

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 004**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/60** (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2012 E 12152996 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.06.2017 EP 2481426**

54 Título: **Métodos para preparar polímeros reticulados unidos a agentes terapéuticos**

30 Prioridad:

**31.01.2011 US 201113017287**

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

**02.10.2017**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**OHRI, RACHIT;  
BLASKOVICH, PHILIP;  
KENNEDY, JOSHUA;  
BENNETT, STEVEN L. y  
DRISCOLL, ARTHUR**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 635 004 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

Métodos para preparar polímeros reticulados unidos a agentes terapéuticos

### Antecedentes

Campo técnico

- 5 La presente divulgación se refiere en general a métodos para preparar polímeros reticulados formados a partir de al menos dos precursores, y más particularmente a polímeros reticulados en los que el reticulante o uno de los precursores es un agente terapéutico que puede ser liberado en su forma original no modificada después de la degradación del material polimérico.

Antecedentes de la técnica relacionada

- 10 En el campo de la medicina ha habido un reconocimiento creciente de los beneficios de la utilización de polímeros reticulados y biomateriales para el tratamiento de enfermedades locales. Las enfermedades locales son enfermedades que se manifiestan en sitios locales dentro del cuerpo animal o humano vivo, por ejemplo arteriosclerosis, adhesiones posoperatorias, artritis reumatoide, cáncer y diabetes. En la farmacoterapia y los tratamientos quirúrgicos de estas enfermedades se pueden utilizar polímeros reticulados.
- 15 Históricamente, muchas enfermedades locales han sido tratadas mediante una administración sistémica de fármacos. En esta propuesta, con el fin de alcanzar niveles terapéuticos de fármacos en sitios de enfermedades locales, los fármacos son suministrados (administración por vía oral o inyección) en una alta concentración sistémica, frecuentemente con efectos secundarios adversos. Alternativamente se pueden utilizar polímeros reticulados o biomateriales implantados localmente como excipientes para suministrar fármacos o agentes terapéuticos a sitios locales dentro del cuerpo, reduciendo de este modo la necesidad de la administración sistémica
- 20 de altas concentraciones de dichos fármacos o agentes terapéuticos.

- 25 Sin embargo, después de la degradación de dichos polímeros reticulados o biomateriales implantados localmente, el fármaco o agente terapéutico puede ser liberado como una molécula modificada. Aunque la liberación de una molécula de fármaco modificada puede proporcionar un cierto efecto terapéutico, sería beneficioso proporcionar polímeros reticulados o biomateriales que, al degradarse, liberen un fármaco o agente terapéutico en su forma original no modificada, por ejemplo sin casquete terminal, lo que puede maximizar el efecto terapéutico del agente.

- 30 Además, si un precursor del polímero o biomaterial es en sí mismo el agente terapéutico [por ejemplo el agente reticulante], el mecanismo de liberación local prolongada está incorporado en el polímero reticulado o biomaterial implantado. Cuando el polímero reticulado se va degradando con el paso del tiempo, el agente terapéutico será liberado de forma prolongada.

El documento WO2007/098466A describe reactivos poliméricos biodegradables segmentados adecuados para reaccionar con agentes biológicamente activos con el fin de formar conjugados.

- 35 Seongbong Jo *et al.* en Biomacromoleculas vol. 2, páginas 255-261 (2001) describen la modificación de un oligo(polietilenglicol) fumarato acoplado el mismo con un tetrapéptido específico que es conocido por modular funciones celulares.

El documento WO02/102864A describe composiciones reticulables que son reticulables *in situ* para formar materiales biocompatibles. Las composiciones comprenden un primer componente polinucleófilo, un segundo componente polielectrófilo y un tercer componente que es reactivo con el primer o con el segundo componente.

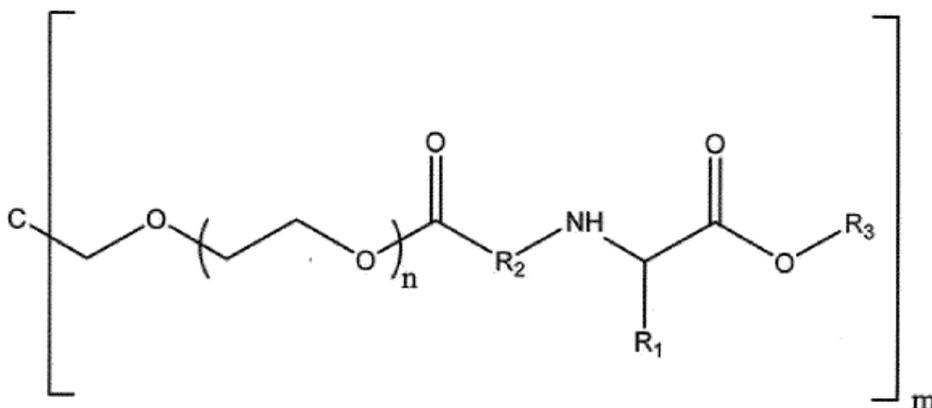
- 40 El documento WO2010/019233A describe moléculas de conjugado de fármaco polimérico que tienen un núcleo, múltiples brazos que comprenden grupos polioxietileno que se extienden desde el núcleo, y fracciones de fármaco unidas mediante enlaces éster con los extremos de los brazos.

### Compendio

- 45 Por consiguiente, la presente divulgación describe métodos para preparar polímeros reticulados o biomateriales formados por al menos dos precursores, siendo uno de los precursores un agente terapéutico que puede ser liberado en una forma no modificada después de la degradación del polímero reticulado o biomaterial.

Específicamente, la presente invención proporciona un método para preparar un polímero reticulado que comprende un agente terapéutico, que comprende las etapas consistentes en:

proporcionar un precursor de polímero que comprende una fórmula:



en donde:

$1 \leq n \leq 20.000$ ;

m es de 2 a 16;

5 C= representa una molécula de núcleo que es un compuesto polihidroxi no tóxico;

$R_1 = H$ , o una cadena lateral de alfa-aminoácido natural;

$R_2 =$  un grupo C1-C20 alquileo, un grupo arileno sustituido o no sustituido, o un péptido; y

$R_3 =$  un grupo activador seleccionado entre N-succinimidilo o N-sulfosuccinimidilo; y

10 someter a reacción el precursor de polímero con una molécula terapéutica que contiene al menos dos grupos amino primarios colgantes para formar dicho polímero reticulado.

Apropiadamente,  $R_1$  comprende una cadena lateral de aminoácido natural que se encuentra en proteínas y que se selecciona entre el grupo consistente en  $CH_3$ ,  $CH_2-OH$ ,  $CH_2-CH(CH_3)_2$ ,  $CH_2-CH_2-CO_2H$ ,  $CH_2-CH_2-S-CH_3$ ,  $CH_2-SH$ ,  $CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2$ ,  $CH_2-CH_2-CO-NH_2$ ,  $CH_2-CO_2H$ ,  $CH_2-CO-NH_2$ ,  $CH(CH_3)_2$ ,  $C_8H_6N_1-CH_2$ ,  $CH(OH)CH_3$ ,  $C_6H_5-CH_2$ ,  $CH_2-C_6H_5-OH$ ,  $CH_2-CH_2-CH_2-NH-C(NH)(NH_2)$ ,  $CH_2-C_3H_3N_2$ ,  $(CH_2)_2-CH-OH-CH_2-NH_2$ ,  $CH_2-(C_6H_2I_2)-O-(C_6H_2I_2)-OH$ ,  $CH_2-(C_3H_2N_2)-CH_3$ ,  $CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ ,  $CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-N-(CH_3)_3$ ,  $CH_2-CH_2-CH_2-CO_2H$ ,  $CH-(CH_3)-O-P-(O)(OH)_2$ ,  $CH_2-C_6H_4-O-P-(O)(OH)_2$ ,  $CH_2-CH_2-CH_2-NH-C(NH)(NH-CH_3)$ ,  $CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-NH-C(O)(CH_3)$ .

En otras realizaciones,  $R_1$  comprende una cadena lateral de aminoácido natural que no se encuentra en proteínas y que se selecciona entre el grupo consistente en  $CH_2-CH_2-OH$ ,  $CH_2-CH_2-SH$ ,  $CH_2-O-CO-CH=N=N$ ,  $CH_2-S-CH(NH_2)(CO_2H)$ ,  $CH(OH)(C_6H_5)$ ,  $C(SH)(CH_3)_2$ ,  $CH_2-CH_2-CH_2-NH_2$ ,  $CH_2-CH_2-CH_2-NH-C(O)(NH_2)$ .

20 Apropiadamente,  $R_2$  es un grupo C1-C20 alquilo.

Apropiadamente, la molécula de núcleo se selecciona entre el grupo que consiste en glicerol, pentaeritritol y sorbitol. Más apropiadamente, la molécula de núcleo comprende pentaeritritol.

Apropiadamente, la molécula terapéutica es una proteína, un péptido o un aminoácido.

25 En otro aspecto, la presente invención proporciona un polímero reticulado que comprende un agente terapéutico, pudiendo obtenerse el polímero reticulado mediante un método de acuerdo con la invención.

### Breve descripción de los dibujos

La FIGURA 1 ilustra la química de polimerización no correspondiente a la presente invención consistente en combinar un primer y un segundo precursores de polímero para formar un polímero reticulado y la degradación del polímero reticulado.

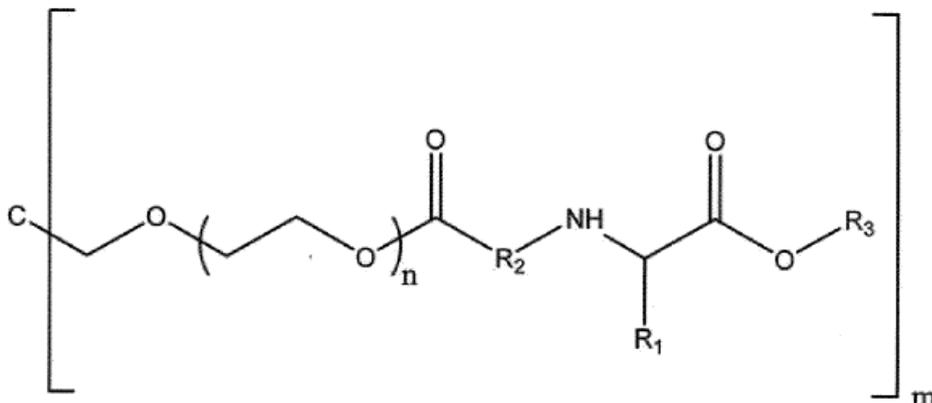
30 La FIGURA 2 ilustra la química de polimerización de acuerdo con la presente invención consistente en combinar un primer y un segundo precursores de polímero para formar un polímero reticulado y la degradación del polímero reticulado.

La FIGURA 3 ilustra un método de síntesis de los precursores de polímero descritos en la presente memoria.

### Descripción detallada

La presente invención proporciona un método para preparar un polímero reticulado que comprende un agente terapéutico, que comprende las etapas consistentes en:

proporcionar un precursor de polímero que comprende una fórmula:



5 en donde:

$1 \leq n \leq 20.000$ ;

m es de 2 a 16;

C= representa una molécula de núcleo que es un compuesto polihidroxi no tóxico;

$R_1 = H$ , o una cadena lateral de alfa-aminoácido natural;

10  $R_2 =$  un grupo C1-C20 alquileo, un grupo arileno sustituido o no sustituido, o un péptido; y

$R_3 =$  un grupo activador seleccionado entre N-succinimidilo o N-sulfosuccinimidilo; y

someter a reacción el precursor de polímero con una molécula terapéutica que contiene al menos dos grupos amino primarios colgantes para formar dicho polímero reticulado.

Los precursores de polímero no son tóxicos y son biológicamente aceptables.

15 La molécula terapéutica también se designa en la presente memoria como "reticulante". Después de la degradación de los polímeros reticulados, el reticulante puede ser liberado en su forma original no modificada.

En algunas realizaciones, las reacciones de reticulación se producen en una solución acuosa bajo condiciones fisiológicas. En determinadas realizaciones, las reacciones de reticulación se producen "in situ", lo que significa que se producen en sitios locales, tal como sobre órganos o tejidos en un cuerpo animal o humano vivo. En otras realizaciones, las reacciones de reticulación no liberan calor de polimerización. En otras realizaciones, las reacciones de reticulación conducen a una gelificación en un plazo de 10 minutos, en particular en un plazo de 2 minutos, más particularmente en un plazo de un minuto y de forma totalmente particular en un plazo de 30 segundos.

25 Determinados grupos funcionales, tales como alcoholes o ácidos carboxílicos, no reaccionan normalmente con otros grupos funcionales, tales como aminas, bajo condiciones fisiológicas (por ejemplo pH 7,2-11,0, 37 °C). Sin embargo, estos grupos funcionales se pueden hacer más reactivos utilizando un grupo activador tal como N-hidroxisuccinimida, como en los polímeros precursores de la invención.

30 Tal como se muestra en las fórmulas más arriba, "n" se refiere al número de unidades repetidas dentro de la estructura del precursor, "C" representa una molécula de núcleo utilizada para formar la estructura del precursor y "m" se refiere al número de brazos o ramificaciones en la estructura del precursor. En la presente invención, "m" representa de 2 a 16 brazos en el polímero precursor. En algunas realizaciones, "m" puede representar 4 u 8 brazos.

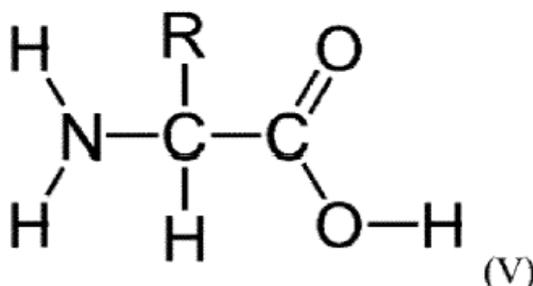
Algunos ejemplos de compuestos polihidroxi adecuados para formar el núcleo del primer precursor de polímero pueden incluir glicerol, pentaeritritol y sorbitol. En algunas realizaciones, la molécula de núcleo puede ser un polímero ramificado o un dendrímero.

35 En algunas realizaciones, "n" puede representar de 10 a 20.000.

Tal como está representado además en las fórmulas más arriba, y en la FIGURA 2, cada brazo del primer precursor de polímero incluye un primer grupo éster (O-C=O) unido a un segundo grupo éster funcionalizado (O=C-O-R<sub>3</sub>) a través de una amina secundaria (NH). Está previsto que el primer grupo éster represente un enlace hidrolíticamente inestable que pueda reaccionar con agua, haciendo que el primer precursor se separe en dos o más componentes.

5 La amina secundaria proporciona al precursor un enlace hidrolíticamente estable que puede ser estable en agua y puede no reaccionar con agua durante períodos de tiempo prolongados, potencialmente de forma indefinida. La amina secundaria se puede segmentar por medios enzimáticos y/o no enzimáticos. Es esta segmentación la que puede permitir que el segundo precursor de polímero o reticulante sea liberado del polímero en su forma original y no modificada durante la degradación.

10 En las fórmulas arriba mostradas, R<sub>1</sub> puede representar una cadena lateral de alfa-aminoácido natural. Tal como se muestra en la fórmula V, que representa la estructura química general de un aminoácido, un aminoácido tiene al menos una amina y un grupo funcional de ácido carboxílico, como su nombre indica. Las diferentes propiedades entre la amplia variedad de aminoácidos resultan de variaciones en las estructuras de diferentes grupos R. El grupo R se designa frecuentemente como la cadena lateral de aminoácido.



15 Las cadenas laterales de aminoácido pueden ser polares, no polares, ácidas, básicas o neutras. En determinadas realizaciones, R<sub>1</sub> se refiere a una cadena lateral de cualquier aminoácido natural hallado en proteínas. Algunos ejemplos incluyen la cadena lateral de uno o más de los siguientes aminoácidos: alanina, serina, leucina, ácido glutámico, metionina, cisteína, lisina, asparagina, ácido aspártico, glutamina, valina, triptófano, treonina, fenilalanina, tirosina, arginina, histidina, 5-hidroxilisina, tiroxina, 3-metilhistidina, é-n-metil-lisina, trimetil-lisina, ácido aminoadípico, ácido piroglutámico, fosfotreonina, fosfotirosina, n-metilarginina, n-acetil-lisina, y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> se puede referir a uno de los siguientes: H, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>-OH, CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>-SH, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-NH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H, CH<sub>2</sub>-CO-NH<sub>2</sub>, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>1</sub>-CH<sub>2</sub>, CH(OH)CH<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-OH, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(NH)(NH<sub>2</sub>), CH<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CH-OH-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-(C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OH, CH<sub>2</sub>-(C<sub>3</sub>H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>)-CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H, CH-(CH<sub>3</sub>)-O-P-(O)(OH)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-O-P-(O)(OH)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(NH)(NH-CH<sub>3</sub>), CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)(CH<sub>3</sub>), CH<sub>2</sub>-OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> y CH<sub>2</sub>-CH(CO<sub>2</sub>H)<sub>2</sub>.

20 En otras realizaciones, R<sub>1</sub> se puede referir a al menos una cadena lateral de un aminoácido natural que no se encuentra en proteínas. Algunos ejemplos de estos aminoácidos naturales incluyen homoserina, homocisteína, sarcosina, ácido aminobutírico, betaína, β-alanina, azaserina, 1-lantionina, 1-fenilserina, 1-cloranfenicol, cicloserina, penicilamina, ornitina y citrulina. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> se puede referir a uno de los siguientes: CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SH, CH<sub>2</sub>-O-CO-CH=N=N, CH<sub>2</sub>-S-CH(NH<sub>2</sub>)(CO<sub>2</sub>H), CH(OH)(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), C(SH)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)(NH<sub>2</sub>).

25 Está previsto que las cadenas laterales del aminoácido que representa R<sub>1</sub> puedan corresponder a la versión del enantiómero-D o del enantiómero-L de cualquiera de las cadenas laterales. Aunque la versión del enantiómero-L se puede ver más comúnmente en la naturaleza, para algunas aplicaciones las propiedades de la versión del enantiómero-D pueden ser más ventajosas que las de la versión del enantiómero-L. Por ejemplo, el enantiómero-D puede ser más estable o permitir una mayor especificidad para la segmentación enzimática.

30 Se ha de entender que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> pueden ser iguales o diferentes en cada brazo de las realizaciones con múltiples brazos descritas en la presente memoria.

35 R<sub>2</sub> se puede referir a un hidrocarburo alifático, a una estructura de base aromática, o a una combinación de los mismos. El hidrocarburo alifático es un grupo alquilo que consiste en entre 1 y 20 átomos de carbono. Por ejemplo, R<sub>2</sub> puede representar un grupo hidrocarburo alifático derivado de ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido azelaico y ácido sebáico. Las estructuras de base aromática pueden incluir al menos un grupo derivado de un hidrocarburo aromático, o hidrocarburo poliaromático (HPA). Por ejemplo, R<sub>2</sub> puede representar un grupo hidrocarburo aromático derivado de ácido benzoico, ácido salicílico o ácido acetilsalicílico en algunas realizaciones. Alternativamente, R<sub>2</sub> puede representar un grupo derivado de un hidrocarburo poliaromático tal como benzociclopropeno (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>), benzociclopropano (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>), benzociclobutadieno (C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>) y benzociclobuteno (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>), por nombrar solo algunos ejemplos.

En otras realizaciones,  $R_2$  se puede referir a una cadena peptídica. En algunas realizaciones,  $R_2$  es una cadena peptídica derivada de uno o más de los aminoácidos conocidos. En algunas realizaciones,  $R_2$  es una cadena peptídica derivada de hasta 20 aminoácidos que pueden ser iguales o diferentes. Por ejemplo,  $R_2$  se puede referir a una cadena peptídica de 1-50 residuos de aminoácido; en algunas realizaciones, 1-25 residuos de aminoácido; en otras realizaciones, 1-10 residuos de aminoácido; en otras realizaciones más, 1-5 residuos de aminoácido. Una cadena peptídica como el grupo  $R_2$  puede ayudar a la segmentación enzimática del enlace amida formado por la combinación del primer precursor de polímero con el reticulante.

Volviendo a la FIGURA 1, que representa un proceso de polimerización no correspondiente a la presente invención consistente en combinar un primer precursor de polímero funcionalizado con al menos un grupo -NHS con un segundo precursor de polímero, es decir, reticulante, funcionalizado con al menos un grupo -NH<sub>2</sub>. El proceso está representado para un brazo de un precursor de polímero con múltiples brazos. Por lo tanto, "C" representa un núcleo de un precursor de polímero ramificado. El polímero resultante incluye un enlace hidrolizable (representado dentro del recuadro de puntos). Dado que el primer precursor de polímero mostrado en la FIGURA 1 no incluye ningún enlace amida o amina secundaria, como los primeros precursores de polímero mostrados en la FIGURA 2, el primer precursor de polímero de la FIGURA 1 no es propenso a la degradación enzimática.

Como resultado de ello, después de la exposición a agua y/o hidrólisis, el polímero reticulado se degradará a través del enlace hidrolizable. Dado que el enlace hidrolizable está situado en una posición posterior con respecto a la parte del polímero reticulado derivado del reticulante, dicha degradación posibilita la liberación de un reticulante modificado o con casquete terminal o segundo precursor de polímero (representado dentro del óvalo en la FIGURA 1). En otras palabras, después de la hidrólisis, una parte del primer precursor de polímero de la FIGURA 1 permanece unida al segundo precursor de polímero de la FIGURA 1, liberando de este modo un segundo precursor de polímero modificado de la FIGURA 1.

Sin embargo, en la FIGURA 2 que representa un proceso de polimerización descrito en la presente memoria de acuerdo con la invención, que incluye combinar un primer precursor de polímero tal como se define aquí funcionalizado con al menos un grupo -NHS con una molécula reticulante terapéutica funcionalizada con al menos dos grupos -NH<sub>2</sub>. El proceso está representado para un brazo de los precursores de polímero con múltiples brazos. El polímero reticulado resultante incluye un enlace hidrolizable (representado dentro del recuadro de puntos en la FIGURA 2), un enlace amida (representado por la flecha de puntos en la FIGURA 2), y una estructura de residuo de aminoácido (representada mediante el óvalo en la FIGURA 2). Un residuo de aminoácido es una estructura que carece de un átomo de hidrógeno del grupo amino (-NH-CHR-COOH), o de un grupo hidroxilo del grupo carboxilo (NH<sub>2</sub>-CHR-CO-), o de ambos (-NH-CHR-CO-).

Después de la implantación y/o la exposición a la humedad de fluidos corporales, el primer enlace éster hidrolizable puede ser sometido a una hidrólisis rápida y a la separación de una parte del polímero reticulado. Además, la combinación del enlace amida y el residuo de aminoácido permite que el polímero reticulado también sea propenso a la degradación enzimática y/o a la degradación no enzimática. Dado que el enlace amida está situado cerca de la parte del polímero reticulado derivado del reticulante, la degradación cerca del enlace amida posibilita la liberación de la molécula reticulante terapéutica original en una forma no modificada. Por ejemplo, después de la degradación enzimática en el sitio del enlace amida (y representado por la flecha discontinua en la FIGURA 2), la molécula reticulante es liberada desde el polímero reticulado en una forma no modificada (sin ninguna adición de partes del primer precursor de polímero). La degradación tanto del enlace éster como del enlace amida se puede producir secuencialmente o en paralelo, dependiendo de la elección de  $R_1$  (cadena lateral de aminoácido) y/o  $R_2$ .

Las cadenas peptídicas, los polipéptidos y/o las proteínas pueden incluir múltiples residuos de aminoácido conectados, estando formado un enlace amida entre la parte del extremo C (-CO) de un primer residuo de aminoácido y el extremo N (-NH) de un segundo residuo de aminoácido adyacente. Los residuos de aminoácido incluyen al menos una cadena lateral de aminoácido ( $R_1$ ).

La segmentación enzimática o proteolítica de una cadena peptídica, un polipéptido o una proteína tiene lugar normalmente a lo largo de la cadena principal de la cadena peptídica, donde se han formado los enlaces amida. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el primer precursor de polímero mostrado en la FIGURA 2 puede incluir una cadena lateral  $R_1$  que representa una de las cadenas laterales de aminoácido de triptófano, tirosina, fenilalanina o leucina. Después de combinar dicho primer precursor de polímero con un reticulante terapéutico de la FIGURA 2, el polímero reticulado incluye un enlace amida y un residuo de aminoácido de uno de triptófano, tirosina, fenilalanina o leucina. Dado que el enlace amida situado en una posición posterior con respecto al residuo de aminoácido de triptófano, tirosina, fenilalanina o leucina se puede segmentar mediante una enzima tal como quimotripsina, dichos polímeros reticulados pueden ser propensos a la segmentación enzimática mediante una enzima tal como quimotripsina. La segmentabilidad del enlace amida mediante quimotripsina puede posibilitar la liberación del reticulante original no modificado representado en la FIGURA 2.

Algunas enzimas tienen especificidad con respecto a determinadas combinaciones de residuos de aminoácido. Algunas enzimas no son tan discriminatorias. Por ejemplo, una enzima como la tripsina tiene especificidad únicamente con respecto al residuo de aminoácido situado en una posición inmediatamente anterior al enlace amida diana, es decir, un residuo de aminoácido de arginina o lisina situado en una posición anterior al enlace amida diana

en una cadena peptídica, un polipéptido o una proteína. Por lo tanto, una enzima como la tripsina no discrimina sobre la base de la química en posiciones posteriores al enlace amida diana. En algunas realizaciones, la tripsina y otras enzimas no discriminatorias pueden ser útiles en la segmentación de los polímeros reticulados descritos en la presente memoria, en especial en los polímeros en los que el enlace amida no está formado por el extremo N de otro residuo de aminoácido.

Tal como muestra la FIGURA 2, el reticulante es una molécula o compuesto colgante de amina. Dado que el compuesto colgante de amina puede ser liberado después de la degradación en su forma original sin modificación, una gran variedad de moléculas terapéuticas colgantes de amina pueden ser adecuadas para utilizarlas en relación con la presente divulgación. El compuesto colgante de amina puede ser cualquier molécula terapéutica que contenga al menos 2 grupos amina primarios colgantes.

Se ha de entender que el concepto "molécula terapéutica" quiere decir cualquier sustancia prevista para el diagnóstico, la cura, la mitigación, el tratamiento o la prevención de enfermedades en humanos y otros animales, o para mejorar de otro modo el bienestar físico o mental. El término "fármaco" también incluye cualquier combinación y forma alternativa de los fármacos, tales como formas de sales alternativas, formas de ácidos libres y formas de bases libres. Los polímeros reticulados y los precursores de polímero descritos en la presente memoria pueden ser utilizados para el suministro de sustancias biológicamente activas que en general tienen alguna actividad o función en un organismo vivo o en una sustancia tomada de un organismo vivo.

Es posible utilizar cualquier molécula terapéutica que contenga amina y sea adecuada para la reacción con los primeros precursores de polímero descritos en la presente memoria. Algunos ejemplos incluyen fármacos que comprenden aminas primarias tales como metanfetaminas, dextroanfetamina, dopamina, serotonina, norepinefrina, benzocaina, aciclovir, aminofilina, tetraciclinas, colina, histamina, catecolaminas, aminoglutetamida, isoniazida, hidralazina, iproniazida, hidroclorotiazida, clorotiazida, furosemida, tobramicina, gentamicina, y otros aminoglicósidos, tetraciclinas y combinaciones de los mismos. Está prevista la posibilidad de combinar múltiples agentes terapéuticos con otros materiales naturales y/o sintéticos para formar compuestos colgantes de amina lineales y/o ramificados multifuncionales que incluyen múltiples grupos amino primarios.

Además, en determinadas realizaciones está previsto que el grupo  $R_2$  de al menos un brazo de los precursores de polímero con múltiples brazos se pueda referir a una cadena peptídica adecuada, después de la degradación, para segmentar un enlace amida formado en el mismo brazo o en un brazo diferente del polímero reticulado con múltiples brazos. Por ejemplo, es posible hacer que un grupo  $R_2$  que representa una cadena peptídica similar a la quimotripsina forme parte de al menos un brazo del primer precursor de polímero con múltiples brazos. Estos primeros precursores de polímero también pueden incluir un  $R_1$  que representa una cadena lateral de aminoácido seleccionada entre triptófano, tirosina, fenilalanina o leucina (propensa a la degradación enzimática mediante quimotripsina). En una realización de este tipo, la degradación de al menos un brazo de los polímeros reticulados puede liberar la cadena peptídica  $R_2$  y de este modo liberar una cadena peptídica similar a la quimotripsina cerca del enlace amida formado en los polímeros reticulados que contiene una cadena lateral de aminoácido  $R_1$  colgante similar a uno de triptófano, tirosina, fenilalanina o leucina (que puede ser propensa a la segmentación por la cadena peptídica liberada similar a la quimotripsina). En algunas realizaciones, la degradación de los polímeros reticulados descritos en la presente memoria puede ser realizada por las enzimas que se encuentran naturalmente dentro del cuerpo en el sitio de implantación o que pueden ser inyectadas en el sitio de implantación para acelerar el proceso de degradación. En algunas realizaciones, las enzimas o los derivados de enzimas pueden ser portados por los polímeros reticulados o incorporados en los mismos.

Los precursores de polímero y los reticulantes terapéuticos descritos en la presente memoria se pueden combinar para formar polímeros reticulados adecuados como selladores de tejidos, adhesivos, hemostáticos, recubrimientos sobre un dispositivo médico, dispositivos de administración de fármacos, barreras de adhesión y/o materiales de relleno de tejido. En algunas realizaciones, los polímeros reticulados forman materiales de hidrogel biodegradable adecuados para implantación. Los precursores de polímero y/o los polímeros reticulados se pueden aplicar directamente al tejido o se pueden aplicar a una superficie de un dispositivo médico implantable, tal como un estent, malla, sutura, grapa, balón, anclaje de sutura, placa para hueso, espiga, tornillo o varilla. Los precursores de polímero y/o los polímeros reticulados se pueden aplicar al tejido o al dispositivo médico utilizando cualquier método adecuado, incluyendo por inmersión, con trapo, a brocha, por pulverización, por inyección y por vertido.

Los precursores de polímero descritos en la presente memoria se pueden formar utilizando cualquier metodología química adecuada para formar las estructuras químicas mostradas en cualquiera de las fórmulas y figuras descritas en la presente memoria. En algunas realizaciones, los precursores de polímero descritos en la presente memoria se pueden sintetizar tal como está representado en la FIGURA 3. Más específicamente, al menos un brazo de una molécula de núcleo con múltiples ramificaciones ("C") seleccionada entre cualquier variedad de compuestos polihidroxi no tóxicos, como azúcares (xilitol, sorbitol, eritritol), glicerol, pentaeritritol y trimetilolpropano, se puede someter a extensión de cadena utilizando un material polimérico lineal, tal como polietilenglicol, y un anhídrido, tal como anhídrido glutárico, para formar el precursor de polímero inicial 10 de la FIGURA 3. Otros materiales de anhídrido biocompatible se pueden combinar con la molécula de núcleo para formar los precursores de polímero iniciales 10 descritos en la presente memoria. Por ejemplo, el anhídrido se puede seleccionar entre anhídrido succínico, anhídrido malónico, anhídrido adípico, anhídrido pimérico, anhídrido subérico, anhídrido azelaico y

anhídrido sebácico. El precursor de polímero inicial 10 tal como se muestra en la FIGURA 3 se puede someter a reacción con diciclohexilcarbodiimida (DCC) y cualquier aminoácido para formar el precursor de polímero intermedio 20. El precursor de polímero intermedio 20 se puede someter a reacción además de un modo que produce un grupo NHS colgante en el precursor de polímero.

5 Las condiciones de reacción para la reticulación dependerán de la naturaleza de los grupos funcionales. En algunas realizaciones, las reacciones se pueden llevar a cabo en soluciones acuosas tamponadas a un pH de aproximadamente 2 a aproximadamente 12; en algunas realizaciones a un pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 10. Algunos ejemplos no limitativos adecuados de tampones pueden incluir borato de sodio, trietanol amina, fosfato de sodio, carbonato, e hidrógeno ftalato de potasio. Un pH elevado puede aumentar la  
10 velocidad de las reacciones. En algunas realizaciones se pueden añadir disolventes orgánicos tales como etanol o isopropanol para aumentar la velocidad de reacción o para ajustar la viscosidad de una formulación dada.

En algunas realizaciones, al menos uno de los precursores de polímero o reticulantes puede estar en forma de partículas. En estas realizaciones, la reacción de reticulación no puede tener lugar hasta que al menos uno de los dos compuestos sea expuesto a humedad. En algunas realizaciones, los materiales en forma de partículas se  
15 pueden aplicar por separado o de forma secuencial a un dispositivo médico o sobre tejido vivo. En otras realizaciones, los materiales en forma de partículas se pueden aplicar simultáneamente a un dispositivo médico o a un tejido.

Los polímeros reticulados arriba descritos se pueden degradar debido a hidrólisis del enlace éster y degradación enzimática del enlace amida debido a la cadena lateral de aminoácido colgante ( $R_1$ ). La degradación de polímeros o  
20 geles que contienen secuencias peptídicas sintéticas ( $R_2$ ) dependerá de la enzima específica y de su concentración. En algunos casos se puede añadir una enzima específica durante la reacción de reticulación para acelerar el proceso de degradación.

Justo antes de la reacción de reticulación se pueden preparar soluciones acuosas de los precursores de polímero o de los reticulantes descritos en la presente memoria, en particular cuando los precursores de polímero incluyen  
25 grupos -NHS.

La densidad de reticulación de los polímeros reticulados resultantes se puede controlar mediante el peso molecular total de los precursores o reticulantes, y la cantidad de grupos funcionales disponibles por molécula. Un precursor de menor peso molecular, tal como aproximadamente 600, dará como resultado una densidad de reticulación mucho más alta en comparación con un precursor de mayor peso molecular, tal como aproximadamente 10.000. En  
30 algunas realizaciones se pueden utilizar precursores de polímero de mayor peso molecular. En otras realizaciones se pueden utilizar precursores de polímero de más de 3.000 para obtener geles elásticos.

En muchas aplicaciones, los polímeros reticulados se formarán normalmente "in situ" en un sitio quirúrgico en el cuerpo. Las diversas metodologías y dispositivos para realizar gelificación "in situ", desarrollados para otros sistemas adhesivos o selladores, tales como aplicaciones de cola o sellador de fibrina, pueden ser utilizados con los  
35 polímeros reticulados de esta invención. Por lo tanto, en una realización, una solución acuosa de un compuesto colgante de amina recién preparado (por ejemplo trilisina en una solución tampón de borato a pH 9,5) y un primer precursor de polímero (por ejemplo PEG de 4 brazos con un peso molecular de 20.000 dalton, extendido con enlaces éster, terminado con grupos terminales NHS electrófilos, y que incluye aminas secundarias dispuestas entre medias) se pulverizan conjuntamente sobre tejido utilizando un pulverizador de presión con chorro transportado, de tal modo que las dos corrientes de fluido se mezclan en el aire y en el sitio de aplicación para formar un hidrogel biodegradable reticulado capaz de adherirse al tejido en segundos. Las dos soluciones se pueden aplicar simultáneamente o de forma secuencial. En algunas realizaciones es preferible aplicar las soluciones de precursor secuencialmente para "imprimir" el tejido, lo que resulta en una mejor adherencia del polímero reticulado con el  
40 tejido. Cuando se imprima el tejido, se puede aplicar primero el primer precursor de polímero al tejido, seguido por el compuesto colgante de amina.

Es posible utilizar dispositivos especializados para aplicar los dos compuestos, tales como un pulverizador de adhesivo o como los descritos en las Patentes U.S. nº 4,874,368; 4,631,055; 4,735,616; 4,359,049; 4,978,336; 5,116,315; 4,902,281; 4,932,942; en la Solicitud de Patente Publicada nº WO 91/09641; y en R. A. Tange, "Fibrin Sealant" en Operative Medicine: Otolaryngology, tomo 1 (1986).

50 Los precursores de polímero y reticulantes descritos en la presente memoria se pueden almacenar y esterilizar en recipientes independientes para evitar que se produzca una reticulación prematura. Los precursores de polímero y reticulantes descritos en la presente memoria se pueden almacenar y esterilizar en el mismo recipiente, evitándose que se produzca una reticulación mediante el uso de tampones y/o cambios del pH.

Está prevista la posibilidad de diseñar *kits* para suministrar los materiales al sitio de implantación. Los *kits* pueden incluir una primera composición que comprende al menos uno de los precursores de polímero descritos en la presente memoria y una segunda composición que comprende al menos uno de los compuestos terapéuticos reticulantes descritos en la presente memoria. La primera y la segunda composiciones se pueden almacenar en el mismo recipiente o en recipientes independientes y el *kit* incluye un medio para suministrar la primera y la segunda  
55

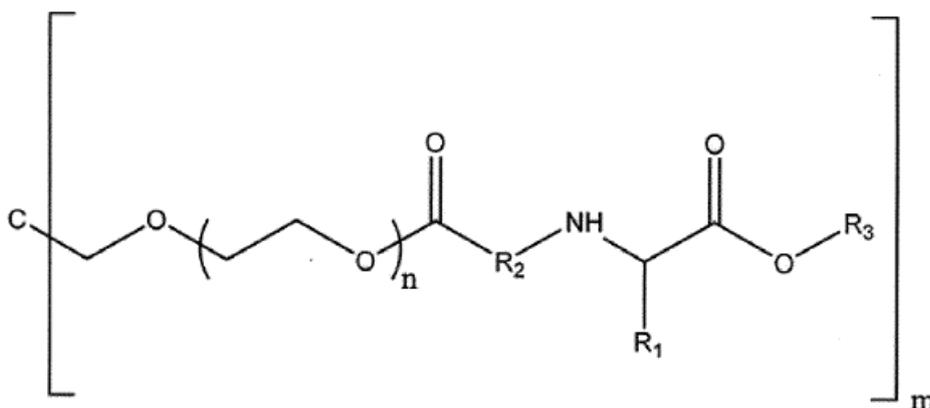
5 composiciones al sitio de implantación y/o al sitio de administración sobre un dispositivo médico. Los dispositivos de administración adecuados incluyen una o más jeringuillas quirúrgicas, jeringuillas de doble cuerpo, o los dispositivos especializados arriba descritos, es decir, un pulverizador de adhesivo. La mezcla de los materiales que forman los polímeros reticulados descritos en la presente memoria puede tener lugar inmediatamente antes, durante o después de la implantación.

10 Se ha de entender que es posible realizar diversas modificaciones a las realizaciones descritas en la presente memoria. Por ejemplo, las partes  $R_1$  y  $R_2$  de los precursores de polímero descritos en la presente memoria pueden estar conectadas químicamente entre sí formando cadenas laterales que representan aminoácidos cíclicos, tales como prolina e hidroxiprolina.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar un polímero reticulado que comprende un agente terapéutico, que comprende las etapas consistentes en:

proporcionar un precursor de polímero que comprende una fórmula:



5

en donde:

$1 \leq n \leq 20.000$  y  $m$  es de 2 a 16;

C= representa una molécula de núcleo que es un compuesto polihidroxi no tóxico;

$R_1$  = H, o una cadena lateral de alfa-aminoácido natural;

10  $R_2$  = un grupo C1-C20 alquileo, un grupo arileno sustituido o no sustituido, o un péptido; y

$R_3$  = un grupo activador seleccionado entre N-succinimidilo o N-sulfosuccinimidilo; y

someter a reacción el precursor de polímero con una molécula terapéutica que contiene al menos dos grupos amino primarios colgantes para formar dicho polímero reticulado.

15 2. El método de la reivindicación 1, en donde  $R_1$  comprende una cadena lateral de aminoácido natural que se encuentra en proteínas y que se selecciona entre el grupo consistente en  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{-OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}_2\text{H}$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{-SH}$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-CO}_2\text{H}$ ,  $\text{CH}_2\text{-CO-NH}_2$ ,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_1\text{-CH}_2$ ,  $\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5\text{-OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-C}(\text{NH})(\text{NH}_2)$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}_3\text{H}_7\text{N}_2$ ,  $(\text{CH}_2)_2\text{-CH-OH-CH}_2\text{-NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-(C}_6\text{H}_2)_2\text{-O-(C}_6\text{H}_2)_2\text{-OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{-(C}_3\text{H}_7\text{N}_2\text{)-CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-(CH}_3)_3$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO}_2\text{H}$ ,  $\text{CH-(CH}_3\text{)-O-P-(O)(OH)}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-O-P-(O)(OH)}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-C-(NH)(NH-CH}_3\text{)}$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-C-(O)(CH}_3\text{)}$ .

20

3. El método de la reivindicación 1, en donde  $R_1$  comprende una cadena lateral de aminoácido natural que no se encuentra en proteínas y que se selecciona entre el grupo consistente en  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$ ,  $\text{CH}_2\text{-O-CO-CH=N=N}$ ,  $\text{CH}_2\text{-S-CH(NH}_2\text{)(CO}_2\text{H)}$ ,  $\text{CH(OH)(C}_6\text{H}_5\text{)}$ ,  $\text{C(SH)(CH}_3)_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-C(O)(NH}_2\text{)}$ .

4. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde  $R_2$  es un grupo C1-C20 alquileo.

25 5. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la molécula de núcleo se selecciona entre el grupo que consiste en glicerol, pentaeritritol y sorbitol.

6. El método de la reivindicación 5, en donde la molécula de núcleo comprende pentaeritritol.

7. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la molécula terapéutica es una proteína, un péptido o un aminoácido.

30 8. Un polímero reticulado que comprende un agente terapéutico, pudiendo obtenerse el polímero reticulado mediante un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

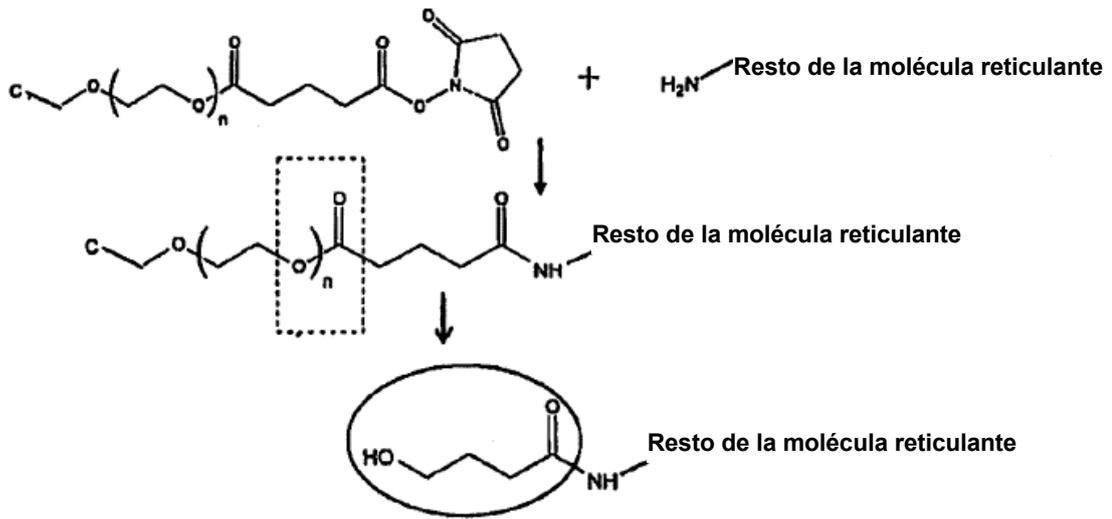


FIG. 1

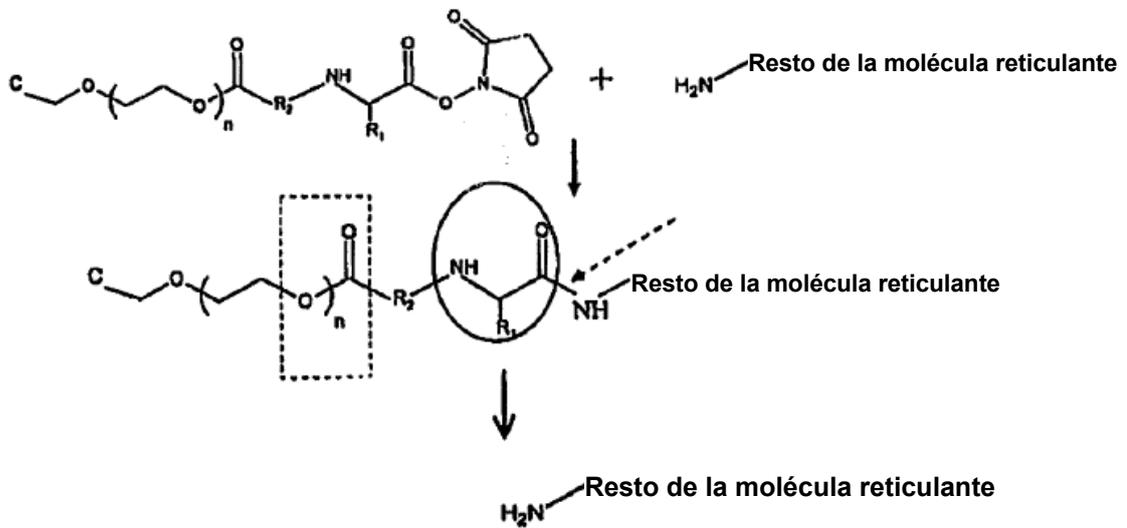
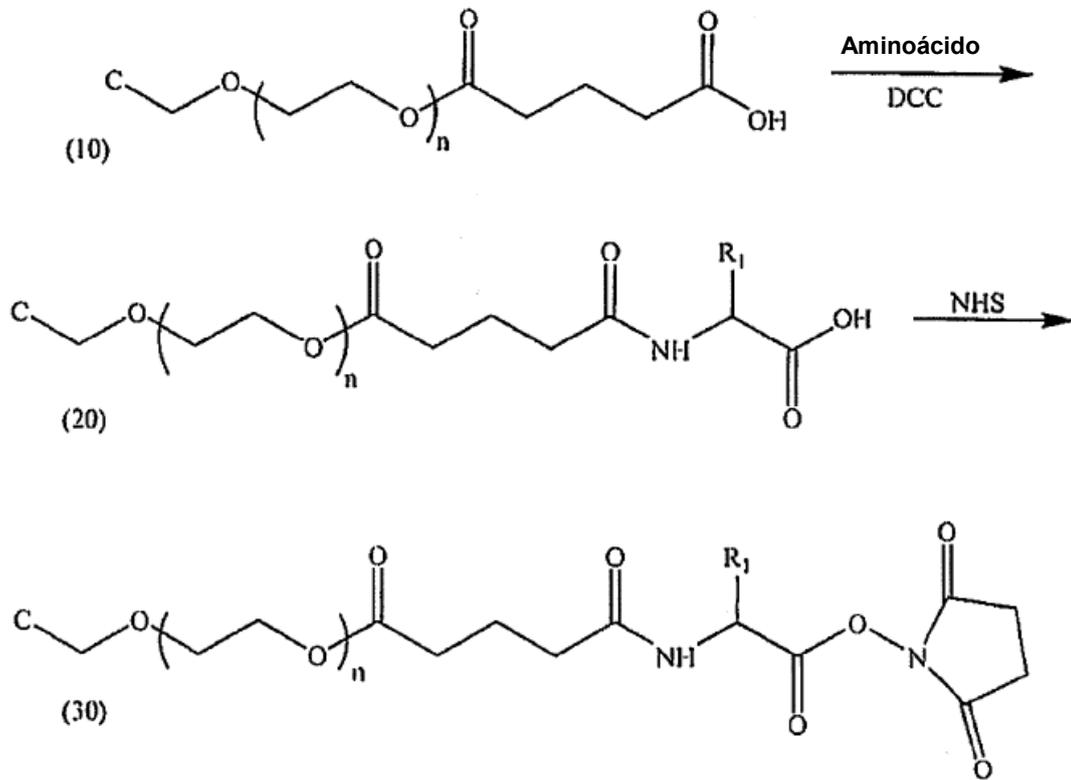


FIG. 2



**FIG. 3**