo). Una muestra del producto se hidrolizó con 6 N de HCl a 100 °C a fin de hidrolizar GA ligado. El análisis de TLC demostró la presencia de GA (ninhidrina positivo) a la misma R_f que el GA de referencia.

Ejemplo 2: Fijación de ácido fólico a C18- π -Polímero A

BDDC (2,44 g, 8,56 mmol) se pesó en un frasco de base redonda de 125 ml por el que se hizo pasar un chorro de argón (BDDC es muy viscoso con consistencia similar a miel y difícil de manipular). C18- π -Polímero A (10 g, 4,28 mmol) se añadió al frasco, la mezcla se calentó a 70 °C, y los reactivos se agitaron juntos durante aproximadamente 30 minutos. Se añadió ácido fólico (3 g) seguido de suficiente THF para permitir la agitación. Los reactivos se agitaron a 40–70 °C durante la noche, protegidos contra la humedad. Luego se dejó evaporar THF y se añadió agua (80 ml), y la mezcla se agitó a 50 °C durante otras 2 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se transfirió a una sección de tubos de diálisis con corte a 3500 Dalton, y se dializó contra 0,1 N de HCl (2 x 2000 ml), agua (2000 ml), 5% de carbonato de sodio (2 x 2000 ml) y agua (4 x 2000 ml), a fin de extraer los reactivos que no reaccionaron y los subproductos. Se extrajo el retenido amarillo naranja brillante. Una porción se evaporó hasta peso constante para determinar la concentración de sólidos, y se usó para los experimentos de solubilización descritos con anterioridad.

Ejemplo 3: Fijación de ácido N-acetilneuramínico (NANA) a C16- π -Polímero B.

Se espera que los derivados de ácido neuramínico sean restos blanco para los virus de la gripe debido a las proteínas de cubierta de hemaglutinina y neuraminidasa, de las cuales se sabe que ambas se fijan al ácido siálico.

BDDC (2,44 g, 8,56 mmol) y C18- π -Polímero A (10 g, 4,28 mmol) se combinaron y se calentaron hasta 70 °C, y se agitaron juntos con argón durante aproximadamente 30 minutos. Se añadió ácido N-acetilneuramínico (3 g), seguido de THF según necesidad para mantener la fluidez. Los reactivos se agitaron a 40–70 °C durante la noche, protegidos contra la humedad. Se añadió agua (80 ml), y la mezcla se agitó a 50 °C durante otras 2 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, se dializó la mezcla contra 0,1 N de HCl, 5% de NaHCO₃, y agua (2 x 2000 ml cada uno) con una membrana de corte de 3,5 kDa.

Ejemplo 4: Fijación de ácido β -O-metilneuramínico (MNA) a C16- π -Polímero B

C16- π -Polímero B, 43 micromoles de base COOH, en 1 ml de agua, y β -metilglucósido de ácido neuramínico (Toronto Research Chemicals), 40 micromoles, se mezclaron juntos, y se añadieron 40 micromoles de NHS en 0,1 ml de agua, seguido de 40 micromoles de clorhidrato de EDC en 0,1 ml de agua. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, y se analizó por TLC en gel de sílice con isopropanol-acetato de etilo-agua (4:3:2). La detección con 0,2% de orcinol en 70% de ácido sulfúrico a 130 °C no genera una reacción de color con el polímero inicial, pero el TLC de la mezcla de reacción dio una mancha púrpura que comigraba con el polímero.

Ejemplo 5: Fijación de zanamivir a C16- π -Polímero B.

Zanamivir (GG167) es un poderoso inhibidor de la neuraminidasa viral, y los polímeros portadores de esta molécula como ligando multivalente son inhibidores de la replicación del virus de la gripe.

C16- π -Polímero B (920 mg) se dispersó en 30 ml de agua, y a esto se agregó EDC HCl (1,2 mmol) y N-hidroxisuccinimida (1,1 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos, y se añadió una solución de la sal del ácido trifluoroacético de ácido 5-acetamido-7-(6'-aminohehil)-carbamiloxi-4-guanidino-2,3,4,5-tetradexoxi-D-glicero-D-galacto-non-Zenopiranosónico (patentes de los Estados Unidos N° 6.242.582 y 6.680.054) (0,39 g, 0,67 mmol) y TEMED (0,67 mmol) en 1 ml de agua. La solución se agitó a temperatura ambiente, y la reacción se siguió con TLC. La mezcla de reacción se dializó (3500 kDa de membrana de corte) contra 3 x 1000 ml de agua desionizada para extraer los reactivos y subproductos de bajo peso molecular. El retenido se extrajo y se secó a 60 °C hasta peso constante. El nivel de incorporación de azúcares se puede determinar mediante un ensayo colorimétrico para el grupo guanidina (Can.J Chem., 36:1541 (1958)). Se puede realizar un ensayo de

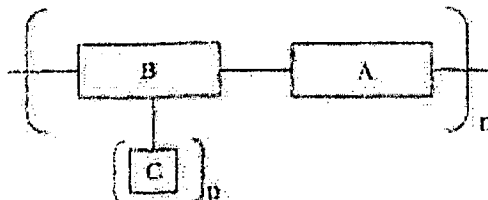
neuraminidasa según el procedimiento de Potier et al, *Anal. Biochem.*, 29 287 (1979).

Ejemplo 6: Fijación del fragmento Fab a Dimaleato de C16- π -Polímero A:

- 5 Un anticuerpo de fragmento variable monocatenario (scFv) dirigido contra el antígeno asociado con melanoma de alto peso molecular de glucoproteína superficial (HMV-MAA) tiene como blanco células de melanoma; véase F. Martin et al., *J. Virology*, 73: 6923-6929 (1999).
- 10 Los enlaces disulfuro en este fragmento de anticuerpo se reducen con Gel Reductor de Disulfuro TCEP Inmovilizado (Pierce Biotechnology, Rockford, IL) según el protocolo del fabricante, y se hicieron reaccionar con dimaleato de C16- π -Polímero A por el método del ejemplo 12 en la sección de Métodos Sintéticos.

REIVINDICACIONES

1. Un polímero tipo peine que consiste esencialmente en la siguiente estructura:

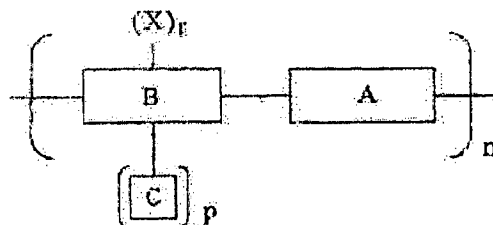


que comprende un esqueleto formado por restos alternados de los puntos de las ramificaciones B y los bloques de polímero A hidrofílicos, solubles en agua; y que tiene cadenas laterales hidrofóbicas C adosadas a los restos de los puntos de ramificación, en donde A se selecciona del grupo que consiste en poli(etilenglicol), poli(propilenglicol), poli(etilenimina), poli(alcohol vinílico), poli(vinilpirrolidona), polisacáridos y co-polímeros de estos; en donde los puntos de las ramificaciones B son los conjugados de ditiotritol (DTT), ditiogeritritol (DTE) o 2,3-diaminobutano-1,4-ditiol con dos moléculas de ácido maleico, y en cada cadena lateral C se selecciona independientemente del grupo que consiste en cadenas alifáticas C_8-C_{20} , poli(ácido glicólico), poli(ácido DL-láctico), poli(ácido L-láctico), copolímeros de hidroxiácidos de poli(ácido glicólico) y poli(ácido láctico), poli(aminoácidos), poli(anhidridos), poli(ortoésteres) y poli(fosfoésteres), poli(epsilon-caprolactona), poli(delta-valerolactona), poli(gamma-butirolactona) y poli(beta-hidroxibutirato), colesterol, ácido cólico y ácido litocólico; en donde el peso molecular de cada resto C es entre 50 y 1.000; en donde n varía de 3 a 100; y en donde, como promedio, $1 < p < 4$.

2. El polímero de la reivindicación 1, en donde, como promedio, p varía de 2 hasta 4.

3. El polímero de la reivindicación 1, en donde, como promedio, $1,5 < p < 2$.

4. Un polímero de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además uno o más grupos funcionales reactivos X fijados a cada resto de los puntos de las ramificaciones, y que consiste esencialmente en la siguiente estructura:



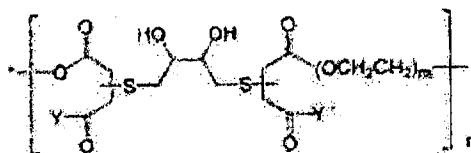
en donde X se selecciona del grupo que consiste en $-NH_2$, $-SH$, $-CHO$, $-NHNH_2$, $-COOH$, $-CONHNH_2$, haloacilo, acetoacetilo, $-CN$, $-OCN$, $-SCN$, $-NCO$, $-NCS$ vinílico, acrílico, alílico, maleico, cinámico, acetilencarboxi y acetilencarboxamido; y en donde, como promedio, r varía de 1 a 4.

5. El polímero de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el polímero de bloque A se selecciona del grupo que consiste en poli(etilenglicol) y poli(propilenglicol), y sus copolímeros.

6. El polímero de la reivindicación 5, en donde el polímero de bloque A es poli(etilenglicol).

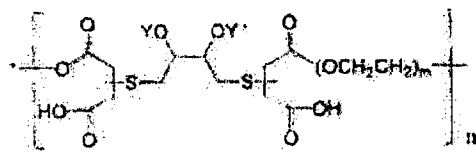
7. El polímero de la reivindicación 6, en donde el polímero de bloque A tiene una longitud promedio de entre 4 y 700 unidades de monómero.

8. El polímero de la reivindicación 6, que tiene la estructura



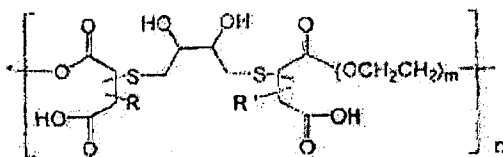
en donde m es 4-700, e Y e Y' son seleccionadas independientemente del grupo que consiste en R, OR, COOR, SR, NHR, NRR', ONHR, NHOR, NRNH₂, NHNH₂, NRNHR', y NHNRR', en donde R y R' son independientemente seleccionados del grupo que consiste en hidrocarburos lineales opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos, hidrocarburos policíclicos opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos, aminoácidos, péptidos y polímeros hidrofóbicos.

9. El polímero de la reivindicación 6 que tiene la estructura



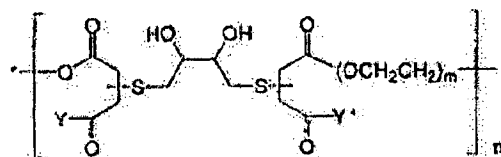
en donde m es 4-700, e Y e Y' son seleccionados independientemente del grupo que consiste en R, COR, COOR, CONHR, CONRR', CONHOR, CONRNH₂, CONHNHR, CONRNHR', y CONHNRR', en donde R y R' son seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrocarburos lineales opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos, hidrocarburos policíclicos opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos, aminoácidos, péptidos y polímeros hidrofóbicos.

10. El polímero de la reivindicación 6 que tiene la estructura



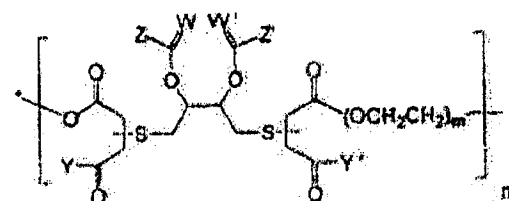
en donde m es 4-700, y R y R' son seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrocarburos lineales opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos, hidrocarburos policíclicos opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos, aminoácidos, péptidos y polímeros hidrofóbicos.

11. El polímero de la reivindicación 6 que tiene la estructura



en donde m es de 4 a aproximadamente 700 y n es de 3 a aproximadamente 100, y en donde, en cada aparición de la unidad monomérica que tiene la estructura mostrada, Y e Y' son seleccionados independientemente del grupo que consiste en OH, COOH, SH, NH₂, NHR, ONH₂, NHOH, NHNH₂, y NRNH₂, en donde R es seleccionado del grupo que consiste en alquilo C₁ a C₅ y (CH₂)_kY, donde k es de 2 a 5.

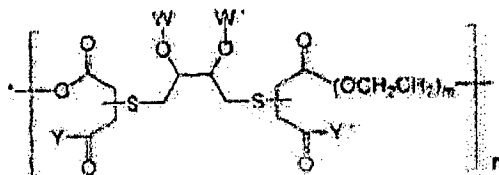
12. El polímero de la reivindicación 6 que tiene la estructura



en donde m es 4 a aproximadamente 700 y n es 3 a aproximadamente 100 y en donde, en cada aparición de la unidad monomérica que tiene la estructura mostrada, Y e Y' son seleccionados independientemente del grupo que consiste en OH, COOH, SH, NH₂, NHR, ONH₂, NHOH, NNNH₂, y NRNH₂, en donde R es seleccionado del grupo que consiste en alquilo C₁ a C₅ y (CH₂)_kY, donde k es de 2 a 5; W y W' son independientemente O o H₂, y en donde,

5 en cada aparición de la unidad monomérica, Z y Z' son seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrocarburos lineales opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos, hidrocarburos policíclicos opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílico, aminoácidos, péptidos y polímeros hidrofóbicos.

10 13. El polímero de la reivindicación 6 que tiene la estructura



15 en donde m es 4-700, e Y e Y' son seleccionados independientemente del grupo que consiste en R, OR, COOR, SR, NHR, NRR', ONHR, NHOR, NRNH₂, NNNHR, NRNHR', y NNNRR', en donde R y R' son seleccionados independientemente del grupo que consiste en hidrocarburos lineales opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos, hidrocarburos policíclicos opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes hidrofílicos, aminoácidos, péptidos y polímeros hidrofóbicos; y en donde, en cada aparición de la unidad monomérica, W y W' son seleccionados independientemente del grupo que consiste en H, -COCH=CH₂, -COC(CH₃)=CH₂, COCH=CHCO₂H, y -CO(CH₃)=CHCO₂H.

14. El polímero de la reivindicación 4-, que comprende adicionalmente un resto blanco fijado a uno o más de los grupos funcionales reactivos X presentes en el polímero.

25 15. El polímero de la reivindicación 14, en donde el resto blanco es seleccionado del grupo que consiste en ligandos específicos para receptor, anticuerpos, en particular anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos, péptidos que comprenden una secuencia de aminoácido RGD, péptidos que comprenden un motivo YISRG, factores de crecimiento, derivados de ácido siálico, derivados del ácido N-acetilneuramínico; folato, metotrexato, ácido pterico, estradiol, estratriol, testosterona, manosa-6-fosfato, azúcares, vitaminas, triptófano, aminoalquiloadamantanos, Fuzeon™ (enfuvritida), PRO-542 (CD4-IgG2), BMS-488043 (1-(4-benzoilpiperazin-1-il)-2-(4,7-dimetoxi-1H-pirrol-2,3-c)piridin-3-il)etan-1,2-diona), ácido siálico, ácido 2-desoxi-2,3-dideshidro-N-acetilneuramínico, 4-guanidino-Neu5Ac2en (zanamivir), oseltamivir, y RWJ-270201 (peramivir).

35 16. Una composición farmacéutica que comprende un polímero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-15, y que comprende además una cantidad eficaz de un agente farmacológicamente activo.

17. Un método para aumentar la solubilidad de una sustancia en un disolvente acuoso, que comprende poner en contacto la sustancia con un polímero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-15 para formar un complejo soluble en agua de la sustancia y el polímero.

40 18. El método de la reivindicación 17, en donde la sustancia es seleccionada del grupo que consiste en vitaminas, nutrientes, fármacos, tinturas, complejos de ácido nucleico y agentes de obtención de imágenes.



A

B

C

Figura 1

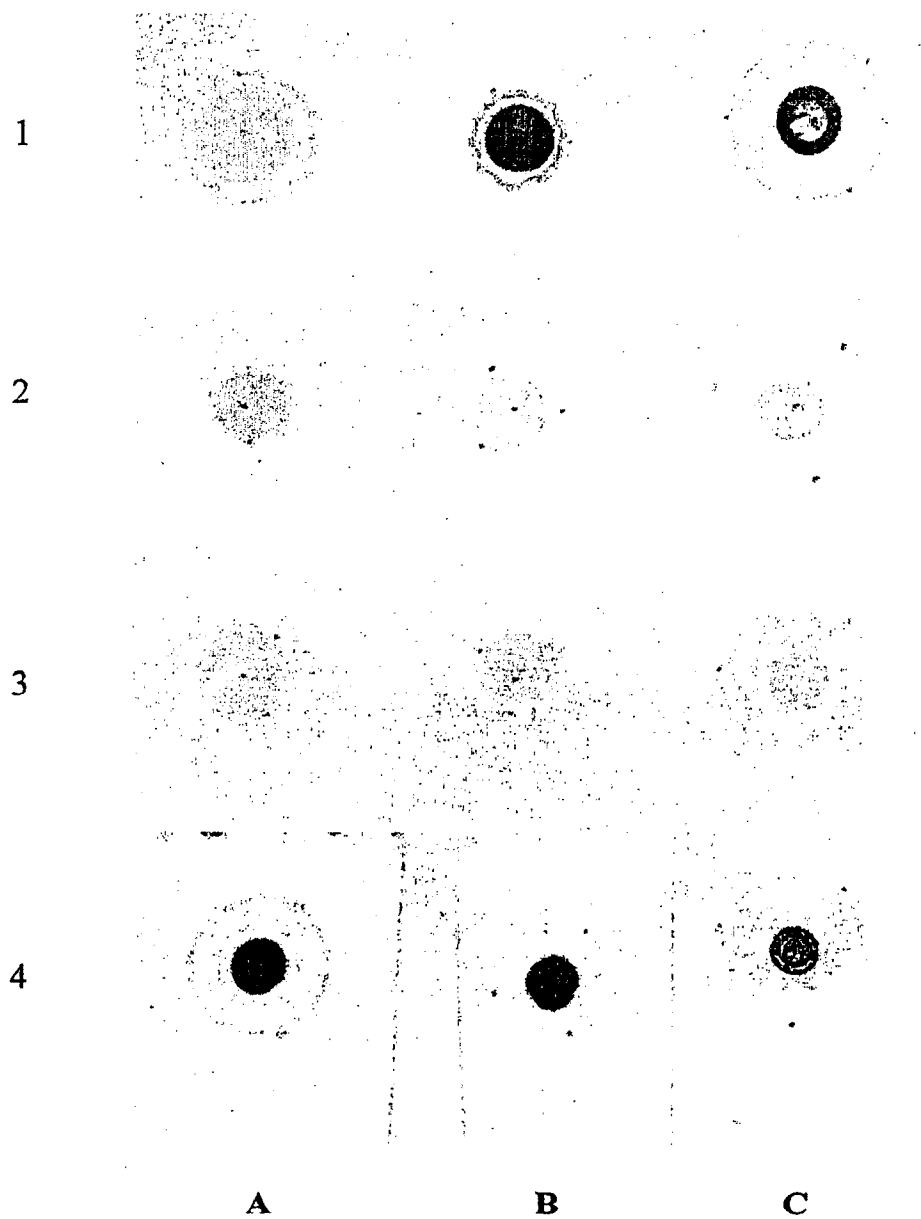


Figura 2

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citada por el solicitante es para facilitar la comprensión del lector únicamente. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido un cuidado extremado a la hora de recopilar las referencias, no pueden descartarse errores u omisiones, y la EPO declina cualquier responsabilidad a este respecto.

5 • Documentos de patente citados en la descripción:

- US 6399700 B, Mayes [0003]
- US 6521736 B, Watterson [0003]
- US 6322805 B, Kim [0005]
- US 6616941 B, Seo [0005]
- EP 0583955 A [0005]
- US 6569528 B, Nam [0005]
- US 20040248842 A, Wagner [0005]
- EP 0552802 A [0007]
- US 6623729 B [0007]
- EP 0397307 A [0007]
- US 5919442 A [0008]
- WO 03078489 A [0009]
- US 2004248842 A [0010]
- WO 0024008 A [0019]
- US 6680054 B, Reece [0027] [0138]
- US 4755528 A, DuPriest [0041]
- US 6838089 B [0061]
- US 397332 A [0104]
- US 20040006051 A [0104]
- US 6242582 B [0138]

• Documentos no de patente citados en la descripción:

- CAMERON et al. *Can. J Chem./Rev. Can. Chim.*, 1999, vol. 77, 1311-1326 [0002]
- KRISHNADAS et al. *Pharm. Res.*, 2003, vol. 20, 297-302 [0005]
- PHOTOS et al. *J. Controlled Release*, 2003, vol. 90, 323-334 [0005]
- GREF et al. *Int. Symp. Controlled Release Mater.*, 1993, vol. 20, 131-1 [0005]
- KWON et al. *Langmuir*, 1993, vol. 9, 945 [0005]
- KABANOV et al. *J. Controlled Release*, 1992, vol. 22, 141 [0005]
- ALLEN et al. *J. Controlled Release*, 2000, vol. 63, 275 [0005]
- INOUE et al. *J. Controlled Release*, 1998, vol. 51, 221 [0005]
- YU ; EISENBERG. *Macromolecules*, 1996, vol. 29, 6359 [0005]
- DISCHER et al. *Science*, 1999, vol. 284, 113 [0005]
- LUO et al. *Macromolecules*, 2002, vol. 35, 3456 [0005]
- T. MASUDA et al. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2003, vol. 51, 1386-98 [0027]
- M. ITOH et al. *Virology*, 1995, vol. 212, 340-7 [0027]
- M. DELERBA et al. *Macromol. Rapid Commun.*, 1997, vol. 18 (8), 723-728 [0035]
- GODJOIAN et al. *Tetrahedron Letters*, 1996, vol. 37, 433-6 [0086]
- S. SASAKI et al. *Chem.Pharm.Bull.*, 1985, vol. 33 (10), 4247-4266 [0096]
- Handbook of Reagents for Organic Synthesis, Reagents for Glycoside, Nucleotide, and Peptide synthesis. Wiley, 2005, 107-108 [0110]
- L. SEYMOUR et al. Hepatic Drug Targeting: Phase I Evaluation of Polymer-Bound Doxorubicin. *J. Clin. Oncology*, 2002, vol. 20 (6), 1668-1676 [0130]
- *Can. J Chem.*, 1958, vol. 36, 1541 [0138]
- POTIER et al. *Anal. Biochem.*, 1979, vol. 29, 287 [0138]
- F. MARTIN et al. *J. Virology*, 1999, vol. 73, 6923-6929 [0139]