



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0621291-3 A2**

(22) Data de Depósito: 19/01/2006
(43) Data da Publicação: 06/12/2011
(RPI 2135)



(51) *Int.Cl.:*
C08K 5/05
C08F 8/34

(54) **Título:** SOLUBILIZAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DIRECIONADA DE DROGAS COM POLÍMEROS ANFIFÍLICOS DE AUTOMONTAGEM

(73) **Titular(es):** Allexcell, INC

(72) **Inventor(es):** Anil Diwan, Ann Louise Onton, Jayant G. Tatake

(74) **Procurador(es):** Nellie Anne Daniel Shores

(86) **Pedido Internacional:** PCT US2006001820 de 19/01/2006

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/084126de 26/07/2007

(57) **Resumo:** SOLUBILIZAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DIRECIONADA DE DROGAS COM POLÍMEROS ANFIFÍLICOS DE AUTOMONTAGEM. São fornecidos copolímeros biodegradáveis anfifílicos compreendendo uma espinha dorsal hidrofílica com grupos alifáticos pendentes como o componente hidrofóbico. Os polímeros formam agregados moleculares nanoescalares nos ambientes aquosos, que têm os interiores hidrofóbicos que são capazes de solubilizar compostos orgânicos insolúveis tais como drogas, vitaminas, tinturas, e agentes de imagem. Os polímeros caracterizam opcionalmente os grupos funcionais reativos que fornecem pontos de anexação para anticorpos, ligantes, e outras porções alvo úteis para a entrega direcionada das drogas e dos agentes de imagem.

"SOLUBILIZAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DIRECIONADA DE DROGAS COM POLÍMEROS ANFIFÍLICOS DE AUTOMONTAGEM"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se aos campos de polímeros anfifílicos, e especificamente a polímeros tipo pente de formação de micela biocompatíveis. A invenção também refere-se aos campos de solubilização da droga e distribuição de droga direcionada.

FUNDAMENTOS

Os copolímeros de bloco anfifílicos compreendendo um bloco hidrofóbico e um bloco hidrofílico têm sido bem estudados nos últimos anos, por causa de sua capacidade para automontagem em uma variedade de nanoestruturas enquanto o solvente circundante é variado. Veja Cameron et al., *Can. J. Chem./Rev. Can. Chim.* 77:1311-1326 (1999). Em soluções aquosas, o compartimento hidrofóbico de um polímero anfifílico tem uma tendência para automontar a fim de evitar contato com água e minimizar a energia interfacial livre do sistema. Ao mesmo tempo, os blocos hidrofílicos formam uma "coroa" hidratada no ambiente aquoso, e assim os agregados mantêm uma estrutura termodinamicamente estável. O resultado é uma suspensão coloidal do tipo látex estável de partículas agregadas de polímero tendo núcleos hidrofóbicos e coroas hidrofílicas.

Os copolímeros anfifílicos do tipo pente diferem dos copolímeros de bloco em que a espinha dorsal é largamente hidrofóbica ou hidrofílica, com cadeias de polímero de polaridade oposta pendentes da espinha dorsal em vez de incorporadas na mesma. Os copolímeros do tipo pente foram preparados com espinhas dorsais hidrofóbicas e ramificações hidrofílicas (Mayes et al., Patente U.S. Nº 6.399.700), e também com espinhas dorsais hidrofílicas e ramificações hidrofóbicas (Watterson et al., Patente U.S. Nº 6.521.736). Os anteriores foram usados para fornecer apresentação multivalente dos ligantes para os receptores de superfície de célula, quando os últimos foram usados para solubilizar drogas e as entregar às células.

Os agregados de polímero anfifílicos foram estudados como portadores para solubilizar drogas insolúveis, veículos de entrega direcionados à droga, e sistemas de entrega de gene. Têm uma estrutura mais estável do que as micelas de peso molecular baixo convencional, devido ao emaranhamento de cadeia e/ou à cristalinidade da região hidrofóbica interior. A natureza polimérica do veículo torna os agregados relativamente imunes à desintegração que as lipossomas ordinárias sofrem quando diluídas abaixo de sua concentração crítica de micela. Igualmente têm uma vantagem sobre composições de distribuição de droga lipossomal tradicionais em que a ausência de uma membrana de bicamada as permite mais prontamente fundir com membranas celulares e entregar sua carga diretamente à célula.

Devido à biocompatibilidade excelente de poli (etileno glicol) (PEG), e à habilidade aparente de partículas "escondidas" revestidas-PEG para iludir o sistema reticuloendotelial, micelas, lipossomas, e polímeros incorporando PEG foram considerados extensivamente como materiais para sistemas de distribuição de droga. Há muitos relatórios do uso de

5 poli(etileno glicol) (PEG) como o componente hidrofílico dos PEG-lipídeos (formando lipossomas e micelas); veja por exemplo Krishnadas et al., *Pharm. Res.* 20:297 – 302 (2003). Os copolímeros de bloco anfífilos de automontagem, que automontam nas mais robustas "polimersomas", foram investigados igualmente como veículos para solubilização e distribuição de droga (Photos et al., *J. Controlled Release*, 90:323-334 (2003)). Veja,

10 também Gref et al., *Int. Symp. Controlled Release Mater.* 20:131 (1993); Kwon et al., *Langmuir*, 9:945 (1993); Kabanov et al., *J. Controlled Release*, 22:141 (1992); Allen et al., *J. Controlled Release*, 63:275 (2000); Inoue et al., *J. Controlled Release*, 51:221 (1998); Yu e Eisenberg, *Macromolecules*, 29:6359 (1996); Discher et al., *Science*, 284:113 (1999); Kim et al., Patente U.S. Nº 6.322.805; Seo et al., Patente U.S. Nº 6.616.941 e Seo et al., Patente

15 Européia Nº EP 0583955. O uso de poli(etilenoimina) (PEI) nesta capacidade foi relatado, com um foco na distribuição dos oligonucleotídeos (Nam et al., Patente U.S. Nº 6.569.528; Wagner et al., publicação do pedido de Patente U.S. Nº 20040248842). Em uma tendência similar, Luo et al., em *Macromolecules* 35:3456 (2002), descreve dendrímeros de poliamidoamina conjugada-PEG ("PAMAM") apropriados para distribuição de

20 polinucleotídeos.

Além da necessidade de solubilizar, distribuir, e entregar drogas, há uma necessidade para os sistemas de distribuição de droga direcionada que atingem especificamente em um tecido, tumor, ou órgão alvo. Isto é realizado geralmente pela anexação de anticorpos ou de outros ligantes com uma afinidade específica para paredes

25 celulares no local alvo. Entretanto, grupos funcionais perdem PEG a não ser que nas extremidades das cadeias de polímero, e na maioria dos grupos terminais sejam ligados ao outro componente do copolímero de bloco. Por este motivo, a anexação de porções alvo tais como anticorpos ou moléculas de adesão celular a copolímeros de bloco PEG é limitada geralmente ao bloco de não-PEG, que não é infelizmente a parte do copolímero que é para

30 expor normalmente na coroa do agregado automontado.

O fenômeno da separação de fase que resulta na automontagem de copolímeros de bloco em agregados do polímero é prontamente reversível, e tentativas foram feitas para aumentar a estabilidade dos agregados por meio de reticular o núcleo hidrofóbico (veja Patente Européia Nº EP 0552802). A anexação covalente da droga ao componente

35 hidrofóbico de um copolímero de bloco foi tentada (Park e Yoo, Patente U.S. Nº 6.623.729; Patente Européia Nº EP 0397307).

Permanece uma necessidade para um sistema de distribuição de droga que seja

estável, biocompatível, favorável à anexação de porções alvo ao exterior dos agregados, e eficiente em entregar drogas aos alvos celulares desejados.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece moléculas de polímero tipo pente biocompatíveis, compreendendo uma espinha dorsal hidrofílica tendo porções de ponto de ramificação, e ramificações hidrofóbicas unidas nestas porções de ponto de ramificação. A invenção fornece suspensões aquosas dos agregados de polímero formados de tais polímeros, e fornece métodos para solubilizar compostos orgânicos insolúveis ou escassamente solúveis, tais como drogas, tinturas, vitaminas, e semelhante, incorporando tais compostos nos núcleos hidrofóbicos dos agregados de polímero. O método para solubilizar uma espécie orgânica insolúvel em água em um solvente aquoso compreende basicamente contactar as espécies orgânicas insolúveis em água com um polímero da invenção em um solvente aquoso ou aquoso misturado.

Em particular modalidades, as porções de ponto de ramificação adicionais compreendem os grupos funcionais reativos capazes de servir como pontos de anexação para porções alvo. Em particular as modalidades preferidas, porções alvo tais como ligantes ou anticorpos são unidos covalentemente às porções de ponto de ramificação dos polímeros da invenção, e uma droga é incorporada no núcleo dos agregados, de modo a formar um complexo de droga direcionado.

A invenção ainda fornece métodos para a preparação dos polímeros tipo pente, agregados, e complexos de drogas direcionados descritos na mesma. Os polímeros da invenção de automontagem nos agregados de polímero que eficientemente solubilizam, distribuem, e entregam drogas in vivo, são não tóxicos e biocompatíveis, são estáveis, e são capazes de carregar porções alvo de célula múltipla em suas superfícies exteriores.

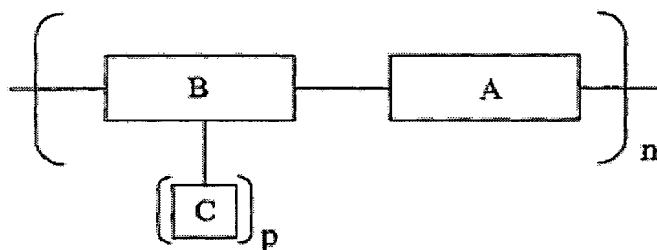
BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Fig. 1 mostra amostras de 20 μ l de soluções saturadas de três tinturas lipofílicas (A, Sudan IV; B, diclorofluorescência; C, Eosina Y solúvel em álcool) na água deionizada, manchada em uma placa de TLC de sílica gel. Fileira superior: com 50 mg/ml de π -polímero do exemplo 1; Fileira inferior: sem π -polímero.

A Fig. 2 mostra amostras de 50 μ l de soluções saturadas de quatro drogas insolúveis (fileira 1, Purpurina; fileira 2, Camptotecina; fileira 3, Anfotericina B; fileira 4, Doxorubicina) na água deionizada, manchada em uma placa de TLC de sílica gel. Coluna A, polímero A com ácido fólico; coluna B, polímero A, coluna C, nenhum polímero. Três marcas do lápis em torno de cada ponto indicam a extensão da propagação do solvente na placa. Os círculos centrais nas colunas A e B são dispersados uniformemente na sílica, indicando soluções claras; os círculos centrais na coluna C consistem pela maior parte em depósitos sólidos.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Os polímeros da invenção, referidos no mesmo como " π -polímeros", têm uma arquitetura tipo pente, com uma espinha dorsal formada da alternância de porções de ponto de ramificação B e de polímeros em bloco A solúveis em água, hidrofílicos; e tendo uma pluralidade de cadeias laterais hidrofóbicas C unidas a cada porção de ponto de ramificação. Eles consistem essencialmente na estrutura mostrada na fórmula 1. As cadeias laterais C são as porções relativamente curtas, hidrofóbicas, que podem ser moléculas, cadeias ou oligômeros alifáticos. O valor de p é idealmente um número inteiro, ou 2, 3, ou 4. Na prática, as cadeias laterais são mais freqüentemente introduzidas com eficiência menos do que perfeita através das reações químicas, tendo por resultado um valor médio de p para a preparação de polímero como um conjunto que não é o número inteiro pretendido. Os valores médios de números não inteiros podem igualmente ser obtidos pelo desenho, como discutidos abaixo. Assim, o valor médio de p nos polímeros da invenção é maior de um e pode ser tão elevado quanto quatro ($1 < p \leq 4$). Nas modalidades preferidas, P varia de aproximadamente 2 a 4, e mais preferivelmente $1,5 < p \leq 2$.



1

O polímero em bloco A da espinha dorsal é selecionado das cadeias de polímero solúveis em água e/ou hidrofílicas, incluindo mas não limitado a poli(etileno glicol), poli(propileno glicol), poli(etileno imina), poli(álcool vinílico), poli(vinilpirrolidona), polissacarídeos, e semelhante. Preferivelmente, as unidades de polímero A são cadeias poli(etileno glicol) de fórmula $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-$ onde m está entre 1 e 10.000, preferivelmente entre 3 e 3.000. Os grupos funcionais terminais das cadeias de polímero não foram caracterizados, e não são relevantes à invenção.

Na fabricação de poli(etileno glicol) de várias classes, sabe-se na indústria para acoplar uma parte ligante divalente (por exemplo, éter de diglicidil de bisfenol A) a duas cadeias poli(etileno glicol), dobrando eficazmente o peso molecular do polímero ao reter uma faixa de peso molecular relativamente estreita. Moléculas de "poli(etileno glicol)" resultantes são interrompidas conseqüentemente no ponto médio da cadeia de polímero pela porção ligante não-glicol (veja, por exemplo, o poly(ethylene glycol)-bisphenol A diglycidyl ether adduct, N° registro CAS 37225-26-6). Oligômeros mais elevados, isto é

aqueles que têm três cadeias de PEG separadas por duas porções de éter de diglicidil de bisfenol A, igualmente são sabidos, vêem por exemplo, o pedido de patente internacional WO 00/24008. Como usado no mesmo, conseqüentemente, os termos "poli(etileno glicol)" e "poli(propileno glicol)" abrangem cadeias de polímero poli(etileno glicol) e poli(propileno glicol) que incorporam unidades ligantes de não-glicol, incluindo mas não limitadas ao éter de diglicidil de bisfenol A, éter de diglicidil de bisfenol B, éter de diglicidil de bisfenol S, éter de diglicidil de hidroquinona, e semelhante. Para finalidades desta especificação, qualquer de tais porções ligantes não são contadas como "unidades de monômero".

O polímero em bloco A tem mais preferivelmente um comprimento médio entre vinte e cinquenta unidades de monômero. As cadeias de polietileno glicol podem ser substituídas na extremidade com grupos funcionais apropriados para uso como lingantes a outras porções, incluindo mas não limitados a amino, mercapto, acrilato, acrilamida, maleato, maleimida, e semelhante, em uma ou ambas extremidades. O valor de n varia de 1 a 1000 e está preferivelmente entre 3 e 100. O peso molecular total de π -polímero pode variar de 1000 a 100.000 dáltons ou mais; está preferivelmente acima de 2.000 dáltons, e mais preferivelmente acima de 7.000 dáltons.

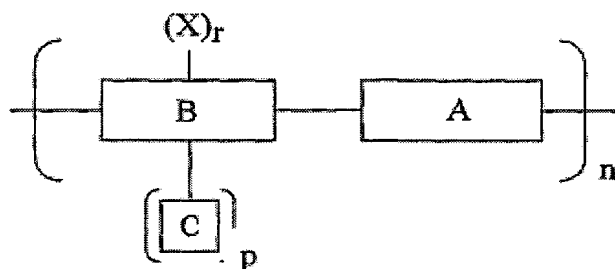
As porções hidrofóbicas C podem ser as mesmas ou diferentes, e podem ser, por exemplo, hidrocarbonetos lineares (substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos), hidrocarbonetos policíclicos (substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos), aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros. Os substituintes hidrofílicos apropriados incluem, mas não são limitados a, grupos funcionais hidroxila, éter, ciano, e amida. São contemplados especificamente grupos alquila C_8 a C_{20} portando substituintes ω -hidróxi, ω -ciano, ω -amido, ou ω -alcóxi. Neste contexto, o termo "substituinte" inclui a substituição de um heteroátomo, tal como O, N, ou S, para um átomo de carbono na cadeia hidrocarboneto ou sistema de anel da porção C. Assim, as ligações de éter e amida, e os anéis heterocíclicos podem ser incorporados em C.

As porções hidrofóbicas C são cadeias alifáticas (C_8 - C_{20}) preferivelmente relativamente curtas, mas podem igualmente ser oligômeros curtos. Os oligômeros apropriados incluem ácidos hidróxi oligo tais como poli(ácido glicólico), poli(ácido DL-láctico), poli(ácido L-láctico), e copolímeros de ácidos hidróxi poli(ácido glicólico) e poli(ácido láctico) e, poli (aminoácidos), poli(anidridos), poli(ortoésteres), e poli(fosfoésteres), polilactonas tais como poli(épsilon-caprolactona) poli(delta-valerolactona) poli(gama-butirolactona) e poli(beta-hidroxibutirato). As porções C podem igualmente ser selecionadas das moléculas hidrofóbicas, tais como o colesterol, ácido cólico, ácido litocólico, peptídeos hidrofóbicos, e semelhante. O peso molecular de cada porção C é maior de 40, preferivelmente entre 50 e 1.000, e mais preferencialmente entre 100 e 500. Geralmente, qualquer porção C que não for apreciavelmente solúvel na água quando na forma molecular

C-H for provavelmente apropriada para uso na presente invenção.

É uma característica de distinção dos polímeros tipo pente desta invenção que as cadeias laterais C não estão distribuídas regularmente e uniformemente ao longo da cadeia de polímero, mas ocorre um pouco nos conjuntos [C]_p. Estes conjuntos são espaçados mais
5 ou menos regularmente ao longo da cadeia de polímero, dependendo do grau de monodispersividade das unidades de polímero A. Assim, a distância entre as duas cadeias C unidas a uma porção de ramificação comum B é diferente da distância entre as duas cadeias laterais unidas às porções de ramificação diferentes.

Em uma segunda modalidade da invenção, as porções B do ponto de ramificação
10 mais adicionais compreendem um ou mais grupos funcionais reativos X, e os polímeros consistem essencialmente na estrutura mostrada na fórmula 2.



2

Na fórmula 2, os grupos reativos individuais X podem ser os mesmos ou podem ser
15 diferentes um do outro, e podem opcionalmente ser obstruídos ou protegidos como pode ser necessário durante a montagem do polímero 2. O valor médio de r variará de 0 (nenhum grupos X) a aproximadamente 4. Tipicamente, os grupos reativos serão selecionados dos grupos funcionais conhecidos na técnica para ser úteis para formar ligações covalentes entre espécies moleculares. O grupo X serve como pontos de anexação para moléculas da
20 droga, tecido ou porções de célula alvo, porções de vírus alvo, ou porções de anexação de matriz (tal como para a finalidade de revestir a superfície de um stent ou outro dispositivo médico). Em determinadas modalidades, pode haver um único ponto de anexação X. Em outras modalidades, pode haver três ou quatro tipos diferentes de grupos reativos. A porção de anexação da matriz pode unir a uma matriz através das ligações covalentes, interações
25 não-covalentes específicas (por exemplo, anticorpo-antígeno, ou interações não específicas (por exemplo, através do emparelhamento iônico ou interação "hidrofóbica"). Os grupos reativos apropriados X incluem mas não são limitados a -OH, -NH₂, -SH, -CHO, -NHNH₂, -COOH, -ONHNH₂, haloacila, acetoacetila, -CN, -OCN, -SCN, -NCO, -NCS, e semelhante; ligações duplas reativas tais como vinílicas, acrílicas, alílicas, maléicas, cinâmicas, e
30 semelhante, e grupos com ligações triplas reativas tais como o acetilenocarbóxi e acetilenocarboxamido (apropriados para Michael additions, Diels-Alder reactions, e reações

de adição de radical livre).

As porções de célula alvo exemplares incluem, mas não são limitadas aos ligantes receptor-específicos, anticorpos, e outras porções alvo, tais como peptídeos que possuem uma seqüência de aminoácido (RGD) ácido Arginina-Glicina-Aspártico ou um motivo de

5 Tirosina-Isoleucina-Serina-Arginina-Glicina (YISRG); fatores de crescimento incluindo fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento endotelial vascular e fator de crescimento de fibroblasto; ligantes de superfície virais tais como o ácido siálico e derivados de ácidos N-acetilneuramínico; ligantes de receptor celular tais como folato, metotrexato, ácido pteróico, estradiol, estratriol, testosterona, e outros hormônios; mannose-6-fosfato, açúcares,

10 vitaminas, triptofano, e semelhante. Os anticorpos são anticorpos preferivelmente monoclonais dirigidos em antígenos de superfície celular específicos; as porções alvo apropriadas incluem não somente os anticorpos completos mas igualmente os fragmentos do anticorpo que contêm as seqüências de ligação antígenos ativas, tais como fragmentos Fab' 2, fragmentos Fab', ou análogos de peptídeo de cadeia curta da seqüência de ligação

15 de antígeno ativo de tais anticorpos.

Os exemplos de porções alvo vírus incluem os ligantes de moléculas curtas que ligam a um vírus, tal como aminoalquiladamantanes, Fuzeon™, PRO-542, BMS-488043, ácido siálico, ácido 2-deoxi-2,3-didehidro-N-acetilneuramínico, 4-guanidino-Neu5Ac2en (zanamivir), oseltamivir, RWJ-270201, e semelhante; os oligopeptídeos, os

20 oligossacarídeos, e os glicopeptídeos que ligam às superfícies virais, e os anticorpos e os fragmentos do anticorpo direcionados a antígenos de superfície vírus específicos. Em modalidades preferidas, a presente invenção fornece π -polímeros que carregam ligantes para o neuraminidase viral ou hemagglutinin. É bem conhecido que tais polímeros têm propriedades antivirais em seus próprios direitos; veja por exemplo T. Masuda et al.,

25 *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 51:1386-98 (2003); M. Itoh et al., *Virology* 212:340-7 (1995), e Reece et al., Patente US. Nº 6.680.054 (2004). Os núcleos hidrofóbicos dos polímeros antivirais e agregados de polímero da presente invenção podem opcionalmente ser carregados com uma ou mais drogas antivirais convencionais, que são liberadas vantajosamente na proximidade da partícula viral.

30 Outros grupos de anexação de relevância médica podem ser produtos químicos pequenos, peptídeos, anticorpos ou fragmentos de anticorpo, enzimas, ou ingredientes farmacêuticos ativos, que podem afetar processos biológicos tais como hormônios ou agonistas de hormônios ou antagonistas, as substâncias que interferem com a ligação do vírus, as substâncias que interferem com o ciclo de célula ou os processos celulares após a

35 entrada intracelular, e semelhante. As células de organismos unicelulares e multicelulares incluindo as bactérias, fungos, animais mais elevados, e plantas, podem ser alvejadas. A biotina pode ser unida ao π -polímero e ser usada como um ponto de anexação para as

proteínas de avidin e streptavidin acopladas, peptídeos, e outros agentes farmacologicamente ativos ou alvo, tais como anticorpos, hormônios de crescimento, reagentes da imagem, e semelhante.

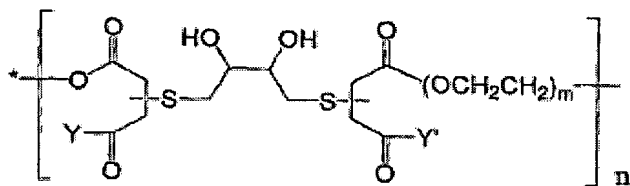
5 "Matriz" refere-se a materiais orgânicos ou inorgânicos, superfícies, e depósitos, tais como o vidro, as superfícies de sílica gel ou de metal, matriz extracelular, depósitos da proteína tais como chapas de amilóide de vários tipos, superfície da célula, superfície do vírus, e as superfícies homogêneas ou heterogêneas gerais que podem ou não podem ser bem caracterizadas, incluindo príons.

10 Os exemplos de porções de anexação da matriz de sílica ou vidro incluem vários halossilanos, alcoxissilanos, acilsilanos, assim como os produtos químicos que exibem tais grupos funcionais que incluem polímeros. Outros grupos de anexação podem ser planejados baseados nas características físico-químicas particulares da matriz. As porções de anexação apropriadas, por exemplo, aquelas usadas no revestimento dos stents, são conhecidas por aqueles versados na técnica.

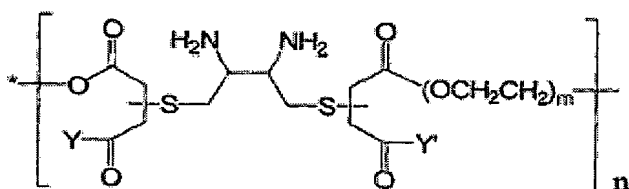
15 Em um terceiro aspecto da invenção, as porções B de ponto de ramificação são conectadas a outras porções de ponto de ramificação em outra parte na cadeia de polímero, de modo a formar uma estrutura hidrogel reticulada. Tal reticulação pode ser efetuada reagindo o polímero com as porções multifuncionais que contêm grupos homofuncionais ou heterofuncionais, pelo menos um que reage com o X ou grupo reativo em C situado em uma
20 primeira porção de ponto de ramificação, e pelo menos um que reage com o X ou com um grupo funcional reativo presente em C em uma segunda porção de ponto de ramificação. A reticulação pode igualmente ser feita através de uma ligação aos grupos funcionais terminais da cadeia de polímero A. Tais polímeros reticulados podem opcionalmente conter os grupos funcionais reativos apropriados para anexação de moléculas de droga ou porções
25 alvo.

A porção B do ponto de ramificação é derivada tipicamente de uma molécula multifuncional que tem uma pluralidade de grupos reativos, dois dos quais são apropriados para a anexação à unidade A de polímero hidrofílico, e dois dos quais são apropriados para a anexação das porções C hidrofóbicas. A porção B pode opcionalmente ter grupos reativos
30 adicionais X como descritos acima.

Particularmente as porções de ponto de ramificação preferidas são os conjugados de ditiotretol (DTT), ditioeritritol (DTE), ou 2,3-diaminobutano-1,4-ditio com as duas moléculas de ácido maléico. A combinação desta porção de ponto de ramificação com polietileno glicol como a porção A gera a espinha dorsal de polímero das fórmulas 3 e 3a



3

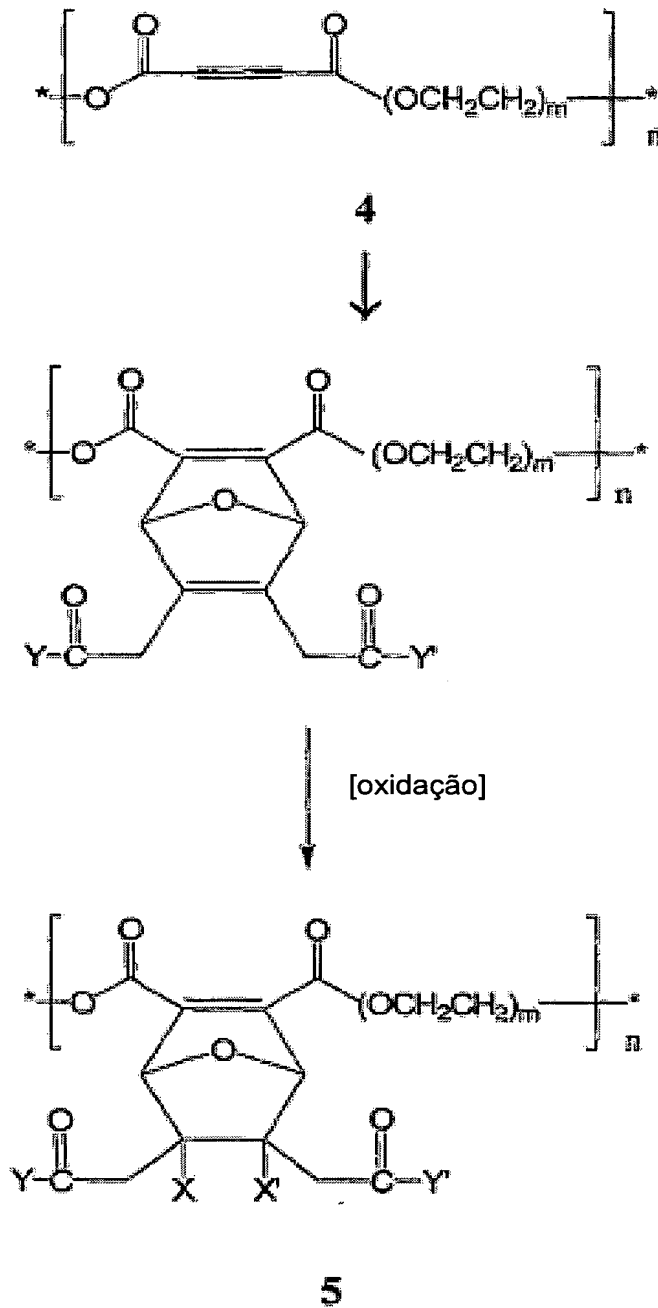


3a

onde Y e Y' podem ser os mesmos ou diferentes, e são selecionados preferivelmente de OH, NH₂, ONH₂, NHOH, e NHNH₂. Em uma modalidade preferida, os grupos amino ou hidroxila do ditiol são os grupos reativos X, servindo como pontos de anexação para porções de droga ou alvo, quando os grupos funcionais Y e Y' servem como pontos de anexação para porções C. Alternativamente, os grupos Y e Y' podem servir como pontos de anexação, quando os grupos amino ou hidroxila são usados para unir as porções C.

As fórmulas 3 e 3a são pretendidas para transportar que cada átomo do enxofre pode independentemente ser unido a alfa ou beta a um grupo carbonila de éster de PEG. A invenção abrange composições de isômero únicas assim como misturas de regioisômeros em uma ou ambas ligações C-S. Além disso, devido aos quatro carbonos assimétricos na fórmula 1, a invenção abrange todos isômeros e misturas quirais, meso, e diastereomérica dos mesmos.

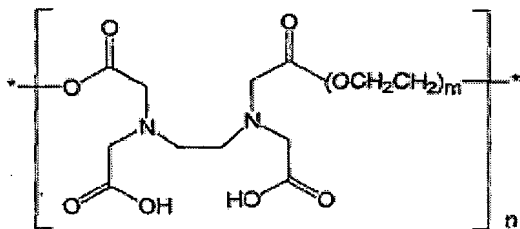
O aduto Diels-Alder do ácido acetileno dicarboxílico e um furano podem igualmente servir como uma porção de ponto de ramificação apropriada. Por exemplo, o poliéster 4 derivou-se do PEG e o ácido acetilenodicarboxílico é conhecido para submeter-se a reações do Diels-Alder com furanos (M. Delerba *et al.*, *Macromol. Rapid Commun.* 18 (8): 723-728 (1997)).



Esquema 1

Assim, o mesmo pode ser sujeito a uma reação de Diels-Alder com um furano 3,4-dissubstituído para gerar uma espécie tal como 5, e o polímero 5 pode ser modificado por hidroxilação ou epoxidação para fornecer grupos reativos (por exemplo, X e X' no esquema 1).

5 Similarmente, a reação de PEG com dianidrido de ácido etilenodiamina tetraacético fornecerá um poliéster de fórmula 6:

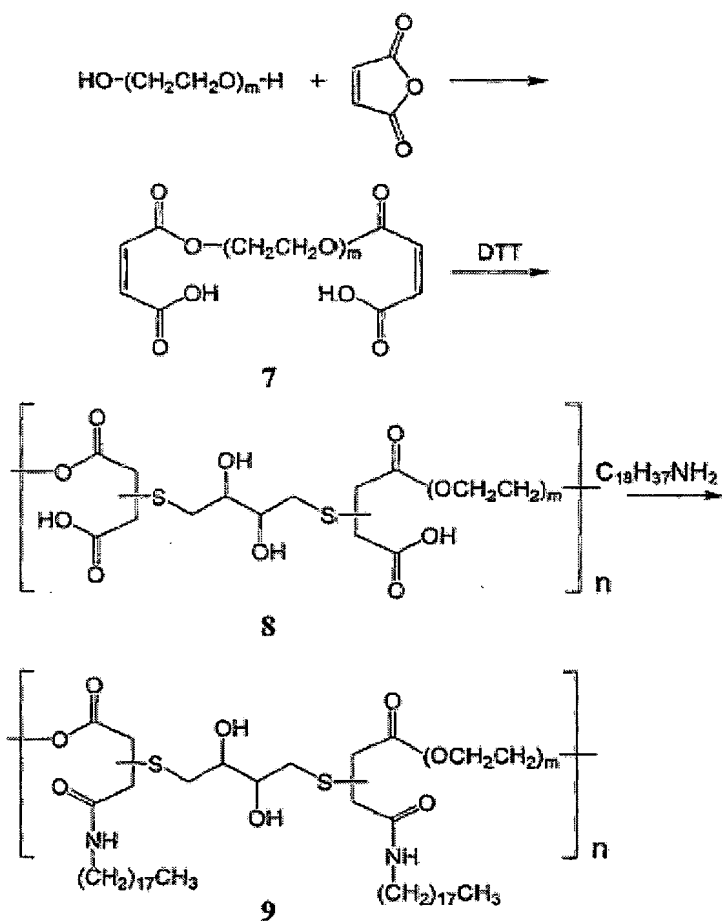


6

Outras porções de ponto de ramificação apropriadas podem ser derivadas de ácido tartárico, ácido acetilenodicarboxílico, ácido nitrilotriacético, dianidrido de ácido 3,4,3',4'-difetil sulfona tetracarboxílico, dianidrido de ácido 3,4,3',4'-difetil éter tetracarboxílico, 5 dianidrido piromelítico, alcanoditióis tais como 1,2-etanoditiol e 1,4-butanoditiol, bis(2-mercaptoetil)éter, 2-mercaptoetilsulfide, dimercaptopropanol, dimercaptopurina, dimercaptotiadiazol, ácido dimercaptossuccínico, benzenodimetanotíols, benzenoditiols, benzenodimetanotíols dihalogenados, 4,4'-tiobisbenzenotíol dihalogenado, e semelhante.

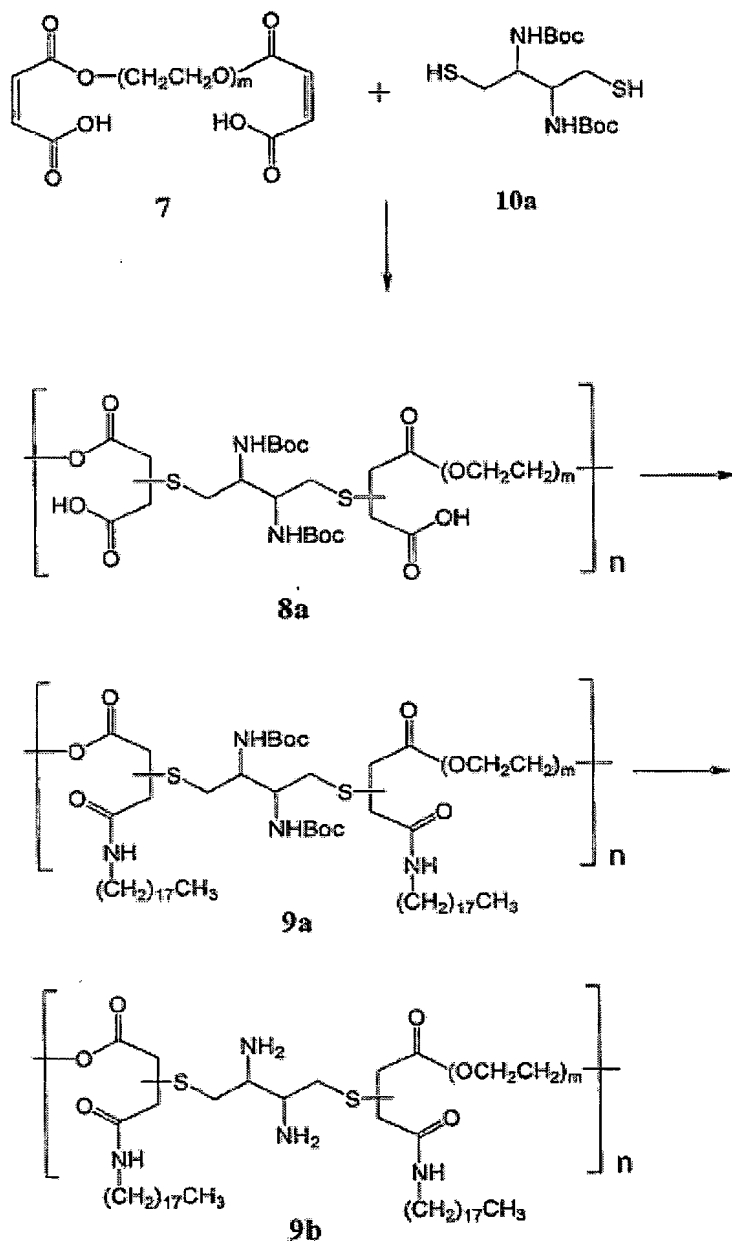
Onde Y e Y' são OH, grupos hidrofóbico C podem ser ligados ao polímero pela 10 amidação ou esterificação dos grupos de ácido carboxílico. Os grupos hidrofóbicos C são preferivelmente relativamente porções pequenas (C_8 - C_{20}) e predominante hidrocarboneto, e podem ser lineares ou ramificados ou conter um ou mais anéis. Os exemplos incluem mas não são limitados a dodecilamina, pentadecilamina, colesterol, e porções de ácido cólico covalentemente unidas. Embora os polímeros da invenção sejam representados, para a 15 conveniência, como tendo no máximo duas cadeias laterais hidrofóbicas diferentes, é deve ser compreendido que misturas de dois ou mais compostos hidrofóbicos podem ser usadas para introduzir uma variedade de cadeias laterais hidrofóbicas em um polímero particular.

Como um exemplo específico, um polímero da fórmula 2, onde $X=OH$ e $r = 2$, foi preparado reagindo um polietileno glicol com anidrido maléico para formar o poliéster 7, 20 seguido pela reação com ditiotreitol para formar 8. O ácido 7 foi então amidado com octadecilamina para formar o polímero tipo pente desejado 9 (esquema 2). Os polímeros tipo pente DTT derivados de amida representados pela fórmula 9 são referidos no mesmo como " π -Polímero A"; o polímero específico 9 no esquema 2 seria designado " C_{18} - π -Polímero A".



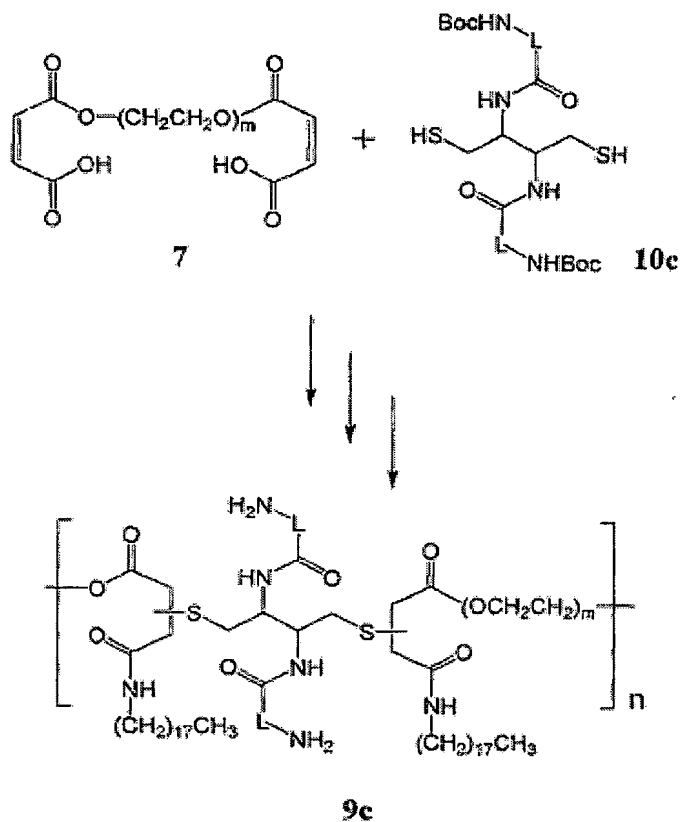
Esquema 2

Substituição de bis 2,3-(t-butoxicarbonilamino)butano-1,4-ditiol (preparado pelo método de DuPriest et al., Patente U.S. Nº 4.755.528) para ditiotreitól condizer, após 5 desproteger, o π -polímero 9b (esquema 3) funcionalizado por amino correspondente.



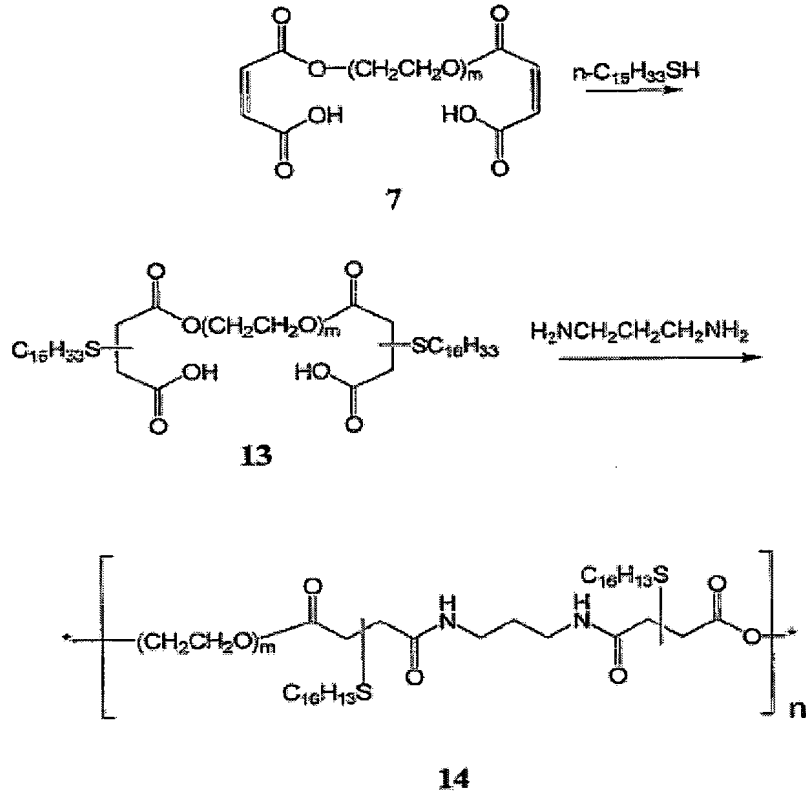
Esquema 3

O uso de butanoditiol 10c conduz do mesmo modo os polímeros da estrutura geral 9c, com grupos espaçadores L no lugar para anexação subsequente de alvejar porções (esquema 4). Os grupos espaçadores L podem ser qualquer dos grupos espaçadores conhecidos na técnica para uso em ligantes de anexação ou conduzir para moléculas de substrato, incluindo mas não limitados a alquilenos C_2 a C_{20} e espaçadores oligo(etileno glicol).



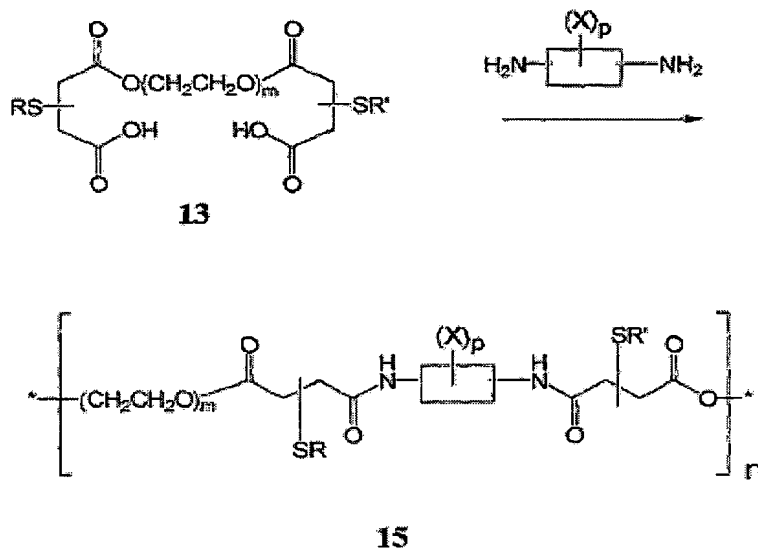
Esquema 4

Em outras modalidades, um polímero PEG com grupos amino terminais pode ser usado para preparar os exemplos que têm ligações amida entre as unidades A e B, como mostrado nas estruturas 10-14 abaixo. Cada uma destas poliamidas pode ser derivada através da reação de diamina PEG $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}_2$ com o anidrido cíclico apropriado:



Esquema 5

Em adição às diaminas simples tal como 1,3-diaminopropano, como mostrado no esquema 5, diaminas tendo (opcionalmente mascaradas) grupos funcionais reativos X podem ser empregadas, conduzindo aos polímeros 15 apropriados para anexação de alvejar porções (esquema 6). Nas fórmulas abaixo, p pode variar de 0-4, e cada X é independentemente o mesmo ou diferente de qualquer outro grupo X que pode estar presente. Um grupo reativo X não precisa ser pendente, mas pode, por exemplo, ser um grupo NH dentro da cadeia dos átomos que compõe a diamina, como no monômero $H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_3-NH_2$.



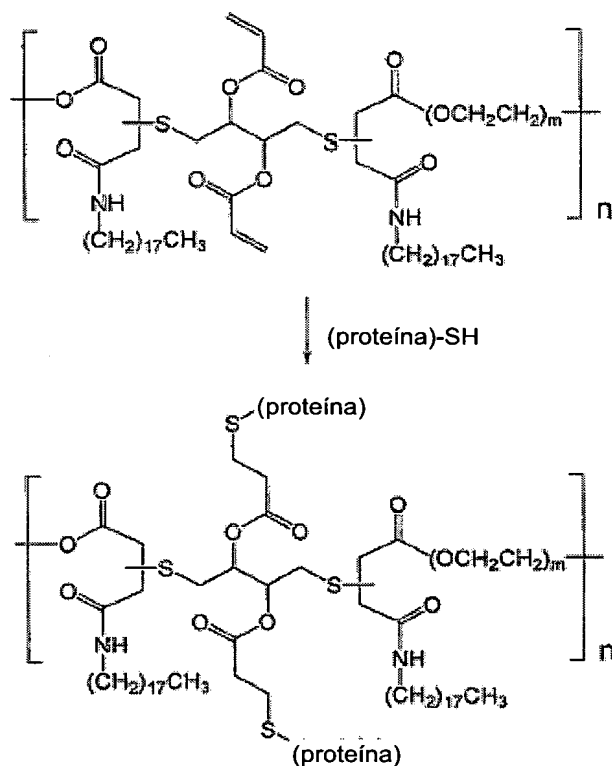
Esquema 6

Certos π -polímeros preparados como possui acima grupos reativos X apropriados para derivatização adicional, para unir porções alvo tais como moléculas, peptídeos, nucleotídeos, açúcares, anticorpos, etc., ou para efetuar reticulação das cadeias de polímero através de agentes de reticulação bifuncionais ou multifuncionais. Em modalidades particulares, derivatização parcial dos grupos reativos na cadeia de polímero é realizada para gerar π -polímeros que têm uma variedade de grupos reativos diferentes, que permite anexação de uma variedade de porções de droga e alvo a uma única cadeia de polímero. Assim, a adição de uma quantidade subestoiquiométrica de cloreto de acrilóila (ou anidrido maléico) ao π -polímero do exemplo 1 fornecerá um polímero com ambos grupos acrilóila (ou maleíla) e hidroxila residuais. A adição subsequente de Michael de uma quantidade subestoiquiométrica de um ácido mercapto-carboxílico, por exemplo, HS-(CH₂)₃-COOH, forneceria um polímero com grupos hidroxila, acrilóila, e carboxila. A adição de cisteína introduz amino e grupos carboxila, além do que todos os grupos reativos residuais deixados atrás por quantidades subestoiquiométricas de reagentes.

Outra aproximação aos π -polímeros polifuncionais envolve a omissão deliberada de uma fração das cadeias hidrofóbicas C. O π -polímero do exemplo 1, por exemplo, pode ser preparado com grupos de ácido carboxílico não reativos por expediente simples de limitar a quantidade de alquilamina de formação pendente na etapa de amidação. Contudo uma outra aproximação é amidação com uma mistura de aminas, uma fração de que contém um grupo reativo X. Também, sob circunstâncias apropriadas (anidrido maléico em excesso na etapa A e em excesso DTT na etapa B), uma preparação de polímero tendo uma população desejada de grupos tiol livres pode ser gerada.

O π -polímero do exemplo 1 contém, pelo desenho, os grupos hidroxila derivados da porção DTT na espinha dorsal, que servem como grupos reativos X. Esterificação destes

grupos com cloreto de acrilóila ou cloreto de metacrilóila em meios aquosos na presença dos resultados tampão de carbonato/bicarbonato na substituição acrilóila nos grupos -OH. O polímero acrilado pode prontamente ser sujeito à polimerização radical (com ou sem o monômero radical adicionado tal como um composto acrílico ou reticulador tal como um composto bisacrílico) para obter hidrogéis apropriados para entrega controlada de droga (atuando como depósitos ou reservatórios de polímero) e para tratamentos tópicos (tais como remendos ou pomadas de pele).



Esquema 7

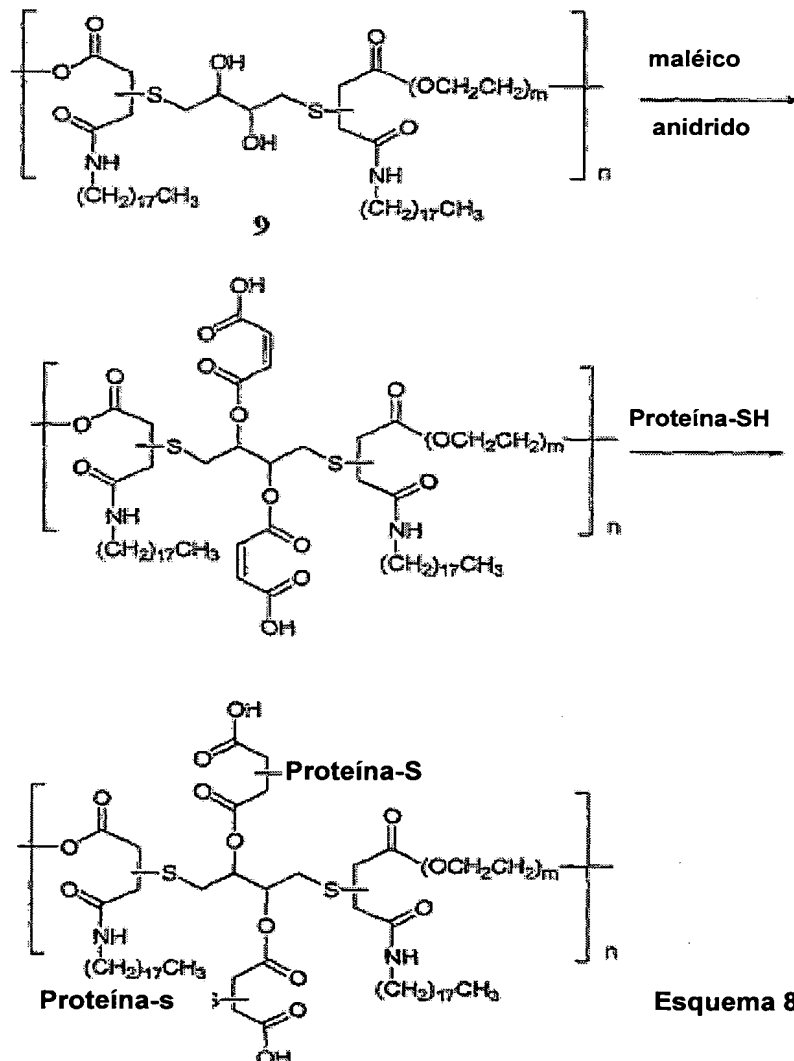
O grupo acrílico pode igualmente ser sujeito a uma adição de Michael, em particular, com um tiol, tal como aquele de um resíduo de cisteína em uma proteína, enzima, peptídeo, anticorpo, fragmento Fab' 2 ou fragmento Fab', ou outra porção alvo (esquema 7). Um π -polímero que possui grupos hidroxila reativos, após secagem, pode igualmente ser esterificado com anidrido maléico para unir o grupo maleato, um aceptor Michael, gerando simultaneamente um grupo carboxílico livre. No polímero resultante, a ligação dupla maléica está disponível para uma adição de Michael, em particular, com um tiol, tal como aquela de um resíduo de cisteína em uma proteína, enzima, peptídeo, anticorpo, fragmento Fab' 2 ou fragmento Fab', ou outra porção alvo. (Esquema 8), e o grupo carboxílico estão disponíveis para acoplar a grupos amino de drogas ou ligantes, ou os resíduos de lisina nas proteínas e nos peptídeos.

Uma porção diferente pode mais ser unida (ou previamente disponível) ao grupo carboxílico recentemente introduzido através da amidação. Assim pelo menos duas porções

alvo podem ser unidas mesmo sob a saturação de condições de reação (isto é, a porção a ser unida está presente no excesso estequiométrico).

Os polímeros que carregam grupos carboxilato pendentos podem ser amidados com aminas sob condições típicas de acoplamento, e podem igualmente ser convertidos aos grupos isocianatos através do rearranjo de Curtius e então ser acoplados com aminas ou álcoois para formar uréias e carbamatos, respectivamente. Tais reações podem ser usadas para introduzir os grupos hidrofóbicos C, ou para unir as porções alvo.

As aminas livres podem ser introduzidas no polímero pelo menos parcialmente reagindo um dos grupos reativos com uma diamina. A diamina deve ser escolhida de modo que um dos grupos amina seja protegido ou não reativo sob as condições da reação. Os últimos podem freqüentemente ser realizados usando etilenodiamina em um pH de aproximadamente 7,5, desde o pKa' s dos dois grupos amino difere consideravelmente. Preferivelmente, esta amidação é realizada como uma etapa separada após a introdução dos grupos hidrofóbicos pendentos. Um peptídeo ou uma outra molécula tendo um grupo carboxílico pode então ser unida pela amidação nesta amina livre.



Esquema 8

Assim, mesmo sob condições de saturação, tanto como três peptídeos diferentes ou outras porções alvo podem ser unidas ao π -polímero: um através de tiol, um através de amina ou hidroxila, e um através do grupo de ácido carboxílico.

5 Os grupos hidroxila e tiol podem igualmente ser convertidos às aminas primárias pela reação com aziridina ou uma haloalquil amina (tal como bromoetilamina ou cloroetilamina). Amidação com cisteamina introduzirá um dissulfeto, que possa diretamente ser reagido com cisteína de um peptídeo ou anticorpo para unir o peptídeo ou anticorpo; ou
10 pode primeiramente ser reduzido, por exemplo, com aminoetanotiol ou DTT, para uma reação mais adicional com um peptídeo ou anticorpo.

Executando reações parciais, uma pode introduzir grupos funcionais reativos adicionais a um polímero da invenção, incluindo mas não limitado a (1) grupos tiol reativos tais como derivados de ácido acrílico ou maléico, (2) grupos reativos de ácido carboxílico tais como amino ou hidroxila, (3) grupos amina reativos tais como carboxila, e (4) grupos
15 dissulfeto reativos tais como mercapto. O número de tais grupos funcionais adicionados por molécula de polímero pode variar de $1/r$ até diversos múltiplos de r , dependendo do reagente usado e da quantidade usada.

Alternativamente, dois ou mais ligantes específicos podem ser unidos para melhorar a especificidade da ligação a dizer, de um vírus, ou da superfície da célula. Dois ou
20 mais ligantes específicos podem igualmente ser usados para causar uma interação entre alvos celulares diferentes, por exemplo, um ligante pode alvejar uma partícula do vírus, e um outro ligante pode facilitar ligar a um fagócito, desse modo trazendo a partícula do vírus na proximidade ou o contato com o fagócito e promover a fagocitose.

Tal derivatização permite a anexação de três ou mais porções terapêuticas e/ou
25 alvo distintas ao polímero, através da anexação do grupo funcional diferente (tais como amina, carboxilato, e tiol). Assim, um pode unir um agente alvo específico a tecido, um agente de imagem, e um agente terapêutico a uma única cadeia de polímero, e automontagem subsequente do polímero renderá um terapêutico alvo cuja distribuição e eficiência de alvo possam ser monitoradas.

30 A anexação de ligantes às unidades de repetição dos polímeros da invenção fornece exposição multivalente do ligante na cadeia de polímero e nas superfícies de nanopartículas. A exposição multivalente conduz freqüentemente aos grandes aumentos na afinidade para o alvo. Por exemplo, os anticorpos multivalentes podem ser distantes mais eficazes no afastamento de seus alvos do que os anticorpos divalentes normais. As
35 proteínas de ligação carboidratos e carboidratos são conhecidos para ser multivalentes na natureza, e ineficazes se monovalentes. Similarmente, o peptídeo multivalente e porções carboidrato alvo serão distantes mais eficazes do que o monômero sozinho. O aumento no

MW devido à anexação ao polímero resulta em taxas de afastamento renais reduzidas de peptídeos e outros ligantes. Além disso, a espinha dorsal de PEG fornece recursos para os benefícios do peptídeo similares àqueles de PEGilação, incluindo a evasão da fiscalização imune.

5 Além disso, uma fração alvo multivalente decorará um alvo multivalente (digamos, uma partícula de vírus) e o neutralizará de modo mais eficaz do que a fração alvo monomérica. A habilidade de exibir peptídeos múltiplos (diferentes) em formato multivalente conduzirá à especificidade realçada. Por exemplo, um polímero verdadeiramente HIV-específico (ligante ao vírus HIV) pode ser construído anexando um peptídeo correspondente
10 à região de ligação CD4 e um outro peptídeo correspondente à região de ligação CCR-5 ou CXCR-4 do vírus e, possivelmente, um terceiro peptídeo correspondente ao outro receptor (CXCR-4 ou CCR-5, respectivamente). Tal polímero poderia completamente mascarar as regiões de ligação de vírus e tornar o vírus incapaz de anexar a células e, desse modo, não infectante. Além disso, as propriedades surfactantes do polímero conduziriam à
15 desestabilização da própria estrutura do vírus mediante ligação. Em vez dos peptídeos, moléculas pequenas que interferem com os mesmos padrões de ligação (CD4, CCR-5, CXCR-4) ou uma mistura de peptídeos e moléculas pequenas, preferivelmente com atividades complementares, podem ser empregadas. Os polímeros resultantes tornarão todo vírus livre ineficaz e, assim, podem ser ideais para parar a propagação da infecção, usando-
20 os como componentes de lubrificantes de preservativo e semelhantes. Além disso, tais polímeros podem ser injetados em pacientes para reduzir a carga de HIV.

Geralmente, quando um reagente polifuncional tal como DTT é empregado, pode haver uma reticulação parcial de cadeias de polímero via esterificação do ácido carboxílico com DTT ou reações laterais similares. Grupos hidroxila secundários na região central das
25 cadeias de PEG, por exemplo, aqueles associados com resíduos de éter diglicidil de bisfenol A, podem igualmente contribuir para reticulação se estiverem presentes no material de partida de PEG. As estruturas resultantes de hidrogel reticulado são igualmente materiais úteis. Por exemplo, apropriadamente aumentando a extensão desta reticulação ou a reticulação explícita usando reticuladores alternativos (tal como bisoxiranos, por exemplo),
30 podem ser feitos materiais que são os hidrogéis flexíveis que podem servir como depósitos repositórios para drogas. Apropriadamente modificando os materiais (por exemplo, comprimento de PEG inferior, maiores grupos carboxílicos abertos e modalidade de grupos acrílicos apropriados) materiais em hidrogel lineares ou reticulados podem ser feitos que
35 tais como stents ou absorvidos em dispositivos tais como almofadas para emplastos adesivos ou emplastos de inserção subdermal. Geralmente, tais materiais reticulados serão apropriados para liberação controlada ao invés de liberação alvo realçada.

Os polímeros tipo pente da invenção são úteis para solubilizar em sistemas solventes aquosos materiais escassamente solúveis em água. O método de solubilizar uma substância em um solvente aquoso compreende o contacto da substância escassamente solúvel com um polímero tipo pente da invenção na presença de água, para dar forma a um complexo solúvel em água da substância e do polímero. Alternativamente, o polímero e a substância a serem solubilizados podem ser combinados em uma emulsão aquosa-orgânica bifásica e o solvente orgânico pode ser removido por evaporação. Um processo exemplar é descrito na patente US 6.838.089, incorporada neste para referência. Acredita-se que na maioria dos casos, o polímero automonta em nanopartículas que têm a substância escassamente solúvel dissolvida entre as cadeias C hidrofóbicas que coalescem no núcleo das partículas, enquanto os blocos A formam uma coroa hidrófila que abaixa suficientemente a energia livre interfacial para permitir que uma suspensão aquosa das partículas permaneça estável.

Em alguns casos, a substância escassamente solúvel pode não dissolver inteiramente no núcleo, mas pode existir como uma nanopartícula sólida cercada por e suspensa nas cadeias C no núcleo das partículas. Para as finalidades da invenção atual, isto é uma diferença de grau, porque a prática da invenção não depende de qualquer grau particular de mistura das cadeias C com a substância escassamente solúvel. A substância pode em alguns casos dissolver-se a nível molecular entre as cadeias C, mas em outros casos ela pode exibir qualquer grau de separação de fase do ambiente de cadeia C. Em alguns casos, pode-se esperar que o sistema se moverá de um estado para outro em função da temperatura.

O poder de solvatação do núcleo hidrofóbico das partículas do polímero pode ser modificado modificando as frações C hidrofóbicas. Modificações apropriadas incluem mas não são limitadas à introdução de um ou mais substituintes hidrofílicos, tais como hidroxila, éter, amida e grupos funcionais ciano, a fim de aumentar a polaridade e/ou a capacidade de polarização do núcleo hidrofóbico.

Materiais escassamente solúveis que podem ser tornados solúveis por estes polímeros incluem vitaminas e nutrientes solúveis em gordura, incluindo mas não limitados às vitaminas A, D, E e K, carotenos, colesterciferol e coenzima Q; drogas insolúveis tais como docetaxel, anfotericina B, nistatina, paclitaxel, doxorubicina, epirubicina, rubitecano, teniposida, etoposida, daunomicina, metotrexate, mitomicina C, ciclosporina, metabólito irinotecan (SN-3 8), estatinas e esteróides; tinturas, agentes fotodinâmicos e agentes de imagem, e ácidos nucléicos, análogos de ácido nucléico, e complexos de ácido nucléico. Os análogos de ácido nucléico incluem espécies tais como tiofosfatos e ácidos nucléicos de peptídeo; os complexos de ácido nucléico são complexos iônicos de ácidos oligonucléicos com uma quantidade substancialmente neutralizadora de carga de espécie catiônica ou

policatiônica.

Para as finalidades desta divulgação, uma droga que seja insolúvel em pH neutro é considerada "escassamente solúvel", porque há em muitos casos uma necessidade de uma composição farmacêutica neutra. Por exemplo, a ciprofloxacina é razoavelmente solúvel em 5 água em um pH abaixo de 4,5, mas este pH pode ser altamente irritante quando a droga é formulada para administração ocular. Um polímero da invenção atual solubilizará a ciprofloxacina em salina normal em pH 7. Também, para as finalidades desta divulgação, "escassamente solúvel" deve ser compreendido como se referindo a qualquer substância cuja solubilidade em um veículo aquoso seja tal que um aumento na solubilidade renderia 10 uma composição melhorada ou mais útil. Assim, uma droga que seja moderada solúvel, por exemplo, até o grau de 2g/litro, é "escassamente solúvel" se uma dose unitária para administração intravenosa é de 5g.

Como resultado da capacidade dos polímeros da invenção solubilizarem espécies farmacologicamente ativas, a invenção atual igualmente fornece composições 15 farmacêuticas, que compreendem um ou mais π -polímeros da invenção em combinação com uma quantidade terapêuticamente eficaz de um ou mais agentes farmacologicamente ativos. Os polímeros da invenção podem tornar eficaz o que seria de outra maneira uma quantidade ineficaz de um agente farmacologicamente ativo. Para finalidades desta divulgação, conseqüentemente, uma "quantidade terapêuticamente eficaz" é a quantidade 20 de agente que torna a composição total eficaz.

Todas as patentes, os pedidos de patente e as publicações mencionadas neste são incorporadas por este meio para referência em sua totalidade.

EXPERIMENTAL

1. Procedimentos gerais.

25 A invenção igualmente fornece processos para a preparação de polímeros tipo pente da invenção. A síntese destes polímeros é realizada prontamente pela pessoa qualificada em síntese orgânica, seguindo os procedimentos descritos abaixo. O material de partida chave é polietileno glicol, que é secado preferivelmente antes de usar. Isto é feito convenientemente agitando o PEG derretido sob o vácuo em uma temperatura elevada, até 30 que as bolhas parem de se formar. Isto pode levar 8 a 12 horas, dependendo da qualidade do PEG. Uma vez secado, o PEG pode ser armazenado sob argônio indefinidamente. As classes industriais e de pesquisa disponíveis no comércio de PEG podem ser empregadas para fazer os polímeros da invenção, por exemplo, o "PEG 1500" polidisperso do comércio que tem uma distribuição de peso molecular de 1430 - 1570. Tal material pode incorporar 35 éter diglicidil de bisfenol A, que introduz grupos hidroxila secundários no centro da cadeia de PEG. A fim de assegurar que os polímeros da invenção tenham as propriedades mais reprodutíveis e consistentes, o PEG é preferivelmente livre de bisfenol A e de baixa

capacidade de dispersão. Mais preferíveis são os polímeros de PEG que são >95% monodispersos, tal como comercialmente disponíveis de Nektar Therapeutics (antigamente Shearwater Polymers), Huntsville, AL, e Polypure AS, Oslo, Noruega. Um exemplo de um PEG particularmente preferido é "PEG-28" de Polypure, que é >95% HO(CH₂CH₂O)₂₈H,

5

Todas as reações são realizadas sob uma atmosfera inerte tal como nitrogênio ou argônio, com agitação magnética ou preferivelmente mecânica.

Na etapa A, PEG seco é derretido e anidrido maléico (2 moles por mole de PEG) é adicionado com agitação. A quantidade de anidrido maléico deve coincidir com o número de grupos hidroxila terminais do PEG tão próximo quanto possível. Uma falta de anidrido maléico conduzirá a cadeias de polímero terminadas em hidroxila, ao passo que um excesso de anidrido maléico consumirá grupos tiol na etapa seguinte, conduzindo à terminação da cadeia prematura e grupos carboxila terminais. A temperatura de reação não é crítica, e o processo pode convenientemente ser realizado em temperaturas entre 45°C e 100°C. A temperatura preferida da reação está entre 65°C e 90°C. Se temperaturas elevadas forem empregadas, o anidrido maléico tende a sublimar e medidas devem ser tomadas para verificar se o anidrido maléico permanece em solução. Minimização do espaço aéreo submersão do vaso de reação em um banho de óleo são métodos eficazes.

10

15

Dependendo da temperatura selecionada, a reação pode ser terminada em 2 horas ou menos ou pode ser conduzida durante a noite. A reação pode ser monitorada por TLC em placas de sílica gel e é continuada até depois do desaparecimento do anidrido maléico. Contraste visual, UV e mancha de iodo podem todos ser usados para examinar as placas TLC.

20

Na etapa B, o éster de bis-maleato de PEG bruto produzido na etapa A é combinado com o ditioneitol (DTT) e N,N,N',N'-tetrametiletenodiamina (TEMED) (com água adicionada, caso necessário para fluidez), e a mistura agitada a 70°C. A reação está completa dentro de 30 minutos, como indicado pelo aumento rápido na viscosidade. O peso molecular do produto será reduzido se mais ou menos do que a quantidade ótima de DTT for empregada. O peso molecular do produto pode igualmente ser reduzido, se desejado, substituindo TEMED por uma base de amina terciária menos eficaz tal como TEA.

25

30

Na etapa C, água suficiente é adicionada à mistura de reação para reduzir a viscosidade, e 0,1 mol de N-hidroxissuccinimida (NHS) e 1,05 mol de hexadecilamina por mol de grupos de ácido carboxílico no polímero são adicionados. (Esta quantidade de NHS parece minimizar de maneira ótima a extensão de reações laterais.) Um excesso de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC) (1,4mol de EDC por mol de grupos de ácido carboxílico) é adicionado, então, em porções com água adicional adicionada como necessário para manter a agitação. O pH da mistura de reação é mantido acima de 7, e

35

preferivelmente entre 9 e 11, para aperfeiçoar a reatividade da alquilamina. Com dodecilamina, esta reação pode ser conduzida a aproximadamente 40 a 45°C, ao passo que com octadecilamina a temperatura é de cerca de 55°C a 57°C. A reação é seguida por TLC até que um nível constante de alquilamina restante seja observado, tipicamente após o funcionamento durante a noite.

A mistura de reação é acidificada a um pH de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 4,5 e agitada à temperatura ambiente por aproximadamente 24 horas para destruir EDC não reagido, então, titulada a um pH de 7,0 usando NaOH 1N. A mistura de reação final é centrifugada a aproximadamente 800 xg por 1 a 3 horas, para remover contaminantes sólidos e subprodutos.

Após a centrifugação, o sobrenadante pode ser cromatografado em uma coluna GPC (Toyopearl (TM), Sephadex (TM), Sephacryl (TM), Biogel (TM), etc.). Os polímeros π são materiais anfipáticos e exibirão afinidade para a maioria de empacotamentos de coluna GPC, assim, complicando a remoção de contaminantes. Alternativamente, o polímero pode ser cromatografado em uma coluna de interação hidrofóbica de poros grandes (por exemplo, TOYOPEARLTM Phenyl 650C, Toshoh Biosciences, Montgomeryville, PA, EUA), eluindo com um gradiente de metanol em água. Preferivelmente, a mistura de reação é dialisada contra diversas mudanças de água acidificada e neutra para remover materiais de partida de baixo peso molecular e subprodutos de reação.

A mistura de reação pode igualmente ser extraída com butanona, isopropanol, butanol ou outros solventes orgânicos polares para remover impurezas orgânicas, mas quantidades substanciais de polímero anfifílico são perdidas para o solvente de extração. A mistura de reação é submetida preferivelmente a ultrafiltração usando membranas apropriadas para fracionar o produto em graus de peso molecular, tais como 5kDa a 10kDa; 10kDa a 30kDa, 30kDa a 50kDa, etc. dependendo da interrupção da membrana de filtração empregada. Uma solução aquosa do polímero pode ser submetida à filtração sem saída para produzir uma solução estéril ou isenta de vírus, dependendo da escolha da membrana ou do meio de filtração.

2. Síntese de π polímeros

Exemplo 1: Polímero de peso molecular médio PEG-Di(alquilamidossuccinil)ditioéter (C16- π -Polímero A)

Polietileno glicol (PEG-1500, Sigma Chemical Co.) foi secado sob vácuo a 80°C até que as bolhas pararam de se formar. (8-12 horas, dependendo da qualidade do PEG.) O PEG secado pode ser armazenado dessecado sob argônio indefinidamente.

O PEG secado foi derretido sob argônio em um banho de óleo e anidrido maléico (2 moles por mole de PEG, corrigido para impurezas) foi adicionado gradualmente com agitação. A mistura foi agitada sob argônio a 90°C. Como o anidrido maléico tende a

sublimar, o espaço aéreo foi minimizado e o vaso de reação inteiro foi mantido na temperatura de reação. Qualquer anidrido maléico condensado nas paredes do vaso foi raspado de volta a mistura de reação. O progresso da reação foi monitorado por TLC em placas de sílica gel usando etanol e hexano como solventes separadamente, com
5 visualização de UV e mancha de iodo. A reação foi continuada por uma hora após o desaparecimento do anidrido maléico.

O dimaleato de PEG bruto foi diluído com dois volumes de água. Uma solução de ditiotreitól (DTT, 1,01 equivalentes por equivalente de PEG) e N,N,N',N'-tetrametiletilenodiamina (TEMED, 1,02 equivalentes) em água (2 volumes de água por
10 volume de TEMED) foi, então, adicionada à mistura de reação com agitação. A reação foi agitada a 70°C sob argônio por 2,5 horas, deixada à temperatura ambiente durante a noite e, então, agitada novamente a 70°C por 2 horas. A reação foi monitorada por TLC e foi julgada completa mediante o completo desaparecimento do DTT.

Água foi adicionada à mistura de reação acima para reduzir a viscosidade, até que
15 a mistura pudesse ser agitada (a cerca de 25% de sólidos), a mistura foi agitada a 65°C sob argônio e N-hidroxissuccinimida (0,1 mol por mol de grupos de ácido carboxílico no polímero PEG-dimaleato-DTT) foi adicionada, seguida por hexadecilamina (1,05 mol por mol de grupos de ácido carboxílico no polímero) e por N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC, 0,56 mol por mol de grupos de ácido carboxílico no polímero). A mistura foi agitada
20 sob argônio por 1 hora e uma segunda porção de EDC (0,56 mol por mol de grupos de ácido carboxílico no polímero) foi adicionada. Após uma outra hora, uma terceira parcela de EDC (0,28 mol por mol de grupos de ácido carboxílico no polímero, para um total de 1,4 mol de EDC por mol de ácido carboxílico) foi ainda adicionada para compensar a perda de EDC para hidrólise. Água adicional foi adicionada como necessário para manter a fluidez, porque
25 os sólidos adicionados fizeram a suspensão difícil agitar, e o pH foi mantido entre 8 e 10 pela adição de NaOH 1N como necessário. A mistura foi agitada a 65°C sob argônio durante a noite, monitorada por TLC (sílica com etanol) até a alquilamina parecer ter alcançado uma concentração constante e foi agitada, então, por um adicional de 4h. A mistura de reação, então, foi acidificada com HCl 1N até um pH de aproximadamente 4,5, agitada por 24h para
30 destruir EDC não reagido e ajustada para pH 7,0 por adição gota a gota de NaOH 1N. Com dodecilamina, esta reação foi conduzida a aproximadamente 40-45°C, ao passo que com octadecilamina a temperatura foi preferivelmente de 55 a 57°C.

A mistura foi transferida para garrafas de centrífuga e girada em uma centrífuga de topo de bancada a aproximadamente 800 xg por 2 horas para separar sólidos residuais.
35 Após a centrifugação, a mistura de reação foi extraída com isopropanol para remover impurezas orgânicas. Ultrafiltração é preferida como uma alternativa à extração com isopropanol.

Através deste método, os seguintes compostos amino são conjugados ao polímero:

Exemplo 1a: undecilamina.

Exemplo 1b: octadecilamina.

Exemplo 1c: 4-nonilbenzilamina.

5 Exemplo 1d: 3-[(4-fenoxi)fenil]propilamina.

Exemplo 2: Polímero de Peso Molecular Alto PEG-Di(alquilamidosuccinil)ditioéter

O procedimento esboçado no Exemplo 1 foi seguido, salvo que 0,55 mol de DTT e 0,55 mol de TEMED por mol de anidrido maléico foram usados. Agitação vigorosa foi necessária porque a viscosidade se acumulou rapidamente. Pareceu que a maioria da
10 reação estava completa dentro de 5-10 minutos, seguidos pela conclusão lenta durante as próximas 4 horas à medida que a temperatura foi elevada de 55°C a 80°C.

Exemplo 3: Polímero PEG-Di(alquilamidosuccinil)ditioéter

O procedimento esboçado no Exemplo 1 foi seguido, salvo que 1,5 moles de dodecilamina por mol de grupos de ácido carboxílico no polímero foram empregados. N-
15 hidroxisuccinimida (NHS, 1,0 mol por mol de grupos de ácido carboxílico) e 1,1'-Carbonildiimidazola (CDI 3,0 moles por mol de grupos de ácido carboxílico) foram adicionados e a reação foi agitada a 80°C por 4 horas e trabalhada como acima.

Através deste método, os seguintes compostos amino são conjugados ao polímero:

Exemplo 3a: undecilamina.

20 Exemplo 3b: tetradecilamina.

Exemplo 3c: octadecilamina.

Exemplo 3d: dehidroabietilamina.

Exemplo 3e: colesterol 2-aminoetil éter.

Exemplo 3f: 10-fenoxidecilamina.

25 Exemplo 3g: hidrazida de ácido sebáico.

Exemplo 3h: hidrazida de ácido oléico.

Exemplo 3i: hidrazida de ácido dehidroabiético.

Exemplo 3j: hidrazida de ácido cólico.

Exemplo 3k: hidrazida de ácido palmítico.

30 Exemplo 4: Polímero PEG-co-(alquilamidosuccinato)

Uma solução de PEG (6,66 mmoles) e trietilamina (2,32 ml, 16,65 mmoles) em éter dietil seco (10 ml) é esfriada até 0 °C sob argônio e tratada gota a gota com cloreto de metanosulfonil (1,03 ml, 13,32 mmoles). Agitação é continuada por 1 h a 0°C e, então, a temperatura ambiente por 2 h. O éter é evaporado e acetona seca (15 ml) é adicionada ao
35 resíduo a fim de precipitar cloridrato de trietilamina, que é filtrado da solução. O filtrado é tratado com brometo de lítio (2,31 g, 26,64 mmoles) e aquecido até refluxo por 20 h. Então, a mistura é diluída com hexano e filtrada através de uma coluna curta de sílica (3 cm)

coberta com Celite™ (0,5 cm) e eluída com hexano. O filtrado é secado, filtrado e evaporado para deixar um óleo α,ω -dibromo-PEG.

α,ω -dibromo-PEG é reagido com o um equivalente de 2,2-dibutil-4,5-bis(metoxicarbonil)-1,3,2-dioxastanolano pelo método de Godjoian et al., *Tetrahedron Letters*, 37:433-6 (1996). O poliéter dimetiltartrato-PEG resultante é saponificado com KOH em metanol e, então, aminado com dodecilamina ou hexadecilamina como nos exemplos 1 e 3 acima, ou com as amins nos exemplos 3a-3k.

Exemplo 5: Copolimerização de PEG com dianidrido de EDTA

PEG seco é reagido com o dianidrido de ácido etilenodiaminatetracético pelo método descrito no Exemplo 1 e é, então, aminado com dodecilamina como no Exemplo 1 ou no hexadecilamina como no exemplo 3, ou com as amins nos exemplos 3a-3k.

Da mesma maneira, os seguintes dianidridos são co-polimerizados com PEG e subseqüentemente aminados:

Exemplo 5a: Napftalenotetracarboxílicodianidrido.

15 Exemplo 5b: Perylenotetracarboxílicodianidrido.

Exemplo 5c: Benzofenonatetracarboxílicodianidrido.

Exemplo 5d: 4,4'-(Hexafluoroisopropilideno)diftálico anidrido.

Exemplo 5e: Butano ácido tetracarboxílico dianidrido.

Exemplo 5f: Biciclo(2,2,2)oct-7-eno-2,3,5,6,-tetracarboxílico dianidrido.

20 Exemplo 5g: Dietilenotetramina ácido pentacético dianidrido.

Exemplo 5h: 3,4,3',4'-Difenilsulfona ácido tetracarboxílico dianidrido.

Exemplo 5i: 3,4,3',4'-Difenil éter ácido tetracarboxílico dianidrido.

Exemplo 5j: Dianidrido piromelítico.

Exemplo 6A: Copolímero PEG-diamina com tioéteres pendentes.

25 Dimaleato de PEG, preparado como no Exemplo 1, é reagido com dodecanotiol (dois equivalentes por equivalente de dimaleato de PEG) usando o mesmo procedimento que o usado para DTT no Exemplo 1. Nenhuma diluição é necessária, porque nenhuma polimerização ocorre, e a reação é conduzida em PEG-dimaleato derretido. O catalisador TEMED é adicionado e o tiol é adicionado, então. A reação é seguida pelo desaparecimento de materiais de partida, usando TLC. Temperaturas até o ponto onde a perda de alquiltiol por vaporização se torna significativa podem ser empregadas (até cerca de 100°C). Um excesso ligeiro de alquiltiol pode ser empregado para saturar inteiramente os grupos maléicos. O alquiltiol em excesso é expelido no fim da reação por aspersion com nitrogênio ou argônio e/ou aquecimento sob vácuo, até que nenhum seja detectado pelo odor ou por
35 TLC.

Por este método, os seguintes tióis podem ser conjugados a dimaleato de PEG:

Exemplo 6Aa: mercaptosuccínico ácido di-t-butil éster.

Exemplo 6Ab: tetradecanotiol.

Exemplo 6Ac: hexadecanotiol.

Exemplo 6Ad: 2-mercaptoetanosulfônico ácido.

Exemplo 6Ae: 3-mercaptopropanosulfônico ácido.

5 Exemplo 6Af: 6-mercaptohexanóico ácido t-butil éster.

Exemplo 6Ag: 4-mercaptobenzóico ácido t-butil éster.

Exemplo 6Ah: mercaptoacético ácido t-butil éster.

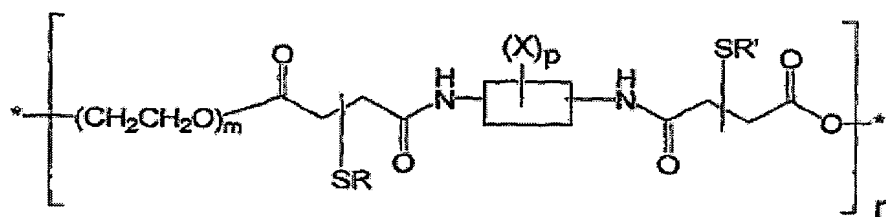
Exemplo 6Ai: 4-(t-butoxicarbonilamino)butanotiol.

Exemplo 6Aj: 3-(t-butoxicarbonilamino)benzil mercaptano.

10 Exemplo 6Ak: 4-decilbenzil mercaptano.

Tióis que têm grupos funcionais reativos são apropriados para anexação a cadeias C e/ou os grupos funcionais reativos podem servir como pontos de anexação (X) para frações alvo.

Exemplo 6B: Copolímero PEG-diamina com tioéteres pendentos.



15

O aduto de tiol obtido no Exemplo 6A é aminado com 1,4-diaminobutano (um equivalente de diamina por dois grupos COOH), usando o mesmo procedimento usado para dodecilamina no Exemplo 1, com diluição com água como necessário para manter a fluidez da mistura de reação. As alíquotas adicionais de EDC são adicionadas como necessário para assegurar a polimerização completa. Por este método, os adutos de tiol dos Exemplos 20 6A e 6Aa até 6Ak são convertidos em uma poliamida PEG-diaminobutano.

Por este método, as seguintes diaminas podem ser convertidas para uma poliamida de PEG (BOC = t-butoxicarbonil):

Exemplo 6Ba: 2 (O-BOC)-1,3-diamino-2-propanol.

25 Exemplo 6Bb: N',N"-di(BOC)hexaetileno tetramina.

Exemplo 6Bc: N',N"-di(BOC)spermina.

Exemplo 6Bd: N'-BOC spermidina.

Exemplo 6Be: N',N'',N'''-tri(BOC)pentaetileno hexamina.

Exemplo 6Bf: agmatina.

30 Exemplo 6Bg: lisina t-butil éster.

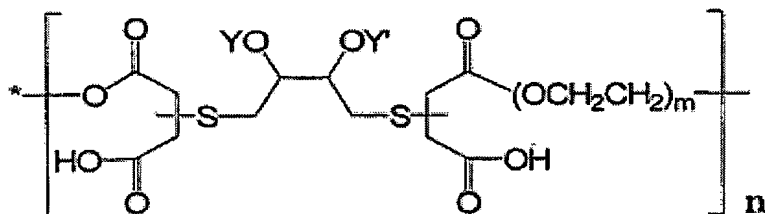
Exemplo 6Bh: 1,6-diaminohexano.

Exemplo 6Bi: 1,4-fenilenodiamina.

Exemplo 6Bj: 1,3-fenilenodiamina.

Exemplo 6Bk: 1,4-diaminobutano-2,3-diol acetona.

Exemplo 7: PEG-Di(alquilsuccinato)ditióeter



5 O éter 2,3-bis-O-hexadecil de DTT (*meso*-2,3-bis (hexadeciloxi)butano-1,4-ditiol) é preparado por uma modificação do procedimento de S. Sasaki et al., Chem.Pharm.Bull. 33 (10): 4247-4266 (1985). Este é adicionado ao dimaleato de PEG pelo método do Exemplo 1.

Por este método, os seguintes ditióis de éter são acoplados ao polímero de PEG:

Exemplo 7a: *meso*-2,3-bis(*n*-butoxi)butano-1,4-ditiol.

Exemplo 7b: *meso*-2,3-bis(4-nonilfenilmetoxi)butano-1,4-ditiol.

10 Exemplo 7c: *meso*-2,3-bis(fenil-4-metoxi)butano-1,4-ditiol.

Exemplo 7d: 4,6-bis(deciloxi)benzeno-1,3-dimetanotiol.

Exemplo 7e: 4,5-bis(deciloxi)benzeno-1,2-dimetanotiol.

Exemplo 7f: 3,4-bis(deciloxi)tiofeno-2,5-dimetanotiol.

Exemplo 8A: Succinatos de PEG substituídos

15 O método do Exemplo 1 é seguido, salvo que o 2-dodeceno-1-il succínico anidrido é usado no lugar do anidrido maléico. O substituinte dodecenil fornece as cadeias C pendentes C no polímero final.

Por este método os seguintes anidridos succínicos substituídos são esterificados com PEG:

20 Exemplo 8Aa: anidrido isobutenilsuccínico.

Exemplo 8Ab: anidrido 2-octeno-1-il.

Exemplo 8Ac: anidrido octadecenil succínico.

Exemplo 8Ad: 3-oxabicyclo-hexano-2,4-diona.

Exemplo 8Ae: anidrido ciclohexanodicarboxílico.

25 Exemplo 8Af: anidrido ftálico.

Exemplo 8Ag: anidrido 4-decil ftálico.

Exemplo 8Ah: anidrido hexahidrometilftálico.

Exemplo 8Ai: anidrido tetrahidroftálico.

Exemplo 8Aj: anidrido norbornenodicarboxílico.

30 Exemplo 8Ak: cantaridina.

Exemplo 8A1: anidrido biciclooctenodicarboxílico.

Exemplo 8Am: anidrido exo-3,6-epoxi-1,2,3,6-tetrahidroftálico.

Exemplo 8An: anidrido S-acetil mercaptosuccínico.

Exemplo 8B: PEG-Di(alquilamidossuccinil)ditioléter com grupos alquila pendentes.

Pelo método do Exemplo 1, os succinatos de PEG substituídos obtidos como descrito nos Exemplos 8A e 8Aa até 8An são reagidos com o DTT.

Por este método, os seguintes ditióis são reagidos com qualquer um dos succinatos de PEG substituídos obtidos como descrito nos Exemplos 8A e 8Aa até 8An:

Exemplo 8Ba: etano-1,2-ditiol.

Exemplo 8Bb: propano-1,3-ditiol.

Exemplo 8Bc: butano-1,4-ditiol.

Exemplo 8Bd: pentano-1,5-ditiol.

Exemplo 8Be: hexano-1,6-ditiol.

Exemplo 8Bf: 1,4-benzenoditiol.

Exemplo 8Bg: 1,3-benzenoditiol.

Exemplo 8Bh: 1,4-benzenodimetanotiol.

Exemplo 8Bi: 1,3-benzenodimetanotiol.

Exemplo 8Bj: 1,2-benzenodimetanotiol.

Exemplo 8C: Copolímero PEG-diamina com grupos alquila pendentes

Pelo método do exemplo 6B, o succinato de PEG substituído obtido como descrito no Exemplo 8A é copolimerizado com 1,4-diaminobutano.

Por este método, as seguintes diaminas são copolimerizadas com qualquer um dos succinatos de PEG substituídos dos Exemplos 8A e 8Aa até 8An:

Exemplo 8Ca: 2O-BOC 1,3-diamino-2-propanol.

Exemplo 8Cb: N',N"-di(BOC)hexaetileno tetramina.

Exemplo 8Cc: N',N"-di(BOC) espermina.

Exemplo 8Cd: N'-BOC espermidina.

Exemplo 8Ce: N',N",N"'-tri(BOC)pentaetileno hexamina.

Exemplo 8Cf: agmatina.

Exemplo 8Cg: lisina t-butil éster.

Exemplo 8Ch: 1,6-diaminohexano.

Exemplo 8Ci: 1,4-fenilenodiamina.

Exemplo 8Cj: 1,3-fenilenodiamina.

Exemplo 8Ck: 1,4-diaminobutano-2,3-diol acetona.

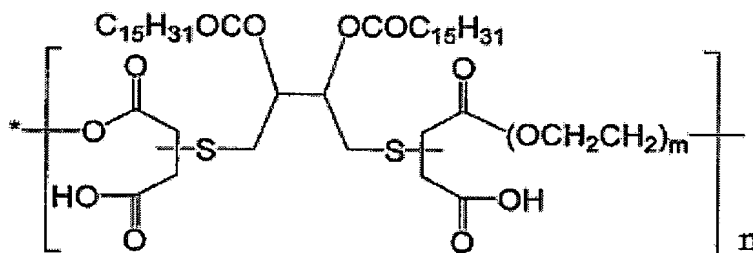
Exemplo 9: Trans-esterificação de PEG usando ácidos substituídos

Ditosilato de PEG: A 1 mol de PEG (dissolvido em DMF ou derretido como ele é) foram adicionados 2,1 moles de cloreto de tosila (excesso molar de 5%) em agitação sob argônio. A esta mistura de reação foram adicionados 2,2 moles de tetrametil etileno diamina (TEMED). A reação foi incubada, então, a 45°C por 2h. Os produtos foram re-dissolvidos usando TLC em etilacetato, tolueno ou etanol como solventes TLC. O ditosilato de PEG

pode ser extraído da mistura de reação com tolueno. Em vez do cloreto de toluenosulfonil, outros agentes de sulfonação tais como cloreto de mesila (veja o exemplo 4), anidrido triflico ou cloreto de tresila podem igualmente ser usados (veja o pedido de patente 10/397332 dos E.U., publicação 20040006051).

- 5 Poliesterificação de ditosilato de PEG: A 1 mol de ditosilato de PEG derretido, com agitação sob o argônio, é adicionado 1 mol de S,S'-didecil-*meso*-2,3-dimercaptosuccínio ácido e 2 moles de TEMED. DMF é adicionado como necessário para manter a fluidez. A mistura de reação é aquecida a 80°C e agitada por 24 h ou até o término por TLC.

10 *Exemplo 10: Polímero de Peso Molecular Médio PEG-Di(succinil)-di-(O-Acilado)tioéter (C16- π Polímero B).*



- 15 Dimaleato de PEG (10,24 g, 6,1 mmoles) preparado como no Exemplo 1 foi colocado em um frasco seco de 125 ml e aquecido a 70°C sob argônio para derreter o dimaleato de PEG. A este material derretido, com agitação, foram adicionadas água (10 mL) e uma solução de DTT (0,961 g, 6,168 mmoles) e TEMED (0,723 g, 6,166 mmoles) em água (3 mL). A solução foi agitada a 70°C por aproximadamente 4 horas. A remoção de água *in vacuo* deu o polímero sólido em cerca de 90% de rendimento.

- 20 O polímero seco (5 g, 2,7 mmoles) foi aquecido a 70-90°C sob argônio para derretê-lo e TEMED (0,635 g, 5,5 mmoles) foi adicionado. Cloreto de palmitoil (1,689 g, 5,5 mmoles) foi adicionado com agitação e a mistura foi agitada sob argônio durante a noite. (A relação de polímero para cloreto de acila pode ser variada para obter graus de substituição de 0-100% de estequiometria.) Água foi adicionada à mistura de reação para isolar o "C16- π -Polímero B".

- 25 Por este método os seguintes ácidos são esterificados com os grupos hidroxila do copolímero di(succinil)PEG-DTT:

- Exemplo 10a: Ácido Oléico.
 Exemplo 10b: Colesteril succinato.
 Exemplo 10c: Ácido bifenil-4-carboxílico.
 Exemplo 10d: Ácido 4-Octilfenilacético.
 30 Exemplo 10e: Ácido Hexadec-6-inóico.

Como uma alternativa ao uso de haletos ácidos, os grupos hidroxila derivados de DTT de polímeros π podem igualmente ser ativados com 1,3-bis(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-

ilmetil) carbodiimida (BDDC) e acoplados diretamente com ácidos carboxílicos; veja *Handbook of Reagents for Organic Synthesis, Reagents for Glycoside, Nucleotide, and Peptide synthesis*, Ed. David Crich, Wiley, 2005 p 107-108 e referências nos mesmos).

Exemplo 11: Dimaleato de C16- π -Polímero A.

5 Dimaleatos de polímero A são preparados reagindo o anidrido maléico com grupos hidroxila do Polímero A. A ligação dupla ativada introduzida pode ser usada para adicionar ligantes contendo tiol ao polímero. A relação do Polímero A para anidrido maléico pode ser variada para obter substituições que variam de 0-100% da esterificação estequiométrica cheia.

10 C16- π -Polímero A (2g) e anidrido maléico (0,85 g) foram moídos em um pilão seco e transferidos a um frasco de fundo redondo de 50 mL. O frasco foi aquecido a 90°C, sob argônio, por 2-3 horas com agitação. A mistura de reação sólida foi, então, transferida com ajuda de água a um saco de diálise (interrupção a 3,5 kDa) e dialisada contra água para remover o ácido maleico em excesso e subprodutos de baixo peso molecular. O retentado
15 então foi removido do saco e secado a 60°C até peso constante para dar dimaleato de C16- π -Polímero A (1,79g).

Exemplo 12: Aduto de Cisteína de Dimaleato de C16- π Polímero A:

Dimaleato de C16- π -Polímero A em pó (Exemplo 11) (253mg) foi adicionado a água (5 mL) e a mistura foi agitada vigorosamente. Cisteína (24mg) e TEMED (30,5 μ l) foram
20 adicionados à mistura de reação, e a mistura foi agitada a temperatura ambiente sob uma atmosfera de argônio. O progresso da reação foi monitorado por TLC (placas de sílica gel, n-butanol-ácido acético-água, 3:1:1) com detecção com ninhidrina. A mistura de reação mostrou uma mancha positiva a ninhidrina co-migrando com o polímero. Cisteína também deu uma mancha positiva a ninhidrina, ao passo que o polímero de partida não deu
25 nenhuma cor com ninhidrina.

3. Uso de Polímeros π para Solubilizar Substâncias Insolúveis ou Fracamente Solúveis

Exemplo 1: Solubilização de Tinturas

À alíquotas de 1,0 ml de uma solução aquosa 50mg/ml de polímero PEG1500-co-succinil-DTT-bis-C16-amida (C16-Polímero A, Exemplo 1), centrifugadas para remover
30 materiais insolúveis, porém, não de outra maneira purificados, foram adicionadas quantidades em excesso das tinturas Eosina Y, diclorofluoresceína e Sudan IV, em recipientes separados (FlexExcel™ barcos de pesagem de polipropileno claro, tamanho WB2.5, produto de AllExcel, Inc., West Haven, CT), e os componentes foram agitados juntos
35 para formar uma pasta. O fundo do recipiente foi unido, então, ao fundo de um pequeno banho limpador ultra-sônico de jóias usando uma fita duplo adesiva resistente a água. Apenas bastante água foi adicionada ao banho para imergir o barco de pesagem a

aproximadamente 1/3 de altura. O ultra-som foi executado por 15 minutos em etapas de 5 minutos. Os líquidos foram transferidos para tubos de centrifuga e centrifugados duas vezes por 30 min. em uma centrífuga de topo de bancada para granular para fora a tintura não dissolvida. Os sobrenadantes foram transferidos para tubos limpos e centrifugados outra vez para remover sólidos arrastados. Suspensões das mesmas quantidades de tinturas na mesma quantidade de água destilada que a quantidade de solução de polímero foram tratadas da mesma forma, como controle. As soluções resultantes foram manchadas (25 µl) em placas TLC para formar círculos das gotas. As intensidades dos pontos foram comparadas com os pontos feitos de padrões de soluções de tintura feitas em etanol/água para determinar concentrações aproximadas; os pontos são mostrados na Figura 1. As solubilidades das tinturas na água foram determinadas dissolvendo uma quantidade apropriada da tintura em 1 l ou mais de água deionizada (não tamponada) à temperatura ambiente e adicionando (isto é, titulando) mais água como necessário para obter soluções saturadas.

A concentração de Sudan IV em polímero de 50 mg/ml foi de aproximadamente 0,2 mg/ml, em contraste com 0,000 mg/ml em H₂O (Sudan IV é insolúvel no pH neutro). A concentração de diclorofluoresceína era aproximadamente de 5 mg/ml em polímero de 50 mg/ml, em contraste com 0,010 mg/ml em H₂O. A concentração de Eosina Y em polímero de 50 mg/ml era aproximadamente de 5 mg/ml, em contraste com 0,007 mg/ml em H₂O. As relações de carga útil (quantidade de droga por quantidade unitária de polímero, g/g) foram calculadas para serem aproximadamente 1:250 para Sudan IV, 1:10 para diclorofluoresceína e 1:10 para Eosina Y.

As relações de carga útil de 1:10 para os compostos polares que se assemelham a substâncias farmacologicamente ativas em propriedades físico-químicas são mais elevadas do que aquelas geralmente atingíveis com lipossomas, ciclodextrinas, Cremophor™ ou detergente ou outros sistemas de solubilização. Eosina Y é um gerador fotoativável de oxigênio único com uma eficiência muito elevada e tais soluções concentradas de Eosina Y como são feitas com o polímero do Exemplo 1 podem ser consideradas farmacologicamente ativas como agentes citotóxicos fotoativáveis.

A mudança no espectro de fluorescência de diclorofluoresceína na solução de polímero (amarelo avermelhado/laranja) sobre aquele na água (amarelo esverdeado) era visualmente visível e dá uma indicação que a tintura não está em um ambiente aquoso, mas está encapsulada no ambiente orgânico dos núcleos de partículas de polímero automontado. Certamente, mudanças em espectros de fluorescência foram usadas como um método de determinar mudanças na polaridade do microambiente (por exemplo, "sondas de lipídeos"). A cor da solução de Sudan IV no polímero era marrom avermelhada, ao

contrário do vermelho em solução de etanol e pó marrom quando suspensa em água. A Eosina Y não mostrou um deslocamento visual significativo (cor-de-rosa na água à cor-de-rosa avermelhada na solução do polímero).

Exemplo 2: Solubilização de substâncias medicamente relevantes

5 Purpurina Anfotericina B, Camptotecina e Doxorubicina foram selecionadas como ingredientes farmacêuticos ativos escassamente solúveis representativos (API). A anfotericina B é usada em uma formulação lipossomal como um antifungo injetável, enquanto Camptotecina e Doxorubicina são agentes anticancerosos. Purpurina é uma tintura intercalante de DNA com utilidade farmacêutica potencial e a Eosina Y é um reagente
10 de oxigênio único fotossensível com uso potencial em terapia fotodinâmica. Cada API foi solubilizado em água com C16- π -Polímero A, C18- π -Polímero B e/ou conjugado C16- π -Polímero A-ácido fólico (veja abaixo). A solubilização foi demonstrada manchando o API solubilizado e os controles não-solubilizados em placas de TLC, como descrito acima para as tinturas.

15 Os polímeros secados foram reconstituídos com água, com aquecimento, agitação, e ultra-som como necessário. Quando a solução era viscosa demais, ela foi diluída. C16- π -Polímero A foi usado a 10% p/v, C16- π -Polímero A com ácido fólico foi usado a 5% p/v e C18- π -Polímero B foi usado a 2% p/v.

A substância da droga (20 mg) foi adicionada diretamente a 1 ml de solução de polímero, resultando em razões de massa polímero:API de 5:1 para C16- π -Polímero A, 2,5:1 para C16- π -Polímero A com ácido fólico e 1:1 para C18- π -Polímero B, exceção para doxorubicina (veja abaixo). As misturas passaram por ultra-som por 1 hora a baixa energia e, então, centrifugadas duas vezes a 2000 xg para remover sólidos não dissolvidos. A quantidade de sólidos granulados não foi significativa. Manchando as soluções em uma
20 placa de TLC de sílica gel mostrou que as drogas foram solubilizadas, com migração retardada da parte dianteira do solvente (Fig. 2).

Cloridrato de doxorubicina foi combinado com os polímeros como acima em uma razão de massa de 10:1 C16- π -Polímero A para cloridrato de doxorubicina ou a uma razão de massa de 5:1 C16- π -Polímero A com ácido fólico para doxorubicina, seguido pela adição
30 de acetato de sódio 3M suficiente para neutralizar o cloridrato de doxorubicina. As misturas foram agitadas vigorosamente por 24 horas e, então, centrifugadas duas vezes a 2000 xg para remover os sólidos não dissolvidos. A quantidade de sólidos granulados não foi significativa.

As razões de massa de APIs solubilizados para polímero são mostradas na Tabela
35 1. Nenhuma tentativa foi feita para maximizar o carregamento de polímero, conseqüentemente, estas razões representam limites inferiores na quantidade de API que os polímeros são capazes de carregar para a solução.

Uma amostra de 50 μ l de cada solução foi manchada em uma placa de TLC de sílica gel Bakerflex™ e deixada espalhar. A solução aquosa forma um limite exterior do círculo e um círculo interno é formado pela migração do polímero com material encapsulado (Figura 2). Em todos os casos, havia muito pouco API muito pequeno na franja periférica da zona somente aquosa, indicando solubilização bem sucedida e escapamento mínimo do material encapsulado.

Tabela 1: Solubilização de APIs

Razões de Massa Polímero:Substrato

	C16- π -Polímero A 10% p/v	C16- π -Polímero A com ácido fólico 5% p/v	C18- π -Polímero B 2% p/v
Purpurina	5:1	2,5:1	não realizado
Canfotecina	5:1	2,5:1	não realizado
Anfotericina B	5:1	2,5:1	não realizado
Doxorubicina	10:1	5:1	não realizado
Eosina Y	não realizado	não realizado	1:1

4. Biocompatibilidade de Polímeros π

10 *Exemplo 1: Capacidade de adequação a emolientes tópicos, cremes ou pastas*

Uma cera oleosa concentrada do polímero do Exemplo 1 foi friccionada na pele interna do pulso pelo inventor e observada quanto a absorção. O material pareceu ser absorvido similarmente a cremes cerosos farmacológicos, com amaciamento ligeiro da área. Nenhuma resposta alérgica imediata ou atrasada, tal como vermelhidão, prurido ou coceira
15 foi observada em cima desta única aplicação tópica.

Muitos destes polímeros são ceras higroscópicas na temperatura ambiente, com um ponto de fusão esperado de cerca de 45°C a 60°C ou maior, dependendo da composição. Polímeros feitos PEGs de PM inferior podem mesmo ser líquidos na temperatura ambiente. Alguns polímeros podem ser sólidos na temperatura ambiente,
20 derretendo na temperatura do corpo. Assim, as propriedades destes polímeros π os fazem excelentes substratos para fazer loções, cremes, unguentos, emolientes e outras formas de liberação, seja por eles mesmos ou em mistura com várias substâncias, incluindo agentes farmacêuticos ativos.

Exemplo 2: Capacidade de adequação para administração parenteral

25 Uma solução aquosa do polímero do Exemplo 1 foi preparada em salina tamponada com fosfato e filtrada, então, para tubos estéreis através de filtros 0,22 μ m.

Um protocolo de dose tolerada máxima foi empregado, onde camundongos CD-1 foram submetidos a uma dose de 10ml por kg de peso corporal por injeção na veia da cauda de até 5% p/v de solução aquosa do polímero. Os camundongos foram observados por 12
30 horas continuamente e a cada 2 h depois disso até 48 a 72 horas, dependendo do grupo.

Amostras de sangue foram tomadas e analisadas. Alguns camundongos foram sacrificados e examinados primeiramente para a histologia bruta. A histologia microscópica foi executada, então, em seções selecionadas.

5 Nenhuma diferença perceptível foi encontrada na química de sangue entre os camundongos de controle e os camundongos tratados. Nenhuma diferença ou lesão perceptível foi encontrada em comparação com os animais de controle na histologia bruta dos vários órgãos incluindo coração, pulmões, rins, baço, fígado, intestinos, estômago, bexiga, pele, músculos, ossos, cérebro e nodos linfáticos. Espécimes múltiplos de grupos diferentes de animais foram estudados com os mesmos resultados sendo observados.

10 Nenhuma diferença observável foi encontrada na estrutura do tecido celular dos tecidos examinados. Alguns dos rins mostraram certos depósitos que diminuíram com o tempo de exposição ao polímero. Isto implica que os depósitos são uma fase provisória e à medida que o tempo passa eles se tornarão normais.

Conclui-se que o polímero é seguro para o uso médico como um agente

15 farmacêutico em preparações injetáveis e em outras formulações parenteral. É razoável esperar que o polímero é seguro em soluções orais, capsulas e comprimidos, spray nasal, aerossóis orais/brônquicos, sublinguais, creme/loção/emplastro para pele, colírio, outras rotas tópicas e outras rotas de administração.

5. Anexação de Frações Alvo a Polímeros π

20 *Exemplo 1: Anexação de galactosamina a C-16- π -Polímero B via formação de ligação amida.*

Galactosamina (GA) objetiva o receptor de asialoglicoproteína hepática (ASGPR) e polímeros que carregam galactosamina covalentemente ligada são liberados para o fígado; veja L. Seymour et al., "Hepatic Drug Targeting: Phase I Evaluation of Polymer-Bound

25 Doxorubicin" *J. Clin. Oncology*, **20**(6): 1668-1676 (2002) e referências no mesmo.

C16- π -Polímero B (Exemplo 10 na seção de método sintético acima) (461 mg, 0,2 mmoles de equivalente COOH por unidade de repetição) foi dispersado em 14 mL de água, e a esta dispersão foi adicionado EDC HCl (0,485 mmoles) e N-hidroxisuccinimida (0,464 mmoles). A mistura foi agitada na temperatura ambiente por 15 minutos e uma solução de

30 galactosamina HC1 (0,386 mmoles) e TEMED (0,387 mmols) em 1 ml de água foi adicionada. A solução foi agitada e a reação foi seguida por TLC em sílica gel e revelação em 1-butanol-ácido acético-água (3:1:1). Um montante suplementar de TEMED (0,079 mmoles), NHS (0,078 mmoles) e EDC HC1 (0,193 mmoles) foi adicionado para forçar a reação à conclusão. Quando a TLC mostrou um de estado estacionário no que diz respeito

35 ao consumo de GA, a mistura de reação foi dialisada (membrana de interrupção de 3500 Da) contra 3 x 1000 ml de água deionizada para remover os reagentes de peso molecular baixo e subprodutos. O retentado foi removido e secado a 60°C até peso constante (348

mg).

A TLC do produto não mostrou nenhuma GA livre (ninhidrina negativa). Uma amostra do produto foi hidrolisada com HCl 6N a 100°C para hidrolisar a ligação GA. A análise da TLC mostrou a presença de GA (ninhidrina positiva) na mesmo Rf que a GA de referência.

Exemplo 2: Anexação de ácido fólico a C18- π -Polímero A

BDDC (2,44 g, 8,56 mmoles) foi pesado em um frasco de fundo redondo de 125 mL lavado com argônio (BDDC é muito viscoso com consistência similar a mel e difícil de manipular). C18- π -Polímero A (10 g, 4,28 mmoles) foi adicionado ao frasco, a mistura foi aquecida até 70°C e os reagentes foram agitados junto por aproximadamente 30 minutos. Ácido Fólico (3 g) foi adicionado seguido por suficiente THF para tornar a agitação possível. Os reagentes foram agitados a 40-70°C durante a noite, protegidos da umidade. O THF foi permitido, então, evaporar e água (80 mL) foi adicionada e a mistura foi agitada a 50°C para um adicional de 2 h. Após esfriar até a temperatura ambiente, a mistura foi transferida a uma seção de tubulação de diálise com uma interrupção de 3500 Daltons e dialisada contra HCl 0,1N (2 x 2000 ml), água (2000 ml), carbonato de sódio 5% (2 x 2000 ml) e água (4 x 2000 ml), para remover reagentes não reagidos e subprodutos. O retentado amarelo-laranja brilhante foi removido. Uma parcela foi evaporada até peso constante para determinar a concentração de sólidos e foi usada para as experiências de solubilização descritas acima.

Exemplo 3: Anexação de Ácido N-acetil neuramínico (NANA) ao C16- π -Polímero B

Derivados de ácido neuramínico são esperados sere frações alvo para vírus da gripe por causa das proteínas de revestimento hemaglutinina e neuraminidase, ambas são conhecidas por ligar ao ácido siálico.

BDDC (2,44 g, 8,56 mmoles) e C18- π -Polímero A (10 g, 4,28 mmoles) são combinados e aquecidos até 70°C e agitados juntos sob argônio por aproximadamente 30 minutos. Ácido N-acetil neuramínico (3 g) é adicionado, seguido por THF como necessário para manter a fluidez. Os reagentes são agitados a 40-70°C durante a noite, protegidos da umidade. Água (80 mL) é adicionada e a mistura é agitada a 50°C por um adicional de 2 h. Após esfriar até a temperatura ambiente, a mistura é dialisada contra HCl 0,1N, NaHCO₃ 5% e água (2 x 2000 ml cada) com uma membrana de interrupção de 3,5 kDa.

Exemplo 4: Anexação de ácido β -O-metil neuramínico (MNA) a C16- π -Polímero B.

C16- π -Polímero B, 43 micromoles COOH base em 1 ml de água e β -metil glicosídeo de ácido neuramínico (Toronto Research Chemicals), 40 micromoles, foram misturados juntos e 40 micromoles de NHS em 0,1 ml de água foram adicionados, seguidos de 40 micromoles de cloridrato de EDC em 0,1 ml de água. A mistura de reação foi agitada na temperatura ambiente por 48 horas e analisada por TLC em sílica gel com isopropanol-etil acetato-água (4:3:2). A detecção com orcinol 0,2% em ácido sulfúrico 70% a 130°C não gera

uma reação de cor com o polímero de partida, mas a TLC da mistura de reação deu um ponto roxo co-migrando com o polímero.

Exemplo 5: Anexação de zanamivir a C16- π -Polímero B.

5 Zanamivir (GG167) é um inibidor potencial de neuraminidase viral e os polímeros que carregam esta molécula como um ligante multivalente são inibidores da replicação do vírus da gripe.

C16- π -Polímero B (920 mg) é dispersado em 30 mL de água e a este é adicionado EDC HC1 (1,2 mmoles) e N-hidroxisuccinimida (1,1 mmoles). A mistura é agitada na temperatura ambiente por 20 minutos e uma solução do sal de ácido trifluoroacético de 5-acetamido-7-(6'-aminohexil)-carbamiloxi-4-guanidino-2,3,4,5-tetradexoi-D-glicero-D-galactonon-2-enopiranosônico ácido (patentes US 6.242.582 e 6.680.054) (0,39 g, 0,67 mmol) e TEMED (0,67 mmol) em 1 ml de água é adicionado. A solução é agitada na temperatura ambiente e a reação é seguida por TLC. A mistura de reação é dialisada (membrana de interrupção de 3500 kDa) contra a 3 x 1000 ml de água deionizada para remover os reagentes de baixo peso molecular e subprodutos. O retentado é removido e secado a 60°C até peso constante. O nível de modalidade de açúcar pode ser determinado por um ensaio colorimétrico para o grupo guanidina (*Can. J. Chem.*, **36**:1541 (1958)). Um ensaio de neuraminidase pode ser realizado depois do procedimento de Potier et al., *Anal. Biochem.*, **29** 287 (1979).

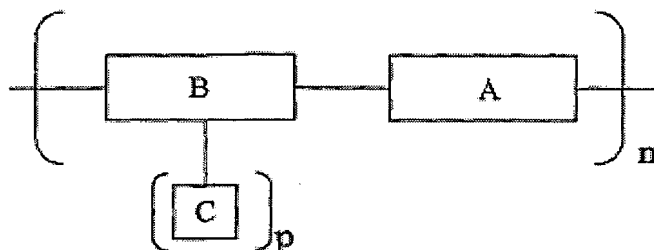
20 *Exemplo 6: Anexação de fragmento Fab a Dimaleato de C16- π -Polímero A:*

Um anticorpo de fragmento variável de cadeia simples (scFv) direcionado contra o antígeno associado a melanoma de alto peso molecular de glicoproteína de superfície (HMW-MAA) objetiva células de melanoma; veja F. Martin et al., *J. Virology*, **73**:6923 - 6929 (1999).

25 Ligações de bissulfeto neste fragmento de anticorpo são reduzidas com Gel de Redução de Bissulfeto TCEP Imobilizado (Pierce Biotechnology, Rockford, IL) de acordo com o protocolo do fabricante e reagidas com dimaleato de C16- π -Polímero A pelo método do Exemplo 12 na seção Métodos Sintéticos.

REIVINDICAÇÕES

1. Polímero tipo pente, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que consiste essencialmente na seguinte estrutura:

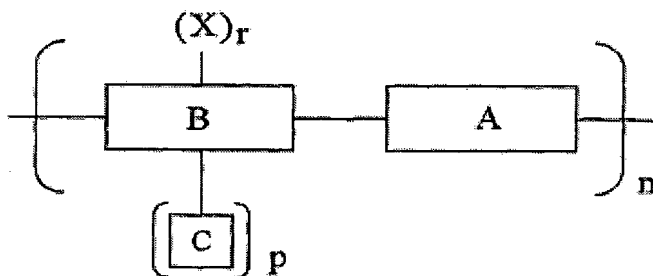


compreendendo uma espinha dorsal formada da alternância de porções de ponto de ramificação B e polímero em bloco A solúveis em água, hidrofílicos; tendo cadeias laterais hidrofóbicas C ligadas às porções de ponto de ramificação, onde cada cadeia lateral C é independentemente selecionada do grupo consistindo em hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros; onde n varia de 3 a aproximadamente 100; e em que, em média, $1 < p \leq 4$.

2. Polímero, de acordo com a reivindicação 1, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que, em média, p varia de aproximadamente 2 até 4.

3. Polímero, de acordo com a reivindicação 1, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que, em média, $1,5 \leq p \leq 2$.

4. Polímero, de acordo com a reivindicação 1, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que compreende ainda um ou mais grupos funcionais reativos X ligados a cada porção de ponto de ramificação, e consiste essencialmente na seguinte estrutura:



onde, em média, r varia de aproximadamente 1 a aproximadamente 4.

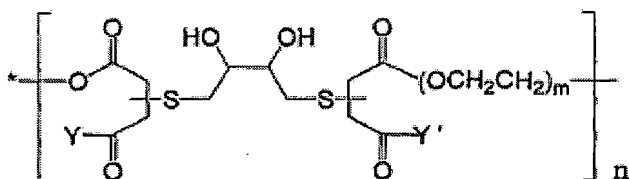
5. Polímero, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-4, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o polímero em bloco A solúvel em água é selecionado do grupo consistindo em poli(etileno glicol), poli(propileno glicol), poli(etileno imina), poli(álcool vinílico), poli(vinilpirrolidona) e polissacarídeos e copolímeros do mesmo.

6. Polímero, de acordo com a reivindicação 5, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o polímero em bloco A é selecionado do grupo consistindo em poli(etileno glicol) e poli(propileno glicol) e copolímeros do mesmo.

7. Polímero, de acordo com a reivindicação 6, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o polímero em bloco A é poli (etileno glicol).

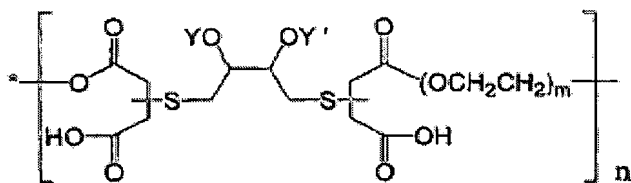
8. Polímero, de acordo com a reivindicação 1, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o polímero em bloco A tem um comprimento médio entre 4 e 700 unidades de monômero.

9. Polímero, de acordo com a reivindicação 4, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura



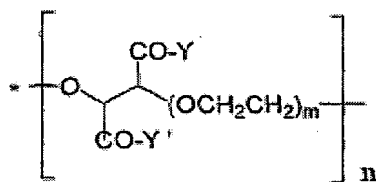
onde m é 4-700, e Y e Y' são selecionados independentemente do grupo que consiste em R , OR , $COOR$, SR , NHR , NRR' , $ONHR$, $NHOR$, $NRNH_2$, $NHNHR$, $NRNHR'$, e $NHNRR'$, onde R e R' são selecionados independentemente do grupo que consiste nos hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, hidrocarbonetos policíclicos substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros.

10. Polímero, de acordo com a reivindicação 4, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura



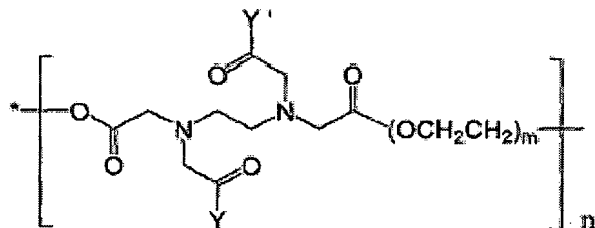
onde m é 4-700, e Y e Y' são selecionados independentemente do grupo que consiste em R , COR , $COOR$, $CONHR$, $CONRR'$, $CONHOR$, $CONRNH_2$, $CONHNHR$, $CONRNHR'$ e $CONHNRR'$, onde R e R' são selecionados independentemente do grupo que consiste nos hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, hidrocarbonetos policíclicos substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros.

11. Polímero, de acordo com a reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura



onde m é 4-700, e Y e Y' são selecionados independentemente do grupo que consiste em R , OR , $COOR$, SR , NHR , NRR' , $ONHR$, $NHOR$, $NRNH_2$, $NHNHR$, $NRNHR'$, e $NHNRR'$, onde R e R' são selecionados independentemente do grupo que consiste nos hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, hidrocarbonetos policíclicos substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros.

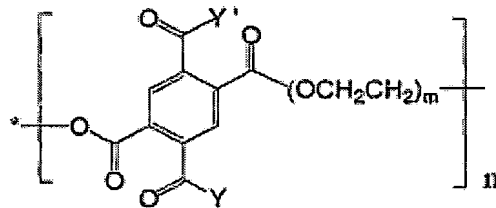
12. Polímero, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura



onde m é 4-700, e Y e Y' são selecionados independentemente do grupo que

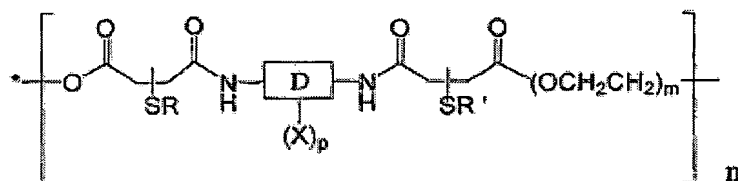
consiste em R, OR, COOR, SR, NHR, NRR', ONHR, NHOR, NRNH₂, NHNHR, NRNHR', e NHNRR' , onde R e R' são selecionados independentemente do grupo que consiste nos hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, hidrocarbonetos policíclicos substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros.

13. Polímero, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura

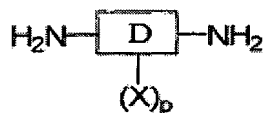


onde m é 4-700, e Y e Y' são selecionados independentemente do grupo que consiste em R, OR, COOR, SR, NHR, NRR', ONHR, NHOR, NRNH₂, NHNHR, NRNHR', e NHNRR' , onde R e R' são selecionados independentemente do grupo que consiste nos hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, hidrocarbonetos policíclicos substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros.

14. Polímero, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura



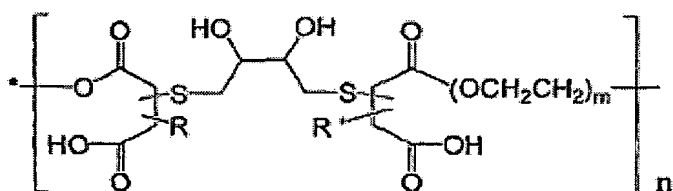
onde a porção D é derivada de uma diamina tendo a estrutura geral



cada X é independentemente um grupo funcional reativo, p é 0-4, e m é 4-

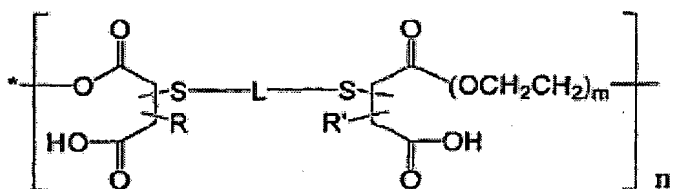
700; e onde R e R' são selecionados independentemente do grupo que consiste nos hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, hidrocarbonetos policíclicos substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros.

- 5 15. Polímero, de acordo com a reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura



- onde m é 4-700, e R e R' são selecionados independentemente do grupo que consiste nos hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, hidrocarbonetos policíclicos substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros.
- 10

16. Polímero, de acordo com a reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura



- onde m é 4-700, L é fenileno, alquileno C₂-C₆, ou benzenodimetileno, e R e R' são selecionados independentemente do grupo que consiste nos hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, hidrocarbonetos policíclicos substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros.
- 15

17. Composição, **CARACTERIZADA** pelo fato de que é resultante da reação

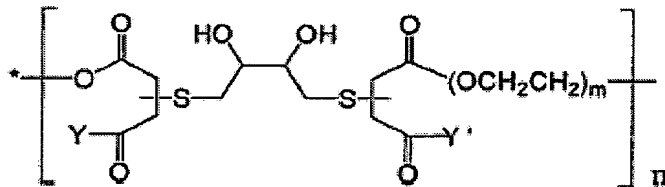
química de polietileno glicol e anidrido maléico, tendo por resultado a esterificação substancialmente completa dos grupos hidroxila terminais de polietileno glicol pelo anidrido maléico.

18. Composição, **CHARACTERIZADA** pelo fato de que é resultante da reação química de polipropileno glicol e anidrido maléico, tendo por resultado a esterificação substancialmente completa dos grupos hidroxila terminais de polipropileno glicol pelo anidrido maléico.

19. Composição, **CHARACTERIZADA** pelo fato de que é resultante da reação química de ditiotreitol com a composição de acordo com a reivindicação 17.

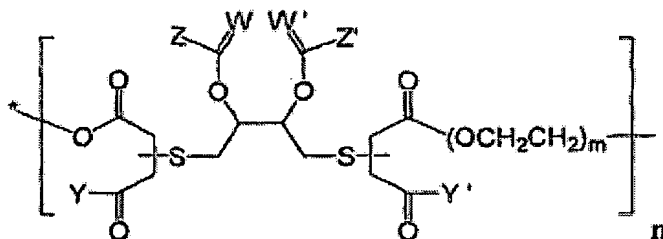
20. Composição, **CHARACTERIZADA** pelo fato de que é resultante da reação química de ditiotreitol com a composição de acordo com a reivindicação 18.

21. Polímero, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura



onde m é 4 a aproximadamente 700 e n é 3 a aproximadamente 100, e onde, em cada ocorrência da unidade de monômero tendo a estrutura mostrada, Y e Y' são selecionados independentemente do grupo que consiste em OH, COOH, SH, NH₂, NHR, ONH₂, NHOH, NHNH₂, e NRNH₂, onde R é selecionado do grupo que consiste em C₁ a C₅ alquila C₁-C₅ e (CH₂)_k Y, onde k é de 2 a 5.

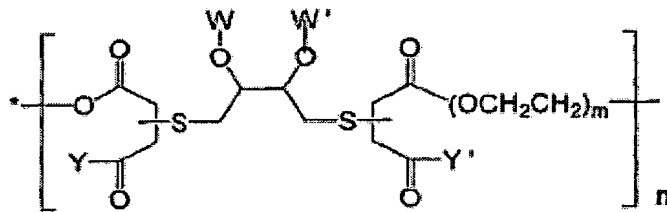
22. Polímero, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura



onde m é 4 a aproximadamente 700 e n é 3 a aproximadamente 100, e onde, em cada ocorrência da unidade de monômero tendo a estrutura mostrada, Y e Y' são selecionados independentemente do grupo que consiste em OH, COOH, SH, NH₂, NHR, ONH₂, NHOH, NHNH₂, e NRNH₂, onde R é selecionado do grupo que consiste em alquila C₁-C₅ e (CH₂) _{k} , onde k é de 2 a 5; W e W' são independentemente O ou H₂, e onde, em cada ocorrência da unidade de monômero, Z e Z' são selecionados independentemente do grupo que consiste em hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, hidrocarbonetos policíclicos substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros.

10

23. Polímero, **CARACTERIZADO** pelo fato de que tem a estrutura



onde m é 4-700 e Y e Y' são selecionados independentemente do grupo que consiste em R, OR, COOR, SR, NHR, NRR', ONHR, NHOR, NRNH₂, NHNHR, NRNHR', e NHNRR', onde R e R' são selecionados independente do grupo que consiste em hidrocarbonetos lineares substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, hidrocarbonetos policíclicos substituídos opcionalmente com um ou mais substituintes hidrofílicos, aminoácidos hidrofóbicos, peptídeos e polímeros; e onde, em cada ocorrência da unidade de monômero, W e W' são selecionados independentemente do grupo consistindo em H, -COCH=CH₂, -COC(CH₃)=CH₂, COCH=CHCO₂H, e -COC(CH₃)=CHCO₂H.

20

24. Composição farmacêutica, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende um polímero conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1-9, e compreendendo ainda uma quantidade eficaz de um agente farmacologicamente ativo.

25. Método para aumentar a solubilidade de uma substância em um solvente

aquoso, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que compreende contactar a substância com um polímero conforme definido na reivindicação 1 ou 2 de modo a formar um complexo solúvel em água da substância e polímero.

26. Método para aumentar a solubilidade de uma substância em um solvente não aquoso, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que compreende contactar a substância com um polímero conforme definido na reivindicação 1 ou 2 de modo a formar um complexo da substância e do polímero que é solúvel no solvente não aquoso.

27. Método, de acordo com a reivindicação 25 ou 26, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que a substância é selecionada do grupo que consiste em vitaminas, nutrientes, drogas, tinturas, complexos de ácido nucléico e agentes de imagem.

28. Método, de acordo com a reivindicação 27, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que a substância é uma droga.

29. Método de induzir afinidade de aglutinação para um alvo biológico em um polímero, conforme definido na reivindicação 4, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que compreende a etapa de unir uma porção alvo a um ou mais dos grupos X funcionais reativos presentes no polímero.

30. Método, de acordo com a reivindicação 29, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o alvo biológico é a superfície de uma célula ou vírus.

31. Método, de acordo com a reivindicação 30, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que a porção alvo é selecionada do grupo que consiste em ligantes receptor-específicos, anticorpos, fragmentos de anticorpo, peptídeos compreendendo uma seqüência de aminoácido RGD, peptídeos compreendendo um motivo YISRG, fatores de crescimento, como derivados de ácido sialílico, derivados de ácido N-acetilneuramínico; folato, metotrexato, ácido pteróico, estradiol, estratriol, testosterona, mannose-6-fosfato, açúcares, vitaminas, triptofano, aminoalquiladamantanos, FuzeonTM, PRO-542, BMS-488043, ácido sialílico, ácido 2-deoxi-2,3-dideidro-N-acetilneuramínico, 4-guanidino-Neu5Ac2en (zanamivir), oseltamivir, e RWJ-270201.

32. Método, de acordo com a reivindicação 31, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que a porção alvo é um anticorpo monoclonal ou um fragmento de anticorpo.

RESUMO**"SOLUBILIZAÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DIRECIONADA DE DROGAS COM POLÍMEROS ANFIFÍLICOS DE AUTOMONTAGEM"**

São fornecidos copolímeros biodegradáveis anfifílicos compreendendo uma espinha dorsal hidrofílica com grupos alifáticos pendentes como o componente hidrofóbico. Os polímeros formam agregados moleculares nanoescalares nos ambientes aquosos, que têm os interiores hidrofóbicos que são capazes de solubilizar compostos orgânicos insolúveis tais como drogas, vitaminas, tinturas, e agentes de imagem. Os polímeros caracterizam opcionalmente os grupos funcionais reativos que fornecem pontos de anexação para anticorpos, ligantes, e outras porções alvo úteis para a entrega direcionada das drogas e dos agentes de imagem.