

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 661 461**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/59** (2007.01)

**A61K 47/34** (2007.01)

**A61K 51/06** (2006.01)

**C08G 73/02** (2006.01)

**C08L 79/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.12.2012 PCT/NL2012/050933**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.07.2013 WO13103297**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.12.2012 E 12821204 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2017 EP 2800773**

54 Título: **Polímeros de polioxazolina y métodos para su preparación, conjugados de estos polímeros, y sus usos médicos**

30 Prioridad:

**02.01.2012 WO PCT/NL2012/050001**

**16.03.2012 EP 12159986**

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

**02.04.2018**

73 Titular/es:

**UNIVERSITEIT GENT (100.0%)**

**Sint-Pietersnieuwstraat 25**

**9000 Gent, BE**

72 Inventor/es:

**HOOGENBOOM, RICHARD**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 661 461 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**

Polímeros de polioxazolina y métodos para su preparación, conjugados de estos polímeros, y sus usos médicos

**CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCIÓN**

- 5 La invención se refiere a polímeros de polioxazolina que contienen una o más unidades colgantes con un grupo amida, y a un método para preparar tales polímeros. La invención se refiere además a un conjugado de estos polímeros de polioxazolina con al menos un resto activo, tal como un resto terapéutico, un resto seleccionador de una diana y/o un resto de diagnóstico, y al uso de estos conjugados en el tratamiento terapéutico o tratamiento profiláctico o diagnóstico de una enfermedad o trastorno.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

- 10 La esperanza de vida cada vez más creciente plantea una demanda continua al mercado farmacéutico y biotecnológico de mejorar la eficacia terapéutica de los fármacos. Sin embargo, hay inconvenientes importantes asociados con las formas de dosificación convencionales, tales como un rápido aclaramiento renal de fármacos pequeños, y la degradación enzimática de sustancias biofarmacéuticas.

- 15 Los problemas habituales encontrados en el uso de fármacos de pequeñas moléculas, especialmente para sustancias terapéuticas antitumorales, son su baja solubilidad, rápida excreción, y una biodistribución sistémica no dirigida a una diana concreta, que conduce a efectos secundarios tóxicos graves.

Aunque se desarrollan cada vez más sustancias biofarmacéuticas, muchas de estas sustancias farmacéuticas tienen problemas que son típicos de sustancias terapéuticas polipeptídicas, tales como una semivida en circulación corta, inmunogenicidad, degradación proteolítica, y baja solubilidad.

- 20 Han surgido nuevas estrategias como formas de mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de las sustancias farmacéuticas. Los ejemplos de tales estrategias son: manipulación de la secuencia de aminoácidos de las sustancias biofarmacéuticas para disminuir la inmunogenicidad y la escisión proteolítica; la fusión o conjugación de pequeñas moléculas o sustancias biofarmacéuticas a inmunoglobulinas y proteínas del suero, tales como, por ejemplo, albúmina; la incorporación de sustancias farmacéuticas en vehículos de suministro de fármacos, para la protección y liberación lenta; y la conjugación a polímeros naturales o sintéticos.

- 25 La estrategia de la conjugación a polímeros usada más habitualmente es el acoplamiento de poli(etilenglicol) (PEG) a la sustancia farmacéutica o biofarmacéutica de pequeña molécula. Precedentes importantes de la PEGilación ya demostraron eficacias terapéuticas mejoradas que conducen a aplicaciones comerciales de sustancias biofarmacéuticas PEGiladas, tales como enzimas, citocinas y anticuerpos, así como portadores liposómicos PEGilados para el fármaco contra el cáncer Doxorubicina.

- 30 PEG es un polímero atractivo para la conjugación, puesto que incrementa el radio hidrodinámico de un fármaco y lo protege, al menos parcialmente, de interacciones con el cuerpo, incluyendo el sistema inmune y enzimas proteolíticas. Especialmente, esta propiedad protectora es la fuerza conductora principal para el éxito de PEG, en comparación con otros muchos polímeros solubles en agua, que se cree que resulta de la buena hidratación de PEG. Al incrementar el peso molecular de una molécula a través de la PEGilación, surgen varias ventajas farmacológicas significativas con respecto a la forma no modificada, tal como una solubilidad mejorada del fármaco, una semivida en circulación prolongada, una inmunogenicidad reducida, una mayor estabilidad del fármaco y una mejor protección frente a la degradación proteolítica.

- 35 A pesar del uso normal de la PEGilación, hay varias desventajas asociadas con su uso. Algunas veces, se observa hipersensibilidad y la formación de anticuerpos anti-PEG. También se observa que cuando se usa PEG con pesos moleculares elevados, se acumula en el hígado, conduciendo al denominado síndrome macromolecular. La longitud de la cadena de las moléculas de PEG se puede reducir bajo la influencia de enzimas, tales como P450 o alcohol deshidrogenasa, dando lugar a productos secundarios tóxicos.

- 40 Con respecto a moléculas terapéuticas pequeñas, a menudo se observa que con PEG solamente se logra una carga de fármaco relativamente baja debido a la presencia de meramente uno o dos grupos terminales hidroxilo que se pueden activar. Además, la funcionalización ortogonal de PEG o dendrones de PEG con el resto terapéutico, el resto de detección o el resto seleccionador de una diana, no es posible fácilmente.

- 45 Además, es relativamente difícil y peligroso preparar PEG, ya que se requieren monómeros de óxido de etileno condensados explosivos y altamente tóxicos. Además, PEG tiene una capacidad de almacenamiento limitada, es decir, se requiere un antioxidante para el almacenamiento a fin de evitar la formación de peróxido.

- 50 El documento GB 1164582 describe un copolímero de injerto de polialquilenimina/policarbonamida que tiene, como cadena principal, una poliimina lineal en la que los átomos de nitrógeno imino están separados en promedio por no más de 5 átomos de cadena de carbono, colgando desde algunos o de todos los citados átomos de nitrógeno cadenas laterales de carbonamida que tienen, como unidad que se repite, un radical divalente de carbonamido con

una cadena de 3 a 18 átomos de carbono entre el átomo de nitrógeno amídico y el grupo carbonilo, teniendo dichas cadenas laterales un peso molecular promedio en número de al menos 500.

El documento WO 2009/112402 describe un derivado de polioxazolina heterofuncional de la estructura general:



5 en la que:

- $R_2$  se selecciona independientemente, para cada unidad que se repite, de un alquilo no sustituido o sustituido, un alqueno no sustituido o sustituido, un aralquilo no sustituido o sustituido, o un grupo heterociclicualquilo no sustituido o sustituido;
- X es un resto colgante que contiene un primer grupo funcional;
- 10 • Y es un resto colgante que contiene un segundo grupo funcional;
- y m son cada uno un número entero seleccionado independientemente de 1-50;
- n es un número entero seleccionado de 0-1000.

15 El documento WO 2009/112402 describe un copolímero al azar de la polietilenimina lineal que comprende dos unidades monoméricas, que incluye una unidad monomérica que comprende un resto colgante que tiene la siguiente fórmula:



en la que:

- $R^1$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>,
  - $R^a$  representa CH<sub>2</sub>-imidazol;
  - 20 •  $R^b$  representa COOR<sup>2</sup>;
  - $R_2$  representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, arilo o aralquilo, en el que el grupo alquilo es un alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>,
- n es un número comprendido entre 1 y 99% de los monómeros totales, y  
m es un número comprendido entre 1 y 99% de los monómeros totales.

25 La solicitud de patente internacional también describe conjugados de molécula diana-polioxazolina que comprenden una molécula diana, en los que la molécula diana es un resto terapéutico, un resto de diagnóstico o un resto seleccionador de una diana.

30 El documento JP 2005161698 describe un material de grabación que se forma proporcionando una capa de grabación que incluye un compuesto de acilhidrazida y un diazocompuesto. La solicitud japonesa contiene una fórmula A40 que representa una oxazolina sustituida en 2, en la que el sustituyente en 2 está representado por -CH<sub>2</sub>-CONH-NHX, en el que X es un grupo bencilo p-sustituido.

35 Zarka et al. (Amphiphilic Polymers Supports for the Asymmetric Hydrogenation of Amino Acid Precursors in Water, Chem. Eur. J. 2003, 9, 3228-3234) describen la síntesis de copolímeros de dibloques anfifílicos, solubles en agua, basados en derivados de 2-oxazolina con unidades colgantes de (2S,4S)-4-difenilfosfino-2-(difenilfosfinometil)pirrolidina en el bloque hidrófobo. La estrategia sintética implica la preparación de un precursor del copolímero de dibloques con funcionalidades de éster en la cadena lateral, que se convierten en ácidos carboxílicos en una etapa análoga al polímero, y finalmente se hacen reaccionar con el ligando de PPM en presencia de dicitlohexilcarbodiimida produciendo un enlace de amida terciaria entre el polímero y el ligando.

40 Cesana et al. (First Poly(2-oxazoline)s with Pendant Amino Groups, Macromol. Chem. Phys. 2006, 207, 183-192) describen la preparación de una poli(2-oxazolina) con grupos amino colgantes partiendo de monómero de 2-oxazolina con una función amino protegida con Boc, 2-[N-Boc-5-aminopentil]-2-oxazolina (Boc-AmOx). Este monómero se podía convertir, vía polimerización de apertura del anillo catiónica viviente, en homopolímero. Tras la desprotección cuantitativa, se obtuvieron poli(2-oxazolinas) con funciones amino colgantes. Se llevó a cabo la copolimerización con diferentes relaciones monoméricas de Boc-AmOx y 2-etil-2-oxazolina (EtOx). Una reacción de reticulación con un isotiocianato bifuncional (Ph(NCS)<sub>2</sub>) dio como resultado hidrogeles de poli(2-oxazolina).

45 Luxenhofer (Tesis: Novel Functional Poly(2-oxazoline)s as Potential Carriers for Biomedical Applications, Technische Universität München (2007)) describe una poli(2-oxazolina) que comprende 20 unidades de 2-metil-2-oxazolina y 5

unidades de 2-aminoetil-2-oxazolona. Este polímero se reticuló con diisocianato de hexametileno para producir un hidrogel de amina.

5 Liu et al. (Shell Cross-Linked Micelle-Based Nanoreactors for the Substrate-Selective Hydrolytic Kinetic Resolution of Epoxides, J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 14260-14263) describen copolímeros de tribloques de poli(2-oxazolona) anfífilos. Estos copolímeros se preparan a partir de una mezcla de monómeros que incluye un monómero de oxazolona funcionalizado con cinamato que se preparó mediante un procedimiento sintético de cinco etapas que produce un monómero de 2-oxazolona con un espaciador de C<sub>11</sub> entre el anillo monomérico y el cinamato.

10 Los polímeros de polioxazolona con unidades colgantes que contienen amina dados a conocer por Cesana et al. y Luxenhofer sufren la desventaja de que los grupos amina necesitan ser protegidos. Además, estos grupos de amina protegidos tienden a interferir con el proceso de polimerización, produciendo polímeros más bien pobremente definidos. Esta última desventaja se puede superar sustituyendo los iniciadores habituales por un resto iniciador de triflato de oxazolinio preformado, que complica adicionalmente el proceso de polimerización.

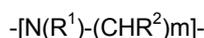
15 La conversión de las aminas colgantes en los polímeros de polioxazolona mencionados anteriormente en un resto amídico produce polímeros funcionalizados similares a los descritos por Liu et al. Una desventaja de estos polímeros que contienen amida es que se retiene una amina primaria tras la hidrólisis, es decir, biodegradación, dando lugar a polímeros tóxicos.

20 En vista de los problemas mencionados anteriormente, existe la necesidad de polímeros con excelentes propiedades de conjugación, que provoquen menos efectos secundarios, y que proporcionen un suministro excelente de moléculas terapéuticas pequeñas y sustancias biofarmacéuticas al tejido implicado. Además, existe la necesidad de un procedimiento simple para sintetizar estos polímeros con buen rendimiento y de una forma bien definida.

#### SUMARIO DE LA INVENCION

25 La presente invención se refiere a polímeros de poli(2-oxazolona) funcionalizados, que son muy adecuados como un portador y/o vehículo de suministro (conjugado) de fármacos, tales como moléculas terapéuticas pequeñas y sustancias biofarmacéuticas.

Estos polímeros se caracterizan por que comprenden unidades que se repiten que están representadas mediante la siguiente fórmula



en la que

- 30
- R<sup>1</sup> es R<sup>3</sup>-(CHR<sup>4</sup>)<sub>n</sub>-CONH-R<sup>5</sup>;
  - R<sup>2</sup> se selecciona de H y alquilo de C<sub>1-5</sub> opcionalmente sustituido;
  - R<sup>3</sup> es CO, C(O)O, C(O)NH o C(S)NH;
  - R<sup>4</sup> se selecciona de H y alquilo de C<sub>1-5</sub> opcionalmente sustituido;
- 35
- R<sup>5</sup> es H; un alquilo de C<sub>1-5</sub>; arilo; o un resto que comprende un grupo funcional que se puede usar para conjugación, seleccionándose dicho grupo funcional de un grupo que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo; un tiol; una fosfina; un alquino; un alqueno; un arilo; un aldehído; una cetona; un acetal; un éster; un ácido carboxílico; un carbonato; un cloroformiato; un hidroxilo; un éter; una vinilsulfona; un epóxido; sulfonato; ácido haloacético y anhídrido;
- 40
- m es 2 o 3; y
  - n es 1-2.

Los polímeros de la presente invención proporcionan un número de propiedades beneficiosas:

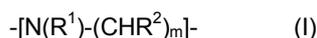
- se puede incorporar un gran número de restos reactivos al polímero vía las cadenas laterales R<sup>1</sup>;
  - se introduce un grupo amida hidrófilo en la cadena lateral, potenciando la solubilidad de los polímeros en comparación con otras polioxazolinas funcionalizadas de cadena lateral;
- 45
- es posible funcionalizar ortogonalmente los extremos de las cadenas así como las cadenas laterales de polímero, queriendo decir que es posible formular conjugados que portan simultáneamente un fármaco, un resto seleccionador de una diana, y/o un marcador para la formación de imágenes;
  - las propiedades mecánicas del polímero se pueden controlar eficazmente manipulando el nivel y la

naturaleza de las cadenas laterales R<sup>1</sup>;

- debido a su balance hidrófilo/hidrófobo, el polímero puede ser soluble en fluidos orgánicos como etanol y diclorometano, así como en agua;
- 5 • el polímero tiene propiedades amorfas excelentes, con una temperatura de transición vítrea notablemente mayor en comparación con, por ejemplo, polietilenglicol;
- el polímero tiene capacidades formadoras de película, y es fácil de plastificar con cantidades limitadas de plastificantes;
- a diferencia del PEG, el polímero se puede copolimerizar, permitiendo la preparación de polímeros con un amplio intervalo de propiedades;
- 10 • los polímeros en los que R<sup>5</sup> es H o alquilo de C<sub>1-5</sub> son muy solubles en agua, y se pueden usar ventajosamente para mejorar la semivida en sangre de los conjugados;
- la biodegradabilidad de las cadenas laterales de amida secundaria permite una liberación de restos conjugados de cadena lateral.

15 Los polímeros de la presente invención ofrecen la ventaja importante de que la solubilidad, las propiedades mecánicas, la biodegradabilidad y la carga del polímero con restos activos se pueden manipular dentro de márgenes amplios. De este modo, el presente polímero permite la preparación de un amplio intervalo de portadores poliméricos y conjugados poliméricos.

20 La invención se refiere además a conjugados de un polímero con fármacos, tales como moléculas terapéuticas pequeñas y sustancias biofarmacéuticas, comprendiendo dicho polímero unidades que se repiten que están representadas por la siguiente fórmula (I):



en la que

- R<sup>1</sup> es R<sup>3</sup>-(CHR<sup>4</sup>)<sub>n</sub>-CONH-R<sup>5</sup>;
- R<sup>2</sup> se selecciona de H y alquilo de C<sub>1-5</sub> opcionalmente sustituido;
- 25 • R<sup>3</sup> es CO, C(O)O, C(O)NH o C(S)NH;
- R<sup>4</sup> se selecciona de H y alquilo de C<sub>1-5</sub> opcionalmente sustituido;
- R<sup>5</sup> es H; un alquilo de C<sub>1-5</sub>; arilo; o un resto que comprende un grupo funcional que se puede usar para conjugación, seleccionándose dicho grupo funcional de un grupo que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo; un tiol; una fosfina; un alquino; un alqueno; un arilo; un aldehído; una cetona; un acetal; un éster; un ácido carboxílico; un carbonato; un cloroformiato; un hidroxilo; un éter; una vinilsulfona; un epóxido; sulfonato; ácido haloacético y anhídrido;
- 30 • m es 2 o 3; y
- n es 1-5.

35 También, los restos seleccionadores de una diana y los restos de diagnóstico se pueden conjugar ventajosamente con el polímero presentado. Los conjugados según la presente invención tienen, entre otros, una solubilidad muy buena, un perfil de aclaramiento sanguíneo ajustable a voluntad, y proporcionan una excelente protección frente a la degradación proteolítica.

40 La presente invención también se refiere al uso de los conjugados mencionados anteriormente en el tratamiento terapéutico, tratamiento profiláctico o en el diagnóstico. Particularmente se refiere al uso en el tratamiento, tratamiento profiláctico o en el diagnóstico de cáncer.

Finalmente, la presente invención también proporciona un método para preparar los polímeros y conjugados descritos anteriormente.

#### DEFINICIONES

45 El término "amina", como se usa aquí, se refiere a un grupo que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo.

El término "oxiamina", como se usa aquí, se refiere a un grupo que comprende un átomo de nitrógeno y un átomo de

- oxígeno que están enlazados covalentemente entre sí, así como al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo.
- El término “tio”, como se usa aquí, se refiere a un grupo que comprende un átomo de azufre que está enlazado covalentemente a al menos un átomo de carbono o de hidrógeno.
- 5 El término “fosfina”, como se usa aquí, se refiere a un grupo que comprende un átomo de fósforo que está enlazado covalentemente a al menos un átomo de carbono, oxígeno o hidrógeno.
- El término “alquino”, como se usa aquí, se refiere a un grupo que comprende un triple enlace carbono-carbono.
- El término “alqueno”, como se usa aquí, se refiere a un grupo que comprende un doble enlace carbono-carbono.
- 10 El término “arilo”, como se usa aquí, se refiere a grupos aromáticos, incluyendo grupos aromáticos monoanulares de 5 y 6 miembros que pueden incluir de cero a cuatro heteroátomos, por ejemplo fenilo, pirrolo, furano, tiofeno, tiazol, isotiazol, imidazol, triazol, tetrazol, pirazol, oxazol, isoxazol, triazina, diclorotriazina, tetrazina, piridina, pirazina, piridazina, y pirimidina.
- El término “aldehído”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto COH terminal.
- El término “cetona”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto CC(O)C.
- 15 El término “acetal”, como se usa aquí, se refiere a grupos con dos átomos de oxígeno enlazados mediante enlace sencillo unidos al mismo átomo de carbono, tal como, por ejemplo, un grupo cetal.
- El término “éster”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto CC(O)OC.
- El término “ácido carboxílico”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto CC(O)H.
- El término “carbonato”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto COC(O)OC.
- El término “hidroxilo”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto OH.
- 20 El término “éter”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto COC.
- El término “cloroformiato”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto COC(O)Cl.
- El término “azida”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto NNN.
- El término “vinilsulfona”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto S(O<sub>2</sub>)C=C.
- El término “maleimida”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto 2,5-pirrodiona.
- 25 El término “isocianato”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto N=C=O.
- El término “isotiocianato”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto N=C=S.
- El término “epóxido”, como se usa aquí, se refiere a grupos con una estructura anular de tres miembros que comprende dos átomos de carbono y un átomo de oxígeno, tal como, por ejemplo, un grupo glicídilo
- La expresión “sulfuro de ortopiridilo”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto S-S-2-piridina.
- 30 El término “sulfonato”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto S(O)<sub>2</sub>O.
- El término “haloacetamida”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto NHC(O)CH<sub>2</sub>X con X = Cl, Br o I.
- La expresión “éster haloacético”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto OC(O)CH<sub>2</sub>X con X = Cl, Br o I.
- El término “hidrazona”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto C(O)N-N.
- El término “anhídrido”, como se usa aquí, se refiere a grupos con un resto C(O)OC(O).
- 35 Siempre que se haga referencia a un grupo particular, tal como un grupo alquilo, excepto que se indique de otro modo, este grupo puede ser lineal o ramificado.
- La expresión “resto terapéutico”, como se usa aquí, se refiere a un compuesto que tiene, unido a o separado del polímero, propiedades farmacéuticamente activas.
- 40 La expresión “resto seleccionador de una diana”, como se usa aquí, se refiere a un resto que, unido a o separado del polímero, es capaz de unirse a receptores específicos o proteínas en el cuerpo.
- La expresión “resto de diagnóstico”, como se usa aquí, se refiere a compuestos que, unidos a o separados del

polímero, son capaces de ser detectados desde fuera del cuerpo.

La expresión "molécula pequeña", "molécula terapéutica pequeña", o "fármaco de molécula pequeña", como se usa aquí, se refiere a un compuesto farmacéuticamente activo que tiene un peso molecular que es generalmente menor que 800 daltons, compuesto el cual no es una proteína, péptido, oligonucleótido, o fragmento de los mismos.

- 5 La expresión "sustancia biofarmacéutica", como se usa aquí, se refiere a un compuesto farmacéuticamente activo que tiene un peso molecular que es generalmente mayor que 800 daltons. Sin embargo, estos términos también engloban proteínas, péptidos, oligonucleótidos, y sus fragmentos, con un peso molecular menor que 800 daltons.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 10 Un primer aspecto de la presente invención se refiere a un polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la siguiente fórmula (I)



en la que

- $R^1$  es  $R^3-(CHR^4)_n-CONH-R^5$ ;
- $R^2$  se selecciona de H y alquilo de  $C_{1-5}$  opcionalmente sustituido;
- 15 •  $R^3$  es CO, C(O)O, C(O)NH o C(S)NH;
- $R^4$  se selecciona de H y alquilo de  $C_{1-5}$  opcionalmente sustituido;
- $R^5$  es H; un alquilo de  $C_{1-5}$ ; arilo; o un resto que comprende un grupo funcional que se puede usar para conjugación, seleccionándose dicho grupo funcional de un grupo que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo (por ejemplo amina, oxiamina, azida o hidrazina); un tiol; una fosfina; un alquino; un alqueno; un arilo; un aldehído; una cetona; un acetal; un éster; un ácido carboxílico; un carbonato; un cloroformiato; un hidroxilo; un éter; una vinilsulfona; un epóxido; sulfonato; ácido haloacético y anhídrido;
- 20 • m es 2 o 3; y
- n es 1-2.

- 25 En una realización preferida de la presente invención,  $R_2$  es H o alquilo de  $C_{1-2}$ . Lo más preferible,  $R^2$  es H.

Según una realización de la invención,  $R^3$  es CO. Los polímeros en los que  $R^3$  es CO se pueden producir adecuadamente por medio de polimerización catiónica de monómeros de 2-oxazolina. Como alternativa, tales polímeros se pueden producir adecuadamente a partir de polioxazolina eliminando las cadenas laterales para producir una poli[2-alquil-2-oxazolina/etilenimina], seguido de la reacción con un éster activado, tal como un cloruro de ácido, o anhídrido.

30

Según otra realización,  $R^3$  es C(O)O. Estos polímeros se pueden producir de forma adecuada a partir de polioxazolina eliminando las cadenas laterales para producir una poli[2-alquil-2-oxazolina/etilenimina], seguido de la reacción con un carbonato activado, tal como cloroformiato.

35 Según otra realización,  $R^3$  es C(O)NH. Estos polímeros se pueden producir de forma adecuada a partir de polioxazolina eliminando las cadenas laterales para producir una poli[2-alquil-2-oxazolina/etilenimina], seguido de la reacción con un isocianato.

Según otra realización,  $R^3$  es C(S)NH. Estos polímeros se pueden producir de forma adecuada a partir de polioxazolina eliminando las cadenas laterales para producir una poli[2-alquil-2-oxazolina/etilenimina], seguido de la reacción con un isotiocianato.

40  $R^4$  se selecciona preferiblemente de H y alquilo de  $C_{1-3}$ . Lo más preferible,  $R^4$  es H.

Según otra realización preferida,  $R^5$  es un resto que comprende un grupo funcional seleccionado de un grupo que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo (particularmente, amina o hidrazina); tiol; aldehído; y un éster activado. Estos grupos funcionales son particularmente preferidos puesto que son capaces de unirse covalentemente a un resto terapéutico, tanto moléculas pequeñas como sustancias biofarmacéuticas, pero se escindirán después de haber alcanzado el tejido canceroso, debido al microentorno tumoral ácido, liberando de ese modo el resto terapéutico.

45

Se prefiere usar particularmente como grupo funcional un grupo que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo. Una de las ventajas principales de usar

tal grupo funcional es que tales aminas terciarias son catiónicas cuando están presentes en una disolución acuosa, lo que les permite interactuar con ARN y ADN de, por ejemplo, células tumorales. El grupo funcional, que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo, se selecciona preferiblemente de maleimida, isocianato, isotiocianato, disulfuro de ortopiridilo y haloacetamida.

5 En una realización preferida de tal polímero,  $R^5$  representa  $R^6NR^7R^7$ , en el que  $R^6$  representa un enlace covalente o un alquileo de  $C_{1-5}$  opcionalmente sustituido; y  $R^7$  y  $R^7$  se seleccionan independientemente de H y  $C_{1-5}$ .

Según una realización particularmente preferida,  $R^6$  se selecciona de un enlace covalente, metileno, etileno y propileno, debido a que estos polímeros presentan la solubilidad más elevada en agua.

10 Según otra realización preferida,  $R^5$  es H o alquilo de  $C_{1-3}$ . Incluso más preferiblemente,  $R^5$  es H o metilo, lo más preferible,  $R^5$  es metilo.

En una realización preferida adicional de la presente invención, el número entero m en la fórmula (I) es 2.

15 El polímero según la presente invención tiene típicamente un peso molecular de al menos 1.000 g/mol. Incluso más preferiblemente, el polímero tiene un peso molecular en el intervalo de 2.000-100.000 g/mol, lo más preferible, de 5.000-50.000 g/mol.

En el caso de que  $R^5$  sea un resto que comprende un grupo funcional como se especifica aquí, las unidades que se repiten representadas por la fórmula (I) representan típicamente al menos 2% en moles, más preferiblemente 5-70% en moles, y lo más preferible, 10-30% en moles del polímero.

20 En el caso de que  $R^5$  sea H o alquilo de  $C_{1-5}$ , las unidades que se repiten representadas por la fórmula (I) representan típicamente al menos 10-100% en moles, más preferiblemente 20-100% en moles, y lo más preferible, 40-100% en moles del polímero.

25 Además de las unidades que se repiten (monoméricas) representadas por la fórmula (I), el presente polímero puede contener adecuadamente otras unidades que se repiten, principalmente otras unidades de iminoéter cíclico, tales como 2-oxazolininas y 2-oxazinas. En una realización particularmente preferida de la presente invención, el polímero contiene 0-98% en moles, más preferiblemente 30-95% en moles, y lo más preferible, 70-90% en moles de unidades que se repiten representadas por la fórmula (Y)



30 en la que las unidades que se repiten representadas por la fórmula (Y) son diferentes de las unidades que se repiten representadas por la fórmula (I); y en la que  $R^a$  representa C(O)H, C(O) $R^k$  o  $R^k$ , y en el que  $R^k$  representa alquilo de  $C_{1-22}$  opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido, o arilo opcionalmente sustituido, y en la que el número entero m es 2 o 3.

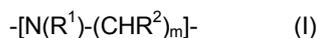
Preferiblemente,  $R^k$  representa un alquilo de  $C_{1-22}$  opcionalmente sustituido, más preferiblemente alquilo de  $C_{1-10}$ , y lo más preferible, alquilo de  $C_{1-5}$ .

35 Las unidades que se repiten representadas por la fórmula (I) y las unidades que se repiten representadas por la fórmula (Y) representan juntas típicamente al menos 50% en peso del presente polímero. Incluso más preferiblemente, dichas unidades que se repiten representan juntas al menos 80% en peso, y lo más preferible, 100% en peso de las unidades que se repiten contenidas en el presente polímero.

El polímero según la presente invención puede ser un homopolímero o un copolímero. Lo más preferible, el presente polímero es un copolímero de polioxazolina.

40 Se prefiere además que el polímero según la presente invención sea un polímero lineal.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a un conjugado de un polímero y al menos un resto activo seleccionado de un resto terapéutico, un resto seleccionador de una diana, y un resto de diagnóstico, comprendiendo dicho polímero unidades que se repiten que están representadas por la siguiente fórmula (I):



45 en la que

- $R^1$  es  $R^3-(CHR^4)_n-CONH-R^5$ ;
- $R^2$  se selecciona de H y alquilo de  $C_{1-5}$  opcionalmente sustituido;
- $R^3$  es CO, C(O)O, C(O)NH o C(S)NH;

- $R^4$  se selecciona de H y alquilo de  $C_{1-5}$  opcionalmente sustituido;
- $R^5$  es H; un alquilo de  $C_{1-5}$ ; arilo; o un resto que comprende un grupo funcional que se puede usar para conjugación, seleccionándose dicho grupo funcional de un grupo que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo; un tiol; una fosfina; un alquino; un alqueno; un arilo; un aldehído; una cetona; un acetal; un éster; un ácido carboxílico; un carbonato; un cloroformiato; un hidroxilo; un éter; una vinilsulfona; un epóxido; sulfonato; ácido haloacético y anhídrido;

5

- m es 2 o 3; y

n es 1-5.

El número entero n es preferiblemente 1-4, y lo más preferible, 1-2.

- 10 Preferiblemente, el conjugado se obtiene permitiendo que el resto activo, tal como un resto terapéutico, un resto seleccionador de una diana, y/o un resto de diagnóstico, reacciona con al menos uno de los grupos funcionales en  $R^5$  del polímero. Ventajosamente, el resto activo está enlazado covalentemente al polímero.

- 15 Como alternativa, el conjugado es un montaje no covalente basado en múltiples interacciones no covalentes tales como enlazamiento de hidrógeno o interacciones electrostáticas (por ejemplo, que implican aminas terciarias en el polímero), con enlazamiento de hidrógeno complementario o con macromoléculas cargadas opuestamente, incluyendo polímeros sintéticos, biopolímeros y sustancias biofarmacéuticas. En una realización preferida, el conjugado es un montaje capa a capa del polímero y una macromolécula. En otra realización preferida, el conjugado es un montaje en forma de un vector no viral para el suministro de genes.

- 20 El resto terapéutico que está contenido en el presente conjugado es capaz preferiblemente de inhibir una cascada de transducción de señales en un sistema celular, interfiere con el citoesqueleto, o se intercala en la doble hélice del ADN. Se prefiere además que el resto terapéutico, unido a o separado del polímero, tenga actividad antifibrótica, antiangiogénica, antitumoral, inmunoestimulante o inductora de la apoptosis. Los restos terapéuticos particularmente preferidos son doxorubicina, daunorrubicina, epirubicina, paclitaxel, mesoclorina, 5-fluorouracilo y cis-platino.

- 25 El resto seleccionador de una diana que está contenido en el conjugado comprende preferiblemente un grupo folato, puesto que se sabe que el folato tiene una elevada afinidad natural por la proteína receptora de folato, que es expresada habitualmente en la superficie de muchos cánceres humanos. Otro resto seleccionador de una diana preferido es la secuencia de arginina-glicina-aspartato (RGD), ya que selecciona como diana a la integrina, que también está sobreexpresada en tejidos cancerosos. Los restos seleccionadores de una diana según la presente invención pueden comprender también anticuerpos, fragmentos de la unión de fragmento-antígeno (FABs), anticuerpos de un solo dominio (nanocuerpos), péptidos o nucleótidos, tales como ARN, ADN y ARNpi.

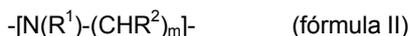
- 30 El resto de diagnóstico se selecciona preferiblemente de radiomarcadores (radionúclidos), agentes que se pueden presentar en imágenes mediante PET, agentes que se pueden presentar en imágenes mediante SPECT, agentes que se pueden presentar en imágenes mediante MRI, y sondas fluorescentes.

- 35 Un tercer aspecto de la presente invención se refiere al conjugado mencionado anteriormente para uso en el tratamiento terapéutico, tratamiento profiláctico o diagnóstico de enfermedades o trastornos, particularmente cáncer.

Según una realización particularmente preferida de dicho uso, el conjugado se administra intravenosamente, subcutáneamente u oralmente. Lo más preferible, el conjugado se administra subcutáneamente u oralmente.

Un cuarto aspecto de la presente invención se refiere a un método para preparar un polímero como se describe anteriormente, en el que el método comprende:

- 40 • proporcionar un polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la siguiente fórmula (II)



en la que:

- 45 -  $R^1$  es  $R^3-(CHR^4)_n-COOR^8$ ;
- $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ , m y n tienen el mismo significado como se describe aquí anteriormente;
- $R^8$  se selecciona de alquilo de  $C_{1-22}$  opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido, y arilo opcionalmente sustituido,

- hacer reaccionar dicho polímero con un compuesto amínico representado por la siguiente fórmula (III)



en la que:

- R<sup>5</sup> tiene el mismo significado como antes.

En una realización preferida de este método, R<sup>8</sup> es un alquilo de C<sub>1-3</sub>. Lo más preferible, R<sup>8</sup> es un grupo metilo.

5 Según una realización del presente método, R<sup>3</sup> es CO o C(O)O, y el polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la fórmula (II) se obtiene:

- hidrolizando un polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la siguiente fórmula (IV)



10 para producir un polímero que comprende unidades que se repiten hidrolizadas que están representadas mediante la siguiente fórmula (V)



- hacer reaccionar el polímero que comprende unidades que se repiten hidrolizadas, con un éster representado por la siguiente fórmula (VIa)



15 o la siguiente fórmula (VIb)



en las que X' se selecciona de Cl, Br, I, OH u OR<sup>9</sup>, en el que R<sup>9</sup> es un resto activante, tal como N-hidroxisuccinimida, para-nitrofenilo o pentafluorofenilo.

20 Según otra realización ventajosa del presente método, R<sup>3</sup> es C(O)NH o C(S)NH, y el polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la fórmula (II) se obtiene:

- hidrolizando un polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la siguiente fórmula (IV)



25 para producir un polímero que comprende unidades que se repiten hidrolizadas que están representadas por la siguiente fórmula (V)



- hacer reaccionar el polímero que comprende unidades que se repiten hidrolizadas, con un éster representado por la siguiente fórmula (VIIa)



30 o la siguiente fórmula (VIIb)



en la que X'' se selecciona de Cl, Br, I, o un alcohol activado, tal como triflato, tosilato, mesilato y nosilato;

o la siguiente fórmula (VIIc)

35 
$$\text{O}=\text{C}=\text{N}-(\text{CHR}^4)_n-\text{COOR}^8 \quad (\text{fórmula VIIc})$$

o la siguiente fórmula (VIIId)



Según todavía otra realización del presente método, R<sup>3</sup> es CO, y el polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la fórmula (II) se obtiene:

- 40
- mediante polimerización de apertura del anillo de 2-oxazolina sustituida en 2 o una dihidro-1,3-oxazina sustituida en 2 representada por la siguiente fórmula (VIII)



en la que R<sup>c</sup> representa una oxazolina sustituida en 2 o una dihidro-1,3-oxazina sustituida en 2.

Según todavía una realización adicional de la invención, R<sup>3</sup> es CO, y el polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la fórmula (II) se obtiene:

- 5 • mediante polimerización de apertura del anillo de oxazolina sustituida en 2 o una dihidro-1,3-oxazina sustituida en 2 representada por la siguiente fórmula (IX)



en la que R<sup>c</sup> representa una 2-oxazolina o una 2-dihidro-1,3-oxazina, y en la que R<sup>5</sup> es un grupo R<sup>5</sup> como se define aquí antes, estando dicho grupo protegido por grupos protectores; y

- 10 • eliminar los grupos protectores de R<sup>5</sup>.

La invención se ilustra adicionalmente por medio de los siguientes ejemplos no limitantes.

## EJEMPLOS

### Ejemplo 1

15 Se preparó un polímero de polioxazolina según la presente invención mediante un método que comprende las siguientes etapas.

Aquazol 50 (poli(2-etil-2-oxazolina) (PEtOx), Mw 50.000) se sometió a hidrólisis ácida controlada para producir un copolímero de poli[2-etil-2-oxazolina/etilenimina]. Se hidrolizó veinte por ciento de las unidades de 2-etil-oxazolina iniciales.

20 Esta poli[2-etil-2-oxazolina/etilenimina] se funcionalizó en un enfoque de dos etapas mediante el acoplamiento en primer lugar de cloruro de metilsuccinilo, seguido de la reacción del éster metílico con etilendiamina (30 equivalentes en ausencia de disolvente) para producir un copolímero de poli[2-(etil/amino-etil-amido-etil)-2-oxazolina] activado de cadena lateral aminica.

### Ejemplo 2

25 Se preparó un polímero de polioxazolina según la presente invención mediante un método que comprende las siguientes etapas.

Aquazol 50 (PEtOx, Mw 50.000) se sometió a hidrólisis ácida controlada para producir un copolímero de poli[2-etil-2-oxazolina/etilenimina]. Se hidrolizó diez por ciento de las unidades de 2-etil-oxazolina iniciales.

30 Esta poli[2-etil-2-oxazolina/etilenimina] se funcionalizó en un enfoque de dos etapas mediante el acoplamiento en primer lugar bromoacetato de metilo, seguido de la reacción del éster metílico con etilendiamina (30 equivalentes en ausencia de disolvente) para producir un copolímero poli[(2-etil-2-oxazolina)/(amino-etil-amido-metílico)] activado de cadena lateral aminica.

### Ejemplo 3

Se preparó un polímero de polioxazolina según la presente invención mediante un método que comprende las siguientes etapas.

35 Aquazol 50 (PEtOx, Mw 50.000) se sometió a hidrólisis ácida controlada para producir un copolímero de poli[2-etil-2-oxazolina/etilenimina]. Se hidrolizó diez por ciento de las unidades de 2-etil-oxazolina iniciales.

40 Esta poli[2-etil-2-oxazolina/etilenimina] se funcionalizó en un enfoque de dos etapas mediante el acoplamiento en primer lugar acrilato de metilo, seguido de la reacción del éster metílico con etilendiamina (30 equivalentes en ausencia de disolvente) para producir un copolímero poli[(2-etil-2-oxazolina)/(amino-etil-amido-etílico)] activado de cadena lateral aminica.

### Ejemplo 4

Se preparó un polímero de polioxazolina según la presente invención mediante un método que comprende las siguientes etapas.

45 2-(2-Metoxicarboniletíl)-2-oxazolina se preparó siguiendo un procedimiento de la bibliografía (A. Levy, M. Litt, J. Polim. Sci. A 1968, 6, 1883), seguido de la polimerización por apertura del anillo catiónica que produce el homopolímero correspondiente funcionalizado con éster metílico, poli(2-(2-metoxicarboniletíl)-2-oxazolina).

La copolimerización del monómero de 2-(2-metoxicarboniletil)-2-oxazolina con 2-etil-2-oxazolina (50%) o 2-metil-2-oxazolina (50%) produjo copolímeros estadísticos.

Estos polímeros se funcionalizaron mediante la reacción de las cadenas laterales de éster metílico con etilendiamina (30 equivalentes en ausencia de disolvente) para producir copolímeros poli[amino-etil-amido-etílicos] activados de cadena lateral amínica.

#### Ejemplo 5

El homopolímero de poli(2-(2-metoxicarboniletil)-2-oxazolina) del Ejemplo 4 se hizo reaccionar con N-boc-aminoetanoamina disolviendo 0,8 g de polímero en 2,5 ml de N-boc-aminoetanoamina, seguido de una agitación durante 23 horas a 80°C. La espectroscopía de RMN <sup>1</sup>H en CDCl<sub>3</sub> reveló que ~90% de las unidades de éster metílico se convirtieron en cadenas laterales de Boc-aminoetilamido. Este polímero se hizo reaccionar posteriormente con ácido clorhídrico (HCl) disolviendo 850 mg de polímero en diclorometano (30 ml), que se añadió gota a gota a una disolución de HCl en acetato de etilo (0,175 ml, 2,98 mmoles). Tras la adición total, la disolución se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente. La RMN <sup>1</sup>H demostró la formación exitosa de la sal de hidrocioruro del polímero funcionalizado de cadena lateral de amino-etilamido mediante desaparición de la señal de Boc en 1,4 ppm.

#### Ejemplo 6

Se preparó un polímero de polioxazolina según la presente invención mediante un método que comprende las siguientes etapas.

Poli(2-etil-2-oxazolina) (PEtOx, Mw 10.000, grado de polimerización 100), preparada mediante polimerización de apertura de anillo catiónica viviente bajo irradiación de microondas (140°C, concentración de monómero 4 M en acetonitrilo, tosiloato de metilo como iniciador), se sometió a hidrólisis ácida controlada para producir un copolímero de poli[2-etil-2-oxazolina/etilenimina]. Se hidrolizó dieciocho por ciento de las unidades de 2-etil-oxazolina iniciales.

Esta poli[2-etil-2-oxazolina/etilenimina] se funcionalizó en un enfoque de dos etapas mediante el acoplamiento en primer lugar de cloruro de metilsuccinilo, que produce el copolímero funcionalizado de cadena lateral de éster metílico. La espectroscopía infrarroja (IR) reveló claramente la desaparición de la banda característica de éster metílico en 1732 cm<sup>-1</sup>, mientras que la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (RMN <sup>1</sup>H) mostró claramente la señal de éster metílico en 3,7 ppm.

Este polímero se modificó posteriormente mediante reacción con diversas aminas (exceso de al menos 10 veces) en bruto, excepto hidrazina, que se añadió como monohidrato de hidrazina, a 70°C en una vasija de reacción cerrada. El acoplamiento con éxito de la amina y la formación de los sustituyentes amídicos de la cadena lateral se demostraron mediante la desaparición del pico del éster metílico en 3,7 ppm en los espectros de RMN <sup>1</sup>H. Además, se detectaron nuevas señales para las cadenas laterales amídicas incorporadas, entre 7 y 9 ppm, cuando las medidas se realizaron en DMSO-d<sub>6</sub>. Además, los polímeros resultantes revelaron una mayor masa molar mediante cromatografía de exclusión de tamaños en comparación con el polímero de partida que tuvo una masa molar promedio en peso (M<sub>w</sub>) de 1,78\*10<sup>4</sup>, una masa molar promedio en número (M<sub>n</sub>) de 1,67\*10<sup>4</sup>, y una dispersidad (D) de 1,1. Finalmente, la espectroscopía de IR reveló la desaparición de la banda en 1732 cm<sup>-1</sup>, mientras que apareció una banda de amida secundaria (vibración de flexión de N-H) en 1570-1515 cm<sup>-1</sup>. En la Tabla 1 se proporciona un resumen de estas reacciones.

Tabla 1

Amina	RMN <sup>1</sup> H (ppm) <sup>1</sup>	M <sub>w</sub> (x10 <sup>4</sup> ) <sup>2</sup>	M <sub>n</sub> (x10 <sup>4</sup> ) <sup>2</sup>	Đ <sup>2</sup>
Metilamina	5,9	1,95	1,77	1,1
Etilamina	7,8	1,95	1,77	1,1
Propilamina	7,9	1,95	1,78	1,1
Dimetilamina	6,3	1,95	1,78	1,1
Monohidrato de hidrazina	9	1,95	1,77	1,1
Leucina	n.d. <sup>3</sup>	2,03	1,8	1,1
Glicina	n.d. <sup>3</sup>	2,10	1,8	1,1
Aminoetanol	n.d. <sup>3</sup>	2,38	2,2	1,1
Alilamina	8,4	1,8	1,65	1,1

Amina	RMN <sup>1</sup> H (ppm) <sup>1</sup>	M <sub>w</sub> (x10 <sup>4</sup> ) <sup>2</sup>	M <sub>n</sub> (x10 <sup>4</sup> ) <sup>2</sup>	Đ <sup>2</sup>
1-amino-3-butino	8,4	1,79	1,67	1,1
N,N'-dimetiletilendiamina	8,2	1,81	1,66	1,1

<sup>1</sup> Desplazamiento químico del protón de amida resultante en DMSO-d6

<sup>2</sup> Determinado por medio de cromatografía de exclusión de tamaños calculado frente a patrones de PMMA

<sup>3</sup> Las medidas llevadas a cabo en metanol-d4 o en CDCl<sub>3</sub> no mostraron esta señal de amida.

### Ejemplo 7

Se preparó un polímero de polioxazolina según la presente invención mediante un método que comprende las siguientes etapas.

- 5 Poli(2-etil-2-oxazolona) (PEtOx, Mw 10.000, grado de polimerización 100), preparada mediante polimerización de apertura de anillo catiónica viviente bajo irradiación de microondas (140°C, concentración de monómero 4 M en acetonitrilo, tosilato de metilo como iniciador), se sometió a hidrólisis ácida controlada para producir un copolímero de poli[2-etil-2-oxazolona/etilenimina]. Se hidrolizó dieciocho por ciento de las unidades de 2-etil-oxazolona iniciales.

10 Esta poli[2-etil-2-oxazolona/etilenimina] se funcionalizó en un enfoque de dos etapas mediante el acoplamiento en primer lugar 3-isocianatopropionato de metilo (3 eq; reacción llevada a cabo en cloroformo seco durante 5 minutos a 150°C en un horno de microondas), produciendo el copolímero funcionalizado de cadena lateral de éster metílico, en el que la cadena lateral está unida a la cadena principal vía un enlace de urea. La espectroscopía infrarroja (IR) reveló claramente la aparición de la banda característica de éster metílico en 1732 cm<sup>-1</sup>, mientras que la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (RMN <sup>1</sup>H) mostró claramente la señal de éster metílico en 3,7 ppm. SEC reveló un M<sub>w</sub> de 1,98 x 10<sup>4</sup>, M<sub>n</sub> de 1.83 x 10<sup>4</sup> y una Đ de 1.1.

15 Este polímero se puede modificar además mediante reacción del éster metílico con diversas aminas, como se ejemplifica en el Ejemplo 6. Esto se demostró mediante reacción del polímero con etilamina disolviendo 0,3 g de polímero en 2 ml de etilamina, y calentando toda la noche a 70°C. El éxito de la reacción se demostró mediante espectroscopía de RMN <sup>1</sup>H en DMSO-d6, que revela la señal de amida específica en 7,9 ppm. La espectroscopía IR también confirmó la reacción por la desaparición de la banda en 1732 cm<sup>-1</sup>. SEC también confirmó un incremento en la masa molar tras la reacción hasta un M<sub>w</sub> de 2,14 x 10<sup>4</sup>, M<sub>n</sub> de 1,98 x 10<sup>4</sup> y una Đ de 1,1.

### Ejemplo 8

Se preparó un polímero de polioxazolina según la presente invención mediante un método que comprende las siguientes etapas.

- 25 Poli(2-etil-2-oxazolona) (PEtOx, Mw 10.000, grado de polimerización 100), preparada mediante polimerización de apertura de anillo catiónica viviente bajo irradiación de microondas (140°C, concentración de monómero 4 M en acetonitrilo, tosilato de metilo como iniciador), se sometió a hidrólisis ácida controlada para producir un copolímero de poli[2-etil-2-oxazolona/etilenimina]. Se hidrolizó dieciocho por ciento de las unidades de 2-etil-oxazolona iniciales.

30 Esta poli[2-etil-2-oxazolona/etilenimina] se funcionalizó en un enfoque de dos etapas mediante el acoplamiento en primer lugar 3-isotiocianatopropanoato de metilo (3 eq; reacción llevada a cabo en cloroformo seco durante 5 minutos a 150°C en un horno de microondas), produciendo el copolímero funcionalizado de cadena lateral de éster metílico, en el que la cadena lateral está unida a la cadena principal vía un enlace de urea. La espectroscopía infrarroja (IR) reveló claramente la aparición de la banda característica de éster metílico en 1732 cm<sup>-1</sup>, mientras que la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (RMN <sup>1</sup>H) mostró claramente la señal de éster metílico en 3,7 ppm. SEC reveló un M<sub>w</sub> de 2,28 x 10<sup>4</sup>, M<sub>n</sub> de 2,05 x 10<sup>4</sup> y una Đ de 1,1.

35 Este polímero se puede modificar además mediante reacción del éster metílico con diversas aminas, como se ejemplifica en el Ejemplo 6. Esto se demostró mediante reacción del polímero con etilamina disolviendo 0,3 g de polímero en 2 ml de etilamina, y calentando toda la noche a 70°C. El éxito de la reacción se demostró mediante espectroscopía de RMN <sup>1</sup>H en DMSO-d6, que revela la señal de amida específica en 8,1 ppm. La espectroscopía IR también confirmó la reacción por la desaparición de la banda en 1732 cm<sup>-1</sup>. SEC también confirmó un incremento en la masa molar tras la reacción hasta un M<sub>w</sub> de 2,26 x 10<sup>4</sup>, M<sub>n</sub> de 2,08 x 10<sup>4</sup> y una Đ de 1,1.

### Ejemplo 9

El homopolímero de poli(2-(2-metoxicarboniletíl)-2-oxazolona), preparado en el ejemplo 4, se hizo reaccionar con hidrazina para producir el homopolímero de poli(hidrazona etil-2-oxazolona).

**Ejemplo 10**

El polímero del Ejemplo 1, copolímero de poli[2-(etil/amino-etil-amido-etil)-2-oxazolina], se hizo reaccionar con doxorubicina mezclando ambos en un disolvente orgánico, de manera que se formó un conjugado del polímero y doxorubicina vía un enlace de imina (en lo sucesivo: conjugado de POX-DOX), cuyo enlazador es escindible mediante ácidos. Tal enlazador escindible mediante ácidos permite una escisión parcial rápida de la doxorubicina desde el polímero ya tras la transferencia del conjugado al espacio intersticial del tumor, es decir, extracelularmente en estrecha proximidad a las células tumorales diana, debido a que el tejido tumoral es generalmente más ácido que el tejido no tumoral. De este modo, tras salvar el suministro del fármaco conjugado hacia el tumor, el fármaco es liberado en o próximo al tumor para llevar a cabo su acción en el tejido tumoral.

**10 Ejemplo 11**

El polímero del Ejemplo 9, homopolímero de poli(hidrazona etil-2-oxazolina), se hizo reaccionar con DOX para producir el conjugado de POX-DOX, en el que la DOX se une al polímero vía un enlace de hidrazona escindible por pH.

**Ejemplo 12**

15 El copolímero que consiste en cadenas laterales de etilo y de hidrazida del Ejemplo 6, obtenido mediante reacción de las cadenas laterales de éster metílico con hidrazina, se hace reaccionar con DOX para producir el conjugado de POX-DOX en el que la DOX está unida al polímero vía un enlace de hidrazona escindible por pH.

**Ejemplo 13**

20 A fin de dirigir los polímeros de oxazolina conjugados (conjugado de POX-DOX) de los Ejemplos 11 y 12 al tejido canceroso, los polímeros se proporcionan con restos seleccionadores de una diana. Un resto seleccionador de una diana muy adecuado es folato. La selección de una diana por folato se basa en la elevada afinidad natural del folato por la proteína receptora de folato (FR), que es expresada habitualmente en la superficie de muchos cánceres humanos. Como tal, los conjugados de folato-fármaco también se unen fuertemente al receptor de folato y disparan la absorción celular del polímero conjugado. En el tejido tumoral, el resto terapéutico es liberado debido a la escisión del enlazador de hidrazona.

25 El resto de folato está enlazado a los conjugados de POX-DOX mediante el acoplamiento del grupo ácido carboxílico del folato al término amino del polímero de oxazolina (DOX), que se introduce protegiendo terminalmente los polímeros con ftalimida potásica seguido de la liberación de la amina por reacción con hidrazina.

**Ejemplo 14**

30 Además del folato, la denominada secuencia RGD es también muy útil como resto seleccionador de una diana, ya que selecciona activamente como dianas a integrinas, que están sobreexpresadas en tejido canceroso. Aquí, las oxazolininas conjugadas (conjugado de POX-DOX) de los Ejemplos 11 y 12 se hacen reaccionar con el resto de cisteína de CRGD usando acoplamiento de tiol-eno radicalico a la funcionalidad terminal de la cadena alquénica de la polioxazolina, que se introduce usando como iniciador tosilato de propeno.

**35 Ejemplo 15**

El marcaje con  $^{18}\text{F}$  de polioxazolina funcionalizada con amino se lleva a cabo mediante reacción de los restos amínicos con 2- $^{18}\text{F}$ fluoropropionato de 4-nitrofenilo, con lo que el éster activado de nitrofenilo se acopla a la amina.

## REIVINDICACIONES

1. Un conjugado de un polímero y al menos un resto activo seleccionado de un resto terapéutico, un resto seleccionador de una diana, y un resto de diagnóstico, comprendiendo dicho polímero unidades que se repiten que están representadas por la siguiente fórmula (I):



en la que:

- $\text{R}^1$  es  $\text{R}^3\text{---}(\text{CHR}^4)_n\text{---CONH---R}^5$ ;
- $\text{R}^2$  se selecciona de H y alquilo de  $\text{C}_{1-5}$  opcionalmente sustituido;
- $\text{R}^3$  es CO, C(O)O, C(O)NH o C(S)NH;
- 10 •  $\text{R}^4$  se selecciona de H y alquilo de  $\text{C}_{1-5}$  opcionalmente sustituido;
- $\text{R}^5$  es H; un alquilo de  $\text{C}_{1-5}$ ; arilo; o un resto que comprende un grupo funcional que se puede usar para conjugación, seleccionándose dicho grupo funcional de un grupo que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo; un tiol; una fosfina; un alquino; un alqueno; un arilo; un aldehído; una cetona; un acetal; un éster; un ácido carboxílico; un carbonato; un cloroformiato; un hidroxilo; un éter; una vinilsulfona; un epóxido; sulfonato; ácido haloacético y anhídrido;
- 15 • m es 2 o 3; y
- n es 1-5.

2. Conjugado según la reivindicación 1, en el que  $\text{R}^5$  es un resto que comprende un grupo funcional que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo.

20 3. Conjugado según la reivindicación 2, en el que  $\text{R}^5$  representa  $\text{R}^6\text{NR}^7\text{R}^{7'}$ , en el que:

- $\text{R}^6$  representa un enlace covalente o un alquileo de  $\text{C}_{1-5}$  opcionalmente sustituido;
- $\text{R}^7$  y  $\text{R}^{7'}$  se seleccionan independientemente de H y  $\text{C}_{1-5}$ .

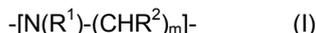
4. Conjugado según las reivindicaciones 1 o 2, en el que el grupo funcional que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo se selecciona de maleimida, isocianato, isotiocianato, disulfuro de ortopiridilo, y haloacetamida.

25 5. Conjugado según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las unidades que se repiten representadas por la fórmula (I) representan al menos 5% en moles del polímero.

6. Conjugado según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el conjugado se obtiene haciendo reaccionar el resto activo con al menos uno de los grupos funcionales en  $\text{R}^5$  del polímero.

30 7. Conjugado según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para uso en el tratamiento terapéutico, tratamiento profiláctico, o diagnóstico.

8. Un polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la siguiente fórmula (I):



en la que:

- 35 •  $\text{R}^1$  es  $\text{R}^3\text{---}(\text{CHR}^4)_n\text{---CONH---R}^5$ ;
- $\text{R}^2$  se selecciona de H y alquilo de  $\text{C}_{1-5}$  opcionalmente sustituido;
- $\text{R}^3$  es CO, C(O)O, C(O)NH o C(S)NH;
- $\text{R}^4$  se selecciona de H y alquilo de  $\text{C}_{1-5}$  opcionalmente sustituido;
- 40 •  $\text{R}^5$  es H; un alquilo de  $\text{C}_{1-5}$ ; arilo; o un resto que comprende un grupo funcional que se puede usar para conjugación, seleccionándose dicho grupo funcional de un grupo que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo; un tiol; una fosfina; un alquino; un alqueno; un arilo; un aldehído; una cetona; un acetal; un éster; un ácido carboxílico; un carbonato; un cloroformiato; un hidroxilo; un éter; una vinilsulfona; un epóxido; sulfonato; ácido haloacético y anhídrido;

- m es 2 o 3; y
- n es 1-2.

9. Polímero según la reivindicación 8, en el que R<sup>5</sup> es un resto que comprende un grupo funcional que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo.

5 10. Polímero según la reivindicación 9, en el que R<sup>5</sup> representa R<sup>6</sup>NR<sup>7</sup>R<sup>7'</sup>, en el que:

- R<sup>6</sup> representa un enlace covalente o un alquileo de C<sub>1-5</sub> opcionalmente sustituido;
- R<sup>7</sup> y R<sup>7'</sup> se seleccionan independientemente de H y C<sub>1-5</sub>.

10 11. Polímero según una cualquiera de las reivindicaciones 8-9, en el que el grupo funcional que comprende un átomo de nitrógeno que está enlazado covalentemente a al menos un carbono, hidrógeno o heteroátomo se selecciona de maleimida, isocianato, isotiocianato, disulfuro de ortopiridilo, y haloacetamida.

12. Polímero según una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en el que las unidades que se repiten representadas por la fórmula (I) representan al menos 5% en moles del polímero.

13. Polímero según una cualquiera de las reivindicaciones 8-12, en el que el polímero también contiene unidades que se repiten representadas por la fórmula (Y)

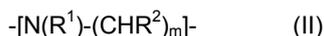


en la que las unidades que se repiten representadas por la fórmula (Y) son diferentes de las unidades que se repiten representadas por la fórmula (I); y en la que R<sup>a</sup> representa C(O)H, C(O)R<sup>k</sup> o R<sup>k</sup>, y en el que R<sup>k</sup> representa alquilo de C<sub>1-22</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido, o arilo opcionalmente sustituido; y

20 en el que las unidades que se repiten representadas por la fórmula (I) y las unidades que se repiten representadas por la fórmula (Y) representan juntas al menos 50% en peso del polímero.

14. Un método para preparar un polímero como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, o según una cualquiera de las reivindicaciones 8-13, comprendiendo dicho método:

- 25 • proporcionar un polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la siguiente fórmula (II)



en la que:

- 30 - R<sup>1</sup> es R<sup>3</sup>-(CHR<sup>4</sup>)<sub>n</sub>-COOR<sup>8</sup>;
- R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, m y n tienen el mismo significado como en la reivindicación 1;
- R<sup>8</sup> se selecciona de alquilo de C<sub>1-22</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido, y arilo opcionalmente sustituido,

- hacer reaccionar dicho polímero con un compuesto amínico representado por la siguiente fórmula (III)



en la que:

- 35 - R<sup>5</sup> tiene el mismo significado como en la reivindicación 1.

15. Un método para preparar un polímero como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, o según una cualquiera de las reivindicaciones 8-13, en el que R<sup>3</sup> es CO, y en el que el polímero que comprende unidades que se repiten que están representadas por la fórmula (II) se obtiene:

- 40 • mediante polimerización de apertura del anillo de oxazolina sustituida en 2 o una dihidro-1,3-oxazina sustituida en 2 representada por la siguiente fórmula (IX)



en la que R<sup>c</sup> representa una 2-oxazolina o una 2-dihidro-1,3-oxazina, en la que R<sup>5</sup> está protegido por grupos protectores; y

- eliminar los grupos protectores de R<sup>5</sup>.