

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 586 029**

51 Int. Cl.:

**A61L 27/20** (2006.01)

**A61L 27/50** (2006.01)

**A61L 31/04** (2006.01)

**A61L 31/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.11.2008 E 08855592 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2016 EP 2211907**

54 Título: **Composiciones de carboximetilcelulosa-polietilenglicol para usos médicos**

30 Prioridad:

**28.11.2007 US 998048**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**11.10.2016**

73 Titular/es:

**FZIOMED, INC. (100.0%)  
231 Bonetti Drive  
San Luis Obispo, CA 93401, US**

72 Inventor/es:

**FALCONE, SAMUEL J. y  
BERG, RICHARD A.**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 586 029 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**

Composiciones de carboximetilcelulosa-polietilenglicol para usos médicos

Reivindicación de prioridad

5 La presente solicitud reivindica prioridad sobre la Solicitud de patente de utilidad Estadounidense N°: 11/998,048, con el título: "Composiciones de carboximetilcelulosa-polietilenglicol para usos médicos", inventores Samuel J. Falcone y Richard A. Berg, presentada el 28 de noviembre de 2007.

Área de la invención

10 La presente invención hace referencia a composiciones que comprenden carboxipolisacáridos (CPS) derivados, y en particular, carboximetilcelulosa (CMC). Específicamente, esta invención hace referencia a una CMC derivada con polietilenglicoles (PEGs) para formar un éster de PEG ligado a CMC bajo catálisis básica, y usos del mismo como composiciones para el relleno de espacios, composiciones para soportar cargas, lubricantes, para composiciones anti-adhesión y para rellenos dérmicos.

Antecedentes de la invención

15 La carboximetilcelulosa (CMC) es un polisacárido soluble en agua, biocompatible y bio-reabsorbible semi-sintetizado. La seguridad de la CMC comercialmente disponible con una alta pureza ha sido identificada y aprobada por el Organismo para el Control de alimentos y medicamentos (Food and Drug Administration, FDA por sus siglas en inglés), para su incorporación en muchos productos. La CMC es capaz de reaccionar con diversos polímeros mediante interacción electrostática, reticulación iónica, enlaces de hidrógeno, interacciones de fuerzas de Van der Waals, e interpenetración física. Debido a su seguridad, conveniencia y diversidad de propiedades físico-químicas, 20 la CMC ha demostrado tener aplicaciones en las industrias farmacéutica, alimenticia y cosmética.

25 La CMC es un tipo de carboxipolisacárido (CPS). Los CPS también se han utilizado en la fabricación de polímeros implantables. Los CPS son polímeros realizados con monómeros sacáridos en los que algunos de los grupos hidroxilo (-OH) son reemplazados con grupos carboxilo (-COOH o -COO-). Por tanto, los CPS tales como la CMC presentan algunos grupos hidroxilo y algunos grupos carboxilo. La carboxilación puede permitir la interacción iónica dentro de una cadena polimérica o puede permitir la interacción entre cadenas poliméricas, formando de ese modo un gel. Dichos geles se han utilizado para una diversidad de aplicaciones, incluyendo polímeros médicos implantables.

30 El documento D1 (Voigts, US 2007/0184087) revela una composición de esta clase y un método para la preparación de un material para el aumento de tejidos. Se prepara una composición de gel de polisacáridos con una reología programable para una aplicación seleccionada en particular. El método incluye la preparación de un polisacárido polimérico en un tampón para crear una solución o gel de polímeros, suspendiendo partículas en el gel y seleccionando un perfil de reología para la región de tejido deseada.

El documento D2 (Luo U.S. 2006/142478) revela una red polimérica de carboxialquil celulosa súper absorbente, insoluble en agua, y que aumenta su volumen con el agua.

35 El documento D5 (Yang, US 2003/0094719) revela polisacáridos biocompatibles insolubles en agua que pueden realizarse en forma de gel, película, estructura porosa, lámina, fibra o esfera, y que pueden ser utilizados en el área médica. El polisacárido que contiene hidroxilo se reticula con un compuesto epoxi polifuncional. La relación molecular equivalente del compuesto epoxi polifuncional con respecto al polisacárido que contiene hidroxilo se encuentra en un rango de 0,1 a 8,0.

40 Resumen de la invención

45 Aspectos de esta invención se basan en la comprensión, anteriormente desconocida, de que los materiales poliméricos implantables anteriores mostraban propiedades no deseables dependiendo del tejido en el que se implantaron. Por ejemplo, en tejidos que presentan una elasticidad inherente elevada, colocar un polímero relativamente inelástico puede dar como resultado esfuerzos el tejido y puede conducir al daño y el deterioro tisular. Por tanto, se observó que hacer coincidir las elasticidades de los tejidos y de los polímeros implantables colocados cerca de o dentro de dichos tejidos, puede mejorar la biocompatibilidad del material polimérico.

Otros aspectos de esta invención se basan en la nueva noción de que las composiciones anteriores que contienen CMC u otros carboxipolisacáridos (CPS) no permiten la fabricación de polímeros implantables que tengan un rango de elasticidad lo suficientemente controlable o amplio y presenten una biocompatibilidad mejorada.

Por tanto, se desarrollan composiciones y métodos para la fabricación de estas composiciones según se define en las reivindicaciones independientes 1 y 7. Estas composiciones contienen CPS, decorados con o reticulados con poli(etilen)glicoles bi- o multi-funcionales (PEGs). En general, los PEG de utilidad en las composiciones de esta invención tendrán una fracción de éter glicidílico. La fracción de éter glicidílico es un epóxido, que puede formar enlaces covalentes con otro grupo reactivo a través de una reacción por adición, sin formación de subproductos tóxicos. Tales PEGs se denominan en la presente patente "PEG-epóxidos". Los PEG-epóxidos pueden tener una fracción de epóxido, dos fracciones de epóxido ("éter diglicidílico de PEG; PLEGDGE") o puede tener tres o más fracciones de epóxido ("PEG con múltiples ramificaciones" o "PEG de múltiples brazos"). Los PEG con múltiples ramificaciones son PEGs en los que los átomos de carbono de su cadena tienen una fracción epóxido. Los PEG multi-brazos son PEGs en los que diversas cadenas poliméricas de PEG están unidas entre sí a través de una fracción "eje", en donde las cadenas de PEG tienen una o más fracciones epóxido. Puede apreciarse que los PEG con una o más fracciones de éter glicidílico pueden utilizarse para fabricar composiciones en las cuales los PEG han aumentado el número de fracciones de reticulación.

En una serie de realizaciones, un PEG bi-funcional, éter diglicidílico de PEG (PEGDGE), puede hacerse reaccionar con CPS bajo catálisis básica para formar composiciones con reticulación entre cadenas poliméricas de CPS.

De acuerdo a un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición de PEG/CMC implantable biológicamente compatible, que comprende:

una carboximetilcelulosa (CMC); y

un polietilenglicol (PEG) con una fracción epóxido, dicho PEG ligado a dicha CMC a través de una reacción por adición catalizada por una base, utilizando  $\text{NH}_4\text{OH}$ , de dicha fracción epóxido a una fracción carboxilo o hidroxilo de dicha CMC, en donde la relación de unidades de repetición de CMC (CMAG) con respecto a las unidades de epóxido se encuentra en el rango de 0,5 a 30.

De acuerdo con un segundo aspecto, la presente invención proporciona un método para la fabricación de una composición de PEG/CMC, que comprende las etapas de:

seleccionar una CMC;

seleccionar un éter diglicidílico de polietilenglicol (PEGDGE);

mezclar dicha CMC y dicho PEGDGE en solución acuosa bajo condiciones de catálisis básica utilizando  $\text{NH}_4\text{OH}$ ;

en donde la relación de las unidades de repetición de CMC (CMAG) con respecto a las unidades de epóxido se encuentra en el rango de 0,5 a 30,

permitir que se forme dicha composición de PEG/CMC; y

aislar dicha composición de PEG/CMC

De acuerdo a un tercer aspecto, la presente invención proporciona una composición de PEG/CMC según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en aplicaciones médicas.

Puede apreciarse que los PEGs multifuncionales (por ejemplo, PEGs bi-funcionales o PEGDGE; pueden utilizarse PEGs multi-cadena o multi-ramificación para formar composiciones que tienen CPS reticulados con PEG dentro de la cadena o entre cadenas mediante enlaces covalentes.

En algunas realizaciones, un PEG-epóxido puede formar un enlace covalente con un grupo hidroxilo del CPS formando por tanto un enlace éter. En otras realizaciones, un PEG-epóxido puede formar un enlace covalente con un grupo carboxilo del CPS formando por tanto un enlace éster.

De acuerdo con la invención, la catálisis básica de un PEG-epóxido y CPS en presencia de hidróxido amónico ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) puede producir materiales que presentan un aumento de la elasticidad en comparación con composiciones del arte previo que contienen CPS. En algunas de estas realizaciones, los materiales se caracterizan por tener enlaces éster significativos.

En incluso otras realizaciones, si una cantidad relativamente baja de un PEG-epóxido puede ser utilizada en comparación con el número de grupos funcionales (grupos hidroxilo y grupos carboxilo) en el CPS, el PEG-epóxido puede unirse a únicamente un grupo funcional, "decorando" de ese modo el monómero de CPS sin una reticulación sustancial entre las diferentes moléculas de CPS. En otras realizaciones, utilizar una cantidad mayor de PEG-

- epóxido puede dar como resultado una reticulación en el interior de la cadena o entre cadenas. Aumentar la reticulación entre cadenas puede aumentar la elasticidad del material. Por tanto, ajustando las relaciones relativas de PEG-epóxido y CPS, y ajustando las condiciones de catálisis (por ejemplo, NaOH, NH<sub>4</sub>OH o catálisis ácida), la elasticidad del material polimérico resultante puede ajustarse de forma precisa para hacerlo coincidir con la elasticidad del tejido en el que el polímero va a ser implantado.
- Aspectos adicionales incluyen el uso de PEG multi-brazos o multi-ramificaciones, que tienen múltiples fracciones epóxido en los mismos. El uso de dichos PEG multi-brazos y/o multi-ramificaciones puede proporcionar geles con más reticulación por unidad de CPS, y por lo tanto una mayor elasticidad que los materiales realizados con PEGDGE (un PEG "bi-funcional").
- Además, en otros aspectos, los geles de CMC/PEG pueden ser realizados y polimerizados in situ, sin etapas adicionales de precipitación y/o purificación. Pueden resultar de utilidad realizaciones de estos aspectos en las que se desee la facilidad en la fabricación.
- Las nuevas composiciones encuentran uso en una variedad de aplicaciones médicas y de otro tipo. Las composiciones que contienen dichos materiales de PEG-CPS ligados pueden conformarse como membranas o como geles para usos anti-adhesión, ya sea durante una cirugía primaria o para disminuir la re-adhesión durante una cirugía correctiva, ara implantes de hidrogel de largo plazo, y para reemplazo de discos. La fabricación de dichas membranas, perlas, partículas, revestimientos y geles y algunos de sus usos, ha sido descrita en las patentes estadounidenses Nos: 5,096,997, 6,017,301, 6,034,140, 6,133,325, 6,366,345, 6,869,938 y 7,192,984.
- Las composiciones de la presente invención pueden ser de utilidad para la administración de fármacos en los tejidos. Los sitios de administración de los fármacos que utilizan las composiciones de esta invención incluyen, sin limitación, piel, heridas, mucosa, órganos internos, endotelio, mesotelio, epitelio. En ciertas realizaciones, pueden utilizarse aplicaciones bucales, ópticas, nasales, intestinales, anales, vaginales que utilizan las composiciones de esta invención.
- Breve descripción de las figuras
- La presente invención será descrita con respecto a las realizaciones particulares de la misma. Otros objetos, características y ventajas de la invención resultarán obvias en referencia a la especificación y a los dibujos en los que:
- La FIG.1 es un diagrama que representa la decoración de un polímero de CMC con PEGDGE y que forma un enlace éter o bien éster.
- La FIG. 2 es un diagrama que representa reticulación entre las cadenas de polímeros de CMC con PEGDGE a través de otros dos enlaces éter de la presente invención.
- La FIG. 3 es un gráfico que representa la relación  $G''/G'$  (tan  $\delta$ ) contra la frecuencia para los complejos CMC/PEGDGE reticulados en presencia de catálisis con NaOH de la presente invención.
- La FIG. 4 es un gráfico que representa el efecto de los equivalentes a epóxido sobre la tan  $\delta$  para los complejos CMC/PEGDDE de la presente invención que presentan diferentes relaciones de CMAG/EP.
- La FIG. 5 representa espectrogramas de infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR) de los complejos CMC/PEGDGE de la presente invención, formados bajo condiciones básicas en presencia de NaOH. Las curvas A, B, C y D representan los espectros de los complejos con diferentes relaciones de CMAG/EP.
- La FIG. 6 representa un gráfico de la tan  $\delta$  contra la frecuencia de los complejos CMC\PEGDGE de la presente invención reticulados bajo condiciones de catálisis básica en presencia de NH<sub>4</sub>OH.
- La FIG. 7 representa un gráfico de espectrogramas FTIR para CMC solo (gráfico A), o CMC/PEGDGE (gráfico B). Los complejos fueron reticulados bajo catálisis básica en presencia de NH<sub>4</sub>OH, mostrando el pico (hombro) característico de los enlaces éster en el gráfico B (flecha).
- La FIG. 8 representa gráficos de la tan  $\delta$  contra la frecuencia de los complejos de CMC A y CMC/PEGDGE de la presente invención, reticulados bajo catálisis ácida y con diferentes relaciones de CMAG:EP.
- La FIG. 9 representa espectros FTIR de productos de reacción catalizados con ácido de CMC A con PEGDGE. El Gráfico A pertenece al CMC sin reaccionar y el Gráfico B al CMC A/PEGDGE que se ha hecho reacciona con ácido

acético al 1% con una relación de CMAG/EP de 3,6. El Gráfico C pertenece al CMC A/PEGDGE que se ha hecho reaccionar con ácido cítrico al 0,01% con una relación de CMAG/EP ratio de 14,3;

5 La FIG. 10 representa la  $\tan \delta$  contra la frecuencia de los complejos CMC B (gráfico A) y CMC B/PEGDGE sin reaccionar de la presente invención, reticulados bajo catálisis ácida y con una relación de CMAG/EP de 5,1:1 (gráfico B).

La FIG. 11 representa espectros FTIR de los complejos CMC y CMC/PEGDGE de la presente invención, reticulados bajo catálisis ácida y con una relación de CMAG/EP de 5,1:1.

La FIG. 12 representa un PEG-epóxido de múltiples ramificaciones de utilidad para la elaboración de composiciones de la presente invención.

10 La FIG.13 representa un PEG-epóxido de múltiples brazos de utilidad para la elaboración de composiciones de la presente invención.

La FIG. 14 representa un gráfico de la  $\tan \delta$  contra la frecuencia para dos geles, uno (gráfico A) realizado con CMC C y óxido de polietileno (PEO) y esterilizado por calor, y otro (gráfico B) realizado con CMC C y PEGDGE y posteriormente esterilizado por calor.

15 Las FIG. 15a y 15b representan dos realizaciones de la presente invención, en la que una composición de PEG/CPS se encuentra incluida en una bolsa.

La FIG. 15a representa una realización de la presente invención en la que una bolsa cilíndrica tiene una composición de PEG/CPS en la misma.

20 La FIG. 15b representa una realización de la presente invención en la que una bolsa esférica tiene una composición de PEG/CPS en la misma.

Las FIG. 16a y 16b representan vistas de vértebras con una composición de PEG/CPS en una bolsa como reemplazo para el núcleo pulposo rodeado por un anillo.

La FIG. 16a representa una vista superior de una vértebra que muestra un cuerpo vertebral, anillo y una bolsa con rellena con PEG/CPS en la misma a modo de reemplazo para el núcleo pulposo.

25 La FIG. 16b representa una vista lateral de dos vértebras adyacentes, que muestra un espacio intervertebral con una bolsa rellena con PEG/CPS a modo de reemplazo para el núcleo pulposo rodeado por un anillo.

Las FIG. 17a y 17b representan vistas de vértebras con una pluralidad de bolsas rellenas con PEG/CPS dentro de un anillo, en donde la pluralidad de bolsas es un reemplazo para el núcleo pulposo.

30 La FIG. 17a representa una vista superior de una vértebra con una pluralidad de bolsas rellenas con PEG/CPS dentro de un anillo.

La FIG. 17b representa una vista lateral de dos vértebras adyacentes, que muestra un espacio intervertebral con una pluralidad de bolsas rellenas con PEG/CPS dentro de un anillo.

35 La FIG. 18 representa una vista superior de una realización de la presente invención en la que un espacio intervertebral presenta un anillo que tiene un defecto y que muestra una pluralidad de bolsas rellenas con PEG/CPS- en el mismo, en donde una bolsa ocluye el defecto.

Descripción detallada

Definiciones

40 Las siguientes definiciones se aplican en general a las descripciones que siguen a continuación. En determinados casos, sin embargo, un término puede ser definido de forma diferente. En esos casos, se proporcionará la definición adecuada.

El término "reticulación" o "entrecruzamiento" significa el enlace covalente de dos cadenas de polisacáridos entre sí que utilizan un reactivo químico.

El término "decoración" significa el enlace covalente de un reactivo químico a una única cadena de polisacáridos.

El término "CMC" significa carboximetilcelulosa de sodio. El "CMC A" incluye Hercules CMC de grado 7H PH lote # 82666. El "CMCB" incluye Hercules de grado 9M31FPH lote # 90252. "CMC C" incluye Hercules de grado 7H PH lote # 92013.

5 El término "reticulante" o "entrecruzador" significa un agente químico utilizado en el enlace covalente de dos cadenas de polisacáridos entre sí.

El término "PEO" significa óxido de polietileno, un polímero compuesto de unidades de repetición de compuestos que contienen  $-(O-CH_2-CH_2)-$ , los PEO tienen pesos moleculares de más de 5000 kDa.

El término "Dalton" o "D" significa una unidad de masa molecular, donde un D es equivalente a la masa de un protón.

10 El término "PEG" o "polietilenglicol" significa un polímero compuesto de unidades de repetición de compuestos que contienen  $-(O-CH_2-CH_2)$  pero que tienen pesos moleculares en el rango de 200 Daltons a 5000 kDa.

El término "epóxido" significa un grupo funcional orgánico con un átomo de oxígeno enlazado a dos átomos de carbono adyacentes, que tiene la fórmula:  $-CH(O)CH_2$ . Un epóxido también se denomina en la presente patente "éter glicidílico". Un epóxido es un grupo funcional muy reactivo que puede utilizarse en las reacciones de reticulación o decorado.

15 El término "éter glicidílico" significa un grupo funcional orgánico que contiene la fracción:  $-CH(O)CH_2$ . Un ejemplo es el éter diglicidílico de polietilenglicol (PEGDGE), un reticulante utilizado en realizaciones de la presente invención. Debe apreciarse que los PEG de múltiples ramificaciones y los PEG de múltiples brazos están incluidos dentro del significado de "éter glicidílico".

20 El término "hidrogel" significa una matriz polimérica que aumenta su volumen en agua pero que no se disuelve en agua.

El término "enlace éter" significa un grupo funcional orgánico compuesto de un enlace carbono-con-oxígeno-con-carbono. Un ejemplo contiene un enlace C-O-C.

El término "enlace éster" tal como se utiliza en la presente patente, para la polimerización significa un grupo funcional orgánico compuesto de un grupo  $O=C-R$ , donde R es un polímero.

25 El término "presión transmural" significa la presión hidrostática en el interior del saco menos la presión hidrostática en el exterior del saco.

El término "leyes de Laplace" hace referencia a dos relaciones entre la presión transmural, el radio de un dispositivo de contención (por ejemplo, una "bolsa" o un "saco") y la tensión de la pared. Para una esfera, la tensión de la pared "T" = Presión "P" multiplicada por el Radio "R" o  $T=PR$ . Para un cilindro,  $T=PR/2$ .

30 El término "viscosidad" hace referencia a una propiedad, similar a la de un líquido, de un material que tiene una resistencia relativamente alta a fluir en respuesta a una fuerza aplicada. La viscosidad es una medida de la naturaleza viscosa, o similar a la de un líquido, del material.

El término "Viscosidad de almacenamiento" ( $G'/\omega$ ) = es el módulo elástico  $G'$  dividido por la frecuencia ( $\omega$ ),

El término "Viscosidad dinámica" ( $G''/\omega$ ) es el módulo de pérdida ( $G''$ ) dividido por la frecuencia ( $\omega$ ).

35 El término "viscoelástico" significa una propiedad de los materiales poliméricos que presentan propiedades tanto elásticas (similares a un sólido) como viscosas (similares a un líquido).

El término "elasticidad" significa una propiedad reológica definida como la contribución del módulo elástico,  $G'$ , a la rigidez total del material. La elasticidad incluye el porcentaje de elasticidad como un ejemplo específico.

El término "porcentaje de elasticidad" se define como un valor igual a:  $100 \cdot G' / (G' + G'')$ .

40 El término "pseudoplástico" significa una propiedad reológica de algunas soluciones poliméricas caracterizadas por una disminución de la viscosidad de la solución a las velocidades de cizallamiento en aumento.

El término "tixotropía" significa una propiedad reológica de algunas soluciones poliméricas caracterizada por una disminución dependiente del tiempo en la viscosidad de la solución a un cizallamiento constante.

El término "Espectroscopia de infrarrojos por Transformada de Fourier", "Espectroscopia FTIR" o "FTIR" significa una técnica analítica que se utiliza para detectar diversos grupos funcionales orgánicos tales como ésteres, éteres, etc. Los análisis con FTIR se basan en la absorbancia de radiación infrarroja electromagnética por parte de las moléculas (tales como los grupos funcionales).

- 5 El término "unidad de carboximetil-anhidroglucosa" o "unidad CMAG" o "CMAG" es una unidad de repetición individual de una cadena de polímeros polisacáridos.

El término "relación de CMAG/EP" significa la relación de equivalentes de CMAG con respecto a equivalentes de epóxido (EP) en la reacción de reticulación.

- 10 El término "PEG multi-brazos" hace referencia a PEGs que se forman alrededor de una molécula del núcleo, lo que permite que múltiples moléculas de PEG se enlacen de forma covalente al núcleo. Un PEG multi-brazos incluye un PEG de 4 brazos, un PEG de 6 brazos o cualquier PEG que tenga múltiples PEGs unidos a una molécula del núcleo.

- 15 El término "PEG de ramificaciones múltiples" hace referencia a un único polímero PEG que tiene fracciones epóxido en su cadena unidas al mismo. Los PEG de múltiples ramificaciones pueden estar caracterizados por tener una relación en particular de las fracciones de epóxido:óxido de etileno. Un PEG de múltiples ramificaciones completamente derivado tendrá una relación de epóxido:óxido de etileno de 2. Sin embargo, debería entenderse que los PEG de múltiples ramificaciones pueden tener relaciones de epóxido:óxido de etileno de menos de 2, y que la relación, de media, no necesita ser integral en una pluralidad de moléculas de PEG.

El término "solución tampón de fosfatos" o "PBS" significa una solución de agua que contiene un tampón de fosfato.

- 20 El término "catálisis básica" significa una reacción química que se acelera o se aumenta en presencia de una base.

El término "catálisis ácida" significa una reacción química que se acelera o se aumenta en presencia de un ácido.

El término "reticulación iónica" o "entrecruzamiento iónico" es un método de combinación de constituyentes a través de enlaces iónicos.

Descripción de realizaciones específicas

- 25 Las descripciones de realizaciones específicas pretenden ilustrar aspectos de la presente invención, y no pretende limitar el alcance de esta invención.

Composiciones de PEG/CMC

- 30 Esta invención incluye una variedad de composiciones que tienen CMC y PEG, ligados con enlaces éter o éster. Las CMC son polímeros compuestos de residuos de azúcar ligados entre sí, y cada uno de los cuales tiene un residuo de carboxilo unido a la fracción de azúcar. Existen tres (3) sitios potenciales para la carboxilación en cada residuo de azúcar de la CMC. Debido a que un residuo de carboxilo puede ser químicamente reactivo, esas localizaciones en la CMC son sitios potenciales para la derivación. Controlando el grado de sustitución ("DS" o "ds") de la CMC, el número de grupos activos en la CMC derivada puede controlarse.

- 35 La FIG. 1 representa los componentes CMC y PEG de esta invención. La parte de CMC mostrada incluye dos unidades de celobiosa (cada unidad de CMAG con un FW de 242 Daltons). Se muestra una molécula de PEGDGE con dos unidades de epóxido (una rodeada con un círculo). El PEG puede estar ligado a la unidad de CMAG bien a través de un enlace éter (parte inferior izquierda) o un enlace éster (parte inferior derecha).

La FIG. 2 representa una CMC con reticulación con PEG a través de enlaces éter. Cada extremo de la molécula de PEG se muestra enlazado a un grupo hidroxilo de moléculas CMC adyacentes.

- 40 Usos de composiciones de PEG/CMC

Las composiciones de PEG/CMC de la presente invención pueden utilizarse para uno o más de los siguientes.

(1) como materiales para el relleno de espacios, incluyendo aquellos adecuados para su implantación como composiciones para soportar carga situadas en localizaciones donde pueden tener lugar cargas de compresión, tales como por ejemplo en la médula espinal; para el aumento o reemplazo del núcleo pulposo;

(2) como vehículos para la administración de sustancias bioactivas de liberación controlada, tales como fármacos, factores de crecimiento, péptidos activos, genes, células, factores de coagulación tales como trombina, y antibióticos, hormonas incluyendo epinefrina, esteroides, agentes antiinflamatorios y similares, y vasoconstrictores tales como norepinefrina y similares;

5 (3) como vehículos para la liberación localizada de sustancias bioactivas, tales como fármacos, factores de crecimiento, péptidos activos, genes, células, factores de coagulación tales como trombina, y antibióticos, hormonas incluyendo epinefrina, esteroides, agentes antiinflamatorios y similares, y vasoconstrictores tales como norepinefrina y similares;

10 (4) como aglomerante para el acoplamiento de proteínas y la absorción de grasas tanto en las industrias de la ingeniería de tejidos como en las alimenticias.

(5) lubricación de articulaciones e instrumentos médicos;

(6) recubrimiento de tejidos y protección de tejidos de la fibrosis, neurotoxinas, mediadores inflamatorios, radicales libres y otros materiales dañinos;

(7) composiciones anti-adhesión; y

15 (8) como rellenos dérmicos;

Las propiedades de utilidad incluyen, pero no se limitan a la bioadhesión, bio-reabsorbilidad, antiadhesión, viscosidad, e interpenetración física.

Preparación de composiciones de PEG/CMC

20 Las composiciones de PEG/CMC de la presente invención pueden prepararse en forma de una o más de diversas formas, incluyendo geles, membranas, perlas, esponjas y recubrimientos.

25 La tecnología para ligar la CMC y otros CPS con PEG-epóxidos tiene un amplio potencial para los dispositivos médicos e incluye dos tipos de composiciones. Una incluye métodos para decorar CMC con PEG sin reticular las moléculas de CMC entre sí. Otra incluye métodos para reticular moléculas de CMC entre sí utilizando PEG-epóxidos. Las reacciones de CMC con PEG-epóxido es una reacción de adición y por lo tanto no produce sub-productos tóxicos conocidos. Los PEG-epóxidos sin reaccionar pueden ser hidrolizados con PEG dioles, que se sabe que son biológicamente compatibles.

30 En contraste, algunos agentes reticulantes del arte previo pueden producir productos derivados no deseados. Por ejemplo, la carbodiimida puede reticular polímeros, pero debido a que su reacción no es una simple reacción por adición, se producen habitualmente subproductos reactivos que pueden reaccionar con los tejidos para producir efectos secundarios no deseados. Tales efectos secundarios pueden causar efectos secundarios serios, especialmente en usos en los que la composición polimérica pretende permanecer en un lugar durante periodos de tiempo prolongados.

35 De forma similar, otros agentes reticulantes del arte previo pueden mostrar efectos secundarios no deseados. Por ejemplo, acrilatos tales como diacrilato, dimetacrilato, diacrilamida y dimetacrilamida todos producen subproductos reactivos, en algunos casos, subproductos sumamente tóxicos. De forma similar, las hidrazidas, tosilatos, CPS que contienen tiol (tales como AH tiolado) y reticulantes fotoactivables producen generalmente subproductos tóxicos, limitando de ese modo su biocompatibilidad.

En la presente invención, la CMC se utiliza como el CPS.

40 En comparación con CPS del arte previo, la CMC pueden ser particularmente útiles en situaciones donde se desea que el tiempo de residencia del CPS en el tejido sea aumentado. Por ejemplo, el ácido hialurónico (AH) es un CPS común presente en muchos tejidos. El AH ha sido utilizado para composiciones implantables, pero el AH puede ser degradado por enzimas de los tejidos más fácilmente que la CMC. La CMC es altamente biocompatible, con pocos, o ningunos efectos secundarios conocidos, y se tolera bien, incluso después de una prolongada exposición a los tejidos.

45 Materiales de relleno de espacios

Las composiciones de PEG/CMC de esta invención pueden resultar particularmente útiles para rellenar huecos en los tejidos que son el resultado de una enfermedad o lesión. Por ejemplo, la extracción de un tumor durante un

procedimiento quirúrgico puede dar como resultado una pérdida de volumen del tejido. En situaciones en las que la función del órgano o del tejido depende de la forma del órgano o del tejido, se pueden utilizar las composiciones de PEG/CMC de la presente invención para rellenar el hueco. De forma similar, en lesiones, tales como lesiones perforantes en las que se pierde volumen del tejido, pueden utilizarse las composiciones de PEG/CMC de la presente invención para rellenar esos huecos.

#### Materiales para soportar cargas

Adicionalmente, en situaciones en las que se pierde volumen del tejido a través de la degeneración u otras causas, pueden utilizarse las composiciones de PEG/CMC (PEG/CPS) de la presente invención para reducir los efectos adversos de tal pérdida de tejido. En determinados aspectos, pueden utilizarse composiciones de PEG/CMC de la presente invención en capacidades para el soporte de cargas. Por ejemplo, los huecos en el hueso ("huecos óseos") de un cuerpo vertebral (por ejemplo, causados por la extracción quirúrgica de un tumor o por la degeneración del núcleo de un disco vertebral) pueden dar como resultado dolor, pérdida de sensibilidad y/o pérdida de movimiento o función, debido en algunos casos, a la compresión de los nervios. Las composiciones de PEG/CMC pueden ser realizadas con diversos grados de reticulación, y en casos en los que existe un grado de reticulación elevado, las composiciones pueden soportar cargas incrementadas. Para realizar tales composiciones, la CMC puede ser utilizada con un peso molecular inferior, de manera que puedan utilizarse mayores concentraciones de CMC, lo que da como resultado más grupos éter y carboxilo disponibles para la reticulación. Además, utilizar PEG-epóxidos con pesos moleculares inferiores, PEGs multi-brazos, y/o PEGs multi-ramificaciones puede aumentar el número de reticulaciones covalentes ("densidad de reticulación") en la matriz. A medida que la densidad de reticulación aumenta, la habilidad de la matriz para soportar una carga puede aumentar. Por tanto, en ciertos aspectos, pueden utilizarse composiciones PEG/CPS con una elevada reticulación como reemplazos del núcleo o para rellenar otros huecos óseos.

En algunas de estas realizaciones, una composición de PEG/CMC (o PEG/CPS) puede colocarse en un saco o en una bolsa biocompatibles dentro del espacio intervertebral, otro hueco óseo donde el disco y/o el núcleo del disco se encontraba, o en otras zonas donde se desee situar el contenido de la composición de la presente invención. Una bolsa puede estar realizada de un polímero a base de silicona, tal como Silastic™ u otro material menos deformable tal como Mylar™ u otro material adecuado. Puede resultar deseable utilizar una bolsa que tenga la suficiente fuerza para resistir la rotura bajo las cargas que se espera colocar sobre la bolsa. Adicionalmente, debido a que tanto la composición de PEG/CPS y la tensión de la pared (bajo la ley de Laplace) pueden resistir una carga, estas realizaciones pueden utilizarse en situaciones en las que se van a soportar cargas relativamente grandes.

Por tanto, en algunas realizaciones, una bolsa biológicamente compatible (que puede tener una válvula unidireccional para permitir la introducción de material en la bolsa, pero no permitirá una pérdida no deseada de material) de un tamaño apropiado para ajustarse al interior del espacio intervertebral u a otra localización, puede ser introducida en estado desinflado. Una introducción de este modo puede minimizar el traume para los cuerpos vertebrales y el anillo. Una vez insertada en su lugar, una composición de PEG/CPS reticulada puede ser introducida en el interior de la bolsa utilizando una aguja. Una vez en la bolsa, la composición de PEG/CPS puede polimerizarse para formar una estructura para el soporte de cargas, reemplazando de este modo el núcleo perdido o dañado. En realizaciones en las que existe una evidente pérdida de hueso (por ejemplo, debido a la extracción de un tumor), una composición de PEG/CPS puede ser conformada en la forma deseada (según se determine mediante rayos x, TAC, u otro método de toma de imágenes). El reemplazo de las composiciones para soportar cargas de PEG/CPS puede implantarse generalmente quirúrgicamente. De forma alternativa, una bolsa o saco biocompatible puede ser introducida en estado desinflado según se describe anteriormente para el reemplazo del núcleo, y después rellenarse con una composición de PEG/CPS, que a continuación se deja polimerizar en forma del material para soportar cargas.

En algunas realizaciones, pueden utilizarse múltiples bolsas o sacos. En particular, en situaciones en las que han de esperarse cargas elevadas (por ejemplo, la rodilla, los tobillos u otras extremidades inferiores, o inferiores traseras), el uso de múltiples sacos pequeños puede emplearse para aprovechar el hecho de la bien sabida relación de Laplace entre la presión transmural, el radio y la tensión de la pared de un saco cerrado. Tal como se utiliza en la presente patente el término "presión transmural" significa la presión hidrostática dentro del saco menos la presión hidrostática fuera del saco. Por tanto, para una presión transmural, un saco con un radio más pequeño tendrá menor tensión en la pared situada sobre el saco. En contraste, un saco mayor tendrá una mayor tensión de la pared a la misma presión transmural debido a un radio mayor.

En base a las relaciones de Laplace (una para una esfera;  $T=PR$  y otra para un cilindro;  $T=PR/2$ ), en determinadas realizaciones de la presente invención, se puede utilizar una serie de sacos pequeños y cilíndricos, cada uno de ellos insertados en el hueco óseo y rellenos con una composición de PEG/CPS de esta invención. Puede resultar deseable alinear los ejes longitudinales de los sacos pequeños en paralelo con la carga esperada. Por tanto, durante la polimerización, los pequeños sacos pueden soportar la carga mejor que un único saco con un radio mayor.

Adicionalmente, en situaciones en las que el anillo está dañado, se puede introducir uno o más sacos en el espacio intervertebral, con uno cerca del orificio del anillo. Por tanto, cuando se rellena, el saco cerca del orificio del anillo puede sellar de forma efectiva dicho orificio y minimizar pérdidas adicionales del material intervertebral. En otras realizaciones, pueden introducirse sacos más pequeños y rellenarlos (para soportar la carga) y un saco "obturador" puede introducirse en el espacio intervertebral. Si este saco obturador se infla entonces con una composición de PEG/CPS de la presente invención, el saco puede taponar de forma efectiva el orificio en el anillo y prevenir, de ese modo, que los sacos sean extruidos.

#### Vehículos para la administración controlada de sustancias bioactivas

Las composiciones de PEG/CMC de esta invención pueden ser utilizadas para administrar fármacos, productos biológicos, nutrientes u otros agentes biológicamente activos (sustancias bioactivas) a un animal. Las composiciones de PEG/CMC pueden realizarse incorporando una sustancia bioactiva en las mismas para proporcionar una composición de liberación controlada. En general, las composiciones de PEG/CMC que tienen más reticulaciones tienden a retener las sustancias bioactivas más que las composiciones que presentan menos reticulaciones. Tal es el caso de las sustancias bioactivas que se liberan de una composición de PEG/CMC por difusión simple hacia el exterior de la matriz de PEG/CMC. En algunos casos en los que la sustancia bioactiva es grande (por ejemplo, una proteína), la sustancia bioactiva puede ser liberada mediante una combinación de difusión simple hacia el exterior de la matriz de PEG/CMC y mediante su liberación a medida que la matriz se degrada en el cuerpo.

Independientemente de qué tipo de liberación ocurra, puede apreciarse que la liberación de agentes bioactivos puede ser controlada según se desee variando la composición de la composición de PEG/CMC de la presente invención. No se pretende que el tipo de sustancia bioactiva esté limitada. En lugar de ello, cualquier sustancia cuya liberación se desee controlar puede ser administrada de forma efectiva utilizando composiciones de PEG/CMC de la presente invención.

#### Vehículos para la liberación localizada de sustancias bioactivas

En situaciones en las que se desee la liberación local de una sustancia bioactiva, una composición de PEG/CMC de la presente invención puede resultar de utilidad. Tales situaciones pueden ser aplicables durante la cicatrización de tejidos tras una cirugía, donde un trauma localizado en los tejidos produce inflamación localizada. Por tanto, una composición de PEG/CMC de la presente invención puede contener una sustancia vasoactiva para controlar el sangrado (por ejemplo, un vasoconstrictor, tal como la norepinefrina) o para estimular la hemostasia (por ejemplo, un factor de coagulación). Las composiciones de PEG/CMC de esta invención pueden además ser de utilidad para la administración localizada de agentes tóxicos en quimioterapia. Por ejemplo, después de cirugía de resección tumoral, puede desearse administrar localmente en el sitio, una composición de PEG/CMC con un agente quimioterapéutico incorporado en la misma. Tal aplicación localizada puede permitir la aplicación de concentraciones más elevadas de medicaciones anti-tumorales en el sitio necesitado, a la vez que se reducen los efectos secundarios sistémicos de la inyección intravenosa tradicional.

#### 35 Aglomerantes para el acoplamiento de proteínas

Otros usos incluyen usos más generales de proteínas, grasas y otras sustancias biológicas, ya sean bioactivas o no. Por tanto, las proteínas pueden incorporarse en las composiciones de PEG/CMC de esta invención que rellenan el espacio. Tales proteínas pueden incluir colágeno, gelatina, u otras proteínas conocidas en el arte.

#### Lubricantes

40 Las composiciones de PEG/CMC de la presente invención pueden ser lubricantes efectivos para instrumentos médicos. En situaciones en las que un instrumento médico se introduce en un cuerpo, existe una probabilidad de obtener un resultado de trauma del tejido. El trauma, incluso un trauma ligero puede causar daño tisular, y puede dar como resultado efectos no deseados. Tales efectos incluyen sangrado, inflamación, formación de adhesión o cicatrización. Recubriendo un instrumento médico con una composición de PEG/CMC de la presente invención previamente a la inserción en el cuerpo, un trauma de ese tipo puede reducirse.

La lubricación puede ser utilizada tanto para usos agudos como crónicos. De ese modo, para un procedimiento agudo, tal como un cateterismo uretral, se puede utilizar una composición de PEG/CMC de la presente invención para reducir el dolor y otras molestias, además de facilitar la inserción. Disminuyendo el trauma uretral, el uso de las composiciones de PEG/CMC de la presente invención puede disminuir los efectos secundarios tras el cateterismo, incluyendo disminución del dolor al orinar, adhesiones uretrales, y disminución de la probabilidad de infección.

Las composiciones de PEG/CMC de la presente invención pueden también ser lubricantes de tejidos efectivos. En situaciones en las que los tejidos crean un trauma en tejidos adyacentes (por ejemplo, en articulaciones), las composiciones de la presente invención pueden utilizarse para reducir la fricción y por tanto para reducir el trauma

5 localizado. Por tanto, inyectando una composición de PEG/CMC en una articulación afectada, el dolor puede reducirse. Reduciendo la fricción y el dolor, la cascada de inflamación usual puede inhibirse. Inhibiendo la inflamación, los efectos adversos secundarios de la inflamación pueden reducirse. Tales efectos adversos pueden estar mediados por macrófagos, leucocitos, mastocitos, eosinófilos, y células mononucleares entre otras, cada una de las cuales puede producir sustancias bioactivas que pueden empeorar la situación. Por ejemplo, los mastocitos contienen potentes proteasas (por ejemplo, tripsina de mastocitos y quimotripsina de mastocitos) que pueden degradar las proteínas de los tejidos normales. Adicionalmente, pueden liberarse una serie de interleucinas de neutrófilos, macrófagos y otras células inflamatorias. Las interleucinas pueden ser potentes moléculas quimioatrayentes y pueden reclutar otras células inflamatorias localmente al área, y pueden por tanto continuar los efectos secundarios adversos del trauma en los tejidos. Finalmente, el trauma en tejidos puede activar nervios que contienen neuropéptidos (por ejemplo, fibras c), que se sabe contienen la sustancia P, que es un potente estímulo de las vías del dolor. Además de causar dolor, la sustancia P es un potente quimioatrayente y estimulador de los mastocitos.

15 En determinadas realizaciones, las composiciones de PEG/PCS de la presente invención pueden utilizarse para lubricar articulaciones, tales como las que se encuentran en la espina dorsal. En particular, las composiciones de PEG/CPS pueden utilizarse para lubricar articulaciones facetarias entre apófisis espinosas laterales adyacentes. De forma similar, las composiciones de esta invención son de utilidad como lubricantes para otras articulaciones, incluyendo la rodilla, hombro, codos, muñecas, tobillos y caderas.

#### Recubrimiento de tejidos: Composiciones anti-adhesión

20 Las composiciones de PEG/CMC de la presente invención tienen una amplia aplicabilidad como agentes de recubrimiento de tejidos. Las composiciones de PEG/CMC pueden ser utilizadas como preparaciones anti-adhesión. Las adhesiones son uniones no deseadas de un tejido con un tejido adyacente. Las adhesiones ocurren habitualmente después de una cirugía en la que los tejidos se dañan como resultado de la propia cirugía. Por tanto, las composiciones de PEG/CMC de esta invención pueden ser utilizadas de forma efectiva para proporcionar una barrera física entre los tejidos que de otro modo tenderían a adherirse entre sí. Las composiciones de PEG/CMC pueden ser membranas, geles o esponjas. Muchos usos anti-adhesión se describen en las Patentes estadounidenses con Nos. de publicación: 5,096,997, 6,017,301, 6,034,140, 6,133,325, 6,566,345, 6,869,938 y 7,192,984.

#### Agentes de relleno dérmico

30 El aumento de la piel puede ser un factor importante en la recuperación de una lesión o para propósitos cosméticos. Por ejemplo, con un envejecimiento normal, la piel puede volverse laxa o pueden formarse arrugas, tales como los pliegues nasolabiales. En la cara, las arrugas o líneas pueden afectar de forma adversa a la autoestima de una persona o incluso a su carrera profesional. Por tanto, existe la necesidad de composiciones y métodos que puedan reducir la apariencia de arrugas o líneas.

35 Además, existen situaciones en las que la pérdida de tejido puede dejar una cavidad en la piel. Por ejemplo, la extracción quirúrgica de un quiste dérmico, una lipoatrofia o la extracción de un tumor sólido puede tener como resultado la pérdida de volumen del tejido. En otros casos, las lesiones, tales como las heridas de arma de fuego, heridas por apuñalamiento, u otras lesiones perforantes pueden dejar una cavidad en la piel. Independientemente de la causa, puede resultar deseable proporcionar un agente de relleno dérmico que pueda incrementar el volumen de un tejido para proporcionar una apariencia más tersa y regular.

40 Se encuentran disponibles diversas composiciones para tales propósitos. El colágeno se utiliza a menudo como material inyectable para el aumento de tejidos blandos. Adicionalmente, numerosos materiales distintos, incluyendo proteínas, grasas, ácido hialurónico (AH), polialcoholes y otros polímeros se han utilizado como rellenos dérmicos inyectables. Sin embargo, los polímeros hidrofílicos no reticulados tales como colágeno, gelatina y AH no han mostrado un buen rendimiento y deben ser reticulados de forma covalente para permanecer en su lugar y resultar efectivos. Un ejemplo de ello es el ZYDERM®, que es un colágeno bovino no reticulado, no resultó efectivo como relleno dérmico a menos que se reticulara en primer lugar con glutaraldehído, para convertirlo en ZYPLAST®. De forma similar, el AH no ha sido lo suficientemente efectivo como material de relleno de espacios cuando se inyecta o se implanta en el cuerpo, a menos que sea reticulado en primer lugar.

50 Las composiciones de CMC y CMC modificada presentan propiedades únicas que permiten que tales composiciones sean inyectadas en la piel para rellenar espacios y proporcionar soporte cuando se desee ese soporte. Un ejemplo para un soporte necesario es el aumento dérmico en la cara cuando el volumen dérmico y subdérmico se pierde debido al envejecimiento. La CMC tiene la propiedad única de ser un gel elástico con propiedades físicas únicas tales como características dinámicas, plásticas y características de viscosidad de cizallamiento cero, adhesividad de tejidos, cohesión y características de flujo. Además, puede lograr estas propiedades sin el requerimiento de una reticulación covalente. La CMC es particularmente única ya que las modificaciones químicas de la CMC expanden el número de propiedades físicas que la convierten en un polímero inyectable ideal para el tratamiento en humanos.

Por ejemplo, el cambio del grado de sustitución tiene un efecto espectacular en la tixotropía y en la viscosidad del gel. Sus propiedades de biocompatibilidad y viscoelásticas lo convierten en excepcionalmente útil para ser inyectado en la piel humana donde se convierte en un polímero biocompatible para el relleno de espacios.

5 Otros polímeros sometidos a ensayo para determinar su capacidad para actuar como geles de relleno de espacios, son polisacáridos que han sido utilizados para el relleno de tejidos blandos que son inferiores a la CMC. Por ejemplo, el AH debe ser reticulado para causar que funcione como un gel elástico. La reticulación limita su capacidad para ser inyectado a través de agujas de calibre reducido, ya que la reticulación convierte el AH en partículas. Por ejemplo, RESTYLANE® es un producto que consiste en AH reticulado en una solución compatible.

10 Las proteínas utilizadas para el aumento dérmico, tales como colágeno, además deben ser reticuladas para tener un buen rendimiento como rellenos dérmicos. Por ejemplo, ZYPLAST® es un agente de relleno dérmico de colágeno bovino reticulado.

15 La CMC puede ser un soporte para material adicional para la piel, incluyendo polímeros de hidrogel tales como PEO y emulsiones. La CMC puede ser utilizada para administrar fármacos a la piel, tales como antioxidantes, retinol, vitaminas y factores de crecimiento. La reticulación covalente de polímeros los convierte en partículas que reducen su habilidad para administrar polímeros, liposomas, emulsiones y otras partículas adicionales.

20 Se han sometido a ensayo numerosas sustancias a lo largo de los años para el aumento de tejidos blandos en la dermis de la cara, para mejorar la cosmética rellenando hendiduras en la piel (Klein y Elson, The History of Substances for Soft Tissue Augmentation, Dermatological Surgery 26:1096-1105, 2000). Esta es un área que continúa en estudio ya que no ha habido un producto o material claramente superior (Hotta, Dermal Fillers: The Next Generation, Plastic Surgical Nursing 24(1):14-19, 2004). Estos agentes de relleno se preparan a partir de diversos polímeros incluyendo colágeno bovino, colágeno porcino, pollo o AH fermentado por bacterias, gelatina, todos los cuales están reticulados de forma covalente para reducir su tiempo de disolución o las reacciones inmunológicas. Los agentes de relleno incluyen colágeno humano autólogo (colágeno reticulado del paciente), dermis de un cadáver humano (colágeno humano reticulado). Agentes de relleno adicionales son aquellos que son insolubles en la dermis, incluyendo perlas de PMMA, dPTFE (politetrafluoroetileno expandido), ácido poliláctico, elastina recombinante, y termoplásticos que forman geles cuando se inyectan en humanos (Klein y Elson, The History of Substances for Soft Tissue Augmentation, Dermatological Surgery 26:1096-1105,2000). Más recientemente, se han utilizado para el aumento de tejidos blandos partículas de cerámica (Patente estadounidense N°: 5,922,025) y también microesferas de PMMA (Lemperle et al, Migration Studies and Histology of Injectable Microspheres of Different Sizes in Mice; Plast. Reconstr. Surg 113(5):1380-1390 (2004).

35 Los agentes de relleno dérmico se utilizan para rellenar cicatrices, hendiduras y arrugas. Las sustancias de relleno dérmico tienen diversas respuestas inflamatorias en la dermis incluyendo la fagocitosis ante reacciones a cuerpos extraños, dependiendo del material (Lemperle et al., Human Histology and the Persistence of Various Injectable Filler Substances for Soft Tissue Augmentation, Aesthetic Plast. Surg. 27(5):354-366; discusión 367 (2003). Una finalidad de los rellenos dérmicos es la de aumentar de forma temporal la dermis para corregir el contorno superficial de la piel sin producir una reacción inflamatoria inaceptable, una reacción de hipersensibilidad o reacción a cuerpos extraños que causa dolor, enrojecimiento o una formación excesiva de cicatrices durante un periodo de tiempo.

40 Uno de los primeros materiales a ser utilizados para el aumento dérmico es ZYPLASTq obtenido a partir de colágeno bovino. Un material más reciente utilizado para esta aplicación es RESTYLANE® obtenido a partir de AH producido a partir de bacterias. Debido a que los desafíos incluyen tanto biocompatibilidad como persistencia en la piel, los nuevos agentes de relleno dérmico se comparan con uno de los productos existentes, tales como ZYPLASTq o RESTYLANE® (Narins et al., A Randomized, Double-Blind, Multicenter Comparison of the Efficacy and Tolerability of Restylane Versus Zyplast for the Correction of Nasolabial Folds, Dermatol. Surg. 29:588-595 (2003)).

45 Más recientemente, la CMC se ha utilizado con óxido de polietileno (PEO) y con iones multivalentes para producir materiales ligados iónicamente (U.S. Pat. N°: 7,192,984).

## I Métodos generales

En la siguiente sección, se presenta la elaboración de las composiciones de CMC/PEG.

### A. Elaboración de las composiciones de CPS/PEG

50 Para elaborar composiciones de CPS/PEG (o CMC/PEG) de la presente invención, generalmente se disuelve CPS en un medio acuoso, tal como agua, suero salino, solución tampón de fosfatos y otros medios adecuados.: Por ejemplo, la disolución de CMC en medio acuoso se logra generalmente añadiendo una cantidad previamente pesada de CMC seca en polvo en un vaso que contenga el medio, con agitación, tal como por ejemplo con un mezclador vortex hasta que la CMC esté completamente disuelta. En algunas realizaciones, la CMC puede estar presente en

una concentración de aproximadamente un 1% en peso hasta aproximadamente un 30% en peso. En otras realizaciones, la CMC puede estar presente en una concentración de aproximadamente un 3% a aproximadamente un 15% en peso. Los pesos moleculares de CMC pueden encontrarse en el rango de aproximadamente 50.000 D a aproximadamente 1.000.000 D, de forma alternativa de aproximadamente 90 kD hasta aproximadamente 700kD.

5 Para hacer reaccionar el PEG con la CMC, una cantidad previamente pesada de PEG con fracciones de epóxido se añade a la solución de CMC bajo agitación, hasta que se disuelve el PEG. A continuación se añade  $\text{NH}_4\text{OH}$  como catalizador para iniciar la reacción. Generalmente, se permite que la reacción continúe hasta que se complete, y la composición de CMC/PEG se precipita a partir de la solución, se seca, y a continuación se reconstituye en solución para su análisis y/o uso. En algunas realizaciones, la solución puede ser una solución fisiológicamente compatible,  
10 con pH biocompatible, fuerza iónica y presión osmótica coloidal. Puede apreciarse que pueden utilizarse PEG de cadena única, multi-ramificaciones o multi-brazos con fracciones epóxido en los mismos.

Puede utilizarse PEGDGE en una concentración del 0,01% al 20%. Los pesos moleculares de PEG pueden encontrarse en el rango de 200 D a 50.000 D, y en realizaciones alternativas de 500 D a 8000 D.

15 En determinadas realizaciones, puede utilizarse NaCl en una concentración en el rango de 0,001% al 10%, y de forma alternativa del 0,01 al 5,0%. En determinadas realizaciones, puede utilizarse solución salina isotónica (por ejemplo, a aproximadamente el 0,9%).

Si se desea, pueden añadirse iones multivalentes a la solución para producir materiales ligados iónicamente, puede utilizarse  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  en concentraciones de 0,001% a 50% y en alternativas, de 0,01% a 10%. En otras realizaciones, las composiciones de CMC/PEG pueden elaborarse en solución tampón de fosfatos.

20 Puede utilizarse  $\text{NH}_4\text{OH}$  en una concentración de 0,001% a un 40%, de forma alternativa de un 1% a un 20%.

Adicionalmente, el pH puede variarse para producir composiciones que tienen algunos componentes unidos con enlaces de hidrógeno. Los rangos de pH de utilidad pueden encontrarse en el rango de 6,0 a 7,5. El ajuste del pH puede lograrse sumergiendo una composición de CMC/PEG en una solución tampón al pH apropiado.

25 En otras realizaciones, las composiciones de CMC/PEG pueden utilizarse directamente después de mezclar la CMC y el PEG-epóxido entre sí, sin una precipitación y reconstitución posterior. Por tanto, una solución de CMC/PEGDGE puede ser preparada e introducida en una jeringuilla, la jeringuilla puede esterilizarse a continuación (por ejemplo, utilizando vapor), y se puede continuar con la reacción de reticulación. Cuando la reacción ha tenido lugar, el material resultante puede ser implantado en una localización deseada a través de una aguja de pequeño calibre (por ejemplo, un calibre 29 o 30). En otras realizaciones, las soluciones de CMC y PEG pueden ser esterilizadas antes de  
30 mezclar.

Puede apreciarse que además de PEGDGE, se pueden utilizar otros PEG-epóxidos, de forma similar a los utilizados para PEGDGE. Por tanto, pueden utilizarse PEG multi-brazos, PEG multi-ramificaciones, o PEG-epóxidos con diferentes pesos moleculares sin apartarse del alcance de la presente invención.

#### B. Métodos reológicos

35 Una vez que se prepara la composición de CMC/PEG, pueden determinarse sus propiedades viscoelásticas fácilmente utilizando equipo y métodos conocidos en el arte. Las mediciones de oscilaciones de pequeñas deformaciones se realizaron con un reómetro Thermo Haake RS300, Newington, NH, en geometría cónica y plana. Todas las mediciones se realizaron con un sensor cónico de titanio de 35mm/1° a 25°C. El módulo elástico,  $G'$ , y el módulo de pérdida,  $G''$ , fueron obtenidos sobre un rango de frecuencia de 0,628-198 rad/sec. La  $\text{Tan } \delta$  fue calculada como  $G''/G'$ .  
40

La carboximetilcelulosa de sodio (CMC) se obtuvo de Hercules y el éter diglicidílico de poli(etilenglicol) (PEGDGE) se obtuvo de Sigma-Aldrich Corporation. Según el fabricante, la CMC tenía una media de  $M_n \sim 700.000$  Da y la CMC B tenía una media de  $M_n$  de  $\sim 200.00$  Da. Las mediciones reológicas se llevaron a cabo en geles preparados a 30mg/ml de concentración de sólidos en solución tampón de fosfato salino de Dulbecco modificada BupH, solución (PBS) adquirida de Pierce Chemical (N° de catálogo 28374). Las soluciones se prepararon mediante agitación de la CMC en el PBS a temperatura ambiente durante al menos dos horas. Las soluciones resultantes eran transparentes e incoloras sin sólidos evidentes y por tanto se utilizaron sin filtración.  
45

Las composiciones de CMC/PEG pueden ser esterilizadas utilizando cualquier método convencional, tal como una esterilización por vapor, irradiación o filtración.

50 C. Determinación de la fuerza de compresión de las composiciones de PEG/CPS

5 Para determinar la fuerza de compresión de las composiciones de PEG/CPS, una pieza de material conformada de forma adecuada (por ejemplo, 1 pulgada x 1 pulgada x 25 pulgadas), puede prepararse y colocarse sobre una superficie tal como una mesa. Una vez que la polimerización ha tenido lugar, una carga (por ejemplo, un peso conocido) puede colocarse sobre la composición. Los pesos pueden incrementarse progresivamente hasta que la composición se fracture. De forma alternativa, una composición puede ser colocada en una prensa, con un manómetro de presión insertado, y puede incrementarse la carga progresivamente hasta que la composición se fracture.

## II Preparación de CPS derivado con PEG

10 El CPS puede derivarse con PEG para formar materiales no reticulados ("CPS decorados") o como materiales reticulados de la presente invención. Tal como se utiliza en la presente patente para PEG, el término "decoración", "decorado" y términos similares hacen referencia a la unión covalente de un PEG a través de un extremo del PEG a un sitio en una molécula de CPS. Debido a que únicamente un extremo del PEG se une al CPS, el otro extremo del PEG queda sin enlazar. Los CPS decorados, por lo tanto, no están reticulados con otras moléculas de CPS cercanas o con ellos mismos mediante enlaces intra-CPS. Por tanto, el CPS presenta cadenas laterales de PEG "decorando" la molécula de CPS. En otras realizaciones, la composición de CPS/PEG puede ser preparada de manera que pueda tener lugar el enlace covalente intra-cadena y/o entre cadenas.

20 Para asegurar que únicamente un extremo del conector está acoplado a la cadena de CPS, se puede utilizar un exceso molar del CPS (en base al grado de sustitución del CPS). Por ejemplo, se puede utilizar una relación molar de grupos ácidos carboxílicos con respecto al conector en el rango de 20-50 para proporcionar un grado elevado de CPS o CMC no reticulados. De forma alternativa, utilizando una relación molar menor, puede lograrse relativamente más reticulación entre las moléculas de CPS. En realizaciones en las que se desea un CPS sumamente reticulado, se puede utilizar una relación relativamente baja (por ejemplo, de menos de 0,5 a aproximadamente 20) de residuos de carboxilo con respecto a los conectores. Puede apreciarse que utilizar un exceso molar de moléculas conectoras en una solución que contiene moléculas de CPS no limitadas (por ejemplo, una solución de CPS relativamente diluida) puede estimular la derivación de CPS con poca reticulación. Sin embargo, en situaciones en las que las moléculas de CPS están limitadas (por ejemplo, altas concentraciones de CPS) o están estrechamente empaquetadas entre sí, puede haber un incremento en la tendencia a reticulaciones para formar diferentes cadenas de CPS. Puede apreciarse fácilmente que los expertos en el arte pueden seleccionar una relación molar de residuos de carboxilo con respecto a moléculas conectoras para producir un grado deseado de CPS reticulados.

30 Los CPS decorados con PEG habitualmente tienen menor elasticidad y mayor viscosidad que los CPS no decorados. Por tanto, el CMC decorado con PEG puede ser más adherente a los tejidos, y adicionalmente puede ser más útil en situaciones en las que la CMC no decorado puede tener biocompatibilidad reducida en comparación con la CMC decorada con PEG.

### Un CPS decorado con PEG

35 En una serie de realizaciones, la fracción de éter glicidílico de PEG puede reaccionar con cualquiera de los dos tipos de fracciones reactivas en un CPS, a saber, un grupo hidroxilo o carboxilo. Si el PEG reacciona con un grupo hidroxilo, la molécula resultante contiene un enlace éter. En casos donde el PEG se enlaza con un grupo carboxilo en un CPS, la molécula resultante contiene un enlace éster.

40 En situaciones en las que existe un exceso molar de PEG en relación al número de fracciones reactivas en el CPS, la reacción favorecida es entre un PEG y un CPS, sin reticulación sustancial intra-cadena de los CPS entre sí. Tales "CPS decorados con PEG" tienen utilidad en particular para las composiciones en las que la elasticidad es relativamente baja, en contraste con las composiciones de PEG/CPS reticuladas.

45 Decorar la CMC con el PEG puede incrementar la biocompatibilidad de la composición. Decorar el CPS con PEG puede también reducir la elasticidad de la composición, porque el material derivado tendrá menos grupos hidroxilo disponibles (en un CPS con un alto nivel de sustitución, n.s.). Con menos grupos reactivos disponibles, la tixotropía del material se verá también reducida.

### B. CPS reticulados con PEG

50 En situaciones en las que se desee una composición más elástica, se puede reticular los CPS entre sí utilizando PEGDGE, en los que las cantidades relativas de CPS y PEGDGE están más igualadas. En determinadas realizaciones, se puede utilizar un incremento de las cantidades de CPS en relación al PEGDGE, favoreciendo de este modo las reacciones en las que una molécula de PEGDGE forma enlaces covalentes con dos moléculas de CPS.

Puede apreciarse que debido a los dos tipos de fracciones reactivas en un CPS (por ejemplo, un grupo carboxilo y un grupo éter), los CPS reticulados con PEG pueden tener enlaces éster o éter, o un enlace éster en un extremo del PEG y un enlace éter en el otro extremo del PEG.

1. Efecto de la catálisis ácida o básica

5 Se ha observado además que las condiciones de reacción pueden afectar los tipos de reacciones que tienen lugar. Por ejemplo, la adición por catálisis ácida de PEGDGE a CPS puede producir un tipo de composición reticulada, mientras que la adición por catálisis básica de PEGDGE a CPS puede producir otro tipo de composición reticulada. Cada uno de estos tipos de reacciones produce CPS reticulados con PEG que tienen diferentes propiedades deseables.

10 2. PEGs multifuncionales

Además del PEGDGE (un PEG "bi-funcional"), pueden utilizarse PEG multifuncionales. Pueden utilizarse PEGs y PEGs multi-brazos para realizar composiciones de CMC/PEG que presentan una reticulación aumentada. Por ejemplo, el uso de estos tipos de PEG puede permitir una polimerización más rápida. Por tanto, tales materiales pueden ser preparados poco antes de su implantación, y después de su implantación, puede tener lugar la reticulación *in situ* para producir un material más elástico y duradero. Tales composiciones pueden ser particularmente deseables en situaciones en las que un hueco va a rellenarse, o en las que el núcleo del disco ha resultado dañado y los nervios espinales se ven afectados por cuerpos vertebrales o apófisis espinosas.

Puede apreciarse que se puede aumentar la elasticidad y/o rigidez de una composición de CMC/PEG utilizando más especies reactivas. Se conoce que aumentar los PM (pesos moleculares) de las CMC (o CPS) produce soluciones con una mayor viscosidad, y puede por tanto ser más difícil de manipular. Por el contrario, reducir el PM de la CMC puede producir soluciones acuosas que tienen viscosidades más bajas. Se puede aumentar la cantidad de reticulación utilizando CMC (o CPS) con pesos moleculares inferiores. Utilizando CMC con un PM inferior, se puede aumentar la masa total de CMC que puede ser disuelta de manera efectiva a la vez que se mantiene una viscosidad de la solución lo suficientemente baja para que sea manipulada fácilmente. Por tanto, con la adición de una cantidad apropiada de PEG epóxido suficiente para proporcionar la relación de CMAG/EP que se necesita para producir una composición reticulada que tenga una elasticidad deseada, la velocidad de reacción puede aumentarse, permitiendo una preparación más sencilla de los materiales.

3. Reticulación *In situ*

Unas reacciones de reticulación tan rápidas pueden ser particularmente deseables para su uso *in situ*, en localizaciones en las que se desea una rápida administración. En algunas realizaciones, los componentes pueden esterilizarse antes de su uso, y la preparación final puede prepararse a partir de soluciones estériles. En estas situaciones, puede prepararse una mezcla de reacción de reticulación rápida y a continuación introducirse en el sitio. A partir de la anterior discusión, puede haber múltiples maneras de aumentar la velocidad de las reacciones de reticulación. Aumentar la cantidad de PEGDGE o PEG multifuncional, reducir el PM de la CMC (o del CPS), aumentar la cantidad de iniciador o catalizador puede ya sea en solitario o en combinación, utilizarse para producir composiciones que puedan polimerizar lo suficientemente rápido para resultar de utilidad para situaciones que incluyen su uso en articulaciones de soporte de cargas, lesiones perforantes, procedimientos quirúrgicos y similares. Se puede utilizar además una composición de polimerización *in situ* para proporcionar un relleno dérmico duradero de naturaleza más convencional, tal como el relleno de pliegues nasolabiales, patas de gallo y otras líneas dérmicas.

40 1. Catálisis ácida

En determinados ejemplos de referencia, para producir productos por catálisis ácida de CMC y PEG, utilizamos los materiales y las condiciones que se muestran a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1

Condiciones de reacción para la reacción con catálisis ácida de CMC con PEGDGE						
CMC	[CMC] mg/mL	Catalizador	CMAG mMol	EP mMol	CMAG/EP	Resultados
82666	30	Ácido acético al 1% 40°C	30,99	8,67	3,6	Aumento drástico de la elasticidad

Tabla 1 (continuación)

Condiciones de reacción para la reacción con catálisis ácida de CMC con PEGDGE						
CMC	[CMC] mg/mL	Catalizador	CMAG mMol	EP mMol	CMAG/EP	Resultados
82666	30	Ácido cítrico al 1% 40°C	30,99	2,17	14,3	Aumento de la elasticidad
90252	50	Ácido acético al 1% 44°C	51,65	21,67	2,4	Material insoluble con reticulación demasiado elevada
90252	50	Ácido acético al 1% 60°C	51,65	10,83	4,8	Aumento drástico de la elasticidad
90252	50	Ácido acético al 1% 0°C	51,65	2,17	23,8	Elasticidad ligeramente reducida

5 Puede apreciarse que las condiciones de reacción anteriores son únicamente ilustrativas, y otras condiciones (CPS, ácidos, pH, relaciones de CMAG/EP y similares) pueden utilizarse para producir variaciones de las composiciones que presentan variaciones de la elasticidad. En general, se ha observado que utilizar ácidos más fuertes (por ejemplo, ácido acético) tendía a producir composiciones con elasticidad incrementada. También se observó que temperaturas de reacción más elevadas, tendían a producir materiales más elásticos. Más aún, se observó que utilizar relaciones de CMAG/EP por debajo de 10, tendía a producir composiciones con una elasticidad mayor que las composiciones realizadas con relaciones más elevadas de CMAG/EP. Sin embargo, utilizar ácido fuerte (por ejemplo, ácido acético) a una temperatura elevada (por ejemplo, 40°C) y una relación muy baja de CMAG/EP (por ejemplo, 2,4) produjo una composición que era tan sumamente reticulada que resultó insoluble.

15 Observamos también que ambos materiales que han sufrido reacción presentan una viscosidad compleja a frecuencias bajas ligeramente inferior que la CMC derivada. A frecuencias elevadas, la CMC no derivada tenía una viscosidad compleja mucho más elevada que la CMC derivada. Existen dos componentes de la magnitud de la viscosidad compleja, la viscosidad de almacenamiento ( $\eta' = G'/\omega$ ) y la viscosidad dinámica ( $\eta'' = G''/\omega$ ). Se observó que a bajas frecuencias, la viscosidad dinámica es mucho más elevada para la CMC sin derivar que para la CMC derivada. Este descubrimiento indica que el módulo de pérdida  $G''$  es mayor a bajas frecuencias y tiene una mayor contribución al módulo complejo a tasas de deformación bajas.

## 2. Catálisis básica

20 En determinadas realizaciones, hacemos reaccionar éteres glicídlicos con CMC utilizando catálisis básica.

25 En un ejemplo de referencia, observamos que la catálisis básica utilizando NaOH producía composiciones reticuladas con poco éster, y eran por lo tanto predominantemente composiciones con enlace éter. Estas composiciones tienen menos elasticidad que la CMC sin derivar. Los materiales con catálisis básica tienen en general, menos elasticidad que la CMC sin derivar. La elasticidad del gel puede ser modificada ajustando la relación de epóxido con respecto a hidroxilo. A medida que la relación se reduce, la elasticidad aumenta. Por el contrario, a medida que el contenido de epóxido aumenta, la elasticidad de la composición disminuye. En algunas de estas realizaciones, no se forman composiciones con una elevada reticulación y la reacción produce CMC decorada con PEG.

30 En contraste y de acuerdo con la presente invención, observamos que la catálisis básica utilizando  $\text{NH}_4\text{OH}$  producía composiciones con alguna formación de éster. Las reacciones de PEGDGE/CMC catalizados con  $\text{NH}_4\text{OH}$  producen composiciones con elasticidad reducida y son hidrogeles sumamente hidratados (hinchados).

## 3. Catálisis neutra

35 En situaciones de referencia en las que no sea deseable exponer un tejido bien a composiciones ácidas o básicas, un polímero de PEG/CPS puede ser realizado utilizando condiciones neutras. Los epóxidos pueden reaccionar con grupos carboxilo o con grupos éter bajo condiciones neutras, aunque las velocidades de las reacciones de polimerización son habitualmente inferiores que las iniciadas bajo condiciones o bien ácidas o básicas. Sin embargo, la velocidad de reacción puede ser aumentada incrementando el número de fracciones reactivas disponibles para la reacción. Por tanto, utilizar los CPS o PEG con pesos moleculares medios menores, utilizar PEGs multi-

ramificaciones, PEGs multi-brazos o combinaciones de cada uno de estos componentes, se pueden producir composiciones poliméricas con grados de reticulación elevados, y por lo tanto, con una fuerza compresiva más elevada y una elasticidad mayor en comparación con composiciones realizadas con PEGs bi-funcionales y componentes de alto peso molecular.

5 C. Esterilización de composiciones de CMC/PEG

Tal como se señaló anteriormente, las composiciones de CMC/PEG pueden ser esterilizadas convenientemente utilizando calor. En algunas realizaciones, la composición puede calentarse en una autoclave u otro aparato productor de vapor. En algunos casos, puede resultar deseable preparar una composición de CMC/PEG y colocarla a continuación en un dispositivo de administración, tal como una jeringuilla. Las composiciones de CMC/PEG pueden realizarse utilizando un proceso en "3 etapas", en los que: (1) se obtiene una mezcla de CMC/PEG, (2) se añade un iniciador para comenzar la reacción de reticulación y (3) en el que el material reticulado es precipitado y reconstituido. De forma alternativa, puede realizarse una composición de CMC/PEG utilizando un proceso de "una etapa", en la que se realiza la solución de CMC/PEG con un iniciador y a continuación se coloca en un dispositivo de administración para su esterilización. En estas situaciones, el calor no solamente esterilizó la composición, sino que también aumentó la velocidad de reticulación. Después de esterilización *in situ*, la composición de CMC/PEG está lista para su uso.

III. Usos de composiciones de CMC/PEG

Las composiciones de CMC/PEG de la presente invención pueden ser utilizadas como materiales para el relleno de espacios, vehículos de administración para sustancias bioactivas, materiales para soportar cargas, composiciones anti-adhesión y/o lubricantes para tejidos, articulaciones, instrumentos médicos, rellenos dérmicos, y otras aplicaciones médicas.

Materiales de relleno de espacios

En otras realizaciones, los materiales de relleno de espacios pueden ser utilizados para proporcionar volumen en localizaciones internas. Por ejemplo, en situaciones en las que se ha creado un hueco como resultado de una extracción de tejido interno (por ejemplo, la extracción de un quiste sebáceo, una herida de bala, extracción de un tumor localizado), en un área no sujeta a grandes movimientos (por ejemplo, el torso), puede fabricarse un implante con una forma deseada y con una elasticidad deseada. Tales materiales de relleno de espacios, realizados de acuerdo a los principios de la presente invención, pueden ser sumamente biocompatibles, con tiempos de residencia prolongados en el cuerpo. Tales materiales pueden ser realizados en cualquier forma particularmente deseada. Por tanto, si el hueco es irregular, el cirujano puede conformar el implante para que coincida con el hueco. Después de realizar una incisión quirúrgica a través de la piel, el implante se introduce y la herida se sutura. De forma alternativa, el cirujano puede inyectar una composición que comprende un gel con partículas de material de PEG/CMC en el mismo. Después de su introducción en el hueco, el material puede ajustarse a la forma del hueco, proporcionando de este modo una estructura de apariencia uniforme.

En aún realizaciones adicionales, los materiales para el relleno de espacios pueden estar contenidos en el interior de un saco biocompatible. Por ejemplo, se puede introducir una composición reticulada de PEG/CMC en la espina dorsal para proporcionar soporte en situaciones en las que el núcleo de un disco vertebral ha resultado dañado. Al incluir composiciones de PEG/CMC dentro de un saco, el material implantado puede resistir fuerzas de compresión, y por lo tanto puede utilizarse para evitar el pinzamiento de un nervio, una causa común de dolor en sujetos con discos que se están degenerando.

En otras realizaciones adicionales, los materiales de PEG/CMC de esta invención pueden secarse para formar membranas. Tal como se describe en la Patente estadounidense N°: 5,906,997, membranas de CPS/PEO pueden realizarse preparando un gel, y a continuación secando el gel. Membranas similares pueden ser realizadas utilizando las composiciones de PEG/CMC de la presente invención.

45 Materiales para soportar cargas

En aspectos adicional, las composiciones de PEG/CPS pueden utilizarse para soportar cargas dentro del sistema esquelético. Por ejemplo, la espina dorsal es a menudo una localización en la que la degeneración, una lesión o enfermedad puede producir pérdida de soporte estructural. En particular, en condiciones en las que el disco está dañado, las composiciones de PEG/CPS de la presente invención pueden utilizarse fácilmente. En situaciones en las que el núcleo pulposo se pierde parcial o completamente, las composiciones de la presente invención pueden ser utilizadas para reemplazar el tejido perdido. En algunas de estas realizaciones, una composición elástica, relativamente no compresible pueden ser polimerizadas antes de su inserción en el área afectada. En otras situaciones, se puede administrar una composición de la presente invención previamente a su polimerización, de manera que la composición se polimerice *in situ*. Por ejemplo, en situaciones en las que existe una evidente pérdida

ósea, que produzca un defecto con una forma irregular, se puede inyectar una mezcla de componentes de la presente invención. Después de la polimerización, la composición puede ajustarse bien en al defecto, proporcionando de este modo soporte estructural.

- 5 En otras situaciones, las composiciones de esta invención pueden colocarse dentro de una o más bolsas o sacos. Estas realizaciones pueden haber aumentado sus capacidades para soportar una carga, debido a los hechos de que: (1) una composición puede ser soportada contra compresión por la bolsa o saco, y/o (2) la composición tiene sus propias capacidades para el soporte de cargas.

10 Las **FIGs. 15a** y **15b** representan realizaciones de la presente invención en las que una composición de PEG/CPS se coloca dentro de una bolsa o saco. La **FIG. 15a** representa una realización **1500** en la que una parte superior **1504** del exterior y una parte lateral **1508** del exterior definen un espacio cerrado. En esta realización, la composición de PEG/CPS **1512** se representa dentro del espacio cerrado. La **FIG. 15b** representa una realización alternativa **1501** en la que el exterior **1504** de la bolsa o saco tiene una forma esférica. Se muestra una composición de PEG/CPS **1512** dentro del espacio definido por el exterior **1504**.

#### Materiales anti-adhesión

- 15 En otras realizaciones adicionales, las composiciones de esta invención pueden ser utilizadas como materiales anti-adhesión. Se describen métodos para utilizar composiciones de CMC para propósitos anti-adhesión en las patentes estadounidense Nos: 5,906,997, 6,017,301, 6,034,140, 6,133,325, 6,193,731, 6,869,938, y 7,192,984.

Puede apreciarse fácilmente que geles, membranas y otras formas de las composiciones de CMC/PEG de la presente invención pueden utilizarse de formas similares.

- 20 Administración de fármacos utilizando complejos CMC/PEG

25 Puede apreciarse fácilmente que puede administrarse cualquier cantidad de fármacos, productos biológicos y otros agentes químicos utilizando los compuestos de CMC/PEG de la presente invención. Determinados agentes pueden ser utilizados de forma ventajosa para la administración local, proporcionando una concentración deseada en un sitio deseado, pero a la vez reduciendo efectos sistémicos no deseados. Tales agentes incluyen, pero no se limitan a proteínas terapéuticas, tales como trombina, para ayudar a conseguir y mantener la hemostasia, factores de crecimiento para huesos, cartílago, piel y otros tejidos y tipos de células. Algunos de estos factores de crecimiento peptídicos y proteicos incluyen proteína morfogénica ósea (BMP, por sus siglas en inglés), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), angiotensina y péptidos relacionados, y péptidos que contienen RGD.

- 30 Adicionalmente, entre los fármacos que actúan localmente se incluyen fungicidas, histamina, antihistamínicos, fármacos antiinflamatorios (metotrexato), anestésicos locales, fármacos promotores de la angiogénesis (por ejemplo, para tratar la enfermedad cardiovascular), y factores anti-angiogénesis (por ejemplo, para tratar tumores).

35 Los agentes terapéuticos basados en el ADN, que incluyen ADN antisentido, terapia génica y terapia basada en el ARN también se administran de forma adecuada utilizando las composiciones de la presente invención. Estos agentes pueden utilizarse bien para inhibir o bien para promover la transcripción de genes endógenos, o de forma alternativa, pueden proporcionar productos génicos exógenos para promover el tratamiento local.

Los agentes quimioterapéuticos administrados localmente pueden también ser administrados. Estos incluyen, únicamente a modo de ejemplo, antibióticos para tratar condiciones microbianas, agentes antifúngicos, agentes antiparasitarios, agentes anti-neoplásicos que incluyen agentes alquilantes, anti-metabolitos y similares.

- 40 Puede también apreciarse que pueden administrarse diversas hormonas y esteroides, al igual que otros fármacos de acción sistémica que pueden administrarse por vía transmucosa o transdérmica. Estos incluyen IgG, factores de coagulación y enzimas para tratar mucopolisacaridosis u otras condiciones.

45 Los fármacos cardiovasculares incluyen vasodilatadores tales como agonistas de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos, incluyendo terbutalina y epinefrina a dosis bajas, antagonistas de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos incluyendo norepinefrina, epinefrina a dosis altas y similares, y vasodilatadores incluyendo nitroprusiato y nitroglicerina.

Puede apreciarse que las descripciones anteriores no pretenden ser limitativas del alcance de la invención. En su lugar, pretenden ser representativas de muchas realizaciones diferentes de la invención.

#### Lubricación de articulaciones

Determinados aspectos de la presente invención incluyen el uso de composiciones reticuladas de PEG/CPS para proporcionar lubricación para articulaciones y tejidos blandos. En situaciones en las que ha ocurrido una lesión en huesos, ligamentos, tendones, fascia u otros tejidos blandos, la curación puede no producir un tejido con una buena funcionalidad. Por ejemplo, el daño a las articulaciones facetarias en la espina dorsal puede tener como resultado una alineación anormal de las vértebras, lo que puede conducir a un daño adicional al disco (anillo o núcleo pulposo). Por tanto, una composición de PEG/CPS de la presente invención puede inyectarse entre las apófisis espinosas laterales de vértebras adyacentes (las cuales normalmente pueden deslizarse, desplazándose entre sí, durante el movimiento normal). Después de una inyección de este tipo, las apófisis espinosas laterales pueden separarse entre sí, y la lubricación inherente proporcionada por la composición de PEG/CPS puede reducir una irritación posterior.

De forma similar, el daño a los tendones, ligamentos y fascias puede producir dolor, inflamación y una disminución de la función. Por tanto, la inserción de una composición de PEG/CPS de la presente invención puede mejorar la movilidad y puede reducir la probabilidad de un daño adicional al tejido.

#### Protección del tejido

Las composiciones de PEG/CMC también pueden utilizarse para proteger tejidos de resultar dañados. Por ejemplo, dichas composiciones pueden proteger nervios periféricos, tendones, ligamentos, otros tejidos blandos, membranas sinoviales, articulaciones, y pueden por tanto aliviar el dolor.

Por ejemplo, las lesiones de tendones y ligamentos se curan más lentamente que las de otros tejidos, en parte porque el flujo sanguíneo a los tendones y ligamentos es reducido en comparación con tejidos tales como los músculos, mesenterios, y similares. Además, una lesión relacionada con la tensión de un tendón se acompaña a menudo de una lesión por tensión en un ligamento adyacente. Por lo tanto, se requiere la curación de ambos tejidos para volver a la función normal. Sin embargo, dicha recuperación es a menudo lenta, y es habitual que se produzca nuevamente la lesión. Además, incluso cuando se curan, los tendones y ligamentos tienden curarse con tejido cicatrizante, que no es suave. Por tanto, incluso después de la curación, un tendón o ligamento previamente lesionado puede erosionar los tejidos adyacentes y causar una reaparición de la lesión o bien unos procesos de recuperación lentos.

En otro ejemplo, en la médula espinal, las apófisis espinosas o cuerpos vertebrales dañados pueden erosionar los tejidos adyacentes. Adicionalmente, la pérdida de un núcleo vertebral puede conducir a la compresión de cuerpos vertebrales y pueden dar como resultado un pinzamiento de los nervios espinales, lo que a menudo conduce a dolor y/o parálisis.

Un ejemplo adicional puede implicar el daño a los nervios periféricos, en los que una lesión de los tejidos blandos, trauma o reacciones inflamatorias pueden conducir a dolor o pérdida de la función nerviosa. La aplicación de una composición de PEG/CMC de la presente invención puede reducir las respuestas inflamatorias, y por lo tanto pueden reducir el daño secundario causado por las reacciones inflamatorias mediadas por, por ejemplo, macrófagos, leucocitos, mastocitos u otros tipos de células inflamatorias.

Adicionalmente, las composiciones de PEG/CMC de la presente invención pueden resultar de utilidad para minimizar el dolor de una articulación. En diversas condiciones, incluyendo artritis, lesión traumática, degeneración del cartílago, y daño del ligamento, una articulación puede volverse dolorosa. Una composición de PEG/CMC de la presente invención puede ser introducida en una articulación afectada para proporcionar lubricación y para proteger los tejidos adyacentes del daño causado por el movimiento. Por ejemplo, en la rodilla, una composición de PEG/CMC puede ser introducida durante un procedimiento artroscópico. En situaciones en las que la articulación puede soportar una carga (por ejemplo, rodilla, cadera, tobillo, vértebra), una composición de PEG/CMC puede ser realizada con una elasticidad particularmente elevada.

#### Relleno dérmico

Las composiciones de la presente invención son particularmente adecuadas como rellenos dérmicos. Tal como se ha señalado anteriormente, una de las dificultades con los rellenos dérmicos del arte previo es la falta de coincidencia de las elasticidades del tejido y del relleno dérmico. En situaciones en las que el tejido es relativamente elástico, pueden aparecer bultos donde el tejido puede estirarse pero el relleno dérmico no. Por el contrario, en situaciones en las que la elasticidad del relleno dérmico es mayor que la del tejido, puede tener lugar un relleno incompleto de los huecos.

Por tanto, seleccionando las propiedades viscoelásticas de un relleno dérmico para que aproxime o coincida con la elasticidad del tejido, se puede producir y utilizar un mejor material para el relleno de huecos, a la vez que minimizar los efectos adversos de la falta de coincidencia tejido-relleno.

Adicionalmente, a medida que un individuo envejece, la elasticidad de la piel tiende a disminuir. Por tanto, en sujetos con menos piel elástica, podría ser deseable utilizar un relleno dérmico con una elasticidad menor de la que se podría utilizar en un individuo más joven con una piel más elástica. De igual manera, determinados tejidos tienden a presentar diferentes elasticidades o diferentes movibilidades. Por ejemplo, la piel alrededor de los músculos faciales (por ejemplo, pliegues nasolabiales) puede estar sometida a tensiones diferentes de otros tejidos (por ejemplo, los labios). Por tanto, se pueden seleccionar rellenos dérmicos con diferentes propiedades viscoelásticas para su uso en el mismo individuo.

El uso de tales rellenos dérmicos depende de la necesidad específica. Por ejemplo, cuando se utilizan para rellenar pequeñas arrugas, tales como los pliegues nasolabiales, o las "patas de gallo" alrededor de los ojos, pueden resultar deseables los rellenos dérmicos en forma de gel uniforme o de pequeñas partículas. Una ventaja de utilizar un gel uniforme es que estos materiales pueden ser inyectados utilizando agujas muy pequeñas, y pueden producir un relleno muy regular, particularmente adecuado para suavizar pequeñas líneas de expresión. Para su uso en líneas de expresión algo mayores (por ejemplo, pliegues nasolabiales), puede ser deseable utilizar composiciones que comprenden un gel con partículas de PEG/CMC. Tales partículas pueden ser realizadas de acuerdo con métodos conocidos en el arte, y pueden ser realizadas para tener las dimensiones deseadas. Para su uso en pliegues nasolabiales, las partículas deberían ser suficientemente pequeñas para pasar fácilmente a través de una pequeña aguja (por ejemplo, una aguja de calibre 25 o 30). El resto de la composición puede ser un gel de PEG/CMC con una viscosidad relativamente menor. Después de la inyección, las partículas pueden hidratarse más en el tejido, formando de ese modo una composición más uniforme.

Puede apreciarse que en determinadas realizaciones (por ejemplo, de "una etapa") pueden proporcionar composiciones esterilizadas fáciles de producir en un dispositivo de administración adecuado (por ejemplo, una jeringuilla). Las composiciones de PEG/CMC elaboradas previamente, con una elasticidad deseable, pueden inyectarse directamente en el sitio utilizando una aguja de calibre pequeño (por ejemplo, 25, 26, 27, 28, 29 o 30).

En cada una de las anteriores situaciones, las composiciones de PEG/CMC de la presente invención pueden ser beneficiosas.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar determinados ejemplos de referencia además de una realización de la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de las realizaciones ilustradas de ese modo. Más bien, los expertos en el arte pueden modificar o adaptar los contenidos de esta invención para realizar y utilizar otras variaciones sin excesiva experimentación. Todas esas realizaciones se consideran parte de la presente invención.

Ejemplo de referencia 1. Reticulación de CMC A con PEGDGE a una relación de CMAG/Epóxido de 0,8/l en NaOH diluido

A un vaso de precipitado se añadió agua destilada desionizada (DIW) (250mL) y NaOH (2,5g; 60,25mm). Después de 5 minutos de agitación a 400 rpm, se añadió CMC A (5,0g; 40,83mm OH) y se continuó con agitación durante 35 minutos a 25°C. Posteriormente, se añadió PEGDGE puro (6,884g; 6,0mL; 8,7mm) y se continuó con la agitación a temperatura ambiente durante 90 minutos. Después de ese tiempo, se calentó a continuación la mezcla a aproximadamente 70°C durante 1 hora y aproximadamente 90°C durante 2 horas. La mezcla se enfrió a continuación a temperatura ambiente durante la noche.

La solución fue diluida a un volumen de aproximadamente 250 mL con DIW y neutralizada con 3,5 ml de ácido acético glacial. En este punto el pH era de 5:3 y se añadió NaOH al 20% para llevar el pH a 6,8. El polímero resultante se precipitó con IPA, se recogió y a continuación se trituró en una mezcladora con alcohol isopropilo/metanol (IPA/MeOH) 1:1 en un volumen de aproximadamente 250mL. El sólido granular se recogió y se lavó tres veces con aproximadamente 50mL de acetona y a continuación se secó en una campana durante 20 minutos y a continuación se secó al vacío a una temperatura de aproximadamente 80°C. Para un análisis reológico, la composición seca fue reconstituida en una solución tampón de fosfatos (PBS).

Las propiedades reológicas de una solución de 30mg/ml en PBS se determinaron de acuerdo a los métodos conocidos en el arte. Las elasticidades de estas composiciones de PEG/CMC aumentaron de forma espectacular, como se muestra en la curva A de la FIG. 3, tal como se describe más adelante.

Ejemplo de referencia 2. Reticulación de CMC A con PEGDGE a una relación de CMAG/Epóxido de 35,5/1 en NaOH diluido

A un vaso de precipitado con 400 ml de polipenteno, se añade DIW (250mL) y NaOH (10g; 250mM) con agitación mecánica. Después de 5 minutos con agitación a 400 rpm, se añadió a continuación CMC A (7,5g; 67,3mM OH) y se continuó con la agitación durante 35 minutos a 25°C. Posteriormente, se añadió PEGDGE (0,23g; puro; 0,2mL;

0,87mm) y se continuó con la agitación a temperatura ambiente durante 90 minutos, y a continuación se calentó a una temperatura de 70°C durante 3 horas y a continuación se enfrió a temperatura ambiente durante la noche.

La solución se diluyó a continuación a un volumen de 250 mL con DIW y se neutralizó con ácido acético glacial a un pH de 6. El polímero resultante se precipitó con IPA, se recogió y a continuación se trituró en una mezcladora con MEOH 250ml. El sólido granular se recogió y se lavó tres veces con 50mL de MeOH, a continuación se secó en una campana durante 20 minutos, y a continuación se secó al vacío a una temperatura de aproximadamente 60°C.

Las propiedades reológicas de una solución de 30mg/ml de este material se muestran como la Curva C en la FIG. 3. La FIG. 3 representa un gráfico de la relación  $G''/G'$  (tan  $\delta$ ) contra la frecuencia para los productos de reacción de CMC A con PEGDGE en una solución de NaOH al 1% en relaciones de CMAG/EP de 0,8, 2,4, 25,6, y CMC sin EP. La línea con triángulos con relleno ( $\blacktriangle$ ), A, es la tan  $\delta$  contra la frecuencia para el producto de reacción con la relación de CMAG/EP de 0,8, la línea con círculos rellenos ( $\bullet$ ), B, es la tan  $\delta$  contra la frecuencia para el producto de reacción con la relación de CMAG/EP de 2,4, la línea con cuadrados sin relleno ( $\square$ ), C, es la tan  $\delta$  contra la frecuencia del producto de reacción con la relación de CMAG/EP de 35,6, y la línea continua sin símbolo alguno (-), D, es la tan  $\delta$  para CMC sin reaccionar con ningún EP. Los datos indican claramente que la CMC sin reaccionar es el material más elástico. En este caso, todos los geles derivados tienen una tan  $\delta$  mayor que la CMC sin reaccionar, y a medida que la relación de CMAG/EP se reduce de 25,6 a 2,4 a 0,8, la tan  $\delta$  va aumentando y el material se va volviendo menos elástica. Debido a que la elasticidad de los geles disminuye con la reacción con PEGDGE, esto indica que la CMC está decorada y no reticulada con PEGDGE en la reacción catalizada con NaOH. Haciendo reaccionar la CMC con PEGDGE en una base, la tan  $\delta$  de los geles de CMC/PEG puede controlarse ajustando la relación de CMAG/EP.

La FIG. 4 representa un gráfico de  $G''/G'$  (tan  $\delta$ ) a 0,628 rad/sec contra la cantidad de Epóxido (en mM) de las composiciones de CMC/PEG que se muestran en la FIG. 3. A medida que los equivalentes de epóxido aumentaban, y la relación de CMAG/EP se reducía, la tan  $\delta$  aumentaba y el gel de CMC/PEO se volvió menos elástico. Existió una excelente correlación entre la tan  $\delta$  del gel y los equivalentes de epóxido contenidos en el gel ( $R^2 = 0,9907$ ).

La FIG. 5 representa los espectros FTIR de los geles de PEG/CMC de la reacción de CMC A con PEGDGE a diferentes relaciones de CMAG/EP. El gráfico A es de una composición de PEG/CMC donde la relación de CMAG/EP era de 2,4. El gráfico B representa el espectro FTIR de material con una relación de CMAG/EP de 0,8. El gráfico C es el espectro FTIR de material con una relación de CMAG/EP de 35,6. El gráfico D es el espectro FTIR de una CMC sin reaccionar. Para todas las composiciones que se muestran, se formó muy poco éster. Se concluye a partir de esta serie de estudios que bajo condiciones de catálisis con NaOH, la CMC y el PEG forman polímeros reticulados predominantemente a través de enlaces éter.

Ejemplo 3. Reticulación de CMC A con PEGDGE a una relación de CMAG/Epóxido de 1,78/1 en  $\text{NH}_4\text{OH}$  diluido

En este ejemplo de acuerdo con la invención, a un vaso de precipitados con 400ml de polipenteno se añadió DIW (250mL) y  $\text{NH}_4\text{OH}$  (5ml) bajo constante agitación durante 5 minutos a 400rpm. La solución resultante tenía un pH de 11. A esta solución, se añadió CMC A (7,5g; 67,3mM OH) con agitación constante a 700rpm durante 35 minutos a una temperatura de 25°C. En este momento, se añadió PEGDGE (2,3g; puro 2mL; 8,7mM) y se continuó con la agitación a temperatura ambiente durante 2 horas y a continuación otros 2ml (8,7mM) de PEGDGE se añadieron y se continuó con la agitación durante 2 horas más. La solución se neutralizó a continuación con HCl diluido a un pH 6,8 y el polímero se precipitó con IPA y se recogió. El sólido se trituró en una mezcladora con MeOH y el sólido granular se recogió y se lavó tres veces con 50mL de MeOH y a continuación se secó en una campana durante 20 minutos y a continuación se secó *al vacío* a una temperatura de 60°C.

La FIG 6 representa los gráficos de la tan  $\delta$  contra la frecuencia para la CMC A sin reaccionar (círculos rellenos;  $\bullet$ ; gráfico A) y un gel realizado con PEG/CMC producido por hacer reaccionar CMC A y PEGDGE con una relación de CMAG/EP de 3,57 con catálisis básica en presencia de  $\text{NH}_4\text{OH}$  diluido, cuadrados rellenos ( $\blacksquare$ ; B). La reacción catalizada con  $\text{NH}_4\text{OH}$  produjo un gel sumamente elástico que tiene una tan  $\delta$  de frecuencia mucho más baja que la CMC A sin reaccionar.

La FIG. 7 representa los espectros FTIR de una solución de 30 mL de esta composición en PBS; CMC A sin reaccionar (gráfico A), y un gel de PEG/CMC formado bajo catálisis básica utilizando  $\text{NH}_4\text{OH}$  diluido de CMC y PEGDGE (gráfico B). El gráfico B muestra claramente la presencia de la formación de éster con un pico a aproximadamente  $1730\text{ cm}^{-1}$  (flecha discontinua).

Ejemplo de referencia 4. Reticulación de CMC A con PEGDGE a una relación de CMAG/epóxido de 3,6/1 en ácido acético diluido

A un vaso de precipitados con 400ml de polipenteno se añadió DIW (250mL) y ácido acético glacial (HOAc) (2,5ml; 49 mmol). Después de 5 minutos de agitación a 400rpm, se añadió CMC A (7,5g; 67,3mM OH), y la agitación continuó durante 55 minutos a temperatura ambiente. En este momento se añadió PEGDGE (2,85g; 2,5mL; puro; 5,4mmol) y se continuó con la agitación a temperatura ambiente (40°C) durante 5 horas y se detuvo la agitación y la solución se dejó a temperatura ambiente durante 70 horas.

La masa concentrada se diluyó con 200mL de DIW y se precipitó con IPA. (300ml). La masa total se trituró en una mezcladora con 250 mL de MeOH, y el sólido se filtró por succión a continuación, se lavó con acetona, se secó en la campana, y se secó adicionalmente a una temperatura de 60°C en un horno de vacío.

Las propiedades reológicas de estos materiales se muestran en la FIG. 8 y se describen a continuación.

10 Ejemplo de referencia 5. Reticulación de CMC A con PEGDGE a una relación de CMAG/Epóxido de 14,3/1 en ácido cítrico diluido

En esta serie de estudios, a un vaso de precipitados con 600ml de polipenteno, se añadió DIW (250mL) y ácido cítrico (2,5g) con agitación constante. Después de 5 minutos de agitación a 400rpm, se añadió CMC A (7,5g; 31mM), y se continuó con la agitación durante 55 minutos a temperatura ambiente. En este momento se añadió PEGDGE (2,85g; puro; 0,5mL; 1,1mmol) y se continuó con la agitación a una temperatura de 60°C durante 5 horas. Después de este tiempo, la agitación se detuvo y la solución se dejó a temperatura ambiente durante 70 horas. La masa concentrada se diluyó con 200mL de DIW, se neutralizó a un pH 6,8 con NaOH diluido, y el polímero se precipitó con IPA (300ml). La masa total se trituró en una mezcladora con 250 mL de MeOH, el sólido se filtró por succión a continuación, se lavó con acetona, se secó en la campana, y se secó adicionalmente a una temperatura de 60°C en un horno de vacío.

Los datos de la reología de una solución de 30mg/ml en PBS indican que la elasticidad del material reticulado ha aumentado, curva C FIG. 8.

La FIG. 8 representa gráficos de la relación  $G''/G'$  (tan  $\delta$ ) contra la frecuencia para los productos de reacción de CMC A sin reaccionar, cuadrados sólidos (■; gráfico A) CMC/PEGDGE que se ha hecho reaccionar en ácido acético al 1% con una relación de CMAG/EP de 3,6, círculos sólidos (●; gráfico B), y CMC/PEGDGE hecho reaccionar en ácido cítrico al 0,01% con una relación de CMAG/EP de 14,3, triángulos sólidos (▲; gráfico C). Las reacciones por catálisis ácida produjeron geles que eran más elásticos que la CMC sin reaccionar a baja frecuencia. En este caso, ajustar la relación a entre 3,6 y 14,3 produjo geles que tenían la misma tan  $\delta$  de baja frecuencia de aproximadamente 0,3. La reacción por catálisis ácido entre CMC y PEGDGE pareció reticular y no decorar las unidades de CMAG. Se observó que la elasticidad del material reticulado aumentó en comparación con la CMC no derivada.

La FIG. 9 representa los espectros FTIR de las reacciones catalizadas por ácido de CMC A con PEGDGE. El gráfico A representa el espectro FTIR de CMC A sin reaccionar, el gráfico B representa el espectro FTIR de CMC A/PEGDGE que se ha hecho reaccionar en ácido acético al 1% con una relación de CMAG/EP de 3,6, y el gráfico C representa el espectro FTIR de CMC A/PEGDGE que se ha hecho reaccionar en ácido cítrico al 0,01% con una relación de CMAG/EP de 14,3. Estos espectros son todos muy similares y muestran un valor de pico de éster muy poco pronunciado. Se concluye que la reticulación bajo catálisis ácida con ácido acético produce productos enlazados predominantemente mediante enlaces éter.

40 Ejemplo de referencia 6. Reticulación de CMC B con PEGDGE a una relación de CMAG/Epóxido de 4,7/1 en ácido acético diluido

En esta serie de estudios, a un vaso de precipitados con 600ml de polipenteno, se añadió DIW (250mL) y se agitó en ácido acético glacial (2,5ml). Después de 5 minutos de agitación a 400rpm, el pH era 4. Posteriormente, se añadió CMC B (12,5g; 51,7mM) y se continuó con la agitación a 700 rpm durante 35 minutos a una temperatura de 25°C: En este momento, se añadió PEGDGE (2,93g; puro; 2,5mL; 5,56mm) y se continuó con la agitación a temperatura ambiente durante 2 horas y a continuación la temperatura fue aumentada a aproximadamente 60°C durante 3 horas. La solución se enfrió a continuación a temperatura ambiente y se fijó durante la noche. La masa concentrada se diluyó con 200mL de DIW, se neutralizó a un pH 6,8 con NaOH diluido, y se precipitó IPA (300ml). La masa total se trituró en una mezcladora con 250 mL de MeOH, y el sólido se filtró por succión, se lavó con acetona, se secó en la campana y se secó adicionalmente a una temperatura de 60°C en un horno de vacío.

50 La elasticidad de una solución al 3% de este material en PBS se muestra en la FIG. 10. La FIG.10 representa gráficos de la tan  $\delta$  contra la frecuencia para CMC B sin reaccionar (cuadrados sólidos ■; gráfico A) y para CMC B que se ha hecho reaccionar con PEGDGE en ácido acético al 1% a una relación de CMAG/EP de 5,1/1 (círculos

sólidos ●; gráfico B). El gel de CMC/PEGDGE (gráfico B) es sumamente elástico (es decir, tiene una  $\delta$  inferior, lo que indica que la CMC ha sido reticulada con PEGDGE,

La FIG.11 representa los espectros FTIR de CMC B sin reaccionar (gráfico A) y CMC B que se hace reaccionar con PEGDGE en ácido acético al 1% a una relación de CMAG/EP de 5,1 a 1 (gráfico B). El material de CMC/PEGDGE reticulado presenta algo de formación de éster indicada por la flecha a aproximadamente  $1730\text{cm}^{-1}$ . Se concluye de estos estudios que bajo estas condiciones, la CMC y el PEGDGE reaccionan entre sí para producir un polímero reticulado con al menos algunos enlaces éster.

#### Ejemplo 7. CMC/composiciones de PEG multi-ramificaciones

Pueden crearse composiciones de CMC con una mayor reticulación utilizando PEG que con multi-ramificados. Tales PEGs están disponibles de SunBio (Orinda, CA), y se representan en la Fig. 12. La FIG. 12 representa la estructura química de un PEG, en el cada uno de los átomos de carbono en la cadena tienen un residuo epóxido unido al mismo. Un PEG de este tipo presenta una relación de epóxido: óxido de etileno de 2:1. Sin embargo, se pueden utilizar PEGs que no estén completamente sustituidos con fracciones de epóxido. En lugar de ello, se pueden utilizar PEGs con diferentes relaciones de epóxido:óxido de etileno. Por tanto, se puede utilizar la modificación del número de fracciones de epóxido en los PEGs multi-ramificaciones para proporcionar un aumento de opciones junto con el uso de CMC u otros CPS con diferentes grados de sustitución.

Para elaborar una composición de CMC reticulada/PEG multi-ramificaciones de acuerdo a este ejemplo, se pueden utilizar los métodos según se revelan en el Ejemplo 1. Se selecciona una CMC, se selecciona un PEG multi-ramificaciones, se elabora una solución de CMC en solución acuosa y el PEG multi-ramificaciones se introduce y se permite que tenga lugar la reacción.

Se observa que aumentar el número de residuos de epóxido en un PEG multi-ramificaciones aumenta la cantidad de reticulación, aumenta el tiempo de residencia y aumenta la elasticidad de la composición.

#### Ejemplo 8. Composiciones de CMC que contienen PEGs multi-brazos

Para proporcionar composiciones adicionales, se pueden utilizar CMC y PEGs para crear composiciones reticuladas. Un PEG multi-brazos es una molécula que contiene más de una moléculas de PEG, cada una de las cuales comprende al menos una fracción de epóxido. En general, los PEGs multi-brazos tienen una molécula del núcleo. En el caso de un PEG de 4 brazos, el núcleo puede ser pentaeritritol. Para PEGs de 6 brazos, pueden utilizarse cadenas principales de hexosa. En ambos casos, la molécula del núcleo proporciona grupos reactivos que pueden enlazarse de forma covalente a moléculas de PEG. En el caso de un núcleo de pentaeritritol, el PEG de 4 brazos resultante presenta una estructura que se muestra en la FIG. 13.

Para realizar una composición de CMC/PEG reticulada utilizando un PEG multi-brazos, se utilizan métodos descritos en los Ejemplos 1 o 7. Se selecciona una CMC y se prepara en solución acuosa. A continuación, se selecciona un PEG multi-brazos y se introduce en la solución de CMC. Se deja que tenga lugar la reacción, y la composición de CMC/PEG se aísla a continuación.

#### Ejemplo 9. Usos de composiciones de PEG multi-brazos y PEG/CMC multi-ramificaciones

Las composiciones de CMC/PEG descritas en los Ejemplos 7 y 8 pueden utilizarse en situaciones en las que se desea una reticulación más fuerte. Las composiciones de CMC/PEG multi-brazos o de CMC/PEG multi-ramificaciones se utilizan para aumentar la permanencia de la composición para rellenar huecos perforantes en tejidos internos y en la piel. Tales composiciones pueden polimerizar a velocidades más altas que el PEGDGE debido al número incrementado de fracciones de epóxido reactivo que se encuentran presentes.

Seleccionando PEGs que presenten un incremento en el número de fracciones de epóxido y/o pesos moleculares menores (por ejemplo, cantidades menores de las fracciones de óxido de etileno), las velocidades de polimerización, tiempos de residencia en los tejidos y las elasticidades de las composiciones de CMC/PEG pueden incrementarse. De forma similar, seleccionar una CMC con un mayor grado de sustitución puede producir composiciones de CMC/PEG con velocidades de polimerización, tiempos de residencia en tejidos y elasticidades mayores.

#### Ejemplo 10. Usos como reemplazos para el núcleo del disco intervertebral I

En situaciones en las que es deseable proporcionar un reemplazo del núcleo del disco vertebral, una composición de CMC/PEG multi-ramificaciones o CMC/PEG multi-brazos pueden sufrir una reacción de polimerización in situ. Por tanto, una composición con una viscosidad relativamente baja puede implantarse en un espacio vertebral. Posteriormente, una reacción de polimerización puede tener lugar, proporcionando de este modo una composición

reticulada, sumamente elástica que puede soportar pesos y por lo tanto puede reducir los síntomas asociados habitualmente con la extrusión o degeneración del núcleo del disco.

Ejemplo de referencia 11. Reticulación de CMC C con PEGDGE a una relación de CMAG/Epóxido de 2.3:1 en ácido cítrico diluido con esterilización con vapor.

5 En este ejemplo, se deseaba determinar si una composición de PEG/CMC podría realizarse sin precipitación y reconstitución antes de utilizarla. Por lo tanto se realizaron una serie de estudios utilizando mezclas de CMC/PEGDGE cargadas en jeringuillas sin realizar estos pasos. Se comparó la elasticidad de un material de ese tipo con una composición de CMC/PEO que contiene iones de calcio. Tales composiciones de calcio/CMC/PEO se describen en la Patente estadounidense N°: 6,869,938.

10 Se disolvió cloruro de calcio (0,04g) y cloruro de sodio (0,313g) en 50mL de una solución que contiene ácido cítrico al 0,01% en un vaso de precipitados de 100 mL con agitación mecánica. Se añadió lentamente a continuación CMC C sólida (1,804g; 7,45mm) durante aproximadamente 2 minutos. Después de 5 minutos de agitación, se añadió a continuación PEGDGE (0,75mL; 0,855g puro; 3,25mm) y la mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla homogénea se cargó a continuación en jeringuillas con 3mL de polipropileno y se colocó en  
15 bolsas de esterilización y se esterilizaron con vapor en una autoclave durante 32 minutos a 122°C, y se enfrió durante la noche a temperatura ambiente.

La reología de este gel de CMC/PEGDGE sin PEGDGE preparado tal como se describe anteriormente, se muestra en la FIG. 14. La FIG. 14 representa gráficos de  $G'/G''(\tan \delta)$ , contra la frecuencia para dos geles diferentes. El gráfico A (cuadrados sólidos) representa los resultados para un gel producido a partir de CMC C que se hace reaccionar con PEGDGE en ácido cítrico al 0,01% con  $\text{CaCl}_2$  y NaCl y esterilización con vapor, con una relación de CMAG/EP de 2,3. El gráfico B (línea continua) representa los resultados para un gel producido a partir de CMC C y PEO no funcional disuelto con  $\text{CaCl}_2$  y NaCl que se esterilizó con vapor. Se concluye que el gel de CMC/PEGDGE reticulado de forma covalente presenta mayor elasticidad que el material de CMC/PEO reticulado iónicamente, especialmente a bajas frecuencias.

25 Ejemplo 12: Usos como reemplazos para el núcleo del disco intervertebral II

Se presenta un paciente con daño o degeneración de un núcleo de un disco intervertebral. El paciente se anestesia y se descubre una parte de la columna vertebral. Para producir una estructura para soportar cargas en el espacio intervertebral, se inserta un saco esférico o cilíndrico biológicamente compatible en estado desinflado a través de un orificio en el anillo y en el interior del espacio intervertebral de un paciente en necesidad del mismo. Una vez en su lugar, se introduce en el saco una composición de PEG/CMC de la presente invención. A continuación, la  
30 composición de PEG/CMC se deja polimerizar en forma de una estructura elástica para soportar cargas.

Las FIGs 16a y 16b representan el uso de composiciones de la presente invención como un reemplazo parcial o completo de un núcleo pulposo. La FIG. 16a representa una vista superior de una realización 1600 de la presente invención. Una vértebra tiene un cuerpo vertebral 1604, una apófisis espinosa dorsal 1608, apófisis espinosa lateral 1612, y un canal espinal 1616 (donde la médula espinal está localizada). Tal como se muestra, el anillo 1618 rodea el espacio donde el núcleo se ha perdido. Sin embargo, dentro del anillo 1618, se ha colocado una bolsa 1620 que contiene una composición de PEG/CPS 1624 de la presente invención.

La FIG. 16b representa una vista lateral transversal de la realización 1600 de esta invención tal como se muestra en la FIG. 16a. Se muestran dos vértebras adyacentes. Se muestra que los cuerpos vertebrales 1604 se conectan entre sí mediante un anillo 1618. Las apófisis espinales dorsales 1608 se representan a modo de orientación. El núcleo se ha perdido, y en su lugar, se muestra la bolsa 1620 rellena con una composición de PEG/CPS 1624 de la presente invención.

Ejemplo 13: Usos como reemplazos para el núcleo del disco intervertebral III

45 Se presenta un paciente con daño o degeneración de un núcleo de un disco intervertebral. El paciente se anestesia con anestésicos locales o generales y una se descubre una parte de la columna vertebral. Se localiza el lugar del daño, y el anillo se evalúa para determinar su integridad. Si no hay un orificio satisfactorio en el anillo, se realiza una pequeña incisión en el anillo. Se introducen múltiples sacos rellenos con PEG/CPS en un estado ya sea inflado o desinflado, dependiendo del tamaño de un orificio en el anillo de un paciente en necesidad de los mismos. Cuando el anillo está intacto, se realiza un pequeño orificio en el anillo y una pluralidad de sacos cilíndricos o esféricos se introduce en el espacio intervertebral. El eje o ejes longitudinales de un saco cilíndrico se alinea paralelo a la dirección de la carga, y los sacos se rellenan a continuación con una composición de PEG/CPS de la presente invención, y las composiciones se dejaron polimerizar.

5 Las **FIGs. 17a y 17b** representan una realización alternativa **1700** de la presente invención. La **FIG. 17a** representa una vista superior de una vértebra con un cuerpo vertebral **1604**, apófisis espinales dorsales **1608** y apófisis espinosas laterales **1612**. Se representa el conducto espinal **1616**. El anillo **1618** se muestra y en la localización en la que el núcleo se había perdido tiene una pluralidad de pequeñas bolsas con zonas exteriores **1504** y rellenas con composiciones de PEG/CPS **1512** de la presente invención.

10 La **FIG.17b** representa una vista de corte transversal lateral de la realización **1700** tal como se muestra en la **FIG. 17a**. Se muestran dos vértebras adyacentes. Se muestra que los cuerpos vertebrales **1604** de cada vértebra conectan entre sí a través de un anillo **1618**, definiendo un espacio en el lugar en donde se ha perdido el núcleo pulposo. Se muestran una pluralidad de bolsas con zonas exteriores **1504** rellenas con una composición de PEG/CPS **1512** de la presente invención.

Ejemplo 14: Usos como reemplazos para el núcleo del disco intervertebral IV

15 Se presenta un paciente con daño o degeneración de un núcleo de un disco intervertebral. El paciente se anestesia con anestésicos locales o generales y una parte de la columna vertebral se descubre. Se localiza el lugar del daño, y el anillo se evalúa para determinar su integridad. Si no existe un orificio satisfactorio en el anillo, se realiza una pequeña incisión y uno o más sacos cilíndricos se introducen en el espacio intervertebral, dentro del anillo. Una vez que se ha introducido de este modo, cada saco se rellena a continuación con una composición de PEG/CPS de la presente invención. A continuación, un saco mayor desinflado se introduce en el espacio intervertebral y se sitúa cerca del orificio en el anillo. Una vez posicionado, una composición de PEG/CPS de la presente invención se introduce en el saco y se deja polimerizar. Este saco "obturador" permanece entonces dentro del anillo y tapona el orificio en el anillo para minimizar la extrusión de los sacos más pequeños a través del orificio.

20 La **FIG. 18** representa una vista superior de una realización alternativa **1800** de la presente invención. Se muestra una vértebra con un cuerpo vertebral **1604**, apófisis espinosas dorsales **1608** y apófisis espinosas laterales **1612**. También se muestra el conducto espinal **1616**. Se representa el anillo **1618** con un defecto u orificio **1802**. También se muestra una pluralidad de bolsas con zonas exteriores **1504** rellenas con una composición de PEG/CPS **1512** de la presente invención. También se representa una bolsa **1500** rellena con PEG/CPS que ocluye el defecto **1802**, reduciendo de este modo la probabilidad de que las bolsas sean extruidas.

Puede apreciarse que en los ejemplos anteriores, puede utilizarse una forma esférica, cilíndrica o cualquier otra forma cerrada.

30 Los ejemplos anteriores se proporcionan con propósitos de ilustración de realizaciones específicas de la presente invención. Los expertos en el arte habitual pueden producir fácilmente otras realizaciones basadas en los contenidos de la presente solicitud sin excesiva experimentación. Todas esas realizaciones se incluyen dentro del alcance de la presente invención.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición de PEG/CMC implantable biológicamente compatible, que comprende:
  - una carboximetilcelulosa (CMC); y
  - 5 un polietilenglicol (PEG) con una fracción de epóxido, dicho PEG ligado a dicha CMC a través de una reacción de adición por catálisis básica utilizando  $\text{NH}_4\text{OH}$  de dicha fracción de epóxido en una fracción de carboxilo o hidroxilo de dicha CMC, en donde la relación de las unidades de repetición de CMC (CMAG) con respecto a las unidades se encuentra en el rango de 0,5 a 30.
2. Composición de PEG/CMC implantable biológicamente compatible según la reivindicación 1, que comprende CMC y PEG ligados mediante un enlace éter o un enlace éster en un medio o suspensión acuosos.
- 10 3. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, que además comprende un fármaco.
4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha composición es una membrana, una perla, esfera sólida o esponja.
5. Composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicha composición de PEG/CMC es una partícula de PEG/CMC en un gel acuoso de PEG/CMC.
- 15 6. Composición de PEG/CMC según la reivindicación 1, encapsulada dentro de un saco o bolsa biocompatible.
7. Método para elaborar una composición de PEG/CMC, que comprende las etapas de:
  - seleccionar una CMC;
  - seleccionar un éter diglicídico de polietilenglicol (PEGDGE);
  - 20 mezclar dicha CMC y dicho PEGDGE en solución acuosa bajo condiciones de catálisis básica utilizando  $\text{NH}_4\text{OH}$ ; en donde la relación de las unidades de repetición de CMC (CMAG) con respecto a las unidades de epóxido se encuentra en el rango de 0,5 a 30,
  - permitir que dicha composición de PEG/CMC se forme; y
  - aislar dicha composición de PEG/CMC
- 25 8. Composición de PEG/CMC según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso como un polímero implantable.
9. Composición de PEG/CMC según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en aplicaciones médicas.
10. Composición para su uso según la reivindicación 9, en donde dicha aplicación médica es para rellenar un hueso óseo.
- 30 11. Composición para su uso según la reivindicación 10, en donde dicho hueso óseo se encuentra en el espacio intervertebral y dicha composición se introduce en el espacio intervertebral.
12. Composición para su uso según la reivindicación 9, en donde dicha aplicación médica es para propósitos de lubricación o anti-adhesión.

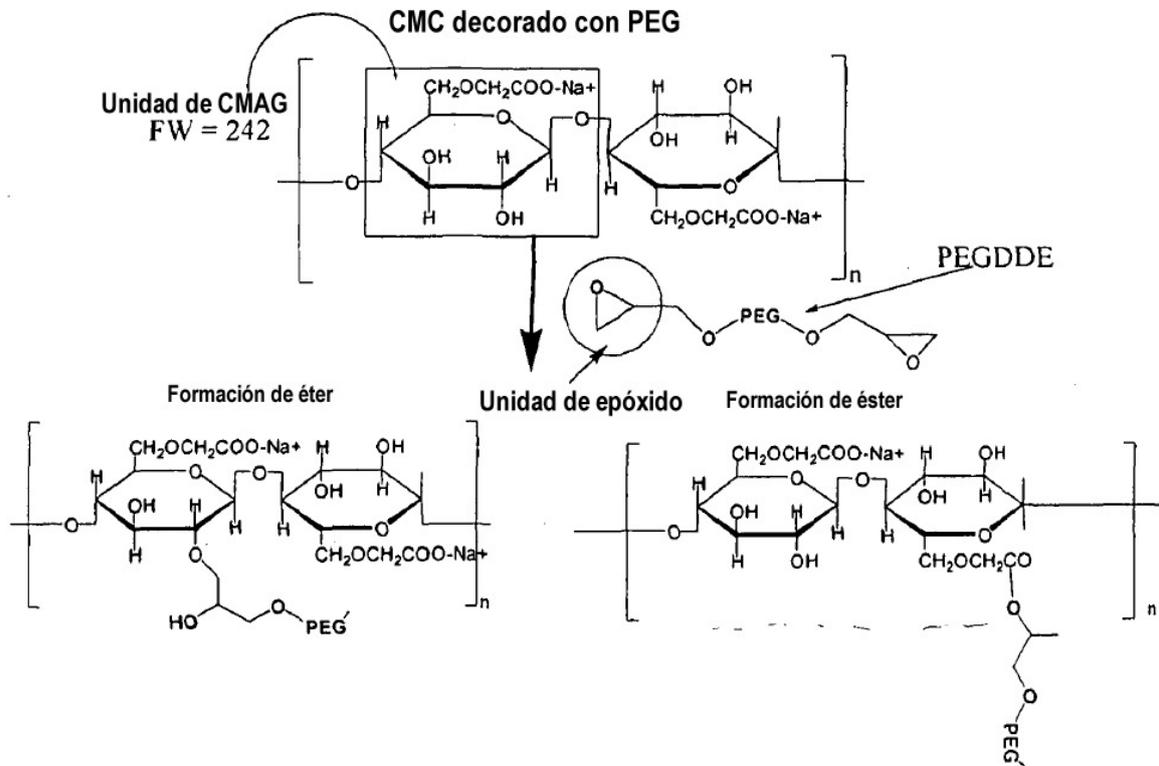


FIG. 1

**CMC Reticulado con PEG**

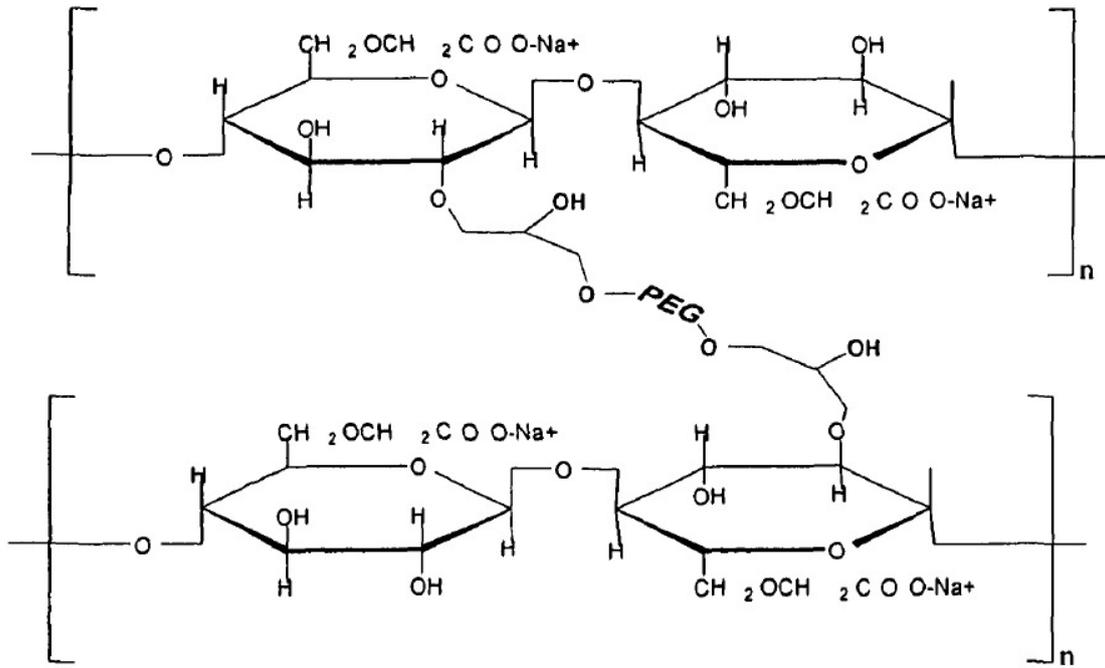


FIG. 2

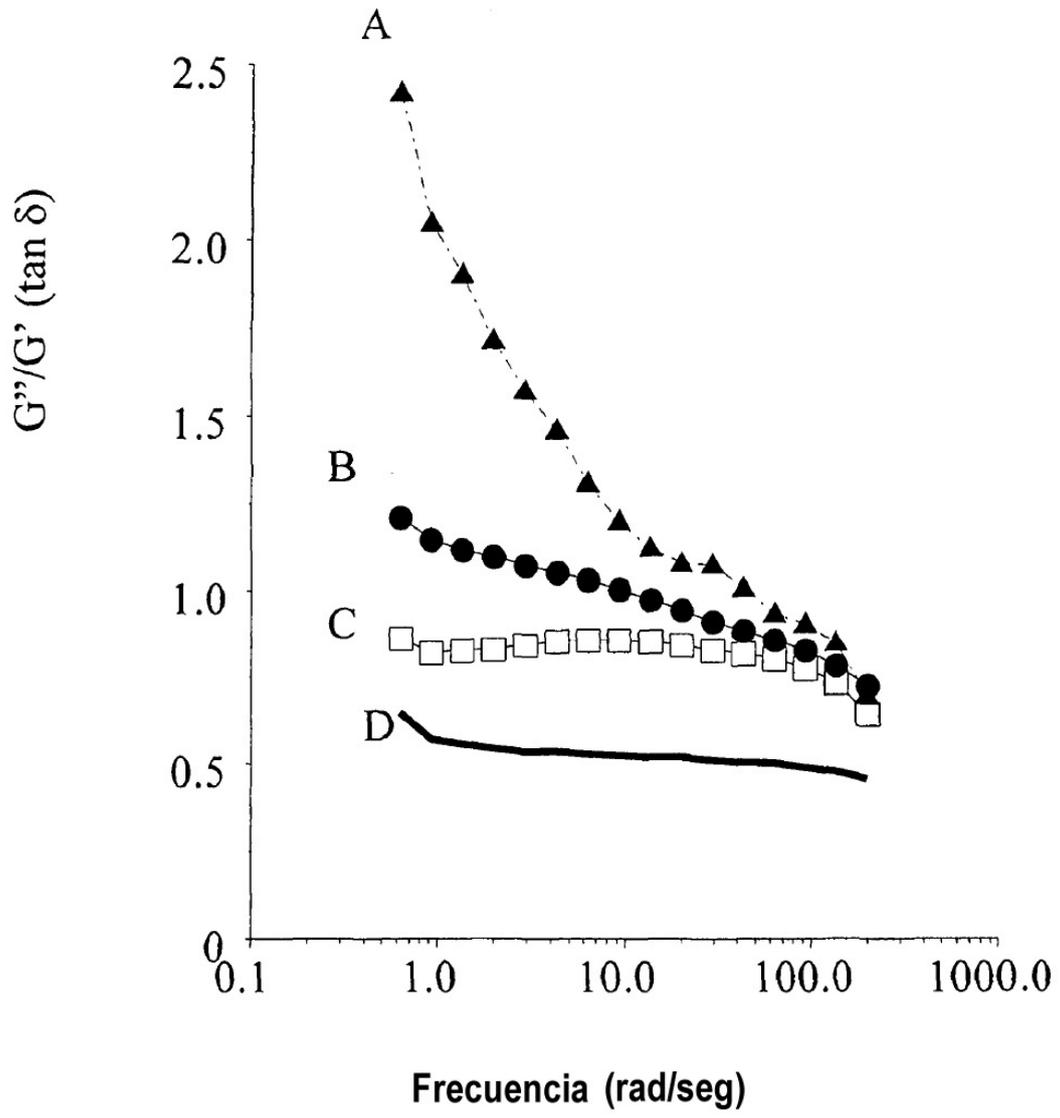


FIG. 3

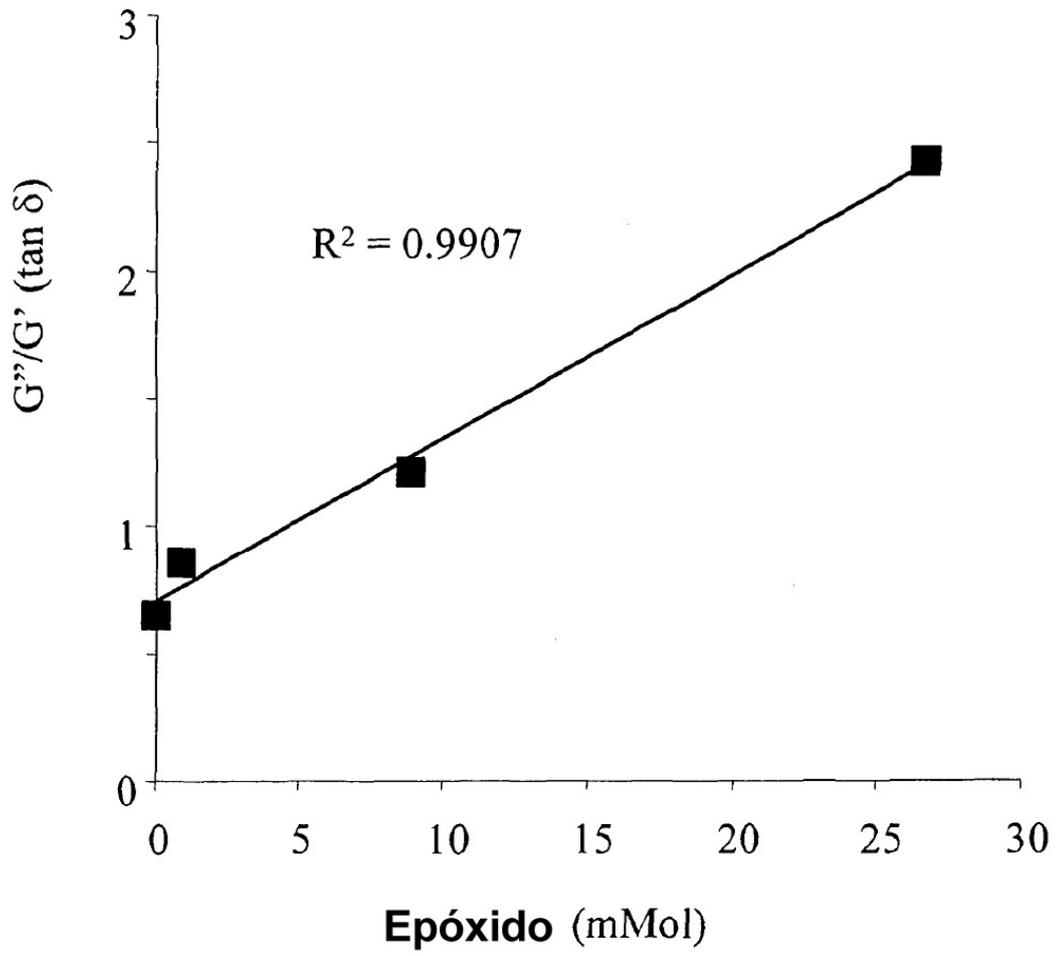


FIG. 4

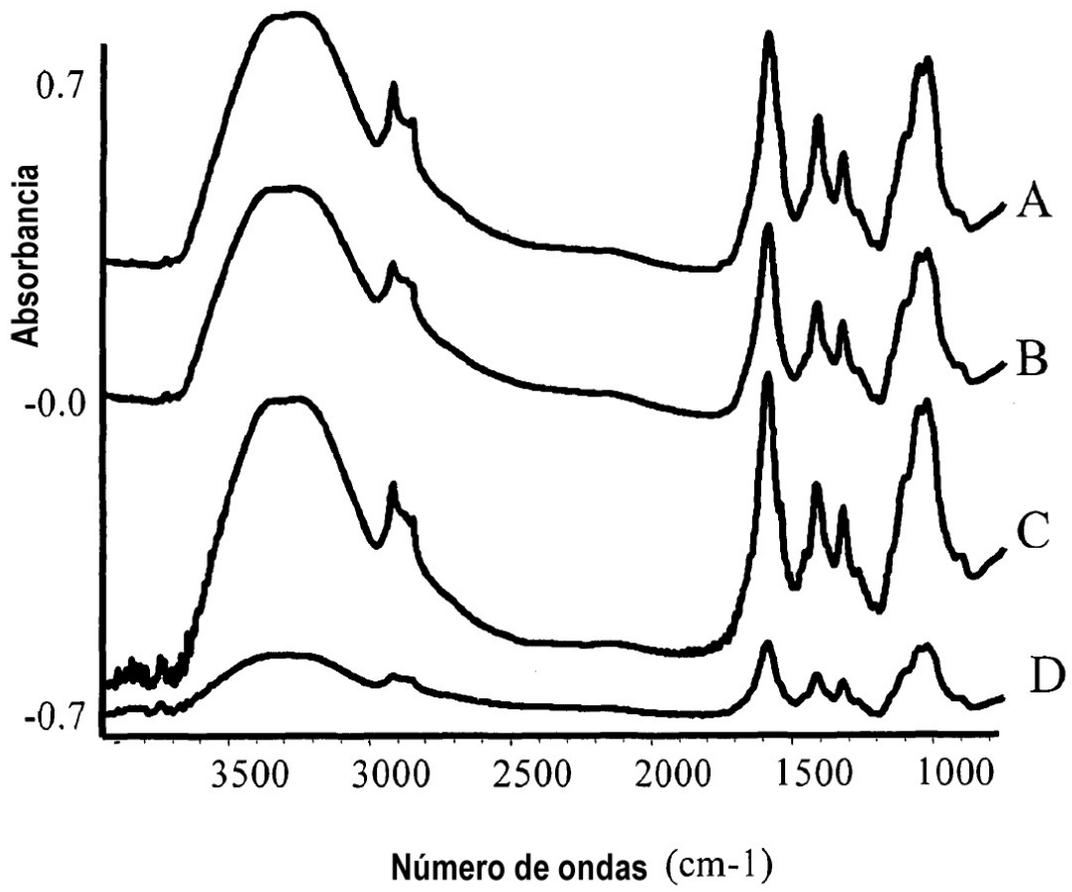


FIG. 5

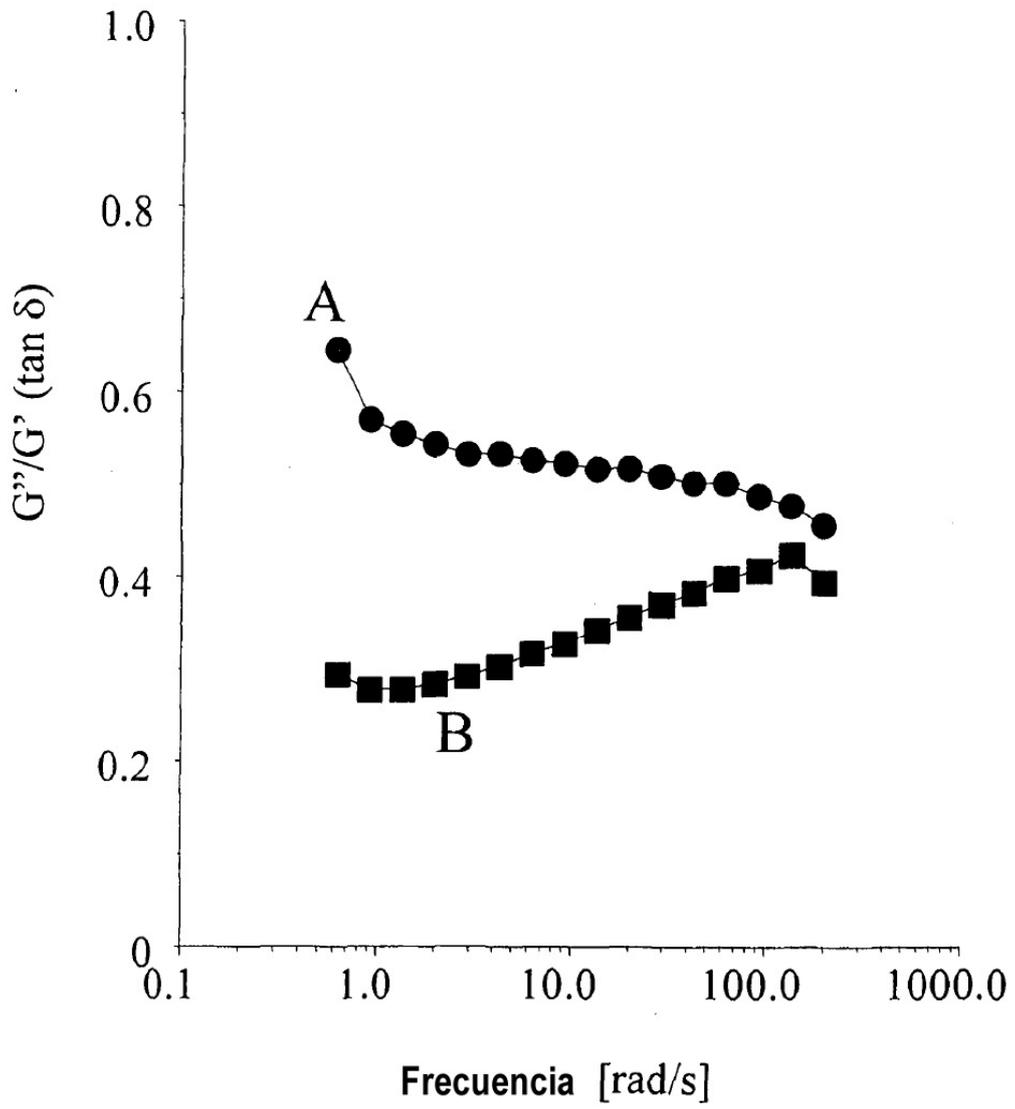


FIG. 6

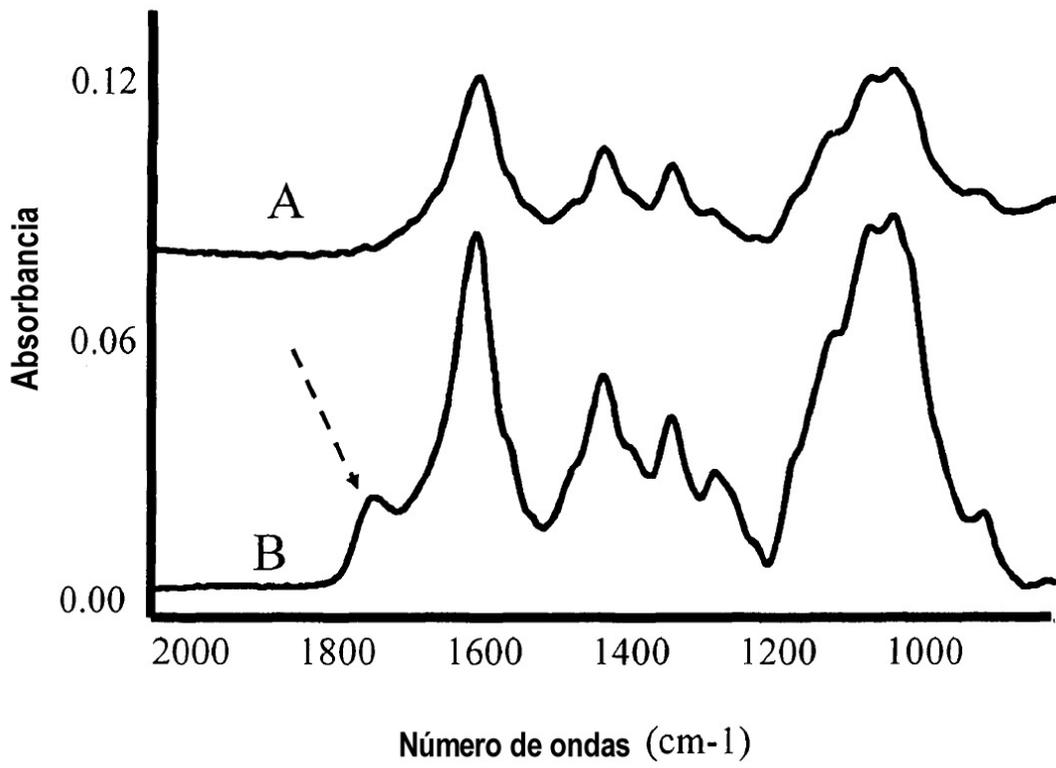


FIG. 7

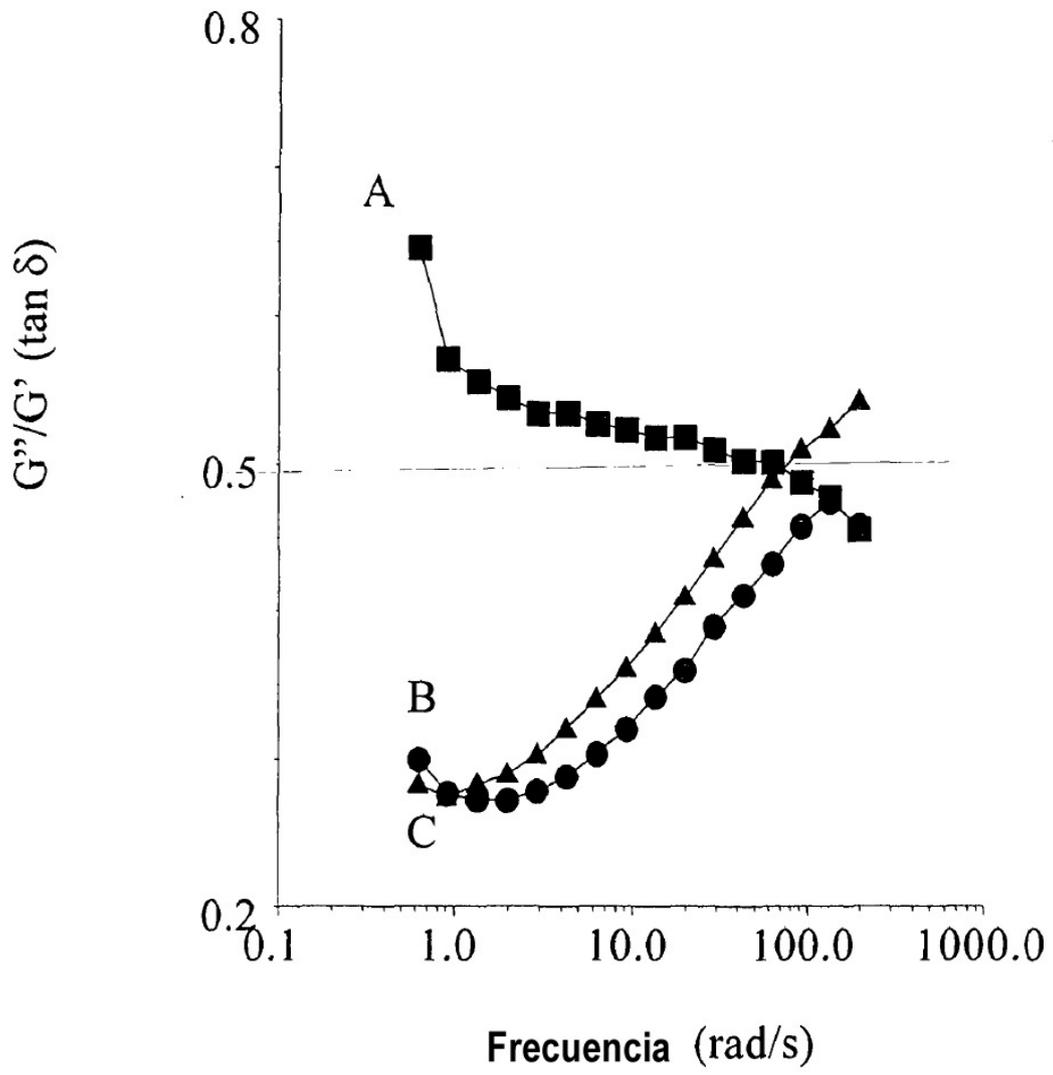


FIG. 8

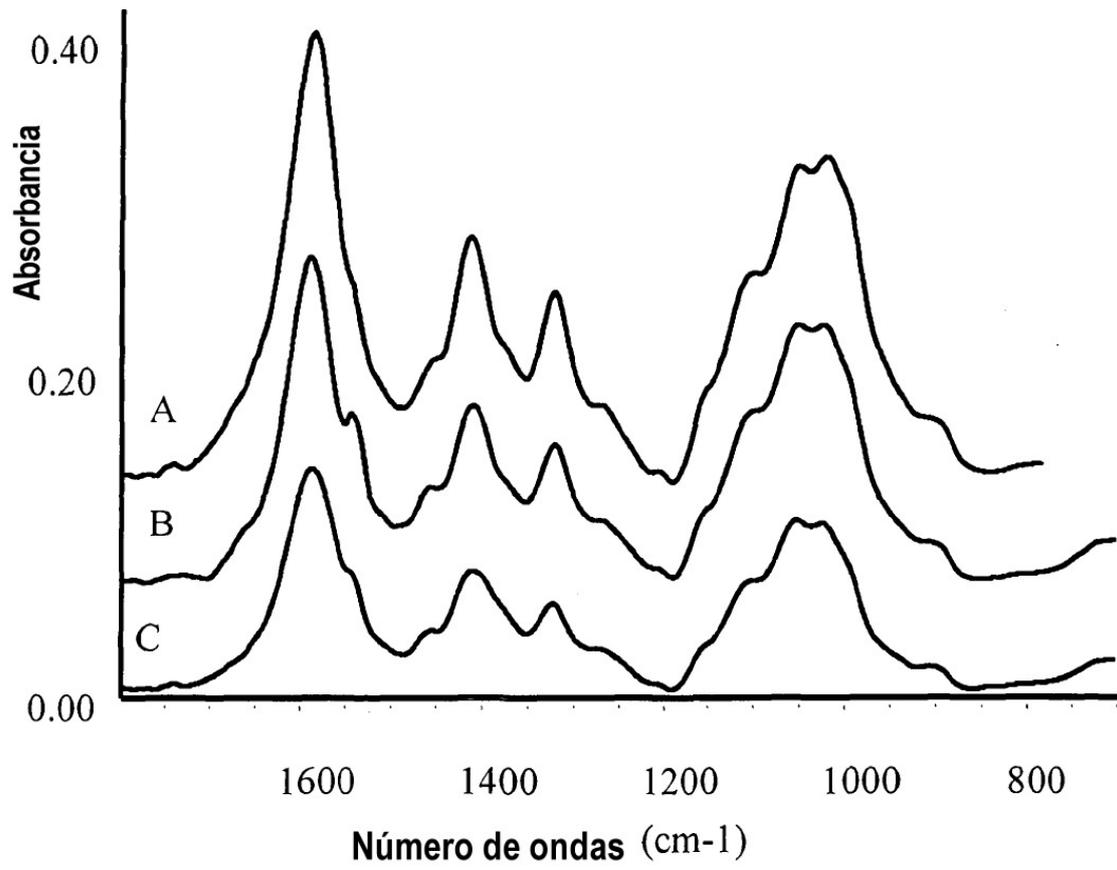


FIG. 9

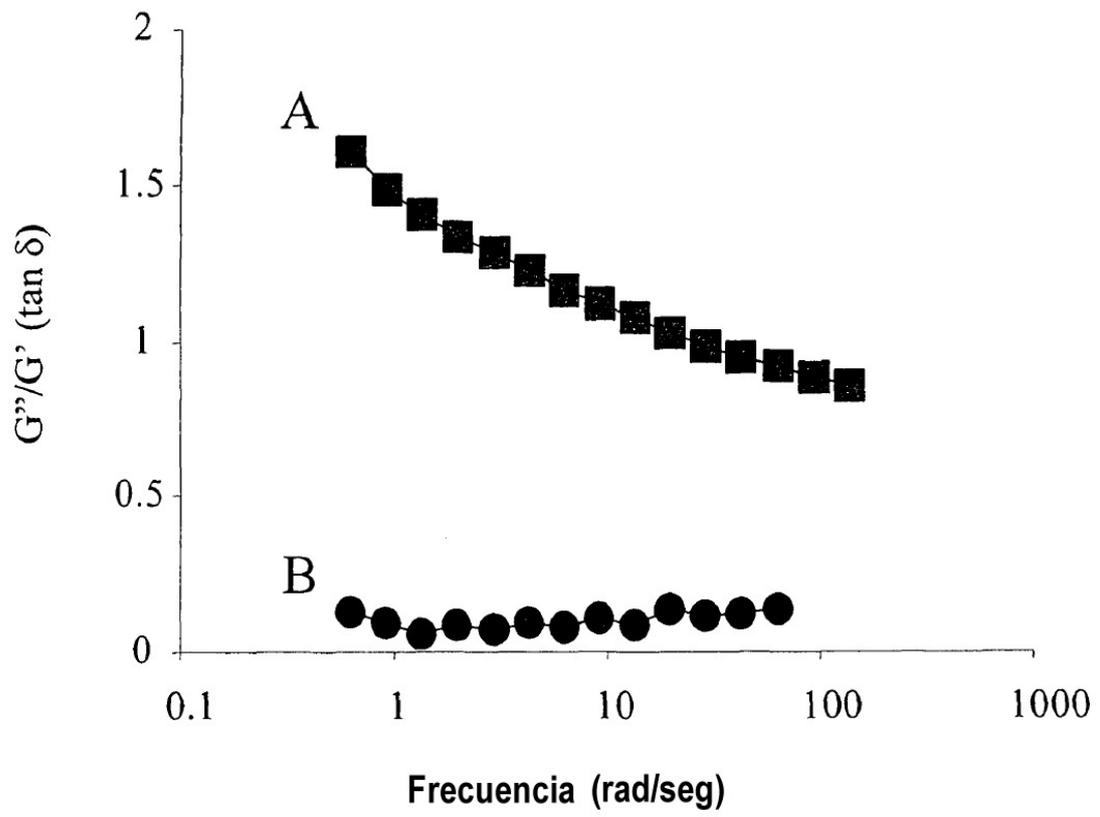


FIG. 10

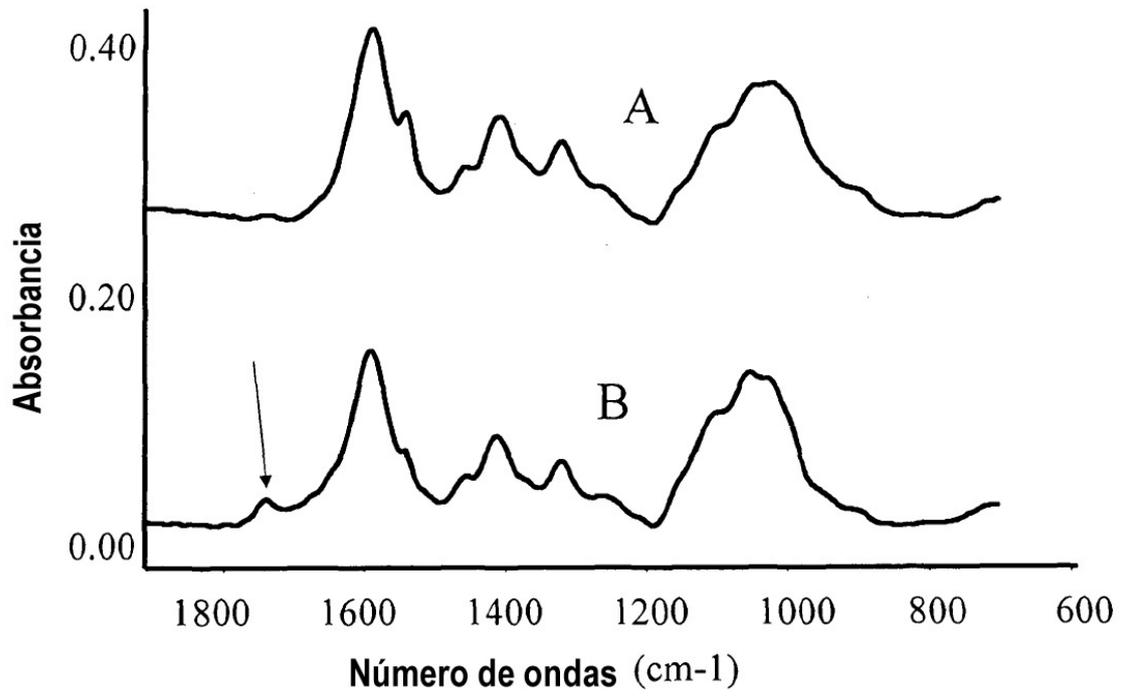
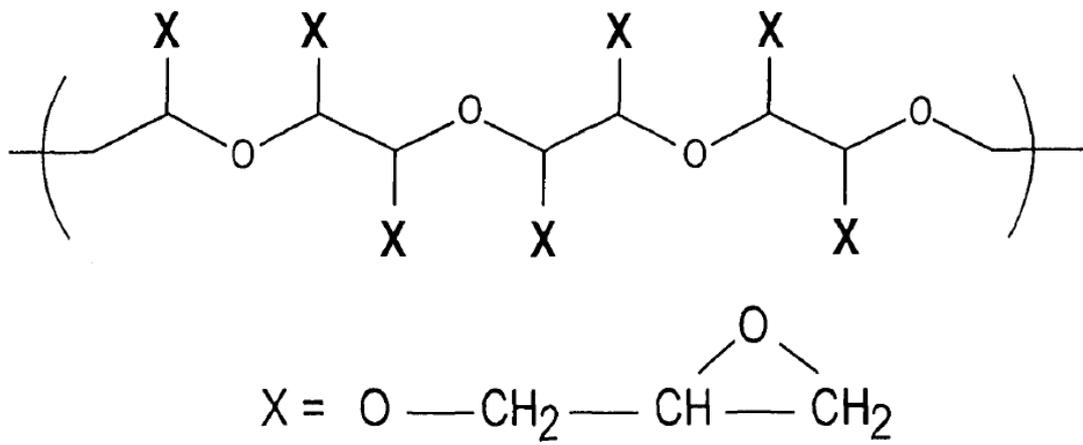
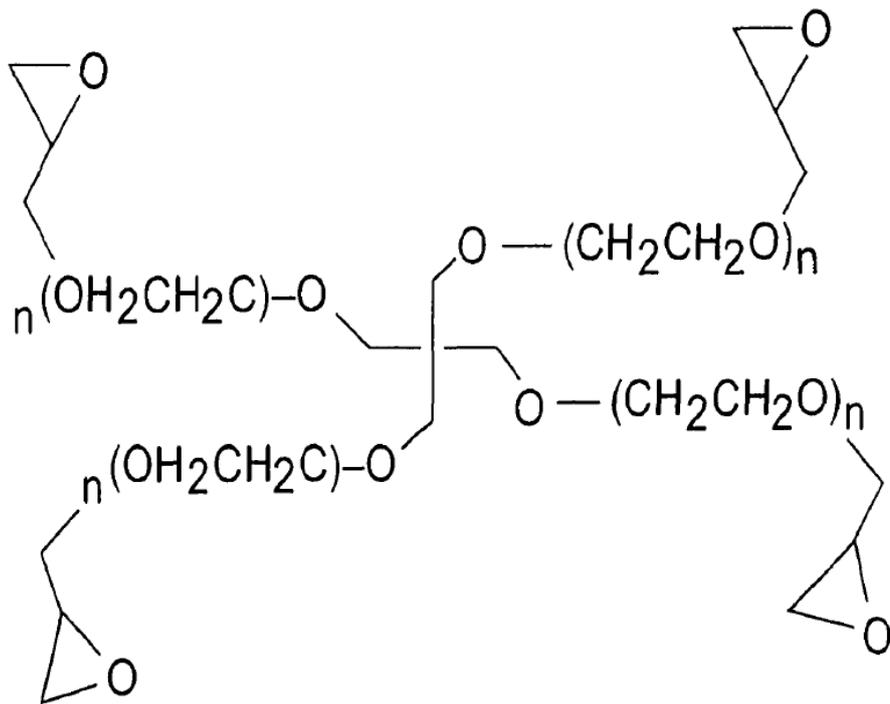


FIG. 11



**FIG. 12**



**FIG. 13**

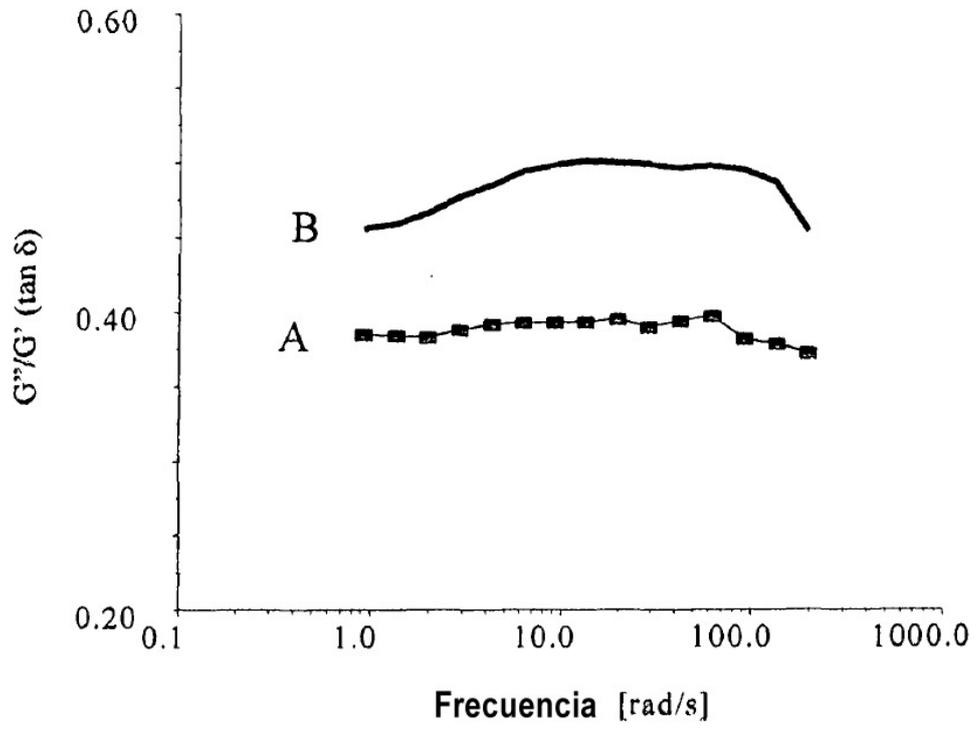
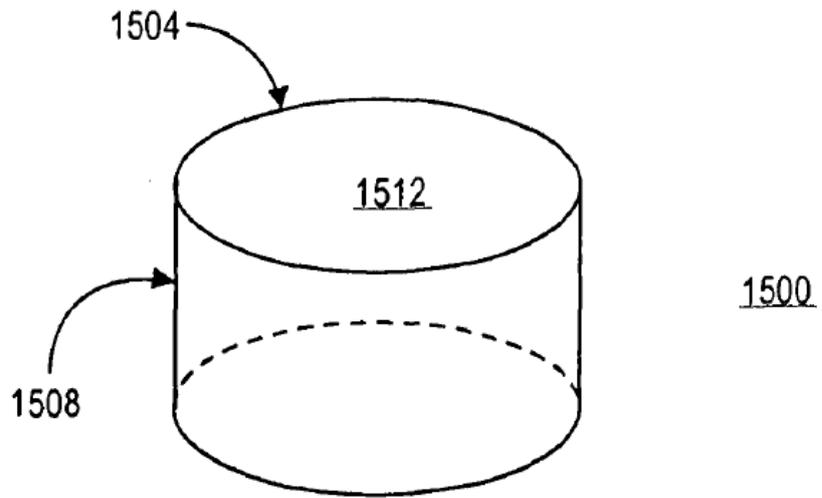
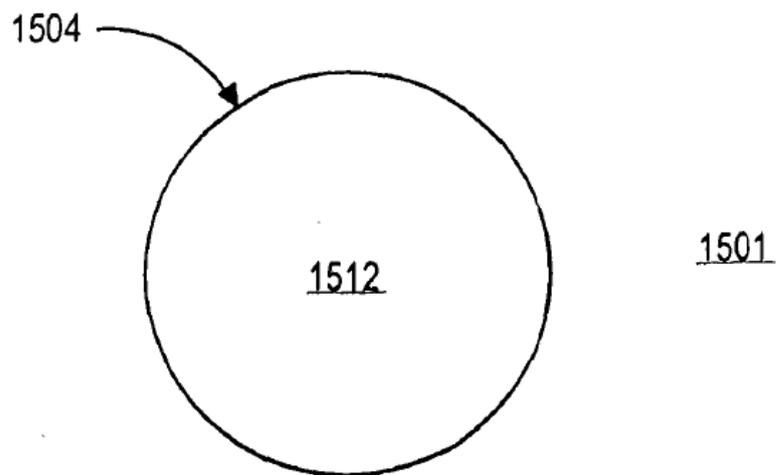


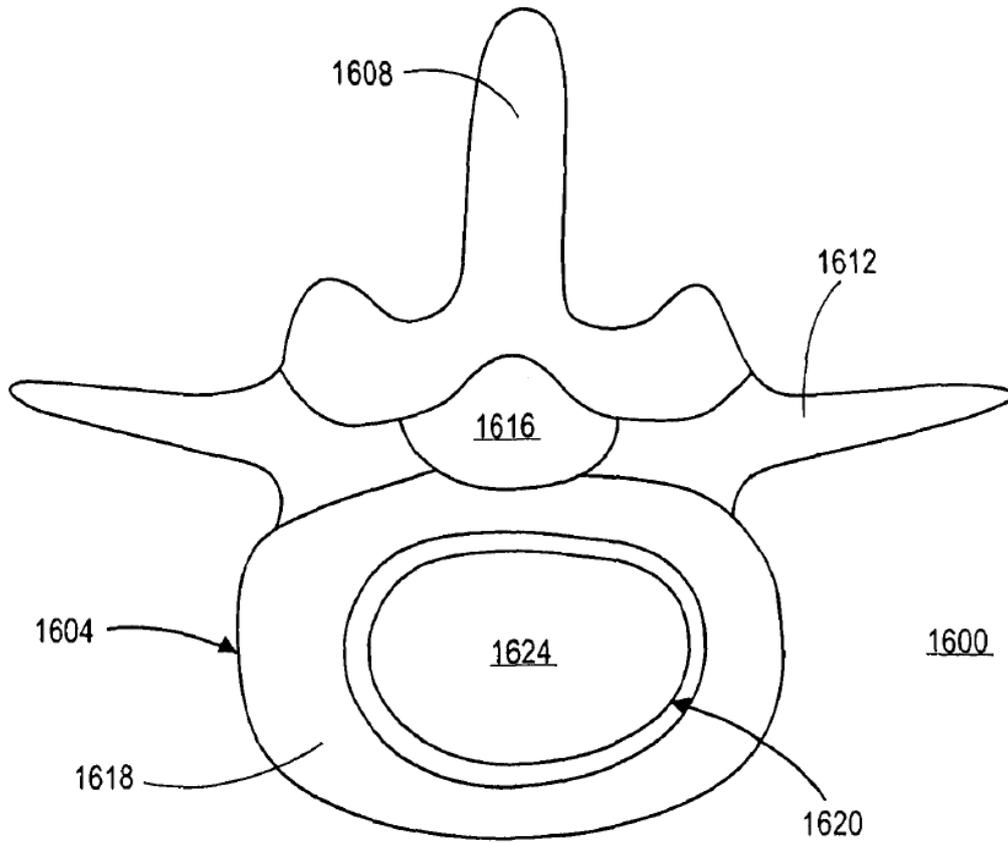
FIG. 14



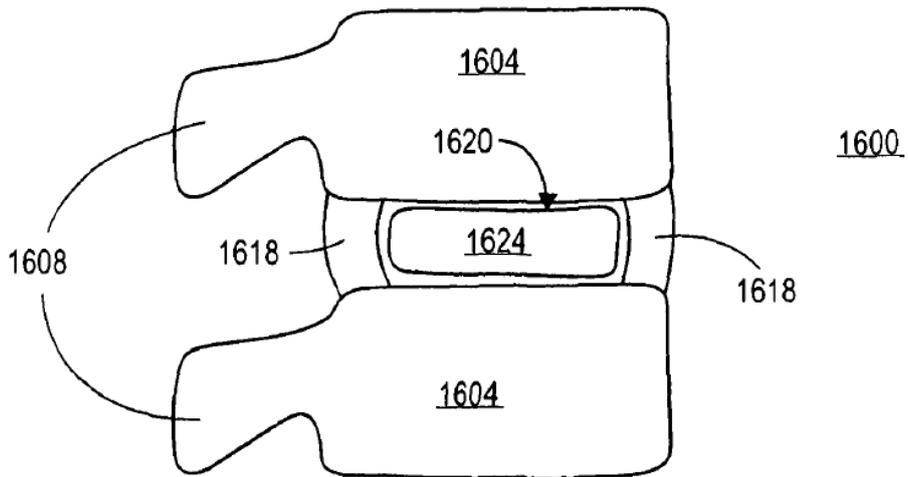
**FIG. 15A**



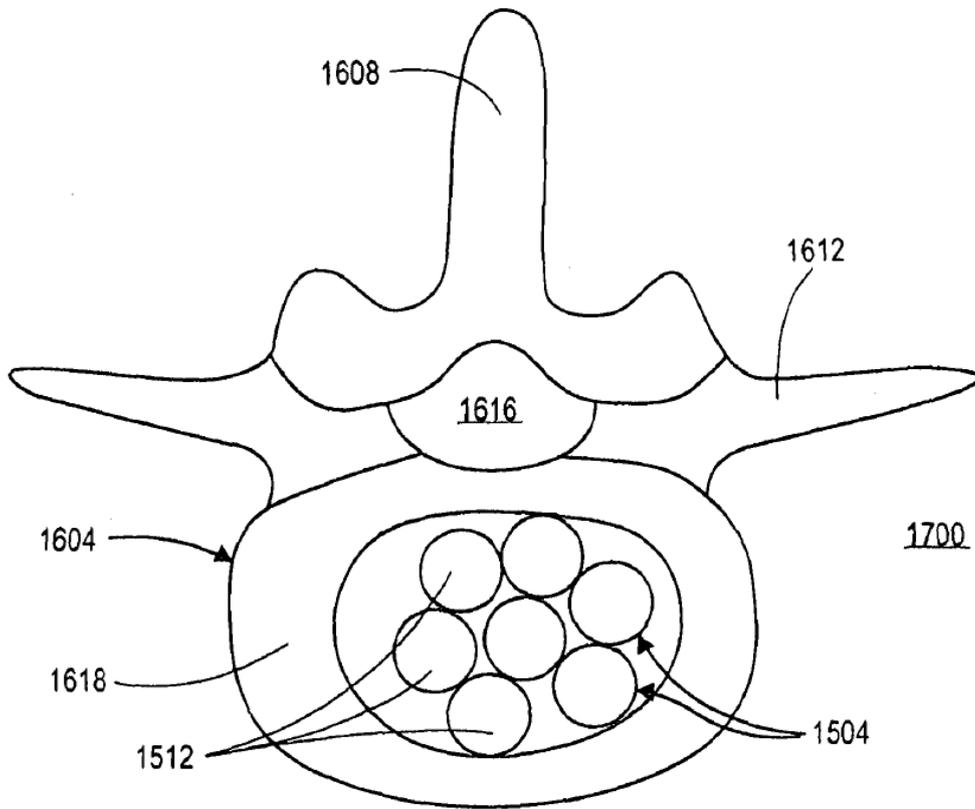
**FIG. 15B**



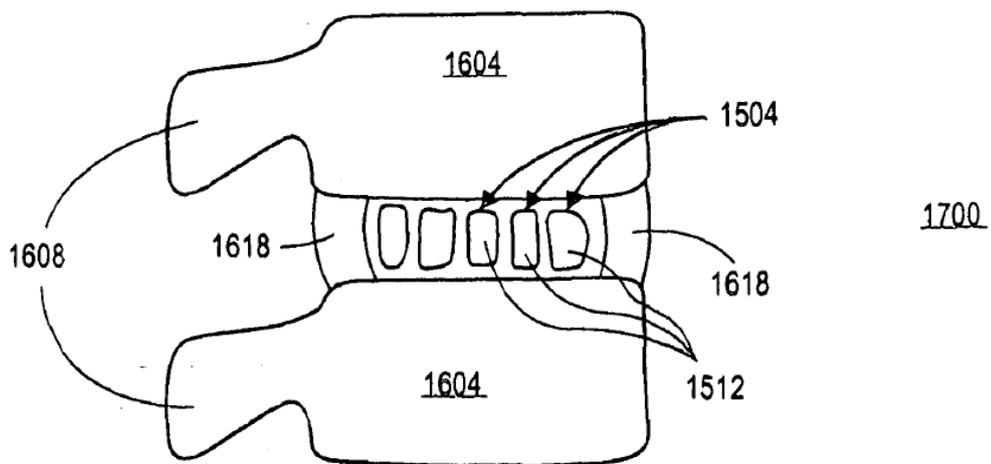
**FIG. 16A**



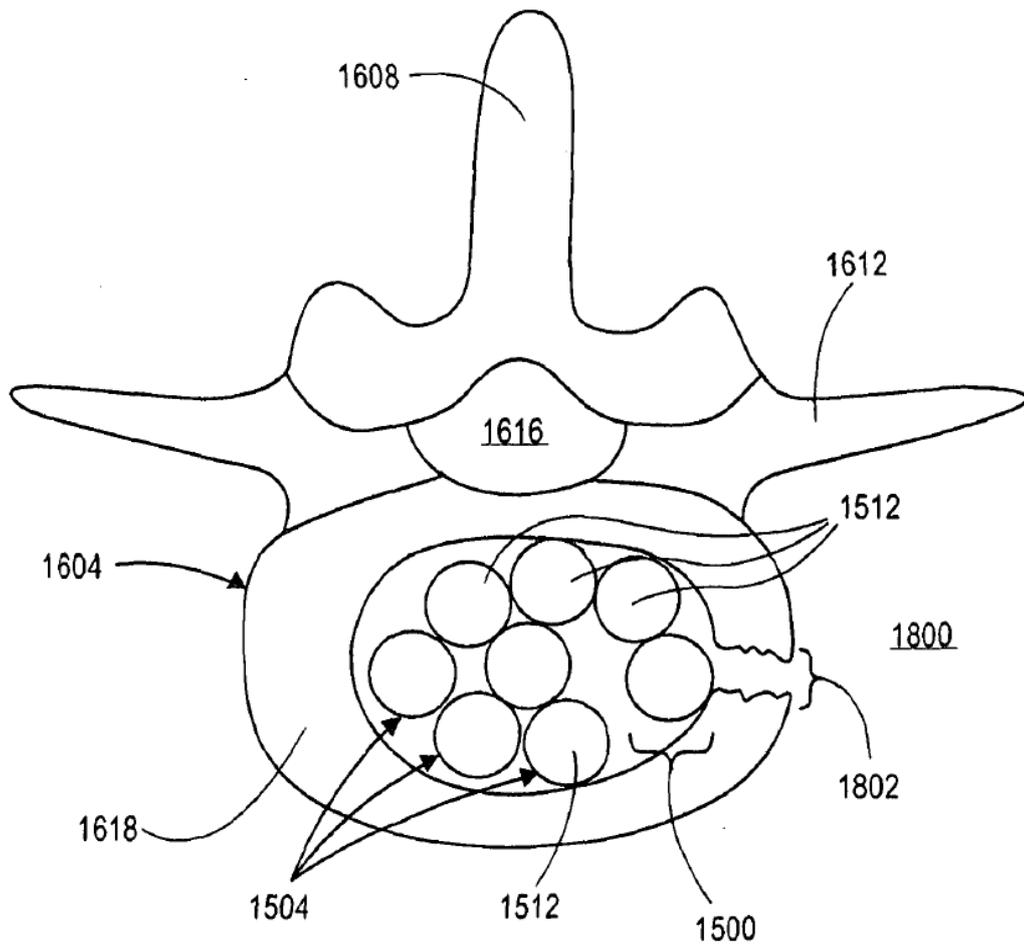
**FIG. 16B**



**FIG. 17A**



**FIG. 17B**



**FIG. 18**