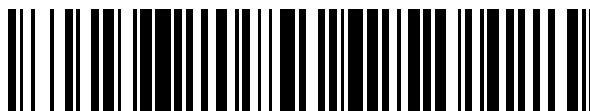


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 582 324**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/00** (2006.01)

**C08F 220/38** (2006.01)

**C08F 220/34** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.05.2012** **E 12725548 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.04.2016** **EP 2714062**

54 Título: **Nanogeles**

30 Prioridad:

**27.05.2011 EP 11167885**

**27.05.2011 US 201161490674 P**

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

**12.09.2016**

73 Titular/es:

**20MED THERAPEUTICS B.V. (100.0%)**

**Jan Kroezestraat 8**

**7552 GS Hengelo, NL**

72 Inventor/es:

**ENGBERSEN, JOHANNES FRANCISCUS JOSEPH y  
ZINCHENKO, ARKADI VLADIMIROVICH**

74 Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

**ES 2 582 324 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

Nanogeles

5 Campo de la invención

10 [0001] La presente invención se refiere al diseño y la preparación de nanoportadores de núcleo-recubrimiento híbridos poliméricos cuyos núcleos están diseñados para enlazar carga útil terapéutica (nucleótidos, péptidos, proteínas, y fármacos de molécula pequeña preferiblemente terapéuticos) y el recubrimiento está diseñado para proteger la carga útil terapéutica, estabilizar el nanoportador, proporcionar biocompatibilidad al sistema, permitir que sean objetivo células específicas y tejido, y proporcionar la liberación intracelular eficaz de la carga útil terapéutica del nanoportador.

15 [0002] Más en particular, la presente invención se refiere a polímeros PA, nanopartículas y nanogeles obtenidos a partir de dichos polímeros PA, donde dichos nanogeles pueden comprender un componente biológicamente activo seleccionado del grupo de ARN (en particular ARNsi o ARNmi) o derivados o fragmentos del mismo, ADN o derivados o fragmentos del mismo, (oligo)péptidos y derivados de los mismos, y proteínas y derivados de las mismas.

Antecedentes de la invención

20 [0003] La presente invención está en el campo de la entrega de ARNsi (ARNsi se refiere a ARN pequeño de interferencia que es también conocido como ARN corto de interferencia o ARN de silenciamiento) y entrega de ARNmi (ARNmi se refiere a micro ARN).

25 [0004] La interferencia de ARN (ARNi) representa una estrategia prometedora para afectar la expresión de genes patógenos debido a su capacidad para silenciar la expresión génica de una manera específica de la secuencia. La selección de diferentes secuencias ARNsi resultó en la identificación de diferentes oligonucleótidos terapéuticos potenciales para usos terapéuticos diferentes. Sin embargo, la entrega de ARNsi es un gran problema. El ARNsi desnudo es rápidamente degradado por nucleasas en el líquido biológico (la vida media es del orden de minutos), y generalmente se requiere un portador que proporcione protección suficiente contra la degradación en el ambiente extracelular y asegure el cruce eficaz de barreras celulares durante la absorción intracelular y el tratamiento. En particular, el ARNsi cargado altamente negativo puede pasar las membranas celulares solo con gran dificultad. Además, una vez en el fluido intracelular, el desembalaje eficaz de ARNsi a partir del portador es requerido para mostrar su actividad terapéutica. Como consecuencia, varios portadores no víricos poliméricos para la entrega eficaz de ARN, ADN y ARNsi han sido investigados.

35 [0005] La US 2002/0131951 (ahora US 6.998.115), US 2004/0071654 (ahora US 7.427.394), US 2005/0244504 y US 2010/0036084, todas incorporadas por referencia, revelan polímeros de poli(amino éster) obtenidos a partir de bisacrilamidas y aminas primarias funcionalizadas. En su forma catiónica, los polímeros de poli(amino éster) forman complejos con moléculas de ADN o fragmentos de las mismas.

40 [0006] La US 2008/0242626, incorporada por referencia, divulga polímeros de poli(amino éster) basados en bisacrilamidas y aminas primarias funcionalizadas, donde los polímeros de poli(amino éster) se someten a una modificación de extremo. Donde el polímero de poli(amino éster) es aminosustituido, el polímero de poli(amino éster) se reacciona con un electrófilo. Donde el polímero de poli(amino éster) es acrilatosustituido, el polímero de poli(amino éster) se reacciona con un nucleófilo. Estos polímeros de poli(amino éster) modificados en el extremo se usan para la entrega de ADN y ARN.

50 [0007] La WO 2010/065660, incorporada por referencia, divulga aminas de polidisulfuro biodegradables y complejos de las mismas con por ejemplo ARN, ADN, ARNsi y otros oligonucleótidos.

[0008] La US 2010/0041739, incorporada por referencia, divulga polímeros de imina de polialquileño que se pueden usar para la entrega de por ejemplo ADN.

55 [0009] La US 2010/0028445, incorporada por referencia, divulga polímeros de poli(amido amina) que comprenden grupos de disulfuro colgantes, grupos de tiol colgantes o grupos de tiol activado colgantes y un método para la preparación de tales polímeros de poli(amido amina), donde los monómeros de bisacrililo se reaccionan con una amina primaria y/o una diamina secundaria donde una de las aminas contiene un grupo disulfuro. Los polímeros de poli(amido amina) se pueden convertir en hidrogeles formando grupos disulfuros entre las cadenas de poli(amido amina).

60 [0010] C. Lin *et al.*, Bioconjug. Chem. 18, 138 - 145, 2007, incorporada por referencia, divulga poli(amido amina)s que contienen enlaces disulfuros que se preparan por una adición de Michael de aminas primarias y N,N'-cistamina bisacrilamida que contiene disulfuro.

65 [0011] L.J. van der Aa *et al.*, J. Control. Release 148, e85, 2010, incorporada por referencia, revela poli(amido amina)s que contienen enlaces disulfuros que se preparan por una adición de Michael de aminoalcoholes primarios, N,N'-cistamina bisacrilamida que contiene disulfuro y 1,2-diaminoetano.

[0012] R. Namgung *et al.*, Biotechnol. Lett. 32, 755, 2010, incorporada por referencia, divulga poli(amido amina)s que contienen enlaces disulfuros que se preparan por una adición de Michael de 4-amino-1-butanol y N,N'-cistamina bisacrilamida que contiene disulfuro.

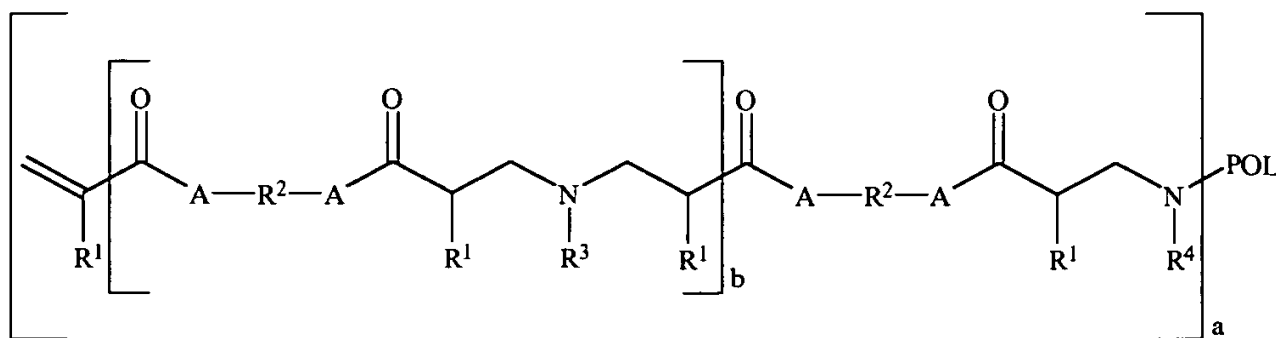
[0013] P. Vader *et al.*, Pharm. Res. 28, 1013, 2011, incorporada por referencia, divulga poli(amido amina)s que contienen enlaces disulfuros que se preparan por una adición de Michael de 4-amino-1-butanol, N,N'-cistamina bisacrilamida que contiene disulfuro y 1,2-daminoetano.

[0014] D. Vercauteren *et al.*, Biomaterials 32, 3072, 2011, incorporada por referencia, divulga poli(amido amina)s que contienen enlaces disulfuros que se preparan por una adición de Michael de 4-amino-1-butanol y N,N'-cistamina bisacrilamida que contiene disulfuro.

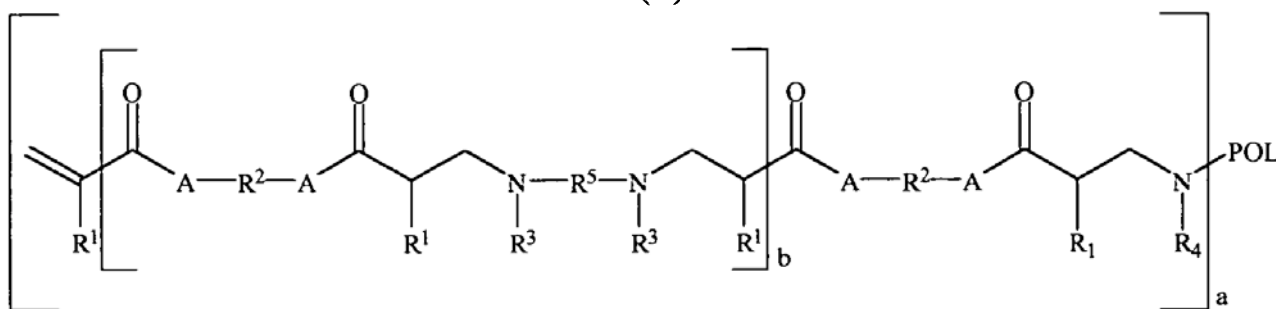
[0015] Los sistemas poliméricos catiónicos conocidos del estado de la técnica tienen todavía varias desventajas. En particular, la necesidad de presencia de exceso de polímero (citotóxico) en la formulación terapéutica, la manipulación frecuentemente baja y la estabilidad de almacenamiento de los nanogeles terapéuticamente cargados, al igual que eficiencias limitadas en escape endosomal y desembalaje citosólico de la carga útil terapéutica (nucleótido) a partir del complejo son todavía desafíos importantes en este campo.

## Resumen de la invención

[0016] La presente invención se refiere a un polímero PA (PoliAcril) según las fórmulas generales (1) y (2):



(1)



(2)

donde:

A se selecciona independientemente de un enlace simple de carbono-carbono directo (es decir, una estructura donde A está ausente), O, N(R<sup>1</sup>) y S;

R<sup>1</sup> se selecciona independientemente de H y CH<sub>3</sub>;

R<sup>2</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en:

(a) alquileo C<sub>1</sub> - C<sub>40</sub>, donde el grupo alquileo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde el grupo alquileo es interrumpido por uno o varios grupos S-S;

(b) cicloalquileo  $C_3 - C_{40}$ , donde el grupo de cicloalquileo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno o varios heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S, y/o donde el grupo de cicloalquileo es interrumpido por uno o varios grupos S-S- fuera del anillo;

(c) arileno  $C_6 - C_{40}$ , donde el grupo de arileno es opcionalmente sustituido;

(d) heteroarileno  $C_6 - C_{40}$ , donde el grupo de heteroarileno comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo de heteroarileno es opcionalmente sustituido;

(e) alquilarileno  $C_7 - C_{40}$  donde el grupo de alquilarileno es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo de alquilarileno es lineal o ramificado y es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S, y/o donde una parte de alquilo del grupo de alquilarileno es interrumpida por uno o varios grupos S-S-;

(f) alquilheteroarileno  $C_7 - C_{40}$ , donde el grupo alquilheteroarileno comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo de alquilheteroarileno es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo de alquilheteroarileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S, y/o donde una parte de alquilo del grupo de alquilheteroarileno es interrumpida por uno o varios grupos -S-S-; y

(g) un grupo donde dos grupos (hetero)arileno  $C_7 - C_{40}$  y/o grupos alquil(hetero)arileno  $C_7 - C_{40}$  están conectados entre sí por un grupo S-S-, donde la parte de alquilo del grupo alquil(hetero)arileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

$R^3$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) H;

(b) alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(c) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno, dos o tres heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(d) arilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo de arilo es opcionalmente sustituido;

(e) heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S, y donde el grupo de heteroarilo es opcionalmente sustituido;

(f) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilarilo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S; y

(g) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarilo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

$R^4$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) H;

(b) alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado;

(c) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ ;

(d) arilo  $C_6 - C_{14}$ ;

(e) heteroarilo  $C_6 - C_{14}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S;

(f) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ ; y

(g) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S;

$R^5$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) alquileo  $C_1 - C_{12}$ , donde el grupo alquileo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(b) cicloalquileo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquileo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno o varios heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(c) arileno  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arileno es opcionalmente sustituido;

(d) heteroarileno  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarileno comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarileno es opcionalmente sustituido;

(e) alquilarileno  $C_7 - C_{12}$ , donde el grupo alquilarileno es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo de alquilarileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S; y

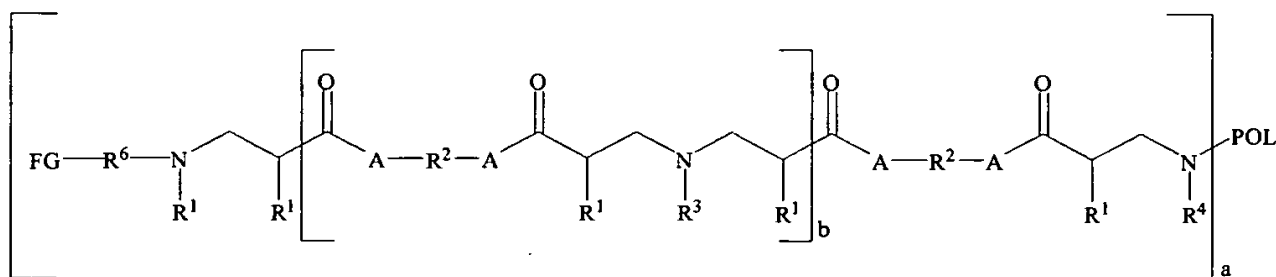
(f) alquilheteroarileno  $C_7 - C_{12}$ , donde el grupo alquilheteroarileno comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarileno es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

POL representa un núcleo polimérico que tiene un peso medio molecular en peso  $P_m$  de aproximadamente 300 a aproximadamente 25000;

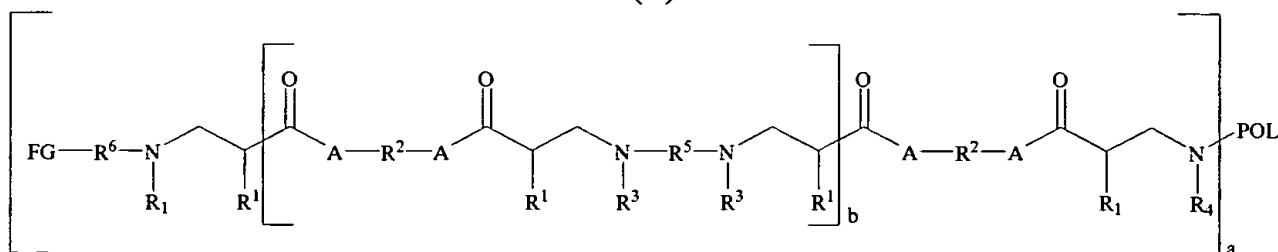
$a = 2 - 64$ ; y

$b = 1 - 50$ .

[0017] La presente invención se refiere además a una nanopartícula según las fórmulas generales (3) y (4):



(3)



(4)

donde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ , A, POL, a y b son tal y como se ha definido anteriormente, y donde  $R^6$  es seleccionado del grupo que consiste en:

(a) alquileo  $C_1 - C_{40}$ , donde el grupo alquileo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S, y/o donde el grupo alquileo es interrumpido por uno o varios grupos S-S-; o

(b) cicloalquileo  $C_3 - C_{40}$ , donde el grupo cicloalquileo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno o varios heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S, y/o donde el grupo cicloalquileo es interrumpido por uno o varios grupos S-S- fuera del anillo; y

FG es un grupo funcional.

[0018] La presente invención se refiere además a un nanogel que comprende un polímero PA (PoliAcril) según las fórmulas generales (1) o (2), donde el nanogel se forma por reticulación del polímero PA.

[0019] La presente invención se refiere además a nanogeles que tienen una superficie modificada.

[0020] La presente invención se refiere además a nanogeles que comprenden un componente biológicamente activo.

5 [0021] La presente invención se refiere además al uso de los nanogeles y al uso de los nanogeles en la entrega de un componente biológicamente activo a un mamífero.

10 [0022] La presente invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que comprenden el nanogel y un portador farmacéuticamente aceptable.

[0023] La presente invención se refiere además a un método para entregar un componente biológicamente activo a un mamífero, donde un nanogel o una composición que comprende tal nanogel se administra a un mamífero.

15 Descripción de las figuras

[0024]

20 La figura 1 muestra la capacidad de los polímeros PA para enlazar ARNsi como se establece en un ensayo de EtBr (etidio bromuro). Una señal de fluorescencia baja es indicativa de blindaje eficaz (protección) de ARNsi.

La figura 2 muestra la capacidad de los nanogeles que comprenden un polímero PA para enlazar y blindar ARNsi como se establece en un ensayo de EtBr (etidio bromuro).

La figura 3 muestra que los nanogeles tienen una capacidad más alta para enlazar y blindar ARNsi que los polímeros PA (compárese las muestras nº.: 12 vs. 4 y 13 vs. 3 en proporción de polímero/ARNsi más alta).

25 La figura 4 muestra el gen que silencia la eficiencia en células H1299 de polímeros PA. Las barras gris oscuro muestran el porcentaje de expresión de luciferasa. Las barras gris claro son los controles con ARNsi insensible.

La figura 5 muestra el gen que silencia la eficiencia en células H1299 de polímeros PA.

La figura 6 muestra el gen que silencia la eficiencia de algunos nanogeles con composición de núcleo diferente.

La figura 7 muestra curvas de viabilidad celular de células H1299 para un polímero PA (muestra nº 4) y un nanogel (muestra nº 12) como función de concentración.

30 La figura 8 muestra silenciamiento de luciferasa de células H1299 bajo condiciones de suero por nanogeles cargados con ARNsi en diferentes proporciones de polímero/ARNsi (p/p) y dosis diferentes de ARNsi (ng por 100 µL de medio de transfección).

La figura 9 muestra silenciamiento de luciferasa de células H1299 bajo condiciones de suero por nanogeles cargados con ARNsi (ARNsi 72 nM) en proporciones de mezcla de polímero/ARNsi diferentes.

35 La figura 10 muestra silenciamiento de luciferasa de células H1299 por un nanogel cargado con ARNsi (muestra nº 12) que tiene su superficie modificada con cantidad de PEG (% en peso con respecto al polímero del nanogel).

40 La figura 11 muestra silenciamiento de luciferasa de células H1299 por un nanogel cargado con ARNsi (muestra nº 12), utilizando una solución de ARNsi-nanogel recién preparada, una solución de ARNsi-nanogel congelada y descongelada y una solución de ARNsi-nanogel liofilizada, respectivamente. La barra negra da la expresión de luciferasa (establecida en 100%) de los experimentos de control, usando ARNsi codificante antisentido. Se muestra que las tres formulaciones diferentemente tratadas con ARNsi antisentido muestran actividad de silenciamiento de luciferasa igual.

45 Descripción detallada de la invención

[0025] El verbo "comprender", como se usa en esta descripción y en las reivindicaciones y sus conjugaciones, se utiliza en su sentido no limitativo para decir que los elementos que siguen a la palabra están incluidos, pero los elementos que no se mencionan específicamente no están excluidos. Además, la referencia a un elemento por el artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad que haya más de uno de dicho elemento, a menos que el contexto especifique claramente que hay uno y solo uno de los elementos. El artículo indefinido "un" o "una" así normalmente significa "al menos uno".

[0026] El término "ARNsi" abarca también "ARNmi" (micro ARN).

55 El polímero PA

[0027] Según la presente invención, se prefiere que el polímero según las fórmulas (1) y (2) tenga un peso molecular medio en peso  $P_m$  en el rango de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 1.000.000, más preferiblemente en el rango de aproximadamente 20.000 a aproximadamente 500.000 g/mol.

60 [0028] Según una forma de realización preferida, A es  $N(R^1)$  u O, de la forma más preferible  $N(R^1)$ .

[0029] Según otra forma de realización preferida de la presente invención,  $R^1$  es H.

65 [0030] Según otra forma de realización preferida,  $R^2$  se selecciona de:

(a1) alquileo  $C_1 - C_{20}$ , preferiblemente alquileo  $C_2 - C_{12}$ , donde el grupo alquileo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde el grupo alquileo se interrumpe por uno o varios grupos S-S-;

(b1) cicloalquileo  $C_3 - C_{20}$ , preferiblemente cicloalquileo  $C_5 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquileo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende 1, 2 o 3 heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde el grupo cicloalquileo se interrumpe por uno o varios grupos S-S- fuera del anillo;

(c1) arileno  $C_6 - C_{20}$ , preferiblemente arileno  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arileno es opcionalmente sustituido;

(d1) heteroarileno  $C_6 - C_{20}$ , preferiblemente heteroarileno  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarileno comprende 1, 2 o 3 heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarileno es opcionalmente sustituido;

(e1) alquilarileno  $C_7 - C_{20}$ , preferiblemente alquilarileno  $C_7 - C_{12}$  donde el grupo alquilarileno es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por 1, 2 o 3 heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarileno se interrumpe por uno o varios grupos S-S-;

(f1) alquilheteroarileno  $C_7 - C_{20}$ , preferiblemente alquilheteroarileno  $C_7 - C_{12}$ , donde el grupo alquilheteroarileno comprende 1 - 3 heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarileno es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde una parte de alquilo del grupo de alquilheteroarileno se interrumpe por uno o varios grupos S-S-; y

(g1) un grupo donde dos grupos (hetero)arileno  $C_7 - C_{20}$  y/o grupos alquil(hetero)arileno  $C_7 - C_{20}$ , preferiblemente dos grupos (hetero)arileno  $C_7 - C_{12}$  y/o grupos alquil(hetero)arileno  $C_7 - C_{12}$ , están conectados entre sí por un grupo S-S-, donde la parte de alquilo del grupo alquil(hetero)arileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S.

[0031] Según otra forma de realización preferida de la presente invención,  $R^2$  se selecciona del grupo (a1) o grupo (b1), más preferiblemente grupo del grupo (a1), y en particular del grupo (a1) donde el grupo alquileo  $C_1 - C_{40}$  se interrumpe por uno o varios grupos -S-S-.

[0032] Según una forma de realización preferida, cuando  $R^3$  es alquilo  $C_1 - C_{10}$  sustituido, el grupo alquilo es sustituido por un grupo seleccionado de -OH, -OR<sup>7</sup>, -NH<sub>2</sub>, -NH(R<sup>7</sup>), -N(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>, -C(O)OR<sup>7</sup>, -C(O)R<sup>7</sup>, -C(O)NHR<sup>7</sup> y -C(O)NR<sup>7</sup><sub>2</sub>, donde R<sup>7</sup> es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) H;

(b) alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(c) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno, dos o tres heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(d) arilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arilo es opcionalmente sustituido;

(e) heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarilo es opcionalmente sustituido;

(f) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilarilo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S; y

(g) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarilo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S.

[0033] Según una forma de realización preferida, cuando  $R^3$  es cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$  sustituido, el grupo cicloalquilo tiene un grupo pendiente seleccionado de -OH, -OR<sup>7</sup>, -NH<sub>2</sub>, -NH(R<sup>7</sup>), -N(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>, -C(O)OR<sup>7</sup>, -C(O)R<sup>7</sup>, -C(O)NHR<sup>7</sup> y -C(O)NR<sup>7</sup><sub>2</sub>, donde R<sup>7</sup> es tal y como se ha definido anteriormente.

[0034] Según una forma de realización preferida, cuando  $R^3$  es arilo  $C_6 - C_{12}$ , heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , alquilarilo  $C_7 - C_{14}$  o alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$  sustituido, el grupo alquilarilo o alquilheteroarilo es sustituido con, preferiblemente con uno, dos o tres de -OH, -OR<sup>7</sup>, -NH<sub>2</sub>, -NH(R<sup>7</sup>), -N(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>, -C(O)OR<sup>7</sup>, -C(O)R<sup>7</sup>, -C(O)NHR<sup>7</sup> y -C(O)NR<sup>7</sup><sub>2</sub>, donde R<sup>7</sup> es tal y como se ha definido anteriormente.

[0035] En el polímero PA según la presente invención que está representado por las fórmulas generales (1) y (2), el núcleo polimérico POL se basa preferiblemente o se selecciona de un (co)polímero ramificado, hiperramificado, multi-brazo, dentrítico o tipo estrella, dicho (co)polímero preferiblemente tiene 2 - 64, más preferiblemente 2 - 32, aún más preferiblemente 2 - 16 grupos amino terminales, preferiblemente grupos amino primarios. Por consiguiente, a es 2 - 64, preferiblemente 2 - 32 y en particular 2 - 16. Los (co)polímeros pueden comprender diferentes espaciadores lineales o ramificados que comprendan uno o más heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S, preferiblemente O y N.

[0036] Según la presente invención, b es 1 - 50, preferiblemente 1 - 30 y en particular 1-10.

[0037] Es bien conocido en la técnica que los (co)polímeros dendríticos no son siempre perfectamente ramificados y pueden por lo tanto tener una estructura hiperramificada. El grado de ramificación (*DB*) se puede definir por:

$$DB = \frac{(D + T)}{(D + L + T)}$$

donde *D* es el número de dendríticas, *L* el número de lineales y *T* el número de unidades terminales. Dendrimeros perfectos tendrán un *DB* de 1, mientras que los (co)polímeros hiperramificados tienen típicamente un *DB* de 0,4 a 0,5 hasta aún 0,9. En esta solicitud de patente, el término "dendrimer" debe entenderse que incluye "dendrimeros perfectamente ramificados" al igual que "dendrimeros imperfectamente ramificados" que son también denominados "(co)polímeros hiperramificados". Alternativamente, el término "(co)polímeros hiperramificados" también puede comprender (co)polímeros hiperramificados "reales". Esto es, que estas macromoléculas se preparen deliberadamente para tener una estructura hiperramificada. El término "dendrimer" debe entenderse como que comprende tanto homopolímeros dendrimericos como copolímeros dendrimericos. El término "copolímero" incluye polímeros formados por al menos dos monómeros diferentes.

[0038] Polímeros hiperramificados se pueden obtener a partir de la polimerización aleatoria de monómeros en presencia de al menos un monómero polifuncional capaz de introducir ramificación. Tal esquema sintético es mostrado por Hawker and Devonport in "Step-Growth Polymers for High-Performance Materials : New Synthetic Methods," Hedrick, J. L. and Labadie, J. W., Eds., Am. Chem. Soc., Washington, D. C., 1996, pp. 191-193. Hult *et al.*, in "Advances in Polymer Science," Vol. 143 (1999), Roovers, J., Ed., Springer, New York, pp. 1-34, presentan una reseña de los polímeros hiperramificados.

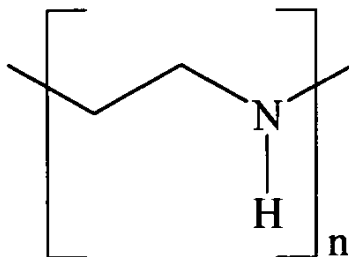
[0039] Los polímeros dendríticos altamente ramificados se discuten por ejemplo en "Polymeric Materials Encyclopedia", Vol. 5 (1996), J.C. Salamone, Ed., CRC Press, New York, pp. 3049-3053. Los polímeros dendríticos tienen generalmente una arquitectura no lineal y son intrínsecamente globulares en su forma. Métodos de síntesis por etapas discretos se utilizan para preparar dendrimeros o compuestos puros altamente ramificados. Como mencionan Hawker and Devonport en "Step-Growth Polymers for High-Performance Materials: New Synthetic Methods", Hedrick, J. L. and Labadie, J. W., Eds., Am. Chem. Soc., Washington, D. C., 1996, pp. 186-196, si la macromolécula tiene ramificación altamente regular que sigue un patrón geométrico estricto, es un dendrimer. Los dendrimeros son típicamente monodispersos y se preparan en un método multifase con purificaciones en cada fase. La arquitectura de los dendrimeros es también discutida por Roovers and Comanita en "Advances in Polymer Science", Vol. 142 (1999), Roovers, J., Ed., Springer, New York, pp. 179 - 228. Los dendrimeros consisten en una molécula de núcleo que define el centro de simetría de la molécula, y estratos de ramificación. Tomalia *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed. Eng., 29 (1990), 138-175 divulgan dendrimeros de "starburst" que consisten en un núcleo iniciador y grupos de ramificación.

[0040] Preferiblemente, el núcleo polimérico POL se basa en PEI (disponible comercialmente de por ejemplo Dendritrech, Inc.), polímeros Astramol® (DSM), polímeros JEFFAMINE® (Huntsman), polímeros PAMAM (a veces también llamados polímeros PANAM), polímeros PPI, polímeros PEAN y polímeros PEAC. El término "PEI" se refiere a polietilenoiminas. El término "PAMAM" se refiere a polímeros de poli(amido amina) que están disponibles comercialmente bajo el nombre comercial Starburst®. El término "PPI" se refiere a polímeros de polipropileno imina. El término "PEAN" se refiere a polímeros de poli(éster amina). El término "PEAC" se refiere a polímeros de poli(éter amina). Todos estos polímeros se conocen en la técnica. Por consiguiente, se prefiere que el núcleo polimérico POL se base en o se seleccione del grupo que consiste en PEI, PAMAM, PPI, PEAN y PEAC.

[0041] Según la presente invención, se prefiere que el peso molecular promedio en peso  $P_m$  del núcleo polimérico POL sea de aproximadamente 300 a aproximadamente 5.000, más preferiblemente de aproximadamente 600 a aproximadamente 5.000.

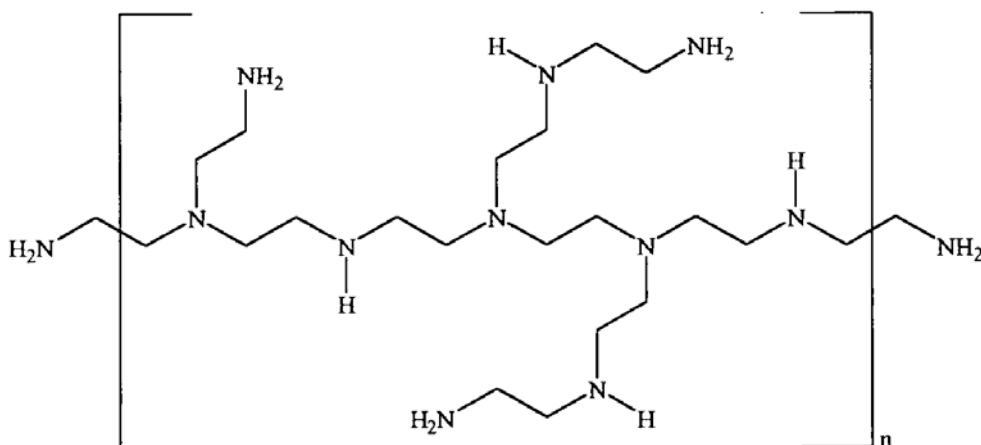
[0042] Polímeros preferidos usados para el núcleo polimérico POL son los polímeros (poliéter aminas) de las series JEFFAMINE® T que están disponibles comercialmente con un peso molecular promedio en peso  $P_m$  en el rango de aproximadamente 440 a aproximadamente 5.000. Tipos adecuados de polímeros JEFFAMINE® T incluyen T-403 ( $P_m$  = 440) y T-3000 ( $P_m$  = 3.000).

[0043] Otro grupo de polímeros preferidos que se pueden usar para el núcleo polimérico POL son los de PEI. PEI puede tener bien una estructura lineal o ramificada. PEI lineal está comercialmente disponible (jetPEI, Polyplus-Transfection Co.; Exgen 500, Fermentas Co.) y se prepara normalmente por hidrólisis de poli(2-etil-2-oxazolina). Los de PEI ramificado se obtienen a partir de aziridina y estos polímeros tienen una estructura altamente ramificada y comprenden aproximadamente 25% de grupos amina primaria, aproximadamente 50% grupos amina secundaria, y aproximadamente 25% grupos amina terciaria. Preferiblemente, el PEI tiene un peso molecular promedio en peso  $M_n$  de aproximadamente 600 a aproximadamente 3.000, más preferiblemente de aproximadamente 600 a aproximadamente 2.000. Los de PEI lineal se pueden representar por la fórmula general (5a):



(5a)

[0044] Los de PEI ramificado se puede representar por la fórmula general (5b):

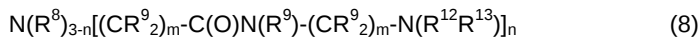
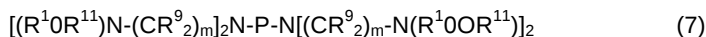
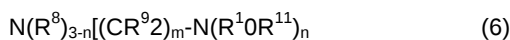


(5b)

donde n es de manera que el PEI tiene un peso molecular promedio en peso  $M_n$  de aproximadamente 300 a aproximadamente 5.000, más preferiblemente de aproximadamente 300 a aproximadamente 3.000, aún más preferiblemente de aproximadamente 600 a aproximadamente 2.500. Tales de PEI están por ejemplo disponibles de Sigma-Aldrich.

[0045] Otro grupo de polímeros preferidos usado para el núcleo polimérico POL son polímeros de poli(amido amina) hiperramificados y dendrímeros, preferiblemente los de la primera y cuarta generación, más preferiblemente los de la primera y tercera generación. Estos polímeros están disponibles comercialmente de Dentrtech, Inc., y tienen un peso molecular promedio en peso  $P_m$  en el rango de aproximadamente 1.400 (primera generación) a aproximadamente 15.000 (cuarta generación).

[0046] Otro grupo de polímeros preferidos usado para el núcleo polimérico POL son los polímeros representados por las fórmulas generales (6) - (9):



donde:

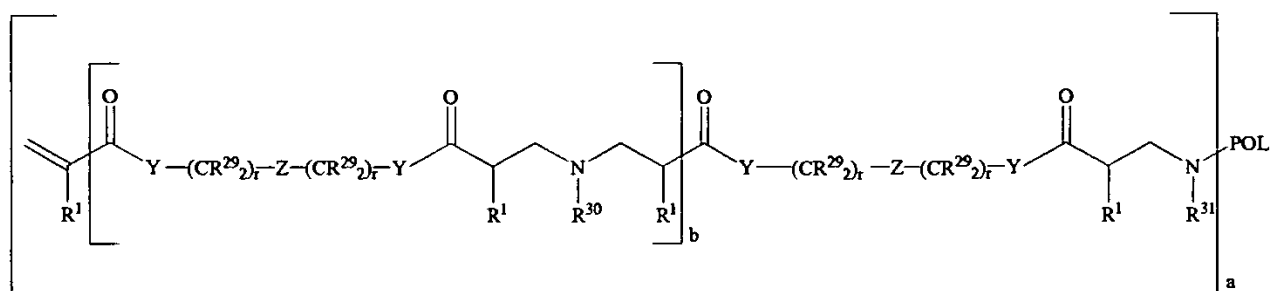
$R^8$  es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_{20}$  lineal o ramificado o un grupo  $-[(CR^{14}_2)_qX]_o-R^{15}$ , donde X es O o N( $R^8$ );  
 m es 2, 3 o 4;  
 n es 2 o 3;  
 o es 1 - 10;  
 q es 2, 3 o 4;  
 P es  $-(CR^9_2)_m$ , un grupo arileno  $C_6 - C_{12}$ , un grupo cicloalquileo  $C_6 - C_{12}$  o un grupo  $-[(CR^{14}_2)_qX]_p-C(R^{14})_2$ , donde X es O o N( $R^8$ ) y p es 1 - 10;  
 $R^9$  es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;  
 $R^{10}$  y  $R^{11}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^{14}_2)_qNR^{16}R^{17}$ , siempre que  $R^{10}$  y  $R^{11}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;  
 $R^{16}$  y  $R^{17}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^{14}_2)_qNR^{18}R^{19}$ , siempre que  $R^{16}$  y  $R^{17}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;  
 $R^{18}$  y  $R^{19}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^{14}_2)_qNR^{20}R^{21}$ , siempre que  $R^{18}$  y  $R^{19}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;  
 $R^{20}$  y  $R^{21}$  son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado, siempre que  $R^{20}$  y  $R^{21}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;  
 $R^{22}$  es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, siempre que al menos un  $R^{22}$  sea un átomo de hidrógeno;  
 $R^{15}$  es un hidrógeno o un grupo alquilo  $C_1 - C_{20}$  lineal o ramificado o un grupo  $-[(CR^{14}_2)_qX]_o-R^{15}$  tal y como se ha definido anteriormente;  
 $R^{12}$  y  $R^{13}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^9_2)_m-C(O)NH-(CR^9_2)_m-N(R^{23}R^{24})$ , siempre que  $R^{12}$  y  $R^{13}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;  
 $R^{23}$  y  $R^{24}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^9_2)_m-C(O)NH-(CR^9_2)_m-N(R^{25}R^{26})$ , siempre que  $R^{23}$  y  $R^{24}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;  
 $R^{25}$  y  $R^{26}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^9_2)_m-C(O)NH-(CR^9_2)_m-N(R^{27}R^{28})$ , siempre que  $R^{25}$  y  $R^{26}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;  
 $R^{27}$  y  $R^{28}$  son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado, siempre que  $R^{27}$  y  $R^{28}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado.

[0047] En las fórmulas (6) - (9), unos polímeros de grupo preferidos usados para el núcleo polimérico POL es el grupo donde:

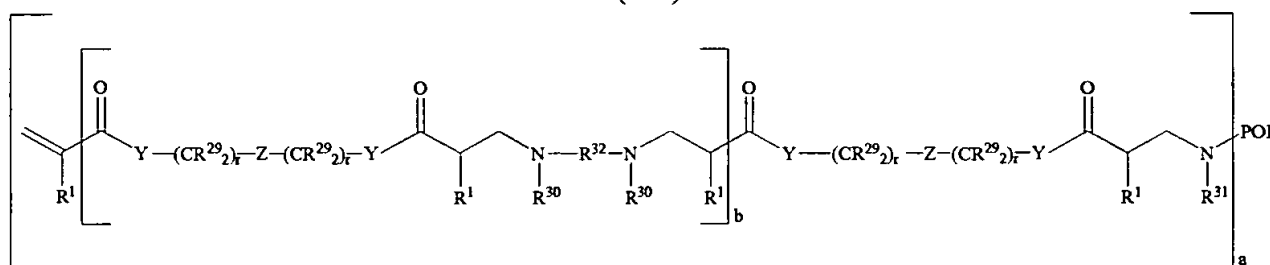
$R^8$  y  $R^{15}$  es un átomo de hidrógeno o un grupo  $-[(CR^{14}_2)_qX]_o-R^{15}$ , donde X es NH;  
 $R^9$ ,  $R^{20}$ ,  $R^{21}$  y  $R^{21}$  son un átomo de hidrógeno;  
 $R^{10}$  y  $R^{11}$  son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo de la fórmula  $-(CR^{14}_2)_qNR^{16}R^{17}$ ;  
 $R^{16}$  y  $R^{17}$  son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo de la fórmula  $-(CR^{14}_2)_qNR^{18}R^{19}$ ;  
 $R^{18}$  y  $R^{19}$  son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo de la fórmula  $-(CR^{14}_2)_qNR^{20}R^{21}$ ;  
 $R^{12}$  y  $R^{13}$  son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo de la fórmula  $-(CR^9_2)_m-C(O)NH-(CR^9_2)_m-N(R^{23}R^{24})$ ;  
 $R^{23}$  y  $R^{24}$  son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo de la fórmula  $-(CR^9_2)_m-C(O)NH-(CR^9_2)_m-N(R^{25}R^{26})$ ;  
 $R^{25}$  y  $R^{26}$  son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo de la fórmula  $-(CR^9_2)_m-C(O)NH-(CR^9_2)_m-N(R^{27}R^{28})$ ; y  
 $R^{27}$  y  $R^{28}$  son independientemente un átomo de hidrógeno.

[0048] En las fórmulas (6) - (9), también se prefiere que m y q sea 2:

[0049] Una clase más preferida de polímeros PA según la presente invención se pueden representar por las fórmulas generales (10) y (11):



(10)



(11)

donde:

$R^1$  se selecciona independientemente de H y  $CH_3$ ;

Y es O u N(R);

r es 2, 3 o 4;

Z es S-S-;

$R^{29}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en:

(a) H;

(b) alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por 1, 2 o 3 heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(c) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende 1, 2 o 3 heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(d) arilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arilo es opcionalmente sustituido;

(e) heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende 1, 2 o 3 heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarilo es opcionalmente sustituido;

(f) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilarilo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por 1, 2 o 3 heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S; y

(g) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende 1, 2 o 3 heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarilo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por 1, 2 o 3 heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S; el grupo alquilheteroarilo opcionalmente es sustituido, preferiblemente con 1, 2 o 3 de  $-OH$ ,  $-OR^{29}$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH(R^{29})$  o  $-N(R^{29})_2$ ;

$R^{30}$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) H;

(b) alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(c) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno, dos o tres heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(d) arilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arilo es opcionalmente sustituido;

(e) heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarilo es opcionalmente sustituido;

(f) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilarilo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S; y

(g) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarilo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

$R^{31}$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) H;

(b) alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado;

(c) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ ;

(d) arilo  $C_6 - C_{12}$ ;

(e) heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S;

(f) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ ; y

(g) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S;

$R^{32}$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) alquileo  $C_1 - C_{12}$ , donde el grupo alquileo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(b) cicloalquileo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquileo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno o varios heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(c) arileo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arileo es opcionalmente sustituido;

(d) heteroarileo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarileo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarileo es opcionalmente sustituido;

(e) alquilarileo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilarileo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarileo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S; y

(f) alquilheteroarileo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarileo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarileo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarileo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S; y

a = 2 - 64; y

b = 1 a 50.

[0050] Según una forma de realización preferida, cuando  $R^{30}$  es alquilo  $C_1 - C_{10}$  sustituido, el grupo alquilo es sustituido por un grupo seleccionado de -OH, -OR<sup>7</sup>, -NH<sub>2</sub>, -NH(R<sup>7</sup>), -N(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>, -C(O)OR<sup>7</sup>, -C(O)R<sup>7</sup>, -C(O)NHR<sup>7</sup> y -C(O)NR<sup>7</sup><sub>2</sub>, donde R<sup>7</sup> es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) H;

(b) alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(c) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno, dos o tres heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(d) arilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arilo es opcionalmente sustituido;

(e) heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarilo es opcionalmente sustituido;

(f) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilarilo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S; y

(g) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarilo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S.

[0051] Según una forma de realización preferida, cuando  $R^{30}$  es cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$  sustituido, el grupo cicloalquilo tiene un grupo pendiente seleccionado de  $-OH$ ,  $-OR^7$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH(R^7)$ ,  $-N(R^7)_2$ ,  $-C(O)OR^7$ ,  $-C(O)R^7$ ,  $-C(O)NHR^7$  y  $-C(O)NR^7_2$ , donde  $R^7$  es tal y como se ha definido anteriormente.

[0052] Según una forma de realización preferida, cuando  $R^{30}$  es arilo  $C_6 - C_{12}$ , heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , alquilarilo  $C_7 - C_{14}$  o alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$  sustituido, el grupo alquilarilo o alquilheteroarilo es sustituido con, preferiblemente con uno, dos o tres de  $-OH$ ,  $-OR^7$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH(R^7)$ ,  $-N(R^7)_2$ ,  $-C(O)OR^7$ ,  $-C(O)R^7$ ,  $-C(O)NHR^7$  y  $-C(O)NR^7_2$ , donde  $R^7$  es tal y como se ha definido anteriormente.

[0053] En una clase más preferida de polímeros PA según las fórmulas generales (10) y (11):

$R^1$  se selecciona independientemente de H y  $CH_3$ ;

Y es  $N(R^1)$ ;

r es 2;

Z es S-S-;

$R^{29}$  se selecciona independientemente de H y alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

$R^{30}$  se selecciona independientemente de H y alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

$R^{31}$  se selecciona independientemente de H y alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado;

y

$R^{32}$  es alquileno  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquileno puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S.

[0054] En una clase aún más preferida de los polímeros PA según las fórmulas generales (10) y (11):

$R^1$  es H;

Y es  $N(R^1)$ ;

r es 2;

Z es S-S-;

$R^{29}$  es H;

$R^{30}$  se selecciona independientemente de H y alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo es lineal y es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

$R^{31}$  es H; y

$R^{32}$  es alquileno  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquileno puede ser lineal o ramificado.

[0055] Todavía en una clase aún más preferida de los polímeros PA según las fórmulas generales (10) y (11):

$R^1$  es H;

Y es  $N(R^1)$ ;

r es 2;

Z es S-S-;

$R^{29}$  es H;

$R^{30}$  es alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo es lineal y es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

$R^{31}$  es H; y

$R^{32}$  es alquileno  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado.

[0056] En una clase más preferida de los polímeros PA según las fórmulas generales (10) y (11):

Y es NH;

r es 2;

Z es S-S-;

$R^{29}$  es H;

$R^{30}$  es alquilo  $C_1 - C_6$ ;

$R^{31}$  es H; y

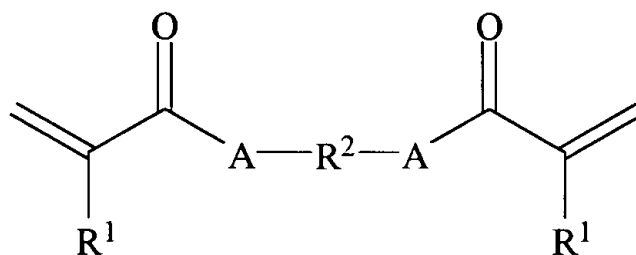
$R^{32}$  es alquileo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquileo es lineal.

[0057] En todas estas clases preferidas de los polímeros PA según las fórmulas (10) y (11), se prefiere que cuando  $R^{30}$  es alquilo  $C_1 - C_{10}$  sustituido, el grupo alquilo se sustituya por un grupo seleccionado de  $-OH$ ,  $-OR^7$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH(R^7)$ ,  $-N(R^7)_2$ ,  $-C(O)OR^7$ ,  $-C(O)R^7$ ,  $-C(O)NHR^7$ , y  $-C(O)NR^7_2$ , donde  $R^7$  es tal como se ha definido anteriormente. Preferiblemente, el grupo alquilo es sustituido por  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH(R^7)$ , o  $-N(R^7)_2$ ; más preferiblemente por  $-OH$  o  $-NH_2$  sustituido.

Proceso para la preparación del polímero PA

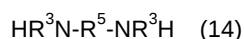
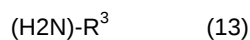
[0058] Según una forma de realización de la presente invención, los polímeros PA según la presente invención como representados por las fórmulas generales (1) y (2) se pueden preparar por un proceso que comprende los pasos de:

(1) reaccionar un monómero (I) según la fórmula general (12):

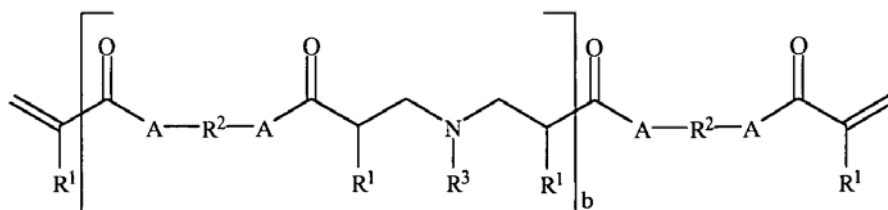


(12)

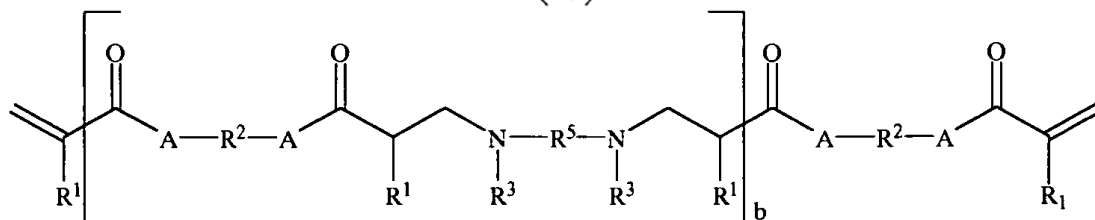
donde  $R^1$ , A y  $R^2$  son tal y como se ha definido anteriormente, con un monómero (II) según la fórmula general (13) o un monómero (III) según fórmula (14):



donde  $R^3$  y  $R^5$  son tal como se ha definido anteriormente, en una proporción molar de monómero (I) : monómero (II) de aproximadamente 1,5 : 1 a aproximadamente 10 : 1 para formar un macrómero según las fórmulas generales (15) o (16):



(15)



(16)

donde b es tal y como se ha definido por encima; y

(2) reaccionar el macrómero según las fórmulas generales (15) o (16) con un polímero según la fórmula (17);



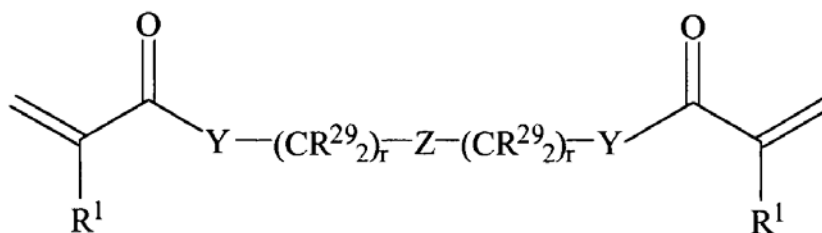
donde a, POL y  $R^4$  son tal y como se ha definido anteriormente y donde al menos un  $R^4$  es H.

[0059] Por lo tanto, en esta reacción, un grupo  $-C(O)-C(R^1)=C$  reacciona con un grupo  $(R^4)_2N$  de POL bajo la formación de una fracción  $-C(O)-CH(R^1)-CH_2-N(R^4)-$  (adición de Michael) como estará claro para experto en la técnica.

[0060] Por consiguiente, la presente invención también se refiere al polímero PA según las fórmulas generales (1) y (2) que se puede obtener por este proceso.

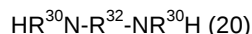
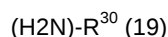
[0061] Según una forma de realización preferida de la presente invención, los polímeros PA según la presente invención como se representan por las fórmulas generales (10) y (11) también se puede preparar por este proceso que comprende los pasos de:

(1) reaccionar un monómero (III) según la fórmula general (18):

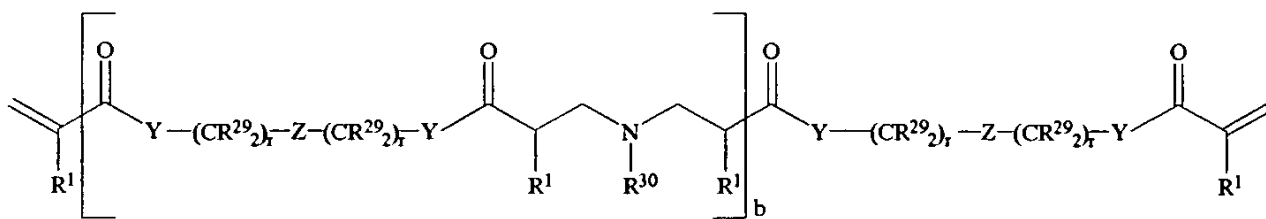


(18)

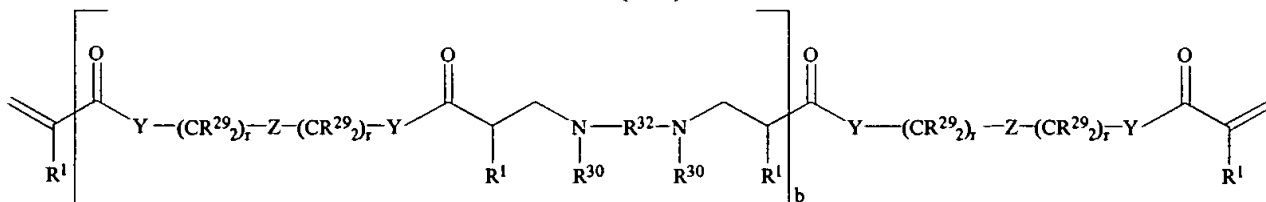
donde  $R^1$ , Y,  $R^{29}$  y r son tal y como se ha definido anteriormente, con un monómero (IV) según la fórmula general (19) o un monómero (V) según la fórmula (20):



donde  $R^{30}$  y  $R^{32}$  son tal como se ha definido anteriormente, en una proporción molar de monómero (I) : monómero (II) de aproximadamente 1,5 : 1 a aproximadamente 10 : 1 para formar un macrómero según las fórmulas generales (21) o (22):



(21)



(22)

donde b es tal y como se ha definido por encima; y

(2) reaccionar el macrómero según las fórmulas generales (21) o (22) con un polímero según la fórmula (23);



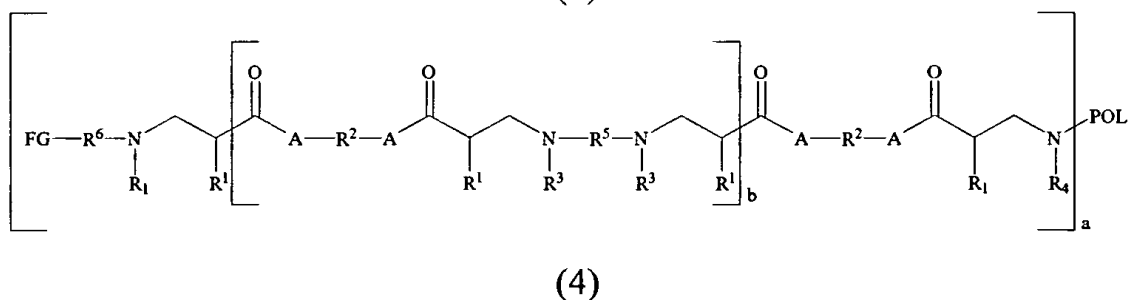
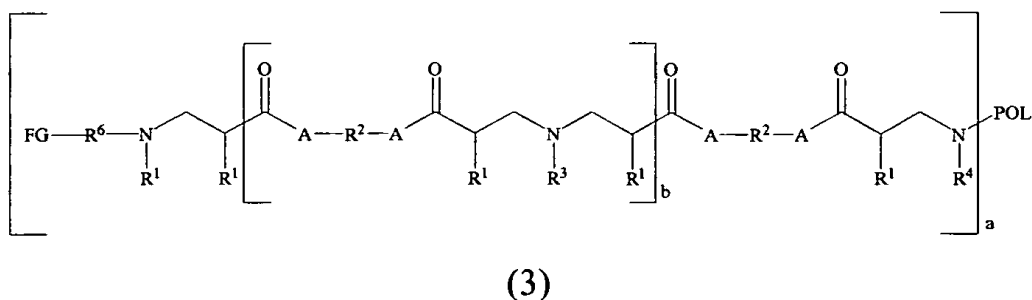
donde a, POL y  $R^{31}$  son tal y como se ha definido anteriormente y donde al menos un  $R^{31}$  es H.

[0062] Según la presente invención, se prefiere que la etapa (1) del proceso se realice a una temperatura que vaya desde la temperatura ambiente a aproximadamente 100°C, preferiblemente de aproximadamente 30° a aproximadamente 80°C.

[0063] Según la presente invención, se prefiere que la etapa (2) del proceso se realice a una temperatura que vaya desde la temperatura ambiente a aproximadamente 100°C, preferiblemente de aproximadamente 30° a aproximadamente 80°C.

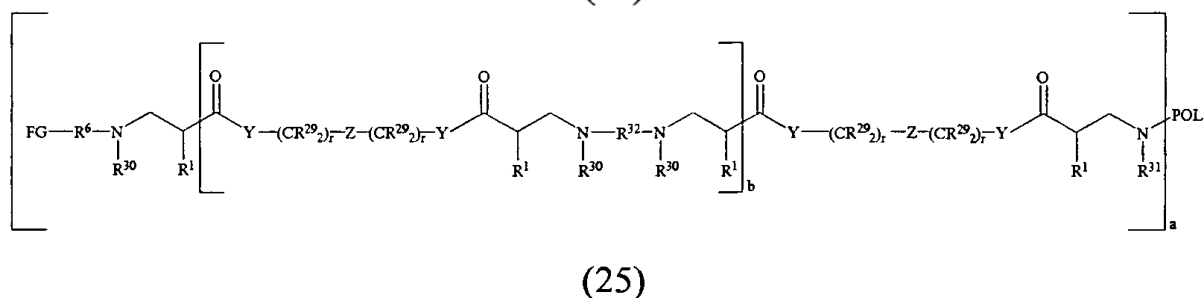
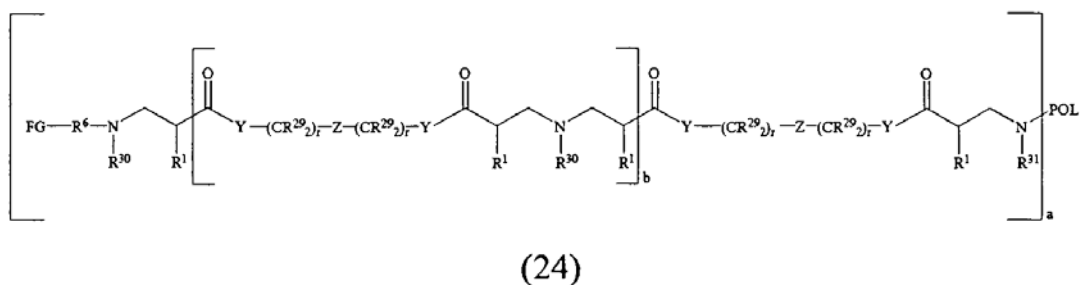
La nanopartícula

[0064] La presente invención también se refiere a una nanopartícula. La nanopartícula según la presente invención está representada por las fórmulas generales (3) y (4):



donde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ , A, POL, FG, a y b son como se ha descrito anteriormente.

[0065] Según una forma de realización preferida, la nanopartícula está representada por las fórmulas generales (24) y (25):



donde  $R^1$ ,  $R^6$ ,  $R^{29}$ ,  $R^{30}$ ,  $R^{31}$ ,  $R^{32}$ , Y, Z, POL, FG, a, b y r tal y como se ha definido anteriormente. El grupo funcional FG es un sustituyente que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional complementario (CFG) de un reactivo para post-modificación. El grupo FG es preferiblemente seleccionado de grupos funcionales que permitan la formación de un enlace covalente con un grupo CFG, preferiblemente bajo condiciones de reacción biocompatibles, en particular bajo condiciones de pH fisiológico y temperatura ambiente y en sistemas acuosos. Tales grupos FG son bien conocidos por el experto en la materia. En particular, el grupo FG se selecciona del grupo que consiste en un grupo seleccionado de  $-OH$ ,  $-OR^7$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH(R^7)$ ,  $-N(R^7)_2$ ,  $-C(O)OR^7$ ,  $-C(O)R^7$ ,  $-C(O)NHR^7$  y  $-C(O)NR^7_2$ , donde  $R^7$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a") H;

(b") alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(c") cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno, dos o tres heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(d") arilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arilo es opcionalmente sustituido;

(e") heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarilo es opcionalmente sustituido;

(f") alquilarilo  $C_7 - C_{14}$  donde el grupo alquilarilo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo de alquilaril es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S; y

(g") alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarilo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S.

[0066] El CFG es preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en  $-OH$ ,  $-OR^7$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH(R^7)$ ,  $-N(R^7)_2$ ,  $-C(O)OR^7$ ,  $-C(O)R^7$ ,  $-C(O)NHR^7$ , y  $-C(O)NR^7_2$ , donde  $R^7$  es tal y como se ha definido anteriormente para FG. Por ejemplo, el FG puede ser  $-OH$  y el CFG puede ser  $-COOH$ .

[0067] Las nanopartículas según las fórmulas generales (3), (4), (24) y (25) se puede preparar por un proceso donde un polímero PA según las fórmulas generales (1), (2), (10) o (11), respectivamente, se reaccionan con un reactivo según la fórmula (26a) o la fórmula (26b):



donde FG y  $R^6$  son tal y como se ha definido anteriormente, FG opcionalmente es hidrógeno. Otros de FG útiles incluyen grupos biológicamente o farmacológicamente activos, por ejemplo oligo y polipéptidos. Ejemplos adecuados para los reactivos según la fórmula (26a) y (26b) son etilenodiamina, dietilenotriamina, trietilenotetramina, tetraetilenopentamina, 1,6-diamino hexano, PEG terminado de amina, PPO terminado de amina, PEG terminado de tiol y PPO terminado de tiol.

[0068] Sin embargo, como será aparente para los expertos en la técnica, el reactivo según la fórmula (26b) puede no solo reaccionar con los grupos acrilato de los polímeros PA según cualquiera de las fórmulas (1), (2), (10) y (11), pero también con los grupos S-S- (en caso de existir) en  $R^2$  del polímero PA según la fórmula (1) o fórmula (2) o con el grupo S-S- como se representa por Z en los polímeros PA según la fórmula (10) o la fórmula (11). Adicionalmente, ya que  $R^3$  del polímero PA según la fórmula (1) o la fórmula (2) y  $R^{30}$  del polímero PA según la fórmula (10) o la fórmula (11) puede comprender grupos funcionales, también se puede prever que el reactivo según la fórmula (26a) pueda reaccionar con estos grupos funcionales. Además, en vez del reactivo según la fórmula (26a), también reactivos según la fórmula  $FG-R^6-RG$  pueden usarse, donde RG se selecciona del grupo que consiste en  $-OH$ ,  $-OR^7$ ,  $-C(O)OR^7$ ,  $-C(O)R^7$ ,  $-C(O)NHR^7$ ,  $-C(O)NR^7_2$  y  $-SO_2Cl$ , donde  $R^7$  es tal y como se ha definido anteriormente, cuando  $R^3$  y  $R^{30}$  comprenden por ejemplo un grupo amino primario o secundario.

El nanogel

[0069] La presente invención también se refiere a un nanogel. Los nanogeles según la presente invención tienen como ventajas importantes que son estables en forma disuelta y dispersa. Los nanogeles según la presente invención son también estables en almacenamiento. Las soluciones de los nanogeles se pueden congelar sin perder su integridad y se pueden liofilizar a una forma de polvo que puede fácilmente ser restituida a una solución sin pérdida de actividad o integridad.

[0070] El nanogel se prepara por reticulación del polímero PA según las fórmulas generales (1) y (2), donde la reticulación es preferiblemente realizada por radiación de UV, preferiblemente radiación de UV con una longitud de onda de aproximadamente 365 nm. La reacción de reticulación es preferiblemente realizada en presencia de un fotoiniciador. La reacción de reticulación es también preferiblemente realizada en una emulsión de agua en aceite. Es además preferido que la reacción de reticulación se realice a un pH inferior a 7, preferiblemente menos de aproximadamente 6. Preferiblemente, el pH es superior a aproximadamente 1, preferiblemente superior a aproximadamente 2.

[0071] La presente invención por lo tanto también se refiere a un nanogel que es obtenible por el proceso descrito anteriormente que comprende la etapa de reticulación de un polímero PA según las fórmulas generales (1), (2), (10) y (11), preferiblemente sometiendo el polímero PA a radiación UV.

#### Nanogeles cargados

[0072] Según la invención, se prefiere que el nanogel comprenda además un componente biológicamente activo seleccionado del grupo de ARN (en particular ARNs) o derivados o fragmentos del mismo, ADN o derivados o fragmentos del mismo, (oligo) péptidos y derivados de los mismos, y proteínas y derivados de las mismas.

[0073] La carga del nanogel se realiza por el contacto del componente biológicamente activo con el nanogel en un sistema de solvente acuoso, preferiblemente un sistema de solvente acuoso tamponado, donde el sistema de solvente acuoso tiene preferiblemente un pH fisiológico. Métodos para la carga de los nanogeles se conocen en la técnica.

#### Modificación de superficie de los nanogeles

[0074] El nanogel según la presente invención, bien en la forma cargada o en la forma descargada, se puede además funcionalizar por post-modificación.

[0075] Según una forma de realización preferida de la post-modificación, el nanogel que se puede obtener por los polímeros PA de reticulación según las fórmulas (1) o (2), donde  $R^3$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a1) alquilo  $C_1 - C_{10}$  sustituido, donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos son independientemente seleccionados de O, N y S;

(b1) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$  sustituido, donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno, dos o tres heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(c1) arilo  $C_6 - C_{12}$  sustituido;

(d1) Heteroarilo  $C_6 - C_{12}$  sustituido, donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(e1) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$  sustituido, donde una parte de alquilo del grupo alquilarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(f1) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$  sustituido, donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

donde los grupos anteriores (a) - (f) comprenden un grupo funcional (FG) como un sustituyente que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional complementario (CFG) de un reactivo para post-modificación R y donde los nanogeles opcionalmente comprenden un componente biológicamente activo, se reacciona con dicho reactivo R según el proceso:

### nanogel-FG + R-CFG

[0076] El grupo CFG es capaz de formar un enlace covalente con el grupo FG. Ejemplos adecuados para grupos FG y CFG con bien conocidos por el experto en la materia. Por ejemplo, el FG puede ser un grupo  $-COOH$  mientras que el grupo CFG es un grupo  $-NH_2$ .

[0077] Según una forma de realización preferida, el grupo funcional FG se selecciona del grupo que consiste en un grupo seleccionado de  $-OH$ ,  $-OR^7$ ,  $-NH_2$ ,  $-NH(R^7)$ ,  $-N(R^7)_2$ ,  $-C(O)OR^7$ ,  $-C(O)R^7$ ,  $-C(O)NHR^7$  y  $-C(O)NR^7_2$ , donde  $R^7$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a") H;

(b") alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(c'') cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno, dos o tres heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

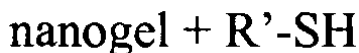
(d'') arilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arilo es opcionalmente sustituido;

(e'') heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarilo es opcionalmente sustituido;

(f'') alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilarilo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S; y

(g'') alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarilo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S.

[0078] Según otra forma de realización preferida de la post-modificación, el nanogel que se puede obtener por reticulación de polímeros PA según las fórmulas (10) o (11), se reacciona con un reactivo para post-modificación R' según el proceso:



[0079] Los grupos R y R' son preferiblemente 2-tioetilo, 2-hidroxietilo, y residuos de PEG (polietilénóxico) residuos o residuos de PPO (polipropilénóxico) que tienen un peso molecular de promedio en número Mn de aproximadamente 500 a aproximadamente 10.000. Como será aparente para los expertos en la técnica, el reactivo R'-SH puede también reaccionar con los grupos S-S- (en caso de existir) en el nanogel como se ha descrito anteriormente para los polímeros PA según las fórmulas (1), (2), (10) y la fórmula (11).

[0080] La presente invención por lo tanto se refiere además a nanogeles de superficie modificada que son obtenibles por un primer proceso que incluye las etapas de:

(1) reticular un polímero PA según las fórmulas generales (1), (2), (10) o (11), preferiblemente sometiendo el polímero PA a radiación UV para formar un nanogel;

(2) opcionalmente cargar el nanogel con un componente biológicamente activo seleccionado del grupo de ARN (en particular ARNsi) o derivados o fragmentos del mismo, ADN o derivados o fragmentos del mismo, (oligo)péptidos y derivados de los mismos, y proteínas y derivados de las mismas; y

(3) reaccionar el nanogel con un reactivo R-CFG o R'-SH.

[0081] Los nanogeles de superficie modificada son también obtenibles por un segundo proceso que incluye las etapas de:

(1') reticular un polímero PA según las fórmulas generales (1), (2), (10) o (11), preferiblemente sometiendo el polímero PA a radiación UV para formar un nanogel;

(2') reaccionar el nanogel con un reactivo R-CFG o R'-SH; y

(3') opcionalmente cargar el nanogel con un componente biológicamente activo seleccionado del grupo de ARN (en particular ARNsi) o derivados o fragmentos del mismo, ADN o derivados o fragmentos del mismo, (oligo)péptidos y derivados de los mismos, y proteínas y derivados de las mismas.

[0082] Los nanogeles de superficie modificada son también obtenibles por un tercer proceso que incluye las etapas de:

(1'') reaccionar el nanogel con un reactivo R-CFG o R'-SH formando así un nanogel funcional;

(2'') reticular el nanogel funcionalizado, preferiblemente sometiendo el nanogel funcionalizado a radiación UV para formar un nanogel; y

(3'') opcionalmente cargar el nanogel con un componente biológicamente activo seleccionado del grupo de ARN (en particular ARNsi) o derivados o fragmentos de los mismos, ADN o derivados o fragmentos de los mismos, (oligo)péptidos y derivados de los mismos, y proteínas y derivados de las mismas.

[0083] En la etapa (1) del primer proceso y la etapa (1') del segundo proceso, no todos los grupos acrilato necesitan ser reticulados de modo que los grupos acrilatos no reticulados pueden ser funcionalizados en la etapa (3) del primer proceso y la etapa (2) del segundo proceso, respectivamente. Asimismo, en la etapa (1'') del tercer proceso, no todos los grupos acrilato necesitan ser funcionalizados a esos grupos acrilato no reticulados pueden todavía ser reticulados. Por consiguiente, el producto obtenido en cualquiera de estos tres procesos puede ser muy complejo. Según la presente invención, se prefiere incluso que cuando primero se realiza una etapa de funcionalización no todos los grupos acrilato sean funcionalizados así permitiendo más reticulación de los grupos acrilato restantes. Asimismo, también se prefiere cuando primero un paso de reticulación se realiza no todos los grupos acrilato son reticulados así permitiendo más funcionalización de los grupos acrilato restantes. Un experto en la técnica será bien capaz de seleccionar las

condiciones de reacción apropiadas, en particular seleccionando proporciones molares apropiadas de reactivos y materias primas, para controlar el grado de reticulación y funcionalización. Además, y como se ha descrito anteriormente, hay otros grupos reactivos en los polímeros PA, por ejemplo grupos S-S-, que puede ser funcionalizados conjuntamente con los grupos acrilato.

## Aplicaciones

[0084] Los nanogeles según la presente invención son muy adecuados como portadores de entrega de fármacos debido a su alta capacidad de carga, alta estabilidad y receptividad a factores medioambientales, tales como fuerza iónica, potencial de reducción, pH y temperatura. En particular, los nanogeles según la presente invención tienen beneficios adicionales para entregar componentes biológicamente activos sobre sistemas nanogranulosos poliméricos autoensamblados como vehículos de entrega, ya que en el caso de estos nanogeles todos los constituyentes poliméricos se incorporan en el nanogel de entrega mientras que en los sistemas nanogranulosos poliméricos autoensamblados normalmente el exceso de polímero libre en la solución es necesario debido a las condiciones de equilibrio. Esto causa frecuentemente efectos de citotoxicidad no deseada y en la dilución de la desestabilización de la formulación de las nanopartículas.

## Ejemplos

### Materiales y métodos

[0085] Cistamina bisacrilamida (CBA, Polysciences, EE.UU.) fue comprada en el máximo grado de pureza y usada sin purificación adicional. Polietilenimina (PEI) de bajo peso molecular con peso molecular promedio en peso 800 Da (PEI800) se obtuvo de Aldrich. Un fotoiniciador Igracure 2959 fue comprado de Ciba. El surfactante ABIL EM 90 fue comprado de Degussa-Goldschmidt (Evonik). ARNSi anti-luciferasa fue comprado de Eurogentec, AllStars. ARNSi de control negativo fue comprado de Qiagen. Todos otros productos químicos fueron comprados de Aldrich. Todos los reactivos y solventes fueron de grado reactivo y fueron usados sin purificación adicional. Espectros de RMN fueron registrados en Varian Unity 300 ( $^1\text{H}$  NMR 300 MHz) utilizando tetrametilsilano (TMS) como estándar interno.

### Ejemplo 1: síntesis de macrómero de diacrililo (A-(CBA-ABOL) $_n$ -A).

[0086] Aproximadamente 0,48 g (0,0054 mol.) de 4-amino-1-butanol (ABOL) y 1,56 g (0,006 mol) de CBA (9/10 mol/mol proporción ABOL/CBA) se añadió a 3 ml de una solución de  $\text{CaCl}_2$  (0,4 M) en metanol-agua 3/1 (v/v) y el matraz de reacción fue sellado. La polimerización se efectuó a 50°C y la reacción se dejó proceder durante 30 h, produciendo una solución viscosa. La reacción fue monitoreada siguiendo con  $^1\text{H}$ -NMR, las áreas integradas de dos picos de acrililo (5,55 y 6,05) y dos picos de metileno de los grupos laterales de butanol (1,58 ppm y 1,78 ppm). Al final de la polimerización, las integraciones de RMN indicaron que el macrómero (A-(CBA-ABOL) $_n$ -A) contenía alrededor de seis unidades de ABOL por grupo de acrililo, es decir  $n=12$ .

### Ejemplo 2: síntesis de p(CBA-ABOL/PEI) hiperramificado

[0087] Un volumen de 2,12, 1,06, 0,53 o 0,26 ml de una solución de PEI 800 bajo peso molecular (100 mg/ml) se añadió a 1,34 g macrómero de A-p(CBA-ABOL) $_{12}$ -A diacrililo en 3 ml metanol-agua 3/1 (v/v) para conseguir una proporción molar deseada de grupos acrililo a PEI de 3/1, 6/1, 12/1 y 24/1, respectivamente. La mezcla fue diluida con una solución 0,4 M de  $\text{CaCl}_2$  en metanol-agua 3/1 (v/v) a una concentración de PEI final de 10 mM para prevenir la gelificación durante la reacción. La reacción se efectuó a 50 C durante 24 h. Posteriormente, una mitad de la mezcla reactiva que contiene extremo encapsulado de p(CBA-ABOL)/PEI con grupos CBA acrililo fue separada para la síntesis de los nanogeles. Para la segunda mitad de la mezcla reactiva un exceso de 10 veces de etilenodiamina (EDA) fue añadido para transformar todos los grupos CBA acrililo terminales en aminas. La solución resultante de p(CBA-ABOL)/PEI de extremo recubierto con etilenodiamina fue diluida con agua a aproximadamente 30 ml, acidificado con 4 M HCl a pH ~ 4, y luego purificado utilizando una membrana de ultrafiltración (MWCO 1000 g/mol). Después de la liofilización, el polímero (CBA-ABOL)/PEI hiperramificado terminado con EDA fue recogido como HCl-sal. Rendimiento 30-50%. Las proporciones ABOL/Acrililo para diferentes de p(CBA-ABOL)/PEI se resumen en la tabla 1.

Tabla 1

|                                                       | p(CBA-ABOL)/PEI-13% | p(CBA-ABOL)/PEI-7% | p(CBA-ABOL)/PEI-4% | p(CBA-ABOL)/PEI -2% |
|-------------------------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| Muestra nº                                            | 1                   | 2                  | 3                  | 4                   |
| Contenido de PEI en el pienso, % en peso              | 13                  | 7                  | 4                  | 2                   |
| Acrililo/PEI (mol/mol) en el pienso                   | 3                   | 6                  | 12                 | 24                  |
| ABOL / Acrililo (mol/mol) in p(CBA-ABOL)/PEI restante | >100                | 30                 | 18                 | 13                  |

**Ejemplo 3: síntesis de p(CBA-ABOL)/PAMAM hiperramificado**

[0088] Un volumen de 1,16, 0,87 o 0,58 ml de una solución de dendrímero PAMAM de segunda generación (G2) (100 mg/ml) se añadió a 1,34 g macrómero de A-p(CBA-ABOL)12-A diacrililo en 3 ml metanol-agua 3/1 (v/v) para conseguir una proporción molar deseada de grupos acrililo a moléculas PAMAM de 10/1, 15/1 y 20/1, respectivamente. La mezcla fue diluida por una solución 0,4 M de  $\text{CaCl}_2$  en metanol-agua 3/1 (vol./vol.) a una concentración final de PAMAM de 10 mM para prevenir la gelificación durante la reacción. La reacción se efectuó a 50°C durante 24 h. Posteriormente, una mitad de la mezcla reactiva que contenía extremo recubierto de p(CBA-ABOL)/PAMAM con grupos CBA acrililo fue separada para la síntesis de nanogeles. A la segunda mitad de la mezcla reactiva un exceso de 10 veces de etilendiamina (EDA) fue añadido para transformar todos los grupos CBA acrililo terminales en aminas. La solución resultante de p(CBA-ABOL)/PAMAM de extremo recubierto de etilendiamina fue diluida con agua a aproximadamente 30 ml, acidificado con 4 M HCl a pH=4, y luego purificado utilizando una membrana de ultrafiltración (MWCO 1000 g/mol). Después de la liofilización, el polímero p(CBA-ABOL)/PAMAM hiperramificado terminado en EDA fue recogido como HCl-sal. Rendimiento 30-50%. Las proporciones ABOL/Acrililo para diferentes composiciones de p(CBA-ABOL)/PAMAM son resumidas en la tabla 2

Tabla 2

|                                                       | p(CBA-ABOL)/PAMAM-8% | p(CBA-ABOL)/PAMAM-6% | p(CBA-ABOL)/PAMAM-4% |
|-------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Muestra nº                                            | 5                    | 6                    | 7                    |
| Contenido de PAMAM en el pienso (% en peso)           | 8                    | 6                    | 4                    |
| Acrililo/PAMAM en el de pienso (mol/mol)              | 10                   | 15                   | 20                   |
| ABOL/Acrililo en p(CBA-ABOL)/PAMAM (mol/mol) restante | 23                   | 14                   | 13                   |

**Ejemplo 4: síntesis de p(CBA-ABOL)/oligoaminas hiperramificados terminado con EDA**

[0089] Polímeros hiperramificados terminados con EDA fueron preparados por reacción de los polímeros hiperramificados de las tablas 1 y 2 con un exceso de EDA. Las reacciones se dejaron proceder hasta que se produjo la desaparición completa de grupos acrililo, como fue confirmado por RMN.

Tabla 3

| Polímero hiperramificado                                 | p(CBA-ABOL)/PEI-13% | p(CBA-ABOL)/PEI-7% | p(CBA-ABOL)/PEI-4% | p(CBA-ABOL)/PEI-2% |
|----------------------------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Muestra nº                                               | 1                   | 2                  | 3                  | 4                  |
| Muestra nº de polímero hiperramificado terminado con EDA | 8                   | 9                  | 10                 | 11                 |

**Ejemplo 5: síntesis de nanogeles de p(CBA-ABOL)/oligoamina (NG-PAAs)**

[0090] Los siguientes polímeros hiperramificados (véase Tabla 3) fueron reticulados de la siguiente manera.

Tabla 4

| Polímero hiperramificado | p(CBA-ABOL)/PEI-2% | p(CBA-ABOL)/PEI-4% | p(CBA-ABOL)/PAMAM-6% | p(CBA-ABOL)/PAMAM-4% |
|--------------------------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|
| Muestra nº de NG-PAA     | 12                 | 13                 | 14                   | 15                   |

[0091] Una solución de 500 mg p(CBA-ABOL)/oligoamina terminada con acrililo (oligoamina = PEI o PAMAM) fue acidificada a temperatura ambiente con 4 M HCl a pH 4. El metanol fue evaporado a partir de la solución de reacción en un flujo de nitrógeno. El volumen de la solución fue posteriormente ajustado a 4 ml con agua desionizada. Después de la adición de 5 mg de fotoiniciador Igracure 2959, la fase acuosa fue emulsionada en 30 ml de aceite mineral que contenía 10% de surfactante ABIL EM 90 a través de ultrasonido (Bandelin Sonoplus GM 2070) durante 5 min (amplitud 75%). Inmediatamente después del ultrasonido, las nanogotas fueron reticuladas por irradiación UV (5 mW/cm<sup>2</sup> a 365 nm durante 1 h) bajo agitación. Para eliminar el fase continua, la emulsión fue diluida con 100 ml de mezcla de acetona/hexano 1/1 (v/v). Los nanogeles de p(CBA-ABOL)/oligoamina reticulada (con acrónimo NG-PAAs) fueron

infragranulados por centrifugación (8000 r.p.m., 5 min), lavados a partir del surfactante cuatro veces con mezcla de acetona/hexano y redispersados en 30 ml de agua desionizada. Después de la purificación utilizando una membrana de ultrafiltración (MWCO 10000 g/mol) y liofilización, los NG-PAA fueron almacenados a - 20°C. Los rendimientos fueron 20-25%.

#### Ejemplo 6: síntesis de poli(etilenglicol)es tiol- funcionalizados (PEG-SH)

[0092] PEG tiol-funcionalizado (PEG-SH) con peso molecular de 2000 g/mol fue sintetizado a partir de metoxi PEG en una síntesis de tres pasos como se describe abajo.

##### PEG-mesilato

[0093] El grupo hidroxilo de metoxi PEG fue activado por mesilación según un procedimiento ligeramente modificado como fue publicado por Elbert *et al.* (D. L. Elbert, J. A. Hubbell, Biomacromolecules 2001, 2, 430). En un ejemplo típico 10,0 g (5 mmol, 1 eq) de metoxi PEG ( $P_m = 2000$  g/mol) fue secado dos veces en una destilación azeotrópica de 70 ml de tolueno seco. Después del segundo paso de destilación, el PEG fue disuelto en 20 ml de diclorometano seco seguido por la adición de 6,6 ml (15 mmol, 3 eq) de trietilamina. Posteriormente, la solución fue enfriada en un baño de hielo y 1,72 g de cloruro de mesilo fue añadido gota a gota. La reacción se dejó que procediera durante toda la noche a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno, seguido de precipitación en éter dietílico. PEG-mesilato fue finalmente recogido como un polvo blanco por filtración y secado al vacío. Rendimiento: 83%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 3,08 (s, 3H,  $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ); 3,37 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2$ ); 3,40 (t, 2H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2$ ); 3,52 - 3,90 (m, 176H, PEG); 4,38 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ).

##### PEG-tioacetato

[0094] En el segundo paso el grupo mesilato fue convertido en un tioacetato según un procedimiento de bibliografía modificada (C. Woghiren, B. Sharma, S. Stein, Bioconjugate Chem. 1993, 4, 314). Por lo tanto, 3,0 g (1,5 mmol, 1 eq) de PEG-mesilato fue disuelto en 10 ml de piridina seca y separadamente 2,23 g (19,5 mmol, 13 eq) de tioacetato de potasio fue disuelto en 28 ml de una mezcla 2/1 (v/v) de piridina/metanol seco. La solución de PEG-mesilato y 2,6 ml de trietilamina fue luego añadida a la solución de tioacetato de potasio y la mezcla reactiva fue agitada durante toda la noche a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Todos los solventes fueron evaporados, el residuo fue disuelto en 10 ml de solución salina y extraído cuatro veces con diclorometano. La fase orgánica fue secada de sulfato de magnesio, concentrada y precipitada dos veces en éter dietílico. PEG-tioacetato fue finalmente recogido como un polvo blanco por filtración y secado al vacío. Rendimiento: 78%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2,33 (s, 3H,  $\text{CH}_2\text{SCoCH}_3$ ); 3,08 (t, 3H,  $\text{CH}_2\text{SCoCH}_3$ ); 3,37 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2$ ); 3,40 (t, 2H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2$ ); 3,52 - 3,90 (m, 176H, PEG).

##### PEG-tiol (PEG-SH)

[0095] En el último paso el tioacetato estaba desprotegido para producir PEG-SH (O. B. Wallace, D. M. Springer, Tetrahedron Lett. 1998, 39, 2693). Por lo tanto, 2,3 g (1,2 mmol, 1 eq) de PEG-tioacetato fue disuelto en 10 ml de metanol bajo una atmósfera de nitrógeno. A esta solución 81 mg (1,2 mmol, 1 eq) de tiometoxideo de sodio disuelto en 1 ml de metanol fue añadido y la solución fue agitada durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego la mezcla reactiva fue vertida en 20 ml de 0,1 M de ácido clorhídrico acuoso y extraída con diclorometano. La estrato orgánico se lavó con solución salina y todos los solventes fueron retirados por evaporación rotacional. Para eliminar las últimas impurezas, PEG fue disuelto en 40 ml de agua desmineralizada que contenía 0,35 g de DTT (2,3 mmol, 2 eq) para reducir tiolos posiblemente oxidados y dializados por ultrafiltración con un corte de peso molecular de 1000 g/mol. PEG-SH fue finalmente obtenido como un polvo esponjoso blanco por liofilización. Rendimiento: 85%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1,59 (t, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ ); 2,68 (q, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ ); 3,37 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2$ ); 3,40 (t, 2H,  $\text{CH}_3\text{OCH}_2$ ); 3,52 - 3,90 (m, 176H, PEG).

[0096] La conversión total de hidroxilo en tiol fue determinada por el reactivo de Ellman y se comprobó que era 100%.

#### Ejemplo 7: preparación de ARNSi p(CBA-ABOL)/hiperramificado/poliplejos de oligoamina

[0097] Poliplejos fueron preparados a partir de CBA-ABOL (referencia, ejemplo 1), números de muestra 1 - 4 (véase, Tabla 1) y 5 y 6 (véase, Tabla 2).

[0098] En el experimento típico, una solución de ARNSi fue preparada a una concentración final de 0,025 mg/ml en glucosa tamponada con HEPES (HBG) (pH 7,4). Una solución madre de p(CBA-ABOL)/oligoamina hiperramificada (1,25 mg/ml) en HBG (pH 7,4) fue preparada y fue usada para la preparación de poliplejos a 50/1 p/p proporción de polímero/ARNSi. Esta solución fue reiteradamente diluida 1:1 con HBG para preparar poliplejos con 25/1, 12/1 y 6/1 p/p proporción de polímero/ARNSi. Volúmenes típicamente iguales de ARNSi y soluciones de p(CBA-ABOL)/oligoamina de p(CBA-ABOL)/oligoamina hiperramificada fueron mezclados en un tubo de Eppendorf de 1 ml. Después de la mezcla, la solución de poliplejo fue incubada durante 20 min a temperatura ambiente. Para proporciones más altas (o dosis aplicada) concentraciones aumentadas de los componentes fueron aplicadas.

**Ejemplo 8: carga de ARNsi de nanogeles NG-PAA**

[0099] Los nanogeles del ejemplo 4 al igual que un nanogel obtenido a partir del macrómero de diacrililo (A-(CBA-ABOL)<sub>n</sub>-A) del ejemplo 1 fueron cargados con ARNsi.

[0100] En el experimento típico, una solución de ARNsi fue preparada a una concentración final de 0,025 mg/ml en glucosa tamponada con HEPES (HBG) (pH 7,4). Una dispersión de NG-PAA (1,25 mg/ml) en HBG (pH 7,4) fue preparada y fue usada para la carga a 50/1 proporción en peso nanogel/ARNsi. La dispersión NG-PAA fue reiteradamente diluida 1:1 con HBG para preparar nanogeles cargados con ARNsi con 25/1, 12/1 y 6/1 proporción en peso de polímero/ARNsi. Volúmenes típicamente iguales de soluciones de ARNsi y nanogel fueron mezclados en un tubo Eppendorf de 1 ml e incubados durante 20 min a temperatura ambiente. Para proporciones más altas (o dosis aplicadas) concentraciones más altas de los componentes apropiados fueron aplicadas en los mismos volúmenes como se da por encima.

**Ejemplo 9: ensayo de desplazamiento bromuro de etidio (EtBr)**

[0101] La capacidad de los polímeros hiperramificados terminados con EDA del ejemplo 4 y los nanogeles NG-PAA del ejemplo 5 para condensar ARNsi fue estudiada utilizando un ensayo de bromuro de etidio (EtBr). El polímero de p(CBA-ABOL) (ejemplo 1) fue usado como una referencia.

[0102] Una solución del polímero hiperramificado o el nanogel NG-PAA fue añadida paso a paso a la solución de ARNsi (10 µg/mL) en HBG que contenía EtBr (0,4 µg/mL). Después de cada paso, la intensidad de fluorescencia fue monitorizada ( $\lambda_{\text{ex}} = 510 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 590 \text{ nm}$ ). La intensidad de fluorescencia de la solución de EtBr en presencia de ARNsi libre correspondía a 0% de condensación, mientras que la intensidad de fluorescencia sin ARNsi correspondía a 100% de condensación de ADN.

[0103] Los resultados se muestran en las figuras 1 - 3. La figura 1 muestra que el polímero p(CBA-ABOL) mismo tiene una eficiencia más bien baja en la complejación de ARNsi. Sin embargo, los polímeros hiperramificados terminados con EDA y nanogeles NG-PAA tienen una capacidad enlazante significativamente más alta. Los polímeros hiperramificados terminados con EDA y nanogeles NG-PAA que contenían PEI mostraron afinidad más alta a ARNsi que aquellos que contenían PAMAM (figuras 1 y 2). Los nanogeles NG-PAA tienen una capacidad más alta para condensar ARNsi que los polímeros hiperramificados terminados con EDA correspondientes (figura 3).

**Ejemplo 10: silenciaci3n g3nica in vitro**

[0104] La ca3da de la eficiencia fue determinada silenciando la expresi3n de luciferasa en c3lulas NCI-H1299, expresando de forma estable luciferasa de luci3rnaga (donada por el prof. G. Storm, University of Utrecht, Pa3ses Bajos). La ca3da y la viabilidad celular fueron evaluadas en dos sesiones paralelas, utilizando antiluciferasa y ARNsi no codificante, respectivamente. Las c3lulas fueron sembradas en placas de 96 pocillos con una densidad de 8.000 c3lulas por pocillo. Despu3s de 24 h de incubaci3n a 37°C en una atm3sfera humedecida conteniendo 5% de CO<sub>2</sub>, el medio fue sustituido con 100 µl medio sin suero fresco. Tanto el ARNsi de anti-luciferasa como el ARNsi no codificante fueron usados. Lipofectamine 2000 (LF) se us3 como referencia y se prepararon complejos seg3n el protocolo del fabricante. Poliplejos o nanogeles cargados con ARNsi (10 µl por pocillo) fueron adicionados a las c3lulas por triplicado despu3s de una hora de incubaci3n con medio fresco, dando como resultado una concentraci3n de ARNsi final de 72 nM. Despu3s dos horas de transfecci3n en el medio libre de suero, el medio de poliplejo fue sustituido por el medio de cultivo completo y las c3lulas fueron incubadas durante otras 48 h. Las c3lulas fueron lisadas en 50 µl de tamp3n de lisis y 20 µl del lisato celular fue mezclado con 50 µl de reactivo de ensayo de luciferasa que conten3a la luciferina de sustrato. Despu3s de 100 - 220 segundos (en este plazo la luz emitida es constante) la actividad de luciferasa fue determinada por la medici3n de la luminiscencia a 25°C durante 4 segundos en un lector de placa PerkinElmer 1420 Victor<sup>3</sup>. La actividad de luciferasa de las c3lulas no tratadas fue definida como 100% de expresi3n.

[0105] Las figuras 4 - 6 muestran el gen que silencia la eficiencia de las muestras n3mero 1 - 4 seg3n el ejemplo 2 (figura 4), de las muestras n3mero 5 y 6 seg3n el ejemplo 3 (figura 5) y de los nanogeles NG-PAA seg3n el ejemplo 5 (figura 6). Los n3meros en el eje x representan la proporción de polímero/ARNsi. El polímero CBA/ABOL no mostr3 ninguna eficiencia en la entrega de ARNsi.

**Ejemplo 11: medici3n de tama3o de part3cula y potencial zeta.**

[0106] Los tama3os de part3cula y los potenciales de zeta de los poliplejos cargados y descargados y los nanogeles fueron medidos por dispersi3n de luz l3ser utilizando un Zetasizer Nano ZS (Malvern, UK).

[0107] A altas proporciones de mezcla de polímero/ARNsi (p/p 12 o m3s) no se observaron diferencias significativas en tama3o de las part3culas de poliplejo formadas por polímeros hiperramificados terminados con EDA diferentes. Todos los polímeros hiperramificados terminados con EDA formaron poliplejos peque3os con tama3os que oscilaban de aproximadamente 80 a aproximadamente 120 nm y los potenciales de zeta fueron de aproximadamente 30 a

aproximadamente 35 mV. A proporciones de mezcla bajas (es decir p/p 6) los poliplexos fueron sometidos a agregación lenta alcanzando los tamaños de aproximadamente 500 a aproximadamente 600 nm después de mezcla durante 20 minutos.

5 [0108] La carga de nanogeles llevó a la deshinchazón y reducción gradual de sus tamaños tras la reducción de una proporción de mezcla. El tamaño de la muestra nº 12 disminuyó de aproximadamente 120 nm (descargado) a aproximadamente 90 nm (cargado p/p 50) a aproximadamente 75 nm (cargado p/p 12).

10 [0109] Otra reducción más de la proporción de mezcla (aumento de carga de ARNs) llevó a la agregación de las partículas de nanogel de forma similar fue observado para los polímeros hiperramificados terminados con EDA. Los potenciales de zeta de los nanogeles descendió ligeramente tras la carga. Para la muestra nº 12, el potencial de zeta disminuyó de aproximadamente 28 mV (descargado) a aproximadamente 26 mV (cargado p/p 50) a aproximadamente 20 mV (cargado p/p 12).

#### 15 **Ejemplo 12: citotoxicidad**

[0110] Estudios de viabilidad celular fueron realizados con células NCI-H1299 en ausencia y en presencia de 10% de FBS. Las células fueron sembradas en placas de 96 pocillos con una densidad de 8.000 células por pocillo 24 h antes de la transfección. Una serie de dilución de polímeros hiperramificados o soluciones de nanogel NG-PAA fueron preparadas de 12,5 a 0,02 mg/ml y 10 µl de la solución se añadió a 100 µl de medio de crecimiento. Después de 24 horas de incubación, la viabilidad celular fue medida utilizando un ensayo XTT, donde el valor XTT para células no tratadas (células no expuestas a sistemas de transfección) fue tomado como 100% de viabilidad celular. Las curvas de viabilidad celular para las muestras número 4 y 12 en ausencia de suero se muestran en la figura 7. Se muestra que especialmente los nanogeles muestran la citotoxicidad más baja. Por comparación: la concentración polimérica es 0,055 mg/mL en transfecciones celulares a proporción de polímero/ARNs 48/1.

#### **Ejemplo 13: transfección in vitro bajo condiciones de suero**

30 [0111] Estudios de transfección fueron realizados con células NCI-H1299 según un procedimiento similar como se describe en el ejemplo 10. Sin embargo, en este caso, el medio de transfección también contenía 10% de FBS y las células fueron incubadas con nanogeles cargados con ARNs durante 48 h antes de que se realizara el ensayo de luciferasa. Soluciones de muestra de nanogel cargado con ARNs muestra nº 12 con dosis en aumento de ARNs (dando como resultado 125, 250 y 500 ng de ARNs por pocillo (100 µL) en el medio de incubación, es decir 72, 144 y 288 nM, respectivamente), o soluciones con dosis constante de ARNs (72 nM) con proporción en aumento de nanogel muestra nº 12 fueron preparadas según el procedimiento descrito en el ejemplo 8. Los resultados de la silenciamiento del gen de luciferasa para estas formulaciones diferentes se muestran en las figuras 8 y 9, respectivamente.

#### **Ejemplo 14: modificación de superficie de formulaciones de nanogel NG-PAA**

40 [0112] La superficie de la muestra nº 12 fue modificada por PEG utilizando una reacción de intercambio entre terminal -SH en las cadenas de PEG y grupo -S-S- en los nanogeles. En el experimento típico, la solución de ARNs (0,05 mg/ml) fue mezclada con un volumen igual de solución de nanogel de 2,5 mg/ml en HBG (pH 7,4). Después de la mezcla, la solución de nanogel fue incubada durante 20 min a temperatura ambiente y un volumen igual de la solución de PEG-SH en HBG fue añadido. La concentración de PEG-SH varió de 0,125 mg/ml a 2,5 mg/ml para conseguir proporciones de PEG-SH/nanogel de 0,1 a 2. Los tamaños y potenciales de zeta de las nanopartículas fueron posteriormente seguidos de DLS. Para estudios de estabildades de coloide un volumen definido de la solución de NaCl (3,15 M) fue añadido 40 min después de la adición de PEG-SH para conseguir una concentración final de NaCl 150 mM. Después de esto, los tamaños de las partículas fueron monitorizados como una función de tiempo. Resultados para tamaño y potencial zeta se muestran en la tabla 4 antes y después de la modificación de superficie por PEG 2 kDa.

Tabla 5

|            | 10% p/p PEG |        | 20% p/p PEG |        | 40% p/p PEG |        | 100% p/p PEG |        |
|------------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|--------------|--------|
|            | 0 min       | 40 min | 0 min       | 40 min | 0 min       | 40 min | 0 min        | 40 min |
| Tamaño, nm | 91          | 106    | 95          | 109    | 92          | 112    | 94           | 106    |
| Zeta, mV   | 26          | 21     | 26          | 21     | 26          | 10,6   | 27           | 8,9    |

55 [0113] La Figura 10 muestra datos para entrega de ARNs a células H1299 por la muestra nº 12 modificada con PEG. Proporción de polímero/ARNs 50 p/p. Condiciones libres de suero.

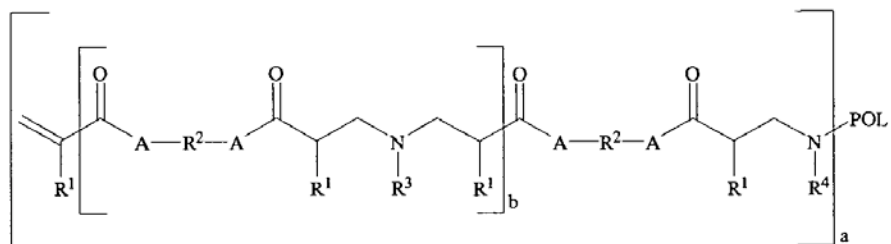
#### **Ejemplo 15: estabilidad de las formulaciones de nanogel contra los ciclos de congelación-descongelación y liofilización**

[0114] Las formulaciones de propiedades con ARNsi de muestra nº 4 hiperramificada y muestra de nº 12 de nanogel después de los ciclos de congelación-descongelación y liofilización fueron estudiadas por DLS.

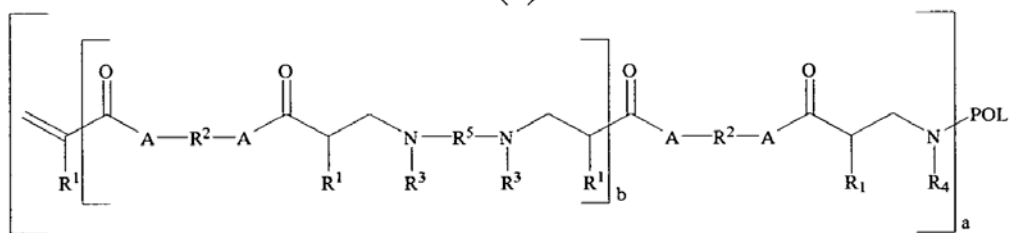
- 5 [0115] La congelación de las formulaciones de la muestra nº 4 dio como resultado la agregación de nanopartículas de poliplejo. El tamaño de los poliplejos a proporción de mezcla de 50 p/p aumentó de aproximadamente 80 nm a aproximadamente 600 nm después de un ciclo de congelación-descongelación. Tampoco fue posible reconstruir la formulación liofilizada por adición de agua de MilliQ. Después de 15 min de agitación en vórtex, una cantidad significativa de material insoluble estaba todavía presente en la solución.
- 10 [0116] En el caso de las formulaciones de nanogel de la muestra nº 12, sin embargo, prácticamente no se observó ningún cambio en el tamaño de las partículas después de tanto la congelación-descongelación como de la liofilización. Los tamaños de las partículas a 50 p/p de proporción de mezcla de la formulación inicial y los de después de un ciclo de congelación-descongelación y después de una liofilización fueron aproximadamente 91, aproximadamente 94 y aproximadamente 103 nm, respectivamente. Las formulaciones no perdieron su actividad después de estos procesos
- 15 (figura 11: las barras grises de la izquierda representan la formulación con ARNsi anti-LUC, la barra gris de la derecha es ARNsi sin sentido como control. Proporción de polímero/ARNsi 50 p/p. Condiciones libres de suero. Las tres formulaciones mostraron la misma eficiencia en la caída del gen objetivo.

## Reivindicaciones

1. Polímero según las fórmulas (1) y (2):



(1)



(2)

donde:

- 10 A es independientemente seleccionado de un enlace simple de carbono-carbono directo (es decir una estructura donde A está ausente), O, N(R<sup>1</sup>) y S;  
 R<sup>1</sup> se selecciona independientemente de H y CH<sub>3</sub>;  
 R<sup>2</sup> es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

- 15 (a) alquileo C<sub>1</sub> - C<sub>40</sub>, donde el grupo alquileo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde el grupo alquileo se interrumpe por uno o varios grupos -S-S-;  
 20 (b) cicloalquileo C<sub>3</sub> - C<sub>40</sub>, donde el grupo cicloalquileo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno o varios heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde el grupo cicloalquileo se interrumpe por uno o varios grupos S-S- fuera del anillo;  
 (c) arileno C<sub>6</sub> - C<sub>40</sub>, donde el grupo arileno es opcionalmente sustituido;  
 25 (d) heteroarileno C<sub>6</sub> - C<sub>40</sub>, donde el grupo heteroarileno comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarileno es opcionalmente sustituido;  
 (e) alquilarileno C<sub>7</sub> - C<sub>40</sub>, donde el grupo alquilarileno es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es  
 30 opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarileno se interrumpe por uno o varios grupos -S-S-;  
 (f) alquilheteroarileno C<sub>7</sub> - C<sub>40</sub>, donde el grupo alquilheteroarileno comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarileno es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarileno es lineal o ramificada y es  
 35 opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarileno se interrumpe por uno o varios grupos -S-S-; y  
 (g) un grupo donde dos grupos (hetero)arileno C<sub>7</sub> - C<sub>40</sub> y/o grupos alquil(hetero)arileno C<sub>7</sub> - C<sub>40</sub> están conectados entre sí por un grupo -S-S-, donde la parte alquilo del grupo alquil(hetero)arileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios  
 40 heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

R<sup>3</sup> es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

- (a) H;

(b) alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(c) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno, dos o tres heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(d) arilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arilo es opcionalmente sustituido;

(e) heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y donde el grupo heteroarilo es opcionalmente sustituido;

(f) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilarilo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S; y

(g) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarilo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

$R^4$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) H;

(b) alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado;

(c) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ ;

(d) arilo  $C_6 - C_{14}$ ;

(e) heteroarilo  $C_6 - C_{14}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S;

(f) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ ; y

(g) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S;

$R^5$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) alquileno  $C_1 - C_{12}$ , donde el grupo alquileno puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(b) cicloalquileno  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquileno es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno o varios heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(c) arileno  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arileno es opcionalmente sustituido;

(d) Heteroarileno  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarileno comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarileno es opcionalmente sustituido;

(e) alquilarileno  $C_7 - C_{12}$ , donde el grupo alquilarileno es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S; y

(f) alquilheteroarileno  $C_7 - C_{12}$ , donde el grupo alquilheteroarileno comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarileno es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarileno es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

POL representa un núcleo polimérico que tiene un peso molecular promedio en peso  $P_m$  de aproximadamente 300 a aproximadamente 25.000;

$a = 2 - 64$ ; y

$b = 1 - 50$ .

2. Polímero según la reivindicación 1, donde el peso molecular promedio en peso  $P_m$  del núcleo polimérico POL es de aproximadamente 300 a aproximadamente 5.000.

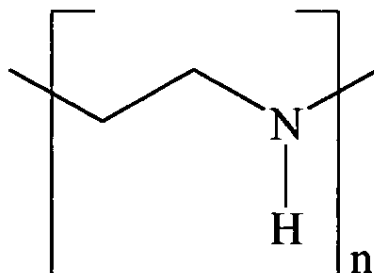
3. Polímero según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde el núcleo polimérico POL se basa en o se selecciona de un (co)polímero ramificado, hiperramificado, multi-brazo, dentrítico o tipo estrella.

4. Polímero según la reivindicación 3, donde el (co)polímero tiene 2 - 64 grupos amino terminales.

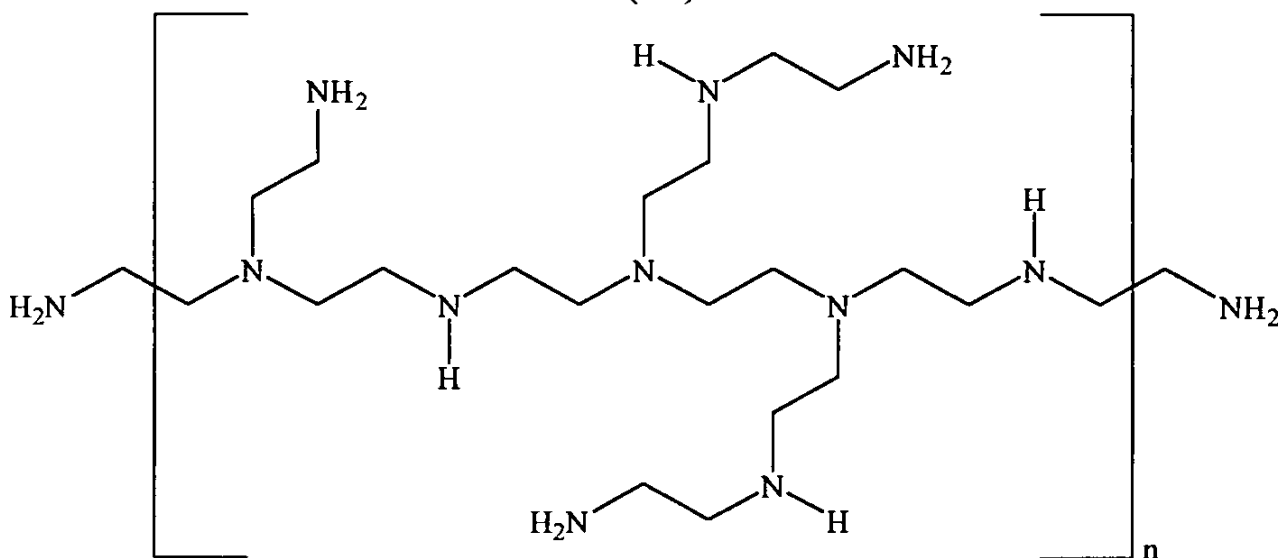
5. Polímero según la reivindicación 4, donde los grupos amino son grupos amino primarios.

6. Polímero según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 5, donde el núcleo polimérico POL se basa en o se selecciona del grupo que consiste en PEI, PAMAM, PPI, PEAN y PEAC.

7. Polímero según la reivindicación 6, donde el PEI se representa por las fórmulas generales (5a) y (5b):



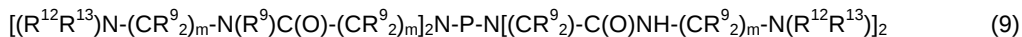
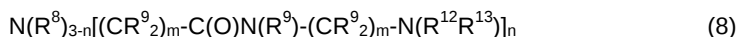
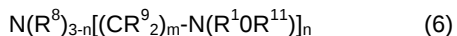
(5a)



(5b)

donde n es de manera que el PEI tiene un peso molecular promedio en peso Mn de aproximadamente 600 a aproximadamente 3.000.

8. Polímero según la reivindicación 6, donde el núcleo polimérico POL se basa en o se selecciona del grupo que consiste en los polímeros representados por las fórmulas generales (6) - (9):



donde:

$R^8$  es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_{20}$  lineal o ramificado o un grupo  $-(CR^{14}_2)_q-X-R^{15}$ , donde X es O o  $N(R^8)$ ; m es 2, 3 o 4;

n es 2 o 3;

o es 1 - 10;

q es 2, 3 o 4;

P es  $-(CR^9_2)_m-$ , un grupo arileno  $C_6 - C_{12}$ , un grupo cicloalquileo  $C_6 - C_{12}$  o un grupo  $[(CR^{14}_2)_q-X]p-C(R^{14})_2-$ , donde

X es O o N( $R^8$ ) y p es 1 - 10;

$R^9$  es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;

$R^{10}$  y  $R^{11}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^{14}_2)_qNR^{16}R^{17}$ , siempre que  $R^{10}$  y  $R^{11}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;

$R^{16}$  y  $R^{17}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^{14}_2)_qNR^{18}R^{19}$ , siempre que  $R^{16}$  y  $R^{17}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;

$R^{18}$  y  $R^{19}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^{14}_2)_qNR^{20}R^{21}$ , siempre que  $R^{18}$  y  $R^{19}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;

$R^{20}$  y  $R^{21}$  son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado, siempre que  $R^{20}$  y  $R^{21}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;

$R^{22}$  es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, siempre que al menos un  $R^{22}$  sea un átomo de hidrógeno;

$R^{15}$  es un hidrógeno o un grupo alquilo  $C_1 - C_{20}$  lineal o ramificado o un grupo  $-(CR^{14}_2)_q-X$  tal y como se ha definido anteriormente;

$R^{12}$  y  $R^{13}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^9_2)_m-C(O)NH-(CR^9_2)_m-N(R^{23}R^{24})$ , siempre que  $R^{12}$  y  $R^{13}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;

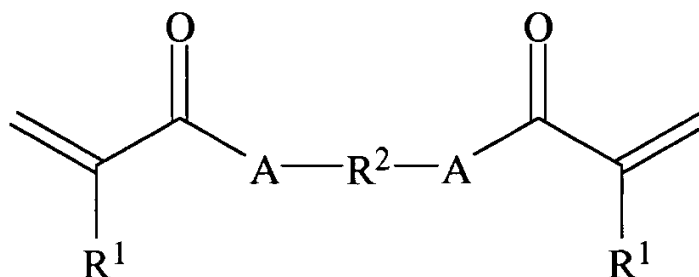
$R^{23}$  y  $R^{24}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^9_2)_m-C(O)NH-(CR^9_2)_m-N(R^{25}R^{26})$ , siempre que  $R^{23}$  y  $R^{24}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;

$R^{25}$  y  $R^{26}$  son independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado o un grupo de la fórmula  $-(CR^9_2)_m-C(O)NH-(CR^9_2)_m-N(R^{27}R^{28})$ , siempre que  $R^{25}$  y  $R^{26}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado;

$R^{27}$  y  $R^{28}$  son independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado, siempre que  $R^{27}$  y  $R^{28}$  no sean ambos un grupo alquilo  $C_1 - C_6$  lineal o ramificado.

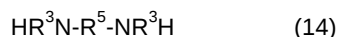
9. Proceso para la preparación de un polímero PA según las fórmulas generales (1) o (2), dicho proceso incluye las etapas de:

(1) un monómero (I) según la fórmula general (12):

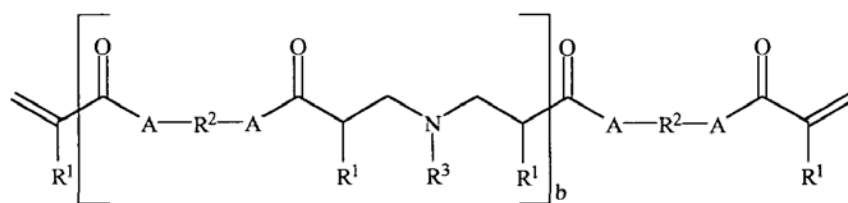


(12)

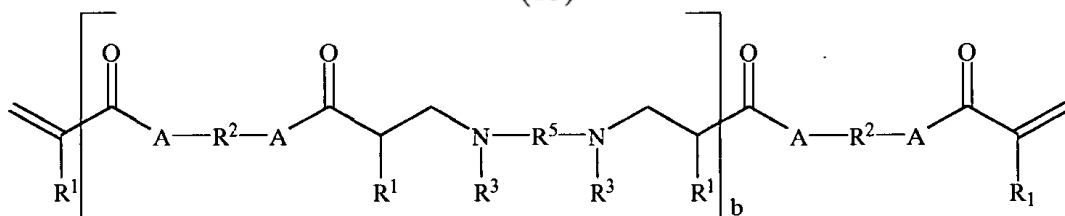
donde  $R^1$ , A y  $R^2$  son tal y como se define en la reivindicación 1, se reacciona con un monómero (II) según la fórmula general (13) o un monómero (III) según fórmula general (14):



donde  $R^3$  y  $R^5$  son tal y como se define en la reivindicación 1, en una proporción molar de monómero (I) : monómero (II) de aproximadamente 1,5 : 1 a aproximadamente 10 : 1 para formar un macrómero según las fórmulas generales (15) o (16):



(15)



(16)

5 donde b es tal y como se define en la reivindicación 1; y

(2) reaccionando el macrómero según las fórmulas generales (15) o (16) con un polímero según la fórmula (17);



10

donde a y  $R^4$  son tal y como se define en la reivindicación 1 y donde al menos un  $R^4$  es H.

15

10. Polímero de PA según las fórmulas generales (1) o (2) obtenible por el proceso según la reivindicación 9.

11. Nanogel que comprende el polímero PA según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 8 o 10.

12. Nanogel según la reivindicación 11, donde el nanogel comprende un componente biológicamente activo.

20

13. Nanogel según la reivindicación 12, donde el componente biológicamente activo se selecciona del grupo de ARN (en particular ARNsi y ARNmi) o derivados o fragmentos del mismo, ADN o derivados o fragmentos del mismo, (oligo)péptidos y derivados de los mismos, y proteínas y derivados de las mismas.

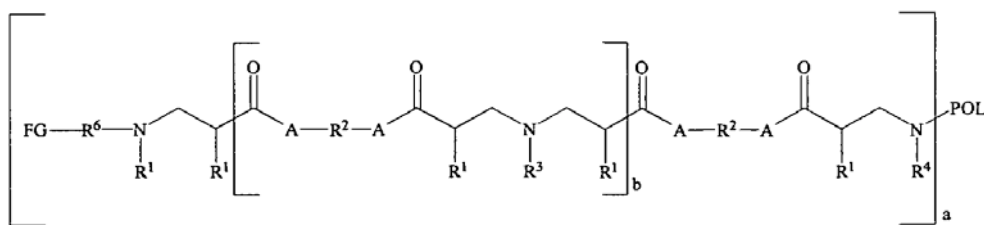
25

14. Proceso para la preparación del nanogel según la reivindicación 11, donde un polímero PA según las fórmulas generales (1) o (2) es reticulado.

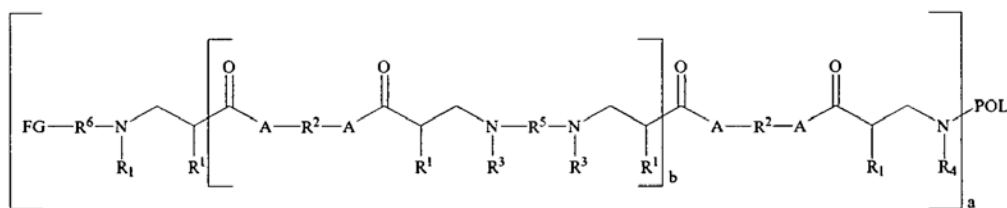
15. Proceso según la reivindicación 14, donde la reticulación se realiza por radiación UV.

30

16. Nanopartícula de las fórmulas generales (3) y (4):



(3)



(4)

donde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ , A, POL, a y b son tal y como se define en la reivindicación 1;  
 $R^6$  es seleccionado del grupo que consiste en:

(a) Alquileno  $C_1 - C_{40}$ , donde el grupo alquileno puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno o varios heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde el grupo alquileno se interrumpe por uno o varios grupos -S-S-; o

(b) Cicloalquileno  $C_3 - C_{40}$ , donde el grupo cicloalquileno es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno o varios heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S, y/o donde el grupo cicloalquileno se interrumpe por uno o varios grupos S-S- fuera del anillo; y

FG es un grupo funcional que se selecciona del grupo que consiste en -OH, -OR<sup>7</sup>, -NH<sub>2</sub>, -NH(R<sup>7</sup>), -N(R<sup>7</sup>)<sub>2</sub>, -C(O)OR<sup>7</sup>, -C(O)R<sup>7</sup>, -C(O)NHR<sup>7</sup> y -C(O)NR<sup>7</sup><sub>2</sub> donde R<sup>7</sup> es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a") H;

(b") alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(c") cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno, dos o tres heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(d") arilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arilo es opcionalmente sustituido;

(e") Heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarilo es opcionalmente sustituido;

(f") alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilarilo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo de alquilaril es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S; y

(g") alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarilo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S.

17. Proceso para la preparación de una nanopartícula que comprende el paso de reaccionar un polímero PA según fórmulas generales (1) o (2) con un reactivo según las fórmulas (26a) o (26b):



donde  $R^6$  y FG son tal y como se define en la reivindicación 16, FG es opcionalmente H, y  $R^{30}$  es independientemente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) H;

(b) alquilo  $C_1 - C_{10}$ , donde el grupo alquilo puede ser lineal o ramificado y es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o es opcionalmente interrumpido por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(c) cicloalquilo  $C_3 - C_{12}$ , donde el grupo cicloalquilo es opcionalmente sustituido y/o es opcionalmente (parcialmente) insaturado y/o opcionalmente comprende uno, dos o tres heteroátomos en el anillo, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S;

(d) arilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo arilo es opcionalmente sustituido;

(e) heteroarilo  $C_6 - C_{12}$ , donde el grupo heteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo heteroarilo es opcionalmente sustituido;

(f) alquilarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilarilo es opcionalmente sustituido y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S; y

(g) alquilheteroarilo  $C_7 - C_{14}$ , donde el grupo alquilheteroarilo comprende uno, dos o tres heteroátomos independientemente seleccionados de O, N y S y/o donde el grupo alquilheteroarilo es opcionalmente sustituido, y/o donde una parte de alquilo del grupo alquilheteroarilo es lineal o ramificada y es opcionalmente (parcialmente) insaturada y/o es opcionalmente interrumpida por uno, dos o tres heteroátomos, donde los heteroátomos se seleccionan independientemente de O, N y S.

18. Nanogel de superficie modificada obtenible por un proceso que incluye las etapas de:

(1) reticular un polímero PA según las fórmulas generales (1) o (2);

(2) opcionalmente cargar el nanogel con un componente biológicamente activo, preferiblemente seleccionado del grupo de ARN (en particular ARNsi) o derivados o fragmentos del mismo, ADN o derivados o fragmentos del mismo, (oligo)péptidos y derivados de los mismos, y proteínas y derivados de las mismas; y

(3) reaccionar el nanogel con un reactivo R-CFG o R'-SH, donde:

R y R' son seleccionados del grupo que consiste en 2-tioetilo, 2-hidroxietilo, residuos de PEG (polietilenoóxido) y residuos de PPO (polipropilenoóxido), donde los residuos de PEG y los residuos de PPO tienen un peso molecular promedio en número  $M_n$  de aproximadamente 500 a aproximadamente 10.000;

CFG es un grupo capaz de formar un enlace covalente con un grupo FG, donde FG es tal y como se define en la reivindicación 16; y

donde la secuencia de los pasos (1), (2) y (3) es: (1) - (2) - (3), (1) - (3) - (2), o (3) - (1) - (2).

Fig 1

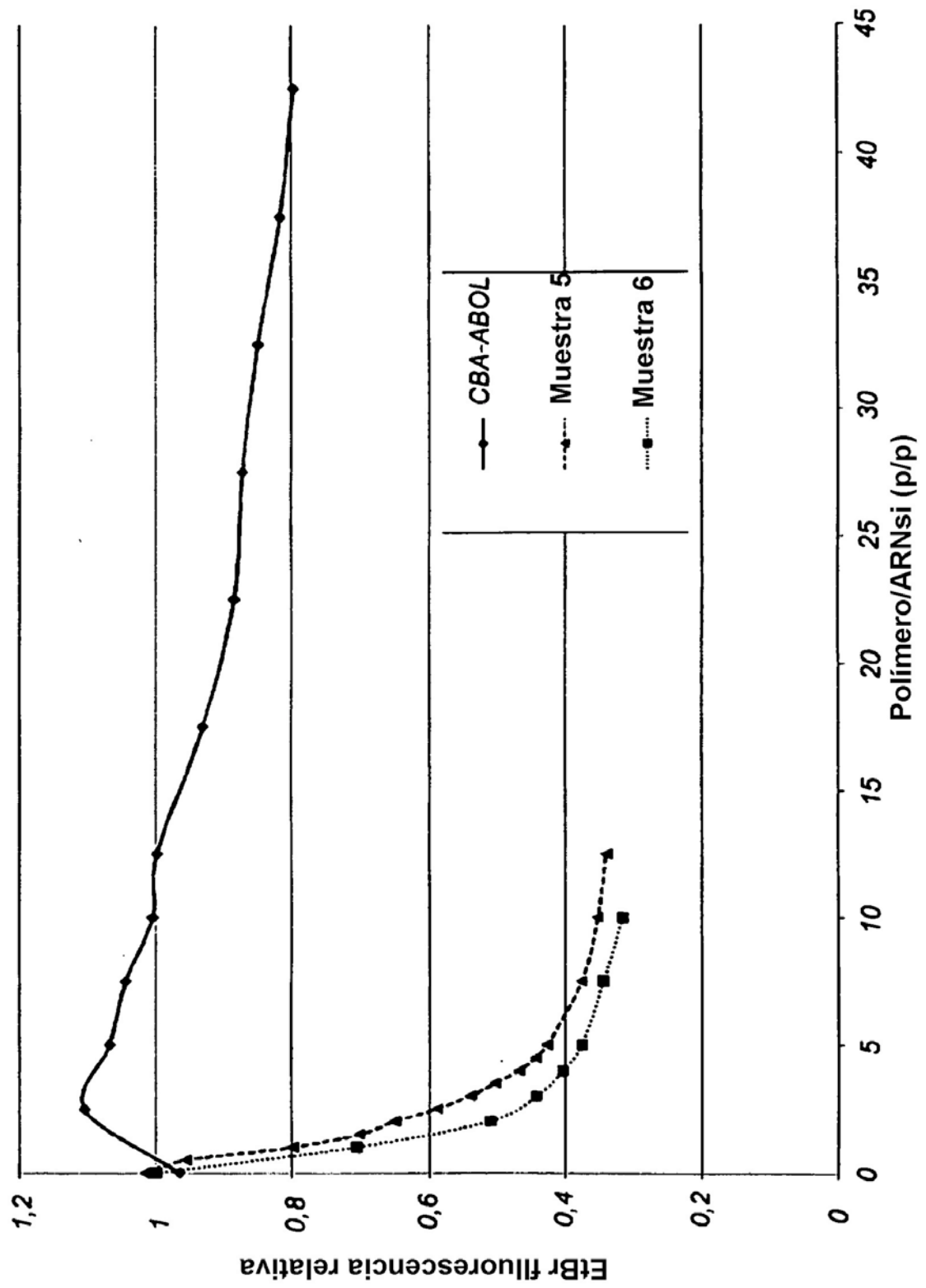


Fig 2

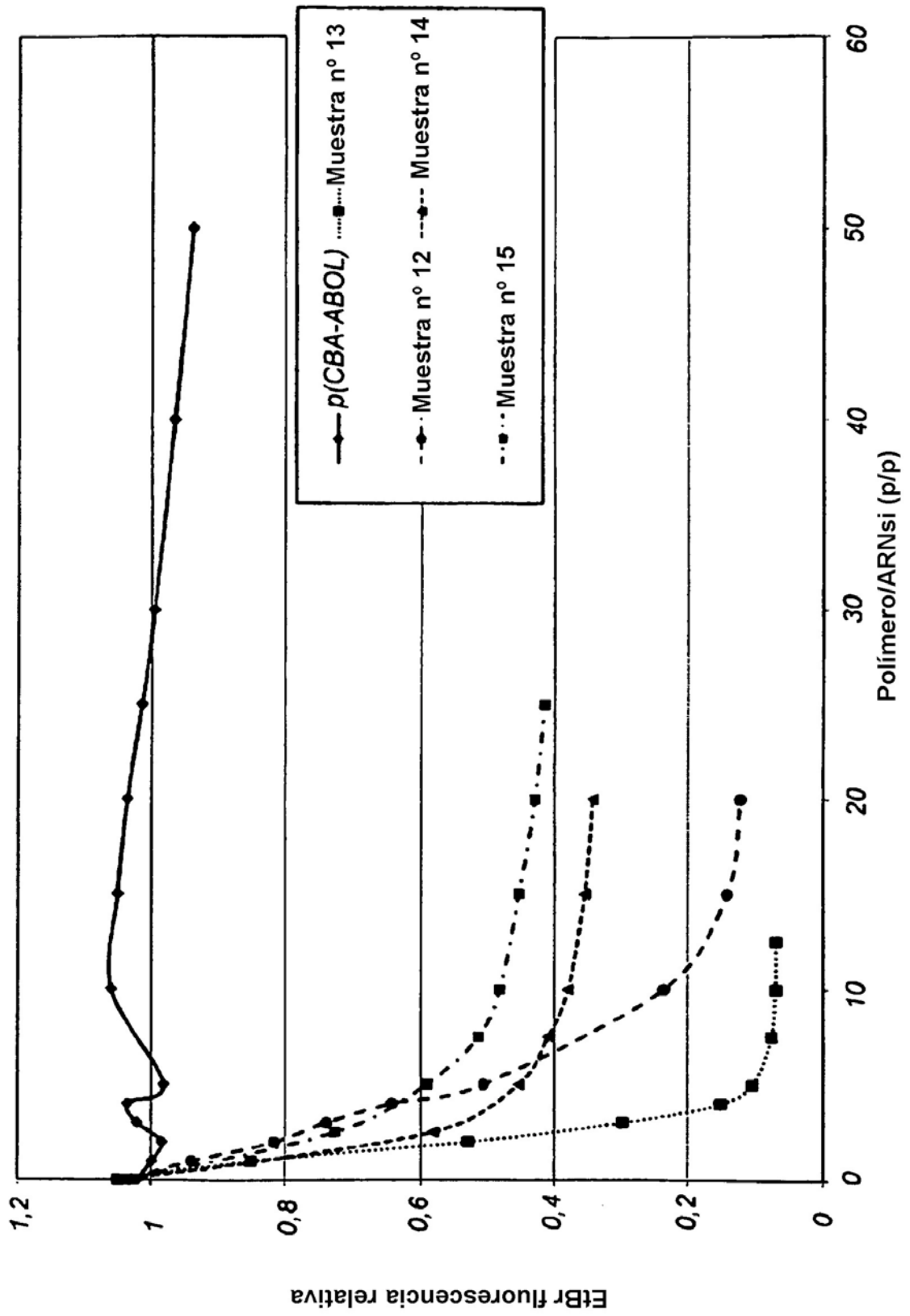


Fig 3

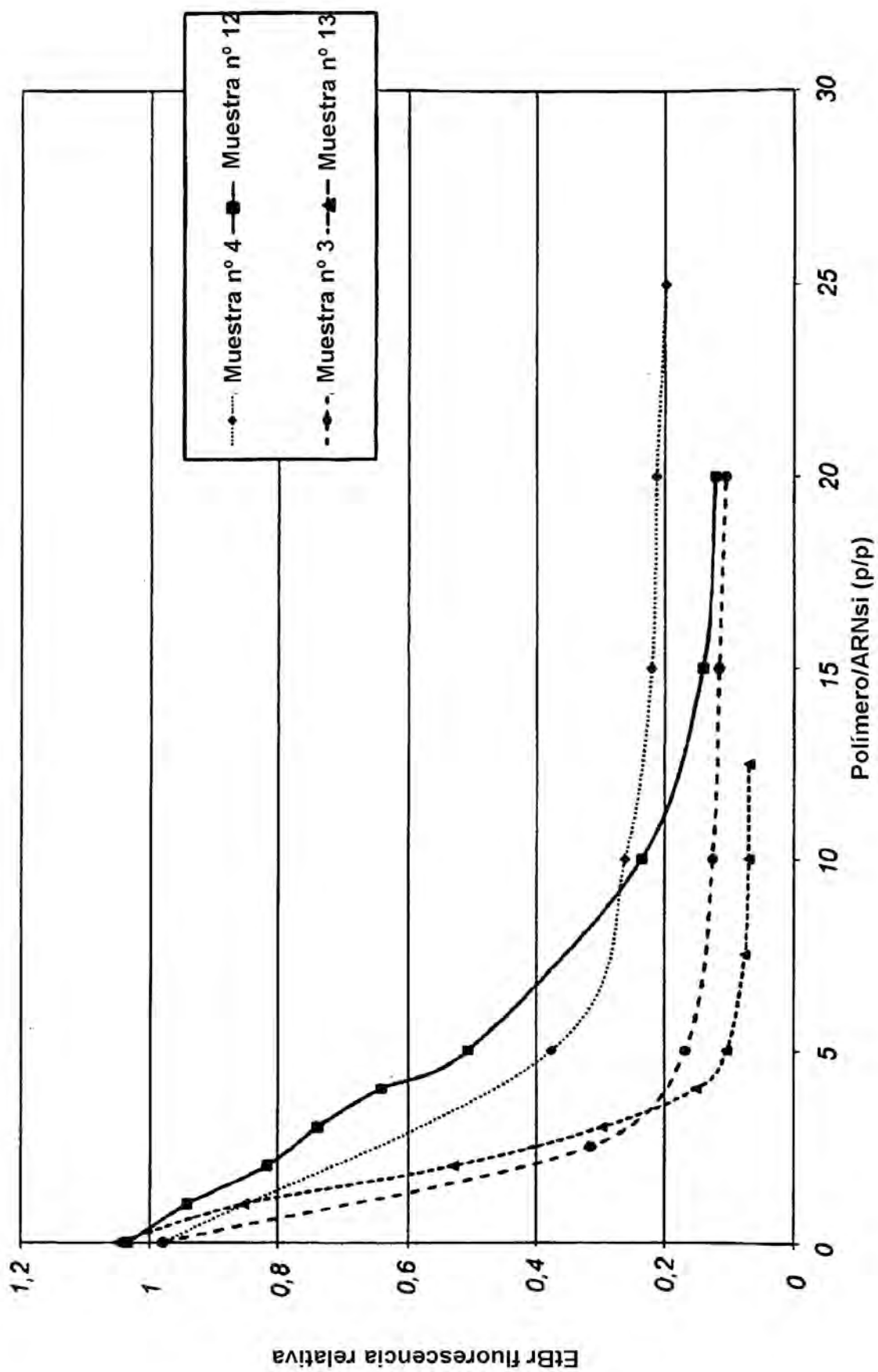


Fig 4

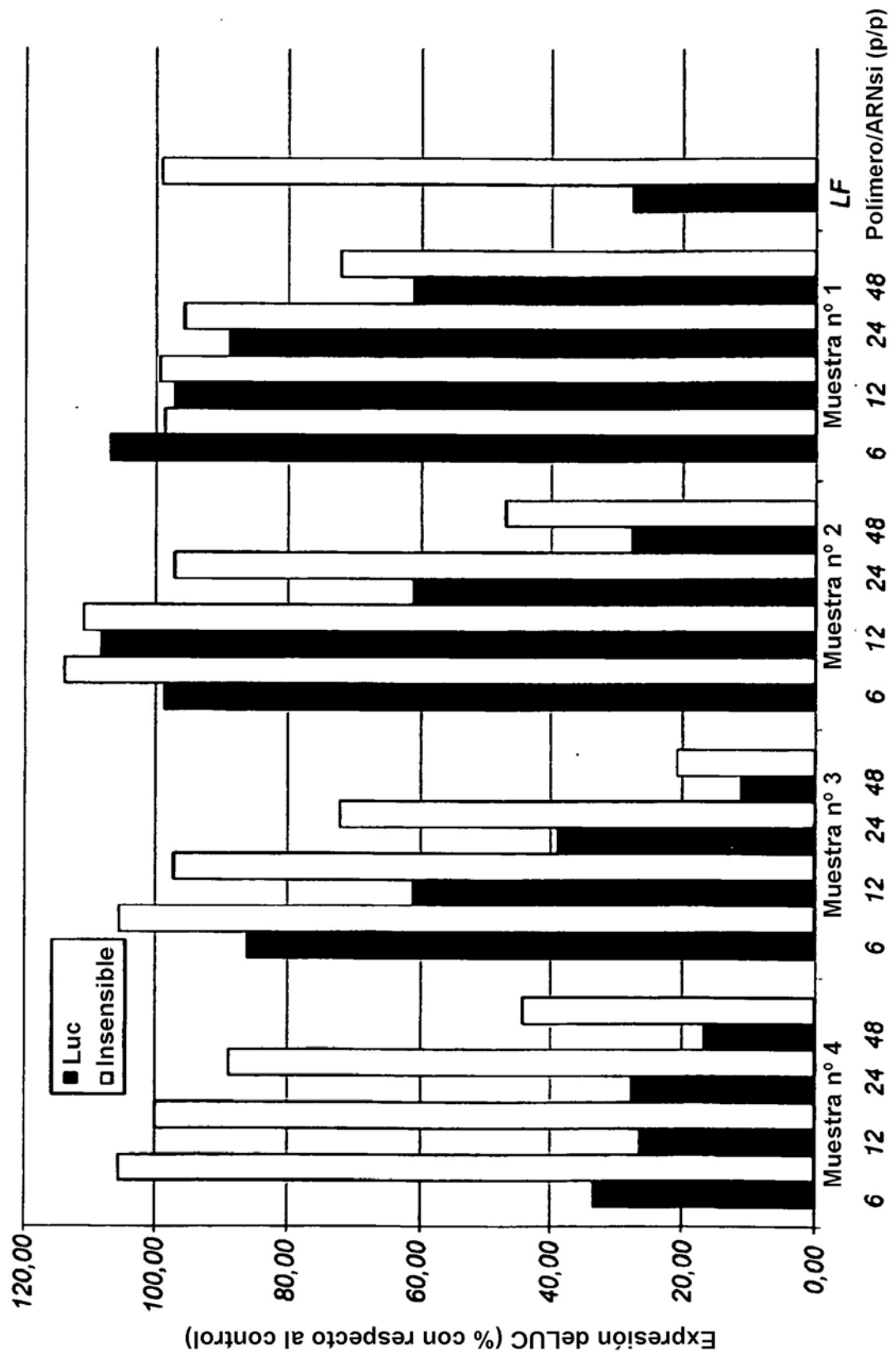


Fig 5

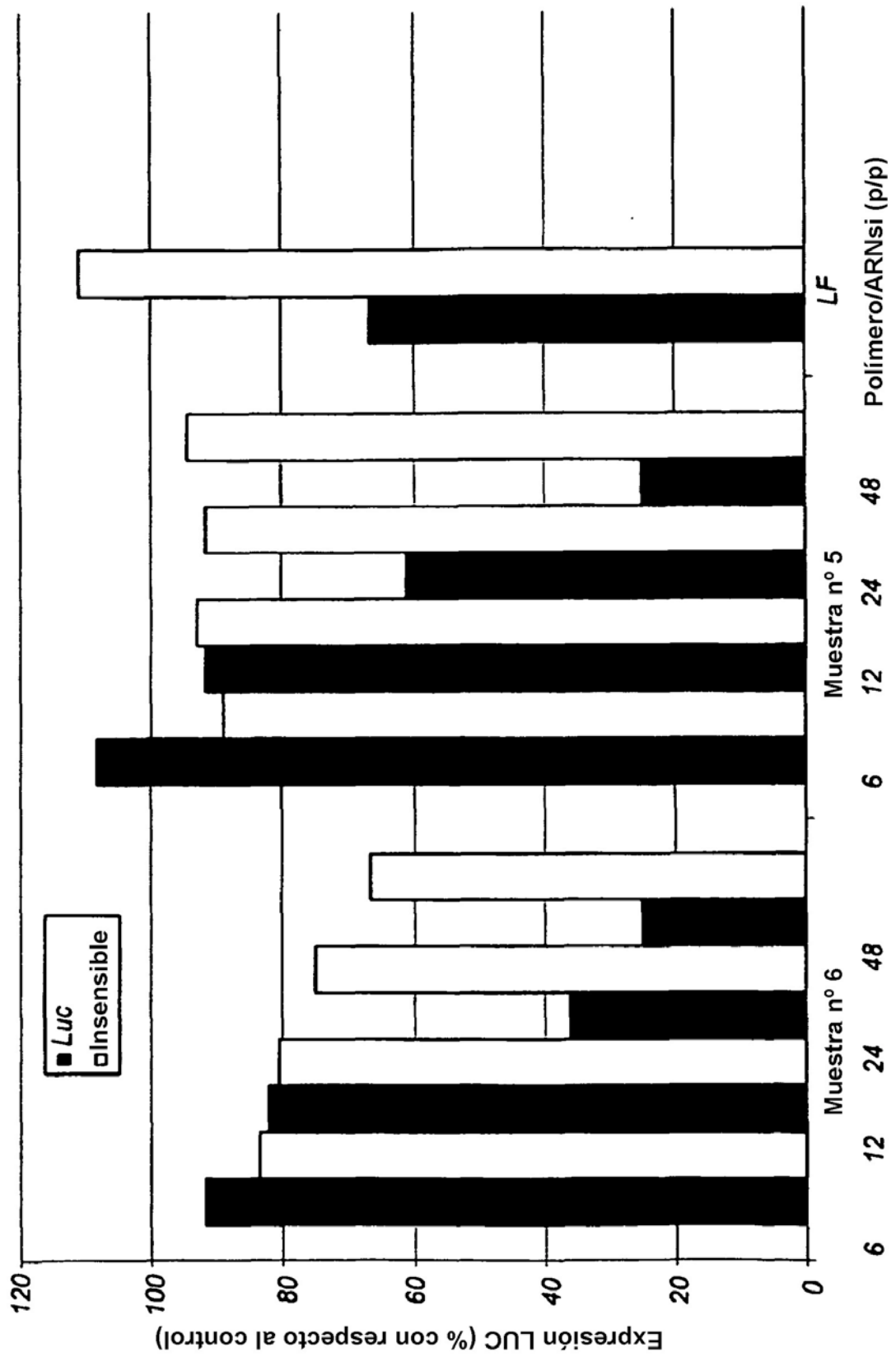


Fig 6

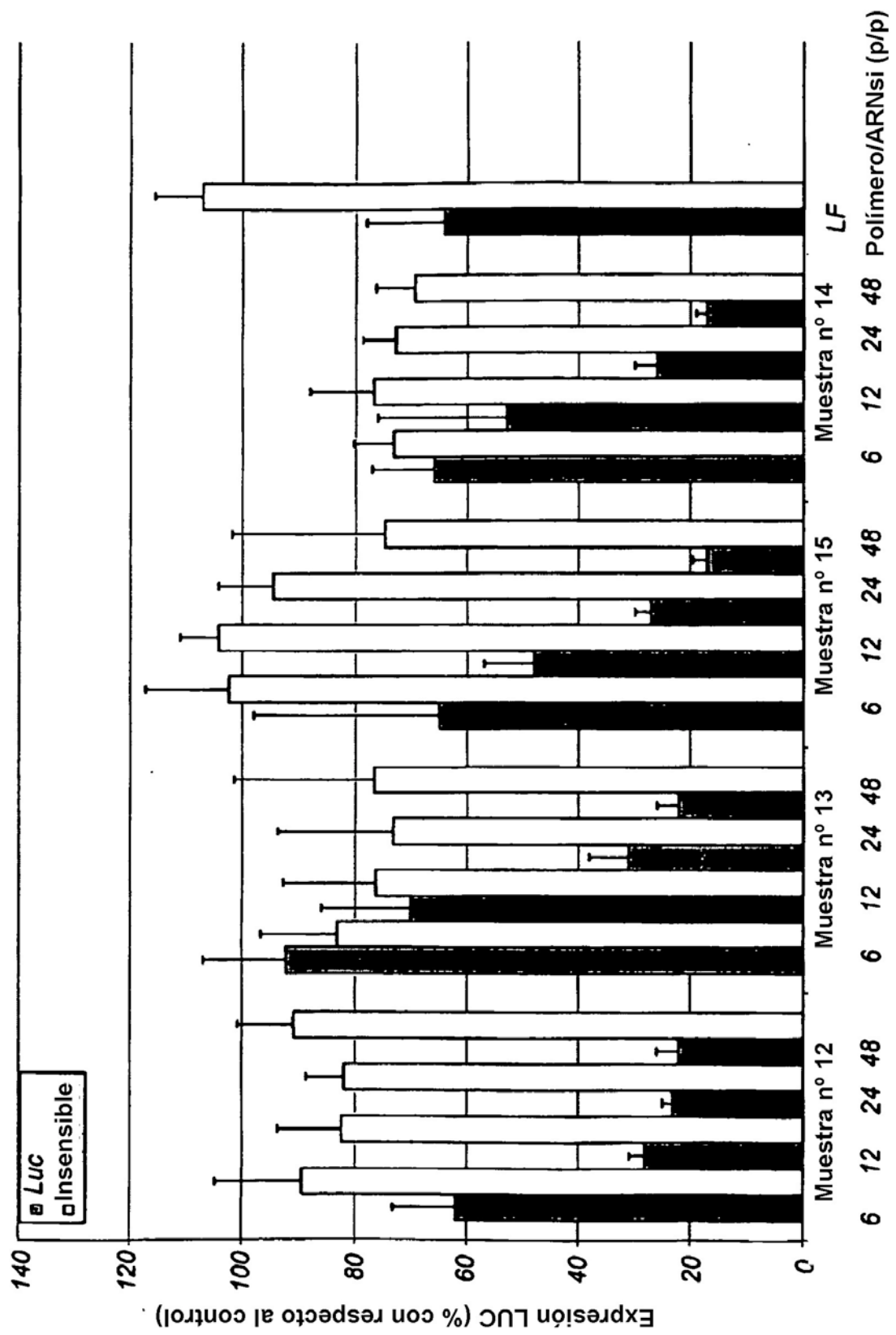


Fig 7

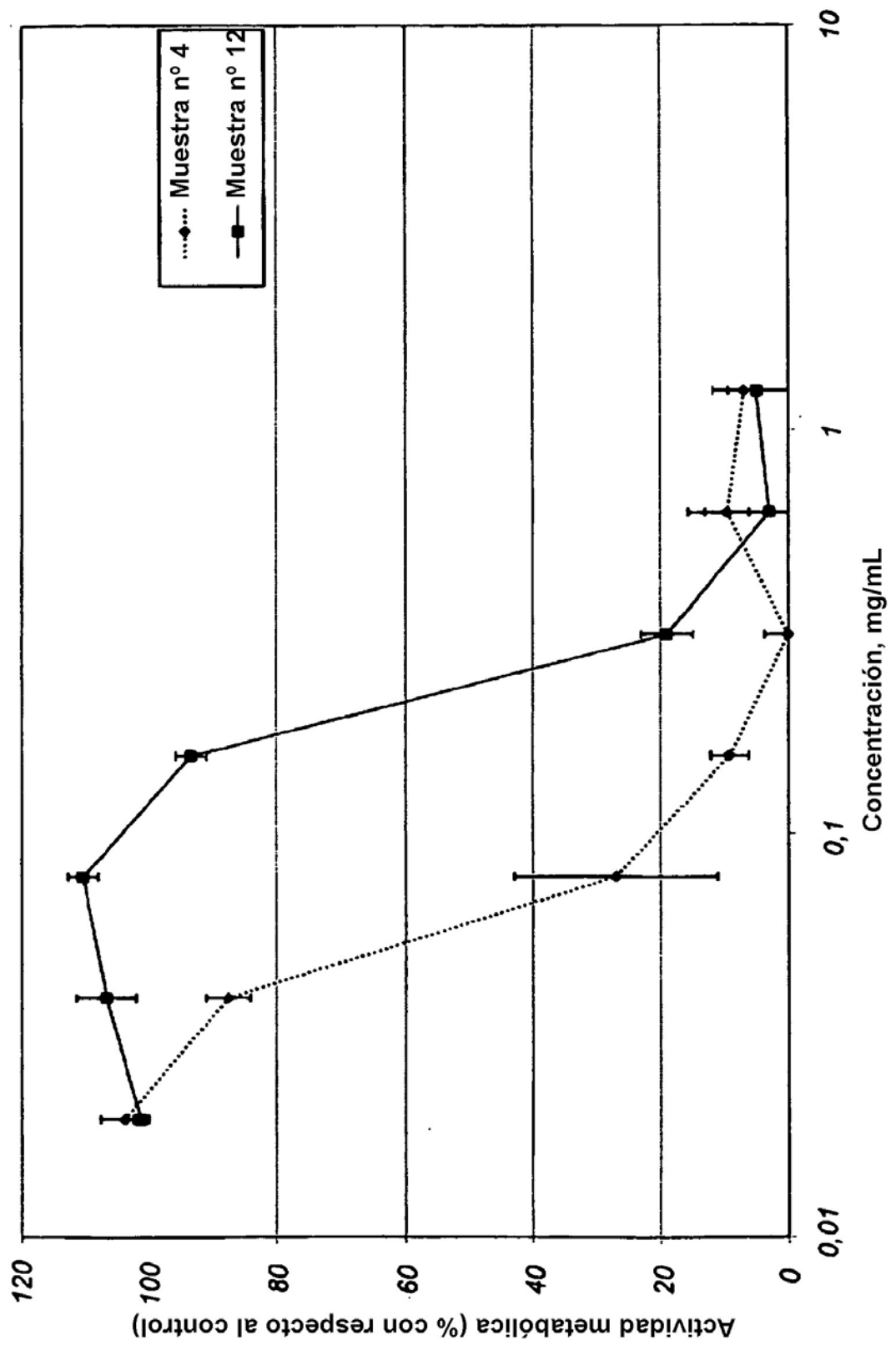


Fig 8

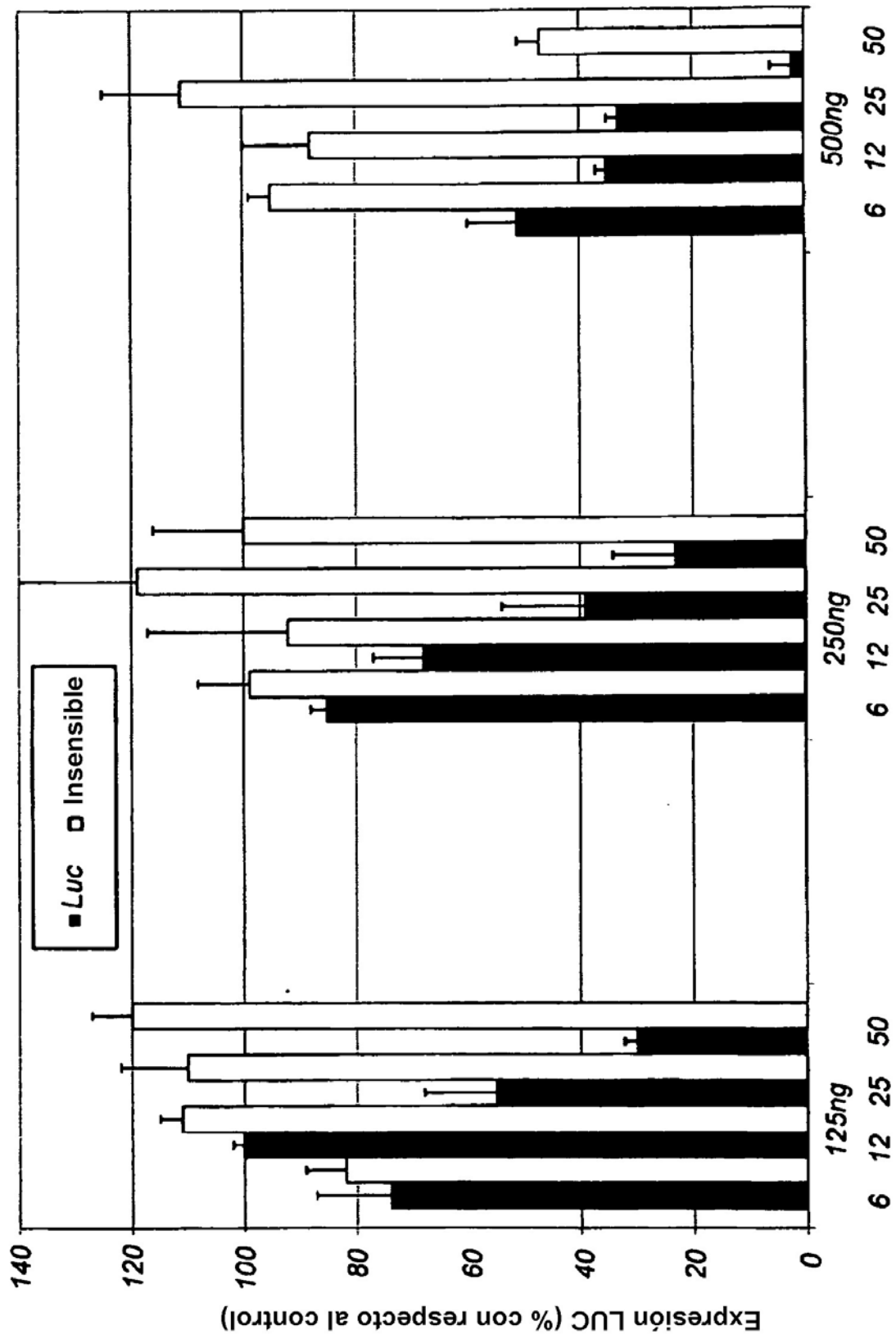
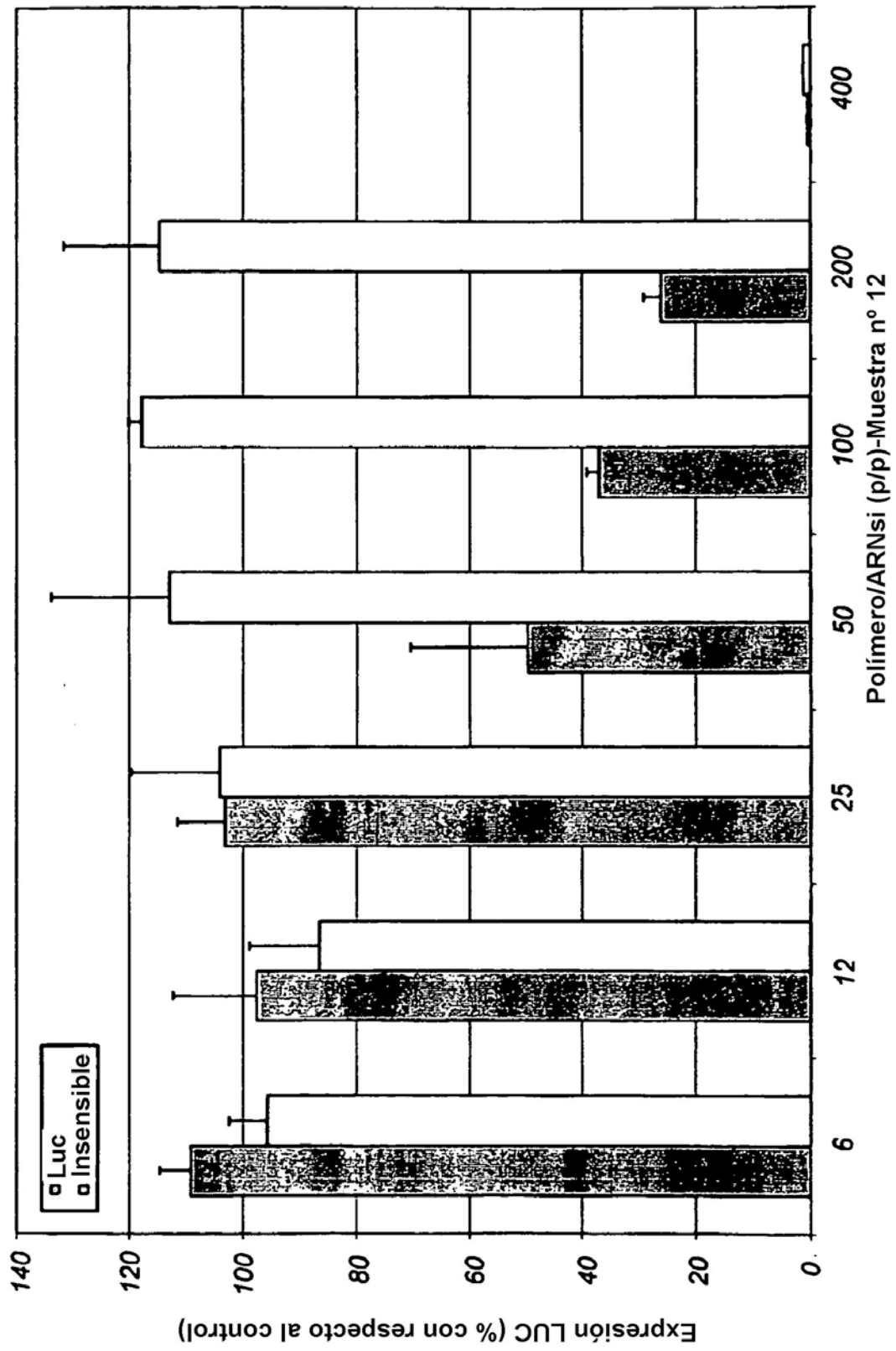
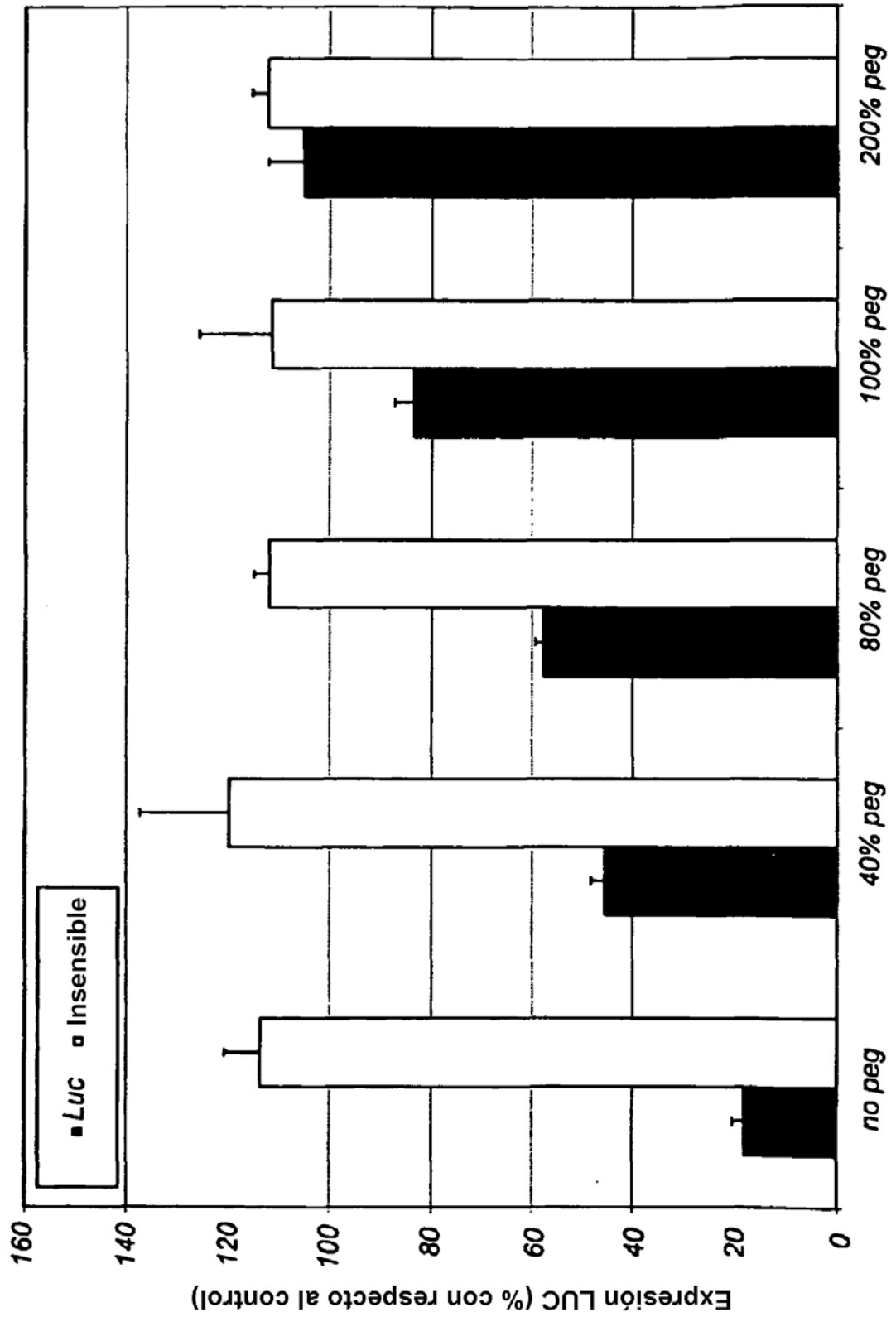


Fig 9



**Fig 10**

**Fig 11**

