

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 808 943**

51 Int. Cl.:

C08G 73/02

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.07.2017** **PCT/EP2017/066489**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.01.2018** **WO18002382**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.07.2017** **E 17737761 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020** **EP 3478747**

54 Título: **Poli(imino éter(es) cíclico(s))**

30 Prioridad:

01.07.2016 EP 16177411

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

02.03.2021

73 Titular/es:

**UNIVERSITEIT GENT (100.0%)
Sint-Pietersnieuwstraat 25
9000 Gent, BE**

72 Inventor/es:

**HOOGENBOOM, RICHARD y
VERBRAEKEN, BART**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 808 943 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Poli(imino éter(es) cíclico(s))

5 Campo técnico de la invención

La presente invención se refiere a poli(imino éter(es) cíclico(s)). Más particularmente, la invención se refiere a copolímeros estadísticos de monómeros de 2-oxazolina y monómeros de 2-oxazina.

10 Los copolímeros de la presente invención muestran propiedades útiles que pueden explotarse en el campo médico, especialmente productos terapéuticos poliméricos tales como sistemas micelares de suministro de fármacos y poliplexes.

15 La invención también proporciona un método para preparar un copolímero estadístico por polimerización de apertura de anillo catiónica de una mezcla de reacción monomérica que comprende una 2-oxazolina opcionalmente 2-sustituida y una 2-oxazina opcionalmente 2-sustituida.

Antecedentes de la invención

20 Los productos terapéuticos poliméricos incluyen fármacos macromoleculares diseñados racionalmente, conjugados de polímero-fármaco y polímero-proteína, micelas poliméricas que contienen fármaco unido covalente y no covalentemente, y poliplexes para el suministro de ADN.

25 Las micelas poliméricas se han usado ampliamente en el suministro de diversos fármacos terapéuticos. Las micelas poliméricas que consisten en copolímeros de bloque anfífilos forman un núcleo hidrófobo, en que los fármacos lipófilos pueden incorporarse físicamente. Los bloques o segmentos hidrófilos generan corona afín al agua y encapsulan el núcleo hidrófilo. De esta manera, los fármacos poco solubles pueden solubilizarse satisfactoriamente en medios acuosos.

30 La genoterapia es una nueva herramienta prometedora para tratar algunas enfermedades que actualmente son incurables, tales como trastornos genéticos, enfermedades cancerosas y algunas enfermedades de la retina. La idea básica en genoterapia es sencilla: la incapacidad de producir alguna proteína codificada por un gen defectuoso se supera suministrando un nuevo gen intacto al núcleo de las células. Como el ADN desnudo tal cual habitualmente no se internaliza de manera eficaz por las células, se necesita un sistema transportador (vector) para el suministro génico.

35 Las metodologías de suministro han incluido el uso de virus recombinantes y materiales sintéticos, especialmente polímeros catiónicos. Aunque los virus son los vehículos de suministro más eficaces actualmente disponibles, los polímeros muestran varias propiedades, incluyendo química muy flexible, potencial de biocompatibilidad, simplicidad y síntesis económica, que hacen que sean candidatos excelentes para los vehículos de suministro génico.

40 Los polímeros sensibles a estímulos (o polímeros inteligentes) tienen gran potencial como vectores no víricos para obtener expresión génica específica de sitio, cronología y periodo de duración. Los polímeros sensibles a estímulos tienen respuestas agudas y reversibles a pequeños cambios en las condiciones ambientales, tales como la temperatura, el pH, la luz, la fuerza iónica, los campos eléctricos y magnéticos, y han surgido como una clase de materiales conocidos como materiales "inteligentes". Los polímeros sensibles a pH y temperatura son los dos

45 miembros más populares de los sistemas poliméricos inteligentes. Los polímeros que tienen carácter de sensibilidad al pH en general consisten en un monómero hidrófobo y un comonómero ionizable que tiene naturaleza más hidrófila. Un cambio en el pH y, por lo tanto, en la carga neta causa el cambio de fase, dependiendo del equilibrio hidrófobo e hidrófilo del copolímero. Ejemplos típicos son los copolímeros de metilmetacrilato (MMA) con ácido metacrílico (MAc) o dimetilaminoetilmetacrilato (DMAEMA). El MMA es la sección hidrófoba mientras que el MAc es la parte hidrófila de las cadenas. El MAc es hidrófilo a pH alto cuando los grupos COOH se desprotonan, pero llega a ser más hidrófobo cuando los -COOH se protonan. Los copolímeros de MMA con DMAEMA, que es hidrófilo a pH bajo, cuando los grupos amino se protonan, pero más hidrófobo cuando los grupos amino se desprotonan. Estos copolímeros son solubles a pH bajo, pero precipitan en condiciones ligeramente alcalinas.

55 El/los poli(imino éter(es) cíclico(s)) de diversas arquitecturas y funcionalidades químicas pueden prepararse de una manera viva y, por lo tanto, controlada, mediante polimerización de apertura de anillo catiónica (CROP). Las 2-oxazolininas son imino éteres cíclicos de 5 miembros cuyo mecanismo de polimerización de apertura de anillo catiónica y propiedades del polímero resultantes se han estudiado ampliamente. Sin embargo, también los imino éteres cíclicos de 6 miembros (2-oxazinas) e imino éteres cíclicos de 7 miembros (2-oxazepinas) pueden polimerizarse mediante CROP.

60 Las polioxazolininas han encontrado amplias aplicaciones, que varían desde recubrimientos hasta dispersantes de pigmentos. Además, varias polioxazolininas son solubles en agua o anfífilas y relativamente atóxicas, lo que las hace interesantes como biomateriales.

65

No solamente los homopolímeros de polioxazolin, sino también los copolímeros de bloque y los copolímeros estadísticos de polioxazolin son conocidos en la técnica.

Hruby *et al.* (*Polyoxazoline Thermoresponsive Micelles as Radionuclide Delivery Systems*, Macromol. Biosci. 2010, 10(8), 916-924) describen la síntesis de copolímeros de tribloque ABA de poli[2-metil-2-oxazolin-bloque-(2-isopropil-2-oxazolin-co-2-butil-2-oxazolin)-bloque-2-metil-2-oxazolin]. El resto fenólico introducido en el copolímero permitía el marcaje con radionúclido con yodo-125 persistente en buen rendimiento con suficiente estabilidad *in vitro* en condiciones modelo.

El documento WO 2009.156180 describe sistemas de suministro poliméricos para agentes activos, que comprenden:

a) al menos un copolímero que comprende:

- primeras unidades repetitivas representadas por $[N(CO)(R^A)CH_2CH_2]$ - en las que R^A es un grupo hidrocarbonado, opcionalmente sustituido con -OH, -SH, -COOH, -NR'₂, -COOR', -CONR', -CHO, representando R' H o alquilo C₁₋₃, y seleccionándose R^A de modo que las primeras unidades repetitivas sean hidrófilas; y
- segundas unidades repetitivas representadas por $[N(CO)(R^B)CH_2CH_2]$ - en las que R^B es un grupo hidrocarbonado opcionalmente sustituido con halógeno, -OH, -SH, -COOH, -NR''₂, -COOR'', -CONR'', -CHO, representando R'' H, alquilo o alqueno, y seleccionándose R^B de modo que las segundas unidades repetitivas sean más hidrófobas que las primeras unidades repetitivas; y

b) uno o más agentes activos.

El documento WO 2013/103297 se refiere a polímeros de poli(2-oxazolin). El ejemplo 4 describe la copolimerización de (2-metoxycarboniletil)-2-oxazolin con 2-etil-2-oxazolin o 2-metil-2-oxazolin para producir un copolímero estadístico.

Schultz *et al.* (*Drug-Induced Morphology Switch in Drug Delivery Systems Based on Poly(2-oxazoline)s*, ACS Nano, 2014 Mar 25; 8(3):2686-96) incorporó paclitaxel en micelas de copolímeros anfífilos de tribloque ABA de poli(2-oxazolin). Los bloques hidrófilos A comprendían poli(2-metil-2-oxazolin) mientras que los bloques centrales B eran poli(2-n-butil-2-oxazolin) solo escasamente hidrófoba o poli(2-n-nonil-2-oxazolin) altamente hidrófoba. Lambermont-Thijs *et al.* (*Efficient Cationic Ring-Opening Polymerization of Diverse Cyclic Imino Ethers: Unexpected Copolymerization Behavior*, Macromolecules 2011, 44, 4320-4325) describen la copolimerización de 4-etil-2-butil-2-oxazolin con 2-metil-2-oxazolin y/o 2-fenil-2-oxazolin. El análisis cinético de esta copolimerización reveló la formación de una estructura copolimérica en gradiente que va desde un dominio rico en 2-metil-2-oxazolin, mediante un dominio rico en 4-etil-2-butil-2-oxazolin hasta un dominio rico en 2-fenil-2-oxazolin en las fases finales de la polimerización.

Jaksch *et al.* (*The collapse and aggregation of thermoresponsive poly(2-oxazoline) gradient copolymers: a time-resolved SANS study*, Colloid Polym Sci (2014) 292:2413-2425) describen la síntesis de copolímeros en gradiente de iso-propil-2-oxazolin y n-nonil-2-oxazolin.

Los copolímeros de bloque de oxazolin y oxazinas también son conocidos.

Kobayashi *et al.* (*Block copolymer from cyclic imino ethers: a new class of nonionic polymer surfactant*, Macromolecules. 1986, v. 19, n. 15, 535-541) describen copolímeros de bloque formados a partir de imino éteres cíclicos preparados utilizando polimerización de apertura de anillo catiónica de 2-oxazolin 2-sustituidas en combinación con 5,6-dihidro-4H-1,3-oxazinas sin sustituir o 2-sustituidas usando un protocolo adicional de monómeros secuenciales.

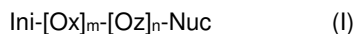
Bloksma *et al.* (*Poly(cyclic imino ether)s Beyond 2-Substituted-2-oxazolines*, Macromol. Rapid Commun. 2011, 32, 1419-1441) proporcionan una visión global sobre las polimerizaciones de 2-oxazina (2-OZI) y 2-oxazolin 4- y 5-sustituida quiral (2-OZO), así como de propiedades seleccionadas de los polímeros resultantes. Los autores describen la preparación de un copolímero de bloque de 2-metil-2-OZO y 2-fenil-2-OZI, un copolímero de bloque de 2-fenil-2-OZO y 2-metil-2-OZI y un copolímero de bloque de 2-fenil-2-OZO y 2-sin sustituir-2-OZI.

El documento US 5 854 331 describe copolímeros de bloque de oxazolin y oxazinas como dispersantes de pigmentos y su uso en tintas de inyección. Los dispersantes poliméricos de bloque se seleccionan del grupo que consiste en copolímeros de bloque AB, ABA y BAB en los que el bloque A es hidrófobo, y el bloque B es hidrófilo; estando comprendido dicho dispersante polimérico de bloque de monómeros seleccionados del grupo que consiste en monómeros de oxazolin 2-sustituida, monómeros de oxazina 2-sustituida y mezclas de los mismos.

Sumario de la invención

Los autores de la invención han descubierto que el/los poli(imino éter(es) cíclico(s)) que tienen propiedades deseables pueden producirse sin gran dificultad mediante polimerización estadística de una mezcla de reacción monomérica que contiene monómero de 2-oxazolina, así como monómero de 2-oxazina.

Por tanto, un aspecto de la invención se refiere a un copolímero estadístico representado por la siguiente fórmula (I):



en la que:

- Ini representa un residuo de un iniciador de polimerización catiónica,
- Nuc representa un residuo de un agente nucleófilo,
- Ox representa $\text{N(R}^1\text{)CHR}^a\text{CHR}^a$; cada R^1 representa independientemente H o C(O)R^{11} ; y R^{11} representa independientemente alquilo C_{1-12} opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido o arilo opcionalmente sustituido;
- Oz representa $\text{N(R}^2\text{)CHR}^a\text{CHR}^a\text{CHR}^a$; cada R^2 representa independientemente C(O)R^{21} o H; y R^{21} representa independientemente alquilo C_{1-12} opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido o arilo opcionalmente sustituido;
- cada R^a representa independientemente H, alquilo C_{1-3} lineal o ramificado;
- $m \geq 5$;
- $n \geq 5$;
- $m+n \geq 20$;
- $3:97 \leq m:n \leq 97:3$.

Los copolímeros estadísticos de la presente invención muestran propiedades útiles que pueden explotarse en el campo médico, especialmente en micelas poliméricas para suministro de fármacos y poliplexes para suministro de ADN.

La presente invención también proporciona un método para preparar un copolímero estadístico, comprendiendo dicho método polimerización de apertura de anillo catiónica de una mezcla de reacción monomérica que comprende una 2-oxazolina opcionalmente 2-sustituida y una 2-oxazina opcionalmente 2-sustituida en una relación molar en el intervalo de 3:97 a 97:3, en el que el sustituyente opcional en la posición 2 de cada 2-oxazolina 2-sustituida y 2-oxazina 2-sustituida se selecciona independientemente de alquilo C_{1-12} , cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido o arilo opcionalmente sustituido.

Los autores de la invención han descubierto que la composición monomérica del copolímero estadístico y, por consiguiente, las propiedades del copolímero pueden manipularse fácilmente seleccionando diferentes combinaciones de 2-oxazolina opcionalmente 2-sustituida y 2-oxazina opcionalmente 2-sustituida. Tanto el sustituyente en la posición 2 de la 2-oxazolina como el sustituyente en la posición 2 de la 2-oxazina tienen un efecto significativo sobre la participación de estos monómeros en la reacción de copolimerización. Por tanto, pueden producirse copolímeros aleatorios, por ejemplo, seleccionando una 2-oxazolina 2-sustituida y una 2-oxazina 2-sustituida que son igual de reactivas durante la copolimerización. Los copolímeros aleatorios son particularmente adecuados para la formación de poliplex, especialmente si el copolímero es un polímero policatiónico.

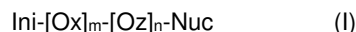
Los polímeros en gradiente, por otro lado, pueden producirse seleccionando una 2-oxazolina y una 2-oxazina que muestran reactividad claramente diferente durante la copolimerización. Seleccionando una combinación de 2-oxazolina/2-oxazina con una diferencia relativamente baja en la reactividad, puede producirse un copolímero en gradiente que muestra un cambio gradual lento en la composición monomérica a través de la cadena. Seleccionando una combinación de 2-oxazolina/2-oxazina con una diferencia sustancial en la reactividad, puede producirse un copolímero en gradiente que muestre un cambio mucho más abrupto en la composición monomérica a través de la cadena.

El cambio gradual en la composición de los copolímeros en gradiente provoca una repulsión intercatenaria reducida en comparación con los copolímeros de bloque. Los estudios teóricos han predicho que el grado de variación de la composición en copolímeros en gradiente puede alterarse a través de la distribución de monómeros y que se organizarán en perfiles sinusoides de composición, en lugar de los perfiles escalonados observados para los copolímeros de bloque. Esto provoca una amplia gama de posibles entornos locales, en lugar del uno o dos observados en copolímeros aleatorios y de bloque.

La presente invención también se refiere a la aplicación de los copolímeros estadísticos de la presente invención en sistemas micelares de suministro de fármacos o poliplexes.

Descripción detallada de la invención

Por consiguiente, un primer aspecto de la presente invención se refiere a un copolímero estadístico representado por la siguiente fórmula (I):



en la que:

- Ini representa un residuo de un iniciador de polimerización catiónica,
- Nuc representa un residuo de un agente nucleófilo,
- Ox representa $\text{N(R}^1\text{)CHR}^a\text{CHR}^a$; cada R^1 representa independientemente H o C(O)R^{11} ; y R^{11} representa independientemente alquilo C_{1-12} opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido o arilo opcionalmente sustituido;
- Oz representa $\text{N(R}^2\text{)CHR}^a\text{CHR}^a\text{CHR}^a$; cada R^2 representa independientemente C(O)R^{21} o H; y R^{21} representa independientemente alquilo C_{1-12} opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido o arilo opcionalmente sustituido;
- cada R^a representa independientemente H, alquilo C_{1-3} lineal o ramificado;
- $m \geq 5$;
- $n \geq 5$;
- $m+n \geq 20$;
- $3:97 \leq m:n \leq 97:3$.

La expresión "copolímero estadístico", como se usa en este documento, se refiere a copolímeros en que la secuencia de residuos monoméricos sigue una regla estadística.

La expresión "copolímero aleatorio", como se usa en este documento, se refiere a un copolímero estadístico en que la probabilidad de hallar un residuo monomérico dado en un punto particular en la cadena es similar a la fracción molar de ese residuo monomérico en la cadena.

La expresión "copolímero en gradiente", como se usa en este documento, se refiere a un polímero estadístico que muestra un cambio gradual en la composición monomérica a lo largo de la cadena. Esta disposición es diferente de los copolímeros aleatorios, que mantienen una composición promedio constante a lo largo de la cadena, y los copolímeros de bloque, que cambian abruptamente a lo largo de la cadena.

Los copolímeros estadísticos de la presente invención pueden caracterizarse adecuadamente comparando las composiciones monoméricas de diferentes fragmentos del copolímero. Para este fin, el copolímero se divide en 3 fragmentos iguales, es decir, un fragmento adyacente a Ini (fragmento Ini), un fragmento adyacente a Nuc (fragmento Nuc) y un fragmento central que separa el fragmento Ini y los fragmentos Nuc. En caso de que el número total de unidades monoméricas no sea múltiplo de 3, el tamaño del fragmento central se elige de modo que el fragmento Ini y el fragmento Nuc sean de igual tamaño. En la siguiente tabla se proporcionan unos pocos ejemplos aritméticos.

Número de unidades monoméricas			
Polímero	Fragmento Ini	Fragmento central	Fragmento Nuc
98	33	32	33
99	33	33	33
100	33	34	33

En caso de polímero aleatorios, la composición monomérica del fragmento Ini y el fragmento Nuc son bastante similares, mientras que, en caso de copolímeros en gradiente, las composiciones monoméricas de estos fragmentos son diferentes.

En la fórmula (I) mencionada anteriormente, preferiblemente cada R^a representa independientemente H o metilo. Más preferiblemente, representa H.

En una realización de la presente invención, al menos un 50 %, preferiblemente al menos un 70 % y más preferiblemente al menos un 90 % de los residuos R^1 es C(O)R^{11} .

En una realización alternativa de la invención, más de un 50 % de los residuos R^1 es H. Preferiblemente, más de un 70 % y más preferiblemente más de un 90 % de los residuos R^1 es H. Como se explicará a continuación, los copolímeros de acuerdo con la presente invención en que una gran fracción de los residuos R^1 es H, pueden sintetizarse polimerizando una mezcla de reacción monomérica que contiene monómeros de oxazolina, seguido de eliminación hidrolítica de los grupos acilo colgantes de las unidades oxazolina en el copolímero.

En una realización adicional, al menos un 50 %, preferiblemente al menos un 70 % y más preferiblemente al menos un 90 % de los residuos R^2 es $C(O)R^{21}$.

En una realización alternativa, más de un 50 %, preferiblemente más de un 70 % y mucho más preferiblemente más de un 90 % de los residuos R^2 es H. Los copolímeros de acuerdo con la presente invención en que una gran fracción de los residuos R^2 es H pueden sintetizarse polimerizando una mezcla de reacción monomérica que contiene monómeros de oxazina, seguido de eliminación hidrolítica del grupo acilo colgante de las unidades oxazina en el copolímero.

El copolímero de la presente invención típicamente contiene al menos 5 unidades oxazolina ([Ox]). Por consiguiente, en una realización preferida, el número entero m en la fórmula (I) es al menos 5, más preferiblemente al menos 10 y mucho más preferiblemente al menos 20. Típicamente el número entero m no excede 250.

El número de unidades oxazina ([Oz]) en el presente copolímero típicamente es al menos 5. En otras palabras, el número entero n en la fórmula (I) preferiblemente es al menos 5. Más preferiblemente, el número entero n es al menos 10, y mucho más preferiblemente n es al menos 20. Típicamente, el número entero n no excede 250.

La combinación de unidades oxazolina y unidades oxazina en el copolímero de la presente invención típicamente es al menos 20 ($m+n \geq 20$). Más preferiblemente, $m+n \geq 30$ y mucho más preferiblemente $m+n \geq 50$. La combinación de unidades oxazolina y unidades oxazina en el copolímero de la presente invención típicamente no excede 500 ($m+n \leq 500$).

Las unidades oxazolina y unidades oxazina, como se define en este documento, típicamente están presentes en el copolímero estadístico de la presente invención en una relación de 5:95 a 95:5, más preferiblemente en una relación de 10:90 a 90:10 y mucho más preferiblemente en una relación de 20:80 a 80:20.

El copolímero de la presente invención puede contener otras unidades monoméricas además de las unidades oxazolina y unidades oxazina como se define en este documento. Preferiblemente, las unidades oxazolina y las unidades oxazina conjuntamente representan la masa de todas las unidades monoméricas presentes en el copolímero. En otras palabras, si el número total de unidades monoméricas en el copolímero está representado por el número entero t, el copolímero cumple la siguiente condición: $(m+n)/t > 0,5$. Más preferiblemente, $(m+n)/t > 0,7$, mucho más preferiblemente $(m+n)/t > 0,9$.

Una realización de la presente invención se refiere a un copolímero estadístico en forma de un copolímero aleatorio. Los autores de la invención han descubierto inesperadamente que los copolímeros aleatorios pueden producirse a partir de combinaciones de monómeros de oxazolina y oxazina que tienen tasas de polimerización individuales sustancialmente diferentes, porque sorprendentemente algunas de estas combinaciones son igual de reactivas durante la copolimerización.

Típicamente, en caso de un copolímero aleatorio, la relación de monómeros [Oz]/[Ox] en el fragmento Ini y el fragmento Nuc difieren en no más de un factor 2. Más preferiblemente, en caso del copolímero aleatorio, estas relaciones no difieren en más de un factor 1,75, mucho más preferiblemente en no más de un factor 1,5.

En el copolímero aleatorio de la presente invención, preferiblemente cada R^{11} representa independientemente metilo, etilo, ciclopropilo, n-propilo o n-butilo. Más preferiblemente, cada R^{11} representa independientemente metilo, etilo o ciclopropilo. Más preferiblemente, cada R^{11} representa independientemente metilo o etilo.

Cada R^{21} en los copolímeros aleatorios de la presente invención preferiblemente representa independientemente metilo, etilo, n-propilo, isopropilo o ciclopropilo, n-butilo o n-nonilo. Más preferiblemente, cada R^{21} representa independientemente etilo, n-propilo o isopropilo. Más preferiblemente, cada R^{21} representa independientemente etilo o isopropilo.

De acuerdo con una realización particularmente preferida de la presente invención, el copolímero estadístico es un copolímero aleatorio, en el que:

- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es metilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es isopropilo; o
- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es etilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es isopropilo; o
- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es ciclopropilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es metilo; o
- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es ciclopropilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es etilo.

De acuerdo con otra realización ventajosa de la presente invención, el copolímero estadístico es un copolímero en gradiente en el que la relación de monómeros [Oz]/[Ox] en el fragmento Ini es al menos 2 veces mayor o menor que la misma relación en el fragmento Nuc del copolímero. Más preferiblemente, en caso del polímero en gradiente, estas dos relaciones difieren en al menos un factor 3, mucho más preferiblemente en al menos un factor 5. Típicamente, estas dos relaciones no difieren en más de un factor 20 en los polímeros en gradiente de la presente invención.

Los autores de la invención han descubierto inesperadamente que es posible preparar un polímero en gradiente en que las unidades monoméricas oxazina están sobrerrepresentadas en el fragmento Ini del copolímero con respecto al fragmento Nuc del copolímero a pesar del hecho de que las reactividades de polimerización de los monómeros de oxazina típicamente son significativamente menores que las reactividades de polimerización de los monómeros de oxazolina. Por consiguiente, en una realización particularmente preferida, el copolímero estadístico de la presente invención es un copolímero en gradiente, en el que la relación de monómeros [Oz]/[Ox] en el fragmento Ini del copolímero es al menos 2 veces mayor, más preferiblemente al menos 3 veces mayor y mucho más preferiblemente de 5 a 10 veces mayor que la misma relación en el fragmento Nuc del copolímero.

Preferiblemente, cada R^{11} en el copolímero en gradiente de la presente invención representa independientemente alquilo C_{1-9} opcionalmente sustituido. Más preferiblemente, cada R^{11} en el gradiente representa independientemente ..., mucho más preferiblemente cada R^{11} representa independientemente ...

En el copolímero en gradiente de la presente invención típicamente cada R^{21} representa independientemente alquilo C_{1-9} opcionalmente sustituido, más preferiblemente cada R^{21} representa independientemente etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo o n-nonilo, mucho más preferiblemente cada R^{21} representa independientemente n-propilo, n-butilo o n-nonilo.

De acuerdo con una realización particularmente preferida de la presente invención, el copolímero estadístico es un copolímero en gradiente, en el que:

- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es metilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es metilo; o
- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es etilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es etilo; o
- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es n-propilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es n-propilo; o
- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es n-propilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es etilo; o
- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es n-propilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es metilo; o
- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es etilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es metilo; o
- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es n-butilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es metilo; o
- al menos un 80 % de los residuos R^{11} es n-butilo y al menos un 80 % de los residuos R^{21} es etilo.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método para preparar un copolímero estadístico, comprendiendo dicho método polimerización de apertura de anillo catiónica de una mezcla de reacción monomérica que comprende una 2-oxazolina opcionalmente 2-sustituida y una 2-oxazina opcionalmente 2-sustituida en una relación molar en el intervalo de 3:97 a 97:3, en el que el sustituyente opcional en la posición 2 de la 2-oxazolina 2-sustituida es un residuo R^{11} como se define en este documento anteriormente, y el sustituyente opcional en la posición 2 de la 2-oxazina 2-sustituida es un residuo R^{21} como se define en este documento anteriormente.

De acuerdo con una realización preferida, la mezcla de reacción monomérica comprende la 2-oxazolina opcionalmente 2-sustituida y la 2-oxazina opcionalmente 2-sustituida en una relación molar en el intervalo de 5:95 a 95:5, más preferiblemente en una relación molar en el intervalo de 20:80 a 80:20.

Preferiblemente, la mezcla de reacción monomérica contiene una 2-oxazolina 2-sustituida y/o una 2-oxazina 2-sustituida. Más preferiblemente, la mezcla de reacción contiene 2-oxazolina 2-sustituida y una 2-oxazina 2-sustituida.

La polimerización de apertura de anillo catiónica se realiza preferiblemente en presencia de un iniciador de polimerización catiónica, especialmente un agente electrófilo como se sabe en el estado de la técnica. Ejemplos de iniciadores de polimerización catiónicos adecuados incluyen haluros de alquilo, sulfonatos de alquilo, haluros de acilo, ácidos sulfónicos y sales de oxazolinio.

En el presente método, la reacción de copolimerización se termina preferiblemente haciendo reaccionar el copolímero con un agente nucleófilo como se usa habitualmente en el estado de la técnica. Ejemplos incluyen agua, aminas (amoniaco, primaria, secundaria, terciaria), carboxilatos, tiolatos, alcóxidos, azida ftalimida e hidróxido. El agente nucleófilo puede añadirse cuando la mezcla de reacción aún contiene reactantes monoméricos.

La mezcla de reacción monomérica preferiblemente contiene al menos un 20 % en peso de un disolvente aplicado habitualmente, tal como acetonitrilo, butironitrilo, clorobenceno, diclorometano, cloroformo, sulfolano, nitrometano, nitrobenzono, anisol y mezclas de los mismos. Más preferiblemente, la mezcla de reacción contiene al menos un 40 % en peso de un disolvente seleccionado de acetonitrilo, clorobenceno y mezclas de los mismos.

La copolimerización de los monómeros de oxazolina y oxazina en el presente método se realiza preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 40 a 200 °C, más preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 80 a 160 °C.

De acuerdo con una realización particularmente preferida del presente método, el copolímero estadístico que se forma en la mezcla de reacción se hidroliza eliminando al menos un 50 %, más preferiblemente al menos un 70 % y mucho más preferiblemente al menos un 90 % de los residuos acilo colgantes. La hidrólisis de los residuos acilo produce un polímero policatiónico que se idealmente adecuado para su uso en poliplexes.

Un aspecto adicional de la invención se refiere a un sistema de suministro que comprende un copolímero aleatorio como se define en este documento anteriormente, y un agente terapéutico que no se une covalentemente a dicho copolímero, en el que el agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en un gen, ADN, ARN, ARNip, miARN, ARNies, ARNag, ARNp, un ácido nucleico, un péptido, una proteína, un agente quimioterápico, un fármaco hidrófobo y un fármaco de molécula pequeña. La unión del agente terapéutico al copolímero aleatorio posibilita una transferencia eficaz del agente terapéutico en las células con baja citotoxicidad.

Preferiblemente, el agente terapéutico tiene una carga a un pH predeterminado en el intervalo de 6,5 a 8; y el polímero copolimérico aleatorio tiene una carga opuesta distinta del agente terapéutico a pH predeterminado, formándose un enlace electrostático entre el agente terapéutico y el copolímero aleatorio al pH predeterminado. Preferiblemente, el agente terapéutico tiene una carga negativa al pH predeterminado mencionado anteriormente, mientras que el copolímero tiene una carga positiva al mismo pH predeterminado.

En una realización preferida, el agente terapéutico que se une al copolímero aleatorio se selecciona de un gen, ADN, ARN, ARNip, miARN, ARNies, ARNag y ARNp.

El sistema de suministro que contiene el copolímero aleatorio y el agente terapéutico puede usarse adecuadamente en tratamiento terapéutico, comprendiendo preferiblemente dicho tratamiento administración parenteral del sistema de suministro.

Otro aspecto más es un sistema micelar de suministro de fármacos que comprende un copolímero de gradiente como se define en este documento anteriormente, y un fármaco que no se une covalentemente a dicho copolímero.

Las micelas poliméricas son nanopartículas que, cuando se forman en agua, típicamente tienen una cadena polimérica hidrófila como una envuelta y una cadena polimérica hidrófoba como núcleo. Por consiguiente, el copolímero en gradiente de la presente invención preferiblemente comprende un segmento hidrófobo, así como un segmento hidrófilo. Preferiblemente, el fármaco en el sistema micelar de suministro de fármacos es un fármaco que no se une covalentemente a la cadena polimérica hidrófoba en el centro de la micela.

El sistema de suministro que contiene el copolímero en gradiente y el fármaco puede usarse adecuadamente en tratamiento terapéutico, comprendiendo dicho tratamiento preferiblemente administración oral del sistema de suministro de fármacos.

Ejemplos de fármacos que pueden incorporarse en el sistema micelar de suministro de fármacos de la presente invención incluyen Exemestance (aromasina), Camptosar (irinotecán), Ellence (epirubicina), Femara (letrozol), Gleevac (mesilato de imatinib), Lentaron (formestano), Cyadren/Orimeten (aminoglutetimida), Temodar, Proscar (finasterida), Viadur (leuprolida), Nexavar (sorafenib), Kytril (granisetron), Taxotere (docetaxel), Taxol (paclitaxel), Kytril (granisetron), Vesanoide (tretinoína) (retina A), XELODA (capecitabina), Arimidex (anastrozol), Casodex/Cosudex (bicalutamida), Faslodex (fulvestrant), Iressa (gefitinib), Nolvadex, Istubal, Valodex (citrato de tamoxifeno), Tomudex (raltitrexed), Zoladex (acetato de goserelina), Leustatin (cladribina), Velcade (bortezomib), Mylotarg (gemtuzumab ozogamicina), Alimta (pemetrexed), Gemzar (clorhidrato de gemcitabina), Rituxan (rituximab), Revlimid (lenalidomida), Thalomid (talidomida), Alkeran (melfalán), Adriamycin (doxorubicina), Cerubidine (daunorrubicina), paclitaxel, curcumina y derivados de los mismos.

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Materiales

Todas las manipulaciones respecto a la preparación de mezclas de polimerización hasta tapar los viales de microondas se realizaron en un VIGOR Sci-Lab SG 1200/750 Glovebox System con una concentración de agua $\leq 0,1$ ppm.

Para las polimerizaciones, se usó un Biotage Initiator EXP Microwave System con Robot Sixty. Durante la polimerización, el sintetizador por microondas se hizo funcionar a una temperatura establecida constante (140 °C), que se controló mediante un detector IR.

La CG se realizó en un sistema Agilent 7890A equipado con un generador de hidrógeno VWR Carrier-160 y una columna Agilent HP-5 de 30 m de longitud y 0,320 mm de diámetro. Se usó un detector de FID y la entrada se ajustó a 240 °C con una inyección dividida de relación 25:1. Se usó hidrógeno como gas transportador a un caudal de 2 ml/min. La temperatura del horno se aumentó con 20 °C/min desde 50 °C hasta 120 °C, seguido de una rampa de 50 °C/min hasta 240 °C.

Procedimiento general para determinar la cinética de copolimerización

Se prepararon soluciones madre que contenían ambos monómeros (concentración total de monómeros de 4 M, 2 M por monómero individual), iniciador (tosilato de metilo, con el objetivo de DP 100 en conversión completa o 50 de unidades repetitivas de cada monómero) y disolvente (acetonitrilo seco).

5 Esta mezcla se dividió en parte iguales (700 μ l) sobre viales Biotage de 0,5-2 ml con barras de agitación triangulares, se taparon y se calentaron hasta 140 °C, en el microondas. La polimerización se detuvo refrigerando los viales después de diferentes intervalos de tiempo.

10 Las muestras se diluyeron con cloroformo y se agitaron durante al menos 1 h antes de recoger muestras para análisis de CG. La conversión se determinó por CG con el disolvente acetonitrilo como patrón interno y usando la relación de monómero a disolvente de una muestra recogida de la solución madre como tiempo cero para comparaciones.

15 De la pendiente de los diagramas cinéticos, se calcularon las constantes de velocidad de polimerización para los dos monómeros individuales y estas constantes de velocidad de polimerización se usaron entonces para calcular la composición de una cadena de 100 unidades repetidas asignando las unidades repetidas Ox de Oz sobre la base de las conversiones de monómero. Estos diagramas esquemáticos de los polímeros representados por 100 esferas repetitivas se usaron entonces para calcular la relación de [Oz]/[Ox] del fragmento Ini y el fragmento Nuc. Este método de cálculo se describe por Lobert *et al.* (*Amphiphilic gradient copolymers containing fluorinated 2-phenyl-2-oxazolines: Microwave-assisted one-pot synthesis and self-assembly in water*, J Polym Sci, Parte A, Polym Chem 2008, 46, 5859-5868).

Ejemplo 1

25 Se polimerizaron 2-metil-2-oxazolina (MeOx) y 2-metil-2-oxazina (MeOZi) como se describe en el método general. El análisis de esta copolimerización dio lugar al diagrama cinético mostrado en la figura 1, que ilustra el comportamiento de copolimerización invertido inesperado.

30 El análisis de gradiente representado en la figura 2 reveló que el fragmento Ini del polímero contenía 19 unidades MeOZi (negro) y 14 unidades MeOx (blanco), mientras que el fragmento Nuc contiene 12 unidades MeOZi y 21 unidades MeOx. Por tanto, la relación de [Oz]/[Ox] del fragmento Ini sobre la del fragmento Nuc es igual a 2,375, indicativo de distribución de monómero en gradiente.

Ejemplo 2

35 Se polimerizaron 2-etil-2-oxazolina (EtOx) y 2-metil-2-oxazina (MeOZi) como se describe en el método general. El análisis de esta copolimerización dio lugar al diagrama cinético mostrado en la figura 3, que ilustra el comportamiento de copolimerización invertido inesperado.

40 El análisis de gradiente representado en la figura 4 reveló que el fragmento Ini del polímero contenía 22 unidades MeOZi (negro) y 11 unidades EtOx (blanco), mientras que el fragmento Nuc tiene 9 unidades MeOZi y 24 unidades EtOx. Esto da una relación de [Oz]/[Ox] del fragmento Ini sobre el fragmento Nuc de 5,33, que indica distribución de monómero en gradiente.

Ejemplo 3

45 Se polimerizaron 2-metil-2-oxazolina (MeOx) y 2-iso-propil-2-oxazina (*i*propOZi) como se describe en el método general. El análisis de esta copolimerización dio lugar al diagrama cinético mostrado en la figura 5.

50 El análisis de gradiente representado en la figura 6 reveló que el fragmento Ini del copolímero contenía 14 unidades *i*propOZi (blanco) y 19 unidades MeOx (negro), mientras que el fragmento Nuc tiene 19 unidades *i*propOZi y 14 unidades MeOx. Esto da una relación de [Oz]/[Ox] del fragmento Ini sobre el fragmento Nuc de 0,54, que indica distribución de monómero aleatoria.

Ejemplo 4

55 Se polimerizaron 2-etil-2-oxazolina (EtOx) y 2-iso-propil-2-oxazina (*i*propOZi) como se describe en el método general. El análisis de esta copolimerización dio lugar al diagrama cinético mostrado en la figura 7, que ilustra el comportamiento de copolimerización invertido inesperado.

60 El análisis de gradiente representado en la figura 8 reveló que el fragmento Ini del copolímero contenía 18 unidades *i*propOZi (negro) y 15 unidades EtOx (blanco), mientras que el fragmento Nuc tiene 15 unidades *i*propOZi y 18 unidades EtOx. Esto da una relación de [Oz]/[Ox] del fragmento Ini sobre el fragmento Nuc de 1,44, que indica distribución de monómero de tipo aleatoria.

Ejemplo 5

Se polimerizaron 2-butil-2-oxazolina (ButOx) y 2-metil-2-oxazina (MeOZI) en un procedimiento ligeramente modificado en comparación con el método general. En lugar de una relación 1:1 de monómero, se usó una 2:8 (ButOx:MeOZI). El análisis de esta copolimerización dio lugar al diagrama cinético mostrado en la figura 9, que ilustra el comportamiento de copolimerización invertido inesperado.

El análisis de gradiente representado en la figura 10 reveló que el fragmento Ini del copolímero contenía 31 unidades MeOZI (negro) y 2 unidades ButOx (blanco), mientras que el fragmento Nuc tiene 19 unidades MeOZI y 14 unidades ButOx. Esto da una relación de [Oz]/[Ox] del fragmento Ini sobre el fragmento Nuc de 11,42, que indica distribución de monómero en gradiente.

Ejemplo 6

Se polimerizaron 2-butil-2-oxazolina (ButOx) y 2-metil-2-oxazina (MeOZI) como se describe en el método general. El análisis de esta copolimerización dio lugar al diagrama cinético mostrado en la figura 11, que ilustra el comportamiento de copolimerización invertido inesperado.

El análisis de gradiente representado en la figura 12 reveló que el fragmento Ini del copolímero contenía 22 unidades MeOZI (negro) y 11 unidades ButOx (blanco), mientras que el fragmento Nuc tiene 8 unidades MeOZI y 25 unidades ButOx. Esto da una relación de [Oz]/[Ox] del fragmento Ini sobre el fragmento Nuc de 6,25, que indica distribución de monómero en gradiente.

Ejemplo 7

Se polimerizaron 2-butil-2-oxazolina (ButOx) y 2-metil-2-oxazina (MeOZI) en un procedimiento ligeramente modificado en comparación con el método general. En lugar de una relación 1:1 de monómero, se usó una 8:2 (ButOx:MeOZI). El análisis de esta copolimerización dio lugar al diagrama cinético mostrado en la figura 13, que ilustra el comportamiento de copolimerización invertido inesperado.

El análisis de gradiente representado en la figura 14 reveló que el fragmento Ini del copolímero contenía 15 unidades MeOZI (negro) y 18 unidades ButOx (blanco), mientras que el fragmento Nuc tiene 1 unidad MeOZI y 32 unidades ButOx. Esto da una relación de [Oz]/[Ox] del fragmento Ini sobre el fragmento Nuc de 26,67, que indica distribución de monómero en gradiente.

Ejemplo 8

El copolímero en gradiente de los ejemplos 5 y 6 se usaron para cargar éster octadecílico de rodamina (tinte). Por lo tanto, se prepararon micelas poliméricas en agua (10 mg/ml) por disolución directa en agua (polímero del ejemplo 5) o por desplazamiento del disolvente disolviendo en primer lugar el polímero en etanol seguido de la adición de agua y diálisis (polímero del ejemplo 6). El tinte se disolvió en etanol (10 mg/ml) y se añadieron 100 µl de la solución de tinte a 1 ml de la solución de polímero seguido de eliminación del etanol por diálisis.

La captación del tinte en las partículas de copolímero se determinó dispersando las partículas cargadas en agua desmineralizada para proporcionar una concentración total de tinte de 2,50 µg/ml y midiendo la absorción a 561 nm. Esta absorción se comparó con la absorción de una solución de referencia que tenía el mismo contenido de tinte, pero que no contenía copolímero. A partir de estos datos, se calculó el % de carga de tinte.

Los resultados de estas mediciones se muestran en la tabla 1.

Tabla 1

Copolímero	Absorción	Concentración de tinte (µg/ ml)	% de carga de tinte
Ejemplo 5	0,088	2,09	83,8
Ejemplo 6	0,074	1,69	67,6

Ejemplo 9

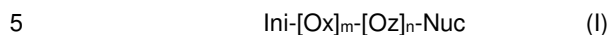
El copolímero aleatorio (hidrolizado) del ejemplo 4 se usó para preparar un poliplex de ADNp y este poliplex se usó para transfectar células de cáncer de ovario humano.

El copolímero se hidrolizó disolviendo 1 gramo de polímero en 7,5 ml de agua desionizada y 7,5 ml de ácido clorhídrico (HCl; solución concentrada de HCl), seguido de calentamiento en viales cerrados a 140 °C durante 9 horas en un microondas Biotage™. Después de esto, el polímero se diluyó con agua desionizada y el HCl y el agua desionizada se evaporaron con presión reducida. Las muestras se neutralizaron con una solución 2 M de hidróxido de sodio (NaOH) en agua y se secaron por congelación. El análisis de RMN confirmó hidrólisis casi cuantitativa.

- 5 Se preparó una solución de polímero de 1 mg/ml en agua desionizada. La solución de polímero se esterilizó por filtración con un filtro de 0,22 μ m y se diluyó hasta 0,1 mg/ml en DPBS. Se prepararon poliplexes añadiendo solución de polímero al ADNp. Se prepararon poliplexes con diferentes relaciones de N/P: 2,5, 5, 10,25 y 50. Se preparó una solución de poliplex de control con B-PEI con una relación de N/P de 10. Los poliplexes se dejaron estabilizar durante 10 minutos.
- 10 Se preparó una suspensión celular de $8,0 \times 10^4$ células/ml en medio que contenía FBS al 10 %. Se sembró una placa de 24 pocillos (Greiner) con 400 μ l de suspensión celular. La placa se incubó a 37 °C con aire que contenía CO₂ al 5 % durante 24 horas.
- 15 A continuación, se añadieron 150 μ l de solución de poliplex a los pocillos con 150 μ l de medio reciente con o sin FBS. Se llenaron 2 filas de pocillos con 150 μ l de DPBS en lugar de poliplexes como control. Después de 1 hora, el medio se reemplazó por medio reciente que contenía FBS al 10 %. Las células se incubaron a 37 °C con aire que contenía CO₂ al 5 %. Después de 48 horas, se analizó la eficacia de transfección por FACS y se tomaron imágenes usando microscopia de fluorescencia.
- 20 Para el análisis FACS, las células se trataron con tripsina con 300 μ l de tripsina al 0,25 % por pocillo. La tripsina se desactivó con 2 ml de medio que contenía FBS al 10 % por pocillo. Las células se transfirieron a tubos FACS y se centrifugaron durante 5 minutos a 600 rcf. El sobrenadante se decantó. El sedimento celular se soltó raspando sobre una rejilla metálica y se añadieron 200 μ l de DPBS a los tubos FACS. La intensidad de fluorescencia se midió usando FACS Calibur (Becton-Dickinson). Los datos adquiridos se analizaron usando el programa informático Flowing.
- 25 Los resultados mostraron que la eficacia de transfección del copolímero hidrolizado de 2-etil-2-oxazolina y 2-*iso*-propil-2-oxazina (PEI-PPI) es igual a o incluso excede la eficacia de transfección de polietilenimina ramificada (B-PEI). Además, se observó eficacia de transfección mayor para estos copolímeros en presencia de FBS, en contraste con B-PEI.

REIVINDICACIONES

1. Un copolímero estadístico representado por la siguiente fórmula (I):



en la que:

- Ini representa un residuo de un iniciador de polimerización catiónica,
- 10 • Nuc representa un residuo de un agente nucleófilo,
- Ox representa $\text{N(R}^1\text{)CHR}^a\text{CHR}^a$; cada R^1 representa independientemente H o C(O)R^{11} ; y R^{11} representa independientemente alquilo C_{1-12} opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido o arilo opcionalmente sustituido;
- 15 • Oz representa $\text{N(R}^2\text{)CHR}^a\text{CHR}^a\text{CHR}^a$; cada R^2 representa independientemente C(O)R^{21} o H; y R^{21} representa independientemente alquilo C_{1-12} opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, aralquilo opcionalmente sustituido o arilo opcionalmente sustituido;
- cada R^a representa independientemente H, alquilo C_{1-3} lineal o ramificado;
- $m \geq 5$;
- $n \geq 5$;
- 20 • $m+n \geq 20$;
- $3:97 \leq m:n \leq 97:3$.

2. Copolímero de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R^a representa H.

25 3. Copolímero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que $10 \leq m \leq 250$.

4. Copolímero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que $10 \leq n \leq 250$.

30 5. Copolímero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el copolímero estadístico es un copolímero aleatorio que comprende tres fragmentos de tamaño igual, un fragmento adyacente a Ini (fragmento Ini), un fragmento adyacente a Nuc (fragmento Nuc) y un fragmento central que separa el fragmento Ini y los fragmentos Nuc, en el que la relación de monómeros $[\text{Oz}]/[\text{Ox}]$ en el fragmento Ini del copolímero y la relación de monómeros $[\text{Oz}]/[\text{Ox}]$ en el fragmento Nuc del copolímero difieren en no más de un factor 2.

35 6. Copolímero de acuerdo con la reivindicación 5, en el que cada R^{21} representa independientemente metilo, etilo, n-propilo, isopropilo o ciclopropilo, n-butilo o n-nonilo.

40 7. Copolímero de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, en el que cada R^{11} representa independientemente metilo, etilo, ciclopropilo, n-propil-isopropilo, n-butilo o n-nonilo.

45 8. Copolímero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el copolímero es un copolímero en gradiente que comprende tres fragmentos de tamaño igual, un fragmento adyacente a Ini (fragmento Ini), un fragmento adyacente a Nuc (fragmento Nuc) y un fragmento central que separa el fragmento Ini y los fragmentos Nuc, en el que la relación de monómeros $[\text{Oz}]/[\text{Ox}]$ en la mitad Ini del copolímero es al menos 2 veces mayor o menor que la misma relación en la mitad Nuc del copolímero.

9. Copolímero de acuerdo con la reivindicación 8, en el que cada R^{21} representa independientemente alquilo C_{1-9} opcionalmente sustituido.

50 10. Copolímero de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en el que cada R^{11} representa independientemente alquilo C_{1-9} opcionalmente sustituido o ciclopropilo.

55 11. Un método de preparación de un copolímero estadístico, comprendiendo dicho método polimerización de apertura de anillo catiónica de una mezcla de reacción monomérica que comprende una 2-oxazolina opcionalmente 2-sustituida y una 2-oxazina opcionalmente 2-sustituida en una relación molar en el intervalo de 3:97 a 97:3, en el que el sustituyente opcional en la posición 2 de la 2-oxazolina 2-sustituida es un residuo R^{11} como se define en la reivindicación 1, y el sustituyente opcional en la posición 2 de la 2-oxazina 2-sustituida es un residuo R^{21} como se define en la reivindicación 1.

60 12. Método de acuerdo con la reivindicación 11, en el que la polimerización de apertura de anillo catiónica se realiza en presencia de un iniciador de polimerización catiónica seleccionado de haluros de alquilo, sulfonatos de alquilo, haluros de acilo, sales de oxazolinio o ácidos sulfónicos.

65 13. Método de acuerdo con las reivindicaciones 11 o 12, en el que el copolímero estadístico que se forma en la mezcla de reacción se hidroliza eliminando al menos un 50 % de los residuos acilo colgantes.

5

14. Un sistema de suministro que comprende un copolímero aleatorio de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7 y un agente terapéutico que no se une covalentemente a dicho copolímero, en el que el agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en un gen, ADN, ARN, ARNip, miARN, ARNies, ARNag, ARNp, un ácido nucleico, un péptido, una proteína, un agente quimioterápico, un fármaco y un fármaco de molécula pequeña.

15. Un sistema micelar de suministro de fármacos que comprende un copolímero en gradiente de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-10 y un fármaco que no se une covalentemente a dicho copolímero.

Fig. 1

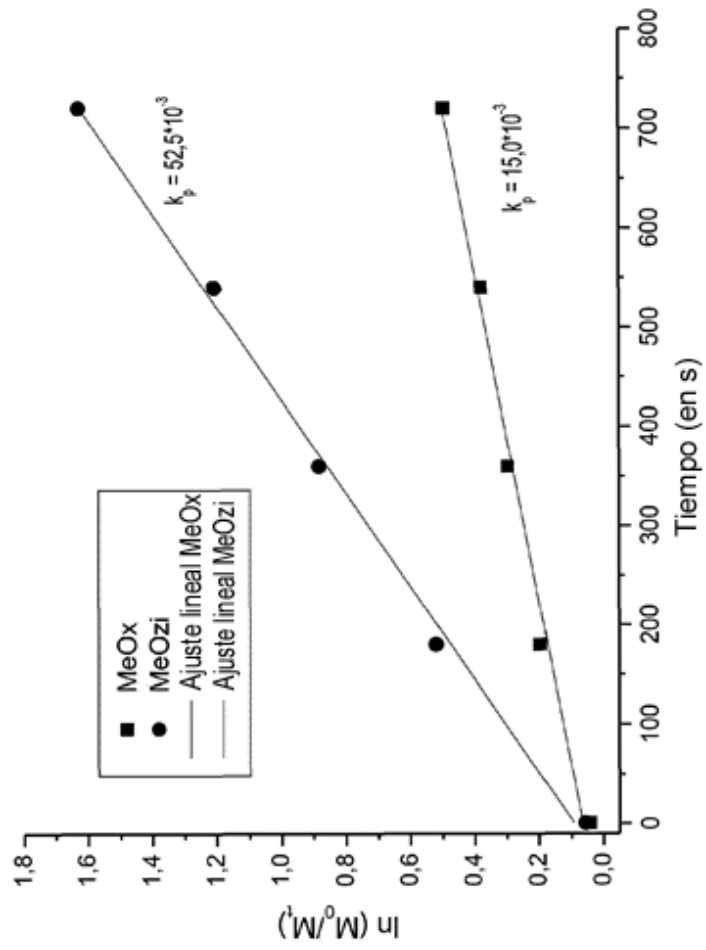


Fig. 2



Fig. 3

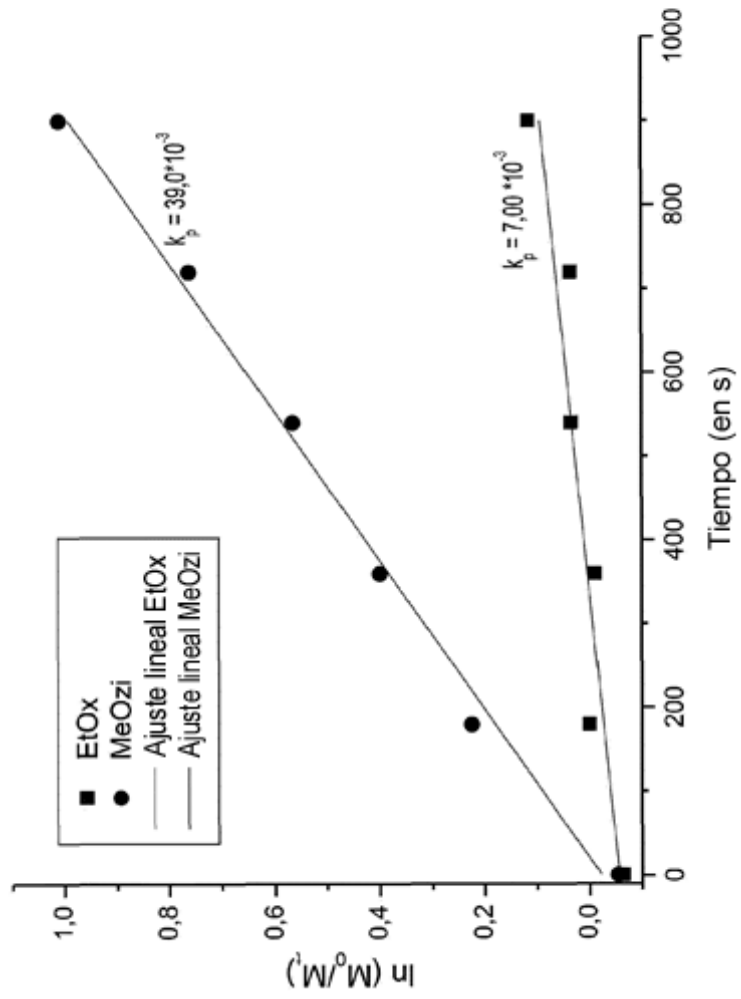


Fig. 4



Fig. 5

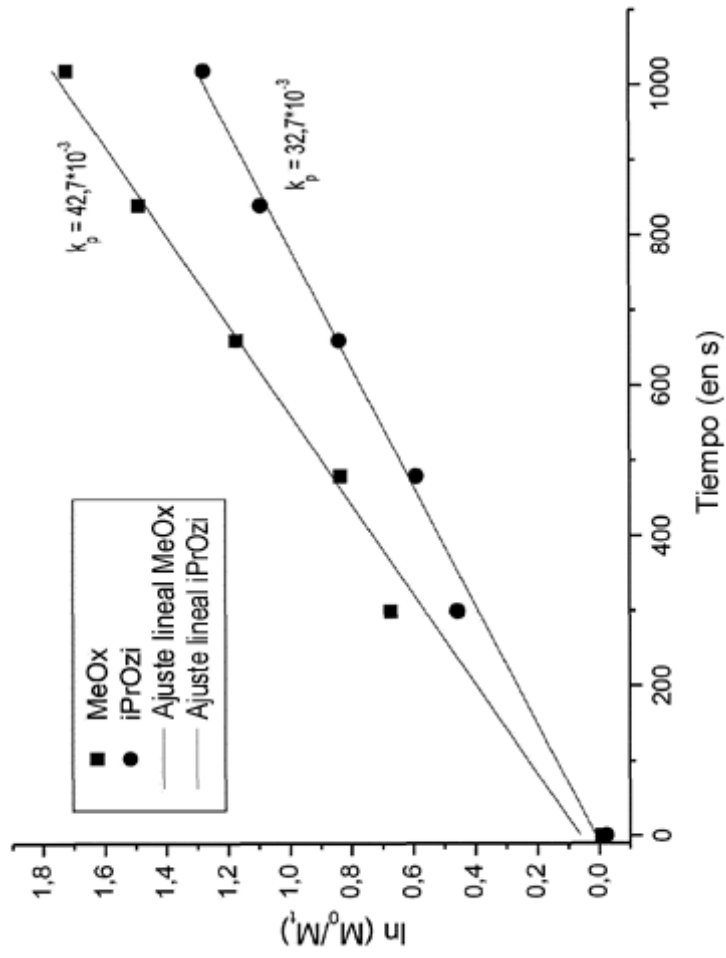


Fig. 6

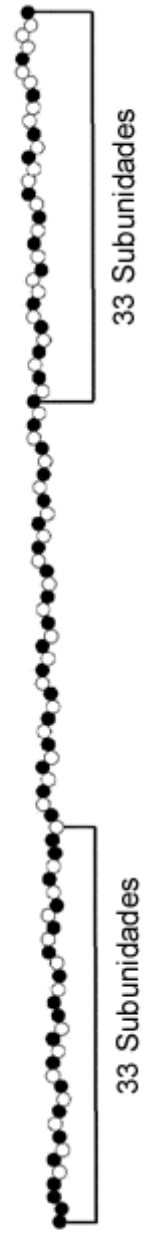


Fig. 7

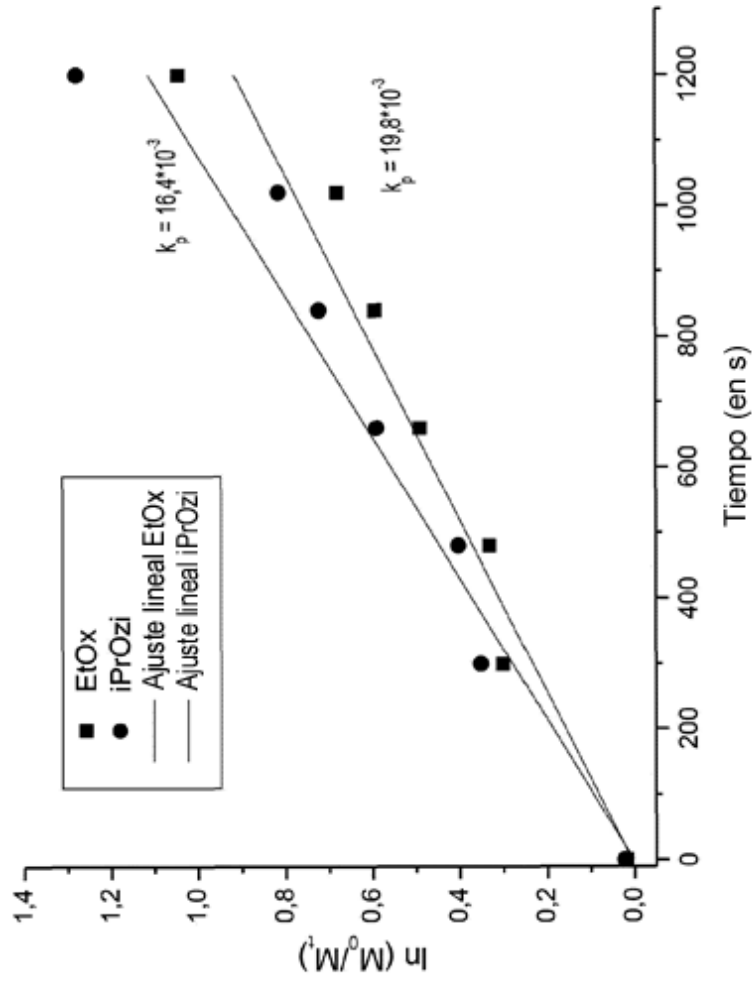


Fig. 8

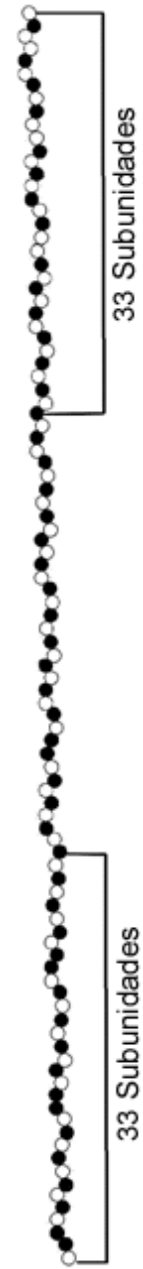


Fig. 9

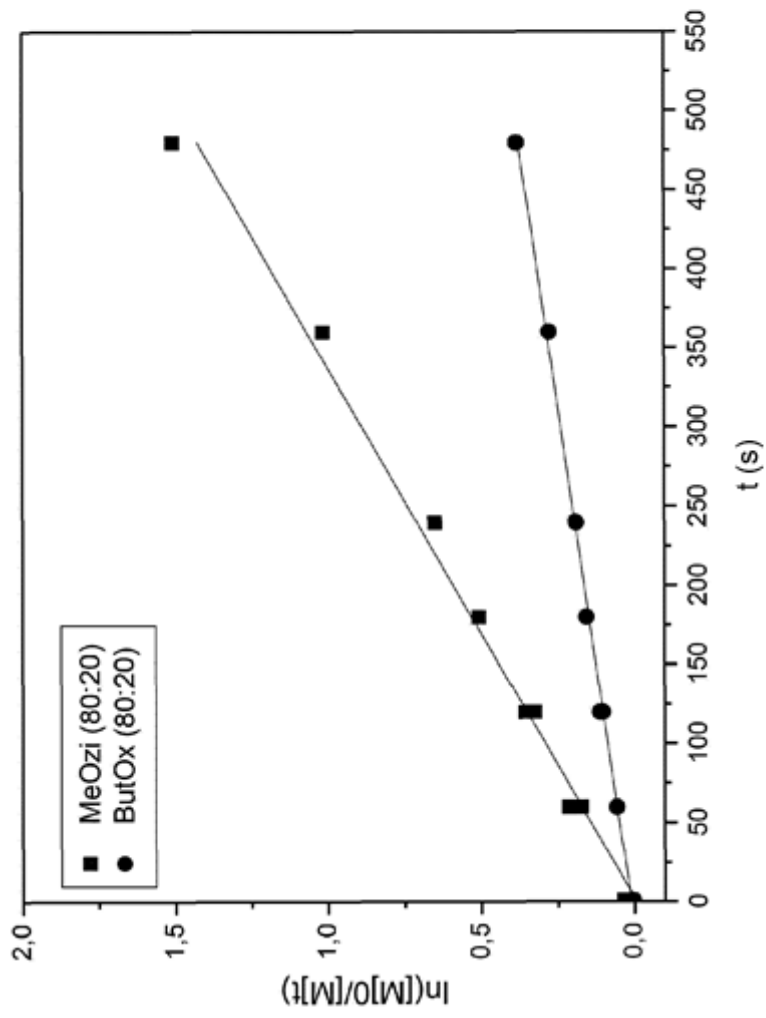


Fig. 10

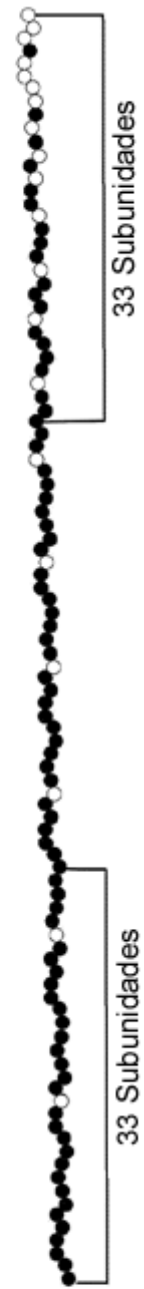


Fig. 11

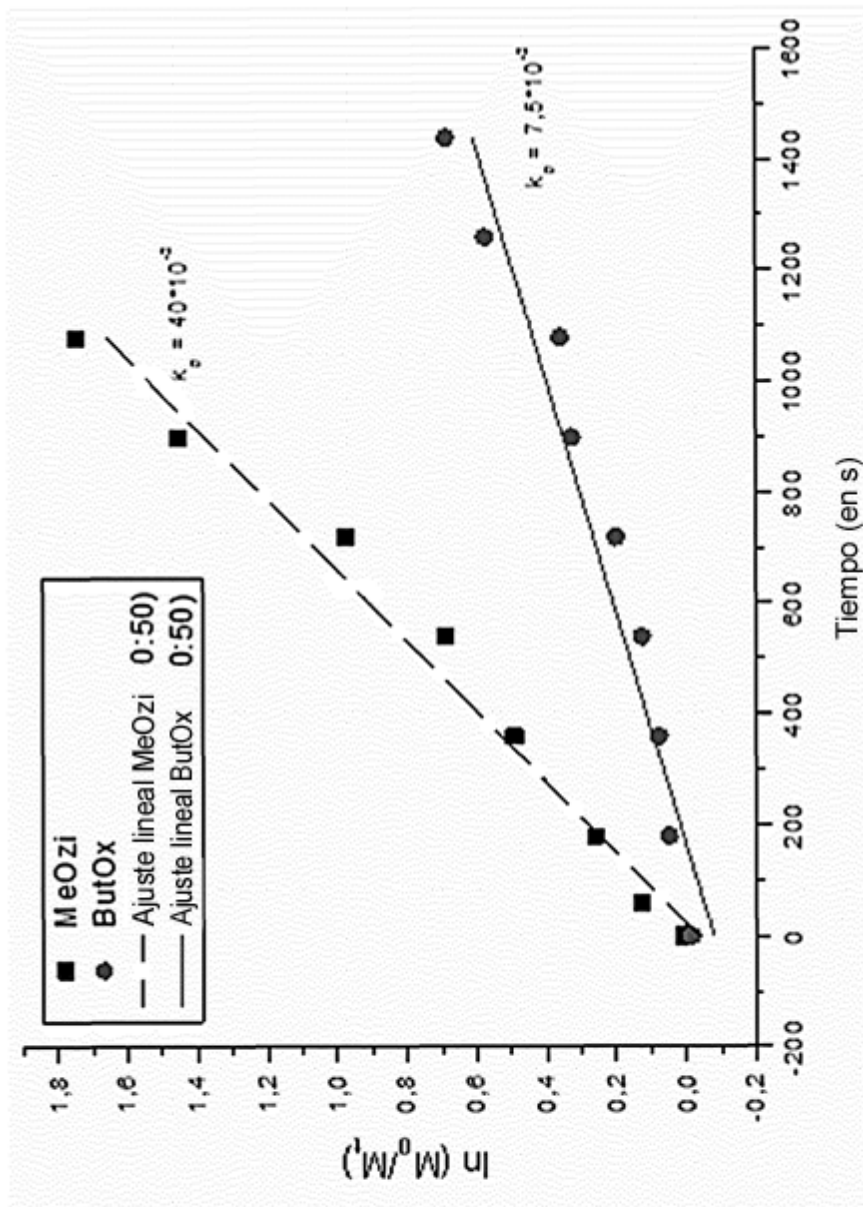


Fig. 12



