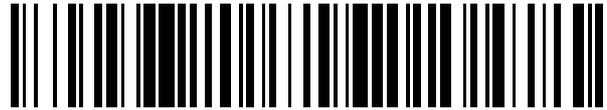


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 229**

51 Int. Cl.:

A61L 27/52 (2006.01)

A61L 27/58 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.02.2008 E 11007569 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2015 EP 2397164**

54 Título: **Hidrogeles biocompatibles de bajo esponjamiento**

30 Prioridad:

05.03.2007 US 714028

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

21.05.2015

73 Titular/es:

**CONFLUENT SURGICAL INC. (100.0%)
311 Enterprise Drive
Plainsboro, NJ 08536, US**

72 Inventor/es:

**SAWHNEY, AMARPREET S. y
BENNETT, STEVEN L.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 536 229 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

Hidrogeles biocompatibles de bajo esponjamiento

La presente divulgación se refiere a hidrogeles reticulados covalentemente para el contacto con la duramadre raquídea.

- 5 Los hidrogeles se pueden usar en el cuerpo para aplicaciones tales como obturación, prevención de la adhesión o aporte de fármacos. Los hidrogeles pueden exhibir un grado de esponjamiento generalmente alto cuando se hidratan.

10 Sin embargo, ciertas aplicaciones médicas no toleran un alto grado de esponjamiento. Por ejemplo, la gelatina absorbible GELFOAM® (Pharmacia & Upjohn, Kalamazoo, MI) es una forma de gelatina flexible, porosa, insoluble en agua para la aplicación a superficies que sangran como un hemostático. Sin embargo, GELFOAM® no es adecuada para aplicaciones alrededor de la columna vertebral y está contraindicada para procedimientos de laminectomía y para el uso cerca de agujeros del hueso, una vez que se alcanza la hemostasia. Esta contraindicación existe debido a que GELFOAM® se puede esponjar después de absorber fluidos biológicos y producir daño a los nervios mediante presión dentro de espacios óseos confinados. Se debe evitar la compactación de GELFOAM®, particularmente dentro de las cavidades óseas, ya que el esponjamiento puede interferir con la función normal y/o posiblemente dar como resultado necrosis por compresión de los tejidos circundantes.

15 El documento US 2003/012734 divulga una composición que comprende un hidrogel que se reticula, para el uso como un protector de la adhesión alrededor de la médula espinal, que incluye precursores primero y segundo.

Compendio

- 20 Sin embargo, estos problemas se tratan mediante hidrogeles de bajo esponjamiento según la composición de la reivindicación 1.

Los primeros grupos funcionales se reticulan con los segundos grupos funcionales formando de ese modo un hidrogel que se esponja desde -50% hasta 50%.

25 En realizaciones, el hidrogel se puede reticular para formar un gel a partir de un primer precursor sintético que posee primeros grupos funcionales y un segundo precursor sintético que posee segundos grupos funcionales en menos de aproximadamente 10 segundos después de mezclar entre sí el primer precursor y el segundo precursor. En algunas realizaciones, el primer precursor sintético puede ser dilisinas, trilisinas, tetralisinas, o una secuencia oligopeptídica de no más de cinco residuos que posee al menos grupos lisina.

30 La presente divulgación describe un método para tratar tejido dentro de la columna vertebral formando un hidrogel biodegradable de bajo esponjamiento in situ adherente al tejido dentro de la columna vertebral y sustancialmente exterior a la paquimeninge en la columna vertebral.

35 El hidrogel se puede aplicar en una zona dentro de un paciente de modo que el hidrogel se sitúe en un espacio peridural o epidural. El tejido circundante puede incluir, por ejemplo, un nervio raquídeo o una raíz de nervio raquídeo exterior a la duramadre. El hidrogel se puede reticular para formar un gel firme a partir de un primer precursor y un segundo precursor en menos de aproximadamente 10 segundos después de mezclar entre sí el primer precursor y el segundo precursor.

40 La presente divulgación describe estuches ("kits") para producir hidrogeles que incluyen un primer precursor sintético que posee primeros grupos funcionales y un segundo precursor sintético que incluye un precursor de múltiples brazos que posee un núcleo y de aproximadamente 3 a aproximadamente 12 brazos, incluyendo cada uno de los brazos un polietilenglicol que tiene un peso molecular de aproximadamente 250 a aproximadamente 5.000 que posee segundos grupos funcionales en sus extremos. Los primeros grupos funcionales se reticulan con los segundos grupos funcionales formando de ese modo un hidrogel que se esponja de aproximadamente -50% a aproximadamente 50%.

Breve descripción de las figuras

- 45 La Figura 1 es una ilustración en forma de vista lateral de una porción de una columna vertebral; y la Figura 2 es una vista transversal en planta de una realización de un revestimiento de hidrogel dispuesto en una columna vertebral.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

- 50 Se describen en la presente hidrogeles que pueden ser adecuados para el uso en un área de la columna vertebral. Estos hidrogeles tienen buena adhesión a tejidos, se pueden formar in situ, son biodegradables y exhiben bajo esponjamiento después de la colocación, de modo que los tejidos blandos no se comprimirán indebidamente contra porciones óseas de la columna vertebral. Los nervios, en particular, pueden ser vulnerables cuando un hidrogel

convencional se esponja y comprime un nervio contra un hueso. Así, las composiciones de hidrogel de bajo esponjamiento descritas en la presente pueden crear nuevas posibilidades terapéuticas para tratar tejidos alrededor de los nervios en zonas óseas.

5 Los hidrogeles pueden ser adyuvantes útiles en procedimientos quirúrgicos para el uso, por ejemplo, como hemostáticos, obturantes, barreras protectoras y similares. La creación de los hidrogeles in situ en un paciente puede permitir la creación de un hidrogel que revista un tejido, se ajuste a su conformación y rellene/se ajuste a un espacio tridimensional. Tales materiales deben poseer propiedades mecánicas adecuadas para soportar las tensiones provocadas por el movimiento del paciente, el desplazamiento de tejidos, fuerzas hidrostáticas presentes en el tejido, y similares. Al mismo tiempo, se puede usar un alto contenido de agua para la biocompatibilidad.

10 Visión de conjunto de los sistemas de hidrogel

Ciertas propiedades de los hidrogeles pueden ser útiles, tales como la adhesión a una variedad de tejidos, tiempos de endurecimiento rápidos para permitir que un cirujano coloque precisamente y cómodamente los hidrogeles, alto contenido de agua para la biocompatibilidad, resistencia mecánica para el uso en obturantes y/o tenacidad para resistir la destrucción después de la colocación. Así, se pueden usar materiales sintéticos que se esterilizan fácilmente y evitan los peligros de la transmisión de enfermedades relacionados con el uso de materiales naturales. En efecto, ciertos hidrogeles polimerizables in situ elaborados usando precursores sintéticos están dentro del alcance de los expertos en la técnica, p. ej., como los usados en productos disponibles comercialmente tales como FOCALSEAL[®] (Genzyme, Inc.), COSEAL[®] (Angiotech Pharmaceuticals) y DURASEAL[®] (Confluent Surgical, Inc). Otros hidrogeles conocidos incluyen, por ejemplo, los divulgados en las Patentes de EE. UU. N° 6.656.200, 5.874.500, 5.543.441, 5.514.379, 5.410.016, 5.162.430, 5.324.775, 5.752.974 y 5.550.187.

El esponjamiento de COSEAL[®] y DURASEAL[®] se ha medido usando un modelo in vitro en comparación con el obturante fibrina (Campbell et al., Evaluation of Absorbable Surgical Sealants: In vitro Testing, 2005). A lo largo de una prueba de tres días, COSEAL[®] se esponjaba una media de aproximadamente 558% en peso, DURASEAL[®] incrementaba una media de aproximadamente 98% en peso y el obturante fibrina se esponjaba aproximadamente 3%. Suponiendo una expansión uniforme a lo largo de todos los ejes, se calculó que el porcentaje de incremento en un solo eje era 87%, 26% y 1% para COSEAL[®], DURASEAL[®] y el obturante fibrina, respectivamente. Los hidrogeles con menos esponjamiento serían deseables para aplicaciones en o cerca de la columna vertebral. El obturante fibrina es una goma proteínica que tiene propiedades adhesivas, obturantes y mecánicas que son inferiores a COSEAL[®], DURASEAL[®] y otros hidrogeles divulgados en la presente. Además, típicamente se deriva de fuentes biológicas que están potencialmente contaminadas, se depura del cuerpo mediante mecanismos distintos a esta clase de hidrogeles y típicamente requiere refrigeración mientras está almacenada.

Los hidrogeles polimerizables in situ se pueden elaborar a partir de precursores. El precursor puede ser, p. ej., un monómero o un macrómero. Un tipo de precursor pueden tener un grupo funcional que está etilénicamente insaturado. Un grupo funcional etilénicamente insaturado se puede polimerizar usando un iniciador para comenzar la reacción. Los precursores con al menos dos grupos funcionales etilénicamente insaturados pueden formar polímeros reticulados. Algunas composiciones tienen ciertos precursores con uno solo de tales grupos funcionales y precursores reticuladores adicionales con una pluralidad de grupos funcionales para reticular los precursores. Los grupos funcionales etilénicamente insaturados se pueden polimerizar mediante diversas técnicas, p. ej., polimerización por radicales libres, condensación o adición. Los hidrogeles se pueden formar a partir de un precursor (como mediante la polimerización por radicales libres), dos precursores, o se pueden elaborar con tres o más precursores, participando uno o más de los precursores en la reticulación para formar el hidrogel.

Otro tipo de precursor tiene un grupo funcional que es un electrófilo o nucleófilo. Los electrófilos reaccionan con nucleófilos para formar uniones covalentes. Reticulaciones o uniones covalentes se refieren a grupos químicos formados mediante la reacción de grupos funcionales sobre diferentes polímeros que sirven para unir covalentemente entre sí los diferentes polímeros. En ciertas realizaciones, un primer conjunto de grupos funcionales electrófilos puede reaccionar con un segundo conjunto de grupos funcionales nucleófilos sobre un segundo precursor. Cuando los precursores se mezclan en un ambiente que permite la reacción (p. ej., en lo que se refiere al pH o el disolvente), los grupos funcionales reaccionan entre sí para formar uniones covalentes y enlazan los precursores entre sí. Los precursores se reticular cuando al menos alguno de los precursores puede reaccionar con más de uno de los otros precursores. Por ejemplo, un precursor con dos grupos funcionales de un primer tipo se puede hacer reaccionar con un precursor de la reticulación que tiene al menos tres grupos funcionales de un segundo tipo capaces de reaccionar con el primer tipo de grupos funcionales.

Hidrogeles y materiales precursores

55 Hidrogeles adecuados para el uso según la presente divulgación incluyen materiales macromoleculares y poliméricos en los que se pueden difundir fácilmente agua y moléculas hidrófilas pequeñas. Hidrogeles de interés incluyen, p. ej., los preparados a través de la reticulación de: poliéteres, p. ej. poli(óxidos de alquileo) tales como poli(etilenglicol), poli(óxido de etileno), copolímeros de bloques de poli(óxido de etileno)-co-poli(óxido de propileno); poli(alcohol vinílico) y poli(vinilpirrolidona). Debido a su alto grado de biocompatibilidad y resistencia a la adsorción de proteínas, los hidrogeles derivados de poliéteres pueden ser útiles en algunas realizaciones, incluyendo los

hidrogeles derivados de poli(etilenglicol).

También se pueden usar polímeros naturales, por ejemplo proteínas, polisacáridos o glicosaminoglicanos, así como sus derivados, p. ej., ácido hialurónico, dextrano, sulfato de condroitina, heparina, sulfato de heparina, alginato, gelatina, colágeno, albúmina, ovoalbúmina, poliaminoácidos, colágeno, fibrinógeno, albúmina, fibrina, almidón, sulfato de dermatano, sulfato de queratano, sulfato de dextrano, polisulfato de pentosano, quitosano, fibronectina, laminina, elastina, y sus dominios peptídicos activos. Tales polímeros se pueden hacer reaccionar a través de grupos funcionales tales como aminas, tioles o carboxilos o sus aminoácidos, o se pueden derivar para tener grupos funcionales activables. Aunque se pueden usar polímeros naturales en hidrogeles de bajo esponjamiento, su tiempo hasta la gelificación y sus propiedades mecánicas finales se deben controlar mediante la introducción apropiada de grupos funcionales adicionales y la selección de condiciones de reacción adecuadas, p. ej., pH. Por ejemplo, las colas de fibrina, que se basan en la polimerización de fibrinógeno para formar fibrina, tienen un intervalo limitado de propiedades mecánicas, un intervalo limitado de degradabilidad y así pueden no ser adecuadas para todas las aplicaciones terapéuticas que están disponibles cuando se formulan hidrogeles de bajo esponjamiento como los descritos en la presente. Sin embargo, se contempla que tales materiales naturales se puedan utilizar en algunas realizaciones.

Los precursores pueden tener grupos nucleares biocompatibles y solubles en agua. Según se usa en la presente, soluble en agua se refiere a una solubilidad de al menos aproximadamente 1 g/l en agua. Este grupo nuclear es una molécula soluble en agua con un mínimo de tres brazos. Un brazo en un precursor de hidrogel se refiere a una cadena lineal de grupos químicos que conectan un grupo funcional reticulable a un centro multifuncional que inicia la polimerización de los brazos poliméricos. La combinación de este centro multifuncional y los brazos ligados comprende el grupo nuclear. Un grupo funcional reticulable en un precursor de hidrogel es un grupo químico que participa en una reacción de reticulación covalente entre dos brazos del precursor de hidrogel. En realizaciones, el grupo nuclear puede ser un polímero soluble en agua. Ejemplos de tales polímeros que se pueden usar incluyen, por ejemplo: poliéteres, por ejemplo, poli(óxidos de alquileno) tales como polietilenglicol ("PEG"), poli(óxido de etileno) ("PEO"), poli(óxido de etileno)-co-poli(óxido de propileno) ("PPO"), copolímeros de bloques o aleatorios de copoli(óxido de etileno); poli(alcohol vinílico) ("PVA"); poli(vinilpirrolidina) ("PVP"); poli(aminoácidos); dextrano; y proteínas, así como derivados de los precedentes y combinaciones de los precedentes.

En otras realizaciones, los centros multifuncionales pueden incluir polioles que, en realizaciones, pueden poseer grupos hidroxilo para la iniciación de grupos monoméricos que forman los brazos del núcleo que a continuación se pueden funcionalizar con grupos reticulables. Dependiendo del número de brazos deseado, el poliol puede poseer de aproximadamente 3 a aproximadamente 12 grupos hidroxilo, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 grupos hidroxilo. El poliol también puede poseer otros grupos funcionales protegidos o no protegidos. Polioles adecuados incluyen glicerol, manitol, azúcares reductores tales como sorbitol, pentaeritritol y oligómeros de glicerol incluyendo hexaglicerol, así como sus derivados y sus combinaciones. Como será fácilmente evidente para un experto en la técnica, el número de grupos hidroxilo debe ser equivalente al número de brazos en el precursor de múltiples brazos, es decir, el poliol particular elegido determinará el número de brazos del grupo nuclear multifuncional resultante. En realizaciones, un polímero descrito anteriormente, tal como polietilenglicol, se formaría iniciando la polimerización de óxido de etileno con el poliol, formando de ese modo los brazos de un precursor de múltiples brazos que se puede funcionalizar adicionalmente.

Así, se pueden elaborar hidrogeles a partir de un precursor de múltiples brazos con un primer conjunto de grupos funcionales y un precursor de bajo peso molecular que tiene un segundo conjunto de grupos funcionales.

Por ejemplo, un precursor de múltiples brazos puede tener brazos hidrófilos, p. ej., polietilenglicol, terminados con N-hidroxisuccinimida, siendo el peso molecular combinado de los brazos de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 40.000; los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores dentro de los límites explícitamente indicados. La invención utiliza un precursor de múltiples brazos que tiene seis brazos u ocho brazos. El peso molecular de un brazo individual de tal precursor es de 1.250 a 2.500.

En algunas realizaciones, los precursores de seis brazos u ocho brazos se pueden hacer reaccionar con un precursor de bajo peso molecular tal como trilisina. La trilisina proporciona múltiples puntos de reacción para la reticulación de precursores de múltiples brazos y presumiblemente (sin querer limitarse a una teoría de acción particular) permite relativamente poco movimiento de contracción o esponjamiento, sin que tales movimientos estén relacionados probablemente con los precursores de múltiples brazos, que son relativamente más grandes y más móviles. Según esto, se pueden usar otras moléculas pequeñas en lugar de trilisina, por ejemplo, moléculas con un peso molecular de aproximadamente 100 a aproximadamente 5.000, en realizaciones de aproximadamente 300 a aproximadamente 2.500, en otras realizaciones de aproximadamente 500 a aproximadamente 1.500. Tales moléculas pequeñas pueden tener al menos aproximadamente tres grupos funcionales, de aproximadamente 3 a aproximadamente 16 grupos funcionales; los expertos normales apreciarán que se contemplan todos los intervalos y valores entre estos valores explícitamente articulados. Tales moléculas pequeñas pueden ser polímeros o no polímeros, y pueden ser naturales o sintéticas. En algunos casos, también se pueden utilizar dilisinas y/o tetralisinas como el precursor de bajo peso molecular.

Sintética se refiere a una molécula no encontrada en la naturaleza y no incluye una versión derivada de una

biomolécula natural, p. ej., colágeno con grupos laterales modificados. Se considera normalmente que los polímeros de poliaminoácido generados sintéticamente son sintéticos si no se encuentran en la naturaleza y se manipulan para no ser idénticos a biomoléculas presentes en la naturaleza. Por ejemplo, la trilisina es sintética ya que no se encuentra en la naturaleza (aunque algunas bacterias podrían producir polilisinas relativamente mayores).

5 Algunas realizaciones incluyen un precursor que incluye una secuencia oligopeptídica de no más de aproximadamente cinco residuos que tienen al menos dos grupos lisina. Un residuo es un aminoácido, bien según se presenta en la naturaleza o bien derivado del mismo. La cadena principal de tal oligopéptido puede ser natural o sintética. En algunas realizaciones, dos o más lisinas se pueden combinar con una cadena principal sintética para
10 elaborar un precursor; ciertas realizaciones de tales precursores pueden tener un peso molecular de aproximadamente 100 a aproximadamente 10.000, en realizaciones de aproximadamente 300 a aproximadamente 5.000; los expertos apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores entre estos límites explícitamente articulados.

Algunos hidrogeles se pueden elaborar con un precursor que contiene polietilenglicol. Polietilenglicol (PEG, también denominado en la presente poli(óxido de etileno)) se refiere a un polímero con un grupo repetido $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n$,
15 siendo n al menos 3. Un precursor polimérico que tiene un polietilenglicol puede tener así al menos tres de estos grupos repetidos conectados entre sí en una serie lineal. El contenido de polietilenglicol de un polímero o brazo se puede calcular sumando todos los grupos polietilenglicol del polímero o brazo, incluso si están interrumpidos por otros grupos. Así, un brazo que tiene polietilenglicol de un PM de al menos 1.000 tiene suficientes grupos $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ para totalizar un PM de al menos 1.000. Según es la terminología habitual en estas técnicas, un polímero de
20 polietilenglicol no necesariamente termina en un grupo hidroxilo.

En ciertas realizaciones, los precursores pueden incluir composiciones que son macrómeros biodegradables, reticulables y sustancialmente solubles en agua. Los macrómeros pueden poseer al menos una región soluble en agua, al menos una región degradable y los brazos de tal precursor pueden poseer estadísticamente más de 1
25 región polimerizable de media, de modo que un precursor de tres brazos poseería al menos tres regiones polimerizables. Las regiones polimerizables pueden estar separadas entre sí por al menos una región degradable. Alternativamente, si la biodegradabilidad no es deseable, se pueden usar composiciones que no contengan los segmentos biodegradables, pero pueden ser solubles en agua y se pueden reticular in vivo bajo condiciones fisiológicas aceptables.

Un precursor monomérico o macromérico capaz de ser reticulado para formar un material biocompatible se puede
30 usar para formar los hidrogeles. Estos pueden ser moléculas pequeñas, tales como ácido acrílico o vinilcaprolactama, moléculas mayores que contienen grupos polimerizables, tales como polietilenglicol protegido con acrilato (diacrilato de PEG) u otros polímeros que contienen grupos etilénicamente insaturados, tales como los de la Patente de EE. UU N° 4.938.763 de Dunn et al., las Patentes de EE. UU N° 5.100.992 y 4.826.945 de Cohn et al. o las Patentes de EE. UU N° 4.741.872 y 5.160.745 de De Luca et al.

35 Precursores macroméricos adecuados que se pueden utilizar incluyen los macrómeros reticulables, biodegradables, solubles en agua descritos en la Patente de EE. UU. N° 5.410.016 de Hubbell et al. Estos monómeros se pueden caracterizar por tener al menos dos grupos polimerizables, separados por al menos una región degradable. Cuando se polimerizan en agua, estos monómeros pueden formar geles coherentes que persisten hasta que se eliminan por autodegradación. Los macrómeros son autocondensables, lo que significa que pueden reaccionar entre sí y no con
40 proteínas u otros restos en tejidos próximos.

Los precursores con mayores distancias entre reticulaciones generalmente son más blandos, más deformables y más elásticos. Así, un incremento de la longitud de un segmento soluble en agua, tal como un polietilenglicol, puede mejorar la elasticidad para producir propiedades físicas deseables. Así, la presente divulgación se puede dirigir a
45 precursores con segmentos solubles en agua que tienen pesos moleculares de aproximadamente 3.000 a aproximadamente 100.000, y de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 35.000.

Enlaces biodegradables

Como se apuntó anteriormente, se usan uno o más precursores que tienen enlaces biodegradables presentes entre grupos funcionales para hacer al hidrogel biodegradable o absorbible. En algunas realizaciones, estos enlaces
50 pueden ser, por ejemplo, ésteres, que se pueden degradar hidrolíticamente en solución fisiológica. El uso de tales enlaces está en contraste con enlaces proteínicos que se pueden degradar mediante acción proteolítica. Un enlace biodegradable también puede formar opcionalmente una parte de un núcleo soluble en agua de uno o más de los precursores. Alternativamente, o además, los grupos funcionales de los precursores se pueden elegir de modo que el producto de la reacción entre ellos dé como resultado un enlace biodegradable. Para cada enfoque, los enlaces biodegradables se pueden elegir de modo que el polímero reticulado biocompatible biodegradable resultante se
55 degrade o se absorba en un período de tiempo deseado. Generalmente, se pueden seleccionar enlaces biodegradables que degraden el hidrogel bajo condiciones fisiológicas hasta productos atóxicos o de baja toxicidad.

El enlace biodegradable puede ser químicamente o enzimáticamente hidrolizable o absorbible. Enlaces biodegradables químicamente hidrolizables ilustrativos incluyen polímeros, copolímeros y oligómeros de glicólido, dl-

láctido, l-láctido, caprolactona, dioxanona y carbonato de trimetileno. Otros enlaces biodegradables químicamente hidrolizables pueden estar en forma monomérica, por ejemplo los formados a través de apertura del anillo de anhídrido glutárico con poli(etilenglicol) para formar un enlace ácido glutárico. Otros enlaces incluyen succínico, maleico, metilsuccínico, diglicolicometilglutárico, sus combinaciones, y similares. Enlaces biodegradables 5 enzimáticamente hidrolizables ilustrativos incluyen enlaces peptídicos escindibles mediante metaloproteinasas y colagenasas. Enlaces biodegradables ilustrativos adicionales incluyen polímeros y copolímeros de poli(hidroxiácido)s, poli(ortocarbonato)s, poli(anhídrido)s, poli(lactona)s y poli(fosfonato)s.

Los polímeros naturales se pueden degradar proteolíticamente mediante proteasas presentes en el cuerpo, que son 10 enzimas que reconocen restos biológicos específicos tales como secuencias de aminoácidos. En contraste, los polímeros sintéticos sin tales secuencias específicamente escindibles se pueden degradar mediante otros mecanismos tales como la degradación hidrolítica. En la médula espinal, se puede esperar que los polímeros sintéticos libres de tales secuencias sufran poca o ninguna degradación por acción enzimática específica. El ataque y la degradación no específicos por enzimas que no actúan específicamente puede dar como resultado una 15 respuesta biológica y un tiempo hasta la degradación diferentes y no es equivalente a la degradación por enzimas que son específicas para una secuencia de aminoácidos particular. Algunos incluyen precursores que no tienen secuencias sujetas a reconocimiento y escisión específicos por enzimas.

Grupos funcionales

Los grupos funcionales de los precursores incluyen restos químicos que reaccionan con otros grupos funcionales 20 para formar una unión covalente como parte del procedimiento de elaboración de un hidrogel. Los grupos funcionales incluyen, por ejemplo, grupos polimerizables etilénicamente insaturados, p. ej., grupos vinilo, grupos acrilato, grupos metacrilato, grupos etacrilato, grupos 2-fenilacrilato, grupos acrilamida, grupos metacrilamida, grupos itaconato y grupos estireno colgantes, sus combinaciones, y similares.

Los grupos funcionales pueden incluir grupos electrófilos o nucleófilos que participan en una reacción electrófilo- 25 nucleófilo para formar un hidrogel. Ejemplos de grupos funcionales electrófilos incluyen grupos carbodiimidazol, grupos cloruro de sulfonilo, grupos clorocarbonato, grupos éster n-hidroxisuccinimidílico, grupos éster succinimidílico, grupos éster sulfasuccinimidílico, grupos éster de succinimida N-hidroxi-etoxilado, grupos metanodiisocianato, grupos metilen-bis(4-ciclohexilisocianato), grupos isocianato, grupos diisocianato, grupos hexametildiisocianato, grupos maleimida, y similares. Ejemplos de grupos funcionales nucleófilos incluyen grupos amina, grupos hidroxilo, grupos carboxilo, grupos tiol, y similares.

30 Sistemas iniciadores

Un grupo iniciador es un grupo químico capaz de iniciar una reacción de polimerización por radicales libres. Por 35 ejemplo, puede estar presente como un componente separado o como un grupo colgante en un precursor. Grupos iniciadores incluyen iniciadores térmicos, iniciadores fotoactivables, sistemas de oxidación-reducción (redox), sus combinaciones, y similares.

Iniciadores fotoactivables por luz UV de onda larga y visible incluyen, por ejemplo, grupos etileosina, grupos 2,2- 40 dimetoxi-2-fenilacetofenona, otros derivados de acetofenona, grupos tioxantona, grupos benzofenona, grupos canforquinona, sus combinaciones, y similares.

Ejemplos de iniciadores térmicamente reactivos incluyen grupos 4,4'-azobis(4-ácido cianopentanoico), análogos de 45 grupos peróxido de benzoílo, sus combinaciones, y similares. Varios iniciadores de radicales libres a baja temperatura disponibles comercialmente, tales como V-044, disponible de Wako Chemicals USA, Inc. (Richmond, VA) se pueden usar para iniciar reacciones de reticulación por radicales libres a temperaturas corporales para formar hidrogeles con los susodichos monómeros.

También se pueden usar iones metálicos bien como un oxidante o bien como un reductor en sistemas iniciadores 50 redox. Por ejemplo, se pueden usar iones ferrosos en combinación con un peróxido o hidroperóxido para iniciar la polimerización, o como partes de un sistema de polimerización. En este caso, los iones ferrosos servirían como un reductor. Alternativamente, los iones metálicos pueden servir como un oxidante. Por ejemplo, el ion cerio (estado de valencia del cerio 4+) puede interactuar con diversos grupos orgánicos, incluyendo ácidos carboxílicos y uretanos, para retirar un electrón al ion metálico, dejando así un radical iniciador en el grupo orgánico. En tal sistema, el ion metálico actúa como un oxidante. Iones metálicos potencialmente adecuados para cualquier papel son cualquiera de 55 los iones metálicos de transición, lantánidos y actínidos, que tienen al menos dos estados de oxidación fácilmente accesibles. Los iones metálicos pueden tener al menos dos estados separados solo por una diferencia en la carga. De estos, los más comúnmente usados incluyen férrico/ferroso; cúprico/cuproso; cérico/ceroso; cobáltico/cobaltoso; vanadato V frente a IV; permanganato; y mangánico/manganoso. También se pueden usar compuestos que contienen peróxido, tales como peróxidos e hidroperóxidos, incluyendo peróxido de hidrógeno, hidroperóxido de t-butilo, peróxido de t-butilo, peróxido de benzoílo y peróxido de cumilo.

Un ejemplo de un sistema iniciador es la combinación de un compuesto de peróxígeno en una solución y un ion 60 reactivo, tal como un metal de transición, en otra. En este caso, pueden no ser necesarios iniciadores de la polimerización externos y la polimerización avanza espontáneamente y sin aplicación de energía externa o el uso de

una fuente de energía externa cuando dos grupos funcionales reactivos complementarios que contienen restos interactúan en el punto de aplicación.

Capacidad de esponjamiento del hidrogel

5 Se ha encontrado que cambiar la longitud de los brazos en un precursor mientras se mantienen generalmente constantes otras propiedades puede alterar las propiedades de esponjamiento del gel resultante desde uno que se esponja hasta uno que se contrae. A cualquier concentración dada de polímero reactivo, se puede utilizar una longitud de los brazos que proporcione un gel de bajo esponjamiento con un compromiso mínimo de otras propiedades. Sin querer limitarse a una teoría particular, cambiar la longitud de los brazos puede aproximar la distancia entre reticulaciones al esponjamiento en equilibrio. Cuanto más cerca esté la longitud de los brazos de la distancia de reticulación en equilibrio, menos se extienden los brazos en respuesta al esponjamiento. Como se describe en la presente, los hidrogeles se pueden elaborar in situ en un paciente con una cantidad de esponjamiento baja, o incluso negativa. Tales hidrogeles se pueden formular con propiedades mecánicas para la adhesión y/o la obturación. En contraste, los hidrogeles convencionales para polimerización in situ que tienen propiedades mecánicas para la adhesión y/o la obturación carecen de propiedades de bajo esponjamiento y no son adecuados para el uso en la columna vertebral.

Así, hidrogeles deseables descritos en la presente pueden incluir hidrogeles de bajo esponjamiento con un tiempo de reacción, una densidad, una resistencia y propiedades médicas deseables que se elaboran usando componentes seleccionados de una clase de precursores en un intervalo de peso molecular, una solubilidad, una longitud de los brazos, una composición química, una estructura química, una composición química, una densidad, una concentración de precursor y un número de brazos deseables, y con grupos funcionales y tampones deseados. Algunos de estos parámetros están interrelacionados de modo que la elección de una gama de propiedades o materiales puede afectar a la elección de otras propiedades y materiales.

A menos que se indique otra cosa, el esponjamiento de un hidrogel se refiere a su cambio de volumen (o peso) entre el momento de su formación cuando la reticulación es efectivamente completa y el momento después de ponerse en una solución fisiológica en un estado no constreñido durante veinticuatro horas, punto en el que se puede suponer razonablemente que ha alcanzado su estado de esponjamiento en equilibrio. Para la mayoría de las realizaciones, la reticulación es efectivamente completa en no más de aproximadamente quince minutos, y a menudo en unos pocos segundos, de modo que el peso inicial se pueda considerar razonablemente el peso en la formación inicial. Según esto, la siguiente fórmula se puede usar para determinar el esponjamiento:

30
$$\% \text{ de esponjamiento} = [(\text{Peso a las 24 horas} - \text{Peso en la formación inicial}) / \text{Peso en la formación inicial}] * 100.$$

Los hidrogeles poco esponjables o de bajo esponjamiento de la presente divulgación pueden tener un peso durante la polimerización que se incrementa no más de, p. ej., aproximadamente 50% en peso durante la exposición a una solución fisiológica, o que se contrae (disminuye en peso y volumen), p. ej., en aproximadamente 5% o más. Esto es contrario a otros hidrogeles, que pueden experimentar esponjamiento en cantidades de aproximadamente 300% a aproximadamente 600% en peso durante la exposición a una solución fisiológica. Por ejemplo, los hidrogeles tienen un incremento de peso desde la formación hasta la hidratación en equilibrio de no más de aproximadamente 0% a aproximadamente 50%, de aproximadamente 10% a aproximadamente 40%, o se esponjan de aproximadamente 0% a aproximadamente 50%, de aproximadamente 5% a aproximadamente 40%, o se contraen con una disminución de peso de aproximadamente 1% a aproximadamente 50%, de aproximadamente 5% a aproximadamente 30%. De nuevo, el esponjamiento o la contracción se determina mediante el cambio en el peso del hidrogel durante la exposición a una solución fisiológica utilizando la fórmula indicada anteriormente. La contracción se denomina en la presente un % de esponjamiento negativo; así, un hidrogel de la presente divulgación se esponja de aproximadamente -50% a aproximadamente 50%, se puede esponjar de aproximadamente -20% hasta aproximadamente 40%. Los expertos apreciarán inmediatamente que se divulgan en la presente todos los intervalos y valores dentro de o que se refieren de otro modo a estos límites explícitamente articulados.

El peso del hidrogel incluye el peso de la solución en el hidrogel. Un hidrogel formado en una posición en la que está constreñido no es necesariamente un hidrogel de bajo esponjamiento. Por ejemplo, un hidrogel esponjable creado en un cuerpo puede estar constreñido del esponjamiento por sus alrededores pero no obstante puede ser un hidrogel muy esponjable como se evidencia por las medidas de su esponjamiento cuando no están constreñidos y/o las fuerzas son contrarias a una constricción.

El contenido de sólidos del hidrogel que se ha reticulado y está en equilibrio puede afectar a sus propiedades mecánicas y biocompatibilidad y refleja un equilibrio entre requisitos competitivos. En general, puede ser deseable un contenido de sólidos relativamente bajo, p. ej., de aproximadamente 5% a aproximadamente 25% del peso combinado del hidrogel en una solución acuosa, todos los intervalos y valores intermedios; p. ej., de aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, de aproximadamente 10% a aproximadamente 15%, de aproximadamente 5% a aproximadamente 15%, y menos de aproximadamente 15%, o menos de aproximadamente 20%.

Polimerización in situ

Se pueden preparar formulaciones que sean adecuadas para hacer que se produzcan "in situ" reacciones de reticulación de precursores, lo que significa que se producen en un tejido en un animal vivo o un cuerpo humano. En general, esto se puede conseguir teniendo un precursor que se pueda activar en el momento de la aplicación en un tejido para formar un hidrogel reticulado. La activación se puede realizar antes, durante o después de la aplicación del precursor al tejido, con tal de que se deje que el precursor se adapte a la conformación del tejido antes de la reticulación y la gelificación asociada esté por lo demás muy avanzada. La activación incluye, por ejemplo, desencadenar un proceso de polimerización, iniciar una polimerización por radicales libres, o mezclar precursores con grupos funcionales que reaccionan entre sí. Así, la polimerización in situ incluye la activación de restos químicos para formar uniones covalentes para crear un material insoluble, p. ej., un hidrogel, en una posición en la que se va a poner el material sobre, o dentro de, o tanto sobre como dentro de, un paciente. Los polímeros polimerizables in situ se pueden preparar a partir de precursores que se pueden hacer reaccionar de modo que formen un polímero dentro del paciente. Así, los precursores con grupos funcionales electrófilos se pueden mezclar o activar de otro modo en presencia de precursores con grupos funcionales nucleófilos. En otros ejemplos, los precursores con grupos etilénicamente insaturados se pueden iniciar para polimerizarse in situ sobre el tejido de un paciente.

Ciertos grupos funcionales, tales como alcoholes o ácidos o carboxílicos, normalmente no reaccionan con otros grupos funcionales, tales como aminas, bajo condiciones fisiológicas (p. ej., pH 7,2, 37°C). Sin embargo, tales grupos funcionales se pueden hacer más reactivos usando un grupo activador tal como N-hidroxisuccinimida. Grupos activadores adecuados incluyen carbonildiimidazol, cloruro de sulfonilo, haluros de arilo, ésteres sulfosuccinimidílicos, éster N-hidroxisuccinimidílico, éster succinimidílico, epóxido, aldehído, maleimidas, imidoésteres y similares. Los ésteres N-hidroxisuccinimidílicos o los grupos N-hidroxisulfosuccinimida pueden ser grupos de particular interés para la reticulación de proteínas o polímeros funcionalizados con amina tales como polietilenglicoles terminados en amino.

Los hidrogeles se pueden formar a través de uniones bien covalentes, bien iónicas o bien hidrófobas introducidas a través de, p. ej., agentes de reticulación química o radiación electromagnética, tal como luz ultravioleta, de polímeros tanto naturales como sintéticos, incluyendo homo- y copolímeros. Las reticulaciones físicas (no covalentes) pueden resultar de, p. ej., complejación, uniones de hidrógeno, desolvatación, interacciones de Van der Waals, o unión iónica, y se pueden iniciar mezclando componentes que están físicamente separados hasta que se combinan in situ, o como consecuencia de una condición predominante en el ambiente fisiológico, tal como temperatura, pH y/o intensidad iónica. La reticulación covalente se puede llevar a cabo mediante cualquiera de un número de mecanismos, incluyendo polimerización por radicales libres, polimerización por condensación, polimerización aniónica o catiónica, polimerización de crecimiento escalonado y reacción electrófilo-nucleófilo.

Los sistemas de hidrogel pueden incluir los sistemas de múltiples componentes biocompatibles que se reticulan espontáneamente cuando los componentes se mezclan, pero en donde los dos o más componentes son individualmente estables durante el procedimiento de deposición. Tales sistemas incluyen, por ejemplo, un primer componente que incluye macrómeros que son aminas di- o multifuncionales y un segundo componente que incluye restos que contienen oxirano di- o multifuncionales. También se pueden usar otros sistemas iniciadores, tales como componentes de iniciadores tipo redox.

Además, los hidrogeles formados según los métodos de la presente divulgación se pueden usar como revestimientos. Tales revestimientos se pueden formar como estratificados (es decir, que tienen múltiples capas). Así, por ejemplo, una capa inferior del estratificado puede poseer un hidrogel reticulado más compactamente que proporciona buena adherencia a la superficie del tejido y sirve como un sustrato para que un revestimiento adaptado superpuesto se una reactivamente a la misma. Materiales que tienen pesos moleculares inferiores entre reticulaciones pueden ser adecuados para el uso como una capa de revestimiento de base. Pesos moleculares de aproximadamente 400 a aproximadamente 20.000 de polietilenglicol pueden ser útiles para tales aplicaciones, con pesos moleculares de aproximadamente 500 a aproximadamente 10.000.

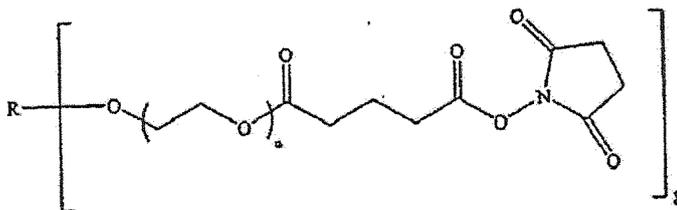
Algunos ejemplos de formación de un hidrogel implican mezclar precursores que se reticulan rápidamente después de la aplicación a una superficie, p. ej., sobre un tejido de un paciente, para formar un hidrogel biodegradable. Con respecto al revestimiento de un tejido, y sin querer limitar la presente divulgación a una teoría de funcionamiento particular, se cree que la especie precursora activa que se reticula rápidamente después de entrar en contacto con la superficie del tejido puede formar una estructura tridimensional que está mecánicamente entrelazada con el tejido revestido. Este entrelazado contribuye a la adherencia, el contacto íntimo y la cobertura continua de la región revestida del tejido. La reacción de reticulación que conduce a la gelificación se puede producir en un tiempo de aproximadamente 1 segundo a aproximadamente 5 minutos, de aproximadamente 3 segundos a aproximadamente 1 minuto; las personas de experiencia normal en estas técnicas apreciarán inmediatamente que se contemplan todos los intervalos y valores dentro de estos intervalos indicados explícitamente. En algunas realizaciones la gelificación se puede producir en menos de 10 segundos.

Los precursores se pueden poner en solución antes del uso, aportándose la solución al paciente. Las soluciones de sistemas de hidrogel no deben contener disolventes peligrosos o tóxicos. Los precursores pueden ser sustancialmente solubles en agua para permitir la aplicación en una solución fisiológicamente compatible, tal como solución salina isotónica tamponada. Se puede usar una jeringa doble o dispositivo similar para aplicar las soluciones de precursores, tal como se describe en las Patentes de EE. UU. N° 4.874.368, 4.631.055, 4.735.616,

4.359.049, 4.978.336, 5.116.315, 4.902.281, 4.932.942, 6.179.862, 6.673.093 y 6.152.943. Además, tales precursores se pueden usar en combinación con agentes de visualización tales como un colorante. Tales colorantes están dentro del alcance de los expertos en la técnica y pueden incluir, por ejemplo, un colorante para visualizar un grosor del hidrogel a medida que se forma in situ, p. ej., según se describe en la Patente de EE. UU. N° 7.009.034. En algunas realizaciones, un colorante adecuado puede incluir Azul FD&C N° 1, Azul FD&C N° 2, Azul FD&G N° 3, Verde D&C N° 6, azul de metileno, sus combinaciones, y similares.

Los hidrogeles descritos en la presente incluyen hidrogeles médicos reticulados, basados en precursores, formados in situ, de bajo esponjamiento, que opcionalmente poseen un tiempo de gelificación in situ de menos de aproximadamente veinte segundos (o menos de aproximadamente diez segundos o menos de aproximadamente cinco segundos). Tales hidrogeles se pueden elaborar con precursores que tienen una solubilidad de aproximadamente 1 gramo por litro a al menos aproximadamente 10 gramos por litro. Tales hidrogeles se pueden preparar con una relación 1:1 de grupos funcionales reactivos (p. ej., electrófilo:nucleófilo) u otras relaciones según sea adecuado para la formulación. Se pueden usar tampones para proporcionar un pH para mantener la actividad de un grupo funcional reactivo en solución ("vida útil") y para proporcionar un equilibrio osmótico deseado cuando se mezclan, p. ej., un intervalo fisiológico (véase la Patente de EE. UU. N° 7.009.034). Los brazos pueden tener un grupo funcional terminal o un grupo funcional, p. ej., dentro de no más de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 5.000 de PM del extremo libre del brazo. Puede estar presente al menos un grupo funcional, más de un grupo funcional o una de sus combinaciones. El número de brazos para al menos un precursor del hidrogel de bajo esponjamiento puede ser de aproximadamente 3 a aproximadamente 12, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10.

Un ejemplo de un precursor de 8 brazos, que tiene brazos de PEG funcionalizados con glutarato de succinimidilo, incluye, por ejemplo, el siguiente:



en donde R es un núcleo como el descrito anteriormente, un núcleo de hexaglicerina, y n puede ser de aproximadamente 4 a aproximadamente 150, de aproximadamente 10 a 100. El peso molecular total de los 8 brazos puede ser aproximadamente 20.000.

Aplicaciones a la columna vertebral

Los nervios cercanos a la columna vertebral pueden ser vulnerables a la compresión en respuesta a la inflamación del tejido o el esponjamiento de materiales colocados quirúrgicamente en el cuerpo. Aunque el cuerpo normalmente puede tolerar una cierta cantidad de esponjamiento de materiales implantados, el esponjamiento cerca de un hueso o un implante rígido puede ser menos tolerado debido a que las fuerzas se pueden dirigir más allá del hueso hacia tejido blando sensible. Así, puede ser deseable evitar comprimir un nervio de ese modo.

La columna vertebral (también denominada espina dorsal) tiene 33 vértebras en los seres humanos. Cada una de las vértebras tiene conformación de rosquilla con una abertura en el medio (el conducto raquídeo). Situados entre casi todas las vértebras están los discos intervertebrales. En referencia a las Figuras 1 y 2, que representan una anatomía vertebral ejemplar (la Figura 1 es una vista lateral y la Figura 2 es una vista transversal en planta), un agujero intervertebral 20 definido por la conformación de las vértebras 22, 24 que descansan una sobre otra, con la incisión superior de la lámina inferior y la incisión inferior de la lámina superior formando los bordes inferior y superior del agujero intervertebral. Los límites del agujero intervertebral están definidos por el disco intervertebral 26 anteriormente y los pedículos de las vértebras próximas superiormente e inferiormente. Estas aberturas permiten que las fibras nerviosas 28, 30 de la espina dorsal salgan del canal raquídeo y vayan a sus partes del cuerpo específicas.

La espina dorsal 32 está rodeada por la paquimeninge 34, que es la duramadre de la espina dorsal, que está en el canal raquídeo. El espacio entre la paquimeninge 34 y las vértebras circundantes es el espacio epidural 36. El espacio dentro de la columna vertebral y entre los nervios 28, 30 y las vértebras 22, 24 es el espacio peridural 38. La porción de un nervio cerca de su punto de salida de la paquimeninge es parte de una raíz nerviosa raquídea. La Figura 2 representa además un revestimiento 40 de hidrogel que usa un hidrogel de la presente divulgación en el espacio epidural que se adhiere a la lesión 42 y/o la paquimeninge 34.

Método de uso de polímeros biocompatibles

Según se apunta anteriormente, la aplicación para un hidrogel de bajo esponjamiento de la presente divulgación es para el uso en o alrededor de una columna vertebral. La naturaleza de bajo esponjamiento del hidrogel minimiza la compresión de los tejidos, especialmente los nervios, contra el hueso. El hidrogel se puede aplicar exteriormente a la paquimeninge, que es la duramadre de la espina dorsal. En algunas aplicaciones, el hidrogel se puede aplicar de forma sustancialmente exterior a la paquimeninge en la columna vertebral, lo que significa que el hidrogel se aplica en la columna vertebral incluso cuando la paquimeninge está dañada o incluso rota, pero excluyendo situaciones en las que la espina dorsal esté esencialmente rota y el hidrogel esté situado en el hueco del nervio. El hidrogel también puede entrar en contacto con estructuras de la columna vertebral asociadas; y rellenar algo o la totalidad del agujero vertebral, y regiones exteriores, incluyendo raíces nerviosas y porciones de nervio exteriores a la paquimeninge y dentro de, p. ej. de aproximadamente 0,1 cm a aproximadamente 5 cm de la columna vertebral, de aproximadamente 1 cm a aproximadamente 4 cm de la columna vertebral. Como tal, el hidrogel puede funcionar como un adhesivo de tejidos, obturante de tejidos, vehículo de aporte de fármacos, agente de cobertura de heridas, barrera para prevenir adhesiones posoperatorias, o una cobertura de zonas inflamadas o lesionadas. El hidrogel se puede aplicar como un bolo que rellena un hueco o una luz y como un revestimiento que se ajusta a una superficie del tejido.

Los hidrogeles se pueden usar ventajosamente para el aporte de fármacos. Agentes biológicamente activos o compuestos farmacológicos que se pueden añadir y aportar desde el polímero o gel reticulado incluyen, por ejemplo: proteínas, glicosaminoglicanos, carbohidratos, ácidos nucleicos, compuestos biológicamente activos inorgánicos y orgánicos. Agentes biológicamente activos específicos incluyen, pero no se limitan a: enzimas, antibióticos, antimicrobianos, agentes antineoplásicos, anestésicos locales, hormonas, agentes angiogénicos, agentes antiangiogénicos, factores de crecimiento, anticuerpos, neurotransmisores, fármacos psicoactivos, fármacos anticancerosos, fármacos quimioterapéuticos, fármacos que afectan a los órganos reproductores, genes, fármacos antiinflamatorios, analgésicos, antibióticos, antiproliferativos, antifibróticos y oligonucleótidos.

Los compuestos bioactivos descritos anteriormente se pueden mezclar con un precursor antes de elaborar la solución acuosa o durante la fabricación aséptica del precursor. Esta mezcla se puede mezclar a continuación con otro precursor para producir un material reticulado en el que está atrapada la sustancia biológicamente activa. Se pueden usar precursores elaborados a partir de polímeros inertes como tensioactivos PLURONICS[®], TETRONICS[®] o TWEEN[®], por ejemplo, con fármacos hidrófobos de molécula pequeña.

El agente o los agentes activos pueden estar presentes en una fase separada cuando los precursores se hacen reaccionar para producir una red de polímero reticulado o gel. Esta separación de fases puede evitar la participación de sustancias bioactivas en una reacción de reticulación química. La fase separada también puede ayudar a modular la cinética de liberación de agente activo desde el material reticulado o gel, donde la "fase separada" podría ser un aceite (por ejemplo, una emulsión de aceite en agua), un vehículo biodegradable, y similares.

Ejemplos

Ejemplo 1: Formulaciones de hidrogel de bajo esponjamiento

Para preparar los hidrogeles, trilisina con grupos funcionales amina primaria se hizo reaccionar con precursores electrófilos de polietilenglicol (PEG) de múltiples brazos con grupos funcionales electrófilos de éster succinimidílico (específicamente, glutarato de succinimidilo, SG, por sus siglas en inglés) al final de cada uno de los 4 brazos (4a) que tienen un PM total de polietilenglicol de aproximadamente 20.000 de PM (a veces denominados en la presente 4a20kSG) en una relación estequiométrica de electrófilos:nucleófilos.

A continuación, se elaboraron hidrogeles esencialmente idénticos, siendo todavía las relaciones de los grupos funcionales electrófilo-nucleófilo 1:1, excepto que se usó un precursor de 6 brazos (6a) u 8 brazos (8a) (con grupos funcionales en el extremo de cada brazo), teniendo los brazos de PEG un PM total de aproximadamente 10.000 (10k) o 20.000 (20k) en lugar del precursor de cuatro brazos.

Un procedimiento detallado para elaborar un hidrogel es como sigue, usando 4a20k SG como un ejemplo. Se mezcló trilisina en un tampón de borato 0,075 M a una concentración de 0,005 mg/ml. El pH resultante de la solución era aproximadamente 10. El 4a20k SG se reconstituyó en 0,2 g/ml con un tampón de fosfato débil a pH 4. Los dos componentes líquidos se combinaron forzándolos a través de un mezclador estático en un tubo de silicona. El tubo se cortó en discos y el gel se retiró. Los discos individuales se pesaron y se pusieron en PBS a 37°C. Después de 24 horas los discos se pesaron de nuevo y se calculó el % de esponjamiento. El tiempo de gelificación se midió inyectando un componente en un tubo de ensayo que contenía el segundo componente y una barra agitadora. Se puso en marcha un cronómetro en el momento de la inyección y se detuvo cuando la barra agitadora exhibía un cambio de velocidad perceptible. Los geles formados en la medida del tiempo de gelificación se usaron para determinar el tiempo de persistencia. Tacos de gel individuales se pusieron en solución salina tamponada con fosfato a 37°C y se vigilaron diariamente hasta que no eran visibles a simple vista.

Se elaboraron de forma similar otras formulaciones, con concentraciones y pH variables: 8a15k SG (PEG de 8 brazos, teniendo los brazos un PM combinado total de 15.000, terminados con glutarato de succinimidilo) con 0,19 g de PEG/ml de fosfato, 0,012 g de trilisina/ml de borato, pH 10; 4a10k SS (PEG de 4 brazos, teniendo los brazos un

PM combinado total de 10.000, terminados con SS con 0,19 g de PEG/ml de fosfato, 0,008 g de trilisina/ml de borato, pH 10.

5 La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos para estas formulaciones de hidrogel de bajo esponjamiento. Los hidrogeles preparados con ~9% de sólidos y longitudes de los brazos individuales menores de aproximadamente 2.500 de PM exhibían bajo esponjamiento, en comparación con un hidrogel preparado a partir de un precursor con longitudes de los brazos individuales de aproximadamente 5.000, manteniéndose otros parámetros esencialmente constantes.

Tabla 1

Formulación	Longitud de los brazos individuales/PM	Tiempo de gelificación ± desviación estándar, s	Esponjamiento ± desviación estándar, %	Desaparición, días	Resistencia al estallido, kPa (psi)
8a10k SGi	1.250	1,3 ± 0,04	~32,7 ± 5,22	60	496 ± 76 (72 ± 11)
6a10kSGi	1.667	1,5 ± 0,03	-27,2 ± 2,54	60	
8a20kSGi	2.500	1,6 ± 0,11	12,3 ± 2,18	60	
4a20kSGii	5.000	1,2	80	40	641 ± 248 (93 ± 36)

i, n=3; ii, media basada en múltiples pruebas realizadas separadamente

10 Los materiales mostrados en la Tabla 1 se sintetizaron y probaron para verificar niveles de sustitución por encima de 95%. Las formulaciones se equilibraron a una estequiometría 1:1 y el pH se ajustó para dar tiempos de gelificación similares. Todos los hidrogeles tenían un tiempo de gelificación de menos de 5 segundos.

15 El hidrogel de 4 brazos se esponjaba aproximadamente 80% en peso (Tabla 1, 4a20k SG, indicando 4a 4 brazos, indicando 20k un PEG de PM 20.000 total para los brazos, e indicando SG que cada brazo se terminaba con glutarato de succinimidilo). Los geles de 6 brazos y 8 brazos se esponjaban solamente aproximadamente 12% en peso o se contraían aproximadamente 27% o aproximadamente 32% (Tabla 1).

20 Se midieron los tiempos de desaparición para los hidrogeles (Tabla 1) observando los geles en un tubo de ensayo de plástico transparente y anotando el tiempo en el que ya no eran visibles a simple vista, lo que indica que se habían degradado completamente. Se midió la resistencia al estallido y se encontró que estaba dentro de límites aceptables.

Ejemplo 2: Papel del ambiente osmótico en el esponjamiento

25 El papel del ambiente osmótico en el esponjamiento se probó elaborando un hidrogel usando 4a20k SG según se describe en el Ejemplo 1 y exponiéndolo a una solución salina tamponada fisiológica que tenía un pH de 7,0-7,4 y una osmolaridad de aproximadamente 300 mOs o a una solución de doble intensidad de la misma solución salina. Con n=3 (tacos de hidrogel para cada molaridad de PBS), el esponjamiento desde la gelificación al esponjamiento en equilibrio (tomado a las 24 horas) promediaba 68% para la solución salina fisiológica y 57% para la solución salina de doble intensidad. Estos resultados indican que las diferencias de osmolaridad inherentes al ambiente de esponjamiento no justificaban el esponjamiento reducido de los hidrogeles formulados con precursores que tenían diferentes longitudes de los brazos debido a que los cambios en el esponjamiento eran demasiado pequeños para 30 justificar los cambios mayores observados generalmente cuando se incrementaba la longitud de los brazos.

Ejemplo 3: Hidrogeles de bajo esponjamiento probados in vivo

35 Se implantaron hidrogeles de bajo esponjamiento en la columna vertebral in vivo. La formulación 1 era un hidrogel elaborado haciendo reaccionar un precursor de trilisina con 8a15k SG, con condiciones efectivamente como las descritas en el Ejemplo 1 y la Tabla 1. Los precursores se aplicaron usando aplicadores de doble luz que mezclan las soluciones y las dirigen a la zona de aplicación.

40 Un total de 15 perros recibió laminectomías de anchura completa tanto en L2 como en L5, después de lo cual se creó una durotomía de la línea media de 1 cm, que se cerró por sutura. Los animales se aleatorizaron para seguir como testigos (n=5 animales; sin tratamiento adicional antes del cierre), o para recibir la aplicación de la Formulación 1 en ambas zonas de laminectomía usando bien un aplicador de doble luz DUOFLO® (Hemaedics Inc., Malibú, CA) (n=5 animales) o bien un aplicador de doble luz MICROMYST™ (Confluent Surgical, Inc., Waltham, MA) (n=5 animales). Se observó que la Formulación 1 era adherente al tejido, a los pocos segundos de su aplicación.

Las cirugías se realizaron con una sola incisión cutánea en la línea media (típicamente 15 cm de longitud) hecha en los animales para tener acceso tanto a L2 como a L5. Las laminectomías (media 2,5 cm de longitud, 1,3 cm de

anchura) se realizaron usando pinzar incisivas estándar o de Kerrison. Todas las durotomías eran en la línea media y de 1 cm de longitud, y todas perdían CSF espontáneamente después de la sutura.

5 Los animales se aleatorizaron para verificar si habían rezumado CSF de los orificios de la sutura en el cierre. Todas las zonas de referencia (10/10) continuaban rezumando CSF de los orificios de la aguja de durotomía en el momento del cierre de los músculos y las fascias.

10 Todos los animales de referencia desarrollaban acumulaciones de fluido subcutáneas posoperatorias (5/5, 100%) en de 1 a 3 días. Todas las acumulaciones estaban contenidas por el cierre de piel suturada y estaban presentes en el examen en 1 semana. Se suponía que las acumulaciones eran CSF, y se absorbieron con incisiones planas en el examen a las 4 semanas. Solo 1 (10%) de los animales de la Formulación 1 exhibía una cantidad de acumulación subcutánea de fluido posoperatoria, en comparación con 5/5 (100%) de los testigos. (La Fórmula 1 aplicada con DUOFLO® tenía cero pérdidas, la Fórmula 1 con MICROMYST™ tenía una pérdida, todos los testigos perdían.) Aunque sin querer limitarse por una teoría, la pérdida de la Fórmula 1 probablemente se debía al aplicador (grosor de la capa) y no a la formulación.

15 Los animales aleatorizados para recibir tratamiento con la Formulación 1 se sometían a la maniobra de Valsalva hasta 20 cm de H₂O después de la aplicación. Ninguna zona tratada con la Formulación 1 (20/20) tenía pérdida después de la aplicación del hidrogel, a pesar de la maniobra de Valsalva.

20 El volumen aplicado y el grosor medios sobre la línea de la sutura para el grupo de MICROMYST™ era 1,3 ml de volumen y 2,7 mm de grosor, con 2,2 ml de volumen y 3,3 mm de grosor para el grupo de DUOFLO®. Puesto que la anchura de la laminectomía era la anchura completa del saco dural, los canales en cada zona de laminectomía eran profundos y se extendían hasta las raíces nerviosas. Por lo tanto, aunque el grosor medio de la Formulación 1 sobre las suturas era aproximadamente 3,3 mm, era probable que el grosor debido a la corriente en los canales se aproximará a 8-10 mm en algunos casos.

25 Se evaluaron los déficits neurológicos de todos los animales a las 1, 4, 8 y 16 semanas. Las determinaciones se enfocaron en secuelas neurológicas de alerta, función motriz, función de los nervios craneales y postura. No se apreciaron déficits neurológicos en ninguno de los animales incluidos. Con la excepción de una muerte precoz por causas no relacionadas con las cirugías, todos los animales permanecían sanos sin secuelas detectables desde el procedimiento quirúrgico inicial. Estos resultados indican que los hidrogeles de bajo esponjamiento eran eficaces cuando se aplicaban al tejido de dentro de la columna vertebral y sustancialmente exterior a la paquimeninge en la columna vertebral, incluyendo los espacios peridural y epidural y los nervios raquídeos o las raíces nerviosas cerca
30 de la columna vertebral.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende:
- un primer precursor sintético que posee primeros grupos funcionales y que tiene un peso molecular de 100 a 1.500 Da,
- 5 un segundo precursor sintético que comprende un precursor de múltiples brazos que posee un núcleo y que tiene 6 brazos u 8 brazos, cada uno de los brazos comprendiendo un peso molecular de 1.250 a 2.500 Da y poseyendo segundos grupos funcionales en sus extremos;
- en donde los primeros grupos funcionales se reticulan con los segundos grupos funcionales formando de ese modo un hidrogel biodegradable que se esponja de -50% a 50%
- 10 para el uso en el tratamiento de tejido dentro de la columna vertebral de un paciente.
2. La composición según la reivindicación 1, en la que el hidrogel se contrae con una disminución de peso de 1% a 50%.
3. La composición según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que los primeros grupos funcionales comprenden nucleófilos y los segundos grupos funcionales comprenden electrófilos.
- 15 4. La composición según cualquier reivindicación precedente, en la que el primer precursor sintético se selecciona del grupo que consiste en dilisinas, trilisinas y tetralisinas y el centro multifuncional del segundo precursor sintético se selecciona del grupo que consiste en poliéteres, poliaminoácidos, proteínas y polioles.
5. La composición según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un fármaco.
6. La composición según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un agente de visualización.
- 20 7. La composición según la reivindicación 6, en la que el agente de visualización comprende un colorante seleccionado del grupo que consiste en Azul FD&C N° 1, Azul FD&C N° 2, Azul FD&C N° 3, Verde D&C N° 6, azul de metileno, y sus combinaciones.
8. La composición según cualquier reivindicación precedente, en la que el hidrogel se reticula en menos de 10 segundos después de mezclar entre sí el primer precursor sintético y el segundo precursor sintético.
- 25 9. La composición según cualquier reivindicación precedente, en la que el primer precursor sintético se selecciona del grupo que consiste en dilisinas, trilisinas y tetralisinas.
10. La composición según cualquier reivindicación precedente, en la que el primer precursor sintético comprende una secuencia oligopeptídica de no más de cinco residuos que comprende al menos dos grupos lisina.
11. La composición según cualquier reivindicación precedente, en la que el núcleo se selecciona del grupo que
- 30 consiste en poliéteres, poliaminoácidos, proteínas y polioles.
12. La composición según cualquier reivindicación precedente, en la que el núcleo se selecciona del grupo que consiste en polietilenglicol, poli(óxido de etileno), poli(óxido de etileno)-co-poli(óxido de propileno), copolímeros de co-poli(óxido de etileno), poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidina, poli(aminoácidos), dextrano, proteínas, sus derivados, y sus combinaciones.
- 35 13. Una composición según cualquier reivindicación precedente, que es biodegradable.

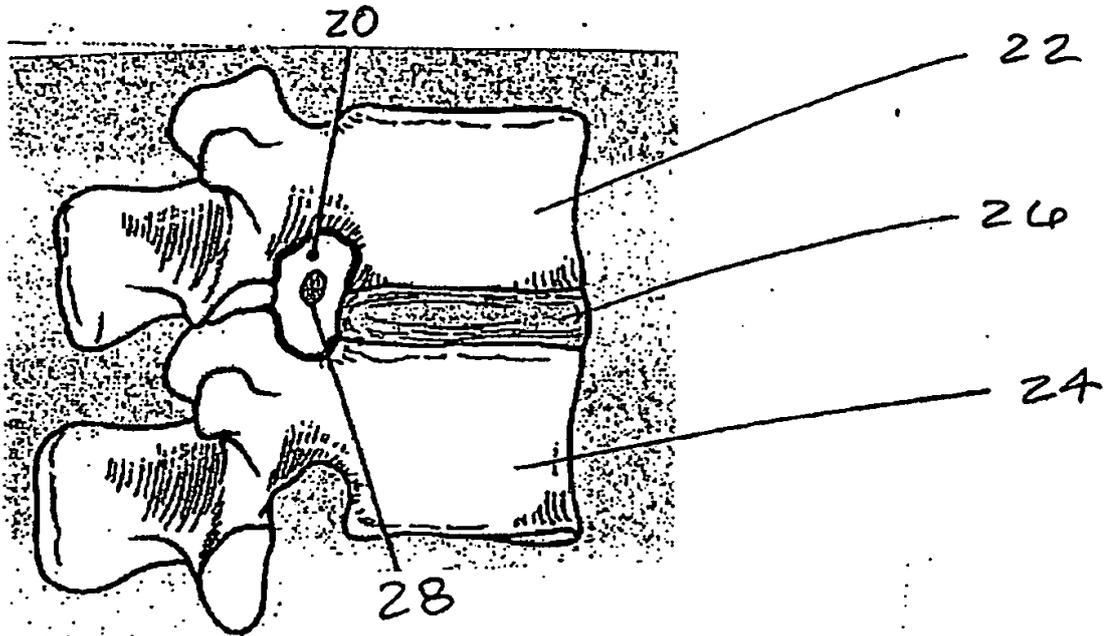


FIG 1

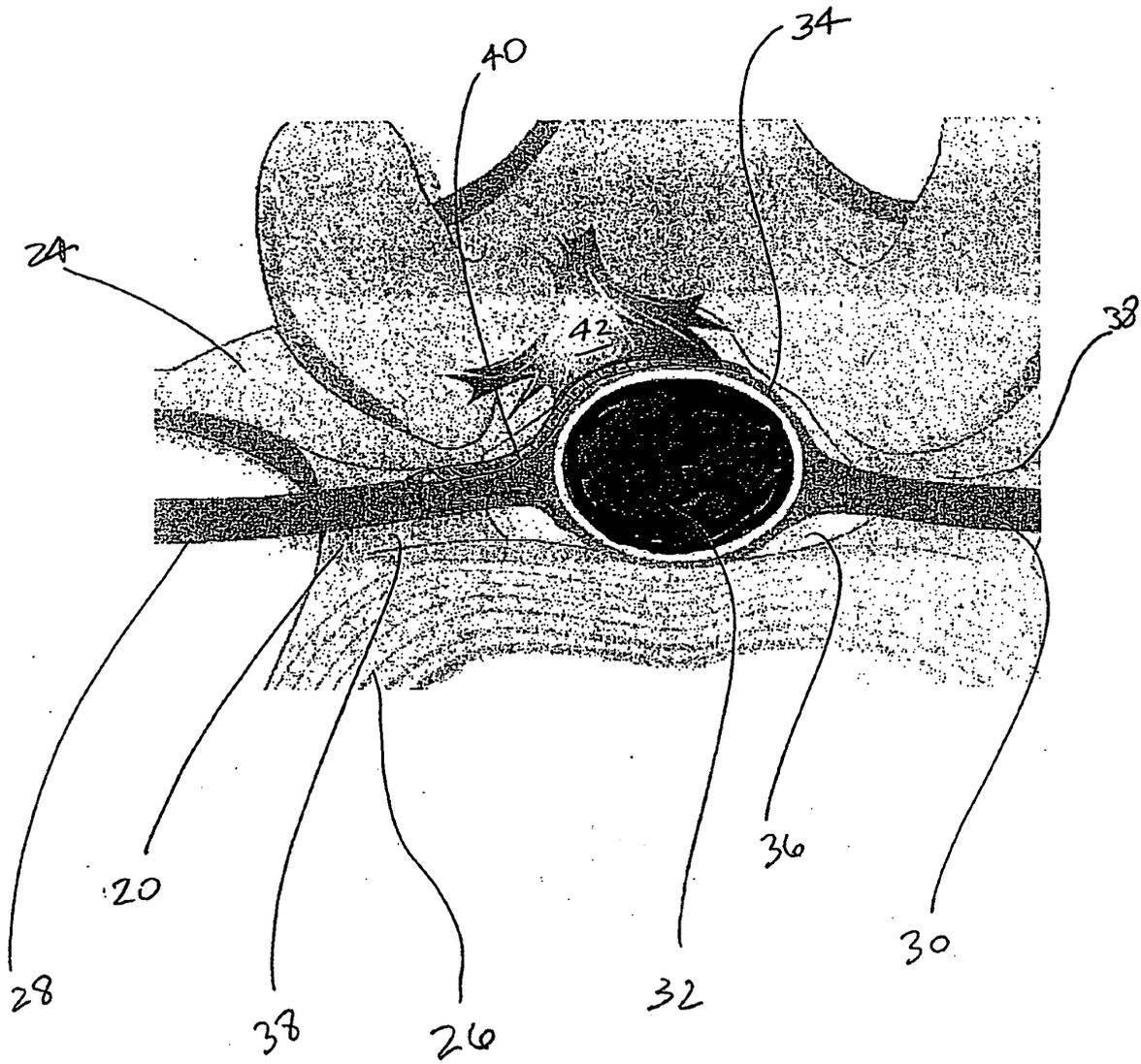


FIG 2.