



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112019015141-9 A2



(22) Data do Depósito: 27/01/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 24/03/2020

(54) Título: POLÍMEROS E HIDROGÉIS MODIFICADOS COM ZWITTERÍON

(51) Int. Cl.: A61K 31/715; A61K 31/738.

(30) Prioridade Unionista: 27/01/2017 US 62/451,629.

(71) Depositante(es): CORNELL UNIVERSITY.

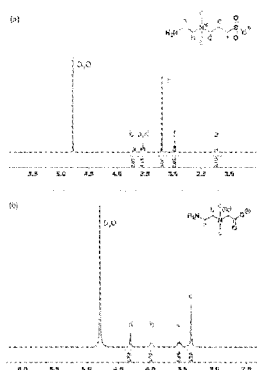
(72) Inventor(es): MINGLIN MA; QINGSHENG LIU.

(86) Pedido PCT: PCT US2018015613 de 27/01/2018

(87) Publicação PCT: WO 2018/140834 de 02/08/2018

(85) Data da Fase Nacional: 23/07/2019

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a um polímero da Fórmula (IV): em que A, X, Q, Y, Z, m1, m2, m3, k1 e k2 são conforme descritos neste documento e em que as unidades monoméricas do polímero são iguais ou diferentes. A presente invenção também se refere a um monômero da Fórmula (III), em que R", X1, Y1, Z1, m4, m5 e m6 são conforme descritos neste documento, e uma rede polimérica compreendendo dois ou mais monômeros da Fórmula (III). A presente invenção também se refere a um hidrogel compreendendo qualquer um dos polímeros e monômeros descritos neste documento, uma cápsula compreendendo o hidrogel, e um método de distribuição de um agente terapêutico a um sujeito usando a cápsula.



Figuras 1A-1B

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"POLÍMEROS E HIDROGÉIS MODIFICADOS COM ZWITTERÍON"**.

[001] Este pedido reivindica o benefício do Pedido de Patente Provisório US N° 62/451,629, depositado em 27 de janeiro de 2017, que é incorporado por referência neste documento em sua totalidade.

**CAMPO DA INVENÇÃO**

[002] A presente invenção refere-se a monômeros, polímeros e hidrogéis zwitteriônicos, e a sua utilização para revestir e/ou encapsular materiais biológicos.

**ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

[003] Embora muitos tratamentos com células terapêuticas avançados tenham sido desenvolvidos recentemente, a diabetes tipo 1 (DM1) ainda é uma epidemia global que afeta mais de milhões de pessoas em todo o mundo. O transplante de ilhotas pancreáticas tem sido considerado uma abordagem alternativa e promissora para o tratamento da DM1. No entanto, o transporte de ilhotas na clínica é limitado por dois grandes obstáculos: a escassez de ilhotas de doadores e a imunossupressão a longo prazo. Recentemente, células beta derivadas de células-tronco humanas foram desenvolvidas, fornecendo um caminho para produzir um suprimento ilimitado de células produtoras de insulina. Portanto, existe uma necessidade crítica pelo desenvolvimento de novos materiais ou dispositivos médicos que encapsulem ilhotas para protegê-los eficazmente da resposta imune do hospedeiro.

[004] O desempenho de biomateriais implantados é muitas vezes dificultado pela resposta de corpo estranho (FBR), o que leva à formação de uma cápsula colagenosa densa e, em seguida, a falhas do dispositivo médico. A adsorção de proteínas inespecífica no material implantado é considerada a primeira etapa da resposta de corpo estranho. É esperado que a incorporação de um material anti-incrustante ou uma superfície que resista altamente à adsorção de proteína e à liga-

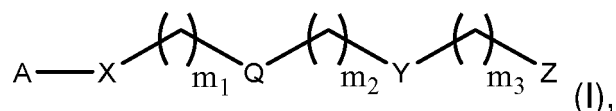
ção celular suprime a FBR e a subsequente formação de uma cápsula fibrótica. Recentemente, o uso de polímeros zwitteriônicos, contendo zwitterion de carboxibetaína, sulfobetaina e fosforilcolina, atraiu muita atenção devido às propriedades de incrustação ultrabaixa desses polímeros (Jiang et al., "Ultralow□Fouling, Functionalizable, and Hydrolyzable Zwitterionic Materials and Their Derivatives for Biological Application", *Advanced Materials* 22 (9): 920-932 (2010)). Por exemplo, o poli(metacrilato de carboxibetaína) zwitteriônico (PCBMA) demonstrou resistir à formação de uma cápsula por pelo menos 3 meses após o implante subcutâneo em camundongos (Zhang et al., "Zwitterionic Hydrogels Implanted in Mice Resist the Foreign-Body Reaction," *Nature Biotechnology* 31(6):553-556 (2013)). No entanto, as condições adversas associadas à gelificação dos materiais zwitteriônicos, por exemplo, irradiação UV e geração de radicais livres, podem causar muito dano à célula encapsulada, limitando as aplicações desses materiais para o encapsulamento celular.

[005] O material de origem natural, o alginato, também mostrou potencial para uso em numerosas aplicações, incluindo regeneração de tecidos, liberação de fármacos e encapsulamento de células, devido em grande parte à sua leve gelificação e baixa toxicidade (Drury et al., "The Tensile Properties of Alginate Hydrogels, " *Biomaterials* 25 (16): 3187-3199 (2004)). No entanto, o alginato induz uma resposta fibrótica que se agrava com o encapsulamento de células ou tecido doador xenogênico. O tecido fibrótico na superfície do alginato corta a difusão de nutrientes e oxigênio para a célula encapsulada, causando necrose celular. Assim, existe uma necessidade na técnica de um material polimérico que não elicit a FBR e promova a saúde das células ou do tecido encapsulados.

[006] A presente invenção é direcionada a superar estas e outras deficiências na técnica.

## SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[007] Um primeiro aspecto da presente invenção é voltado a um monômero de Fórmula (I):



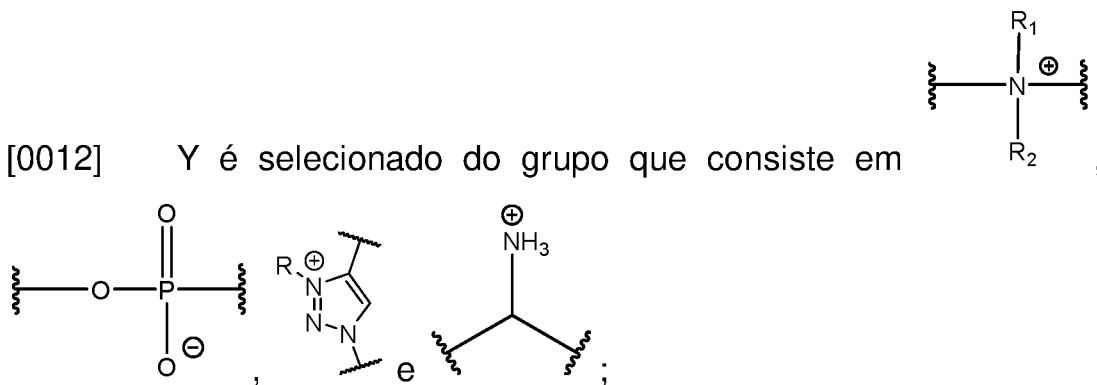
[008] em que

[009] A é selecionado dentre uma unidade contendo sacarídeo e uma unidade contendo álcool polivinílico;

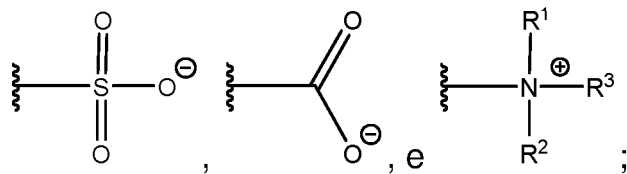
[0010] X é selecionado do grupo que consiste em O, NH, NR', C(O) e C<sub>1-20</sub> alquilenos, em que C<sub>1-20</sub> alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes, com um substituinte selecionado independentemente a cada ocorrência deste, do grupo que consiste em OH, halogênio, ciano, —CF<sub>3</sub> e C<sub>1-6</sub> alcóxi.

[0011] Q está ausente ou é um ligante;

[0012] Y é selecionado do grupo que consiste em



[0013] Z é selecionado dentre o grupo que consiste em



[0014] m<sub>1</sub> é 0 a 50;

[0015] m<sub>2</sub> é 0 a 50;

[0016] m<sub>3</sub> é 0 a 50;

[0017] R é C<sub>1-20</sub> alquila;

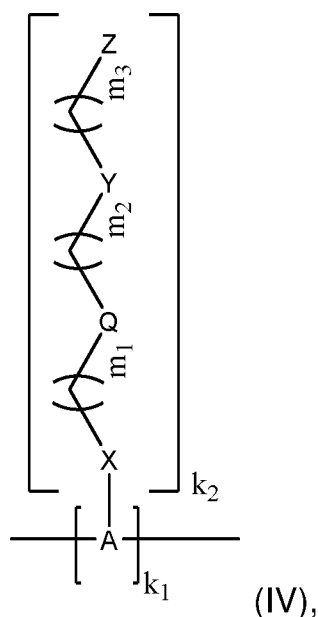
[0018] R' é —C(O)—C<sub>1-6</sub> alqueno;

[0019]  $R^1$  é  $C_{1-20}$  alquila;

[0020]  $R^2$  é  $C_{1-20}$  alquila; e

[0021]  $R^3$  é  $C_{1-20}$  alquila.

[0022] Outro aspecto da presente invenção refere-se a um polímero de Fórmula (IV):



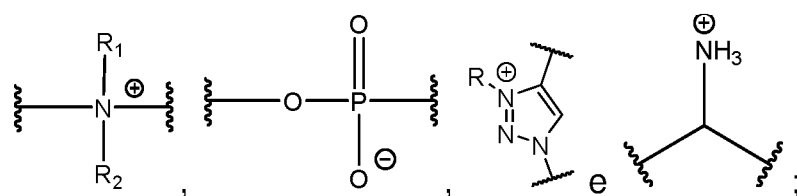
[0023] em que

[0024] A é independentemente selecionado dentre uma unidade contendo sacarídeo e uma unidade contendo álcool polivinílico para cada unidade monomérica do polímero;

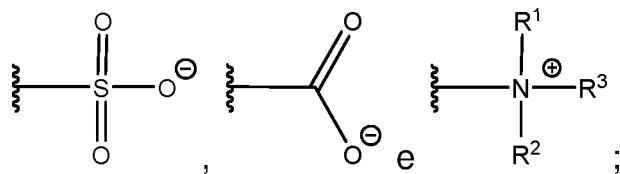
[0025] X é selecionado do grupo que consiste em O, NH,  $NR'$ , C(O) e  $C_{1-20}$  alquilenos, em que  $C_{1-20}$  alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes, com um substituinte selecionado independentemente a cada ocorrência deste, do grupo que consiste em OH, halogênio, ciano,  $-CF_3$  e  $C_{1-6}$  alcóxi.

[0026] Q está ausente ou é um ligante;

[0027] Y é selecionado a partir do grupo que consiste em



[0028] Z é selecionado dentre o grupo que consiste em



[0029] m<sub>1</sub> é 0 a 50;

[0030] m<sub>2</sub> é 0 a 50;

[0031] m<sub>3</sub> é 0 a 50;

[0032] R é C<sub>1-20</sub> alquila;

[0033] R' é -C(O)-C<sub>1-6</sub> alceno;

[0034] R<sup>1</sup> é C<sub>1-20</sub> alquila;

[0035] R<sup>2</sup> é C<sub>1-20</sub> alquila;

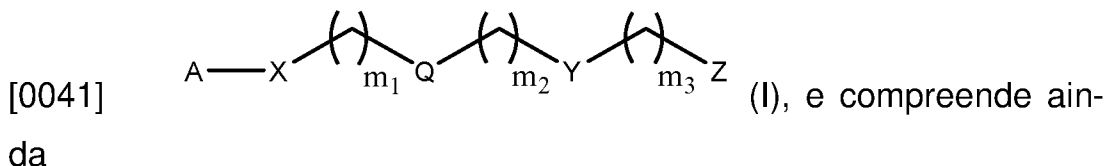
[0036] R<sup>3</sup> é C<sub>1-20</sub> alquila,

[0037] k<sub>1</sub> é qualquer número inteiro; e

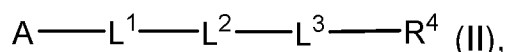
[0038] k<sub>2</sub> é selecionado independentemente para cada unidade monomérica de 0 ou 1, com a condição de que pelo menos um k<sub>2</sub> seja 1;

[0039] em que as unidades monoméricas do polímero são iguais ou diferentes.

[0040] Outro aspecto da presente invenção refere-se a um polímero, em que o referido polímero compreende um ou mais monômeros de Fórmula (I):



[0042] um ou mais monômeros de Fórmula (II):



[0043] em que

[0044] L<sup>1</sup> é selecionado do grupo consistindo em O, NH, NR', C(O) e C<sub>1-20</sub> alquilenos, em que C<sub>1-20</sub> alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente

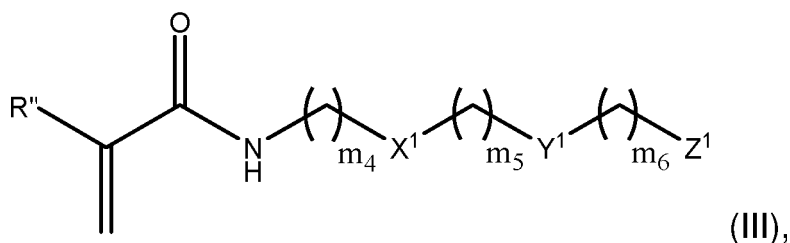
em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em OH, halogênio, ciano,  $-\text{CF}_3$  e  $\text{C}_{1-6}$  alcóxi;

[0045]  $\text{L}^2$  está ausente ou é  $\text{C}_{1-20}$  alquilenos, em que  $\text{C}_{1-20}$  alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em OH, halogênio, ciano,  $-\text{CF}_3$  e  $\text{C}_{1-6}$  alcóxi;

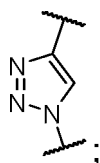
[0046]  $\text{L}^3$  é selecionado do grupo consistindo em  $\text{C}_{1-20}$  alquilenos,  $\text{C}_{1-20}$  alquilenos,  $\text{C}_{3-12}$  cicloalquilenos e arilenos, em que o arileno é opcionalmente substituído de 1 a 3 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em heteroarileno e heterociclileno; e

[0047]  $\text{R}^4$  é selecionado do grupo consistindo em H, SH,  $\text{N}_3$ ,  $\text{C}_{1-6}$  alquila,  $\text{C}_{2-20}$  alquênica,  $\text{C}_{2-20}$  alquênica,  $\text{C}_{3-12}$  cicloalquênica,  $\text{C}_{3-12}$  cicloalquênica, heteroarila e heterociclila, em que  $\text{C}_{1-6}$  alquila,  $\text{C}_{2-20}$  alquênica,  $\text{C}_{2-20}$  alquênica,  $\text{C}_{3-12}$  cicloalquênica,  $\text{C}_{3-12}$  cicloalquênica, heteroaril e heterociclila são opcionalmente substituídos de 1 a 3 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em H, OH, halogênio, ciano,  $-\text{CF}_3$  e  $\text{C}_{1-6}$  alcóxi.

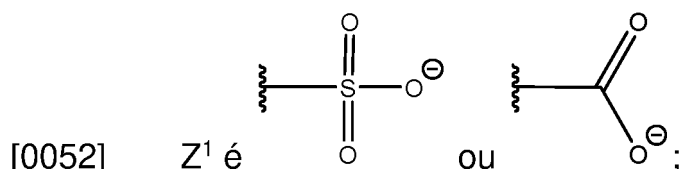
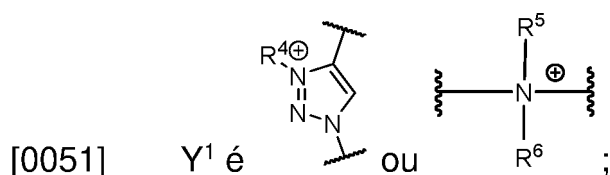
[0048] Outro aspecto da presente invenção refere-se a um monômero de Fórmula (III):



[0049] em que



[0050]  $\text{X}^1$  está ausente ou é



[0053]  $m_4$  é 1 a 50;

[0054]  $m_5$  é 0 a 10;

[0055]  $m_6$  é 1 a 50;

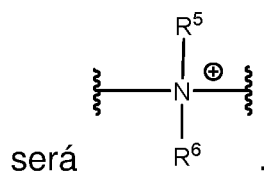
[0056]  $R''$  é H ou  $C_{1-6}$  alquila;

[0057]  $R^4$  é  $C_{1-20}$  alquila;

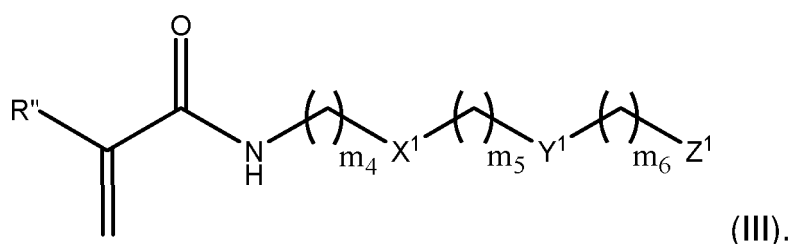
[0058]  $R^5$  é  $C_{1-20}$  alquila; e

[0059]  $R^6$  é  $C_{1-20}$  alquila,

[0060] com a condição de que, quando  $X^1$  estiver ausente,  $Y^1$  não



[0061] Ainda outro aspecto da presente invenção refere-se a uma rede polimérica compreendendo monômeros reticulados de Fórmula (III):



[0062] Outro aspecto da presente invenção refere-se a um hidrogel compreendendo qualquer um dos polímeros como descritos neste documento, a rede polimérica como descrita neste documento, ou qualquer combinação destes.

[0063] Outro aspecto da presente invenção refere-se a uma cáps-

sula compreendendo um hidrogel da presente invenção e um agente terapêutico encapsulado no hidrogel.

[0064] Outro aspecto da presente invenção é voltado a um método de administração de um agente terapêutico a um sujeito. Este método envolve administrar, a um sujeito, uma cápsula compreendendo o hidrogel e um agente terapêutico encapsulado pelo hidrogel como descrito neste documento.

[0065] Um aspecto adicional da presente invenção é voltado a um método de tratamento de um sujeito diabético. Este método envolve a implantação, num sujeito com diabetes, de uma cápsula compreendendo um agente terapêutico como descrito neste documento.

[0066] Alginatos e outros polímeros quimicamente modificados com incrustação ultrabaixa, grupos zwitteriônicos tais como sulfobetaína e carboxibetaína como descritos neste documento exibem biocompatibilidade superior. A fração zwitteriônica dotou o alginato de excelente biocompatibilidade a longo prazo e suprimiu a resposta fibrótica, enquanto a estrutura principal de alginato permanece reticulável sob condição de gelificação leve. Estes materiais são particularmente adequados para encapsulamento e transplante de células, bem como em outras aplicações biológicas usando alginato e hidrogéis. Este é o primeiro trabalho a desenvolver conjugados de alginato baseados em zwitterion, que têm aplicabilidade em áreas como o encapsulamento de ilhotas para o tratamento de diabetes tipo 1.

### **BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS**

[0067] As Figuras 1A-1B mostram  $^1\text{H}$  RMN de espectros dos monômeros de sulfobetaína- $\text{NH}_2$  (Figura 1A) e carboxibetaína- $\text{NH}_2$  (Figura 1B).

[0068] As Figuras 2A-2B mostram a síntese e caracterização dos conjugados de alginato baseados em sulfobetaína como descritos neste documento. A Figura 2A mostra a via sintética dos conjugados de

alginato baseados em sulfobetaína. A Figura 2B mostra o espectro de  $^1\text{H}$  RMN de alginato, conjugado de alginato baseado em sulfobetaína, e monômero de sulfobetaína- $\text{NH}_2$  em  $\text{D}_2\text{O}$ .

[0069] As Figuras 3A-3B mostram a síntese e caracterização dos conjugados de alginato baseados em carboxibetaína como descritos neste documento. A Figura 3A mostra a via sintética dos conjugados de alginato baseados em carboxibetaína. A Figura 3B mostra o espectro de  $^1\text{H}$  RMN de alginato, conjugado de alginato baseado em carboxibetaína, e monômero de carboxibetaína- $\text{NH}_2$  em  $\text{D}_2\text{O}$ .

[0070] A Figura 4 são imagens mostrando três tipos de microcápsulas de alginato modificadas com sulfobetaína (SB-VLG, SB-SLG20 e SB-SLG100) com quase nenhuma fibrose após 14 dias de implantação intraperitoneal em camundongos C57BL/6J. As imagens de contraste de fase de campo escuro das microcápsulas recuperadas após 2 semanas no espaço intraperitoneal mostram muito menos fibrose nas microcápsulas de SB-alginato do que na microcápsula de controle não modificada SLG20. SLG20, VLVG, SLG100 são alginatos com diferentes pesos moleculares. Barras de escala, 2000  $\mu\text{m}$ ;  $n=5$ ; cada imagem representa um camundongo.

[0071] A Figura 5 mostra microcápsulas de alginato modificado com sulfobetaína (SB) (SB-SLG 20) com quase nenhuma fibrose após 100 dias de implantação intraperitoneal em camundongos C57BL/6J. As imagens de contraste de fase de campo escuro das microcápsulas recuperadas após 100 dias no espaço intraperitoneal mostram muito menos fibrose em microcápsulas modificadas com SB (linha inferior das imagens) do que em microcápsulas de controle SLG20 (linha superior das imagens). Barras de escala, 2000  $\mu\text{m}$ ; cada imagem representa um camundongo;  $n=4$ .

[0072] A Figura 6 mostra microcápsulas SB-SLG 20 com quase nenhuma fibrose após 180 dias de implantação intraperitoneal em ca-

camundongos C57BL/6J. As imagens de contraste de fase de campo escuro das microcápsulas recuperadas após 180 dias nas no espaço intraperitoneal mostram muito menos fibrose nas microcápsulas de modificadas com SB do que na microcápsula de controle SLG20. Barras de escala, 2000  $\mu\text{m}$ ; cada imagem representa um camundongo;  $n=7$ .

[0073] A Figura 7 mostra imagens das microcápsulas SB-SLG 20 (duas linhas inferiores) e SLG 20 (duas linhas superiores) recuperadas após 180 dias de implantação intraperitoneal em camundongos C57BL/6J.  $n = 7$ . A brancura das cápsulas indica fibrose.

[0074] A Figura 8 mostra imagens de contraste de fase de campo escuro de microcápsulas de etilenoglicol SB com quase nenhuma fibrose após 30 dias de implantação intraperitoneal em camundongos C57BL/6J. Barras de escala, 2000  $\mu\text{m}$ ;  $n=5$

[0075] As Figuras 9A-9G mostram que ilhotas de rato encapsuladas em cápsulas SB-SLG 20 mantiveram normoglicemia a longo prazo em camundongos C57BL/6J diabéticos tratados com STZ em comparação com o grupo de controle SLG20. A Figura 9A é uma imagem de contraste de fase de campo escuro representativa de ilhotas de rato encapsuladas em microcápsulas SB-SLG20 de 1000  $\mu\text{m}$ . Barras de escala, 500  $\mu\text{m}$ . A Figura 9B é um gráfico que mostra as concentrações de glicose no sangue de camundongos de estudos de transplante de 3 meses ( $n = 3$  camundongos por grupo de tratamento). A Figura 9C é uma imagem de contraste de fase de campo escuro representativa (barras de escala, 2000  $\mu\text{m}$ ) e a Figura 9D é uma imagem transversal corada com H&E de microcápsulas SLG 20 contendo ilhotas recuperadas após 90 dias da implantação. A brancura da cápsula indica a presença de fibrose. A Figura 9E é uma imagem de contraste de fase de campo escuro representativa (barras de escala, 2000  $\mu\text{m}$ ) e a Figura 9F é uma imagem transversal corada com H&E de microcápsulas SB-SLG 20 contendo ilhotas recuperadas após 90 dias da implanta-

ção. Observa-se a ausência de fibrose nas cápsulas e várias ilhotas dentro das cápsulas. A Figura 9G é uma imagem mostrando coloração imuno-histoquímica de ilhotas (DAPI) em microcápsulas SB-SLG 20 recuperadas. Insulina também visualizada com coloração; barras de escala, 50  $\mu\text{m}$ .

[0076] A Figura 10 mostra o espectro  $^1\text{H}$  RMN do produto **10a** a 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

[0077] A Figura 11 mostra o espectro  $^1\text{H}$  RMN do produto **15a** a 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

[0078] A Figura 12 mostra o espectro  $^1\text{H}$  RMN do produto **16a** a 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

[0079] A Figura 13 mostra o espectro  $^1\text{H}$  RMN do produto **17a** a 400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ .

[0080] A Figura 14 mostra o espectro  $^1\text{H}$  RMN de qTR-CB a 400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ .

[0081] A Figura 15 mostra o espectro  $^1\text{H}$  RMN do produto **9a** a 400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ .

[0082] A Figura 16 mostra o espectro  $^1\text{H}$  RMN do produto **11a** a 400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ .

[0083] A Figura 17 mostra o espectro  $^1\text{H}$  RMN de TR-CB a 400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ .

[0084] A Figura 18 mostra o espectro  $^1\text{H}$  RMN do produto **12a** a 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

[0085] A Figura 19 mostra o espectro  $^1\text{H}$  RMN de TR-SB a 400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ .

[0086] As Figuras 20A-20D mostram a síntese e caracterização de qTR-CB. A Figura 20A mostra a estrutura química de qTR-CB. A Figura 20B mostra a rota sintética de qTR-CB. A Figura 20C mostra os modelos típicos de ressonância de plásmons de superfície (SPR) mostrando a adsorção de proteínas a partir de 1 mg/mL de fibrinogênio

(Fg) ou plasma humano não diluído nas superfícies de enxertadas com P(qTR-CB) ou de ouro puro. As linhas de cima para baixo em 15 minutos estão na mesma ordem da legenda. A Figura 20D é uma imagem de um hidrogel de P(qTR-CB).

[0087] As Figuras 21A-21E mostram propriedades mecânicas do hidrogel de P(qTR-CB). A Figura 21A é uma ilustração esquemática que mostra o empilhamento  $\pi$ - $\pi$  entre os anéis triazóis como um mecanismo potencial para a dissipação de energia. A Figura 21B mostra imagens de hidrogéis de poli(carboxibetaína) (PCB) e P(qTR-CB) durante teste de ductilidade. A Figura 21C é um gráfico que mostra curvas de tensão-deformação para hidrogéis de PCB e P(qTR-CB) em ensaio de tração. A Figura 21D é um gráfico que mostra as curvas tensão-deformação para hidrogéis de PCB e P(qTR-CB) em ensaio de compressão. A Figura 21E é um gráfico que mostra as curvas tensão-deformação de dez ciclos consecutivos de carga e descarga para o hidrogel de P(qTR-CB).

[0088] As Figuras 22A-22B mostram a caracterização *in vitro* do hidrogel de P(qTR-CB). A Figura 22A mostra imagens microscópicas fluorescentes de células NIH/3T3 após 3 dias de cultura em superfícies de hidrogel de poliestireno de cultura de tecidos (TCPS), poli(2-hidroxietilmetacrilato) (PHEMA), PCB e P(qTR-CB) (barras de escala: 100  $\mu$ m) e quantificação da densidade celular (média  $\pm$  dp; n=5; \*, p <0,05; ns, não significativo). A Figura 22B é um gráfico que mostra a quantificação da secreção de TNF- $\alpha$  e IL10 de macrófagos cultivados em várias superfícies. (Média  $\pm$  dp; n=6; \*, p <0,05; ns, não significativo). A ordem das barras em cada condição de cada gráfico da esquerda para a direita: TCPS, PHEMA, PCB, P(qTR-CB).

[0089] As Figuras 23A-23E mostram a síntese de hidrogéis de P(TR-CB) e P(TR-SB) e caracterizações de suas propriedades mecânicas. A Figura 23A mostra rotas sintéticas para os monômeros de TR-

CB e TR-SB. A Figura 23B mostra imagens de hidrogéis de P(TR-CB) e P(TR-SB) durante teste de ductilidade. A Figura 23C mostra o alongamento de um hidrogel de P(TR-SB). A Figura 23D é um gráfico que mostra as curvas tensão-deformação para os hidrogéis de PCB, P(TR-CB) e P(TR-SB) em ensaio de tração. A Figura 23E é um gráfico que mostra as curvas de tensão-deformação para os hidrogéis de PCB, P(TR-CB) e P(TR-SB) em ensaio de compressão.

[0090] As Figuras 24A-24B mostram a caracterização da resposta de corpo estranho (FBR) a vários hidrogéis em camundongos imunocompetentes. A Figura 24A mostra imagens de coloração com tricromo de Masson representativas de diferentes hidrogéis recuperadas nos pontos de tempo indicados após o implante subcutâneo. A coloração azul indica fibrose ou depósitos de colágeno ao redor dos implantes (barras de escala: 100  $\mu$ m; asteriscos indicam a localização do hidrogel implantado). A Figura 24B são gráficos mostrando a quantificação da densidade de colágeno ao redor dos implantes (n=5).

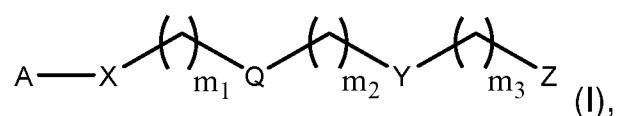
[0091] A Figura 25 mostra imagens microscópicas de fluorescência de células NIH/3T3 ligadas após 3 dias de cultura em superfícies de hidrogel de P(TR-CB) e P(TR-SB) (barras de escala: 100  $\mu$ m).

[0092] As Figuras 26A-26B mostram a caracterização de FBR para vários hidrogéis em camundongos imunocompetentes após 1 mês de implantação subcutânea. A Figura 26A (esquerda) mostra imagem de coloração com tricromo de Masson representativa de hidrogel de PCB (a coloração azul indica fibrose ou depósitos de colágeno que rodeiam os implantes; barra de escala: 100  $\mu$ m; os asteriscos indicam a localização do hidrogel implantado). O gráfico da Figura 26A (à direita) mostra a quantificação da densidade de colágeno ao redor dos implantes. A Figura 26B (esquerda) mostra imagem de imunocoloração de CD31 representativa do hidrogel de PCB (os vasos sanguíneos são corados de verde escuro e os núcleos são corados de azul; barras de escala:

50  $\mu\text{m}$ ; asteriscos indicam a localização do hidrogel implantado e linhas tracejadas indicam a fronteira entre a camada fibrótica e o tecido da pele). O gráfico da Figura 26B (direita) mostra a quantificação da densidade dos vasos sanguíneos em torno dos implantes. Todos os dados são apresentados como valor médio  $\pm$  sd (Cinco ratos por tipo de hidrogel); \*,  $P < 0,05$ ; ns, não significativo.

### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[0093] Um aspecto da presente invenção se refere a um monômero de Fórmula (I):



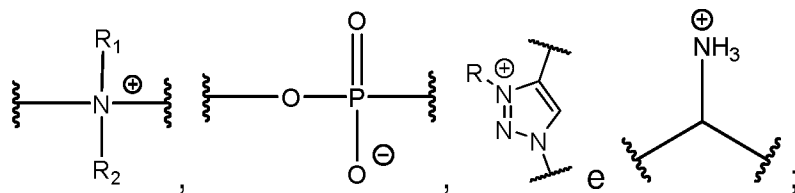
[0094] em que

[0095] A é selecionado dentre uma unidade contendo sacarídeo e uma unidade contendo álcool polivinílico;

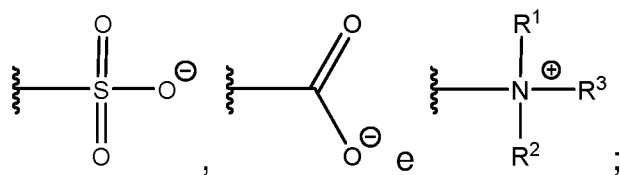
[0096] X é selecionado do grupo que consiste em O, NH, NR', C(O) e C<sub>1-20</sub> alquilenos, em que C<sub>1-20</sub> alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes, com um substituinte selecionado independentemente a cada ocorrência deste, do grupo que consiste em OH, halogênio, ciano, —CF<sub>3</sub>, e C<sub>1-6</sub> alcóxi.

[0097] Q é opcional e, se presente, é um ligante;

[0098] Y é selecionado a partir do grupo que consiste em



[0099] Z é selecionado dentre o grupo que consiste em

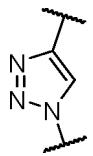


[00100]  $m_1$  é 0 a 50;

- [00101]  $m_2$  é 0 a 50;
- [00102]  $m_3$  é 0 a 50;
- [00103] R é  $C_{1-20}$  alquila;
- [00104] R' é  $-C(O)-C_{1-6}$  alqueno;
- [00105]  $R^1$  é  $C_{1-20}$  alquila;
- [00106]  $R^2$  é  $C_{1-20}$  alquila; e
- [00107]  $R^3$  é  $C_{1-20}$  alquila.
- [00108] Em uma modalidade, Q está ausente do monômero da presente invenção. Em outra modalidade, Q está presente como um ligante no monômero da presente invenção. Q é um agrupamento orgânico contendo qualquer número de átomos de carbono, 1-30 átomos de carbono, 1-20 átomos de carbono, ou 1-14 átomos de carbono, e opcionalmente incluindo um ou mais heteroátomos tais como nitrogênio, enxofre ou nitrogênio em formatos estruturais lineares, ramificados ou cíclicos. Grupos Q representativos sendo  $C_{1-20}$  alquileno,  $C_{1-20}$  alquilenos substituído, fenoxi, fenoxi substituído, alcoxi, alcoxi substituído,  $C_{3-20}$  cicloalquileno,  $C_{3-20}$  cicloalquileno substituído,  $C_{3-20}$  cicloalquenileno,  $C_{3-20}$  cicloalquenileno substituído,  $C_{8-20}$  cicloalquinileno,  $C_{8-20}$  cicloalquinileno substituído, heterociclileno, heterociclileno substituído, arileno, arileno substituído, triazol, poli(etileno glicol), ou fração polipeptídica.
- [00109] Em uma modalidade, Q é selecionado dentre o grupo que consiste em  $C_{1-20}$  alquileno,  $C_{3-20}$  cicloalquileno, arileno, heteroarileno, heterociclileno,  $-O-C_{1-20}$  alquileno, poli(etileno glicol), e polipeptídeo; em que  $C_{1-20}$  alquileno,  $C_{3-20}$  cicloalquileno, arileno, heteroarileno, heterociclileno ou  $-O-C_{1-20}$  alquileno é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente a cada ocorrência deste dentre o grupo que consiste em  $-OH$ , halogênio, ciano,  $-CF_3$ ,  $C_{1-6}$  alquila, e  $C_{1-6}$  alcóxi; e em que  $C_{1-20}$  alquileno é opcionalmente interrompido por um ou mais heteroátomos selecionados dentre

o grupo que consiste em oxigênio nitrogênio, enxofre ou nitrogênio.

[00110] Em outra modalidade, Q é heteroarileno.



[00111] Em ainda outra modalidade, Q é

[00112] Como usados acima e ao longo da descrição deste documento, os seguintes termos e abreviaturas, a menos que indicado em contrário, serão entendidos como tendo os significados a seguir. Exceto se definido de outra forma neste documento, todos os termos técnicos e científicos usados neste documento têm o mesmo significado conforme comumente entendido por alguém ordinariamente versado na técnica à qual esta tecnologia pertence. No caso de haver uma pluralidade de definições para um termo neste documento, prevalecerão as que estão nesta seção, a menos que indicado em contrário.

[00113] O termo "alquila" significa um grupo hidrocarboneto alifático que pode ser linear ou ramificado com cerca de 1 a 20 (por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20) átomos de carbono na cadeia, salvo indicação em contrário. Ramificado significa que um ou mais grupos alquilina inferiores tais como metila, etila ou propila estão ligados a uma cadeia de alquila linear. Grupos alquila exemplificativos incluem metila, etila, n-propila, i-propila, n-butila, t-butila, n-pentila e 3-pentila.

[00114] O termo "alquilenos" significa um grupo obtido por remoção de um átomo de hidrogênio de um grupo alquila. Um alquilenos é um grupo alceno de cadeia linear ou ramificada divalente. Exemplos não limitativos de alquilenos incluem metileno e etileno.

[00115] O termo "alquilenos" significa um grupo de hidrocarbonetos alifáticos contendo uma ligação dupla carbono-carbono e que pode ser linear ou ramificado tendo cerca de 2 a cerca de 20 (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20) átomos de

carbono na cadeia. Grupos alquenil preferidos têm de 2 a cerca de 6 (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6) átomos de carbono na cadeia. Exemplos de grupos alquenila incluem etenila, propenila, n-butenila e i-butenila. Um alquenileno é um grupo alqueno de cadeia linear ou ramificada divalente.

[00116] O termo "alquinil" significa um grupo hidrocarboneto alifático contendo uma ligação tripla carbono-carbono e que pode ser linear ou ramificado com cerca de 2 a cerca de 20 (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20) átomos de carbono na cadeia. Grupos alquinil preferidos têm de 2 a cerca de 6 (por exemplo, 2, 3, 4, 5, 6) átomos de carbono na cadeia. Exemplos de grupos alquinila incluem etinila, propinila, n-butinila, 2-butinila, 3-metilbutinila e n-pentinila. Um alquinileno é um alcino divalente de cadeia linear ou ramificada.

[00117] O termo "cicloalquil" refere-se a um sistema de anel mono- ou policíclico saturado não aromático que pode conter 3 a 20 (por exemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20) átomos de carbono. Exemplos de grupos cicloalquil incluem, sem limitação, ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, ciclo-hexila.

[00118] O termo "cicloalquileno" significa um grupo obtido por remoção de um átomo de hidrogênio de um grupo cicloalquila. Exemplos não limitativos de cicloalquileno incluem ciclobutileno e ciclopropileno.

[00119] O termo "cicloalquenila" refere-se a um sistema de anel mono- ou policíclico insaturado não aromático que pode conter de 3 a 12 (por exemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12) átomos de carbono e que inclui pelo menos uma ligação dupla. Grupos cicloalquenila exemplares incluem, sem limitação, ciclopropenila, ciclobutenila, ciclopentenila, ciclohexenila. Um cicloalquenileno é um grupo cicloalqueno de cadeia linear ou ramificada divalente.

[00120] O termo "cicloalquinila" refere-se a um sistema de anel mo-

no- ou policíclico insaturado não aromático que pode conter 8 a 12 átomos de carbono, e que inclui pelo menos uma ligação tripla. Grupos cicloalquinila exemplificativos incluem, sem limitação, ciclononina e ciclooctila. Um cicloalquinileno é um grupo cicloalcino de cadeia linear ou ramificada divalente.

[00121] Como usado neste documento, o termo "heterociclila" refere-se a um sistema de anel estável de 3 a 18 membros (por exemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 ou 18 membros) que consiste em átomos de carbono e de um a cinco (por exemplo, 1, 2, 3, 4, ou 5) heteroátomos selecionados do grupo que consiste em nitrogênio, oxigênio, enxofre e silício. A heterociclila pode ser um sistema de anel monocíclico ou policíclico, o que pode incluir sistemas de anel fundidos, ligados em ponte ou espiral; e os átomos de nitrogênio, carbono, enxofre ou silício na heterociclila podem estar opcionalmente oxidados; o átomo de nitrogênio pode ser opcionalmente quaternizado; e o anel pode estar parcialmente ou totalmente saturado. Heterociclis monocíclicos representativos incluem piperidina, piperazina, pirimidina, morfolina, tiomorfolina, pirrolidina, tetra-hidrofurano, pirano, tetra-hidropirano, oxetano e similares. Heterociclis policíclicas representativos incluem indol, isoindol, indolizina, quinolina, isoquinolina, purina, carbazol, dibenzofurano, cromeno, xanteno e semelhantes.

[00122] O termo "heterociclileno" significa um grupo obtido por remoção de um átomo de hidrogênio de um grupo heterocíclico. Exemplos não limitativos de heterociclileno incluem piperidileno, pirrolidinileno, piperazinileno, morfolinileno, tiomorfolinileno, tiazolidinileno, 1,4-dioxanileno, tetra-hidrofuranileno e tetra-hidrotiofenileno.

[00123] Como usado neste documento, o termo "arila" refere-se a um sistema de anel monocíclico ou policíclico aromático contendo de 6 a 19 (por exemplo, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 ou 19) átomos de carbono, em que o sistema de anel pode estar opcional-

mente substituído. Grupos aril da presente invenção incluem, mas não estão limitados a, grupos tais como fenila, naftila, azulenila, fenantrenila, antracenila, fluorenila, pirenila, trifenilenila, crissenil e naftacenila.

[00124] O termo "arileno" significa um grupo obtido por remoção de um átomo de hidrogênio de um grupo arila. Exemplos não limitativos de arileno incluem fenileno e naftileno.

[00125] Como utilizado neste documento, "heteroarila" refere-se a um radical de anel aromático que consiste em átomos de carbono e de um a cinco (por exemplo, 1, 2, 3, 4 ou 5) heteroátomos selecionados do grupo consistindo em nitrogênio, oxigênio, enxofre e silício. Exemplos de grupos heteroaril incluem, sem limitação, pirrolila, pirazolila, imidazolila, triazolila, furila, tiofenila, oxazolila, isoxazolila, tiazolila, isotiazolila, oxadiazolila, tiadiazolila, piridila, pirazinila, pirimidinila, piridazinila, triazinila, tienopirrolila, furopirrolila, indolila, azaindolila, isoindolila, indolinila, indolizinila, indazolila, benzimidazolila, imidazopiridinila, benzotriazolila, benzoxazolila, benzoxadiazolila, benzotiazolila, pirazolopiridinila, triazolopiridinila, tienopiridinila, benzotiadiazolila, benzoфуila, benzotiofenila, quinolinila, isoquinolinila, tetra-hidroquinolila, tetra-hidroisoquinolila, cinolinila, quinazolinila, quinolizilinila, ftalazinila, benzotriazinila, cromenila, naftiridinila, acridinila, fenanzinila, fenotiazinila, fenoxazinila, pteridinila e purinila. Heteroarilas adicionais são descritos em *Comprehensive Heterocyclic Chemistry: The Structure, Reactions, Synthesis And Use Of Heterocyclic Compounds* (Katritzky et al. eds., 1984), que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade.

[00126] O termo "heteroarileno" significa um grupo obtido por remoção de um átomo de hidrogênio de um grupo heteroarila. Exemplos não limitativos de heteroarileno incluem piridileno, pirazinileno, furanileno, tienileno e pirimidinileno.

[00127] O termo "opcionalmente substituído" é usado para indicar

que um grupo pode ter um substituinte em cada átomo substituível do grupo (incluindo mais do que um substituinte em um único átomo), desde que a valência normal do átomo designado não seja excedida e a identidade de cada substituinte seja independente dos outros. Até três átomos de H em cada resíduo são substituídos com halogênio, haloalquila, hidróxi, alcóxi inferior, carbóxi, carboalcóxi (também referido como alcoxicarbonila), carboxamido (também referido como alquilaminocarbonila), ciano, carbonila, nitro, amino, alquilamino, dialquilamino, mercapto, alquiltio, sulfóxido, sulfona, acilamino, amidino, fenila, benzila, heteroarila, fenóxi, benzilóxi ou heteroarilóxi. Átomos "não substituídos" contêm todos os átomos de hidrogênio ditados por sua valência. Quando um substituinte é ceto (isto é, = O), então dois hidrogênios no átomo são substituídos. Combinações de substituintes e/ou variáveis são permissíveis apenas se tais combinações resultarem em compostos estáveis; por "composto estável" ou "estrutura estável" entende-se um composto que é suficientemente robusto para sobreviver ao isolamento até um grau útil de pureza a partir de uma mistura reacional, e formulação em um agente terapêutico eficaz.

[00128] O termo "substituído" ou "substituição" significa que um ou mais átomos de hidrogênio em um átomo designado são substituídos por uma seleção do grupo indicado, desde que a valência normal do átomo designado não seja excedida. Átomos "não substituídos" contêm todos os átomos de hidrogênio ditados por sua valência. Quando um substituinte é oxo (isto é, =O), então 2 hidrogênios no átomo são substituídos. As combinações de substituintes e/ou variáveis são permitidas somente se essas combinações resultarem em compostos estáveis. Por "composto estável" entende-se um composto que é suficientemente robusto para sobreviver ao isolamento até um grau útil de pureza a partir de uma mistura de reação, e formulação num agente terapêutico eficaz. Exemplos de substituintes incluem, sem limitação,

oxo, tio (isto é, =S), nitro, ciano, halo, OH, NH<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquila, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alcóxi, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> alquenila, C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> alquinila, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> cicloalquila, C<sub>4</sub>-C<sub>7</sub> cicloalquilalquila, arila monocíclica, heteroarila monocíclica, arila policíclica, e heteroarila policíclica.

[00129] O termo "monocíclico" indica uma estrutura molecular com um anel.

[00130] O termo "policíclico" indica uma estrutura molecular com dois ou mais anéis, incluindo, mas não se limitando a, anéis fundidos, ligados em ponte ou espiral.

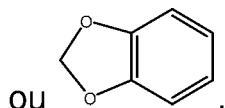
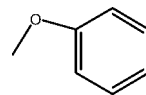
[00131] O termo "halogênio" significa flúor, cloro, bromo ou iodo.

[00132] O termo "ciano" significa um grupo ciano como mostrado abaixo



[00133] O termo "alcóxi" significa grupos de 1 a 8 átomos de carbono de configuração linear, ramificada ou cíclica e combinações destes ligadas à estrutura de origem através de um oxigênio. Exemplos incluem metóxi, etóxi, propóxi, isopropóxi, ciclopropilóxi, ciclo-hexilóxi e similares. Alcóxi inferior refere-se a grupos contendo de um a quatro carbonos. Para os fins do presente pedido de patente, alcóxi também inclui metilenodioxí e etilenodióxi em que cada átomo de oxigênio está ligado ao átomo, cadeia ou anel a partir do qual o grupo metilenodióxi ou etilenodióxi está pendente de modo a formar um anel. Assim, por

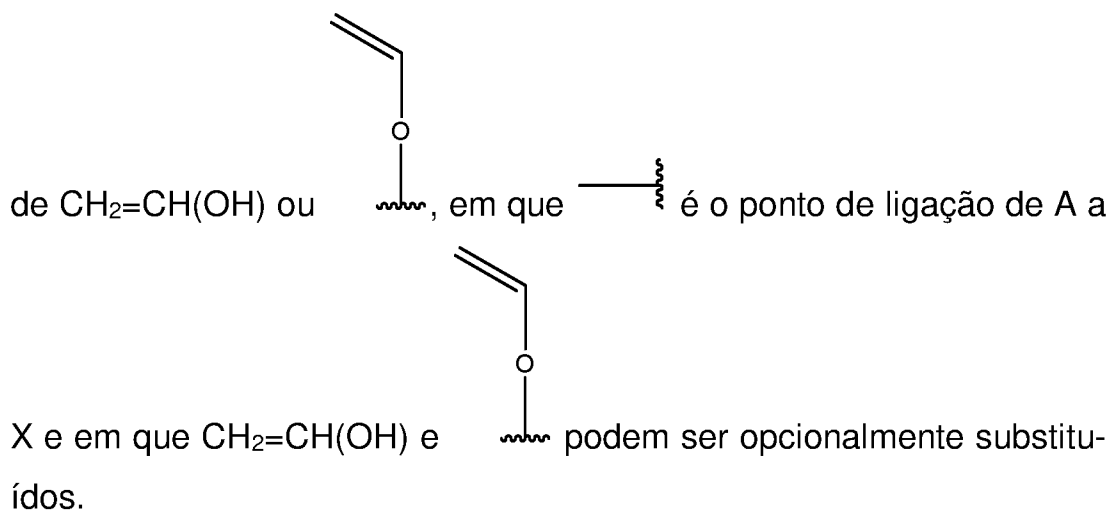
exemplo, fenila substituída por alcóxi pode ser, por exemplo,



[00134] Monômeros e compostos descritos neste documento podem conter um ou mais centros assimétricos e podem assim dar origem a enantiômeros, diastereômeros e outras formas estereoisoméricas. Cada centro quiral pode ser definido, em termos de estereoquímica.

ca absoluta, como (R)- ou (S)-. A presente invenção pretende incluir todos estes possíveis isômeros, bem como as misturas destes, incluindo formas racêmicas e oticamente puras. Isômeros (R)- e (S)-, (-)- e (+)-, ou (D)- e (L)- oticamente ativos podem ser preparados usando sintons quirais ou reagentes quirais, ou resolvidos usando técnicas convencionais. Quando os compostos descritos no presente documento contêm ligações duplas olefínicas ou outros centros de assimetria geométrica, e a menos que especificado de outra forma, pretende-se que os compostos incluam ambos os isômeros geométricos Z e E. Da mesma forma, todas as formas tautoméricas também devem ser incluídas.

[00135] Como referido neste documento, uma "unidade contendo álcool polivinílico" é uma unidade que compreende a fórmula química



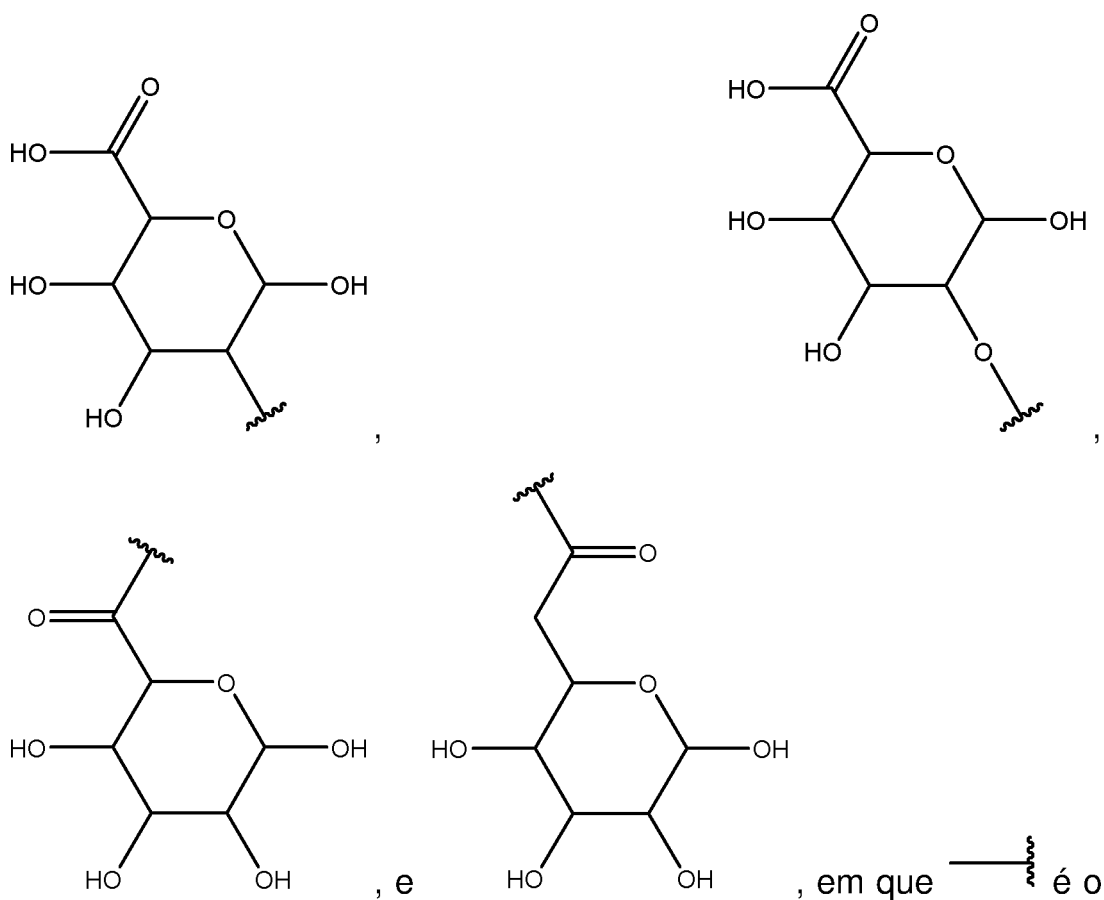
[00136] Como utilizado neste documento, uma "unidade contendo sacarídeo" é qualquer unidade química compreendendo um sacarídeo, em particular, uma unidade química compreendendo um monossacarídeo, um dissacarídeo, ou um oligossacarídeo.

[00137] Os monossacarídeos são aldeídos ou derivados cetônicos de álcoois poli-hidroxi com a estrutura geral de  $(\text{CH}_2\text{O})_n$ , em que  $n \geq 3$ . O monossacarídeo pode ser, sem limitação, uma triose substituída ou não substituída, triulose, tetrose, tetulose, pentose, pentulose, ácido penturônico, hexose, hexulose, ácido hexurônico, heptose, heptulose

ou ácido hepturônico em sua forma dextro (D-) ou levo (L). Exemplos de monossacarídeos incluem, sem limitação, uma eritrose, treose, ribose, arabinose, xilose, lixose, alose, altrose, glicose, manose, gulose, idose, galactose, talose, fucose, frutose, eritrulose, ribulose, xilulose, psicose, sorbose, tagatose, substituídas ou não substituídas, e derivados destas, tal como ácidos aldônicos e urônicos (por exemplo, ácido glucônico, ácido manurônico, ácido glicurônico, ácido galacturônico, ácido manurônico, ácido xilurônico), desoxiaçúcares (por exemplo, desoxirribose, ramnose e fucose) e aminoaçúcares (por exemplo, glucosamina, galactosamina, ácido N-acetilmurâmico), e similares. Outros monossacarídeos adequados para utilização nos monômeros e polímeros como descritos neste documento são bem conhecidos na técnica.

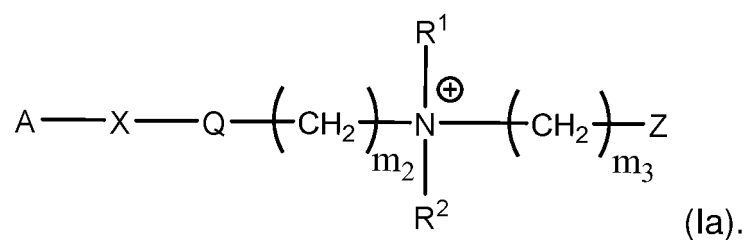
[00138] Os dissacarídeos compreendem dois monossacarídeos ligados entre si por ligações glicosídicas, e os oligossacarídeos compreendem mais de dois, normalmente de três a dez monossacarídeos ligados entre si por ligações glicosídicas. Uma unidade contendo dissacarídeo ou oligossacarídeo dos monômeros e polímeros como descritos neste documento pode compreender um tipo, ou mais de um tipo, de monossacarídeo. Dissacarídeos exemplificativos incluem, sem limitação, sacarose, lactose, maltose, trealose, celobiose, isomaltose, maltitol e similares. Oligossacarídeos exemplificativos incluem, sem limitação, fruto-oligossacarídeos, galacto-oligossacarídeos, glico-oligossacarídeos, rafinose e similares.

[00139] Em uma modalidade, a unidade contendo sacarídeo do monômero descrito neste documento é manuronato ou guluronato selecionado dentre os seguintes:

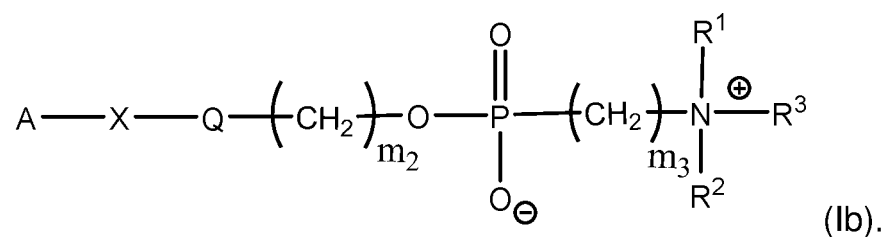


ponto de ligação de A a X.

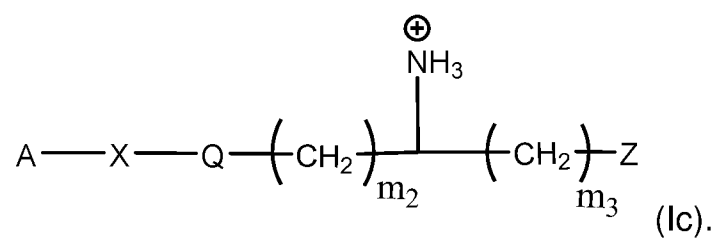
[00140] Em uma modalidade, o monômero da presente invenção tem a Fórmula (Ia):



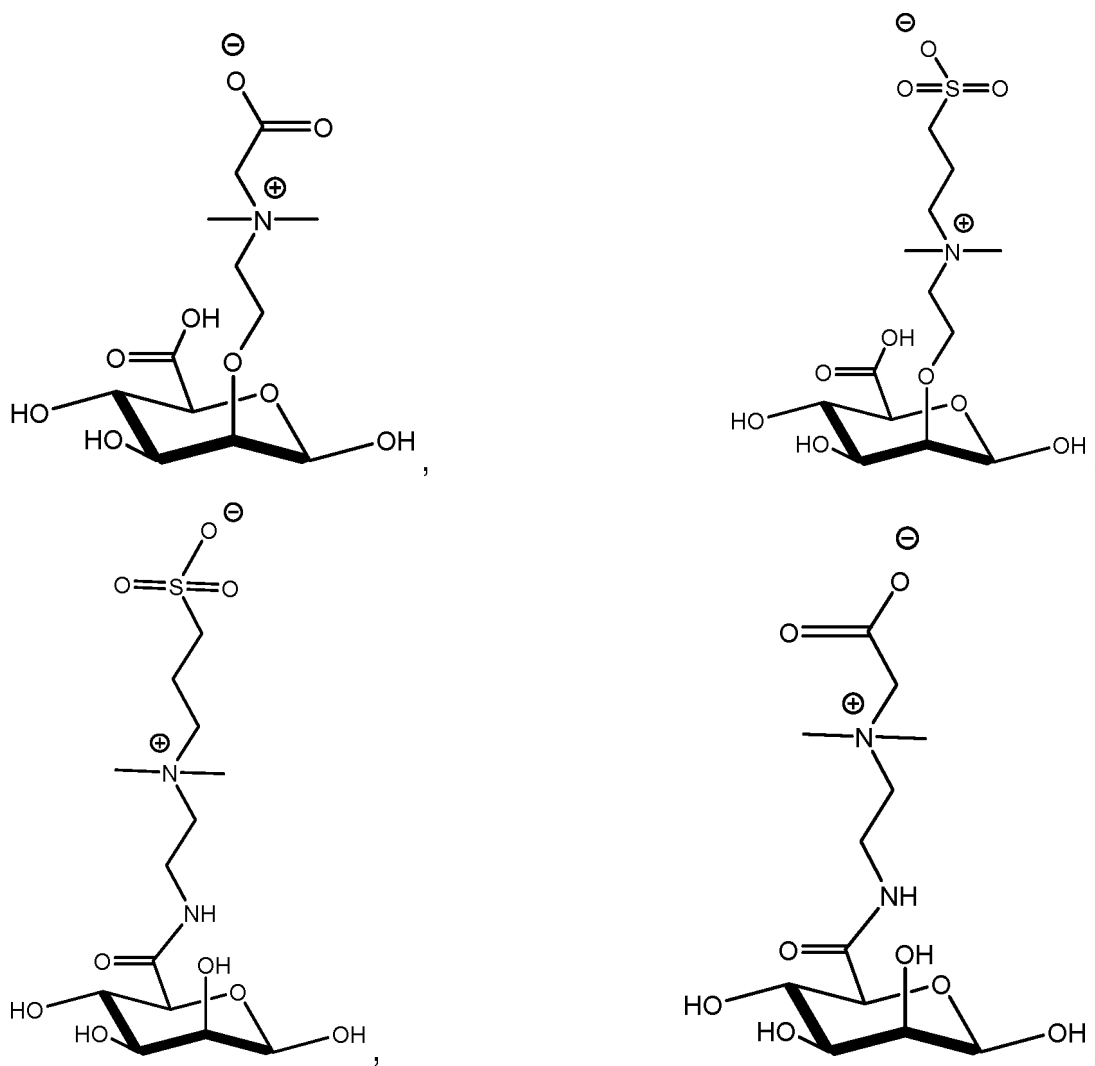
[00141] Em uma modalidade, o monômero da presente invenção tem a Fórmula (Ib):

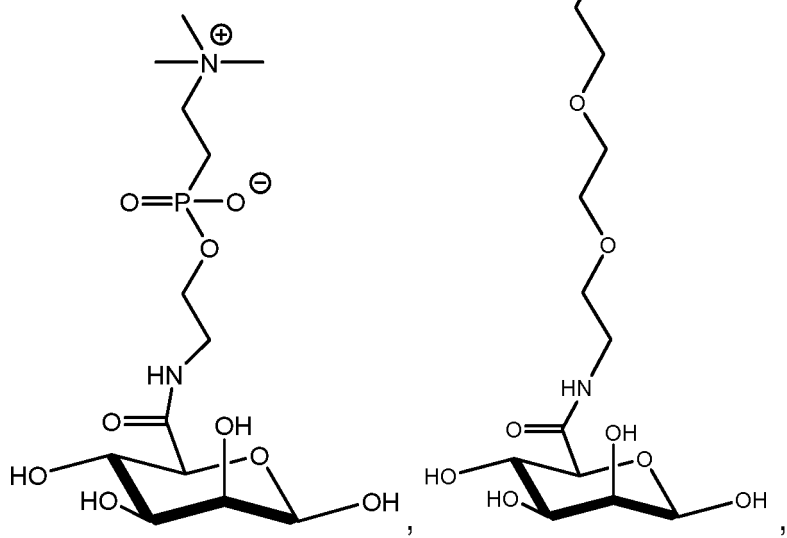
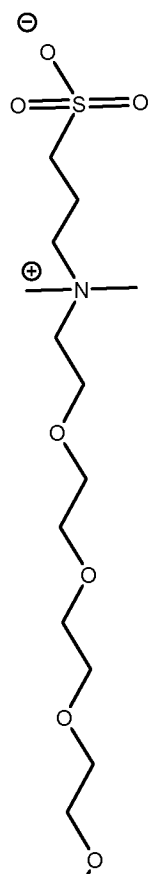
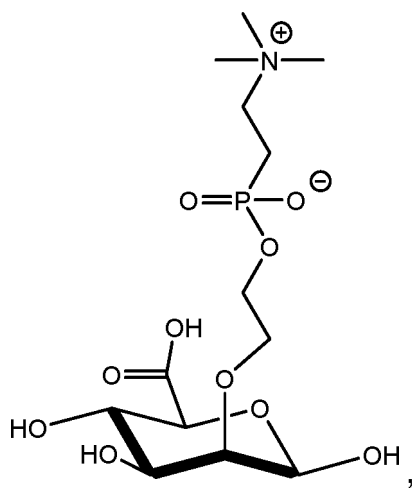


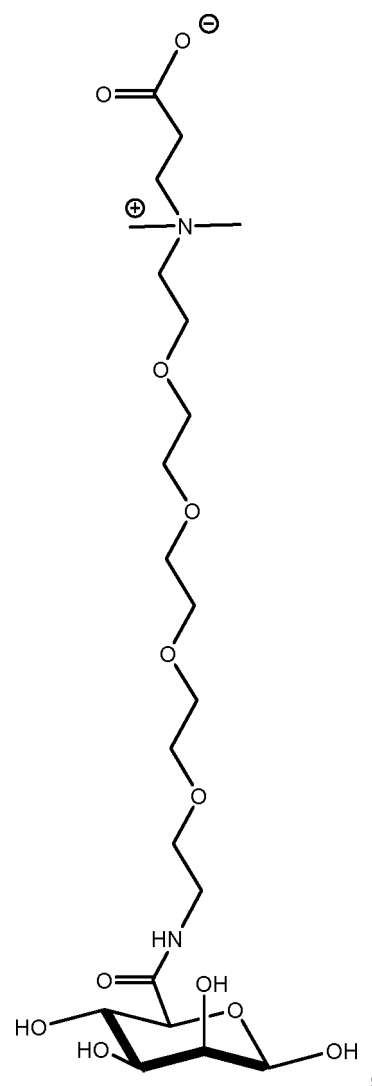
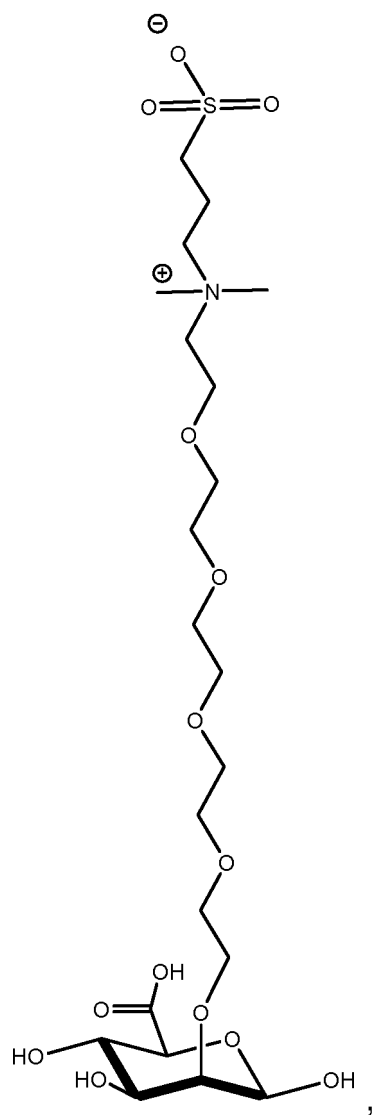
[00142] Em outra modalidade, o monômero da presente invenção tem a Fórmula (Ic):

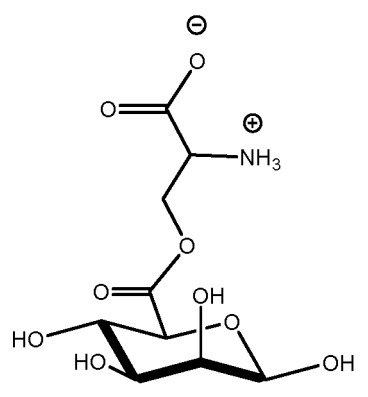
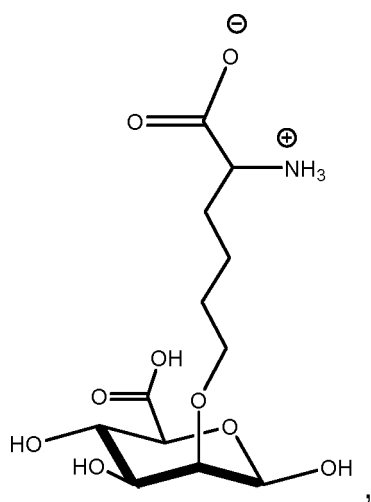
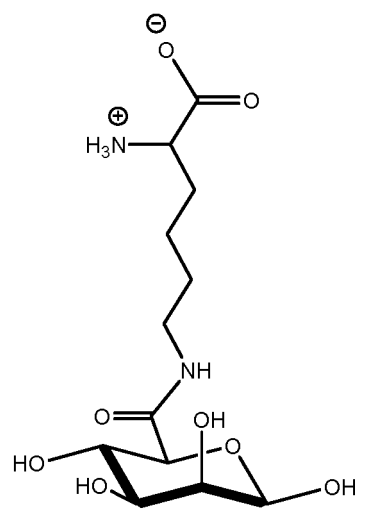
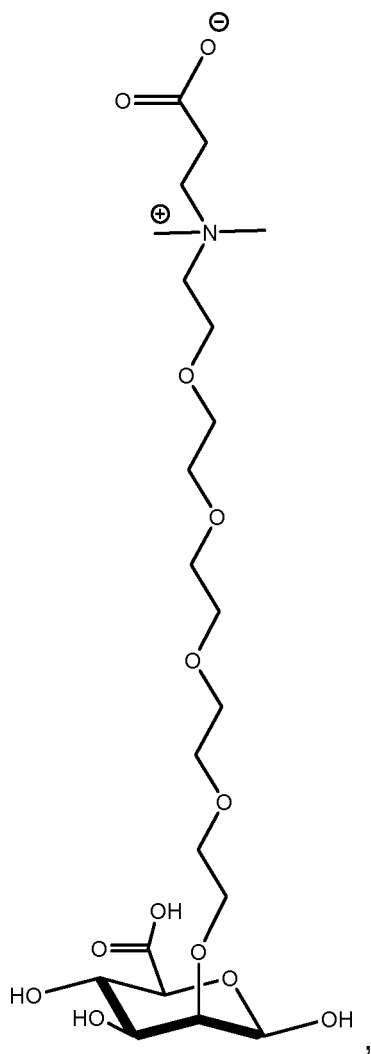


[00143] Em outra modalidade, o monômero da presente invenção tem a Fórmula selecionada do grupo que consiste em:

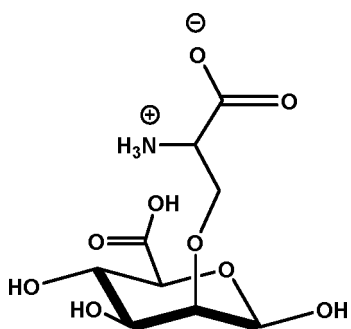




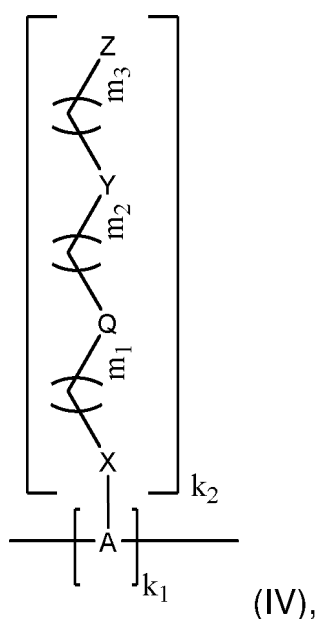




e



[00144] Outro aspecto da presente invenção é voltado a um polímero de Fórmula (IV):

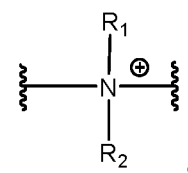


[00145] em que

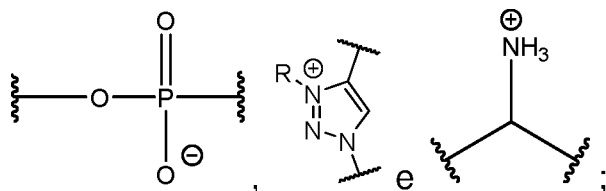
[00146] A é independentemente selecionado dentre uma unidade contendo sacarídeo e uma unidade contendo álcool polivinílico para cada unidade monomérica do polímero;

[00147] X é selecionado do grupo que consiste em O, NH, NR', C(O) e C<sub>1-20</sub> alquilenos, em que C<sub>1-20</sub> alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes, com um substituinte selecionado independentemente a cada ocorrência deste, do grupo que consiste em OH, halogênio, ciano, —CF<sub>3</sub> e C<sub>1-6</sub> alcóxi.

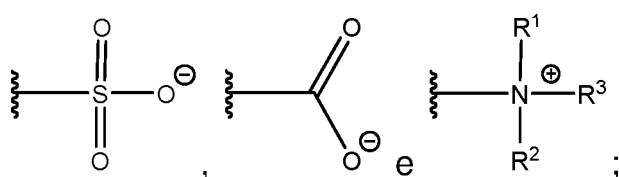
[00148] Q está ausente ou é um ligante;



[00149] Y é selecionado do grupo que consiste em



[00150] Z é selecionado dentre o grupo que consiste em



[00151]  $m_1$  é 0 a 50;

[00152]  $m_2$  é 0 a 50;

[00153]  $m_3$  é 0 a 50;

[00154] R é  $C_{1-20}$  alquila;

[00155] R' é  $-C(O)-C_{1-6}$  alqueno;

[00156]  $R^1$  é  $C_{1-20}$  alquila;

[00157]  $R^2$  é  $C_{1-20}$  alquila;

[00158]  $R^3$  é  $C_{1-20}$  alquila,

[00159]  $k_1$  é qualquer número inteiro; e

[00160]  $k_2$  é selecionado independentemente para cada unidade monomérica de 0 ou 1, com a condição de que pelo menos um  $k_2$  seja 1;

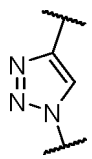
[00161] em que as unidades monoméricas do polímero são iguais ou diferentes.

[00162] Em uma modalidade, Q está ausente da unidade monomérica do polímero. Em outra modalidade, Q está presente como um ligante na unidade monomérica do polímero. Q é um agrupamento orgânico contendo qualquer número de átomos de carbono, 1-30 átomos de carbono, 1-20 átomos de carbono, ou 1-14 átomos de carbono, e

opcionalmente incluindo um ou mais heteroátomos tais como nitrogênio, enxofre ou nitrogênio em formatos estruturais lineares, ramificados ou cíclicos. Grupos Q representativos sendo C<sub>1-20</sub> alquileno, C<sub>1-20</sub> alquileno substituído, fenóxi, fenóxi substituído, alcóxi, alcóxi substituído, C<sub>3-20</sub> cicloalquileno, C<sub>3-20</sub> cicloalquileno substituído, C<sub>3-20</sub> cicloalquênileno, C<sub>3-20</sub> cicloalquênileno substituído, C<sub>8-20</sub> cicloalquinileno, C<sub>8-20</sub> cicloalquinileno substituído, heterociclileno, heterociclileno substituído, arileno, arileno substituído, triazol, poli(etileno glicol), ou fração polipeptídica.

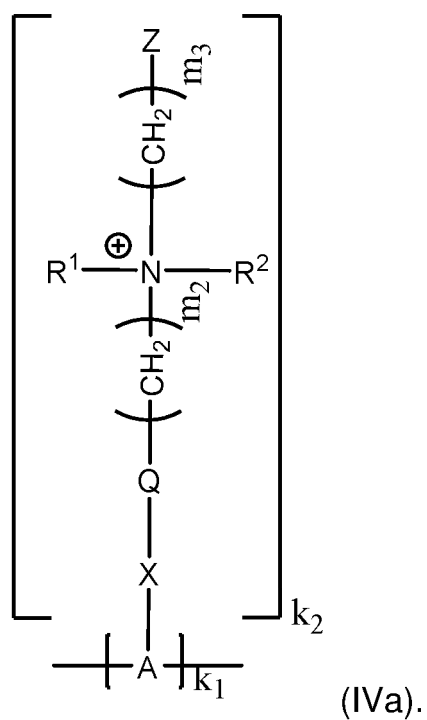
[00163] Em uma modalidade, Q é selecionado dentre o grupo que consiste em C<sub>1-20</sub> alquileno, C<sub>3-20</sub> cicloalquileno, arileno, heteroarileno, heterociclileno, -O-C<sub>1-20</sub> alquileno, poli(etileno glicol), e polipeptídeo; em que C<sub>1-20</sub> alquileno, C<sub>3-20</sub> cicloalquileno, arileno, heteroarileno, heterociclileno ou -O-C<sub>1-20</sub> alquileno é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente a cada ocorrência deste dentre o grupo que consiste em —OH, halogênio, ciano, —CF<sub>3</sub>, C<sub>1-6</sub> alquila, e C<sub>1-6</sub> alcóxi; e em que C<sub>1-20</sub> alquileno é opcionalmente interrompido por um ou mais heteroátomos selecionados dentre o grupo que consiste em oxigênio nitrogênio, enxofre ou nitrogênio.

[00164] Em outra modalidade, Q é heteroarileno.

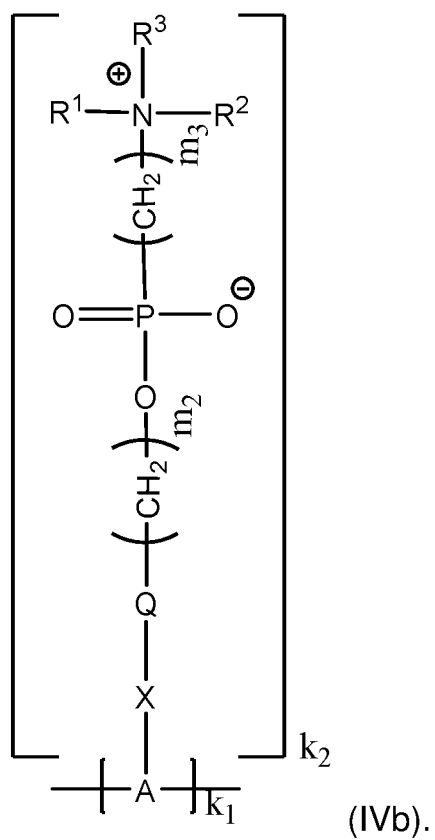


[00165] Em ainda outra modalidade, Q é

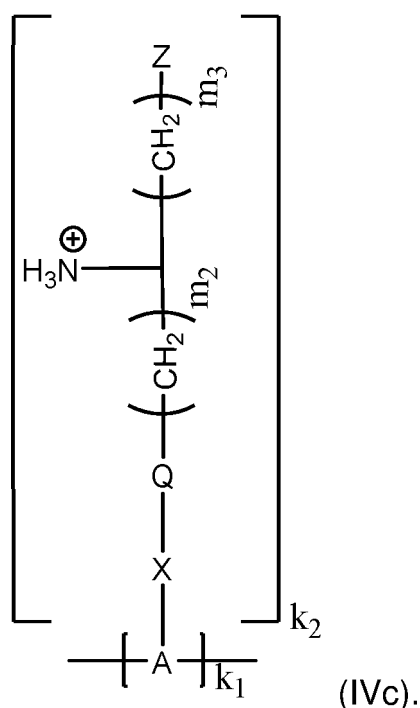
[00166] Em uma modalidade, o polímero da presente invenção tem a Fórmula (IVa):



[00167] Em outra modalidade, o polímero da presente invenção tem Fórmula (IVb):



[00168] Em outra modalidade, o polímero da presente invenção tem a Fórmula (IVc):



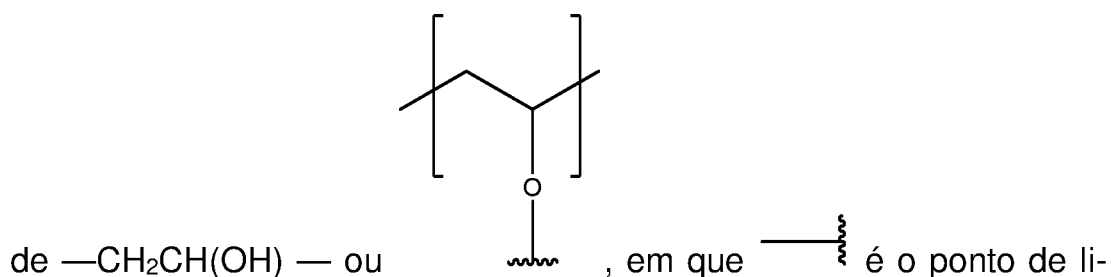
[00169] Um "polímero", como referido neste documento, é uma macromolécula compreendendo um conjunto de unidades químicas repetidas regularmente, isto é, unidades monoméricas, que são unidas para formar uma molécula de cadeia. Os monômeros repetidos podem ser do mesmo tipo ou de um número limitado de tipos diferentes. O número de unidades monoméricas nos polímeros, como descrito neste documento, pode ser qualquer inteiro. Em uma modalidade, o número ( $k_1$ ) de unidades monoméricas no polímero é de cerca de 5 a cerca de 1.000 unidades, de cerca de 5 a cerca de 10.000 unidades, ou de cerca de 5 a cerca de 100.000 unidades.

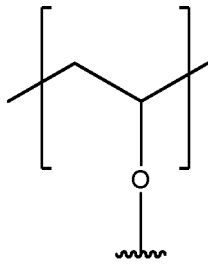
[00170] Os monômeros do polímero podem ser unidos em conjunto de ponta a ponta, ou de uma maneira mais complicada quando se forma a cadeia química. Os polímeros descritos neste documento podem ser homopolímeros, isto é, compreendendo apenas um tipo de unidade monomérica repetida, ou copolímeros, isto é, compreendendo mais do que um tipo de unidade monomérica repetida. Copolímeros da presente descrição incluem polímeros alternantes, polímeros periódicos, polímeros aleatórios e polímeros em bloco. Os polímeros descri-

tos neste documento incluem polímeros lineares e polímeros ramificados, incluindo polímeros em estrela, polímeros em escova e polímeros em pente.

[00171] Em uma modalidade, o polímero como descrito neste documento é um polímero contendo álcool polivinílico (isto é, o polímero tem uma estrutura principal de álcool polivinílico), em que A, em cada ocorrência da Fórmula IV, é uma unidade contendo álcool polivinílico.

[00172] Como referido neste documento, uma "unidade contendo álcool polivinílico" é uma unidade que compreende a fórmula química



gação de A a X e em que  $\text{—CH}_2\text{CH(OH)—}$  e  podem ser opcionalmente substituídos.

[00173] Em outra modalidade, o polímero como descrito neste documento é um polímero contendo sacarídeo (isto é, o polímero tem uma estrutura principal de sacarídeo). Nesta modalidade, o A da Fórmula IV é uma unidade contendo sacarídeo. Como descrito acima, uma unidade contendo sacarídeo é qualquer unidade química compreendendo um sacarídeo, em particular, uma unidade química compreendendo um monossacarídeo, um dissacarídeo, ou um oligossacarídeo. De acordo com esta modalidade, A é independentemente selecionado, em cada ocorrência, dentre um monossacarídeo, um dissacarídeo e um oligossacarídeo. Sacarídeos exemplificativos são descritos acima.

[00174] Em uma modalidade, o polímero como descrito neste documento é um homopolímero compreendendo um tipo de unidade monomérica contendo monossacarídeo, como descrito neste documento. Em outra modalidade, o homopolímero compreende um tipo de unidade monomérica contendo dissacarídeo, como descrito neste documento. Em outra modalidade, o homopolímero compreende um tipo de unidade monomérica contendo oligossacarídeo como descrito neste documento.

[00175] Em outra modalidade, o polímero é um copolímero contendo duas ou mais unidades monoméricas diferentes. Em uma modalidade, o copolímero compreende duas ou mais unidades monoméricas contendo monossacarídeos diferentes, como descrito neste documento. Em outra modalidade, o copolímero compreende duas ou mais unidades monoméricas contendo dissacarídeos diferentes. Em outra modalidade, o copolímero compreende duas ou mais unidades monoméricas contendo oligossacarídeos diferentes. Em outra modalidade, o copolímero compreende duas ou mais unidades monoméricas diferentes, em que cada unidade monomérica é independentemente selecionada dentre uma unidade monomérica contendo monossacarídeo, dissacarídeo e oligossacarídeo.

[00176] Em uma modalidade, o polímero da presente invenção é um polímero de sacarídeo modificado. Polímeros de sacarídeo, também conhecidos como polissacarídeos ou carboidratos poliméricos, são polímeros compreendendo unidades monoméricas repetidas de um ou mais sacarídeos ligados entre si por ligações glicosídicas. Polímeros de sacarídeos são bem conhecidos na arte, incluindo, por exemplo e sem limitação, alginato, ácido hialurônico, quitina, celulose, amido, agarose, dextrano, carragenina, guar, condroitina, dermatano, entre outros. Assim, um polímero de sacarídeo modificado da presente invenção é um polímero em que o A da Fórmula IV é uma unidade sa-

carídica monomérica ou uma unidade monossacarídica de um polímero sacarídeo conhecido, e o  $k_2$  de uma ou mais unidades monoméricas é 1.

[00177] Assim, em uma modalidade, o polímero da presente invenção é um polímero de celulose modificado. De acordo com esta modalidade, o A da Fórmula IV compreende uma unidade de glicose ou unidade de glicose substituída para formar o polímero de celulose modificado ou derivado deste (por exemplo, uma alquilcelulose modificada, hidroxialquilcelulose, carboxialquilcelulose ou éster de celulose).

[00178] Em outra modalidade, o polímero da presente invenção é um polímero de dextrano modificado. De acordo com esta modalidade, o A da Fórmula IV é uma unidade de D-glucopiranosil para formar o polímero de dextrano modificado.

[00179] Em outra modalidade, o polímero da presente invenção é um polímero de agarose modificado. De acordo com esta modalidade, o A da Fórmula IV alterna e é selecionado dentre D-galactose e 3,6-anidro-L-galactopiranosil para formar um polímero de agarose modificado.

[00180] Em outra modalidade, o polímero da presente invenção é um polímero de quitosana modificado. De acordo com a modalidade, o A da Fórmula IV é independentemente selecionado dentre D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina para formar um polímero de quitosano modificado.

[00181] Em outra modalidade, o polímero da presente invenção é um polímero de carragenina modificado. De acordo com esta modalidade, o A da Fórmula IV alterna e é selecionado dentre galactose e 3,6-anidrogallactose para formar o polímero de carragenina modificado.

[00182] Em outra modalidade, o polímero da presente invenção é um polímero de hialuronano modificado. De acordo com esta modalidade, o A da Fórmula IV alterna e é selecionado dentre ácido glucurô-

nico e N-acetil-D-glucosamina para formar um polímero de hialuronano modificado.

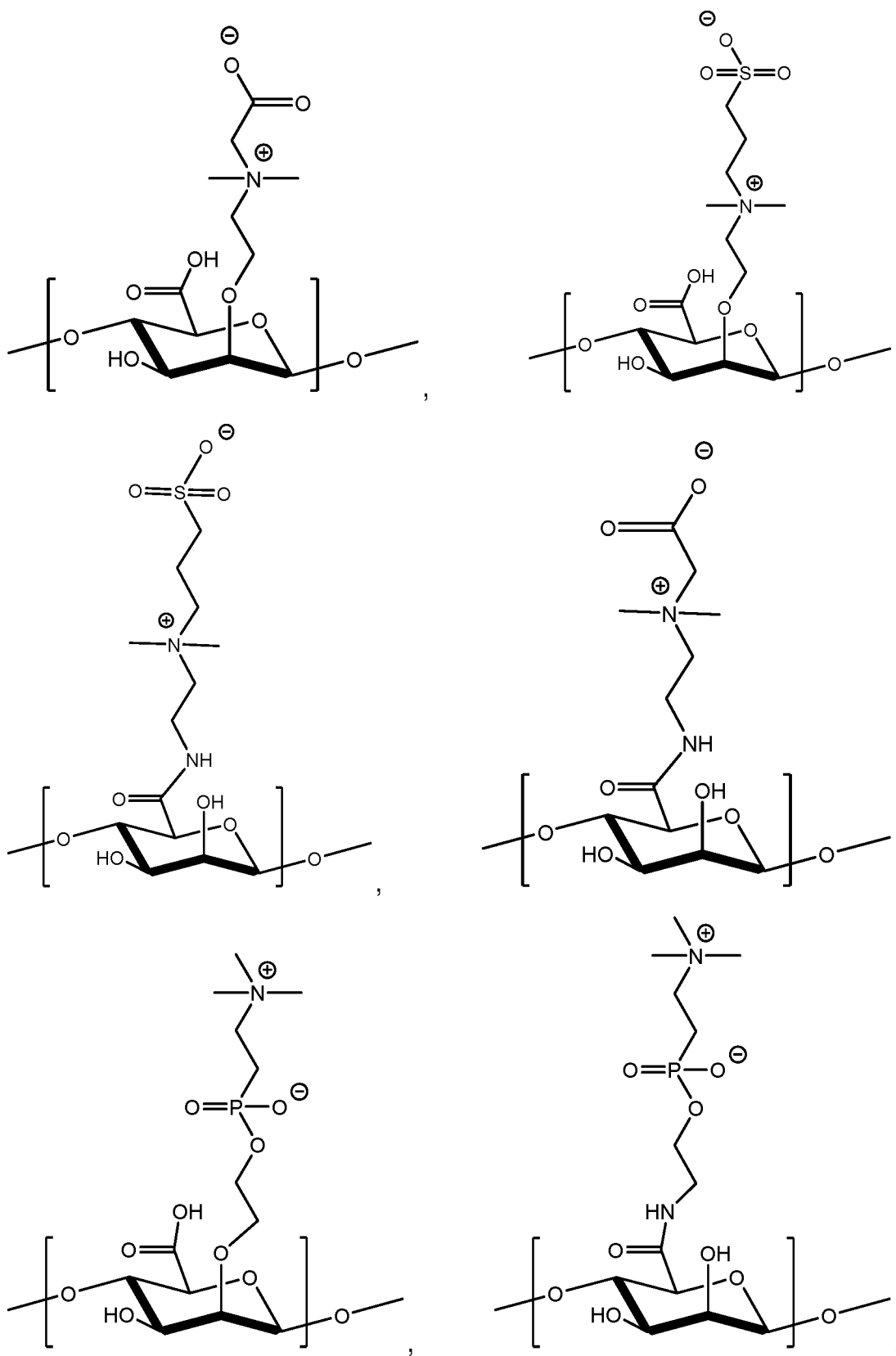
[00183] Em outra modalidade, o polímero da presente invenção é um polímero de condroitina modificado. De acordo com esta modalidade, o A da Fórmula IV alterna e é selecionado dentre ácido glucurônico e N-acetilgalactosamina para formar o polímero de sulfato de condroitina modificado.

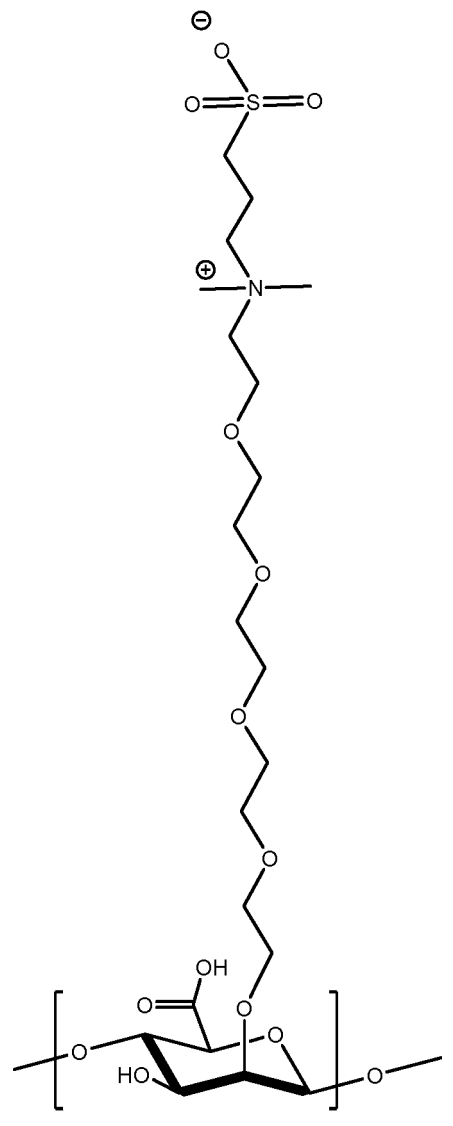
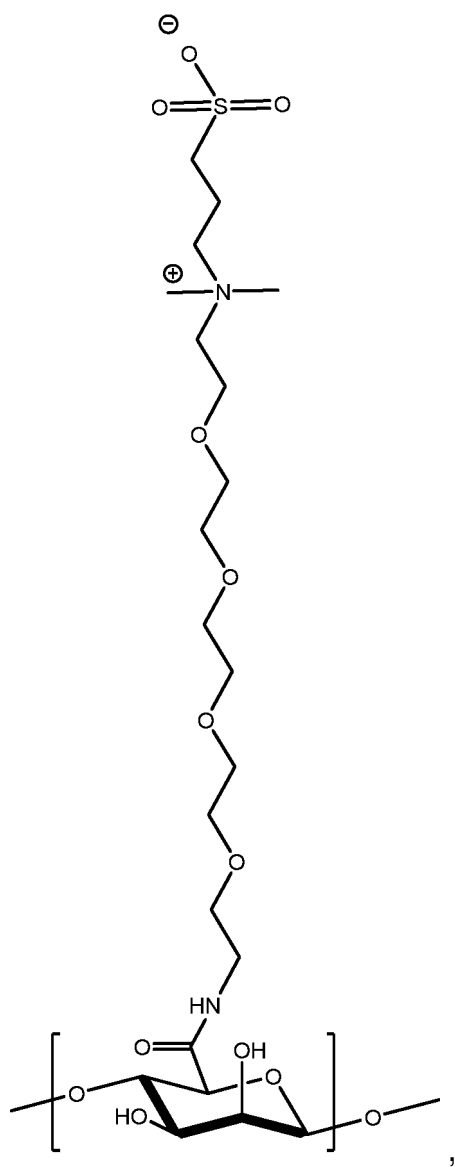
[00184] Em outra modalidade, o polímero da presente invenção é um polímero de dermatano modificado. De acordo com esta modalidade, o A da Fórmula IV alterna e é selecionado dentre ácido idurônico e N-acetilgalactosamina para formar um polímero de sulfato de dermatano modificado.

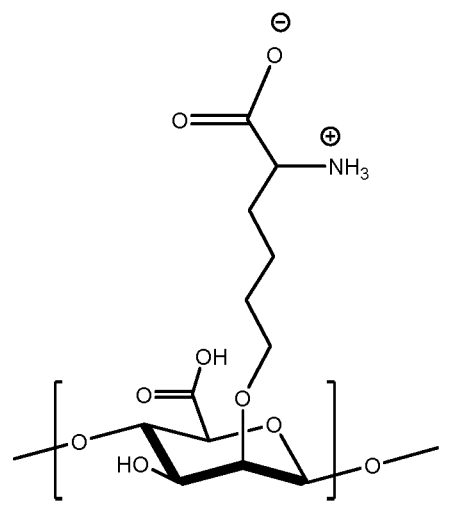
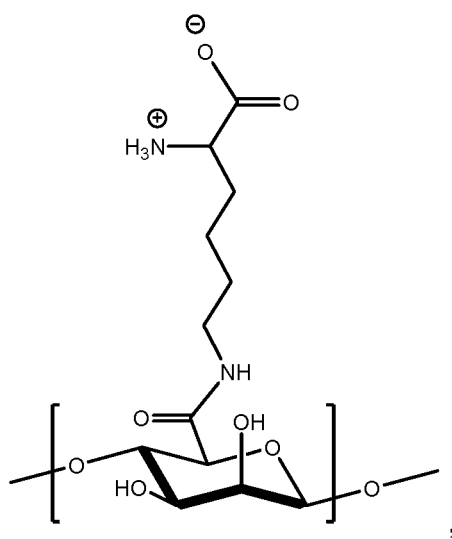
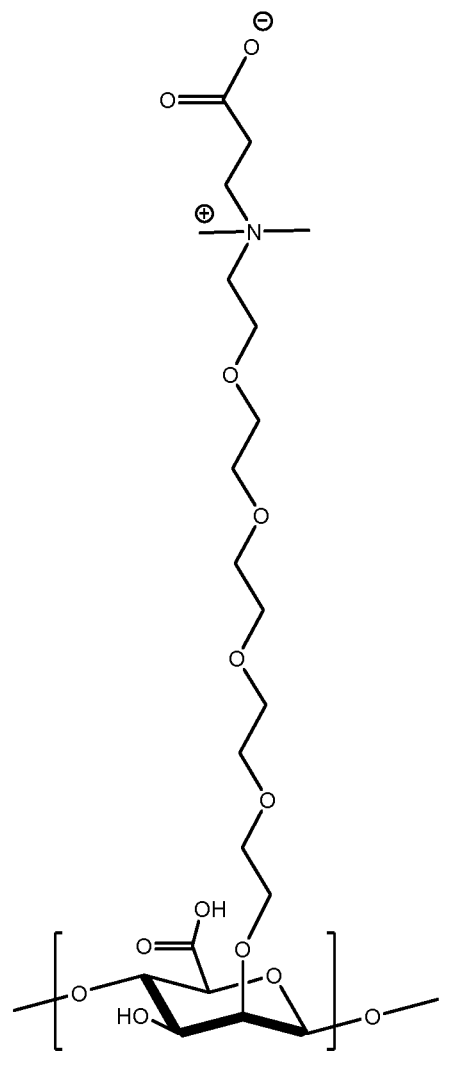
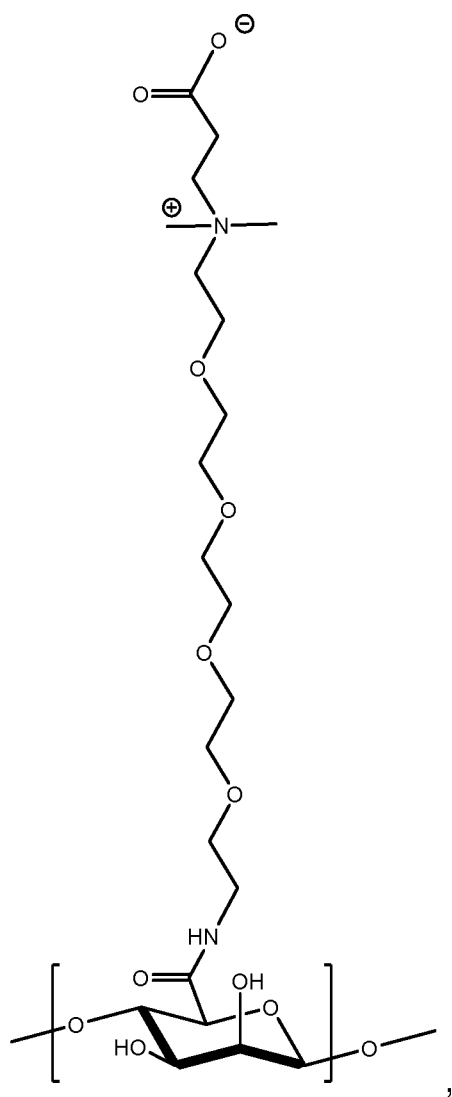
[00185] Em outra modalidade, o polímero da presente invenção é um polímero de guar. De acordo com esta modalidade, o A da Fórmula IV é independentemente selecionado dentre galactose e manose para formar um polímero guar modificado.

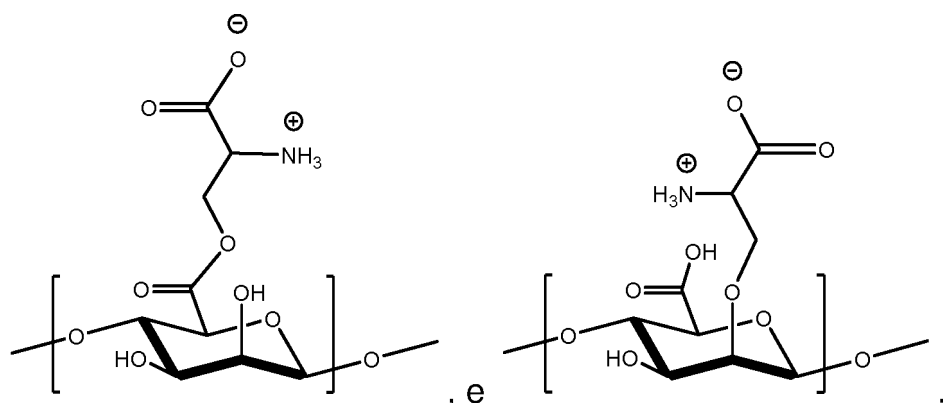
[00186] Em uma modalidade, o polímero da presente descrição é um polímero de alginato modificado. O alginato é um copolímero linear com blocos homopoliméricos de  $\beta$ -D-manuronato e  $\alpha$ -L-guluronato ligados a (1-4). De acordo com esta modalidade, o A em cada ocorrência na Fórmula IV é selecionado dentre  $\beta$ -D-mannuronato e  $\alpha$ -L-guluronato. Em uma modalidade, o polímero compreende blocos homopoliméricos de unidades monoméricas contendo manuronato. Em outra modalidade, o polímero compreende blocos homopoliméricos de unidades monoméricas contendo guluronato. Em outra modalidade, o polímero compreende unidades monoméricas alternadas contendo manuronato e guluronato ou blocos alternados de unidades monoméricas contendo manuronato e guluronato. Em uma modalidade, a razão de manuronato para guluronato no polímero da presente invenção é de cerca de 1. Em outra modalidade, a razão de manuronato para gu-





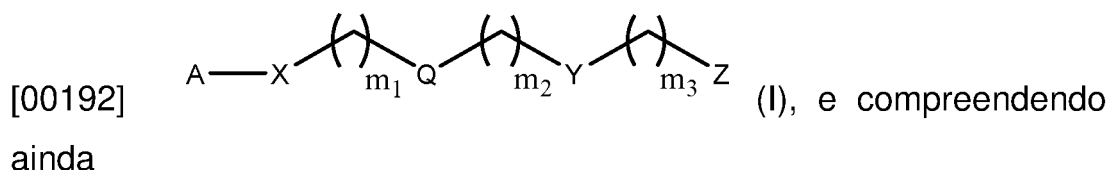




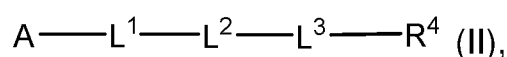


[00190] De acordo com este aspecto da invenção, o  $k_2$  do polímero de Fórmula IV é selecionado independentemente para cada unidade monomérica dentre 0 ou 1, com a condição de que pelo menos um  $k_2$  seja 1. Em uma modalidade,  $k_2$  é 1 para pelo menos 1% das unidades monoméricas do polímero como descrito neste documento. Em outra modalidade,  $k_2$  é 1 para pelo menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ou mais das unidades monoméricas do polímero como descrito neste documento. Em uma modalidade,  $k_2$  é 1 para 100% das unidades monoméricas do polímero como descrito neste documento.

[00191] Outro aspecto da presente invenção refere-se a um polímero compreendendo um ou mais monômeros de Fórmula (I):



[00193] um ou mais monômeros de Fórmula (II):



[00194] em que

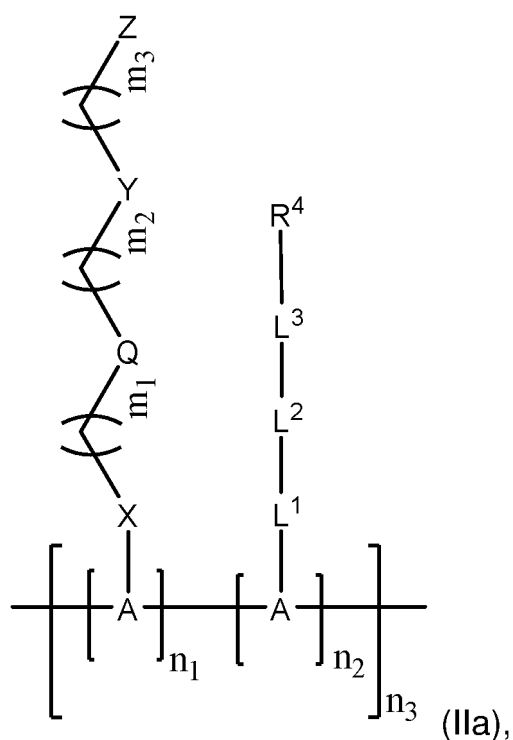
[00195]  $L^1$  é selecionado do grupo consistindo em O, NH,  $NR'$ , C(O) e  $C_{1-20}$  alquilenos, em que  $C_{1-20}$  alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em OH, halogênio, ciano,  $-CF_3$  e  $C_{1-6}$  alcóxi;

[00196]  $L^2$  está ausente ou é  $C_{1-20}$  alquilenos, em que  $C_{1-20}$  alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em OH, halogênio, ciano,  $—CF_3$  e  $C_{1-6}$  alcóxi;

[00197]  $L^3$  é selecionado do grupo consistindo em  $C_{1-20}$  alquilenos,  $C_{1-20}$  alquenilenos,  $C_{3-12}$  cicloalquenilenos e arilenos, em que o arileno é opcionalmente substituído de 1 a 3 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em heteroarileno e heterociclileno;

[00198]  $R^4$  é selecionado do grupo consistindo em H, SH,  $N_3$ ,  $C_{1-6}$  alquila,  $C_{2-20}$  alquenila,  $C_{2-20}$  alquinila,  $C_{3-12}$  cicloalquenila,  $C_{3-12}$  cicloalquinila, heteroaril e heterociclila, em que  $C_{1-6}$  alquila,  $C_{2-20}$  alquenila,  $C_{2-20}$  alquinila,  $C_{3-12}$  cicloalquenila,  $C_{3-12}$  cicloalquinila, heteroarila e heterociclila são opcionalmente substituídos de 1 a 3 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em H, OH, halogênio, ciano,  $—CF_3$  e  $C_{1-6}$  alcóxi.

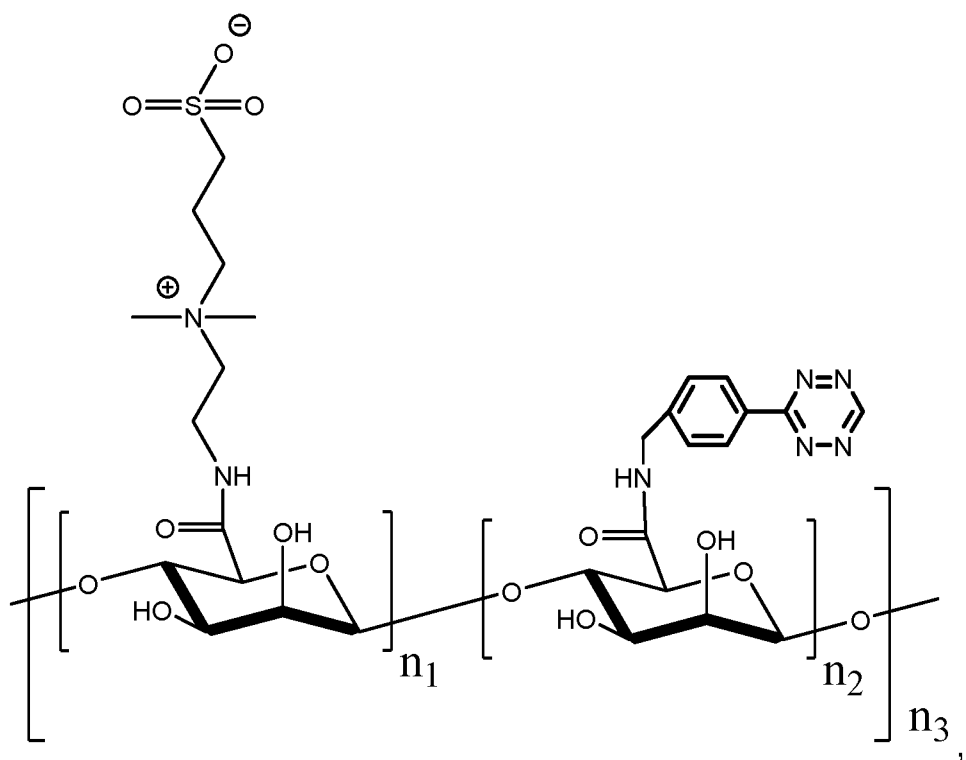
[00199] Em uma modalidade deste aspecto da presente invenção, o polímero tem a Fórmula (IIa):

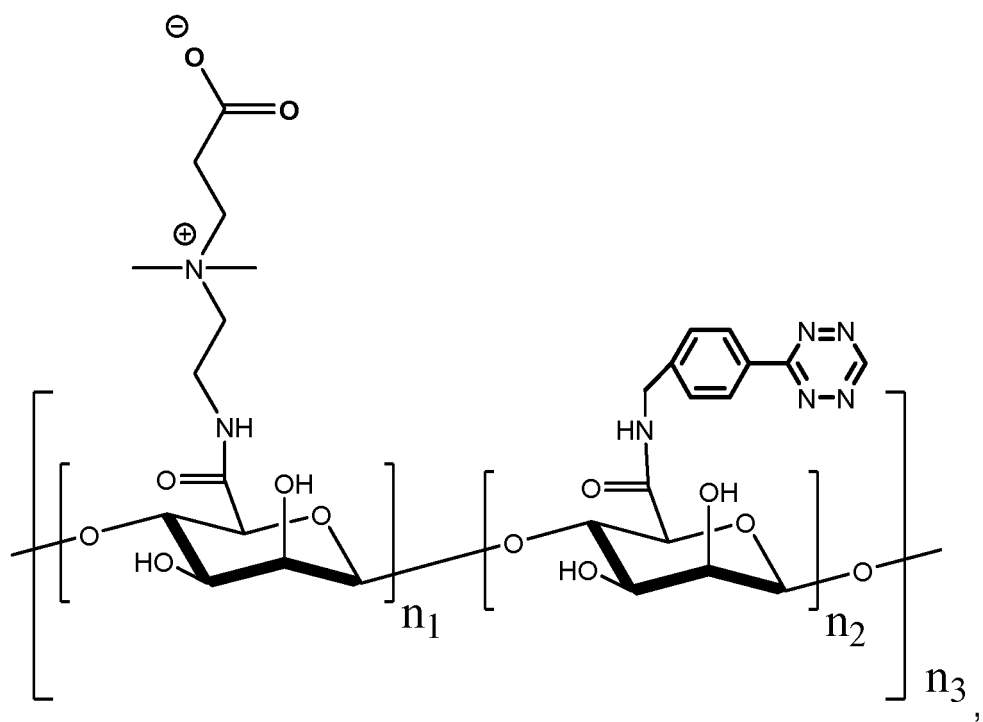
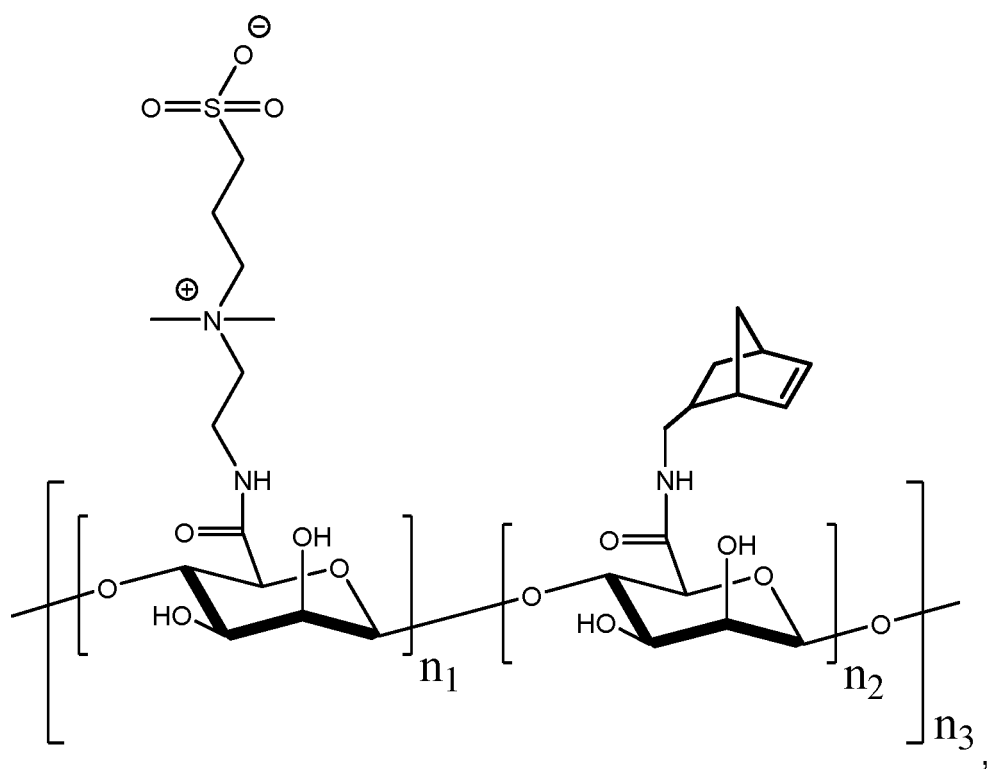


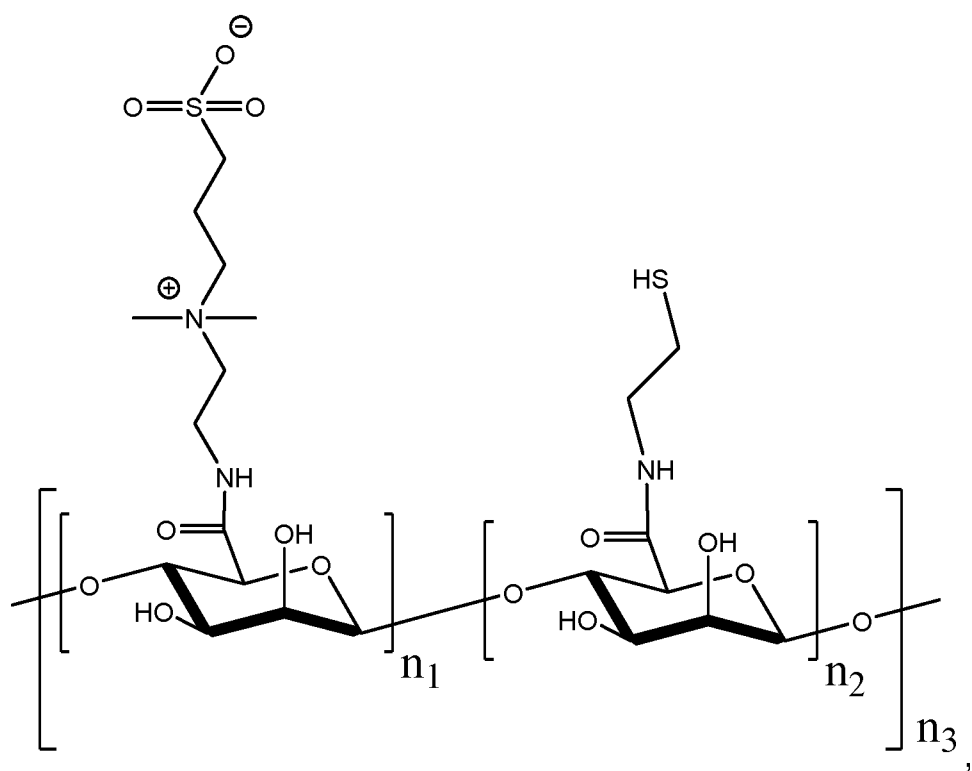
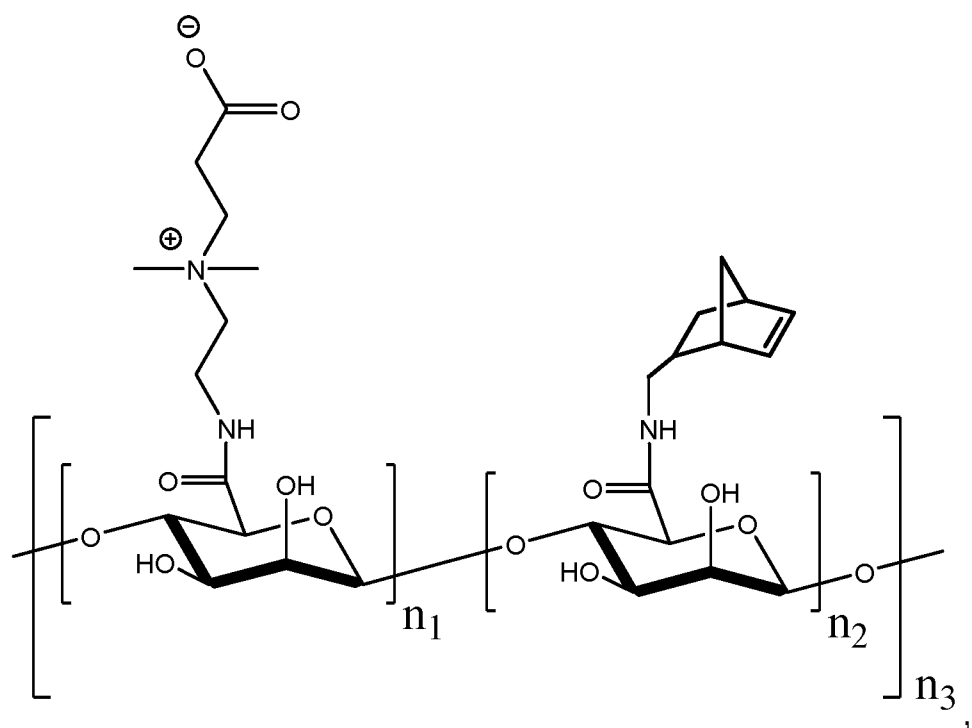
[00200] em que  $n_1$ ,  $n_2$  e  $n_3$  são qualquer número inteiro.

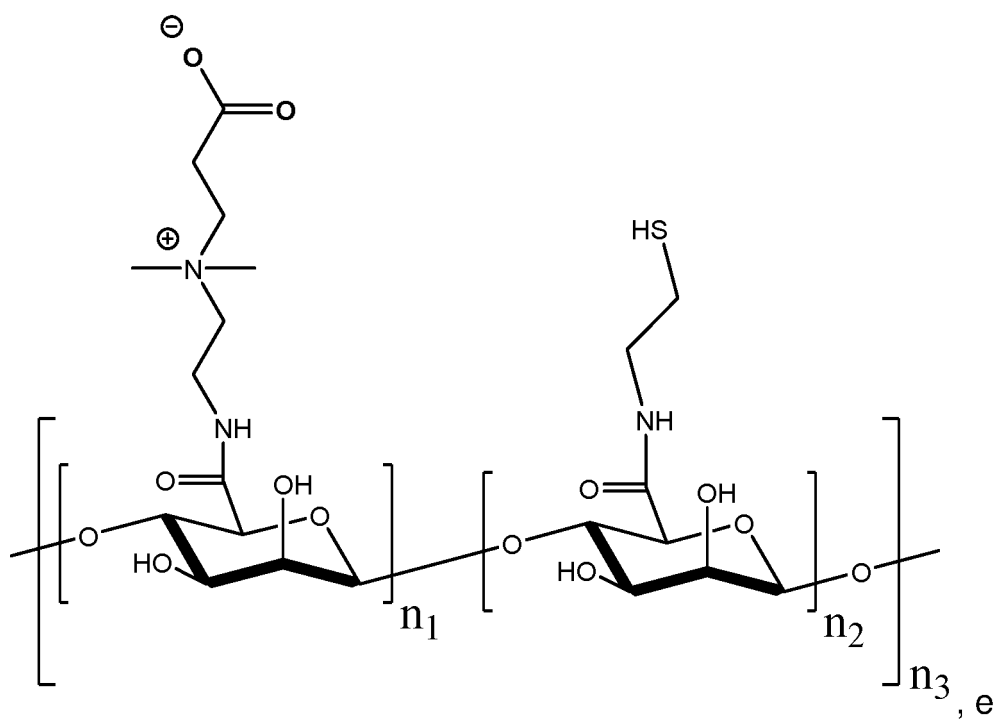
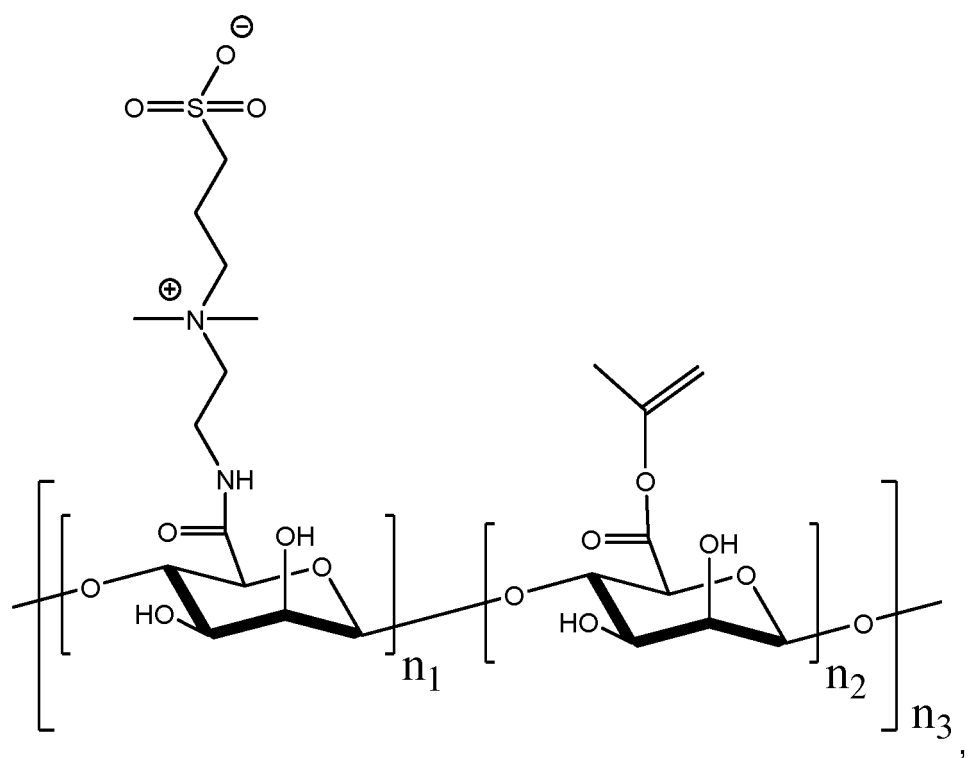
[00201] Em uma modalidade,  $n_1$ ,  $n_2$ , e  $n_3$  são, cada um, independentemente selecionados de um número inteiro de 1 a 10.000.

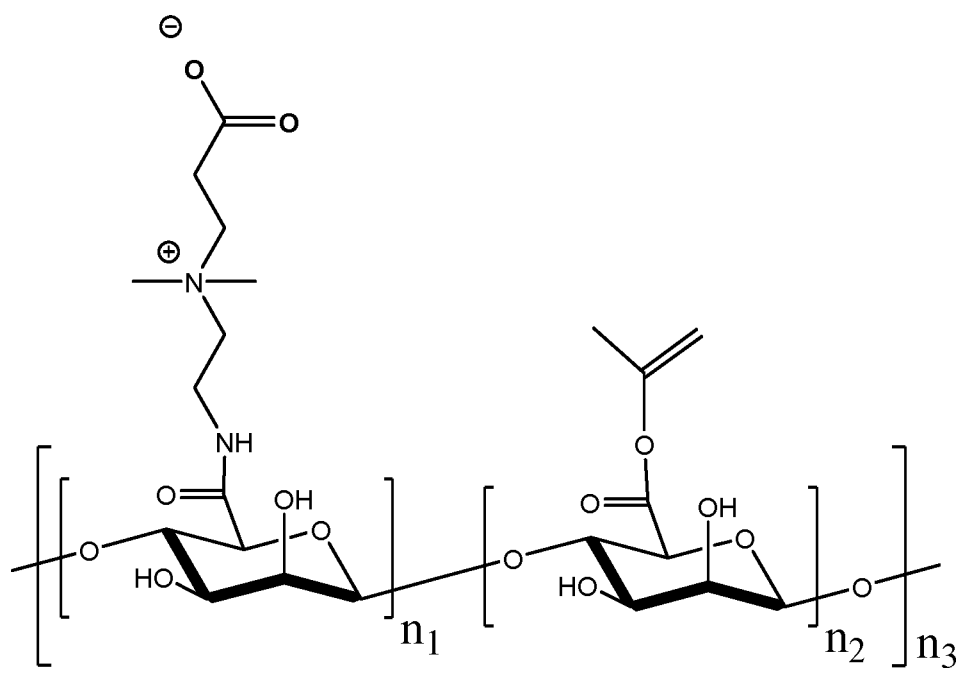
[00202] Polímeros exemplificativos de acordo com este aspecto da descrição incluem, sem limitação, os seguintes polímeros:





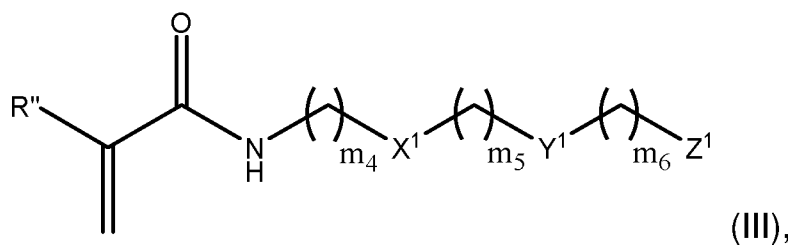




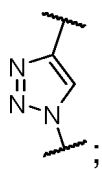


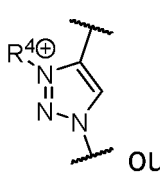
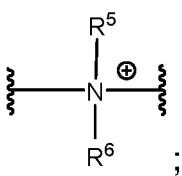
[00203] em que  $n_1$ ,  $n_2$  e  $n_3$  são qualquer número inteiro. Em uma modalidade,  $n_1$ ,  $n_2$ , e  $n_3$  são, cada um, independentemente selecionados de um número inteiro de 1 a 10.000.

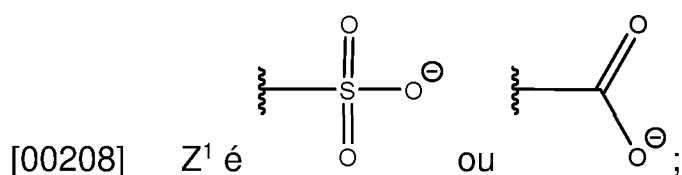
[00204] Outro aspecto da presente invenção refere-se a um monômero de Fórmula (III):



[00205] em que

[00206]  $X^1$  está ausente ou é ;

[00207]  $Y^1$  é  ou ;



[00209]  $m_4$  é 1 a 50;

[00210]  $m_5$  é 0 a 10;

[00211]  $m_6$  é 1 a 50;

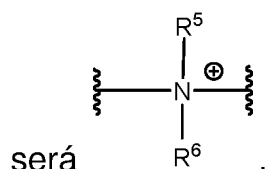
[00212]  $R''$  é H ou  $C_{1-6}$  alquila;

[00213]  $R^4$  é  $C_{1-20}$  alquila;

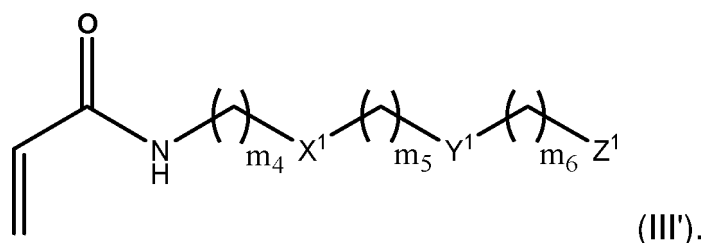
[00214]  $R^5$  é  $C_{1-20}$  alquila; e

[00215]  $R^6$  é  $C_{1-20}$  alquila,

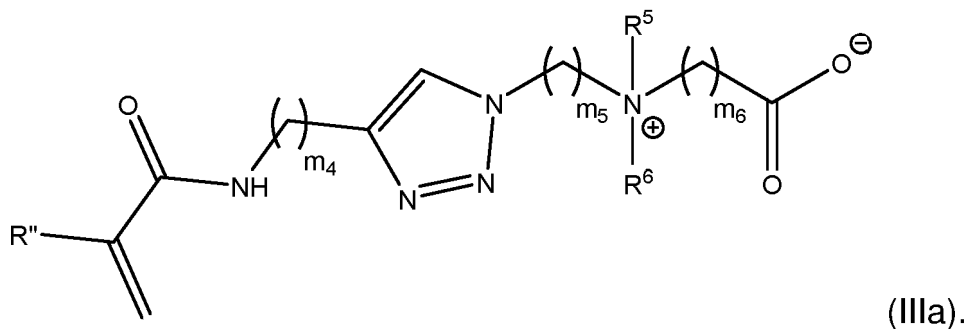
[00216] com a condição de que, quando  $X^1$  estiver ausente,  $Y^1$  não



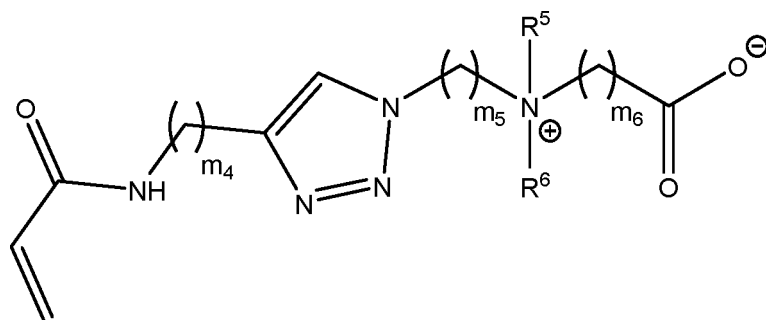
[00217] Em uma modalidade, o monômero de Fórmula (III) tem a Fórmula (III'):



[00218] Em uma modalidade, o monômero de Fórmula (III) tem a Fórmula (IIIa):

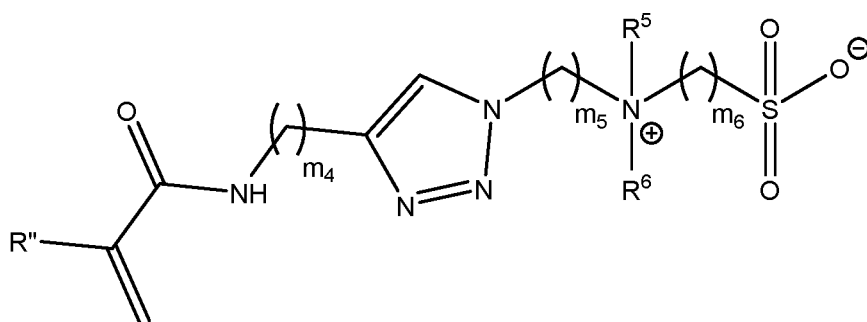


[00219] Em uma modalidade, o monômero de Fórmula (III) tem a Fórmula (IIIa'):



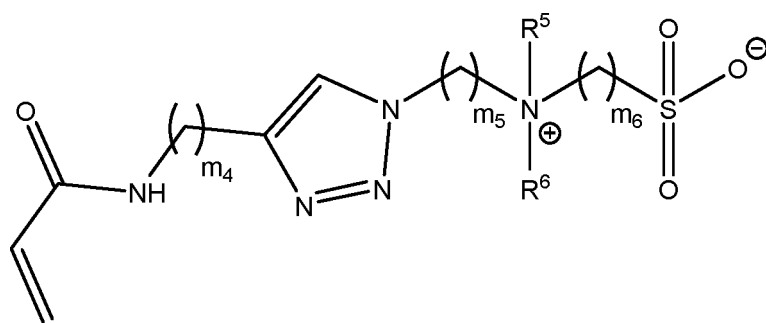
(IIIa').

[00220] Em outra modalidade, o monômero de Fórmula (III) tem a Fórmula (IIIb):



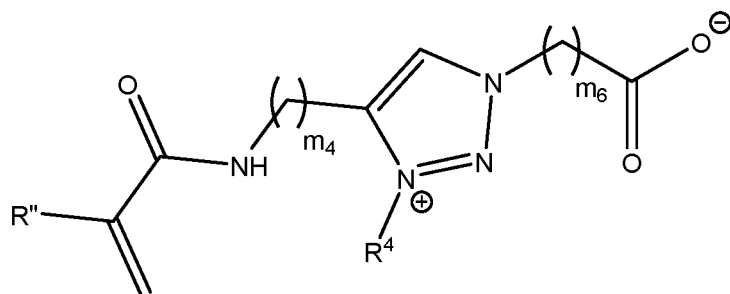
(IIIb).

[00221] Em outra modalidade, o monômero de Fórmula (III) tem a Fórmula (IIIb'):



(IIIb').

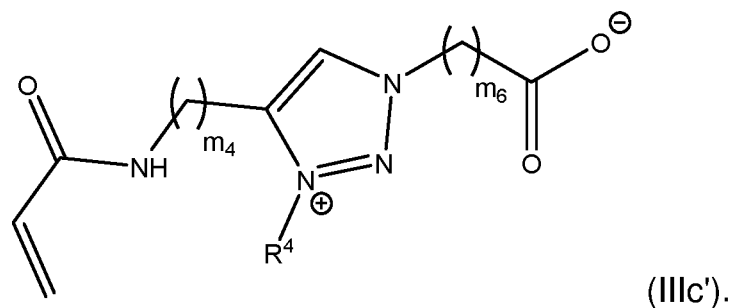
[00222] Em outra modalidade, o monômero de Fórmula (III) tem a Fórmula (IIIc):



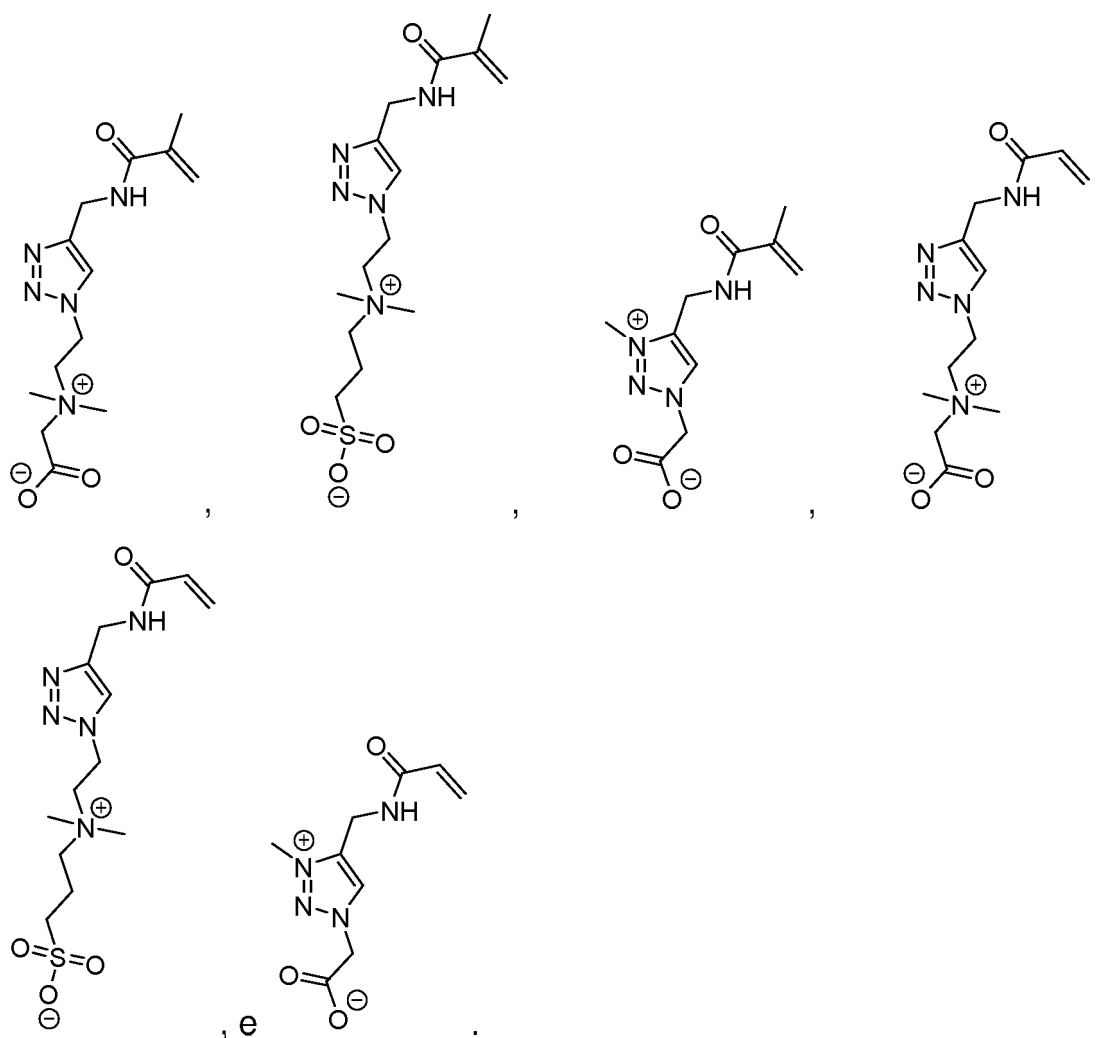
(IIIc).

[00223] Em outra modalidade, o monômero de Fórmula (III) tem a

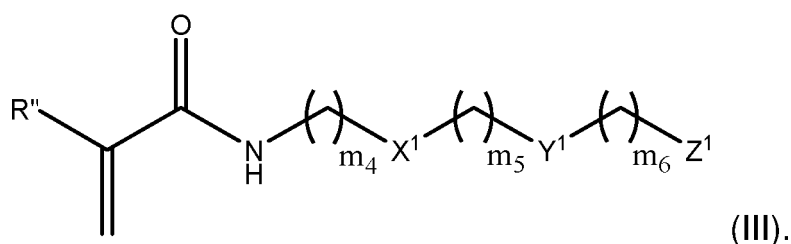
Fórmula (IIIc'):



[00224] Em outra modalidade, um monômero exemplificativo de Fórmula (III) é selecionado do grupo consistindo de:



[00225] Outro aspecto da presente invenção refere-se a uma rede polimérica de monômeros reticulados de Fórmula (III):



[00226] Em uma modalidade, a rede é uma rede homopolimérica, compreendendo um tipo de monômero de Fórmula (III). Em outra modalidade, a rede é heteropolimérica, compreendendo dois ou mais monômeros diferentes de Fórmula (III).

[00227] De acordo com esta modalidade, a rede polimérica de monômeros é formada utilizando um agente reticulante, e os monômeros da rede estão ligados entre si por meio do agente reticulante. Em uma modalidade, o agente reticulante é um agente reticulante zwitteriônico. O agente reticulante zwitteriônico pode ser copolimerizado com os monômeros e co-monômeros de Fórmula III para proporcionar redes poliméricas reticuladas de acordo com a presente invenção. Agentes reticulantes adequados que podem ser utilizados de acordo com a presente invenção incluem agente reticulante de diacrilamida zwitteriônico bifuncional (CBAAX), bem como qualquer um dos agentes reticulantes zwitteriônicos divulgados na Publicação de Pedido de Patente US N°20170009069 de Jiang et al., incorporada por referência em sua totalidade.

[00228] Outro aspecto da presente invenção refere-se a um hidrogel compreendendo qualquer um ou mais dentre os polímeros descritos neste documento (ou seja, polímeros de Fórmula IV), qualquer um ou mais dentre os monômeros de Fórmula III, qualquer uma ou mais dentre as redes poliméricas como descritas neste documento, ou qualquer combinação destes. Os hidrogéis preferidos como descritos neste documento são hidrogéis zwitteriônicos.

[00229] Hidrogéis da presente invenção podem ser hidrogéis homopoliméricos, hidrogéis copoliméricos ou hidrogéis multipoliméricos.

Em uma modalidade, o hidrogel compreende um tipo de polímero como descrito neste documento. Em outra modalidade, o hidrogel compreende dois ou mais tipos diferentes de polímeros como descritos neste documento. Em outra modalidade, o hidrogel é feito de um único tipo de monômero de Fórmula III. Em outra modalidade, o hidrogel compreende dois ou mais tipos diferentes de monômeros de Fórmula III. Em outra modalidade, o hidrogel é feito de uma rede polimérica compreendendo um único tipo de monômero de Fórmula III. Em outra modalidade, o hidrogel é feito de uma rede polimérica compreendendo um ou mais tipos diferentes de monômeros de Fórmula III.

[00230] Em uma modalidade, o hidrogel é um hidrogel de sacarídeo, isto é, um hidrogel compreendendo polímeros contendo sacarídeo como descritos neste documento. Em outra modalidade, o hidrogel é um hidrogel de alginato, isto é, um hidrogel compreendendo polímeros de alginato modificados como descritos neste documento.

[00231] Os hidrogéis da presente invenção são formados utilizando métodos convencionais conhecidos pelos especialistas na técnica e descritos nos Exemplos deste documento. Por exemplo, as ligações cruzadas entre os polímeros e monômeros do hidrogel podem ser formadas por meio de reação de reticulação química, radiação ionizante ou interações físicas.

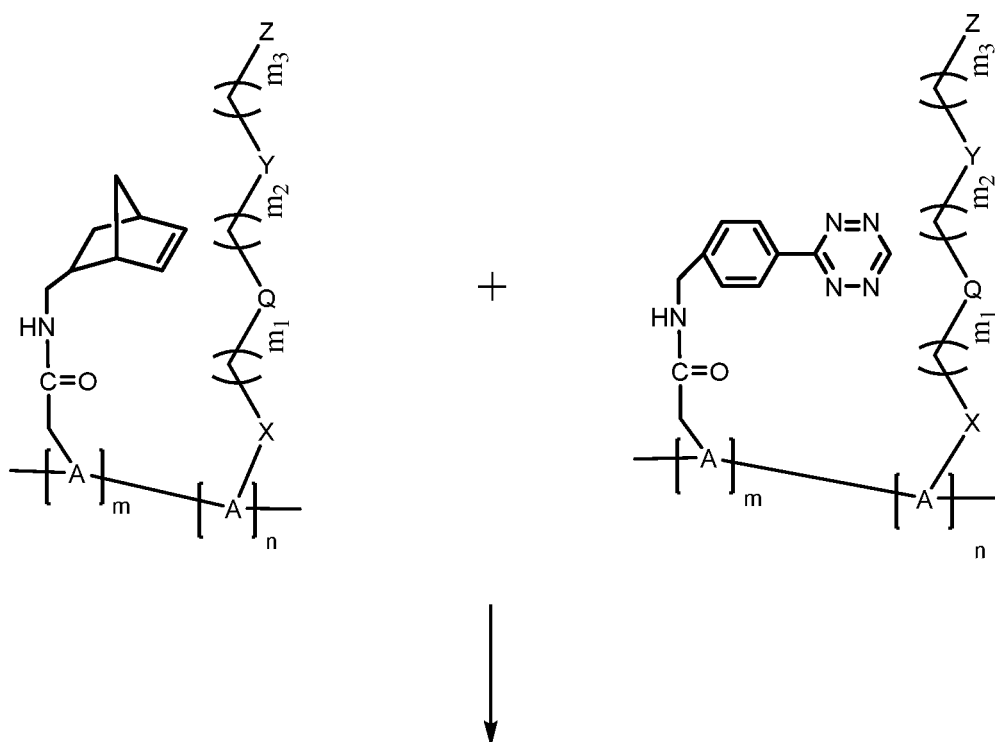
[00232] Em uma modalidade, o hidrogel é formado usando química de cliques. A química de cliques engloba reações químicas usadas para unir dois compostos, que são de alto rendimento, de escopo amplo, criam apenas subprodutos que podem ser removidos sem cromatografia, são estereoespecíficas, simples de realizar e podem ser conduzidas em solventes facilmente removíveis ou benignos. Exemplos de reações que atendem a esses critérios incluem a abertura no anel nucleofílico de epóxidos e aziridinas, reações de carbonil do tipo não-aldol, incluindo a formação de hidrazonas e heterociclos, adições a

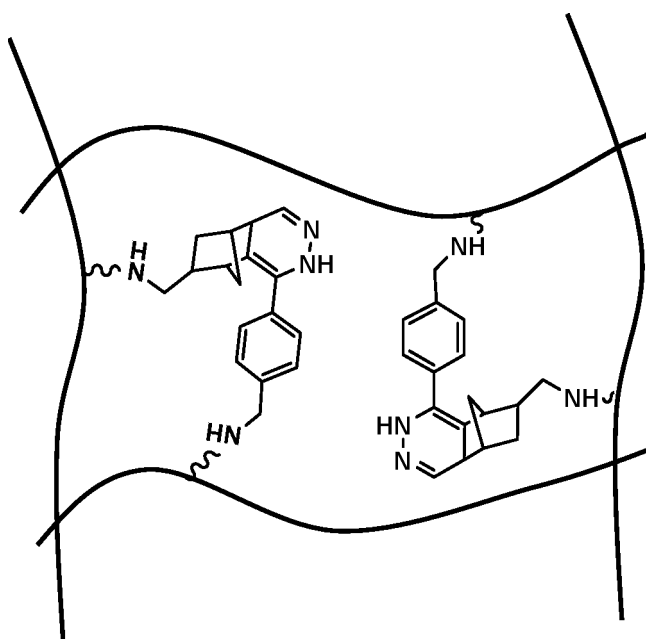
múltiplas ligações carbono-carbono, incluindo adições de Michael e reações de cicloadição, tal como uma reação de cicloadição 1,3-dipolar (isto é, uma reação de cicloadição de Huisgen). Ver, por exemplo, Moses e Moorhouse, *Chem Soc. Rev.*, 36:1249-1262 (2007); Kolb e Sharpless, *Drug Discovery Today*, 8(24): 1128-1137 (2003); e Kolb et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 40: 2004-2021 (2001), que são incorporados neste documento por referência em sua totalidade.

[00233] Em uma modalidade, o hidrogel é formado pela reação entre os substituintes alceno e tetrazina dos polímeros. Em outra modalidade, o hidrogel é formado pela reação entre os substituintes de norborneno e tetrazina dos polímeros.

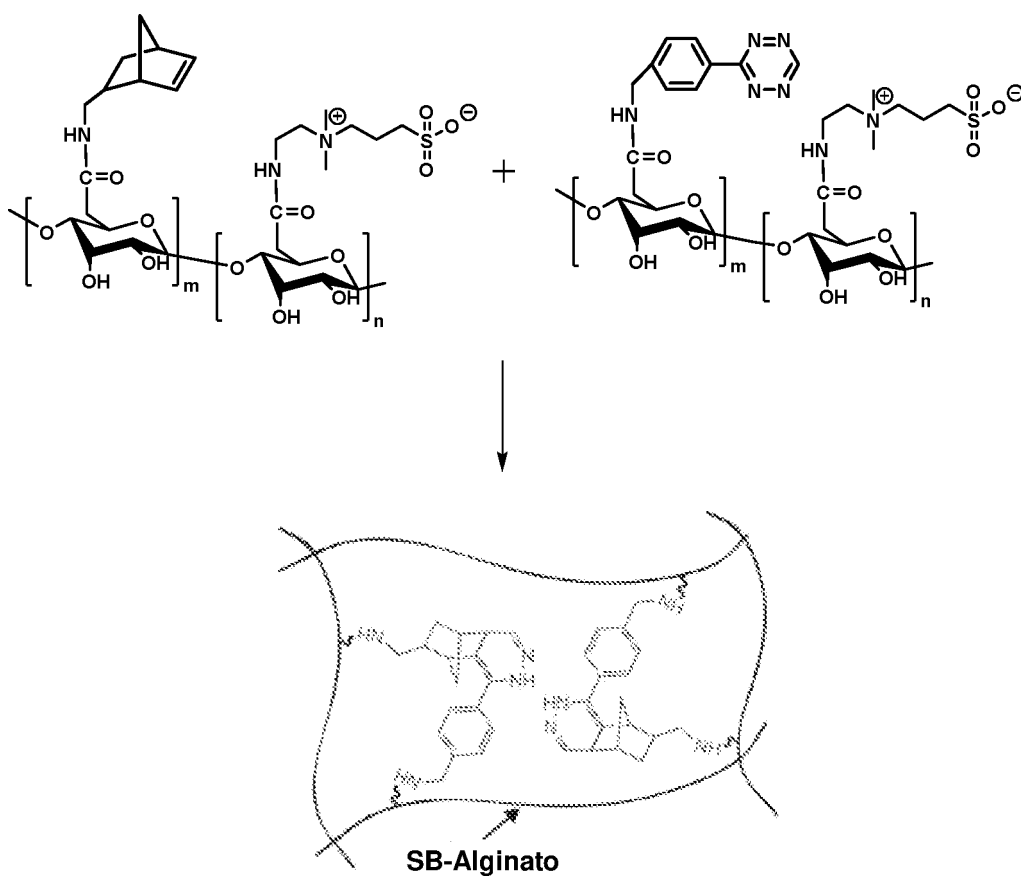
[00234] Os hidrogéis de acordo com a presente invenção podem ser preparados de acordo com os Esquemas A e B.

#### Esquema A





Esquema B



[00235] Outro aspecto da presente invenção refere-se a uma cápsula compreendendo o hidrogel da presente invenção e um agente te-

rapêutico encapsulado no hidrogel.

[00236] Uma "cápsula", como usada neste documento, refere-se a uma partícula tendo um diâmetro médio de cerca de 150  $\mu\text{m}$  a cerca de 5 cm. Em uma modalidade, as cápsulas da presente invenção têm um diâmetro médio de cerca de 150  $\mu\text{m}$  a cerca de 8 mm. Uma "microcápsula", como referida neste documento, tem um diâmetro médio de cerca de 150  $\mu\text{m}$  a cerca de 1000  $\mu\text{m}$ . A cápsula ou microcápsula é formada pelos polímeros, matriz polimérica ou hidrogéis como descritos deste documento. A cápsula pode compreender um núcleo de hidrogel reticulado que está rodeado por um ou mais invólucros poliméricos, uma ou mais camadas de hidrogel reticulado, um revestimento de hidrogel reticulado ou uma combinação destes. A cápsula pode ter qualquer forma adequada para encapsulamento celular ou encapsulamento de um agente terapêutico. Formas úteis incluem esferas, formas semelhantes a esferas, esferoides, formas semelhantes a esferoides, elipsoides, formas semelhantes a elipsoides, estadioides, formas semelhantes a um estadioides, discos, formas semelhantes a discos, cilindros, formas semelhantes a cilindros, bastões, formas semelhantes a bastões, cubos, formas semelhantes a cubos, cuboides, formas semelhantes a cuboides, toros, formas semelhantes a toros e superfícies planas e curvas.

[00237] Quando utilizada para encapsulamento de células, a cápsula pode conter uma ou mais células dispersas no hidrogel reticulado, "encapsulando", assim, as células. A taxa de moléculas que entram na cápsula necessária para a viabilidade celular e a taxa de produtos terapêuticos e material residual que sai da membrana da cápsula pode ser selecionada por meio de modulação da permeabilidade da cápsula. A permeabilidade da cápsula também pode ser modificada para limitar a entrada de células imunes, anticorpos e citocinas na cápsula. Geralmente, os métodos conhecidos de formação de cápsulas de hi-

drogel podem produzir cápsulas com entrada limitada de células imunitárias, anticorpos e citocinas na cápsula. Uma vez que diferentes tipos de células têm diferentes requisitos metabólicos, a permeabilidade da cápsula pode ser otimizada com base no tipo de célula encapsulada no hidrogel. O diâmetro das cápsulas é um fator importante que influencia tanto a resposta imune contra as cápsulas celulares como o transporte de massa através da membrana da cápsula.

[00238] O agente terapêutico pode ser qualquer agente biologicamente reativo incluindo, por exemplo e sem limitação, proteínas terapêuticas, peptídeos, anticorpos ou fragmentos destes, anticorpos miméticos e outras moléculas de ligação, ácidos nucleicos, moléculas pequenas, hormônios, fatores de crescimento, fatores angiogênicos, citocinas e agentes anti-inflamatórios.

[00239] Os tipos de drogas (ou agentes terapêuticos) que podem ser administrados utilizando as cápsulas e microcápsulas como descritas neste documento são numerosos e incluem tanto os compostos de peso molecular pequeno na faixa de tamanho de 100 daltons a cerca de 1.000 daltons, quanto as drogas macromoleculares maiores, tais como drogas peptídicas e proteicas na faixa de tamanho de cerca de 1.000 daltons até cerca de 100.000 daltons, e mais. As cápsulas feitas dos polímeros e hidrogéis descritos neste documento são particularmente adequadas para administrar drogas com doses eficazes relativamente baixas, por exemplo, na faixa de microgramas/dia, nanogramas/dia e até mesmo picogramas/dia.

[00240] Agentes terapêuticos de proteína e/ou peptídeo que podem estar contidos na cápsula para distribuição após implantação num sujeito incluem, sem limitação, hormônios peptídicos tais como insulina, glucagon, hormônio da paratireoide, calcitonina, vasopressina, renina, prolactina, hormônio do crescimento, as gonadotrofinas, incluindo gonadotrofina coriônicas, hormônio estimulante dos folículos, hormônio

estimulante da tireoide e hormônio luteinizante; enzimas fisiologicamente ativas tais como transferases, hidrolases, liases, isomerases, fosfatases, glicosidases, superóxido dismutase, fator VIII, ativadores do plasminogênio e outros agentes terapêuticos incluindo fatores proteicos, tais como fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento semelhante à insulina, fator de necrose tumoral, fatores de crescimento transformadores, fatores de crescimento de fibroblastos, fatores de crescimento derivados de plaquetas, eritropoietina, fatores estimulantes de colônia, proteínas morfogenéticas ósseas, interleucinas e interferons. Macromoléculas não proteicas, particularmente incluindo polisacarídeos, polímeros de ácido nucleico e metabólitos secundários terapêuticos, incluindo produtos vegetais tais como vinblastina, vincristina, taxol e semelhantes, também podem ser administradas utilizando o presente sistema. Compostos de baixo peso molecular também podem ser administrados.

[00241] Em uma modalidade, o agente terapêutico é um agente biológico produzido e/ou secretado ou liberado do tecido e/ou uma preparação de células encapsuladas dentro ou residindo dentro da cápsula como descrito neste documento. As células podem compreender células que ocorrem naturalmente ou geneticamente manipuladas, que podem estar na forma de células únicas e/ou aglomerados de células. Em uma modalidade, as células dentro da cápsula secretam um ou mais fatores biológicos que são úteis no tratamento de uma doença ou condição. Estes fatores são secretados das células, liberados do hidrogel ou da camada polimérica da cápsula, e são entregues ou difundidos para as células, tecido ou órgão alvo que os necessitem. As células adequadas incluem, sem limitação, um ou mais tipos de células selecionadas do grupo consistindo de células do músculo liso, miócitos cardíacos, plaquetas, células epiteliais, células endoteliais, células uroteliais, fibroblastos, fibroblastos embrionários, mioblastos, condrócitos,

condroblastos, osteoblastos, osteoclastos, queratinócitos, hepatócitos, células do duto biliar, células das ilhotas pancreáticas, tireoide, parati-reoide, adrenal, hipotalâmica, pituitária, células testiculares, ováricas, glândulas salivares, adipócitos, células tronco, incluindo células tronco mesenquimais, células neuronais, células progenitoras endoteliais, células hematopoiéticas, células tronco embrionárias, células-tronco pluripotentes induzidas ou células derivadas de tais células tronco. Células adequadas incluem células xenogênicas, autólogas ou alogênicas. As células podem ser células primárias ou células derivadas da cultura e expansão de uma célula obtida de um sujeito. As células também podem ser células imortalizadas.

[00242] Em uma modalidade, as células são células secretoras de insulina. Uma célula secretora de insulina é uma célula que produz insulina, de preferência em resposta aos níveis de glicose. Células secretoras de insulina incluem células de ilhotas pancreáticas, células produtoras de insulina derivadas de células-tronco e células geneticamente modificadas para produzir insulina. Em uma modalidade, as células são células secretoras de insulina de mamífero. Em uma modalidade, as células são células secretoras de insulina humanas. Em uma modalidade, as células são células de ilhotas pancreáticas humanas. Células de ilhotas são células endócrinas derivadas de um pâncreas de mamífero. As células de ilhotas incluem células alfa que secretam glucagon, células beta que secretam insulina e amilina, células delta que secretam somatostatina, células PP que secretam polipeptídeo pancreático, ou células épsilon que secretam grelina. O termo inclui populações homogêneas e heterogêneas dessas células. Em modalidades preferidas, uma população de células de ilhotas contém pelo menos células beta.

[00243] Métodos de isolamento de células de ilhotas pancreáticas que são adequados para encapsulamento na cápsula como descrito

neste documento são conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, Field et al., Transplantation 61:1554 (1996); Linetsky et al., Diabetes 46:1120 (1997), que são incorporados por referência na sua totalidade). O tecido pancreático fresco pode ser dividido por picagem, trituração, cominuição e/ou digestão com colagenase. As ilhotas podem então ser isoladas das células e materiais contaminantes por procedimentos de lavagem, filtragem, centrifugação ou separação. Métodos e aparelhos para o isolamento e purificação de células de ilhotas são descritos nas Patente US N° 5,447,863 de Langley, Patente US N° 5,322,790 de Scharp et al., Patente US N° 5,273,904 de Langley e Patente US N° 4,868,121 de Scharp et al., que são incorporadas neste documento por referência na sua totalidade. As células pancreáticas isoladas podem, opcionalmente, ser cultivadas antes da inclusão na cápsula de hidrogel, utilizando qualquer modo adequado de cultura de células de ilhotas, como conhecido na técnica. Ver, por exemplo, Patente U.S. N° 5,821,121 de Brothers, que é incorporada por referência em sua totalidade. Células isoladas podem ser cultivadas em um meio sob condições que ajudem a eliminar componentes antigênicos. As células produtoras de insulina também podem ser derivadas de células-tronco e linhagens celulares e podem ser células geneticamente modificadas para produzir insulina. Ver, por exemplo, a Publicação do Pedido de Patente US N° 20040005301 de Goldman e a Patente US N° 9.624.472 de Firpo, que são incorporadas por referência em sua totalidade.

[00244] Como notado acima, células adequadas incluem células progenitoras e/ou tronco. Células-tronco adequadas podem ser células ou populações celulares pluripotentes, multipotentes, oligopotentes ou unipotentes, e incluem células tronco embrionárias, células de epiblasto, células de ectoderme primitivas e células germinativas primordiais. Em outras modalidades, células tronco adequadas também incluem

células tronco pluripotentes induzidas (iPS), que são células-tronco pluripotentes derivadas de uma célula não pluripotente. Ver Zhou et al., *Cell Stem Cell* 4:381-384 (2009); Yu et al., *Science* 324(5928):797-801 (2009); Yu et al., *Science* 318(5858):1917-20 (2007); Takahashi et al., *Cell* 131:861-72 (2007); e Takahashi and Yamanaka, *Cell* 126:663-76 (2006), que são incorporados neste documento por referência em sua totalidade. De acordo com esta modalidade, a cápsula pode ainda compreender os fatores de crescimento e diferenciação adequados para promover a diferenciação de células tronco em uma população desejada de células capazes de produzir e liberar o agente terapêutico de interesse.

[00245] As células adequadas para encapsulação na cápsula descrita neste documento podem ser derivadas de qualquer animal capaz de gerar as células desejadas. Os animais dos quais as células são colhidas podem ser vertebrados ou invertebrados, mamíferos ou não mamíferos, seres humanos ou não humanos. Exemplos de fontes animais incluem, mas não estão limitados a, primata, roedor, canino, felino, equino, bovino ou porcino. As células podem ser obtidas ou compreender uma preparação de células primárias ou preparações de células imortalizadas. As células encapsuladas podem ser isoladas da mesma espécie que o receptor do implante ou de uma espécie diferente do receptor do implante.

[00246] Em algumas modalidades, a cápsula descrita neste documento compreende uma densidade celular entre aproximadamente  $1 \times 10^5$  ou  $1 \times 10^6$  células/ml a cerca de  $1 \times 10^{10}$  células/mL ou mais. Em uma modalidade, a capacidade de retenção de células da cápsula baseia-se, pelo menos em parte, no tamanho da cápsula. Em uma modalidade, a membrana da cápsula impede que as células no hidrogel escapem da cápsula. As células são capazes de sobreviver *in vivo* na cápsula por pelo menos um mês, dois meses, três meses, quatro me-

ses, cinco meses, seis meses, sete meses, oito meses, nove meses, dez meses, onze meses, doze meses ou um ano ou mais com uma funcionalidade que representa pelo menos cerca de 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% da função expressa no momento em que as células são introduzidas na cápsula ou no momento em que as células se desenvolvem completamente e/ou amadurecem na cápsula, por exemplo, implantação de células progenitoras que necessitam desenvolver ou amadurecer mais a células funcionais *in vivo*. Em algumas modalidades, as células ou a preparação de células no sistema expandem-se dentro da cápsula para aumentar a densidade celular e/ou a função celular após a implantação do sistema *in vivo*.

[00247] Quando a cápsula contém células ou uma preparação de células, fatores adicionais de crescimento e/ou de diferenciação específicos para a célula podem ser adicionados ao hidrogel ou solução polimérica, para aumentar o crescimento, diferenciação e sobrevivência das células. Esses fatores incluem suplementos (por exemplo, glutamina, aminoácidos não essenciais), fatores de crescimento (por exemplo, fatores de crescimento epidérmico, fatores de crescimento de fibroblastos, fator de crescimento transformador/proteínas morfogenéticas ósseas, fatores de crescimento derivados de plaquetas, fatores de crescimento de insulina, citocinas), proteínas da matriz extracelular (por exemplo, fibronectina, laminina, heparina, colágeno, glicosaminoglicano, proteoglicano, elastina, derivados de quitina, fibrina e fibrinogênio), fatores angiogênicos (por exemplo, FGF, bFGF, FGF ácido (aFGF), FGF-2, FGF-4, EGF, PDGF, TGF-beta, angiopoietina-1, angiopoietina-2, fator de crescimento placentário (PIGF), VEGF e PMA (forbol 12-miristato 13-acetato)), e fatores de sinalização e/ou fatores de transcrição.

[00248] Outro aspecto da presente invenção é voltado a um método de administração de um agente terapêutico a um sujeito. Este método envolve administrar a cápsula compreendendo o hidrogel e um agente terapêutico encapsulado pelo hidrogel ao sujeito.

[00249] A célula descrita neste documento pode ser utilizada para tratar uma variedade de doenças e condições que requerem um fornecimento contínuo de uma substância ou substâncias biologicamente ativas ao sujeito. A cápsula pode conter misturas homogêneas ou heterogêneas de agentes e/ou células biologicamente ativos, ou células que produzem uma ou mais substâncias biologicamente ativas de interesse. Os agentes e/ou células biologicamente ativos são totalmente encapsulados dentro da camada de hidrogel da cápsula. Uma tal camada exterior semipermeável permite que a substância biologicamente ativa encapsulada de interesse (por exemplo, insulina, glucagon, polipeptídeo pancreático e similares, no caso do tratamento da diabetes) passe para fora do sistema, tornando a substância ativa disponível para as células-alvo fora do sistema e no corpo do sujeito receptor. Em uma modalidade, a membrana da cápsula é uma membrana semipermeável que permite que os nutrientes presentes naturalmente no sujeito passem através da membrana para fornecer nutrientes essenciais às células presentes no hidrogel. Ao mesmo tempo, uma membrana semipermeável impede que as células do sujeito receptor, mais particularmente, as células de seu sistema imunitário, passem através da cápsula para danificar as células do sistema. Por exemplo, no caso da diabetes, essa abordagem pode permitir que a glicose e o oxigênio (por exemplo, contidos no corpo) estimulem as células produtoras de insulina da cápsula a liberar insulina, conforme exigido pelo corpo em tempo real, evitando que as células do sistema imunológico do hospedeiro reconheçam e destruam as células implantadas.

[00250] Outro aspecto da presente invenção é voltado a um método

de tratamento de um sujeito diabético. Este método envolve selecionar um sujeito com diabetes, e implantar a cápsula compreendendo o hidrogel e um agente terapêutico encapsulado pelo hidrogel no sujeito. De acordo com esta modalidade, a cápsula contém uma preparação de células secretoras de insulina encapsuladas no hidrogel, e o agente terapêutico administrado ao sujeito é insulina.

[00251] De acordo com uma modalidade deste aspecto da invenção, o sujeito com diabetes tem diabetes tipo 1 (também chamado diabetes juvenil). Em outra modalidade, o sujeito tem diabetes tipo 2. Em outra modalidade, o sujeito tem diabetes monogênica (MODY, *maturity onset diabetes of the young*).

[00252] A cápsula pode ser implantada cirurgicamente nos sujeitos. Em uma modalidade, a cápsula é implantada utilizando técnicas cirúrgicas minimamente invasivas, tais como a laparoscopia. A cápsula pode ser implantada percutaneamente, subcutaneamente, intraperitonealmente, intratoricamente, intramuscularmente, intra-articularmente, intraocularmente ou intracerebralmente, dependendo do agente terapêutico a ser administrado, da condição a ser tratada e do tecido ou órgão visados para administração.

[00253] Sujeitos que podem ser tratados com a cápsula de acordo com a presente invenção incluem mamíferos (por exemplo, um humano, cavalo, porco, coelho, cão, ovelha, cabra, primata não humano, vaca, gato, porquinho da índia ou roedor), peixes, aves, répteis e anfíbios. O termo não denota uma determinada idade ou sexo. Assim, sujeitos adultos e recém-nascidos, bem como fetos, do sexo masculino ou feminino, devem ser abrangidos. Em algumas modalidades, o sujeito é afligido por uma doença ou distúrbio. O termo "sujeito" inclui sujeitos humanos e veterinários.

[00254] Outro aspecto da presente invenção refere-se a superfícies revestidas com os polímeros, redes poliméricas e hidrogéis descritos

neste documento. Os polímeros, redes poliméricas e hidrogéis podem ser vantajosamente utilizados para revestir superfícies de uma variedade de dispositivos incluindo, por exemplo, dispositivos médicos para fornecer superfícies biocompatíveis, não fibróticas e não incrustantes. Por conseguinte, noutro aspecto, a invenção fornece dispositivos e materiais que têm uma superfície (isto é, uma ou mais superfícies) à qual foram aplicados (por exemplo, revestidos, covalentemente acoplados, ionicamente associados, hidrofobicamente associados) um ou mais polímeros, redes poliméricas, ou hidrogéis da invenção. Dispositivos e carreadores representativos que podem ser vantajosamente tratados ou revestidos com os polímeros e redes poliméricas descritos neste documento incluem: partículas (por exemplo, nanopartículas), tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir, ou incorporando os polímeros ou redes poliméricas descritos neste documento; um carreador de drogas, tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir ou incorporando os polímeros ou redes poliméricas descritos neste documento; um sistema de entrega de gene não-viral tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir, ou incorporando os polímeros ou redes poliméricas descritos neste documento; um biossensor tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir, ou incorporando os polímeros ou redes poliméricas descritos neste documento; dispositivos para bioprocessos ou biosseparações, tais como membranas para suspensão microbiana, separação de hormônios, fracionamento de proteínas, separação de células, tratamento de águas residuais, biorreatores de oligossacarídeos, ultrafiltração de proteínas e processamento de produtos lácteos tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir, ou incorporando as redes poliméricas ou polímeros descritos neste documento; sensor implantável tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir, ou incorporando os polímeros ou redes poliméricas descritos neste documento; sensor

subcutâneo tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir, ou incorporando os polímeros ou redes poliméricas descritos neste documento; um implante, como um implante mamário, implante coclear e implante dentário, tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir, ou incorporando as redes poliméricas ou polímeros descritos neste documento; um andaime de tecido tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir, ou incorporando os polímeros ou redes poliméricas descritos neste documento; dispositivos médicos implantáveis ativos, tais como uma articulação artificial, válvula cardíaca artificial, vasos sanguíneos artificiais, marca-passo, dispositivo de assistência ventricular (LVAD), enxerto de artéria e stent tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir ou incorporando o polímeros ou redes poliméricas descritos neste documento; e dispositivos médicos, tais como um tubo de drenagem do ouvido, tubo de alimentação, tubo de drenagem de glaucoma, shunt cerebral, ceratoprótese, tubo de orientação neural, cateter urinário, adesivo de tecido e guia de raio-x, tendo uma superfície tratada com, modificada para incluir, ou incorporando os polímeros ou rede polimérica descritos neste documento.

[00255] As cápsulas, produtos, dispositivos e superfícies feitos de ou revestidos com os polímeros ou rede polimérica como descritos neste documento podem permanecer substancialmente isentos de efeitos fibróticos, ou podem continuar a exibir uma resposta de corpo estranho reduzida, por 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas 5 semanas 6 semanas 7 semanas 8 semanas 9 semanas 10 semanas 2 meses 3 meses 4 meses 5 meses 6 meses 7 meses 8 meses 9 meses 10 meses 11 meses 1 ano, 2 anos ou mais após a administração ou implantação em um sujeito.

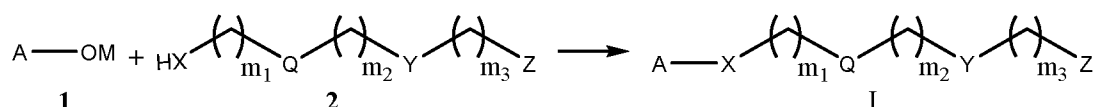
### **Métodos de Síntese**

[00256] Outro aspecto da presente invenção refere-se a métodos

de preparação dos monômeros e polímeros como descritos neste documento.

[00257] Consequentemente, os polímeros compreendendo um ou mais monômeros de Fórmula (I) podem ser preparados de acordo com os Esquemas 1-2 delineados abaixo.

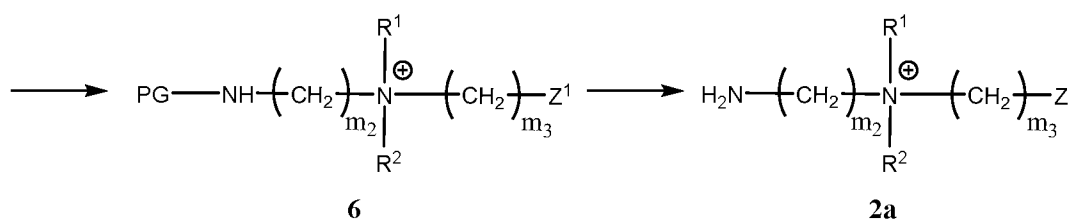
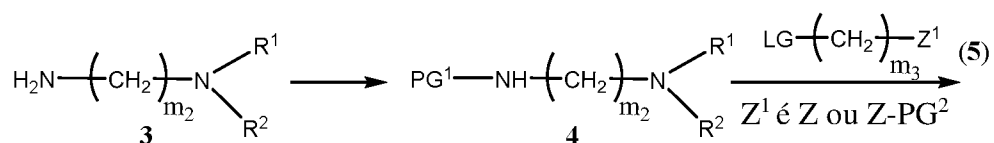
### Esquema 1



M é metal

[00258] A reação entre o sal de sacarídeo (1) e o composto (2) leva à formação dos polímeros de sacarídeos compreendendo um ou mais monômeros modificados covalentemente de Fórmula (I).

### Esquema 2

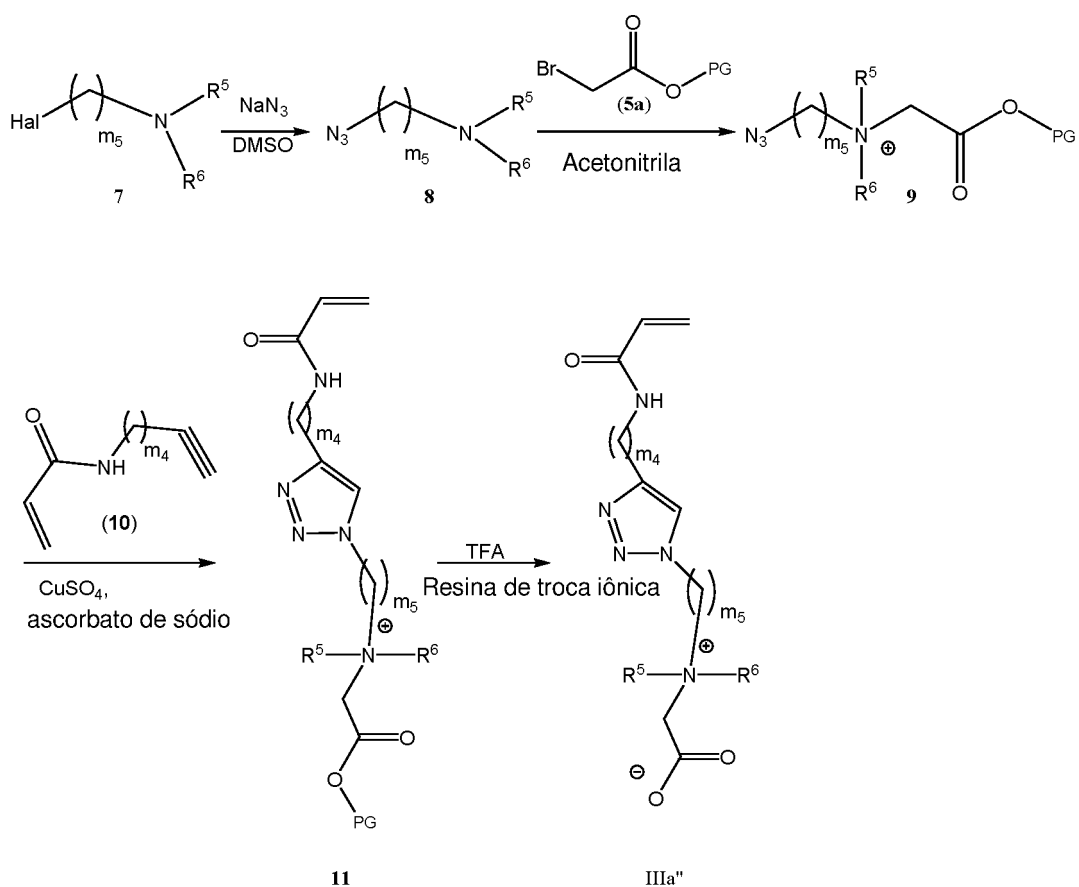


[00259] A amina (3) pode ser protegida usando um grupo protetor adequado. O acoplamento da amina protegida (4) com o composto (5) leva à formação do composto (6). A reação de acoplamento pode ser realizada em uma variedade de solventes, por exemplo em acetonitrila, metanol, etanol, cloreto de metileno (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), tetra-hidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), ou outros solventes deste tipo ou em mistura destes solventes. Durante o processo de acoplamento, os ácidos carboxílicos não participantes no composto 5 podem ser protegidos por um grupo protetor adequado que possa ser removido seleti-

vamente mais tarde, caso desejado. Uma descrição detalhada destes grupos e a sua seleção e química estão contidos em "The Peptides, Vol. 3", Gross e Meinenhofer, Eds., Academic Press, Nova Iorque, 1981, que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade. Assim, grupos protetores úteis para o grupo amino são benzi-  
loxycarbonil (Cbz), t-butiloxycarbonil (t-BOC), 2,2,2-tricloroetoxycarbonil (Troc), t-amiloxycarbonila, 4-metoxibenziloxycarbonila, 2- (triclorsilil)etoxycarbonila, 9-fluorenilmetoxycarbonila (Fmoc), ftaloíla, acetil (Ac), formila, trifluoroacetila e similares. A remoção dos grupos protetores leva à formação do composto (2a).

[00260] Outro aspecto da presente invenção refere-se a métodos para sintetizar monômeros de Fórmula (III). Estes monômeros podem ser preparados de acordo com os Esquemas 3-5 descritos abaixo.

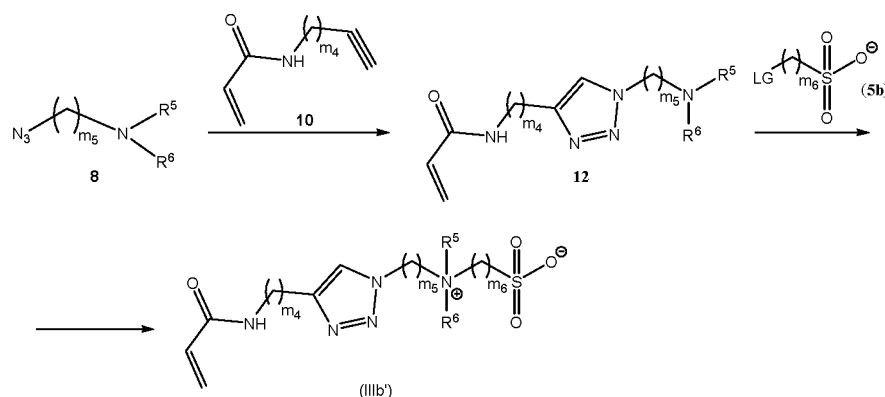
### Esquema 3



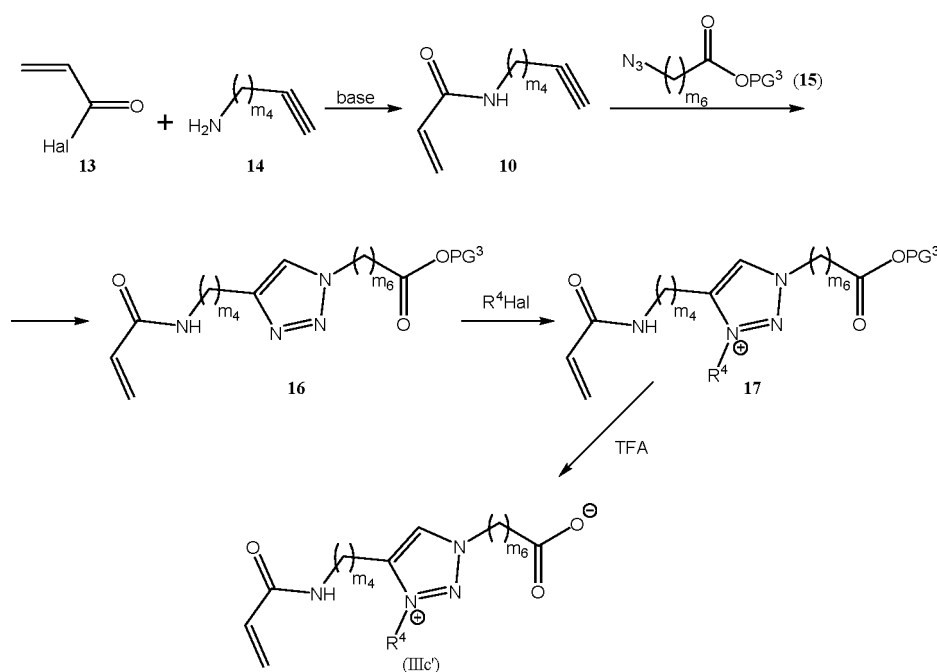
[00261] A reação entre o composto (7) e a azida de sódio conduz à

formação da azida (**8**). A reação pode ser realizada em uma variedade de solventes, por exemplo em dimetilssulfóxido (DMSO), metanol, etanol, dimetilformamida (DMF), ou outros destes solventes ou em mistura destes solventes. A reação entre a azida (**8**) e o composto (**5a**) leva à formação do composto (**9**). A reação pode ser realizada em uma variedade de solventes, por exemplo em acetonitrila, metanol, etanol, cloreto de metileno ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), tetra-hidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), ou outros solventes deste tipo ou em mistura destes solventes. Durante este processo, os ácidos carboxílicos não participantes no composto **5a** podem ser protegidos por um grupo protetor adequado que possa ser removido seletivamente mais tarde, caso desejado. Uma descrição detalhada destes grupos e a sua seleção e química estão contidos em "The Peptides, Vol. 3", Gross e Meinenhofer, Eds., Academic Press, Nova Iorque, 1981, que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade. Assim, grupos protetores úteis para o grupo amino são benziloxicarbonil (Cbz), t-butiloxicarbonil (t-BOC), 2,2,2-tricloroetoxicarbonil (Troc), t-amiloxicarbonila, 4-metoxibenziloxicarbonila, 2-(triclorossilil)etoxicarbonila, 9-fluorenilmetoxicarbonila (Fmoc), ftaloila, acetila (Ac), formila, trifluoroacetila e similares.

[00262] A reação entre azida (**9**) e alcino (**10**) leva à formação de triazol (**11**). A reação pode ser realizada em uma variedade de solventes, por exemplo em dimetilssulfóxido (DMSO), metanol, etanol, dimetilformamida (DMF), ou outros destes solventes ou em mistura destes solventes. A remoção dos grupos protetores leva à formação do composto (IIIa").

Esquema 4

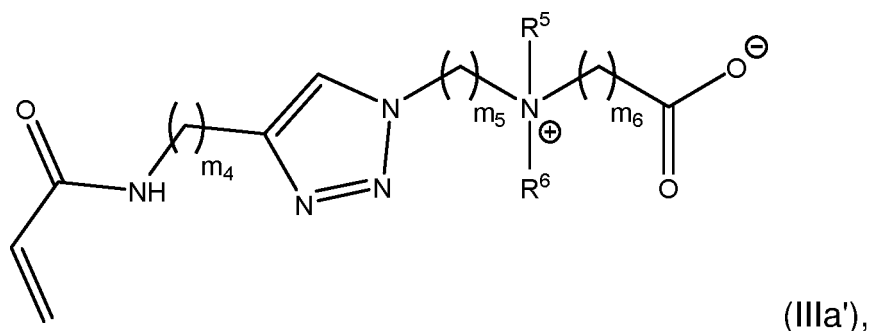
[00263] A reação entre a azida (**8**) e alcino (**10**) leva à formação do triazol (**12**). A reação pode ser realizada em uma variedade de solventes, por exemplo em acetonitrila, metanol, etanol, cloreto de metileno (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), tetra-hidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), ou outros solventes deste tipo ou em mistura destes solventes. A reação entre a azida (**12**) e o composto (**5b**) leva à formação do monômero (**IIIb'**). A reação pode ser realizada em uma variedade de solventes, por exemplo em acetonitrila, metanol, etanol, cloreto de metileno (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), tetra-hidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), ou outros solventes deste tipo ou em mistura destes solventes.

Esquema 5

[00264] O alcino (10) pode ser preparado fazendo reagir o composto (13) com alcino (14) na presença de uma base. Esta reação pode ser realizada em uma variedade de solventes, por exemplo em acetonitrila, metanol, etanol, cloreto de metileno ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), tetra-hidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), ou outros solventes deste tipo ou em mistura destes solventes. A reação entre o alcino (10) e a azida (15) leva à formação do triazol (16). Durante este processo, os ácidos carboxílicos não participantes no composto 5a podem ser protegidos por um grupo protetor adequado que possa ser removido seletivamente mais tarde, caso desejado. Uma descrição detalhada destes grupos e a sua seleção e química estão contidos em "The Peptides, Vol. 3", Gross e Meinenhofer, Eds., Academic Press, Nova Iorque, 1981, que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade. Assim, grupos protetores úteis para o grupo amino são benziloxicarbonil (Cbz), t-butiloxicarbonil (t-BOC), 2,2,2-tricloroetoxicarbonil (Troc), t-amiloxicarbonila, 4-metoxibenziloxicarbonila, 2- (triclorossilil)etoxicarbonila, 9-fluorenilmetoxicarbonila (Fmoc), ftaloila, acetil (Ac), formila, trifluoroacetila e similares. A reação pode ser realizada em uma variedade de solventes, por exemplo em acetonitrila, metanol, etanol, cloreto de metileno ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), tetra-hidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), ou outros solventes deste tipo ou em mistura destes solventes. Durante este processo, os ácidos carboxílicos não participantes no composto 15 podem ser protegidos por um grupo protetor adequado que possa ser removido seletivamente mais tarde, caso desejado. Uma descrição detalhada destes grupos e a sua seleção e química estão contidos em "The Peptides, Vol. 3", Gross e Meinenhofer, Eds., Academic Press, Nova Iorque, 1981, que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade. Assim, grupos protetores úteis para o grupo amino são benziloxicarbonil (Cbz), t-butiloxicarbonil (t-BOC), 2,2,2-tricloroetoxicarbonil (Troc), t-

amiloxicarbonila, 4-metoxibenziloxicarbonila, 2- (triclórossil)etoxicarbonila, 9-fluorenilmetoxicarbonil (Fmoc), ftaloila, acetil (Ac), formila, trifluoroacetil e similares. A azida (**12**) pode ser alquilada com haleto de alquil ( $R^4\text{Hal}$ ) para formar o composto (**17**). A reação pode ser realizada em uma variedade de solventes, por exemplo em acetonitrila, metanol, etanol, cloreto de metileno ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), tetra-hidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), ou outros solventes deste tipo ou em mistura destes solventes. A remoção dos grupos de proteção leva à formação do monômero (**IIIc'**).

[00265] Outro aspecto da invenção refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (**IIIa'**):



[00266] em que

[00267]  $m_4$  é 1 a 50;

[00268]  $m_5$  é 0 a 10;

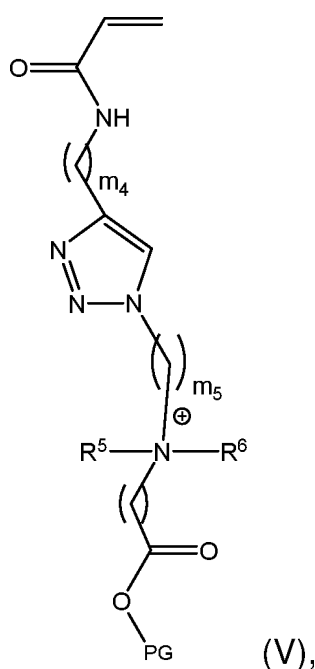
[00269]  $m_6$  é 1 a 50;

[00270]  $R^5$  é  $\text{C}_{1-20}$  alquila; e

[00271]  $R^6$  é  $\text{C}_{1-20}$  alquila.

[00272] Este processo inclui:

[00273] fornecer um composto de Fórmula (V):



[00274] em que

[00275] PG é um grupo de proteção adequado; e

[00276] formar o monômero de Fórmula (IIIa') a partir do composto de Fórmula (V).

[00277] Qualquer grupo de proteção adequado (PG) pode ser usado. Uma descrição detalhada destes grupos e a sua seleção e química estão contidos em "The Peptides, Vol. 3", Gross e Meinenhofer, Eds., Academic Press, Nova Iorque, 1981, que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade.

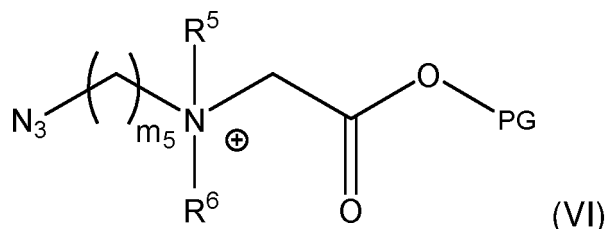
[00278] Em uma modalidade, o PG é selecionado do grupo consistindo de t-butiloxicarbonil (t-BOC), 9-fluorenilmetoxicarbonil (Fmoc), benziloxicarbonil (Cbz), 2,2,2-tricloroetoxicarbonil (Troc), t-amiloxicarbonila, 4-metoxibenziloxicarbonila, 2-(triclorossilil)-etoxicarbonila, ftaloila, acetil (Ac), formil e trifluoroacetila.

[00279] Uma modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIa'), em que a referida formulação do monômero de Fórmula (IIIa') compreende a reação do composto de Fórmula (V) com um agente de remoção do grupo protetor adequado.

[00280] Outra modalidade refere-se a um processo para a prepara-

ção de um monômero de Fórmula (IIIa') que inclui adicionalmente:

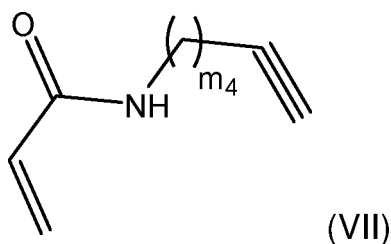
[00281] fornecer um composto de Fórmula (VI):



[00282] e

[00283] formar o composto de Fórmula (V) a partir do composto de Fórmula (VI).

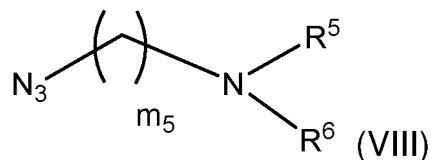
[00284] Uma outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIa'), em que a referida formulação do composto de Fórmula (V) compreende a reação do composto de Fórmula (VI) com o composto de Fórmula (VII):



[00285] sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (V).

[00286] Outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIa') que inclui adicionalmente:

[00287] fornecer um composto de Fórmula (VIII):

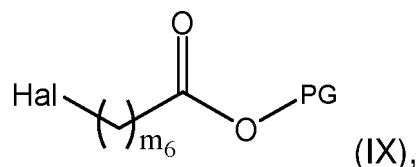


[00288] e

[00289] formar o composto de Fórmula (VI) a partir do composto de Fórmula (VIII).

[00290] Uma outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIa'), em que a referida formu-

lação do composto de Fórmula (VI) compreende a reação do composto de Fórmula (VIII) com o composto de Fórmula (IX):

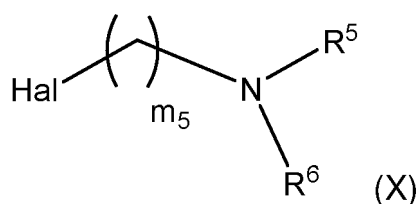


[00291] em que Hal é halogênio,

[00292] sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (VI).

[00293] Ainda outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIa') que inclui adicionalmente:

[00294] fornecer um composto de Fórmula (X):



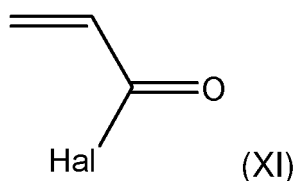
[00295] e

[00296] formar o composto de Fórmula (VIII) a partir do composto de Fórmula (X).

[00297] Uma outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIa'), em que a referida formação do composto de Fórmula (VIII) compreende a reação do composto de Fórmula (X) com azida de metal ( $\text{MN}_3$ ), em que M é qualquer metal adequado, sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (VIII).

[00298] Ainda outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIa') que inclui adicionalmente:

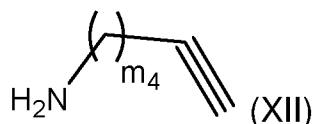
[00299] fornecer um composto de Fórmula (XI):



[00300] e

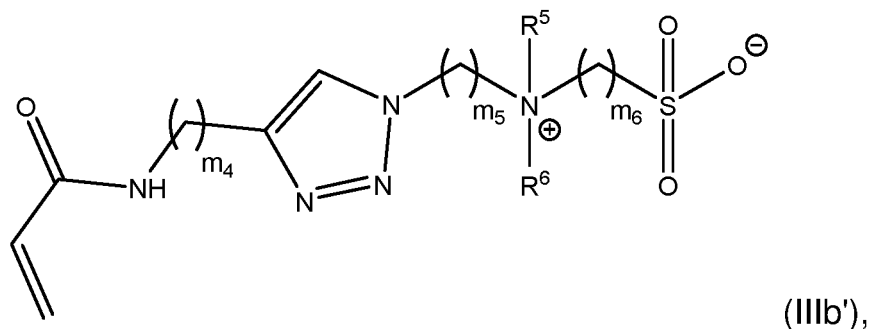
[00301] formar o composto de Fórmula (VII) a partir do composto de Fórmula (XI).

[00302] Uma outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIa'), em que a referida formulação do composto de Fórmula (VII) compreende a reação do composto de Fórmula (XI) com o composto de Fórmula (XII):



[00303] sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (VII).

[00304] Outro aspecto da invenção refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIb'):



[00305] em que

[00306]  $m_4$  é 1 a 50;

[00307]  $m_5$  é 0 a 10;

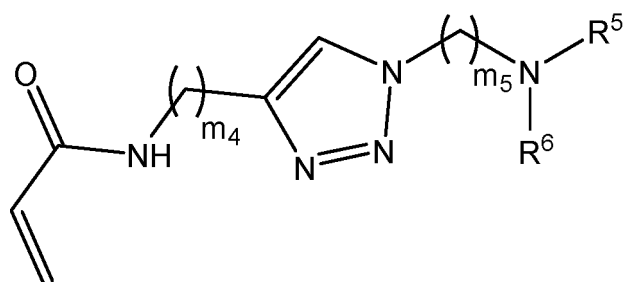
[00308]  $m_6$  é 1 a 50;

[00309]  $R^5$  é  $C_{1-20}$  alquila; e

[00310]  $R^6$  é  $C_{1-20}$  alquila.

[00311] Este processo inclui:

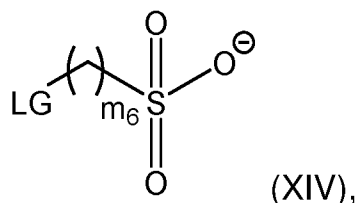
[00312] fornecer um composto de Fórmula (XIII):



(XIII), e

[00313] formar o monômero de Fórmula (IIIb') a partir do composto de Fórmula (XIII).

[00314] Uma modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIb'), em que a referida formação do monômero de Fórmula (IIIb') compreende a reação do composto de Fórmula (XIII) com um composto de Fórmula (XIV):

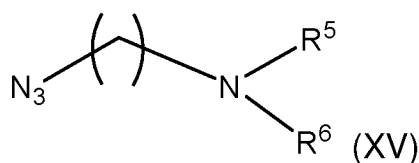


(XIV),

[00315] sob condições eficazes para produzir o monômero de Fórmula (IIIb').

[00316] Outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIb') que inclui adicionalmente:

[00317] fornecer um composto de Fórmula (XV):

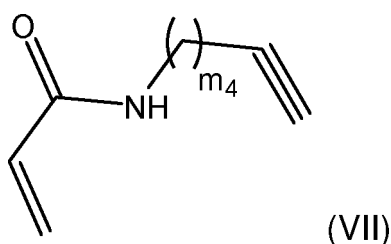


(XV)

[00318] e

[00319] formar o composto de Fórmula (XIII) a partir do composto de Fórmula (XV).

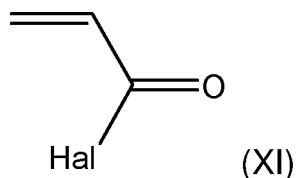
[00320] Uma outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIb'), em que a referida formação do composto de Fórmula (XIII) compreende a reação do composto de Fórmula (XV) com o composto de Fórmula (VII):



[00321] sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (XIII).

[00322] Ainda outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIb') que inclui adicionalmente:

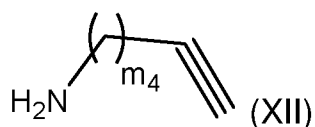
[00323] fornecer um composto de Fórmula (XI):



[00324] e

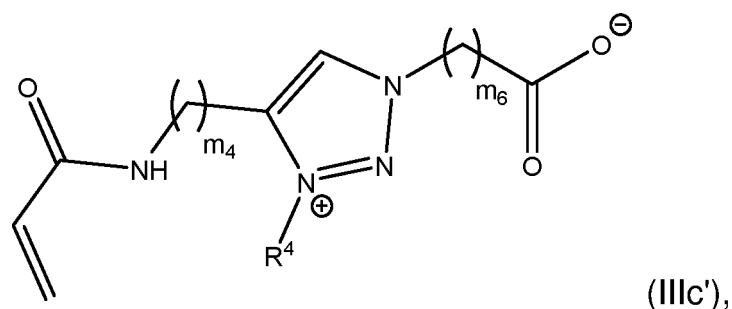
[00325] formar o composto de Fórmula (VII) a partir do composto de Fórmula (XI).

[00326] Uma outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIb'), em que a referida formulação do composto de Fórmula (VII) compreende a reação do composto de Fórmula (XI) com o composto de Fórmula (XII):



[00327] sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (VII).

[00328] Outro aspecto da invenção refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIc'):



[00329] em que

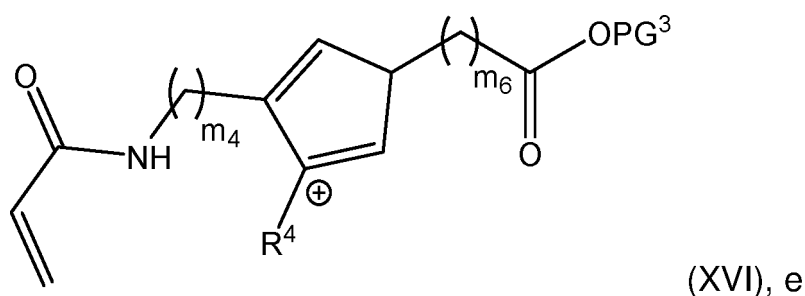
[00330]  $m_4$  é 1 a 50;

[00331]  $m_6$  é 1 a 50;

[00332]  $R^4$  é  $C_{1-20}$  alquila;

[00333] Este processo inclui:

[00334] fornecer um composto de Fórmula (XVI):



[00335] em que

[00336] PG é um grupo de proteção adequado; e

[00337] formar o monômero de Fórmula (IIIc') a partir do composto de Fórmula (XVI).

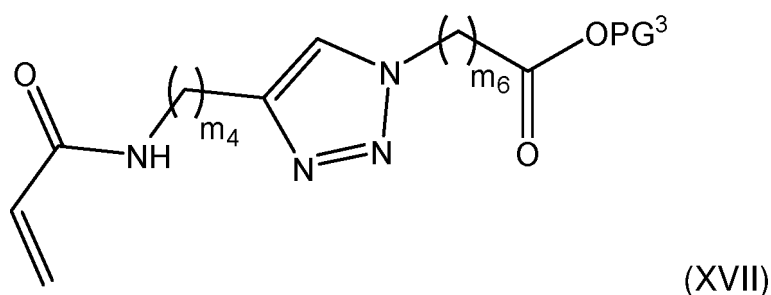
[00338] Qualquer grupo de proteção adequado (PG) pode ser usado. Uma descrição detalhada destes grupos e a sua seleção e química estão contidos em "The Peptides, Vol. 3", Gross e Meinenhofer, Eds., Academic Press, Nova Iorque, 1981, que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade.

[00339] Em uma modalidade, o PG é selecionado do grupo consistindo em t-butiloxicarbonila (t-BOC), 9-fluorenilmetoxicarbonila (Fmoc), benziloxicarbonila (Cbz), 2,2,2-tricloroetoxicarbonila (Troc), t-amiloxicarbonila, 4-metoxibenziloxicarbonila, 2-(triclórossil)etoxicarbonila, ftaloila, acetila (Ac), formila e trifluoroacetila.

[00340] Uma modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIc'), em que a referida formulação do monômero de Fórmula (IIIc') compreende a reação do composto de Fórmula (XVI) com um agente de remoção do grupo protetor adequado.

[00341] Outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIc') que inclui adicionalmente:

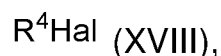
[00342] fornecer um composto de Fórmula (XVII):



[00343] e

[00344] formar o composto de Fórmula (XVI) a partir do composto de Fórmula (XVII).

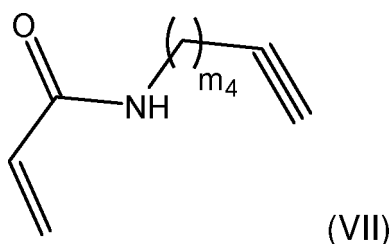
[00345] Uma outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIc'), em que a referida formulação do composto de Fórmula (XVI) compreende a reação do composto de Fórmula (XVII) com o composto de Fórmula (XVIII):



[00346] sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (XVI).

[00347] Outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIc') que inclui adicionalmente:

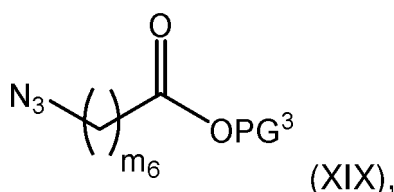
[00348] fornecer um composto de Fórmula (VII):



[00349] e

[00350] formar o composto de Fórmula (XVII) a partir do composto de Fórmula (VII).

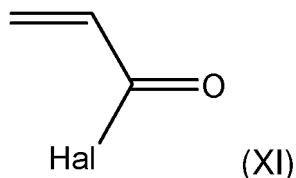
[00351] Uma outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIc'), em que a referida formulação do composto de Fórmula (XVII) compreende a reação do composto de Fórmula (VII) com o composto de Fórmula (XIX):



[00352] sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (XVII).

[00353] Ainda outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIc') que inclui adicionalmente:

[00354] fornecer um composto de Fórmula (XI):

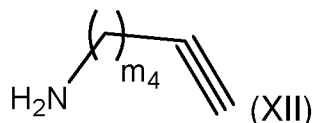


[00355] e

[00356] formar o composto de Fórmula (VII) a partir do composto de Fórmula (XI).

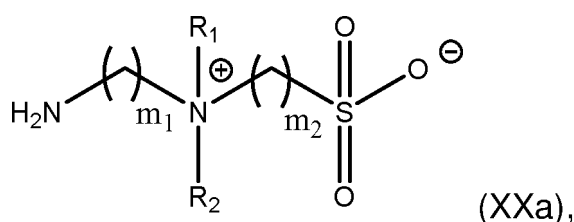
[00357] Uma outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um monômero de Fórmula (IIIc'), em que a referida formulação do composto de Fórmula (VII) compreende a reação do compos-

to de Fórmula (XI) com o composto de Fórmula (XII):



[00358] sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (VII).

[00359] Outro aspecto da invenção refere-se a um processo para a preparação de um composto de Fórmula (XXa):



[00360] em que

[00361]  $m_1$  é 1 a 50;

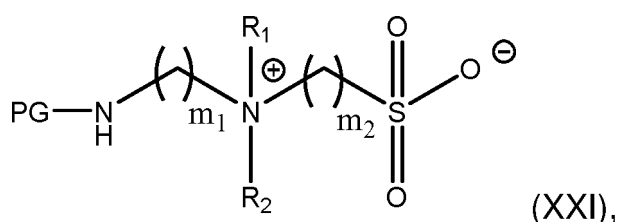
[00362]  $m_2$  é 1 a 10;

[00363]  $R_1$  é  $C_{1-20}$  alquila; e

[00364]  $R_2$  é  $C_{1-20}$  alquila.

[00365] Este processo inclui:

[00366] fornecer um composto de Fórmula (XXI):



[00367] em que

[00368] PG é um grupo de proteção adequado; e

[00369] formar o composto de Fórmula (XXa) a partir do composto de Fórmula (XXI).

[00370] Qualquer grupo de proteção adequado (PG) pode ser usado. Uma descrição detalhada destes grupos e a sua seleção e química estão contidos em "The Peptides, Vol. 3", Gross e Meinenhofer, Eds., Academic Press, Nova Iorque, 1981, que é incorporado neste docu-

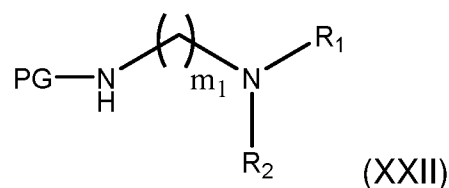
mento por referência em sua totalidade.

[00371] Em uma modalidade, o PG é selecionado do grupo consistindo em t-butiloxicarbonila (t-BOC), 9-fluorenilmetoxicarbonila (Fmoc), benziloxicarbonila (Cbz), 2,2,2-tricloroetoxicarbonila (Troc), t-amiloxicarbonila, 4-metoxibenziloxicarbonila, 2-(triclórossilil)etoxicarbonila, ftaloila, acetila (Ac), formila e trifluoroacetila.

[00372] Uma modalidade refere-se a um processo para preparação de um composto de Fórmula (XXa), em que a referida formação do composto de Fórmula (XXa) compreende a reação do composto de Fórmula (XXI) com um agente de remoção de grupo de proteção adequado.

[00373] Outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um composto de Fórmula (XXa) que inclui ainda:

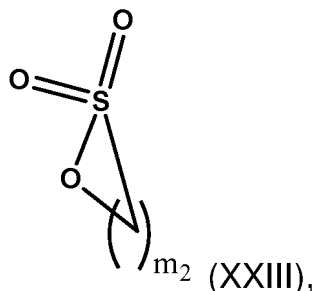
[00374] fornecer um composto de Fórmula (XXII):



[00375] e

[00376] formar o composto de Fórmula (XXI) a partir do composto de Fórmula (XXII).

[00377] Uma outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um composto de Fórmula (XXa), em que a referida formação do composto de Fórmula (XXI) compreende a reação do composto de Fórmula (XXII) com o composto de Fórmula (XXIII):

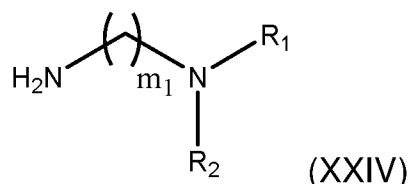


[00378] sob condições eficazes para produzir o composto de Fór-

mula (XXI).

[00379] Ainda outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um composto de Fórmula (XXa) que inclui ainda:

[00380] fornecer um composto de Fórmula (XXIV):

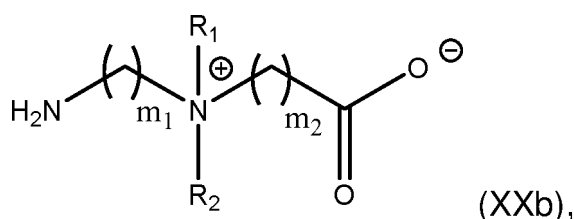


[00381] e

[00382] formar o composto de Fórmula (XXII) a partir do composto de Fórmula (XXIV).

[00383] Uma outra modalidade refere-se a um processo para preparação de um composto de Fórmula (XXa), em que a referida formação do composto de Fórmula (XXII) compreende a reação do composto de Fórmula (XXIV) com um agente de introdução de grupo protetor adequado, sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (XXII).

[00384] Outro aspecto da invenção refere-se a um processo para a preparação de um composto de Fórmula (XXb):



[00385] em que

[00386]  $m_1$  é 1 a 50;

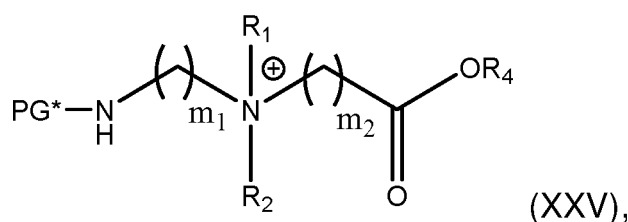
[00387]  $m_2$  é 1 a 10;

[00388]  $R_1$  é  $C_{1-20}$  alquila;

[00389]  $R_2$  é  $C_{1-20}$  alquila.

[00390] Este processo inclui:

[00391] fornecer um composto de Fórmula (XXV):



[00392] em que

[00393] PG\* é um grupo de proteção adequado;

[00394] R<sub>4</sub> é C<sub>1-6</sub> alquila, e

[00395] formar o composto de Fórmula (XXb) a partir do composto de Fórmula (XXV).

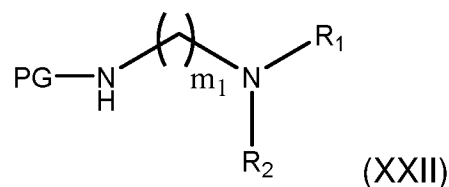
[00396] Qualquer grupo de proteção adequado (PG\*) pode ser usado. Uma descrição detalhada destes grupos e a sua seleção e química estão contidos em "The Peptides, Vol. 3", Gross e Meinenhofer, Eds., Academic Press, Nova Iorque, 1981, que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade.

[00397] Em uma modalidade, o PG\* é selecionado do grupo consistindo em t-butiloxicarbonila (t-BOC), 9-fluorenilmetoxicarbonila (Fmoc), benziloxicarbonila (Cbz), 2,2,2-tricloroetoxicarbonila (Troc), t-amiloxicarbonila, 4-metoxibenziloxicarbonila, 2-(trichlorossilil)etoxicarbonila, ftaloila, acetila (Ac), formila e trifluoroacetila.

[00398] Outra modalidade refere-se a um processo para preparação de um composto de Fórmula (XXb), em que a referida formação do composto de Fórmula (XXb) compreende a reação do composto de Fórmula (XXV) com um agente de remoção de grupo de proteção adequado.

[00399] Outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um composto de Fórmula (XXb) que inclui ainda:

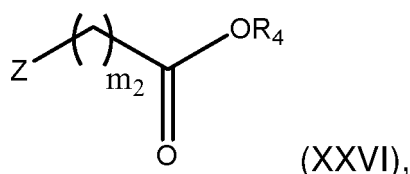
[00400] fornecer um composto de Fórmula (XXII):



[00401] e

[00402] formar o composto de Fórmula (XXV) a partir do composto de Fórmula (XXII).

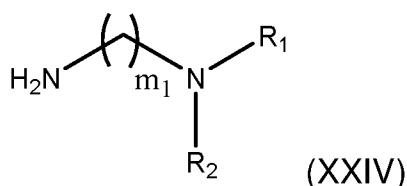
[00403] Outra modalidade refere-se a um processo para preparação de um composto de Fórmula (XXb), em que a referida formação do composto de Fórmula (XXV) compreende a reação do composto de Fórmula (XXII) com um composto de Fórmula (XXVI):



[00404] em que Z é halogênio.

[00405] Ainda outra modalidade refere-se a um processo para a preparação de um composto de Fórmula (XXb) que inclui ainda:

[00406] fornecer um composto de Fórmula (XXIV):



[00407] e

[00408] formar o composto de Fórmula (XXII) a partir do composto de Fórmula (XXIV).

[00409] Uma outra modalidade refere-se a um processo para preparação de um composto de Fórmula (XXb), em que a referida formação do composto de Fórmula (XXII) compreende a reação do composto de Fórmula (XXIV) com um agente de introdução de grupo protetor adequado, sob condições eficazes para produzir o composto de Fórmula (XXII).

## EXEMPLOS

### Materiais para os Exemplos 1-6

[00410] Dicarbonato de di-terc-butila, trietilamina, N,N-dimetiletilenodiamina, cloreto de bário, sulfato de magnésio, hexa-

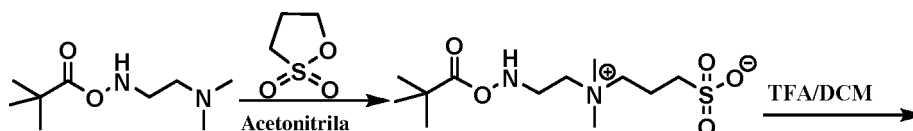
hidrato de cloreto de magnésio, tampão HEPES, éter dietílico, álcool etílico, acetonitrila e diclorometano (DCM) foram obtidos da Sigma-Aldrich. 2-Cloro-4,6-dimetóxi-1,3,5-triazina (CDMT), N-metilmorfolina (NMM), 1,3-propanosultona, e ácido trifluoroacético (TFA) foram adquiridos de Alfa Aesar. Todos os alginatos de sódio, incluindo VLVG (>60% G, 25 kDa MW), SLG20 (>60% G, 75-220 kDa MW), e SLG100 (>60% G, 200-300 kDa MW), foram adquiridos da FMC BioPolymer Co. (Filadélfia, PA). A sílica funcionalizada com grupos ciano foi adquirida da SiliCycle.

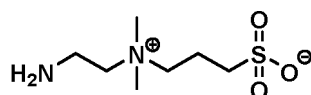
[00411] Camundongos C57BL/6 machos imunocompetentes foram obtidos de Jackson Lab e ratos Sprague-Dawley foram obtidos de Charles River Laboratories. Todos os procedimentos com animais foram aprovados pelo Cornell Institutional Animal Care and Use Committee

### **Exemplo 1 - Síntese de Conjugados de Alginato Baseados em Carboxibetaína e Baseados em Sulfobetaina Zwitteriônicos**

[00412] Adicionou-se dicarbonato de di-terc-butila (10,0 g, 45,8 mmol) e trietilamina (12,8 mL, 91,6 mmol) gota a gota durante 0,5 hora a uma solução de N, N-dimetiletilenodiamina (4,04 g, 45,8 mmol) em álcool etílico (150 mL) a 0°C. A mistura foi agitada durante 1 hora a 0°C e depois durante 18 horas à temperatura ambiente. O precipitado branco foi separado por filtração e o filtrado foi evaporado para se obter um resíduo. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (150 mL) e a solução foi lavada sucessivamente com água. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio anidro e evaporada para se obter N,N-dimetil-2-((pivaloilóxi)amino)etan-1-amina.

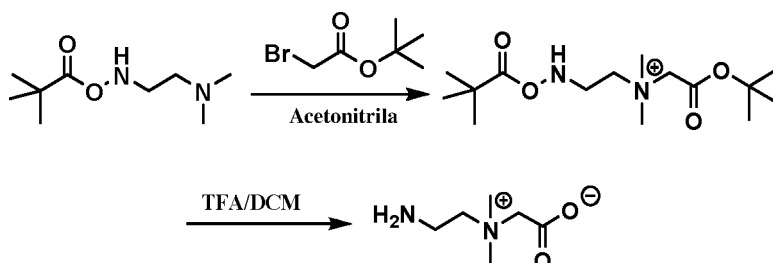
### **Exemplo 2 - Síntese de Material de Sulfobetaina-NH<sub>2</sub>**





[00413] Adicionou-se N,N-dimetil-2-((pivaloilóxi)amino)etan-1-amina (40,0 mmol), 1,3-propanossulfona (4,9 g, 40,0 mmol) e acetonitrila (150 mL) num frasco de fundo redondo de 250 mL. A mistura foi agitada sob atmosfera de nitrogênio durante 48 horas a 40°C. Após a reação, o solvente foi removido por evaporador rotativo. O produto foi precipitado por éter dietílico anidro e lavado com éter dietílico anidro para se obter pó branco. Finalmente, 10,0 g do produto obtido foi tratado com uma mistura de 20 mL de ácido trifluoroacético (TFA) e 20 mL de diclorometano durante a noite à temperatura ambiente, concentrado com evaporador rotativo, precipitado em éter dietílico anidro para obter um pó branco (material de sulfobetaina-NH<sub>2</sub>). <sup>1</sup>H RMN (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ 3,70 (t, 2H), 3,54 (m, 4H), 3,20 (s, 6H), 2,97 (t, 2H), 2,24 (m, 2H).

### Exemplo 3 - Síntese de Material de Carboxilbetaína-NH<sub>2</sub>



[00414] Adicionou-se N,N-dimetil-2-((pivaloilóxi)amino)etan-1-amina (40,0 mmol), bromoacetato de terc-butila (40,0 mmol), e acetonitrila (150 mL) num frasco de fundo redondo de 250 mL. A mistura foi agitada sob atmosfera de nitrogênio durante 48 horas a 40°C. Após a reação, o solvente foi removido por evaporador rotativo. O produto foi precipitado por éter dietílico anidro e lavado com éter dietílico anidro para se obter pó branco. Finalmente, 10,0 g do produto obtido foi tratado com uma mistura de 40 mL de ácido trifluoroacético (TFA) e 40 mL de diclorometano durante a noite à temperatura ambiente, concen-

trado com evaporador rotativo, precipitado em éter dietílico anidro para obter um pó branco (material de carboxibetaína-NH<sub>2</sub>). <sup>1</sup>H RMN (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ 4,31 (s, 2H), 3,99 (m, 2H), 3,55 (m, 2H), 3,36 (s, 6H).

#### **Exemplo 4 - Conjugação de Alginato Baseado em Sulfobetaína e Carboxilbetaína**

[00415] O alginato VLVG (0,5 g) foi dissolvido nos 40 ml de solvente de mistura (30 ml de água DI e 10 ml de acetonitrila). Foram adicionados 2-cloro-4,6-dimetóxi-1,3,5-triazina (CDMT) (225 mg) e N-metilmorfolina (NMM) (280 µl). Em seguida, 0,84 g de material de sulfobetaina-NH<sub>2</sub> foram dissolvidos em 10 ml de água DI e adicionados à mistura. A reação foi agitada durante a noite a 55° C. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto sólido foi redissolvido em água DI. A solução foi filtrada através de uma almofada de sílica funcionalizada com grupos ciano. Esta foi então dialisada contra uma membrana de 10000 MWCO em água DI durante três dias. Finalmente, a água foi removida sob pressão reduzida para se obter alginato modificado com sulfobetaína. O alginato modificado com carboxibetaína foi sintetizado utilizando-se procedimento semelhante ao do alginato modificado com sulfobetaína.

#### **Exemplo 5 - Preparação das Microcápsulas de Alginato Baseadas em Sulfobetaína Zwitteriônica**

[00416] Para preparar solução de alginato, dissolveu-se alginato a 2% (p/v) (VLVG, SLG20 ou SLG100) em solução de NaCl a 0,8% (p/v). Dissolveu-se conjugado de alginato baseado em sulfobetaína a 2% (p/v) em solução de NaCl a 0,8% (p/v). A mistura de 80% (em volume) de conjugado de alginato baseado em sulfobetaína e 20% (em volume) de SLG100 foram misturados para se obter a solução de sulfobetaina-alginato (ou SA).

[00417] Todos os tampões foram esterilizados antes do uso e as soluções de alginato foram esterilizadas por filtração através de um

filtro de 0,2 µm. Microcápsulas de hidrogel de alginato foram preparadas por meio do método de eletropulverização. Resumidamente, um gerador de energia de alta tensão foi conectado a uma agulha de ponta romba. Esta agulha foi ligada a uma seringa de 3 ml que foi presa a uma bomba de seringa que estava orientada verticalmente. A bomba de seringa bombeou a solução de alginato para um prato estéril, aterrado, contendo uma solução de cloreto de bário de 20 mM. Depois das microcápsulas de alginato terem sido formadas, foram recolhidas e depois lavadas com tampão preparado (NaCl 15,43 g, KCl 0,70 g, MgCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O 0,49 g, 50 ml de solução tampão HEPES (1 M) em 2 L de água DI) 3 vezes. As cápsulas de alginato foram deixadas durante a noite a 4° C. As cápsulas foram finalmente lavadas 2 vezes em solução salina a 0,8% e mantidas a 4° C antes da utilização.

#### **Exemplo 6 - Implantação das Microcápsulas de Alginato**

[00418] Os camundongos foram anestesiados com 3% de isoflurano em oxigênio e mantidos à mesma taxa durante todo o procedimento. O abdômen dos camundongos foi raspado e alternadamente lavado com betadina e álcool isopropílico para criar um campo estéril antes de serem transferidos para o campo cirúrgico. Uma incisão de ~0,5 mm foi feita ao longo da linha média do abdômen e o peritônio foi exposto utilizando-se dissecação romba. O peritônio foi então agarrado com fórceps e uma incisão de 0,5 a 1 mm foi feita ao longo da linha alba. Um volume de ~300 µl de microcápsulas foi então carregado em uma pipeta estéril e implantado na cavidade peritoneal através da incisão.

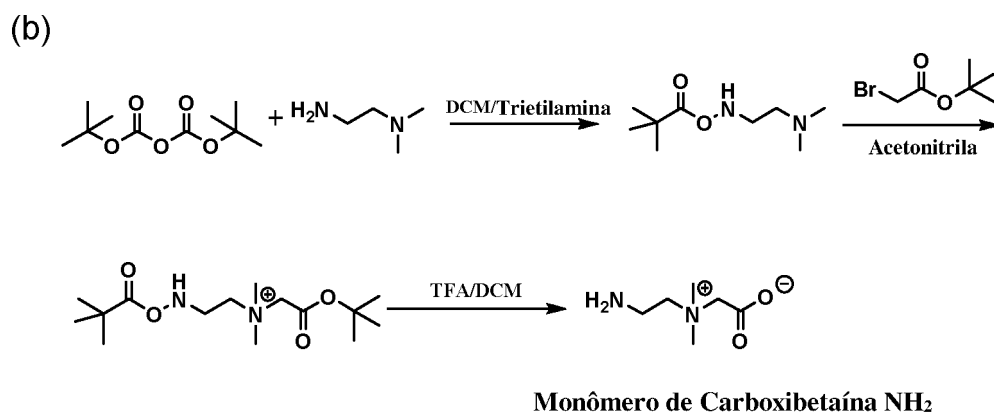
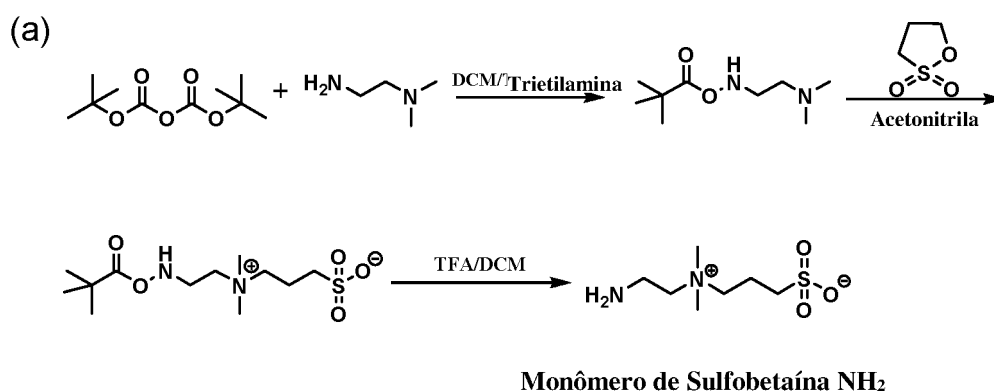
[00419] As imagens de contraste de fase das microcápsulas foram realizadas usando um sistema de imagem EVOS AMF4300.

#### **Resultados e discussão dos Exemplos 1-6**

[00420] Entre os grupos zwitteriônicos, a sulfobetaína e a carboxibetaína foram escolhidas como exemplos. Demonstrou-se anteriormente que estes materiais zwitteriônicos exibem excelentes proprie-

dades anti-incrustação (Zhang et al., "Superlow Fouling Sulfobetaine and Carboxybeteine Polymers on Glass Slides," *Langmuir* 22(24):10072-10077 (2006), que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade). Os monômeros de sulfobetaina-NH<sub>2</sub> e carboxibetaina-NH<sub>2</sub> foram sintetizados de acordo com o Esquema 6. As estruturas dos monômeros foram confirmadas por ressonância magnética nuclear (RMN) e os deslocamentos químicos dos prótons correspondentes foram marcados nas Figuras 1A-B.

### Esquema 6



[00421] Os monômeros de sulfobetaina-NH<sub>2</sub> e carboxibetaina-NH<sub>2</sub> foram preparados utilizando-se N,N-dimetiletenodiamina e ora (a) propanossultona ou (b) bromoacetato de terc-butila.

[00422] Para modificar o alginato, baixo peso molecular (MW), alginato VLVG foi usado como material de base. Utilizou-se 2-cloro-4, 6-dimetóxi-1,3,5-triazina (CDMT) e *N*-metilmorfolina(NMM) como reagentes de acoplamento para conjugar alginato com sulfobetaina-NH<sub>2</sub> por

meio de uma reação de acoplamento baseada em triazina, como mostrado na Figura 2A. O conjugado de alginato à base de sulfobetaína foi caracterizado por espectro de  $^1\text{H}$  RMN (Figura 2B). O pico característico do segmento de sulfobetaína- $\text{NH}_2$  é como a seguir: o pico a 3,20 ppm é atribuído a seis prótons em dois grupos metil ligados à amina quaternária no grupo pendente de sulfobetaína. O resultado sugere que a sulfobetaína- $\text{NH}_2$  foi conjugada com sucesso ao alginato. Cerca de 30,5% de modificação do alginato inicial foi confirmada por análise de dados de RMN. Preparou-se alginato à base de carboxietaína como mostrado na Figura 3A. Para o alginato à base de carboxibetaína, o pico característico de 3,25 ppm na Figura 3B foi atribuído a seis prótons em dois grupos metil ligados à amina quaternária no grupo pendente de carboxibetaína e o grau de modificação é de cerca de 35,6%.

[00423] Uma vez que as microcápsulas de hidrogel foram extensivamente utilizadas para encapsulamento celular, cultura e transplante, as microcápsulas de conjugado de alginato baseado em sulfobetaína foram fabricadas por eletropulverização usando cloreto de bário como agente de reticulação, embora possam ser utilizados outros íons polivalentes tais como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ , que demonstraram anteriormente ter estabilidade a longo prazo *in vivo*. A resposta de corpo estranho às microcápsulas de SA foi avaliada no espaço intraperitoneal de camundongos C57BL/6J 14 dias após o implante, com o alginato SLG20 como controle.

[00424] A brancura nas superfícies da microcápsula (Figura 4, linha superior das imagens) indicou a deposição fibrótica e, portanto, a microcápsula de controle (SLG 20) induziu fibrose substancial. Em contraste, quase não houve deposição fibrótica nas microcápsulas de VLVG (SB-VLVG) modificadas com sulfobetaína (Figura 4, segunda linha de imagens a partir do topo). Além disso, as microcápsulas de SLG 20 modificadas com sulfobetaína (SB-SLG20) e modificadas com

sulfobetaína SLG 100 (SB-SLG 100) também não exibiram quase nenhuma fibrose (Figura 4, terceira e quarta linhas de imagens a partir do topo, respectivamente). Estes resultados sugerem que as microcápsulas de alginato modificadas por SB, independentemente dos tipos de alginato, mitigaram a resposta de corpo estranho de forma eficaz e reprodutível.

[00425] Para investigar o efeito do alginato modificado com SB sobre as respostas de corpo estranho a longo prazo, as microcápsulas de SB-SLG 20 foram implantadas no espaço intraperitoneal de camundongos C57BL/6J imunocompetentes e colhidas após 100 dias. A microscopia de contraste de fase de campo escuro de microcápsulas de SLG 20 recuperadas mostrou deposição fibrótica extensa (Figura 5, linha superior das imagens), enquanto as microesferas de SB-SLG20 mostraram um nível muito mais baixo de deposição fibrótica (Figura 5, linha inferior das imagens). Além disso, algumas das microcápsulas de SLG 20 recuperadas estavam agregadas juntas, um sinal de fibrose severa (Figura 5, linha superior, terceira imagem a partir da esquerda).

[00426] Para avaliar melhor o desempenho do alginato modificado por SB, as microcápsulas de SB-SLG20 foram examinadas após 180 dias de implantação em C57BL/6J. Como mostrado na Figura 6, as microcápsulas de SB-SLG 20 após a recuperação estavam em grande parte limpas de deposição fibrótica (Figura 6, duas linhas superiores das imagens) enquanto havia substancial fibrose observada nas superfícies das microcápsulas de SLG 20 convencionais (Figura 6, duas linhas inferiores das imagens). A Figura 7 mostra numerosas microcápsulas recuperadas em cada placa. A brancura nas superfícies das microcápsulas indicou a deposição fibrótica. Claramente, a brancura mostrada principalmente nas microcápsulas de SLG 20 indicou fibrose grave (Figura 7, duas linhas superiores); a ausência desta brancura nas microcápsulas SB-SLG 20 indicou quase nenhuma fibrose (Figura

7, duas linhas inferiores). Este resultado sugeriu que o alginato modificado por SB reduziu substancialmente as reações de corpo estranho no espaço intraperitoneal de camundongos C57BL/6 por um período significativamente mais longo de 180 dias.

[00427] Outro tipo de alginato modificado com sulfobetaína: alginato de etilenoglicol SB também foi projetado e desenvolvido. A resposta de corpo estranho às microcápsulas de etilenoglicol SB-SLG20 foi avaliada no espaço intraperitoneal de camundongos C57BL/6J 30 dias após o implante. Após a recuperação, as microcápsulas de etilenoglicol SB-SLG20 (Figura 8) estavam limpas e quase não apresentavam fibrose.

[00428] Em conjunto, os alginatos modificados zwitteriônicos foram capazes de mitigar a resposta de corpo estranho de forma eficaz e reprodutível. Isso pode ser atribuído ao grupo sulfobetaína zwitteriônico que reduz a bioincrustação e melhora a biocompatibilidade do alginato. Este conjugado de alginato baseado em sulfobetaína zwitteriônico será aplicável ao encapsulamento de ilhotas para dar suporte à correção da diabetes a longo prazo para diabetes tipo 1 (TD1).

[00429] Após confirmar que os alginatos zwitterionicamente modificados, como o SB-SLG20, resistem à fibrose em camundongos C57BL/6J, seu potencial terapêutico como meio de encapsulamento celular para o tratamento de diabetes foi explorado. Ilhotas de rato encapsuladas foram transplantadas para a cavidade peritoneal de camundongos C57BL/6 diabéticos induzidos por estreptozotocina (STZ) e avaliadas por 90 dias para sua capacidade de restaurar a normoglicemia. As ilhotas de ratos foram encapsuladas com microcápsulas de SB-SLG20 1000 µm como barreira para proteger a resposta de corpo estranho, ou com microcápsulas SLG 20 como controle (Figura 9A). O nível de glicose no sangue (BG) dos camundongos diminuiu para a faixa glicêmica normal (BG <200 mg / dL) poucos dias após o transplante (Figura 9B). No entanto, camundongos transplantados com ilho-

tas de ratos encapsuladas em microcápsulas de SLG 20 apresentaram menor duração de controle glicêmico e foram incapazes de sustentar a normoglicemia além de 45 dias, enquanto os camundongos transplantados com ilhotas de ratos encapsulados em microcápsulas de SB-SLG 20 permaneceram curados por 3 meses antes das microcápsulas serem recuperadas.

[00430] A brancura estava presente principalmente nas microcápsulas de SLG 20 recuperadas (Figura 9C), sugerindo fibrose severa. Isto também foi confirmado usando análise histológica corada por H&E (Figura 9D). O resultado da coloração com H&E das seções de tecido mostrou que o SLG 20 produziu microcápsulas com elevada deposição fibrótica em torno do implante. Ao contrário, as microcápsulas de SB-SLG 20 recuperadas que encapsulavam as ilhotas de rato (Figura 9E-F) mostraram quase nenhuma deposição fibrosa. Havia também numerosas ilhotas de ratos observadas nas microcápsulas após a recuperação. Importante, estas ilhotas ainda estavam funcionais após 3 meses de implantação, como indicado pela coloração positiva de insulina (Figura 9G) nas ilhotas nas microcápsulas SB-SLG 20 recuperadas. Em conjunto, ilhotas de ratos encapsuladas foram capazes de alcançar a correção glicêmica a longo prazo (90 dias) em camundongos C57BL/6J tratados com STZ para T1D, usando o alginato zwitterionicamente modificado capaz de mitigar a FBR de forma eficaz.

[00431] Alginatos modificados zwitterionicamente e super biocompatíveis foram projetados e sintetizados. Sulfobetaina-NH<sub>2</sub>, etilenoglicol sulfobetaina-NH<sub>2</sub> e carboxietaina-NH<sub>2</sub> foram sintetizadas com sucesso e subsequentemente conjugadas com alginato. O alginato modificado com sulfobetaina foi testado em camundongos C57BL/6 e mitigou a resposta de corpo estranho eficazmente em comparação com o alginato de controle não modificado. O potencial terapêutico do alginato modificado com SB foi demonstrado por meio de um modelo de ca-

mundongo com diabetes tipo 1 usando ilhotas de ratos. Células de ilhotas encapsuladas com SB-SLG 20 demonstraram ser capazes de fornecer correção glicêmica a longo prazo em camundongos C57BL/6J diabéticos imunocompetentes. Foi determinado que este alginato modificado zwitterionicamente pode contribuir para a tradução do encapsulamento celular para T1D e, potencialmente, para outras doenças.

### **Materiais para os Exemplos 7-16**

[00432] Propargilamina, cloreto de acrilóila, azida sódica, ascorbato de sódio, sulfato de cobre penta-hidratado, iodometano, ácido trifluoroacético (TFA), cloridrato de 2-cloro-N, N-dimetiletilamina, 1,3-propanossultona, metacrilato de 2-hidroxietil (HEMA), 2-hidróxi-2-metilpropiofenona, solução salina tamponada com fosfato (PBS), diclorometano (DCM), dimetilssulfóxido (DMSO), acetonitrila, hexano, acetato de etilo, éter dietílico e álcool etílico foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Bromoacetato de terc-butil e resina de troca iônica (Amberlyst A-26, forma OH) foram obtidos da Alfa Aesar. Procedimentos para a síntese dos monômeros qTR-CB, TR-CB e TR-SB são descritos abaixo. Metacrilato de Carboxibetaína (CB) (Yang et al., "Pursuing "Zero" Protein Adsorption of Poly(carboxybetaine) from Undiluted Blood Serum and Plasma," *Langmuir* 25(19):11911-11916 (2009), que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade) e diacrilamida de carboxibetaína (CBAAX) (CBAAX) (Zhang et al., "Zwitterionic gel Encapsulation Promotes Protein Stability, Enhances Pharmacokinetics, and Reduces Immunogenicity," *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(39):12046-12051 (2015), que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade) foram sintetizados usando métodos relatados anteriormente.

### **Exemplo 7 - Preparação de Hidrogel**

[00433] Os hidrogéis de TR-ZW foram preparados por meio de polimerização radical iniciada por irradiação UV. A solução de hidrogel

consistia em 1 ml de água DI, 600 mg de monômero, reticulador CBAAX a 4% (percentual molar de monômero) e 3,5 mg de fotoiniciador de 2-hidroxi-2-metilpropiofenona. A solução resultante foi moldada entre um par de lâminas de vidro, separada com um espaçador de poli(tetrafluoroetileno) (PTFE) de 2 mm de espessura e polimerizada sob UV (365 nm) durante 45 min. Os hidrogéis de PHEMA e PCB foram preparados utilizando-se um procedimento similar. Após a preparação, todas as amostras de hidrogel foram equilibradas em tampão de PBS estéril e a solução tampão de PBS foi trocada pelo menos três vezes por dia durante cinco dias. Para implantação, os hidrogéis foram perfurados em discos com diâmetro de 6 mm e armazenados em PBS estéril a 4°C antes do uso.

#### **Exemplo 8 - Ensaio de Adsorção de Proteína**

[00434] As escovas de polímero de P(qTR-CB) foram enxertadas em chips sensores de ressonância de plásmons de superfície (SPR) revestidos com ouro seguindo o procedimento relatado anteriormente (Zhang et al., "Zwitterionic Hydrogels: an in vivo Implantation Study," *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 20(13):1845-1859 (2009), que é incorporado neste documento por referência em sua totalidade). A adsorção de proteínas nas superfícies de ouro enxertadas com P(qTR-CB) foi avaliada usando um sensor SPR de quatro canais. Em primeiro lugar, o tampão PBS foi introduzido nos canais por 10 min para construir a linha de base. Em segundo lugar, uma solução de fibrinogênio a 1 mg/mL ou plasma de sangue humano a 100% foi analisada através dos canais por 10 minutos, seguido de uma lavagem com tampão PBS para remover moléculas de proteína não ligadas. A quantidade de proteína adsorvida foi finalmente quantificada pela alteração do deslocamento do comprimento de onda entre as linhas de base pré-adsortivas e pós-adsortivas. Um deslocamento de comprimento de onda de 1 nm SPR a 750 nm correspondeu a uma cobertura de super-

fície de proteína de 15 ng/cm<sup>2</sup> (Liu et al., "Amino Acid-Based Zwitterionic Poly(Serine Methacrylate) as an Antifouling Material," *Biomacromolecules* 14(1):226-231 (2012), que é incorporado por referência neste documento em sua totalidade). A adsorção de proteínas nas superfícies de P(TR-CB) e P(TR-SB) foi avaliada pelo mesmo procedimento.

### **Exemplo 9 - Ensaio de Anexação Celular**

[00435] Células de NIH/3T3 foram cultivadas em uma incubadora umidificada com 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. O meio de cultura foi composto por meio Eagle modificado da Dulbecco (DMEM), 10% de soro bovino fetal (FBS) e 2% de penicilina estreptomicina. Os discos de hidrogel com um diâmetro de 6 mm foram colocados individualmente em uma placa de 12 poços e lavados com tampão PBS estéril três vezes. A suspensão celular (2 mL) (concentração: 10<sup>5</sup> células/mL) foi então transferida para cada poço e incubada com estes hidrogéis durante 3 dias a 37°C. Após a incubação, os hidrogéis foram transferidos para uma nova placa de 12 poços contendo PBS estéril em cada poço. A solução de ensaio LIVE/DEAD foi adicionada a cada poço e incubada durante 30 min. Estes hidrogéis foram finalmente fotografados usando um sistema de imagem EVOS AMF4300.

### **Exemplo 10 - Ensaio de Tração e Compressão**

[00436] Os ensaios de tração das amostras de hidrogel foram realizados em um instrumento de TA DMA Q800 Dynamic Mechanical Thermal Analysis (DMTA). Todas as amostras de hidrogel equilibradas foram cortadas em forma retangular com 25 mm de comprimento, 6 mm de largura e 2-3 mm de espessura. As amostras de hidrogel foram alongadas até a quebra a uma taxa de 5 mm min<sup>-1</sup>. Os testes de compressão e os testes de carga e descarga de amostras de hidrogel foram feitos em Instron 5965 com uma célula de carga de 100 N. Para testes de compressão, cada disco de hidrogel com um diâmetro de 6 mm (cerca de 2-3 mm de espessura quando equilibrado em tampão

PBS) foi comprimido até a quebra a uma taxa de  $1 \text{ mm min}^{-1}$ . A propriedade de recuperação de forma dos hidrogéis foi avaliada por dez ciclos consecutivos de carga e descarga a uma taxa constante de  $1 \text{ mm min}^{-1}$  na faixa de tensão de 0 a 65%. Todas as amostras foram medidas à temperatura ambiente.

#### **Exemplo 11 - Secreção de Citocina**

[00437] Macrófagos derivados da medula óssea (BMDMs) foram semeados nas placas de cultura de tecidos ou várias superfícies de hidrogel a uma densidade celular de  $10^6$  células/cm<sup>2</sup> e estimulados com diferentes combinações: 0,3 ng/mL de lipopolissacarídeo (LPS) (Sigma-Aldrich), 1,0 ng/mL de IFN $\gamma$  (R & D systems, Minneapolis, MN), 20 ng/mL de IL-4 (Invitrogen) e 20 ng/mL de IL-13 (Invitrogen). Após estimulação durante 36 horas, os sobrenadantes foram recolhidos e analisados quanto à secreção de TNF- $\alpha$  e IL-10 por ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática seguindo as instruções do fabricante (Bio-Legend, San Diego, CA).

#### **Exemplo 12 - Implantação de Hidrogel e Análise Histológica**

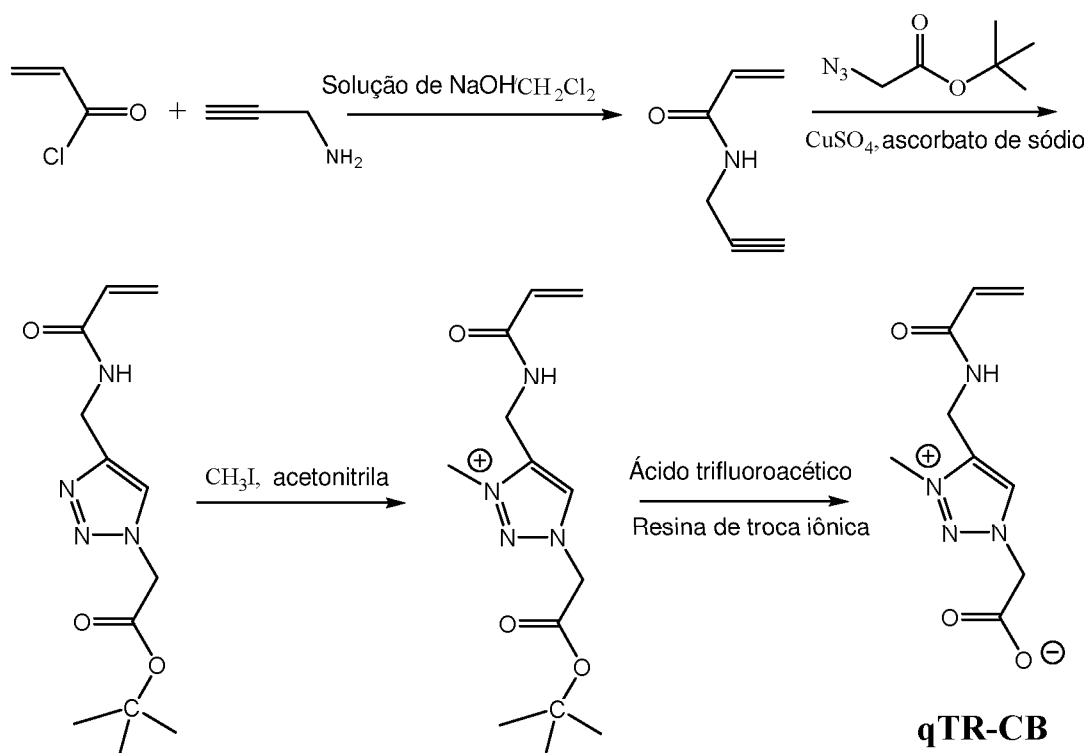
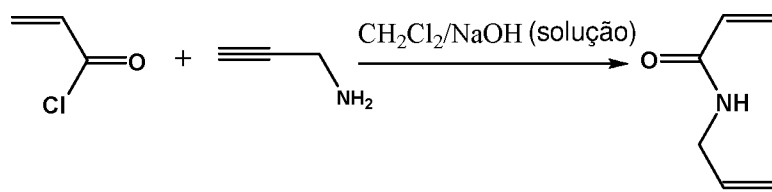
[00438] Todos os protocolos animais foram aprovados pelo Cornell Institutional Animal Care and Use Committee Camundongos C57BL/6 machos imunocompetentes com oito semanas de idade foram obtidos de Jackson Laboratory. Os discos de hidrogel equilibrados foram implantados subcutaneamente em camundongos por 1, 2 e 3 meses, respectivamente. Para cada camundongo, discos de hidrogel feitos de diferentes monômeros foram implantados nas costas do camundongo e os locais de várias amostras de hidrogel foram alternados para eliminar o efeito das posições de implantação. No final de cada experimento, os camundongos foram eutanasiados por asfixia com CO<sub>2</sub>. Os discos de hidrogel juntamente com os tecidos circundantes foram dissecados e fixados em formalina 10% neutra tamponada. Depois de serem incorporadas em cera de parafina, as amostras foram seccio-

nadas e coradas com tricromo de Masson da Cornell Histology Core Facility. As lâminas histológicas coradas foram escaneadas usando um Aperio CS2 ScanScope (Leica Biosystems, Nusslock GmbH). A densidade de pixels azuis foi medida usando um software Image J. A densidade de colágeno foi quantificada como um percentual da densidade média máxima de pixels azuis, conforme determinado em todas as seções analisadas. Para cada amostra, três campos aleatórios foram analisados para cada distância fixa (por exemplo, 0 a 10  $\mu\text{m}$ ; 10 a 20  $\mu\text{m}$ ; etc.) dentro de 60  $\mu\text{m}$  da interface de hidrogel de tecido. O tamanho da amostra foi  $n = 5$ .

[00439] Para avaliar a formação de vasos sanguíneos sobre os hidrogéis, foram coradas seções embebidas em parafina utilizando CD31 anti-camundongo de cabra primário (R&D Systems, diluição 1:200), que é um biomarcador de célula endotelial. O anti-cabra de jumento Alexa Fluor 488 como anticorpo secundário (Life Technologies, diluição 1:500) foi utilizado neste trabalho. Duas seções coradas em posições diferentes de cada disco de hidrogel foram usadas e cinco campos diferentes foram aleatoriamente examinados em cada seção. A densidade dos vasos sanguíneos foi quantificada pela contagem do número de características vasculares normalizadas para a área da cápsula. O tamanho da amostra foi  $n=5$ .

### **Exemplo 13 - Análise Estatística**

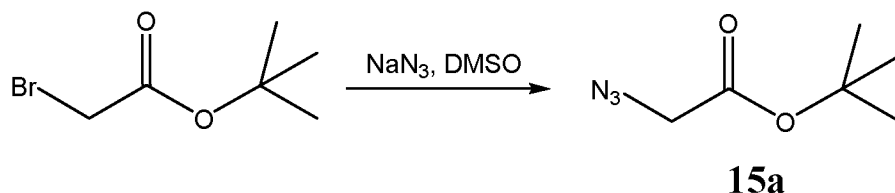
[00440] Todos os dados são apresentados como o valor médio  $\pm$  desvio padrão. A diferença foi considerada estatisticamente significativa quando o valor de  $p$  foi menor que 0,05. Um teste  $t$  de Student foi usado para todas as análises estatísticas.

**Exemplo 14 - Síntese do Monômero qTR-CB****N-Propargilacrilamida (10a)**

[00441] Dissolveu-se propargilamina (3,3 g, 60 mmol) **10a** 50 mL de DCM a 0° °C. Adicionou-se NaOH aquoso (1,5 M, 100 mL) à solução. Cloreto de acrilóil (14,9 g, 165 mmol) foi adicionado gota a gota à camada de diclorometano mais densa ao longo de 30 minutos resultando em uma solução laranja amarela. A mistura foi agitada durante 1 hora a 0°C e depois durante 18 horas à temperatura ambiente. A solução resultante foi lavada sucessivamente com água. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro e evaporada para se obter óleo amarelo. O produto N-propargilacrilamida (4,2 g, 64%) foi obtido como um sólido amarelo claro por cromatografia em coluna de sílica gel (eluente: acetato de etil/hexano, 1:1, v / v).  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  6,32 (dd, 1H), 6,13 (dd, 1H), 5,68 (dd, 1H), 4,12 (m, 2H), 2,23

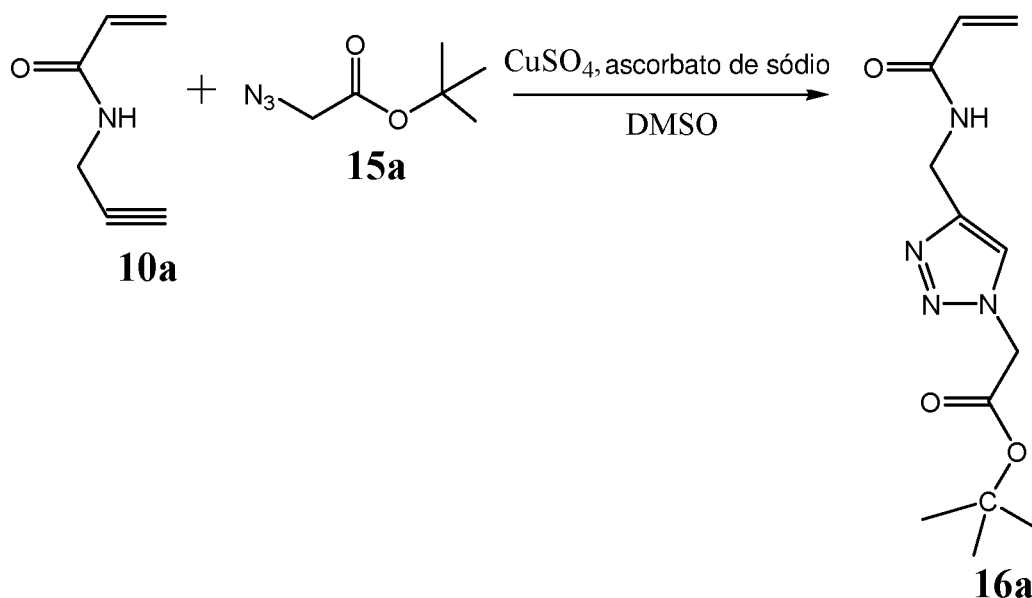
(m, 1H) (Figura 10).  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 165,4, 130,1, 127,2, 79,3, 71,6, 29,2.

### 2-azidoacetato de terc-butil (15a)



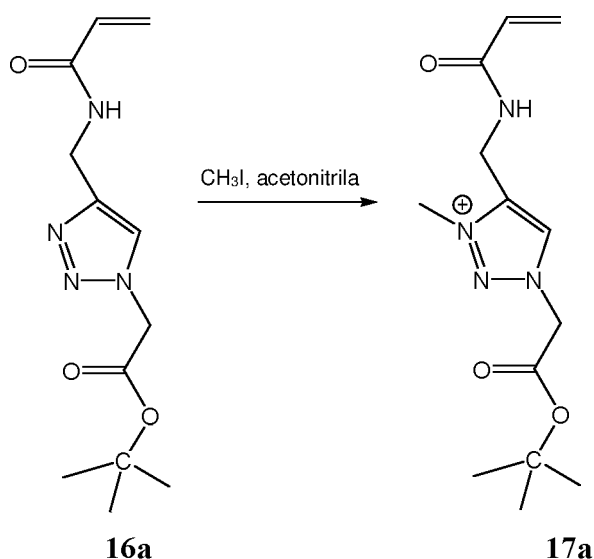
[00442] Bromoacetato de terc-butil (15,6 g, 80 mmol) foi dissolvido em 100 mL de DMSO à temperatura ambiente. Azina de sódio ( $\text{NaN}_3$ ) (6,5 g, 100 mmol) foi adicionada lentamente à solução e agitada durante a noite a  $70^\circ\text{C}$ . Adicionou-se água (150 mL) para extinguir a reação e a camada aquosa foi extraída com 3 x 200 mL de éter dietílico anidro. A fase orgânica combinada foi lavada sucessivamente com solução salina e seca sobre sulfato de sódio anidro. O solvente orgânico foi removido sob pressão reduzida para se obter o produto de 2-azidoacetato de terc-butil (14,2 g, 90%).  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  3,74 (s, 2H), 1,49 (s, 9H) (Figura 11).  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 167,3, 82,9, 50,8, 27,9.

### 2-(4-(acrilamidometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acetato de terc-butila (16a)



[00443] A mistura do produto **10a** (4,2 g, 38,4 mmol), produto **15a** (6,1 g, 38,4 mmol), ascorbato de sódio (0,76 g, 3,8 mmol), Cu-SO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O (0,96 g, 3,8 mmol) e 100 ml de DMSO foram adicionados num balão de fundo redondo de 250 mL. A mistura foi agitada sob atmosfera de nitrogênio durante 48 horas a 60°C. Adicionou-se 150 mL de água para extinguir a reação. Em seguida, a solução resultante foi extraída com acetato de etila, três vezes. As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido sob pressão reduzida para obter o produto em bruto. O produto **16a** (8,0 g, 78%) foi purificado adicionalmente por cromatografia em coluna de sílica-gel (eluente: acetato de etila). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7,68 (s, 1H), 6,27 (dd, 1H), 6,13 (dd, 1H), 5,63 (dd, 1H), 5,01 (s, 2H), 4,57 (m, 2H), 1,45 (s, 9H) (Figura 12). <sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 165,5, 165,1, 144,7, 130,4, 126,4, 123,9, 83,6, 51,3, 34,5, 27,7.

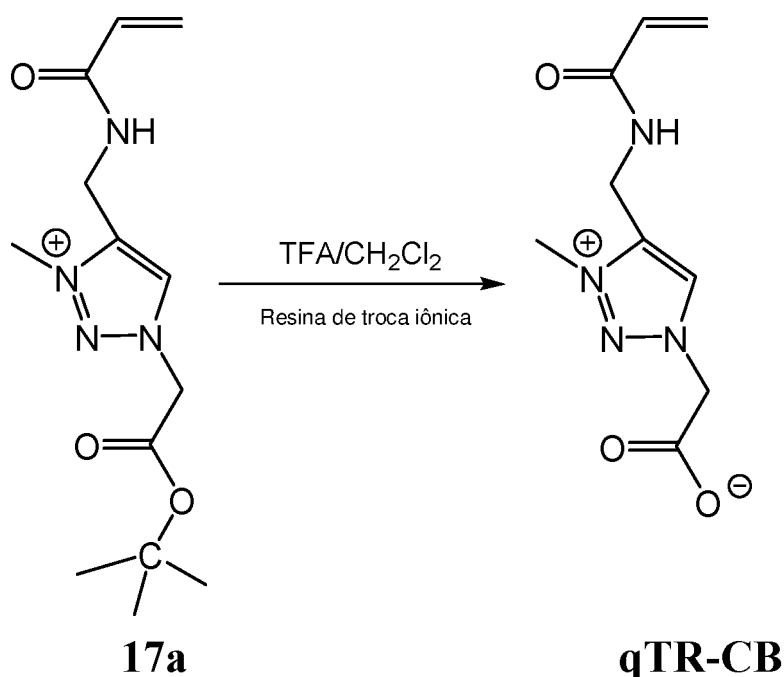
**4-(Acrilamidometil)-1-(2-(terc-butóxi)-2-oxoetil)-3-metil-1H-1,2,3-triazól-3-io (17a)**



[00444] O produto **16a** (8,0 g, 30 mmol), iodometano (25,6 g, 180 mmol) e acetonitrila (150 mL) foram adicionados a um frasco de fundo redondo de 250 mL. A mistura foi agitada sob atmosfera de nitrogênio durante 48 horas a 60°C. Após a reação, o solvente foi removido por evaporador rotativo. O produto resultante foi precipitado por éter dietí-

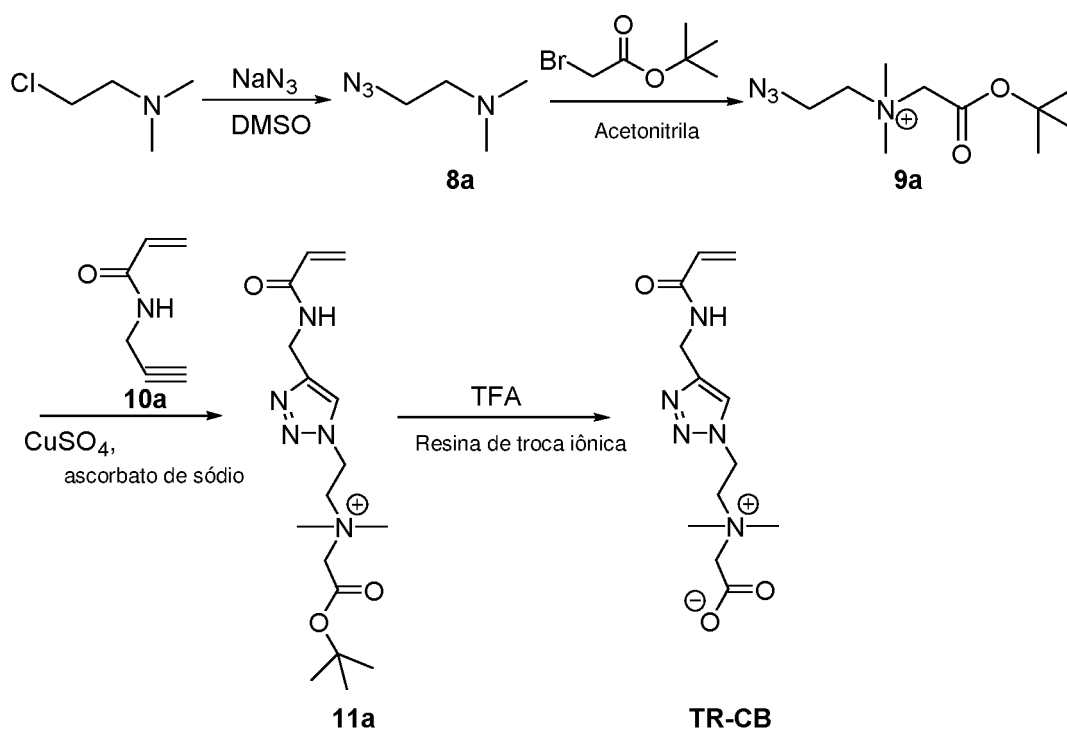
lico anidro e lavado com éter dietílico anidro para obter o pó bronzeado do produto **17a** (7,5 g, 61%).  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz):  $\delta$  8,58 (s, 1H), 6,26 (dd, 2H), 5,83 (dd, 1H), 5,48 (s, 2H), 4,74 (s, 2H), 4,34 (s, 3H), 1,47 (s, 9H) (Figura 13).  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz): 168,7, 164,8, 141,0, 129,0, 128,9, 128,7, 86,3, 54,2, 38,0, 32,2, 27,0.

#### Acrilato de Carboxibetaína Triazol Quaternizado (qTR-CB)

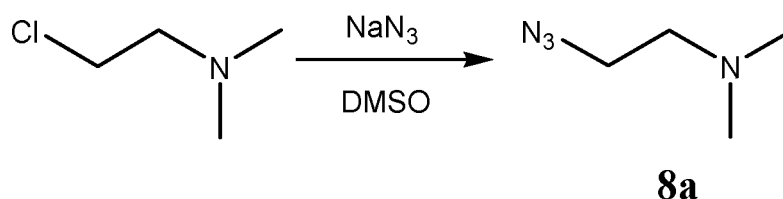


[00445] O produto obtido **17a** (7,5 g) foi tratado com uma mistura de 15 mL de ácido trifluoroacético (TFA) e 15 mL de DCM durante a noite à temperatura ambiente, concentrado por evaporador rotativo, precipitado em éter dietílico anidro e dissolvido novamente em metanol. A resina de troca iônica (Amberlyst A26, forma OH) foi adicionada para neutralização completa. O resíduo foi dissolvido em água e liofilizado por liofilizador para obter o produto qTR-CB. (2,2 g, 54%)  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz):  $\delta$  8,49 (s, 1H), 6,28 (dd, 2H), 5,82 (dd, 1H), 5,22 (s, 2H), 4,74 (s, 2H), 4,30 (s, 3H) (Figura 14).  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz): 170,0, 168,7, 140,6, 130,0, 128,9, 128,6, 55,6, 37,6, 32,1.

#### Exemplo 15 - Síntese do Monômero TR-CB

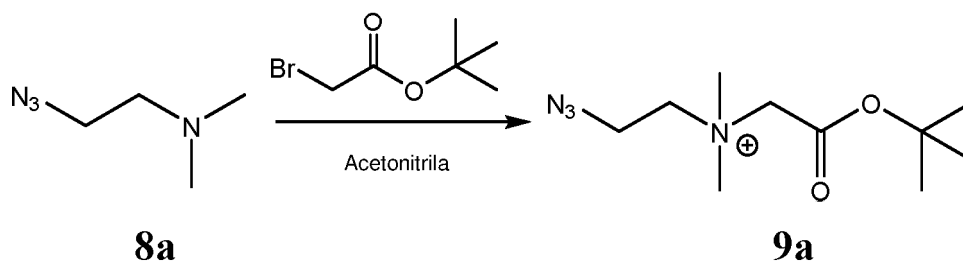


### 2-Azido-1-etil-dimetilamina (8a)



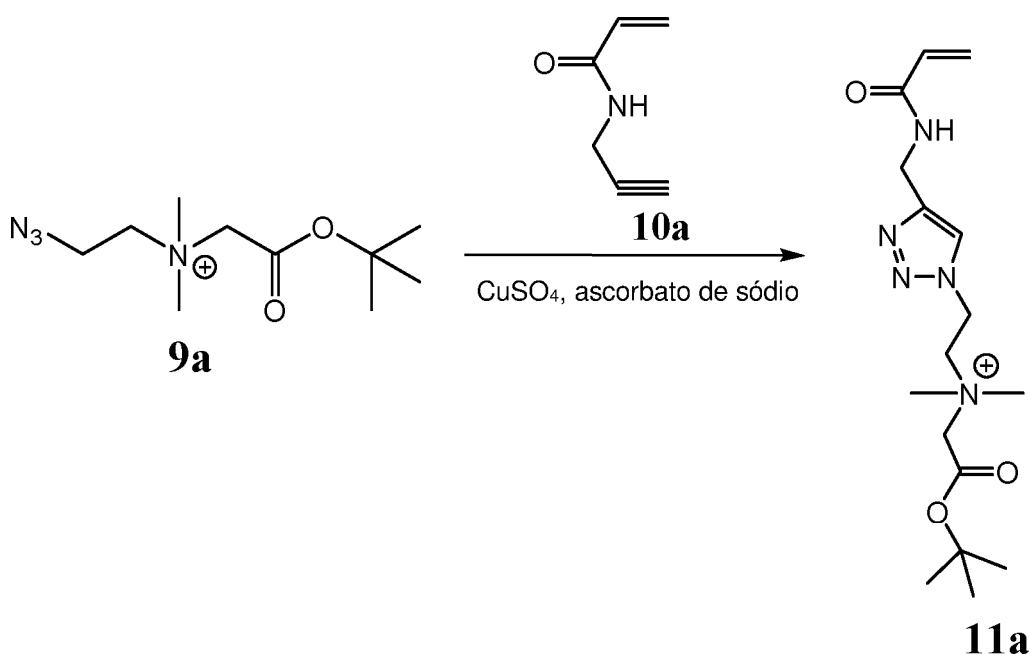
[00446] NaN<sub>3</sub> (13,7 g, 210 mmol) foi adicionado a uma solução de cloridrato de 2-cloro-N,N-dimetiletilamina (10,0 g, 70 mmol) em 100 mL de água e a mistura reacional foi aquecida a 70°C durante a noite. A solução foi basificada com solução de NaOH 4 M e extraída com éter dietílico anidro três vezes. A solução resultante foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada para obter um óleo incolor volátil. (5,9 g, 74%) <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 3,31 (t, 2H), 2,45 (t, 2H), 2,21 (s, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

### N-(2-Azidoetil)-2-(terc-butoxi)-N,N-dimetil-2-oxoetan-1-amínio (9a)



[00447] O produto **8a** (5,9 g, 52 mmol), bromoacetato de terc-butil (12,7 g, 65 mmol) e acetonitrila (100 mL) foram adicionados a um frasco de fundo redondo de 250 mL. A mistura foi agitada sob atmosfera de nitrogênio durante 24 horas a 60°C. Após a reação, o solvente foi removido por evaporador rotativo. O produto **9a** foi precipitado por éter dietílico anidro e lavado com éter dietílico anidro para obter o pó branco (12,6 g, 79%). <sup>1</sup>H RMN (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ 4,29 (s, 2H), 3,98 (t, 2H), 3,83 (t, 2H), 3,34 (s, 6H), 1,53 (s, 9H) (Figura 15). <sup>13</sup>C RMN (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): 164,0, 86,3, 62,6, 62,1, 52,9, 44,7, 27,2.

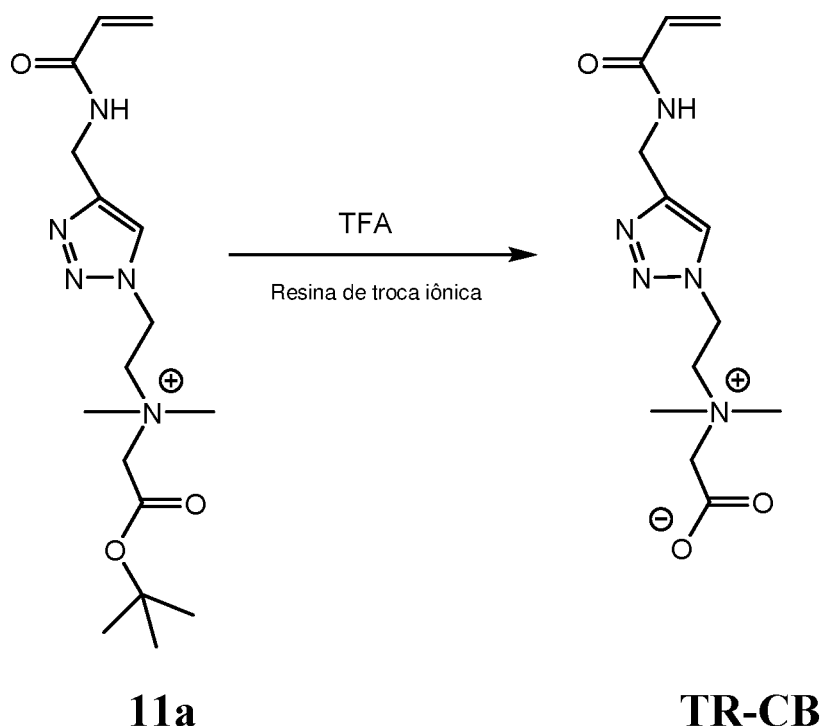
**N-(2-(4-(Acrilamidometil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil)-2-(terc-butoxi)-N,N-dimetil-2-oxoetan-1-amínio (11a)**



[00448] A mistura do produto **10a** (4,9 g, 45,1 mmol), produto **9a** (12,6 g, 41,0 mmol), ascorbato de sódio (0,8 g, 4 mmol), CuSO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O (1,0 g, 4 mmol) e 100 mL de metanol foram adicionados num balão de fundo redondo de 250 mL. A mistura foi agitada sob atmosfera de nitrogênio durante 48 horas a 60°C. Após a reação, o solvente foi removido por evaporador rotativo e o produto em bruto foi precipitado por éter dietílico anidro. O produto **11a** (11,7 g, 68%) foi purificado adicionalmente por cromatografia em coluna de sílica-gel (eluente: meta-

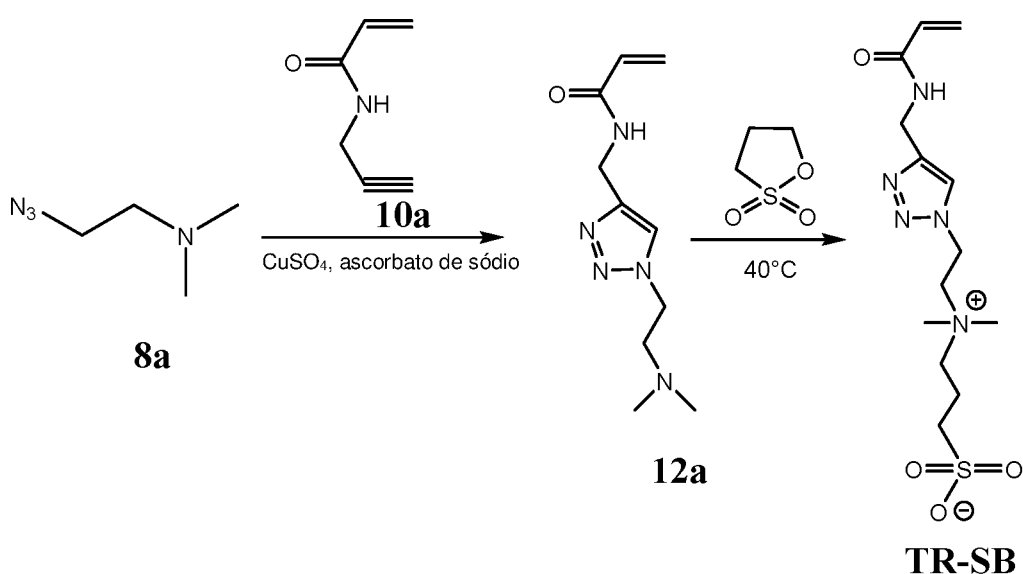
mol).  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz):  $\delta$  8,11 (s, 1H), 6,24 (dd, 2H), 5,75 (dd, 1H), 5,07 (t, 2H), 4,58 (s, 2H), 4,28 (m, 4H), 3,34 (s, 6H), 1,44 (s, 9H) (Figura 16).  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz): 168,1, 163,3, 145,4, 129,3, 127,4, 124,7, 86,6, 62,3, 62,1, 52,7, 48,8, 44,0, 34,3, 27,1.

### Acrilato de Carboxibetaína Triazol (TR-CB)

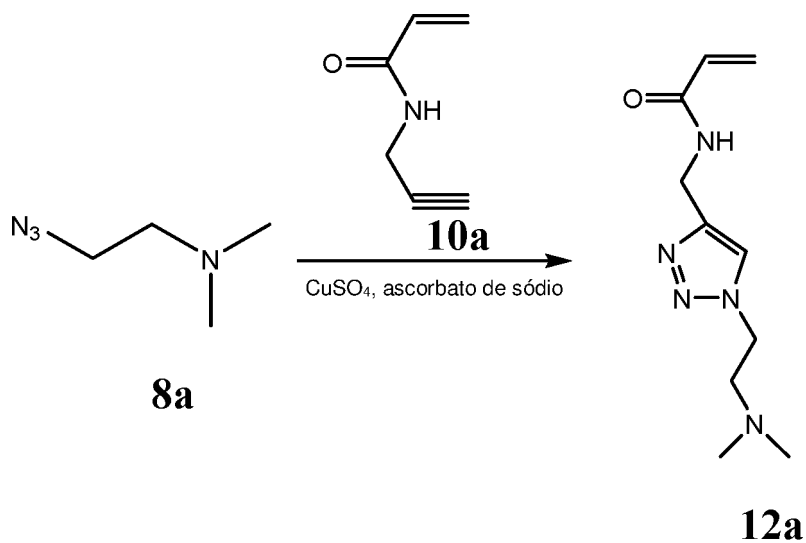


[00449] O produto obtido **11a** (8,0 g) foi tratado com uma mistura de 16 mL de TFA e 16 mL de DCM durante a noite à temperatura ambiente, concentrado com evaporador rotativo, precipitado em éter dietílico anidro e dissolvido em metanol. A resina de troca iônica (Amberlyst A26, forma OH) foi então adicionada para neutralização completa. A solução resultante foi adicionada à coluna de alumina neutra para remover o íon de cobre residual. O produto TR-CB (3,1 g, 57%) foi coletado após a remoção do solvente metanol.  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz):  $\delta$  8,02 (s, 1H), 6,22 (dd, 2H), 5,75 (dd, 1H), 4,98 (t, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,24 (t, 2H), 3,89 (s, 2H), 3,24 (s, 6H) (Figura 17).  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz): 168,3, 168,1, 145,1, 129,5, 127,7, 124,2, 63,9, 61,3, 51,9, 44,0, 34,3.

### Exemplo 16 - Síntese do Monômero TR-SB



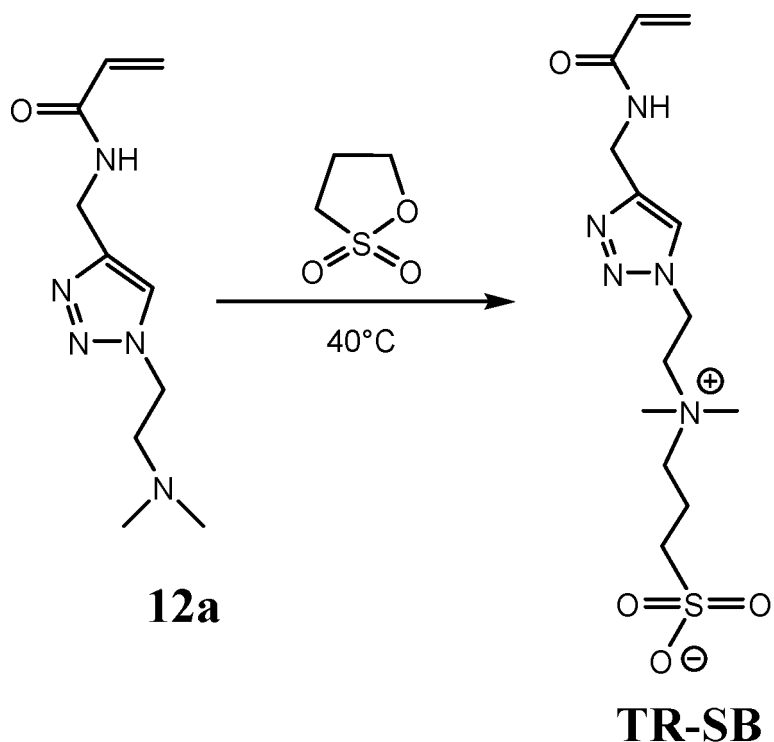
**N-((1-(2-(Dimetilamino)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)acrilamida  
(12a)**



[00450] A mistura do produto **10a** (4,9 g, 45,1 mmol), produto **8a** (4,7 g, 40 mmol), ascorbato de sódio (0,8 g, 4 mmol),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (1,0 g, 4 mmol) e 100 mL de metanol foram adicionados num balão de fundo redondo de 250 mL. A mistura foi agitada sob atmosfera de nitrogênio durante 48 horas a 60°C. Após a reação, o solvente foi removido por evaporador rotativo. O produto **12a** (8,0 g, 78%) foi purificado adicionalmente por cromatografia em coluna de sílica-gel (eluente: acetato de etil/metanol, 1:1, v/v).  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  7,68 (s, 1H), 7,24 (s, 1H), 6,19 (dd, 2H), 5,60 (dd, 1H), 4,54 (m, 2H), 4,38 (m,

2H), 2,71 (m, 2H), 2,23 (s, 6H) (Figura 18).  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 165,6, 144,3, 130,6, 126,7, 122,9, 58,7, 48,2, 45,4, 34,8.

### Acrilato de Sulfobetaina Triazol (TR-SB)



[00451] O produto **12a** (4,5 g, 20 mmol) em 50 mL de acetona anidra foi agitado à temperatura ambiente. 1,3-Propanosultona (20 mmol, 2,4 g) foi adicionado gota a gota à solução. A mistura reacional foi aquecida a 40°C sob atmosfera de nitrogênio durante 6 horas. O precipitado foi coletado e lavado com acetona anidra para obter o pó branco (TR-SB) (2,8 g, 41%).  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz):  $\delta$  8,06 (s, 1H), 6,26 (dd, 2H), 5,79 (dd, 1H), 5,02 (m, 2H), 4,55 (s, 2H), 4,01 (m, 2H), 3,53 (m, 2H), 3,17 (s, 6H), 2,90 (m, 2H), 2,18 (m, 2H) (Figura 19).  $^{13}\text{C}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz): 168,4, 145,2, 129,5, 127,7, 124,2, 63,0, 61,6, 51,1, 46,9, 43,7, 34,3, 18,1.

### Resultados e Discussão dos Exemplos 7-16

[00452] Um novo monômero zwitteriônico qTR-CB foi projetado (Figura 20A). Esse monômero inclui uma fração triazol que desempenha um papel crítico nas propriedades antifibróticas de alginatos modificados e forma o empilhamento  $\pi$ - $\pi$  dissipador de energia. Conforme

mostrado na Figura 20B, a síntese do QTR-CB envolveu diversas etapas. Primeiramente, a N-propargilacrilamida com grupos alcinos e vinílicos reativos duplos foi desenvolvida. Em seguida, o grupo alcino foi então transformado em grupo triazol através de química de Cicloadição de Azida-Alcino de Huisgen seguido de uma subsequente quaternização. Finalmente, o monômero qTR-CB foi obtido após a remoção do grupo protetor do ácido carboxílico. A estrutura química do monômero qTR-CB foi confirmada por  $^1\text{H}$  RMN (Figura 17) e  $^{13}\text{C}$  RMN.

[00453] A adsorção não específica na superfície de implante é considerada a etapa inicial e crítica na resposta de corpo estranho. Para determinar se o qTR-CB era antibioincrustação e resistente à adsorção de proteína não específica, uma superfície de ouro foi enxertada com P(qTR-CB) usando uma polimerização mediada por fotoinítero iniciada na superfície. A resistência proteica de P(qTR-CB) foi avaliada por meio de ressonância plasmônica de superfície (SPR) usando uma única solução proteica e um plasma humano não diluído. A Figura 20C mostra os sensores típicos de SPR da adsorção de proteínas no P(QTR-CB) enxertado e nas superfícies de ouro convencionais. A partir de uma solução de fibrinogênio (Fg) a 1 mg/mL, as superfícies de ouro convencional e P(qTR-CB) enxertado apresentaram adsorções de  $337,5 \pm 36,1$  e  $0,6 \pm 0,3$  ng/cm<sup>2</sup>, respectivamente. A partir do plasma humano não diluído, as adsorções de proteína foram  $211,6 \pm 10,3$  e  $3,1 \pm 1,8$  ng/cm<sup>2</sup>, respectivamente, para essas duas superfícies. Claramente, a superfície com P(qTR-CB) enxertado foi altamente resistente à adsorção não específica de proteínas, em comparação com a superfície de ouro convencional. Deve-se notar que os valores de adsorção de proteínas nas superfícies preparadas com P(qTR-CB) enxertado estavam bem abaixo dos critérios para materiais de incrustação ultrabaixo (menos de 5 ng/cm<sup>2</sup> de fibrinogênio adsorvido). Esses dados sugerem que a incorporação do grupo triazol não alterou as

propriedades zwitteriônicas ou anti-incrustantes. O hidrogel de P(qTR-CB) (Figura 20D) foi então preparado por reticulação do monômero qTR-CB com um reticulador de diacrilamida de carboxibetaína zwitteriônica bifuncional (CBAAX) por meio de uma polimerização iniciada por foto.

[00454] O hidrogel de P(qTR-CB) foi projetado para abordar o desafio de propriedades mecânicas enfrentado pelos atuais hidrogéis zwitteriônicos que são conhecidos por serem relativamente frágeis ou fracos ("Additive Manufacturing of Hydrogel-Based Materials for Next-Generation Implantable Medical Devices," *Science Robotics* 2(2):eaah6451 (2017); Lynn et al., "Characterization of the in Vitro Macrophage Response and in Vivo Host Response to Poly (Ethylene Glycol)-Based Hydrogels," *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 93(3):941-953 (2010), que são incorporadas neste documento por referência na sua totalidade). Propriedades mecânicas robustas são altamente desejáveis para manuseio, implantação e futuras aplicações clínicas. O empilhamento reversível  $\pi$ - $\pi$  entre os anéis de triazol dentro do hidrogel de P(qTR-CB) (Figura 21A) dissipa energia sob carga e, portanto, torna o hidrogel mais resiliente. Para determinar se a incorporação dos anéis de triazol realmente melhorou a propriedade mecânica, os hidrogéis de P(qTR-CB) e PCB convencionais foram comparados em vários testes mecânicos. Primeiro, sua propriedade de resistência à dobra foi examinada qualitativamente. Conforme mostrado na Figura 21B, o hidrogel de P(qTR-CB) poderia ser completamente dobrado próximo a 180 graus sem fratura ou qualquer dano, e foi até mesmo passível de dobramento repetido. Em contraste, o hidrogel de PCB convencional fraturava mesmo com um dobramento em ângulo pequeno. Mais testes quantitativos de tração e compressão foram então realizados. Para o teste de tração, o hidrogel de P(qTR-CB) apresentou uma deformação de ruptura próxima a 71%, enquanto o

hidrogel de PCB só pôde ser esticado em 11% (Figura 21C). Isso representou um aumento de 6,5 vezes na deformação de ruptura. Para o teste de compressão (Figura 21D), o hidrogel de P (qTR-CB) sustentou uma compressão de 80%, enquanto o hidrogel de PCB só pôde ser comprimido em 48%, o que estava de acordo com o trabalho anterior (Merino et al., "Nanocomposite Hydrogels: 3D Polymer-Nanoparticle Synergies for On-Demand Drug Delivery," *ACS nano* 9(5):4686-4697 (2015), que é incorporada neste documento por referência em sua totalidade). Para demonstrar ainda mais a resiliência do hidrogel de P(qTR-CB), foi realizado um teste compressivo de carga-descarga. Conforme mostrado na Figura 21E, o hidrogel de P(qTR-CB) tolerou 65% de compressão por pelo menos 10 ciclos sem qualquer rachadura e manteve seu formato original. O ciclo de histerese observado em cada ciclo pareceu sugerir que havia um mecanismo de dissipação de energia, provavelmente devido ao empilhamento  $\pi$ - $\pi$  entre os grupos triazóis, confirmando a hipótese.

[00455] Em seguida, a ativação de macrófagos e de ligação celular no hidrogel de P(qTR-CB) foi investigada *in vitro*. Os hidrogéis que resistem à ligação celular são desejáveis para muitas aplicações biomédicas. A ligação celular no hidrogel de P (qTR-CB) foi estudada cultivando fibroblastos NIH/3T3 em sua superfície por três dias. Para comparação, os hidrogéis de PHEMA e PCB, assim como o poliestireno de cultura de tecidos (TCPS) foram usados como controles. A Figura 22A mostrou que as células se ligaram rapidamente, proliferaram e formaram uma camada confluenta nas superfícies de TCPS, enquanto não havia quase nenhuma célula observada nas superfícies de hidrogel de P(qTR-CB), PHEMA e PCB, sugerindo que o hidrogel de P(qTR-CB) se comportou de modo semelhante ao PHEMA e ao PCB. A ativação dos macrófagos foi então explorada. Os macrófagos como um componente essencial da FBR regulam processos pró-inflamatórios ou pró-

cicatrização. Os macrófagos pró-inflamatórios secretam citocinas inflamatórias, tal como o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), que desencadeia adicionalmente o recrutamento e ativação de células inflamatórias, enquanto macrófagos pró-cicatrização produzem citocinas anti-inflamatórias, tal como interleucina (IL-10), que facilita a angiogênese e reparo de tecidos. Entender como um biomaterial regula o fenótipo dos macrófagos é importante para suas aplicações biomédicas. Conforme mostrado na Figura 22B, os níveis de secreção de TNF- $\alpha$  e IL-10 foram quase indetectáveis para todos os hidrogéis sem estimulação. Com a estimulação do lipopolissacarídeo/Interferon gama (LPS/IFN $\gamma$ ) que era conhecida por introduzir um fenótipo pró-inflamatório de macrófagos, as células dos hidrogéis de PCB e P(qTR-CB) secretaram níveis menores de TNF- $\alpha$  quando comparados aos cultivados no hidrogel de PHEMA ou no TCPS. Com a estimulação de LPS/IL-4/IL-13 que era conhecida por promover um fenótipo de macrófagos pró-cicatrização, as células nos hidrogéis de PCB e P(qTR-CB) apresentaram uma secreção maior de IL-10 quando comparadas àsquelas do hidrogel de PHEMA. Em conjunto, esses resultados mostraram que os hidrogéis de P(qTR-CB) inibiram a ativação inflamatória e promoveram o fenótipo de macrófago pró-cicatrização.

[00456] Encorajados pelos resultados obtidos a partir do P(qTR-CB), foram projetados mais dois monômeros zwitteriônicos contendo triazol reticulável, TR-CB e TR-SB (Figura 23A e Figura 25). Os hidrogéis desses monômeros foram feitos e testados para FBR em camundongos. As rotas sintéticas para os monômeros TR-CB ou TR-SB são mostradas na Figura 23A, e suas estruturas químicas foram confirmadas por  $^1\text{H}$  RMN (Figuras 17 e 19) e  $^{13}\text{C}$  RMN. Em comparação com o qTR-CB em que a fração de triazol foi quaternizada, os monômeros TR-CB e TR-SB têm um grupo triazol original, não modificado. As propriedades mecânicas dos hidrogéis de P(TR-CB) e P (TR-SB) foram

avaliadas. Conforme mostrado na Figura 23B, os hidrogéis de P(TR-CB) e P(TR-SB) podem suportar dobramento repetido, semelhante aos hidrogéis de P(qTR-CB). Ambos os hidrogéis foram altamente resilientes (Figura 23C-23E). Especialmente para o hidrogel de P(TR-SB) (Figura 23C-23D), a deformação de tração chegou a 218%, enquanto a deformação de tração máxima para hidrogéis zwitteriônicos relatada até o momento é de apenas 65% (Lynn et al., "Characterization of the in Vitro Macrophage Response and in Vivo Host Response to Poly (Ethylene Glycol)-Based Hydrogels," *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 93(3):941-953 (2010), que é incorporada por referência em sua totalidade). Essa é uma melhoria drástica no campo dos hidrogéis zwitteriônicos. Quando comparado ao hidrogel de PCB, as tensões de ruptura dos hidrogéis de P(TR-CB) e P(TR-SB) foram 9 vezes e 20 vezes maiores, respectivamente. Deve-se notar também que os hidrogéis de P(TR-CB) e P(TR-SB) eram mais elásticos que o P(qTR-CB). Isso pode ser atribuído à posição da carga positiva no anel de triazol qTR-CB. A repulsão eletrostática entre as cargas pode atenuar a interação de empilhamento  $\pi$ - $\pi$ . Para testes de compressão (Figura 23E), ambos os hidrogéis de P(TR-CB) e P(TR-SB) apresentaram altas tensões de compressão (79% e 83%, respectivamente). Esses hidrogéis de TR-ZW representam uma primeira classe de hidrogel zwitteriônico com propriedades mecânicas robustas.

[00457] Para investigar se esses novos hidrogéis de TR-ZW (P(qTR-CB), P(TR-CB) e P(TR-SB)) tinham propriedades resistentes à FBR, eles foram implantados subcutaneamente em camundongos C57BL/6 imunocompetentes. Até o momento, a FBR ainda é uma grande preocupação para o desempenho e longevidade de materiais e dispositivos implantados. Existe uma necessidade crítica de desenvolvimento de novos materiais que mitiguem FBR e sejam mecanicamente robustos. No presente pedido, a FBR aos implantes em pontos de

tempo selecionados após a implantação (1, 2 e 3 meses) foi avaliada. Um hidrogel de PHEMA comumente usado foi escolhido como controle. Em cada ponto de tempo, as amostras de hidrogel foram recuperadas e examinou-se a FBR incluindo a fibrose ao redor dos implantes usando coloração tricrômica de Masson, assim como a formação de vasos sanguíneos usando coloração de CD31. Em 1 mês, observou-se que todos os hidrogéis de TR-ZW tinham camadas de colágeno soltas em torno deles, conforme indicado pela cor azul clara (Figura 24A), enquanto os hidrogéis de PHEMA tinham uma deposição de colágeno muito mais densa. O hidrogel de P(TR-SB) apresentou uma deposição de colágeno de densidade particularmente baixa. Acredita-se que a deposição de colágeno solto afeta menos a transferência de massa entre o corpo e o implante e, portanto, é desejável em muitas aplicações. Os experimentos de implantação a longo prazo (ou seja, 2 e 3 meses) revelaram resultados semelhantes. A densidade de colágeno na interface entre os hidrogéis e tecidos TR-ZW foi significativamente menor quando comparada ao caso do controle PHEMA (Figura 24B).

[00458] Ao comparar os hidrogéis de TR-ZW com os hidrogéis de PCB relatados anteriormente (Jiang et al., "Click Hydrogels, Microgels and Nanogels: Emerging Platforms for Drug Delivery and Tissue Engineering," *Biomaterials* 35(18):4969-4985 (2014); Lee et al., "Light-Triggered in Vivo Activation of Adhesive Peptides Regulates Cell Adhesion, Inflammation and Vascularization of Biomaterials," *Nature Materials* 14(3):352-360 (2015), que são incorporados por referência, na sua totalidade), constatou-se que a densidade da deposição de colágeno e o número de vasos sanguíneos para os hidrogéis de TR-ZW eram comparáveis ou até melhores do que aqueles para o PCB (Jiang et al., "Click Hydrogels, Microgels and Nanogels: Emerging Platforms for Drug Delivery and Tissue Engineering," *Biomaterials* 35(18):4969-4985 (2014), que é incorporado por referência, na sua totalidade) (Fi-

guras 26A-26B). É geralmente considerado que a propriedade anti-incrustante ou biocompatibilidade está comprometida se a fração hidrofóbica for incorporada em materiais zwitteriônicos. O grupo triazol como uma porção hidrofóbica de fato afetou sua propriedade anti-incrustante. Por exemplo, a quantidade de adsorção no plasma para as superfícies P(qTR-CB), P(TR-CB) e P(TR-SB) foi de  $3,1 \pm 1,8$ ,  $6,4 \pm 2,5$  e  $10,9 \pm 3,2$  ng/cm<sup>2</sup>, respectivamente (Tabela 1), enquanto a superfície PCB foi relatada por adsorver apenas  $<0,3$  ng/cm<sup>2</sup> de proteína do plasma. Contudo, a biocompatibilidade in vivo ou a propriedade resistente à FBR dos hidrogéis de TR-ZW não foi afetada. O grupo triazol desempenha um papel aqui na mitigação da resposta fibrótica ademais à porção zwitteriônica. Os alginatos quimicamente modificados contendo grupos triazóis foram relatados por ter capacidade para mitigar efetivamente a resposta fibrótica (Desai et al., "Versatile Click Alginate Hydrogels Crosslinked via Tetrazine–Norbornene Chemistry," *Biomaterials* 50:30-37 (2015), que é incorporado por referência na sua totalidade). A propriedade resistente à FBR dos hidrogéis de TR-ZW também foi consistente com os dados de ativação de macrófagos (Figura 22B). Desse modo, uma nova classe de hidrogéis que exibia propriedades similares de resistência à FBR foi desenvolvida, mas eram muito mais robustas mecanicamente do que os hidrogéis zwitteriônicos desenvolvidos até o momento.

**Tabela 1. Adsorção de proteínas (Plasma humano não diluído) Medido por SPR**

Massa de superfície (ng /cm <sup>2</sup> )	Superfície		
	Ouro convencional	P(qTR-CB)	P(TR-CB) P(TR-SB)
	$211,6 \pm 10,3$	$3,1 \pm 1,8$	$6,4 \pm 2,5$ $10,9 \pm 3,2$

Valores médios e desvios padrão de três medições.

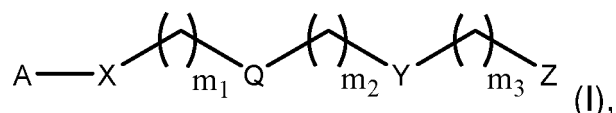
[00459] Em resumo, uma nova classe de hidrogéis triazol zwitteriônicos que é mecanicamente robusta e resistente à FBR foi projetada e sintetizada. Em comparação com os hidrogéis zwitteriônicos convenci-

onais que são tipicamente fracos ou frágeis, esses novos hidrogéis de TR-ZW exibiram alta resiliência incluindo maior elasticidade e melhor resistência à compressão ou resistência à dobramento. Eles mantiveram as características anti-incrustantes, esperadas para materiais zwitteriônicos. Mais importante, após o implante subcutâneo em camundongos imunocompetentes, os hidrogéis de TR-ZW mitigaram a fibrose e promoveram a formação de vasos sanguíneos. A combinação de propriedades mecânicas e resistentes à FBR é altamente desejável para muitas aplicações biomédicas, tais como encapsulamento celular e modificações de implantes, os quais requerem estabilidade do material e integração com o corpo para a função e desempenho a longo prazo.

[00460] Embora modalidades preferenciais tenham sido retratadas e descritas com detalhes neste documento, ficará evidente para os versados na técnica que várias modificações, adições, substituições e similares podem ser feitas que haja desvio da essência da invenção e que elas são, portanto, consideradas no âmbito da invenção conforme definido nas reivindicações a seguir.

## REIVINDICAÇÕES

1. Monômero **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula (I):



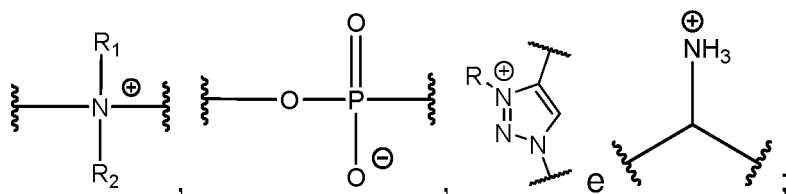
em que,

A é selecionado dentre uma unidade contendo sacarídeo e uma unidade contendo álcool polivinílico;

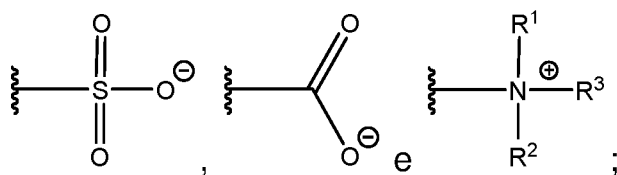
X é selecionado dentre o grupo que consiste em O, NH, NR', C(O) e C<sub>1-20</sub> alquilenos, em que C<sub>1-20</sub> alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente a cada ocorrência deste dentre o grupo que consiste em OH, halogênio, ciano, -CF<sub>3</sub> e C<sub>1-6</sub> alcóxi;

Q está ausente ou é um ligante;

Y é selecionado dentre o grupo que consiste em



Z é selecionado dentre o grupo que consiste em



m<sub>1</sub> é 0 a 50;

m<sub>2</sub> é 0 a 50;

m<sub>3</sub> é 0 a 50;

R é C<sub>1-20</sub> alquila;

R' é -C(O)-C<sub>1-6</sub> alqueno;

R<sup>1</sup> é C<sub>1-20</sub> alquila;

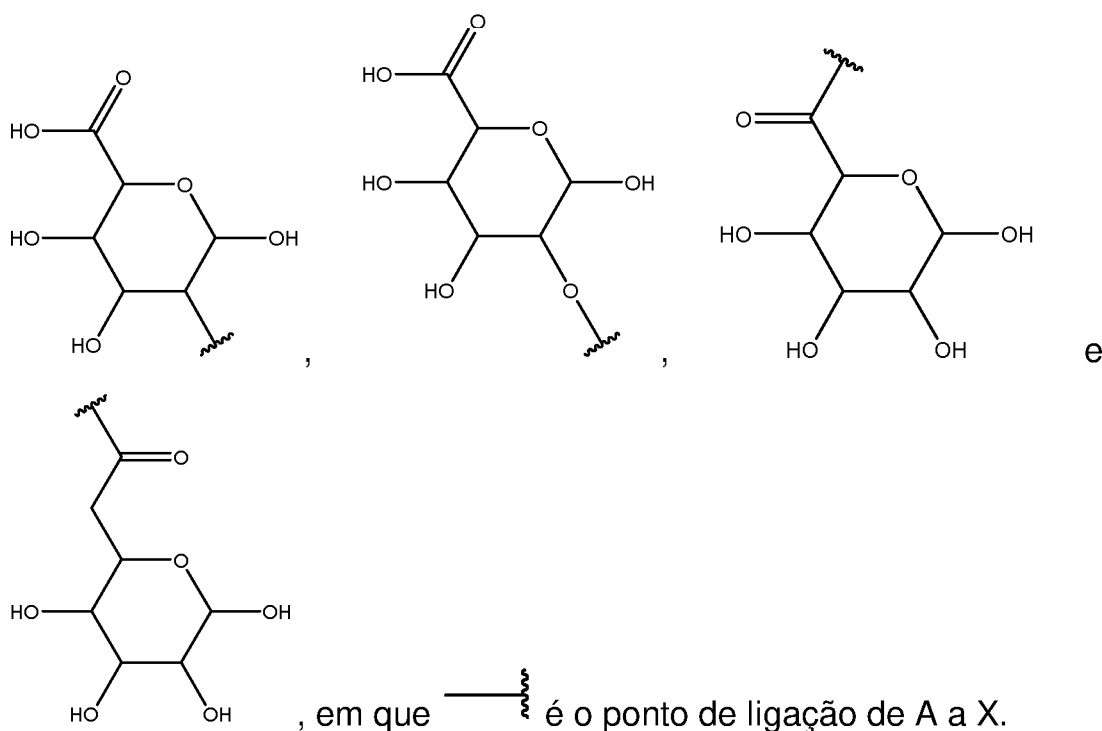
R<sup>2</sup> é C<sub>1-20</sub> alquila; e

$R^3$  é  $C_{1-20}$  alquila.

2. Monômero, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que A é selecionado dentre o grupo que consiste em um monossacarídeo, dissacarídeo, trissacarídeo e oligossacarídeo.

3. Monômero, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que A é um monossacarídeo selecionado dentre o grupo que consiste em hexose, hexulose, ácido hexurônico, pentose, pentulose e ácido penturônico substituídos ou não substituídos.

4. Monômero, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que A é selecionado dentre o grupo que consiste em:

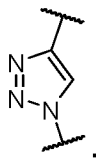


5. Monômero, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que Q está presente e é selecionado dentre o grupo que consiste em  $C_{1-20}$  alquileno,  $C_{3-20}$  cicloalquileno, arileno, heteroarileno, heterociclino,  $-O-C_{1-20}$  alquileno, poli(etileno glicol), e polipeptídeo; em que  $C_{1-20}$  alquileno,  $C_{3-20}$  cicloalquileno, arileno, heteroarileno, heterociclileno ou  $-O-C_{1-20}$  alquileno é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente a cada

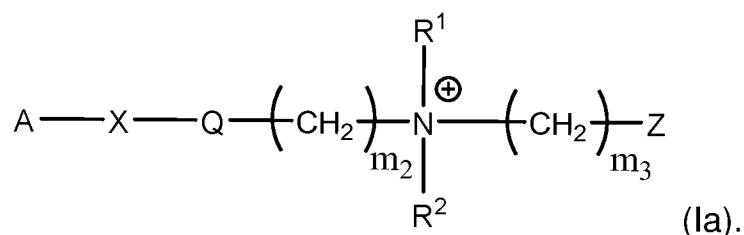
ocorrência deste dentre o grupo que consiste em -OH, halogênio, ciano, -CF<sub>3</sub>, C<sub>1-6</sub> alquila, e C<sub>1-6</sub> alcóxi; e em que C<sub>1-20</sub> alquilenos é opcionalmente interrompido por um ou mais heteroátomos selecionados dentre o grupo que consiste em oxigênio, nitrogênio, enxofre e nitrogênio.

6. Monômero, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que Q é heteroarileno.

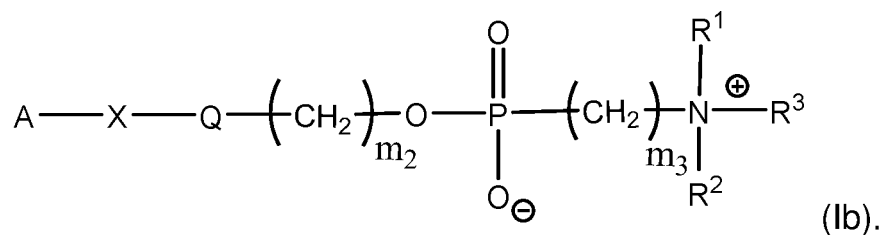
7. Monômero, de acordo com a reivindicação 1, **caracteri-**

**zado** pelo fato de que Q é .

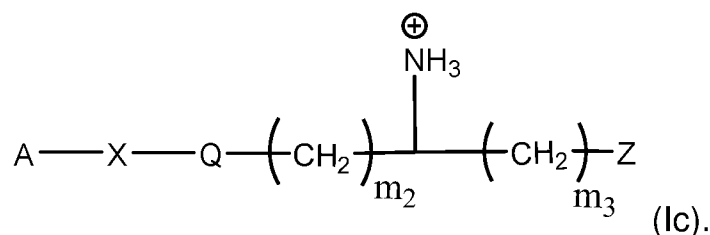
8. Monômero, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula (Ia):



9. Monômero, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula (Ib):

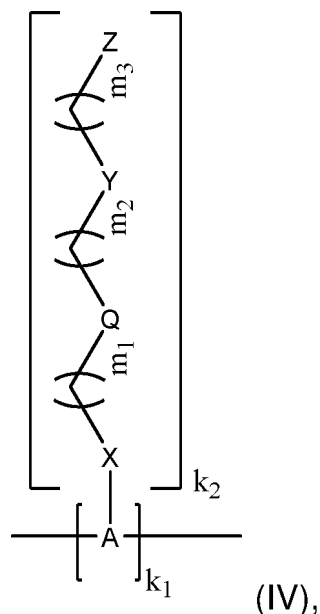


10. Monômero, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula (Ic):



11. Polímero **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula

(IV):



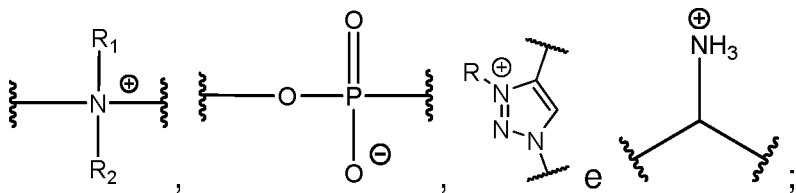
em que,

A é independentemente selecionado dentre uma unidade contendo sacarídeo e uma unidade contendo álcool polivinílico para cada unidade monomérica do polímero;

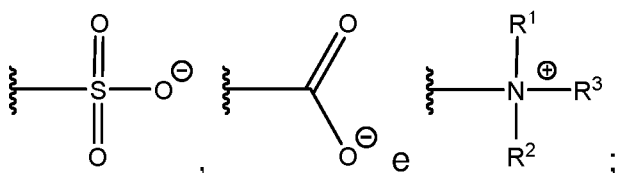
X é selecionado dentre o grupo que consiste em O, NH, NR', C(O) e C<sub>1-20</sub> alquilenos, em que C<sub>1-20</sub> alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente a cada ocorrência deste dentre o grupo que consiste em OH, halogênio, ciano, -CF<sub>3</sub> e C<sub>1-6</sub> alcóxi;

Q está ausente ou é um ligante;

Y é selecionado a partir do grupo que consiste em



Z é selecionado dentre o grupo que consiste em



$m_1$  é 0 a 50;

$m_2$  é 0 a 50;

$m_3$  é 0 a 50;

R é  $C_{1-20}$  alquila;

R' é  $-C(O)-C_{1-6}$  alqueno;

$R^1$  é  $C_{1-20}$  alquila;

$R^2$  é  $C_{1-20}$  alquila;

$R^3$  é  $C_{1-20}$  alquila

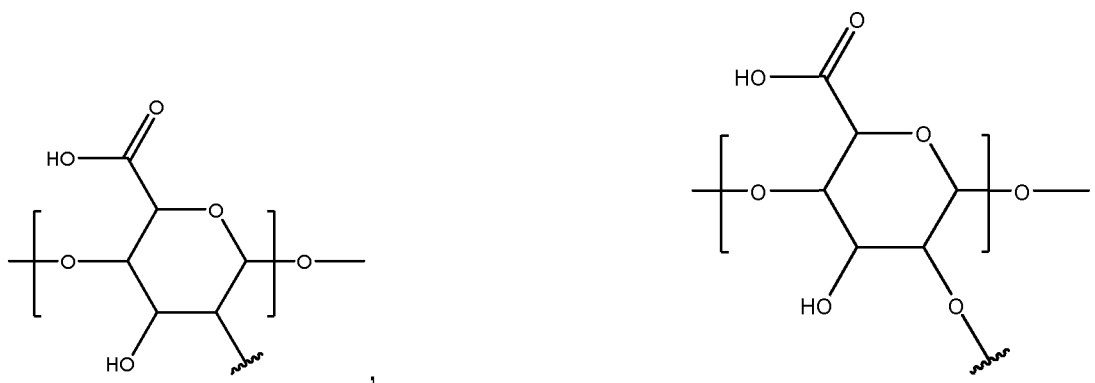
$k_1$  é qualquer número inteiro; e

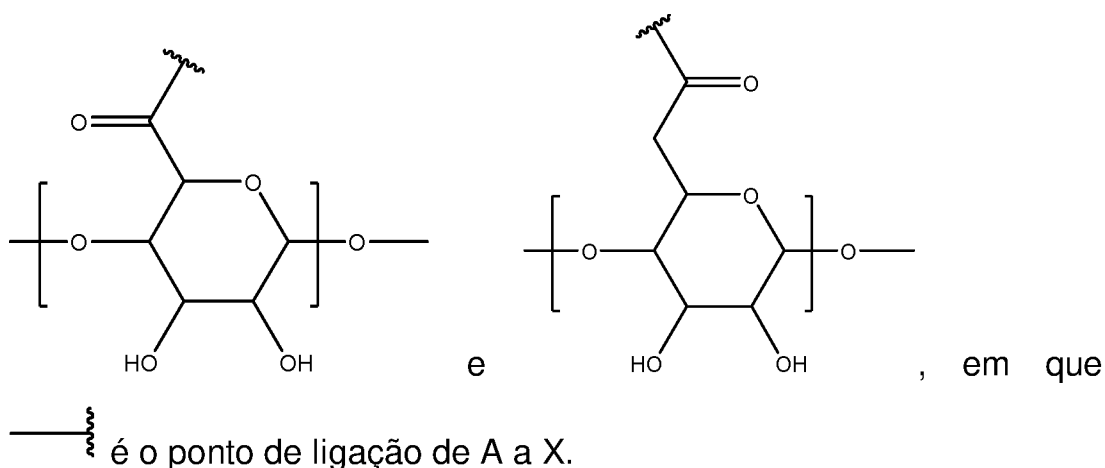
$k_2$  é selecionado independentemente para cada unidade monomérica de 0 ou 1, com a condição de que pelo menos um  $k_2$  é 1; em que as unidades monoméricas do polímero são iguais ou diferentes.

12. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que A é um sacarídeo selecionado independentemente, em cada ocorrência, dentre uma unidade contendo monossacarídeo, dissacarídeo ou oligossacarídeo.

13. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que A é um monossacarídeo selecionado dentre o grupo que consiste em hexose, hexulose, ácido hexurônico, pentose, pentulose e ácido penturônico substituídos ou não substituídos.

14. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que A é selecionado dentre o grupo que consiste em:

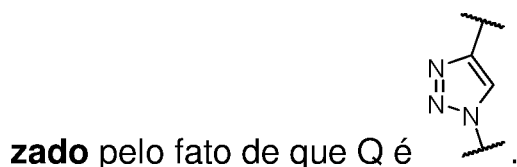




15. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que Q está presente e é selecionado dentre o grupo que consiste em C<sub>1-20</sub> alquilenos, C<sub>3-20</sub> cicloalquilenos, arilenos, heteroarilenos, heterociclenos, -O-C<sub>1-20</sub> alquilenos, poli(etileno glicol), e polipeptídeo; em que C<sub>1-20</sub> alquilenos, C<sub>3-20</sub> cicloalquilenos, arilenos, heteroarilenos, heterocicliclenos ou -O-C<sub>1-20</sub> alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente a cada ocorrência deste dentre o grupo que consiste em -OH, halogênio, ciano, -CF<sub>3</sub>, C<sub>1-6</sub> alquila, e C<sub>1-6</sub> alcóxi; e em que C<sub>1-20</sub> alquilenos é opcionalmente interrompido por um ou mais heteroátomos selecionados dentre o grupo que consiste em oxigênio, nitrogênio, enxofre e nitrogênio.

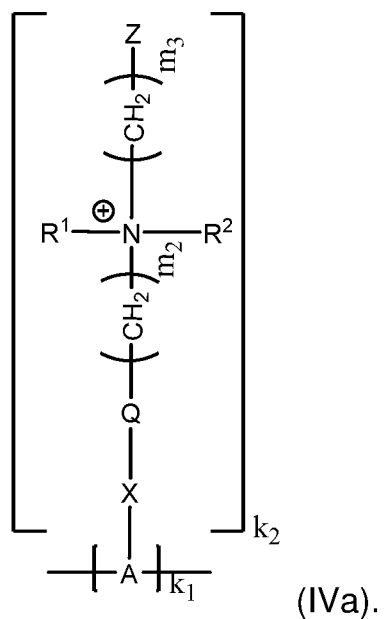
16. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que Q é heteroarileno.

17. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracteri-**

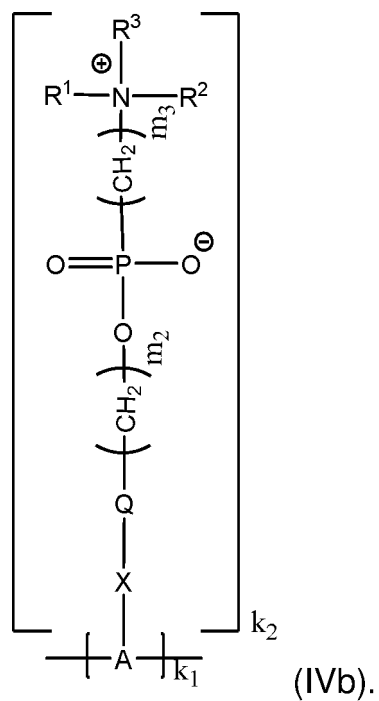


18. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que k<sub>1</sub> é de 5 a 10.000.

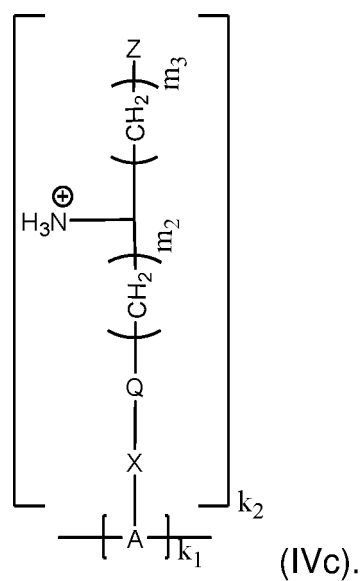
19. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula (IVa):



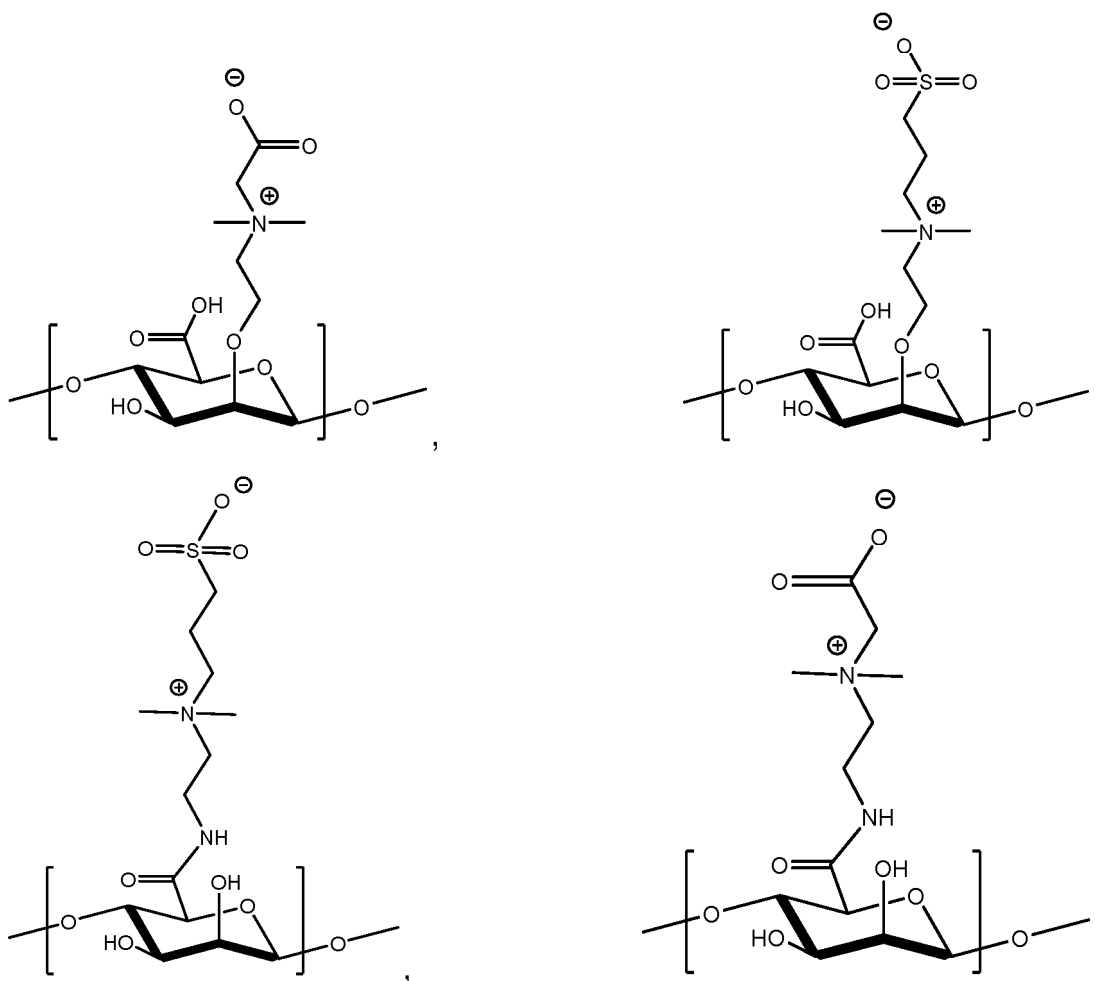
20. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula (IVb):

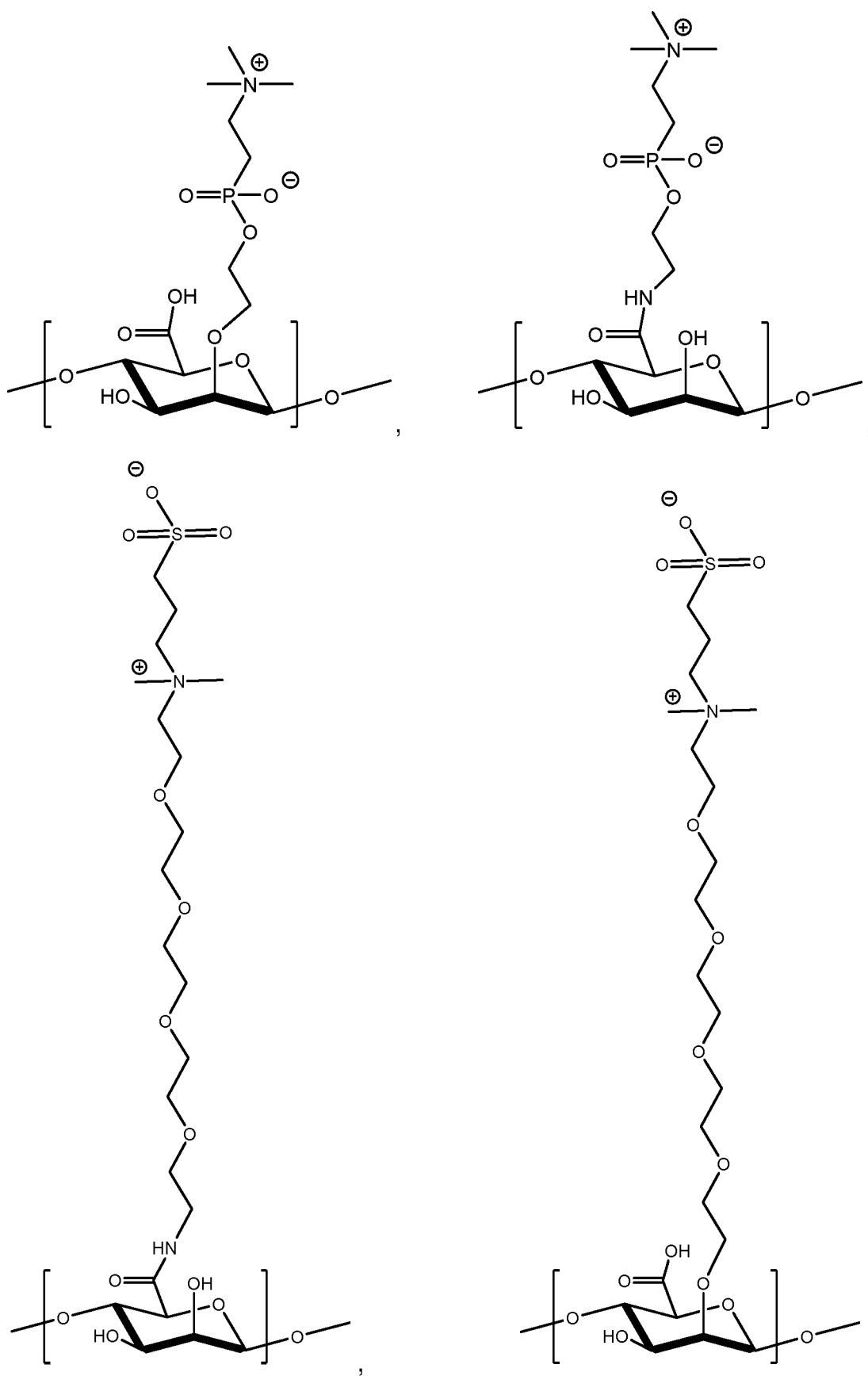


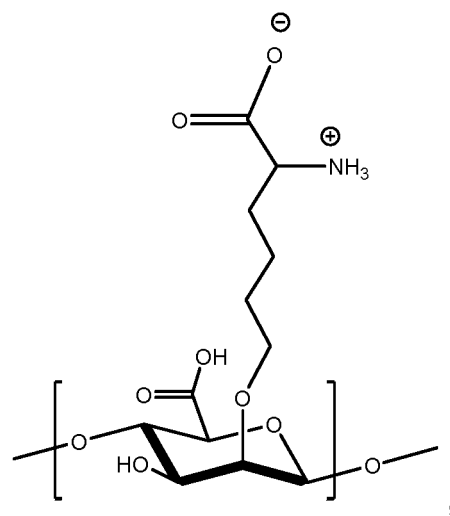
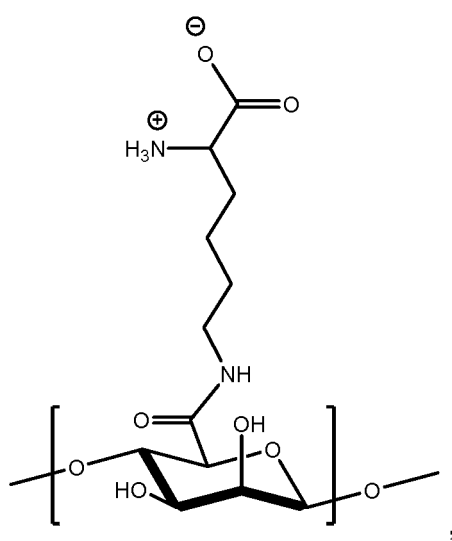
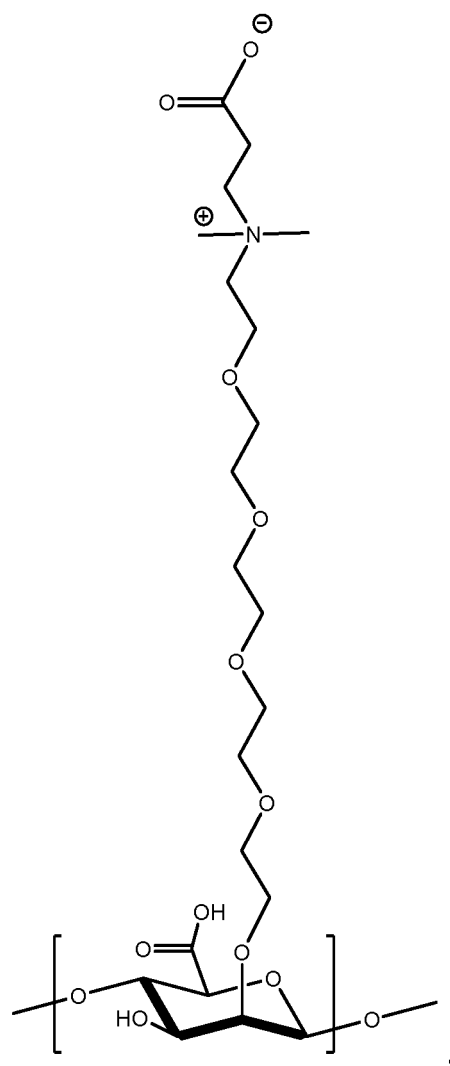
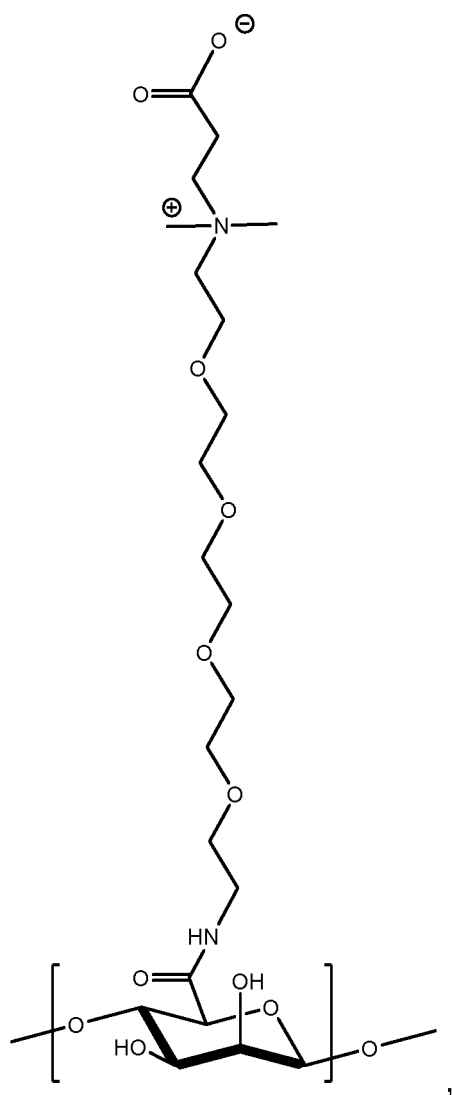
21. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula (IVc):

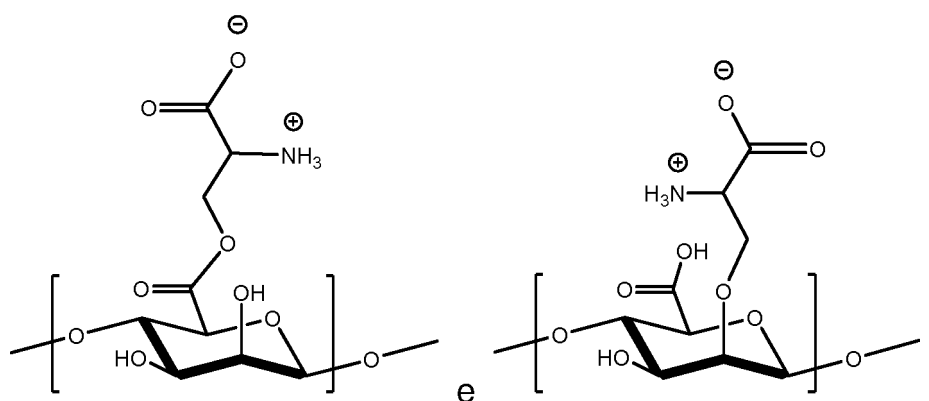


22. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que uma ou mais unidades monoméricas do polímero é independentemente selecionada do grupo consistindo em:



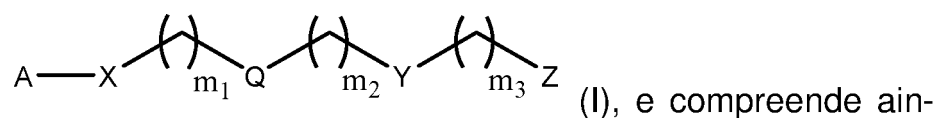






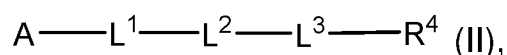
23. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que o referido polímero compreende duas ou mais unidades monoméricas diferentes.

24. Polímero, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pelo fato de que o referido polímero compreende uma ou mais unidades monoméricas da Fórmula (I):



da

uma ou mais unidades monoméricas da Fórmula (II):



em que

$L^1$  é selecionado do grupo consistindo em O, NH,  $NR'$ ,  $C(O)$  e  $C_{1-20}$  alquilenos, em que  $C_{1-20}$  alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em OH, halogênio, ciano,  $-CF_3$  e  $C_{1-6}$  alcóxi;

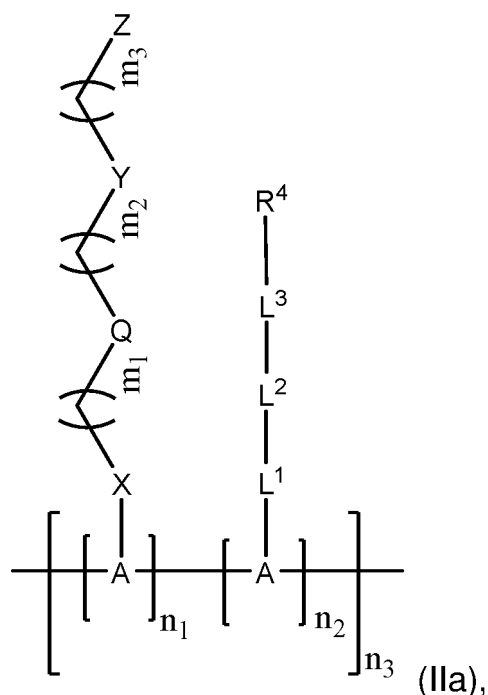
$L^2$  está ausente ou é  $C_{1-20}$  alquilenos, em que  $C_{1-20}$  alquilenos é opcionalmente substituído de 1 a 20 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em OH, halogênio, ciano,  $-CF_3$  e  $C_{1-6}$  alcóxi;

$L^3$  é selecionado do grupo consistindo em  $C_{1-20}$  alquilenos,  $C_{1-20}$  alquenilenos,  $C_{3-12}$  cicloalquenilenos e arilenos, em que o arileno é

opcionalmente substituído de 1 a 3 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em heteroarileno e heterociclileno; e

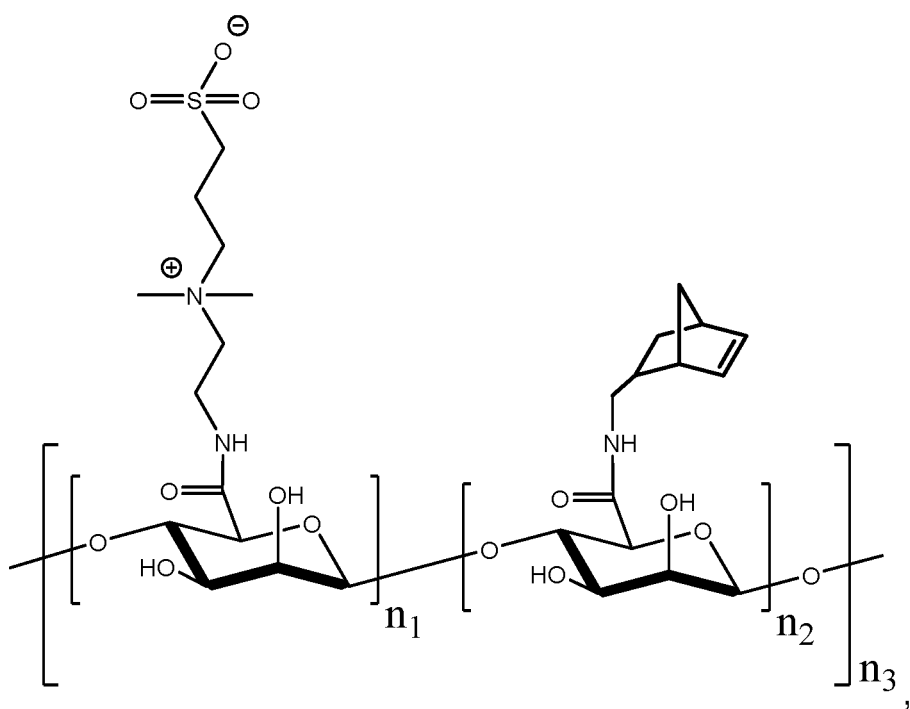
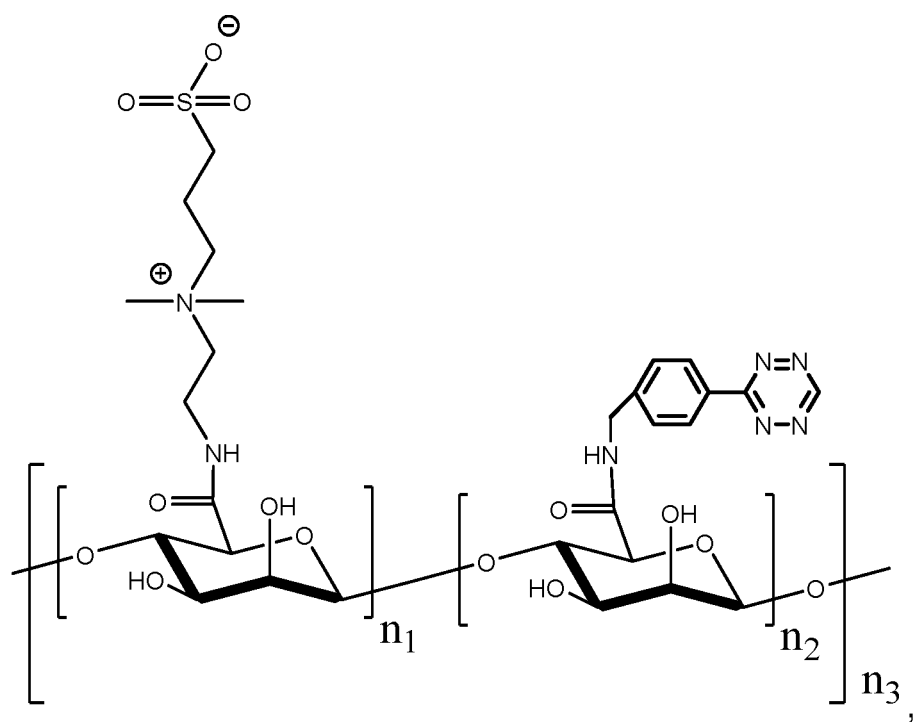
$R^4$  é selecionado do grupo consistindo em H, SH,  $N_3$ ,  $C_{1-6}$  alquila,  $C_{2-20}$  alquenila,  $C_{2-20}$  alquinila,  $C_{3-12}$  cicloalquenila,  $C_{3-12}$  cicloalquinila, heteroarila e heterociclila, em que  $C_{1-6}$  alquila,  $C_{2-20}$  alquenila,  $C_{2-20}$  alquinila,  $C_{3-12}$  cicloalquenila,  $C_{3-12}$  cicloalquinila, heteroarila e heterociclila são opcionalmente substituídos de 1 a 3 vezes com um substituinte selecionado independentemente em cada ocorrência deste pelo grupo consistindo em H, OH, halogênio, ciano,  $-CF_3$  e  $C_{1-6}$  alcóxi.

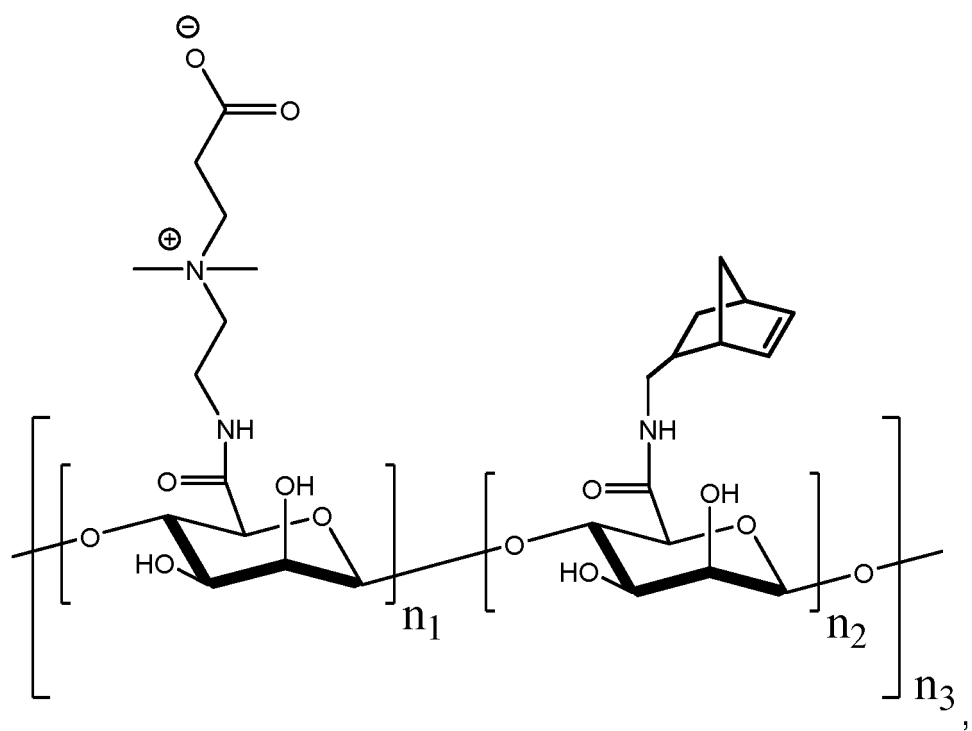
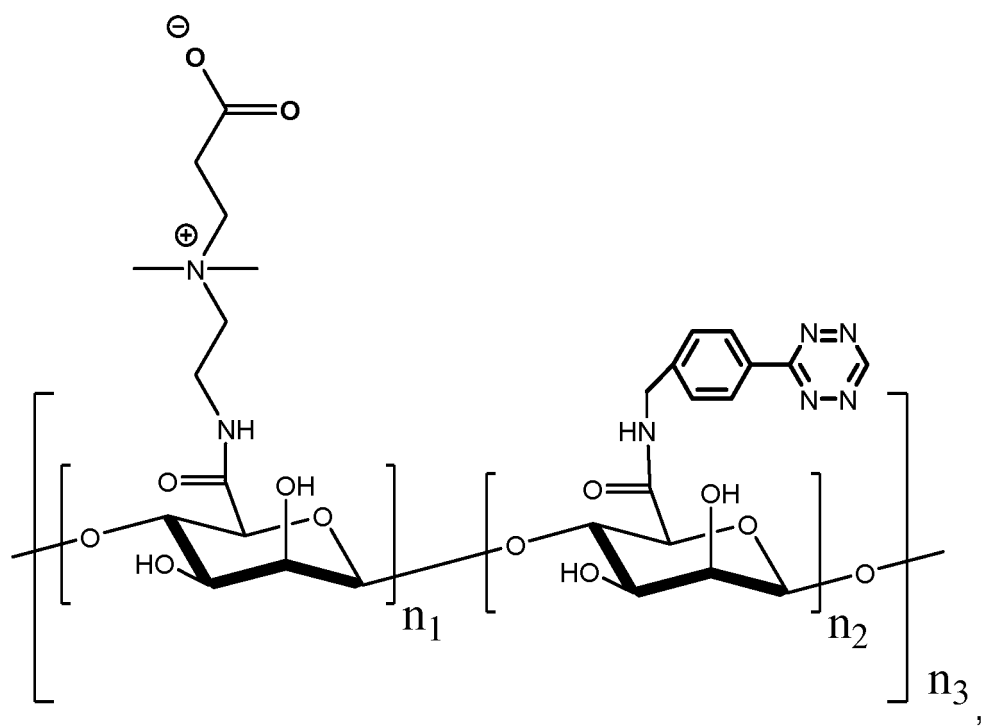
25. Polímero, de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado** pelo fato de que o referido polímero tem a Fórmula (IIa):

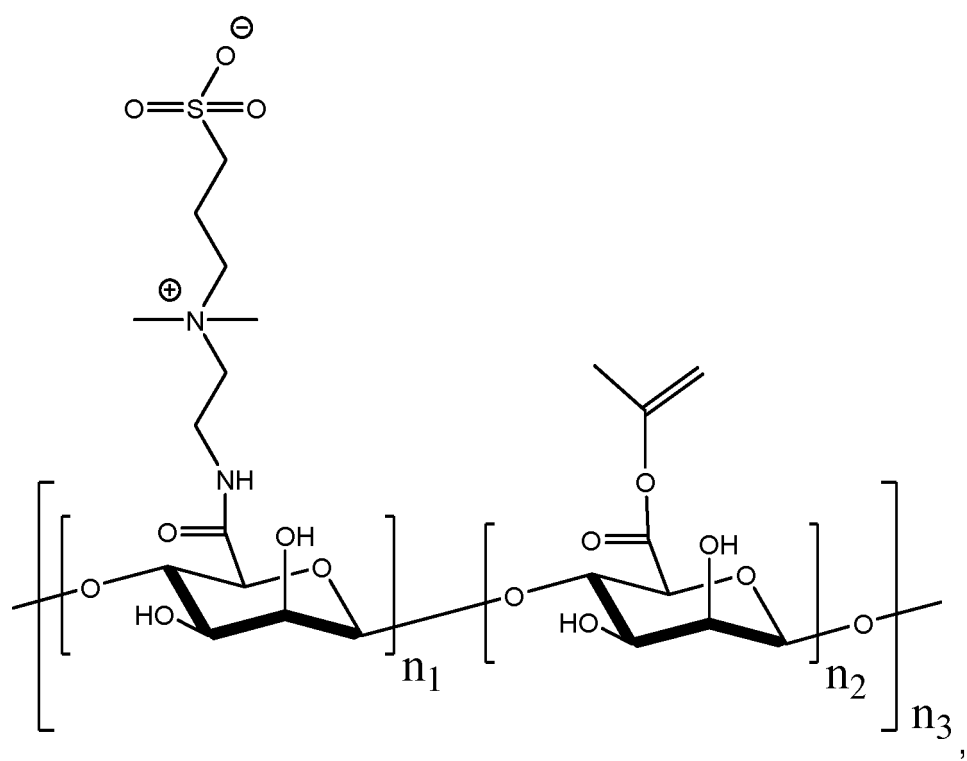
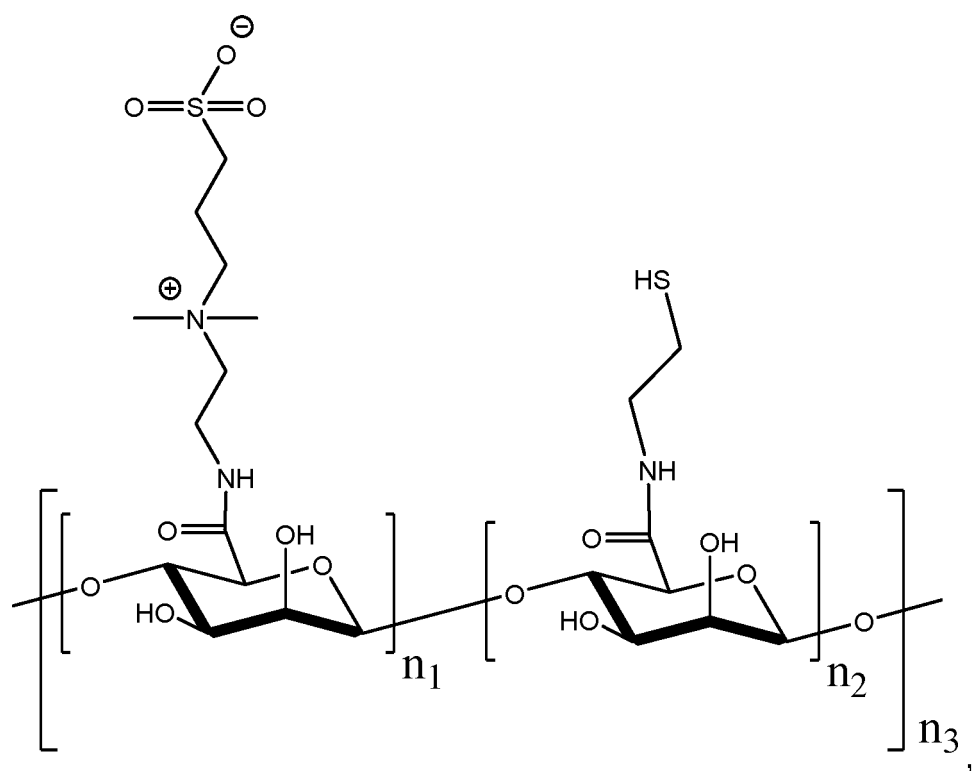


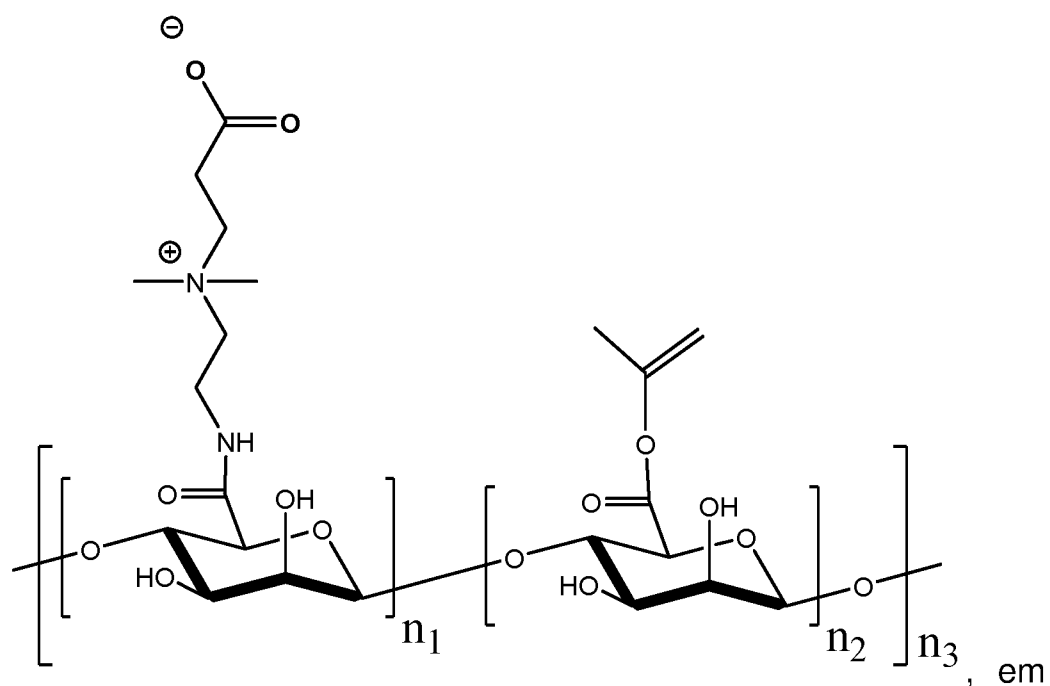
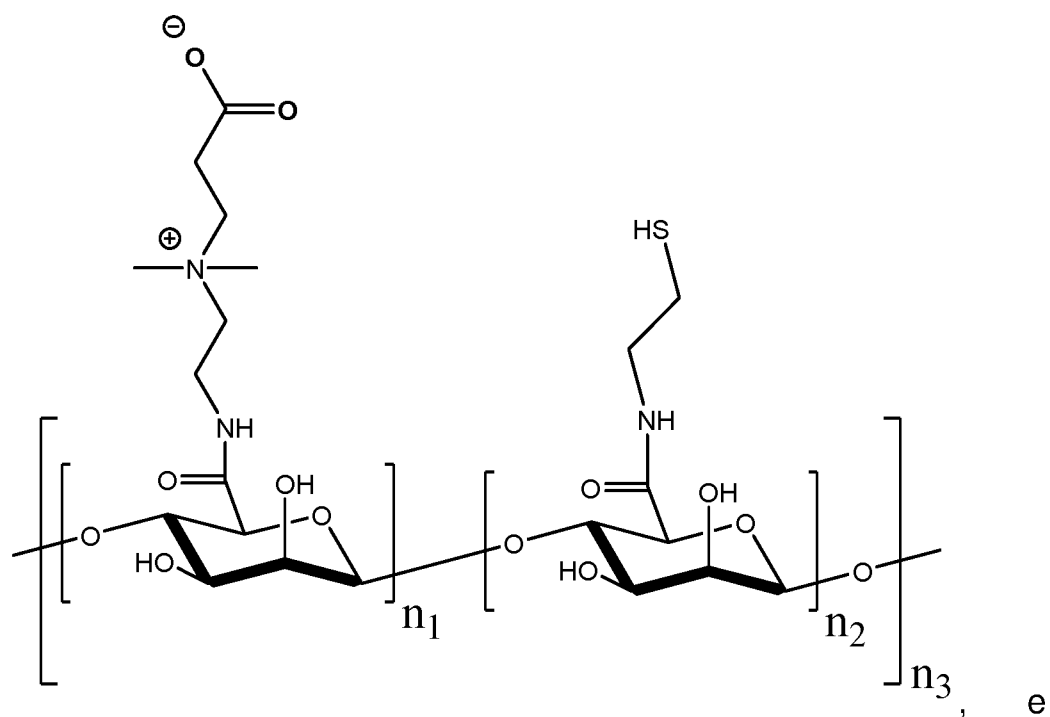
em que  $n_1$ ,  $n_2$  e  $n_3$  são qualquer número inteiro.

26. Polímero, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de que é selecionado do grupo consistindo em:









que  $n_1$ ,  $n_2$  e  $n_3$  são qualquer número inteiro.

27. Polímero, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de que cada um dentre  $n_1$ ,  $n_2$  e  $n_3$  são independentemente selecionados dentre um número inteiro de 5 a 10.000.

28. Hidrogel **caracterizado** pelo fato de que compreende qualquer um dos polímeros como definido nas reivindicações 11 a 27.

29. Cápsula **caracterizada** pelo fato de que compreende:

o hidrogel como definido na reivindicação 28, e  
um agente terapêutico encapsulado no referido hidrogel.

30. Cápsula, de acordo com a reivindicação 29, **caracterizada** pelo fato de que o referido agente terapêutico compreende uma preparação de células.

31. Cápsula, de acordo com a reivindicação 29, **caracterizada** pelo fato de que compreende ainda:

uma preparação de células encapsuladas no hidrogel, em que o agente terapêutico é um agente que é liberado da preparação de células.

32. Cápsula, de acordo com a reivindicação 31, **caracterizada** pelo fato de que a preparação de células compreende uma preparação de ilhotas.

33. Cápsula, de acordo com a reivindicação 29, **caracterizada** pelo fato de que o agente terapêutico é selecionado do grupo consistindo em uma proteína terapêutica, peptídeo, anticorpo ou seu fragmento de ligação, mimético de anticorpo, ácido nucleico, pequena molécula, hormônio, fator de crescimento, fator angiogênico, citocina, agente anti-inflamatório, e qualquer combinação destes.

34. Método de distribuição de um agente terapêutico a um sujeito, sendo o referido método **caracterizado** pelo fato de que compreende:

administração da cápsula, como definida na reivindicação 29, ao referido sujeito.

35. Método, de acordo com a reivindicação 34, **caracterizado** pelo fato de que a referida administração compreende:

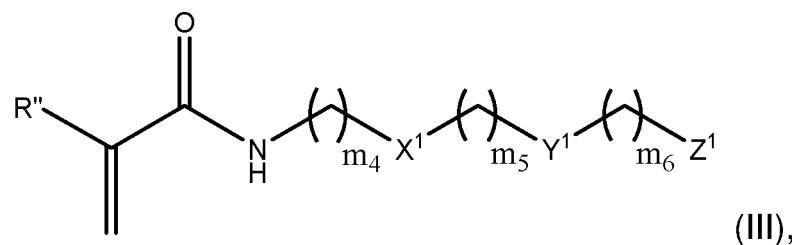
implantação da cápsula no sujeito.

36. Método de tratamento de um sujeito diabético, sendo o referido método **caracterizado** pelo fato de que compreende:

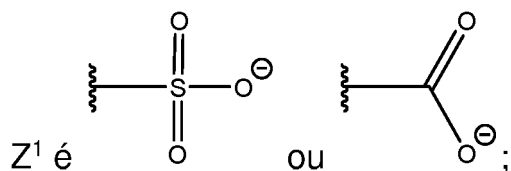
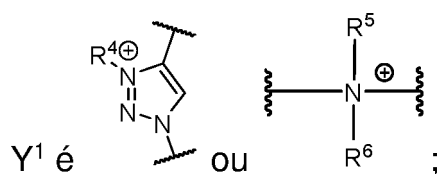
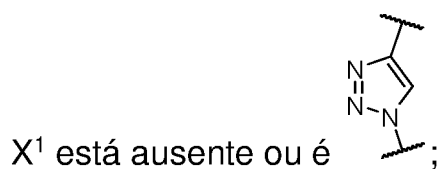
implantação da cápsula, como definida na reivindicação 32,

em um sujeito com diabetes.

37. Monômero **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula (III):



em que,



$m_4$  é de 1 a 50;

$m_5$  é de 0 a 10;

$m_6$  é de 1 a 50;

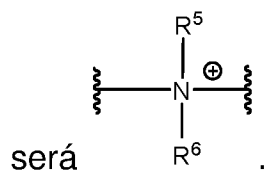
$\text{R}''$  é H ou  $\text{C}_{1-6}$  alquila;

$\text{R}^4$  é  $\text{C}_{1-20}$  alquila;

$\text{R}^5$  é  $\text{C}_{1-20}$  alquila; e

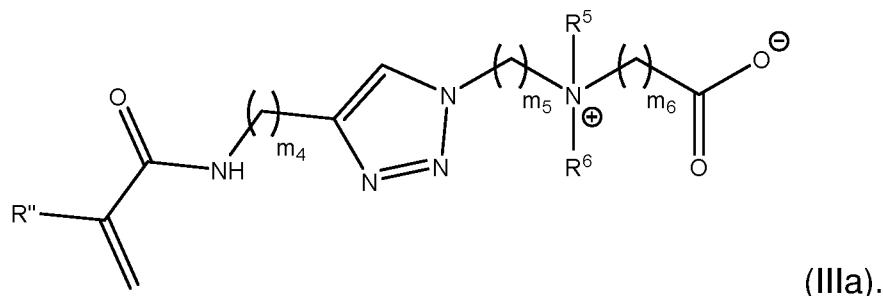
$\text{R}^6$  é  $\text{C}_{1-20}$  alquila,

com a condição de que, quando  $\text{X}^1$  estiver ausente,  $\text{Y}^1$  não

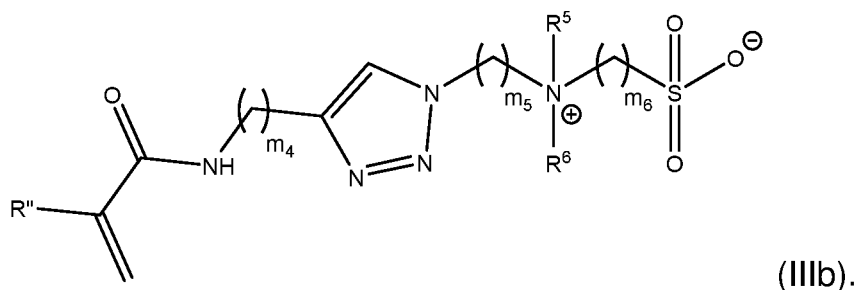


38. Monômero, de acordo com a reivindicação 37, **caracte-**

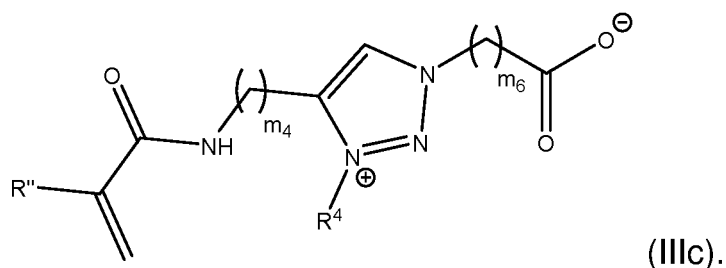
**rizado** pelo fato de que tem a Fórmula (IIIa):



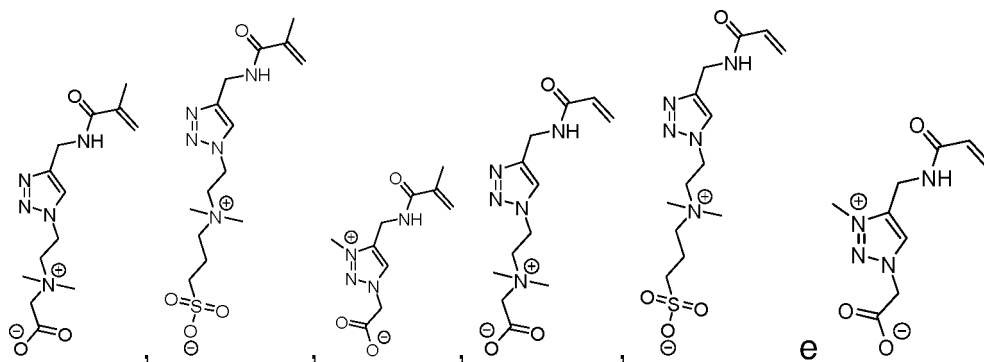
39. Monômero, de acordo com a reivindicação 37, **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula (IIIb):



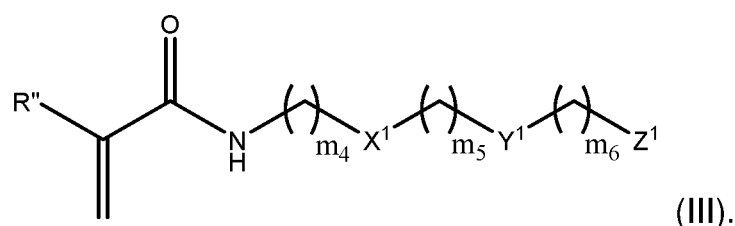
40. Monômero, de acordo com a reivindicação 37, **caracterizado** pelo fato de que tem a Fórmula (IIIc):



41. Monômero, de acordo com a reivindicação 37, **caracterizado** pelo fato de que é selecionado do grupo consistindo em:



42. Rede polimérica **caracterizada** pelo fato de que compreende monômeros reticulados da Fórmula (III):



43. Rede polimérica, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizada** pelo fato de que os monômeros reticulados da rede são iguais.

44. Rede polimérica, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizada** pelo fato de que os monômeros reticulados da rede são diferentes.

45. Rede polimérica, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizada** pelo fato de que os monômeros são reticulados com um reticulador de carboxibetaína diacrilamida (CBAAX).

46. Hidrogel **caracterizado** pelo fato de que compreende a rede polimérica como definida na reivindicação 42.

47. Cápsula **caracterizada** pelo fato de que compreende:  
o hidrogel como definido na reivindicação 46, e  
um agente terapêutico encapsulado no referido hidrogel.

48. Cápsula, de acordo com a reivindicação 47, **caracterizada** pelo fato de que o referido agente terapêutico compreende uma preparação de células.

49. Cápsula, de acordo com a reivindicação 47, **caracterizada** pelo fato de que compreende ainda:

uma preparação de células encapsuladas no hidrogel, em que o agente terapêutico é um agente que é liberado da preparação de células.

50. Cápsula, de acordo com a reivindicação 49, **caracterizada** pelo fato de que a preparação de células compreende uma preparação de ilhotas.

51. Cápsula, de acordo com a reivindicação 47, **caracteri-**

**zada** pelo fato de que o agente terapêutico é selecionado do grupo consistindo em uma proteína terapêutica, peptídeo, anticorpo ou seu fragmento de ligação, mimético de anticorpo, ácido nucleico, pequena molécula, hormônio, fator de crescimento, fator angiogênico, citocina, agentes anti-inflamatórios, e qualquer combinação destes.

52. Método de distribuição de um agente terapêutico a um sujeito, sendo o referido método **caracterizado** pelo fato de que compreende:

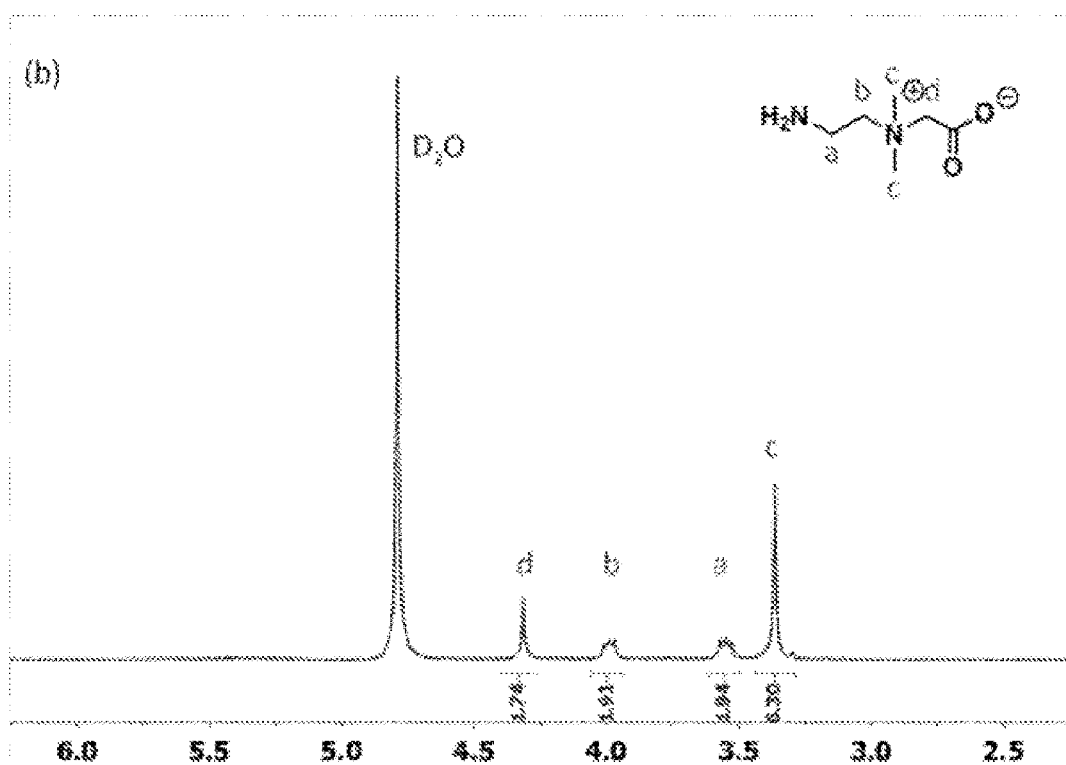
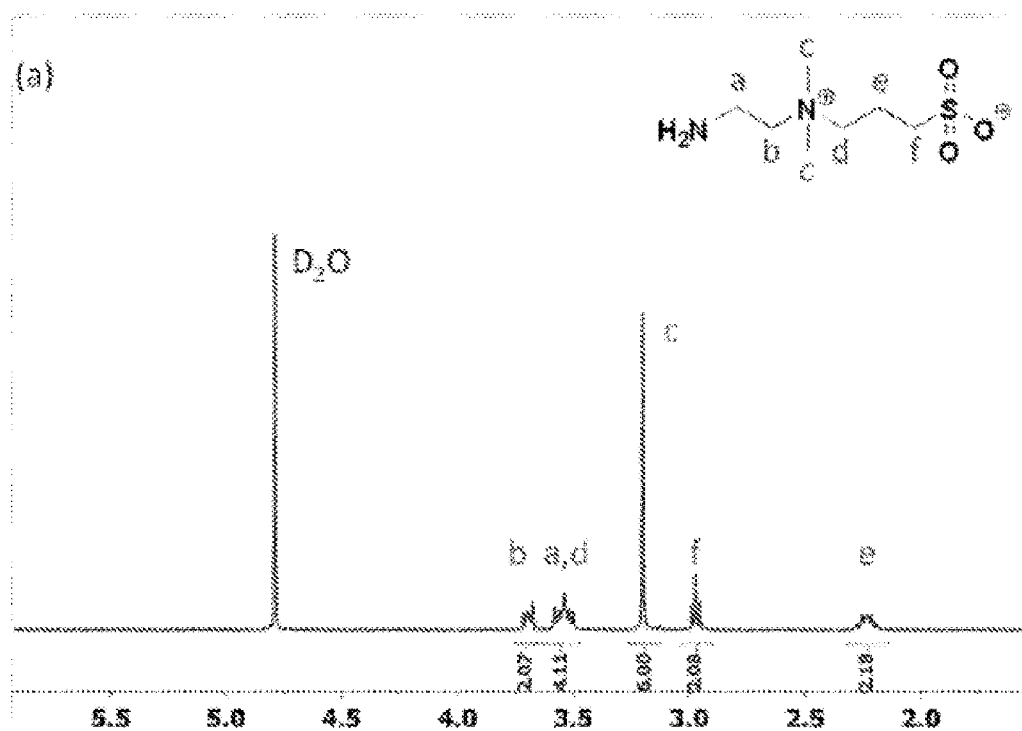
administração da cápsula, como definida na reivindicação 47, ao referido sujeito.

53. Método, de acordo com a reivindicação 52, **caracterizado** pelo fato de que a referida administração compreende:

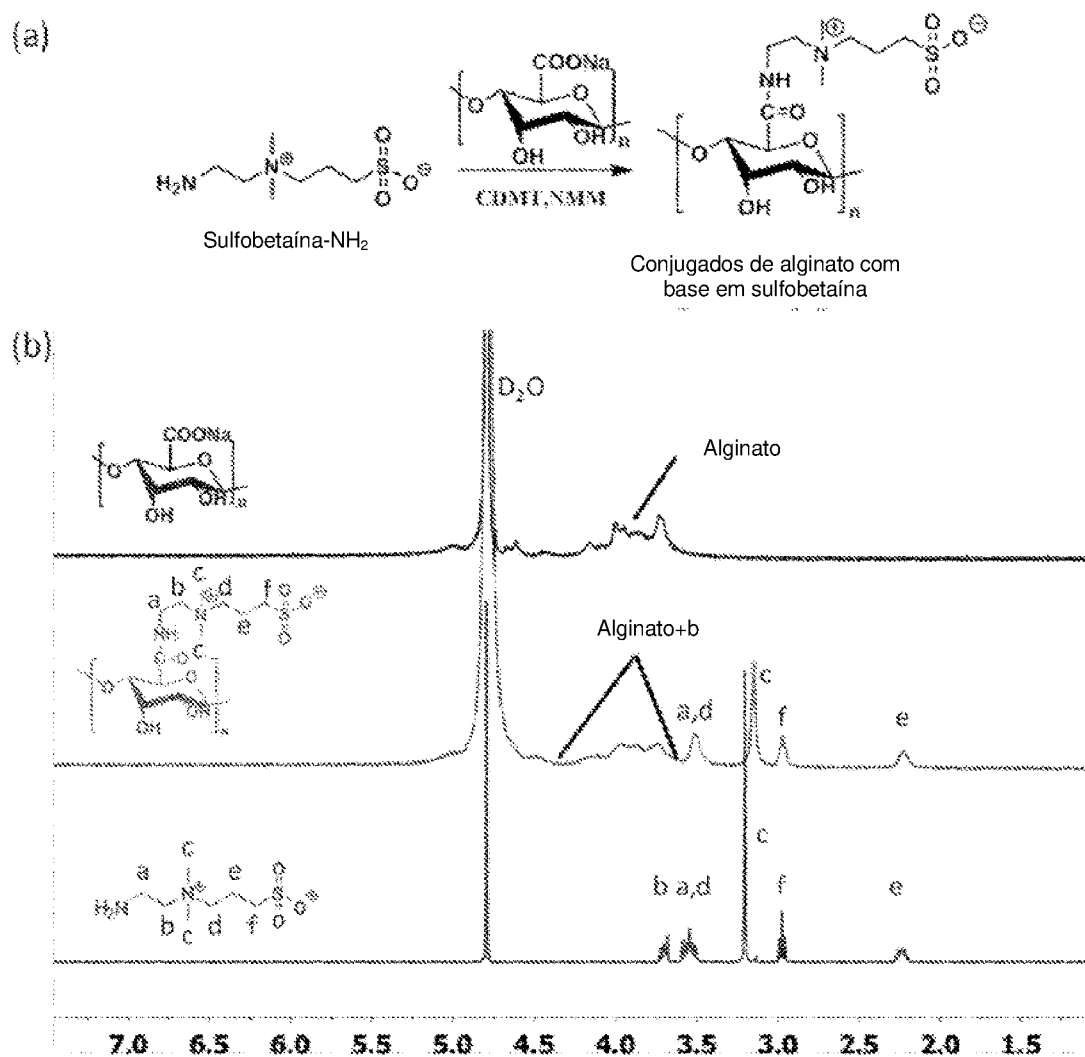
implantação da cápsula no sujeito.

54. Método de tratamento de um sujeito diabético, sendo o referido método **caracterizado** pelo fato de que compreende:

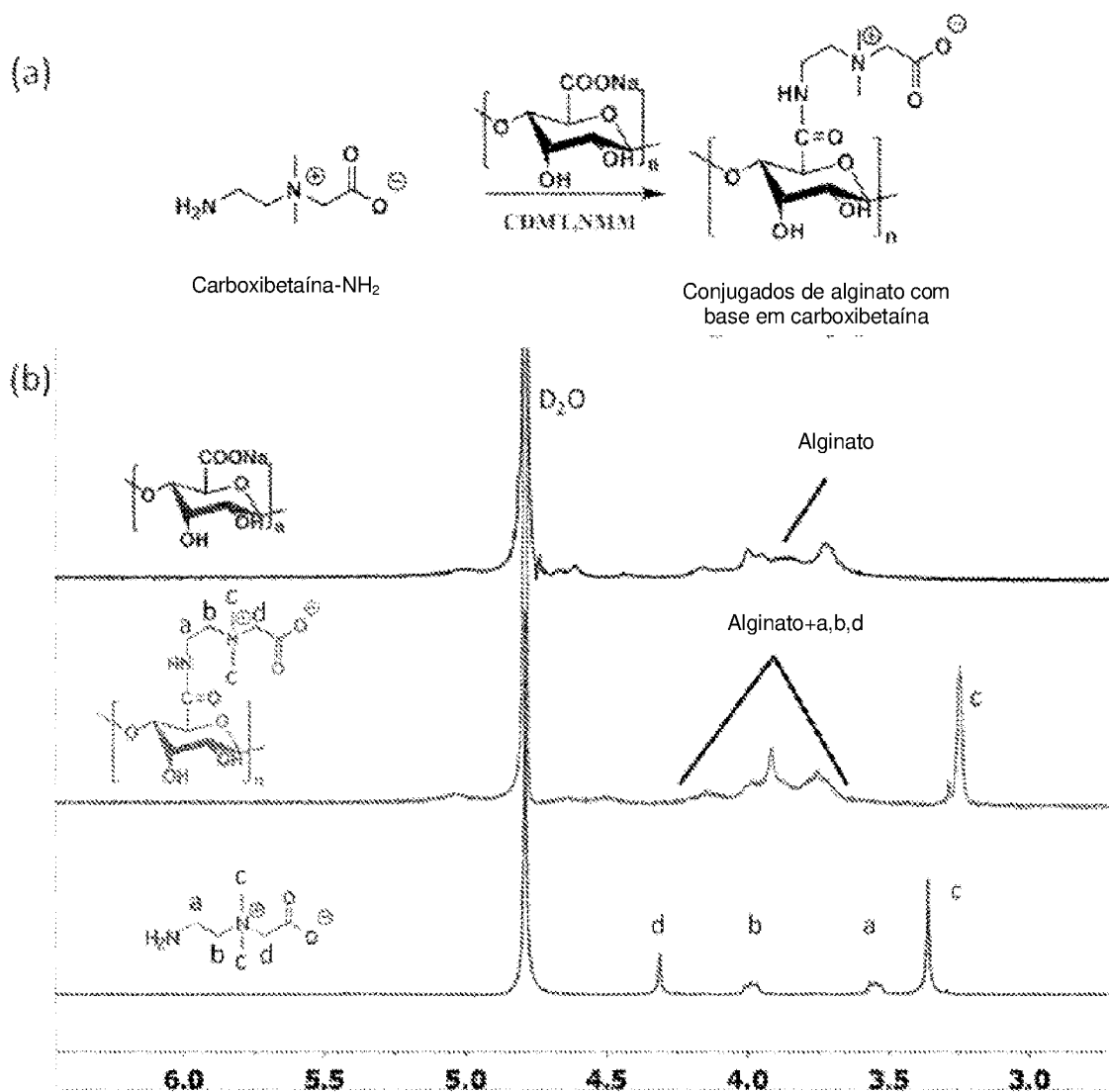
implantação da cápsula, como definida na reivindicação 50, em um sujeito com diabetes.



Figuras 1A-1B



Figuras 2A-2B



Figuras 3A-3B

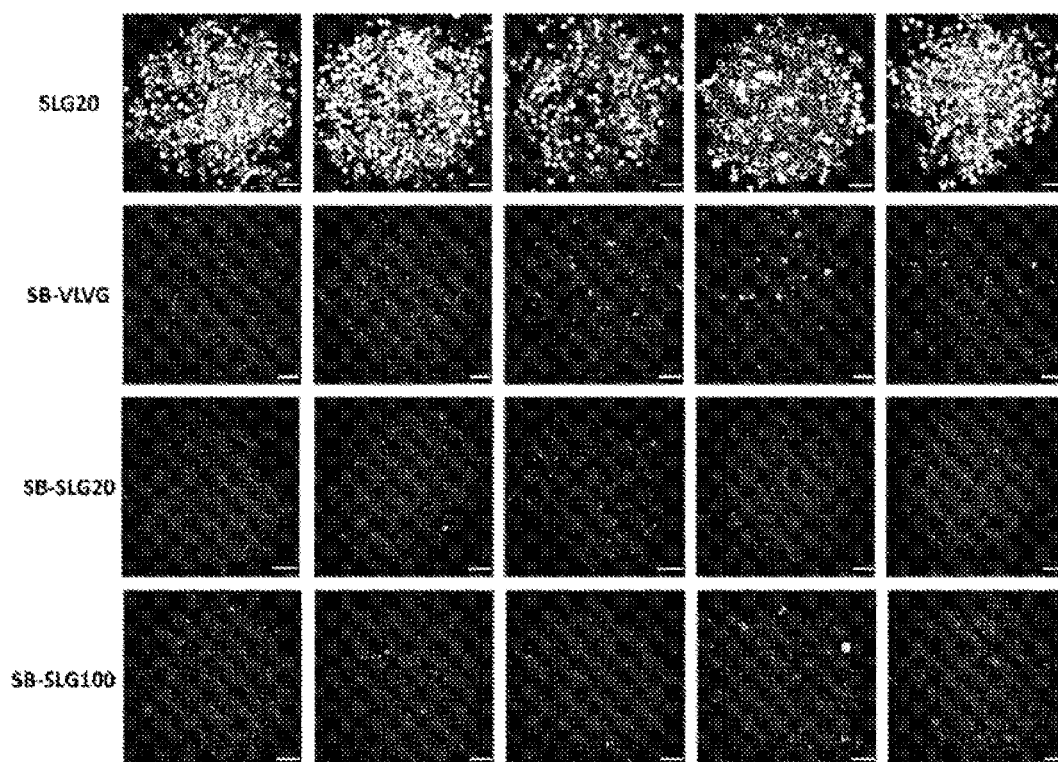


Figura 4

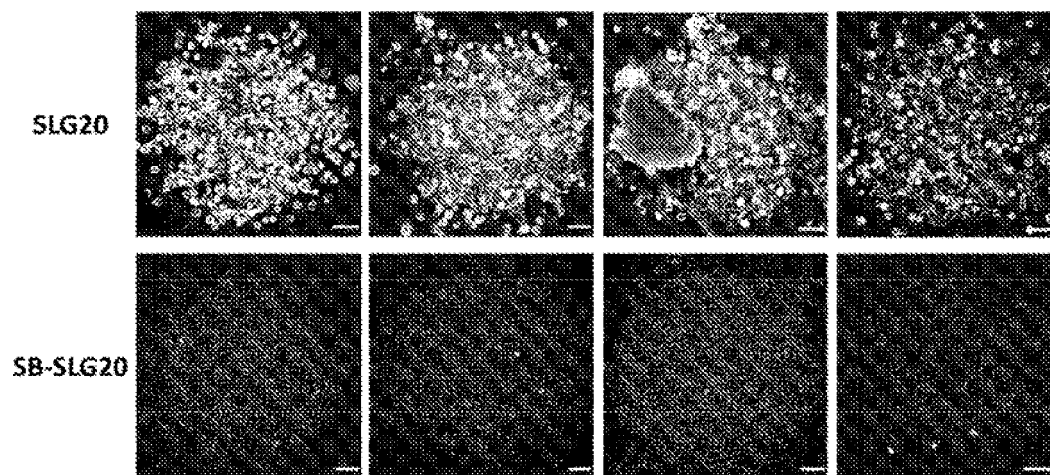


Figura 5

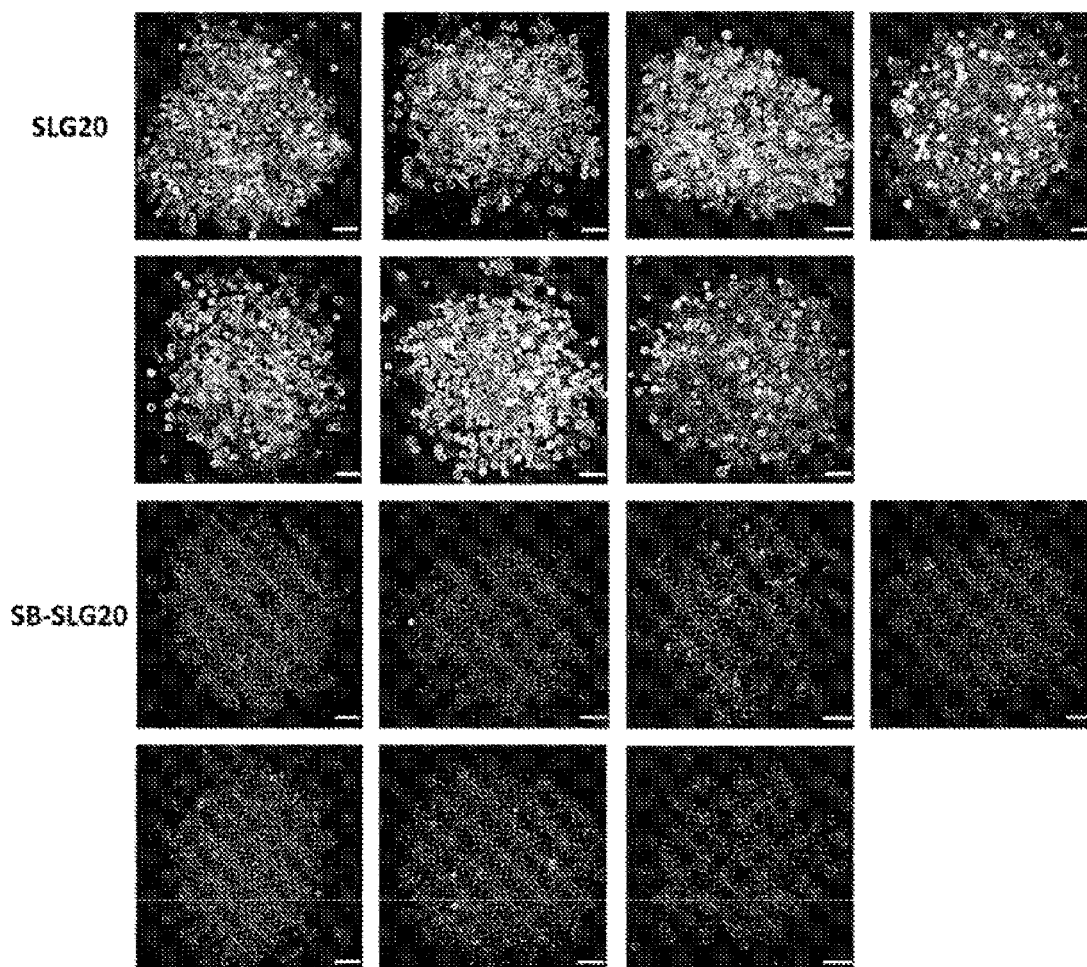


Figura 6

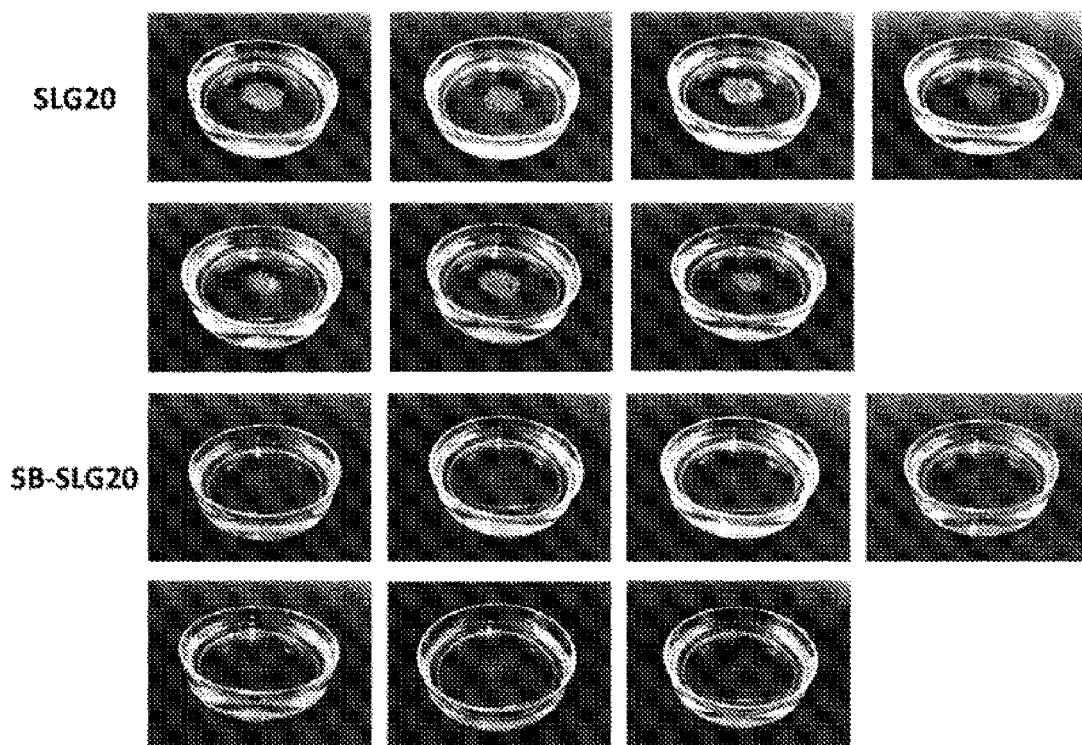


Figura 7

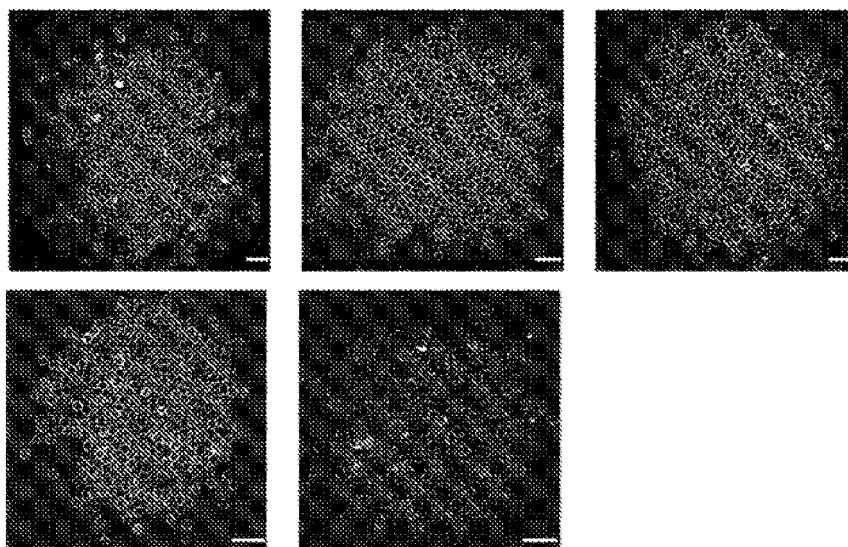


Figura 8

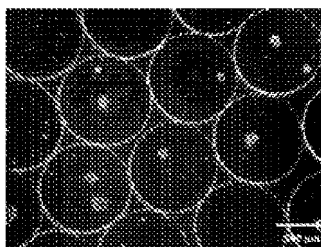


Figura 9A

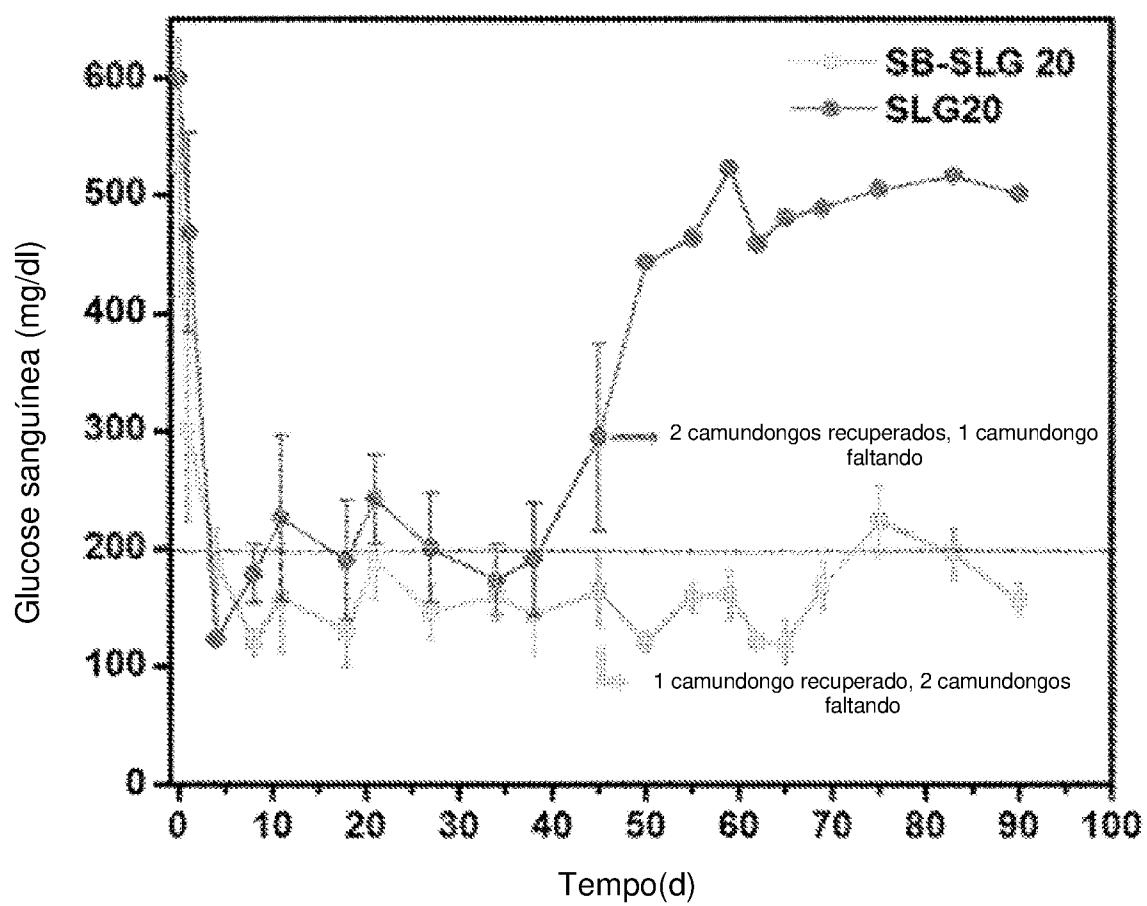
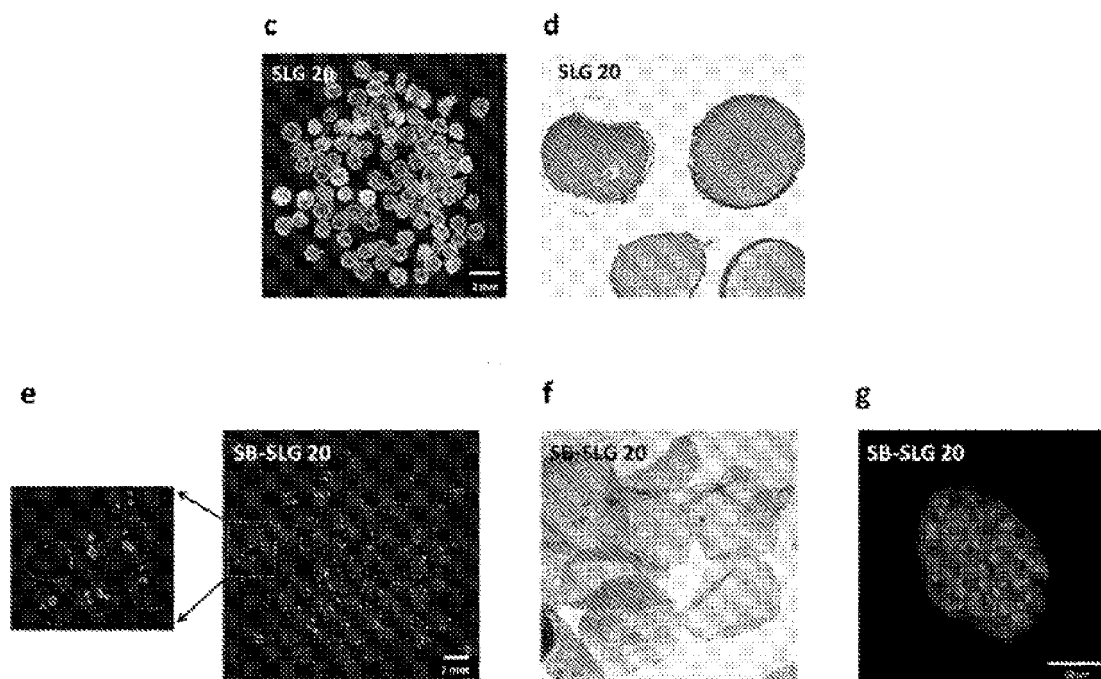


Figura 9B



Figuras 9C-9G

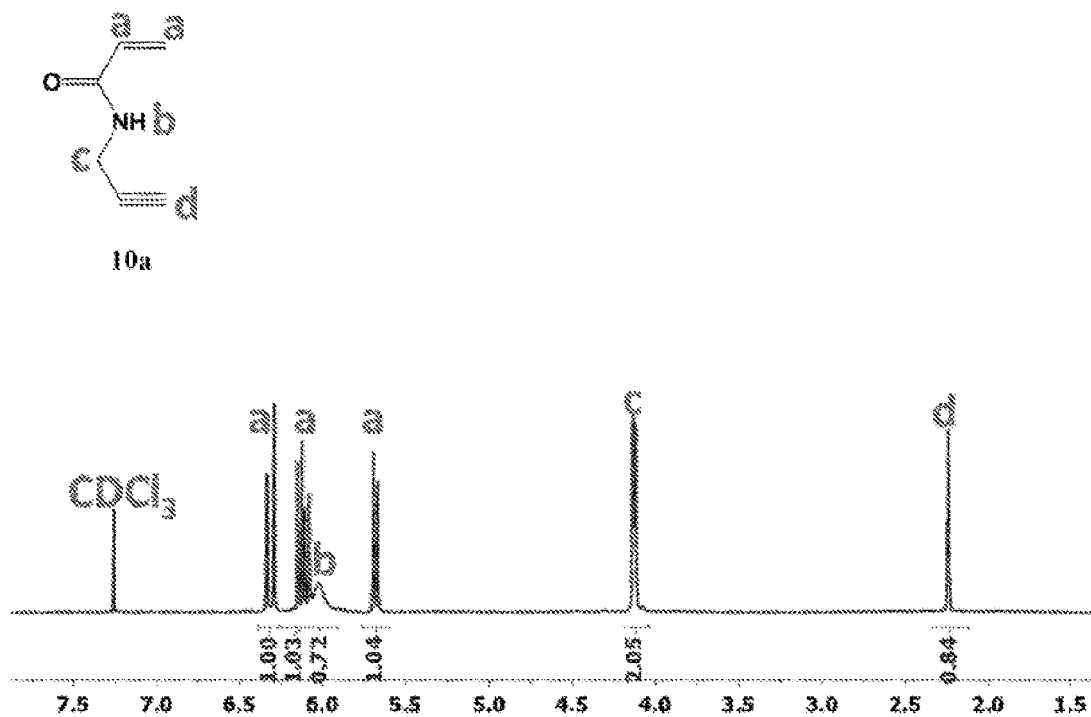


Figura 10

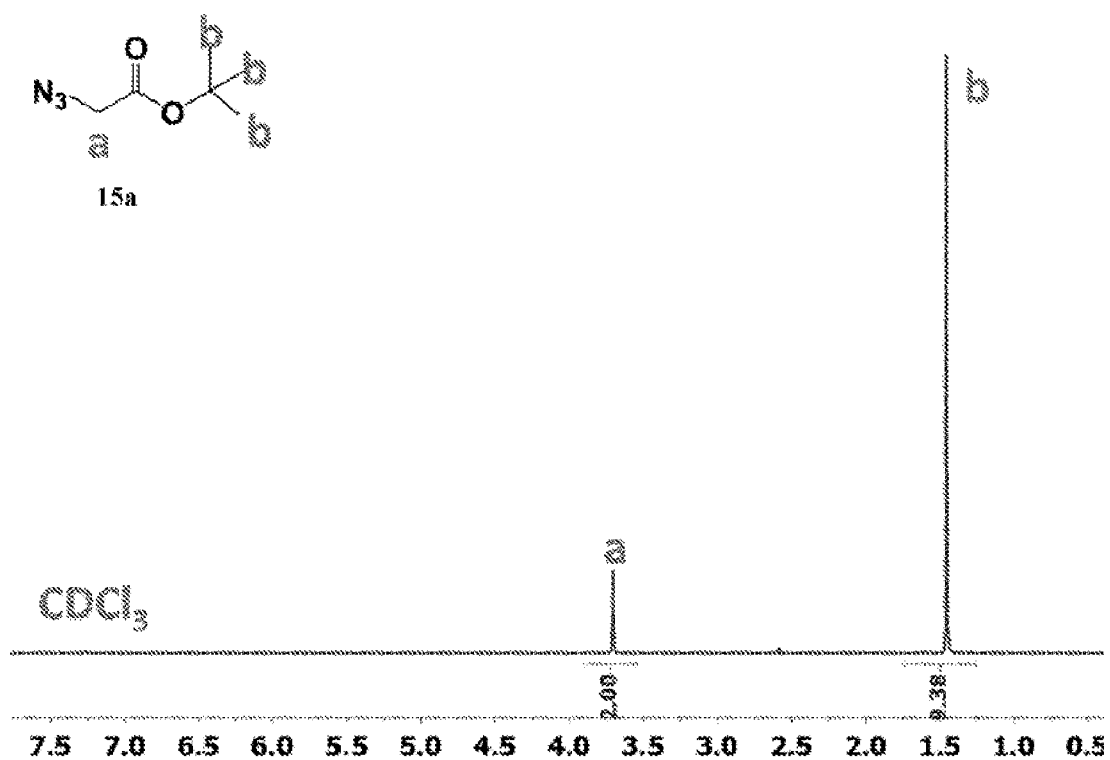


Figura 11

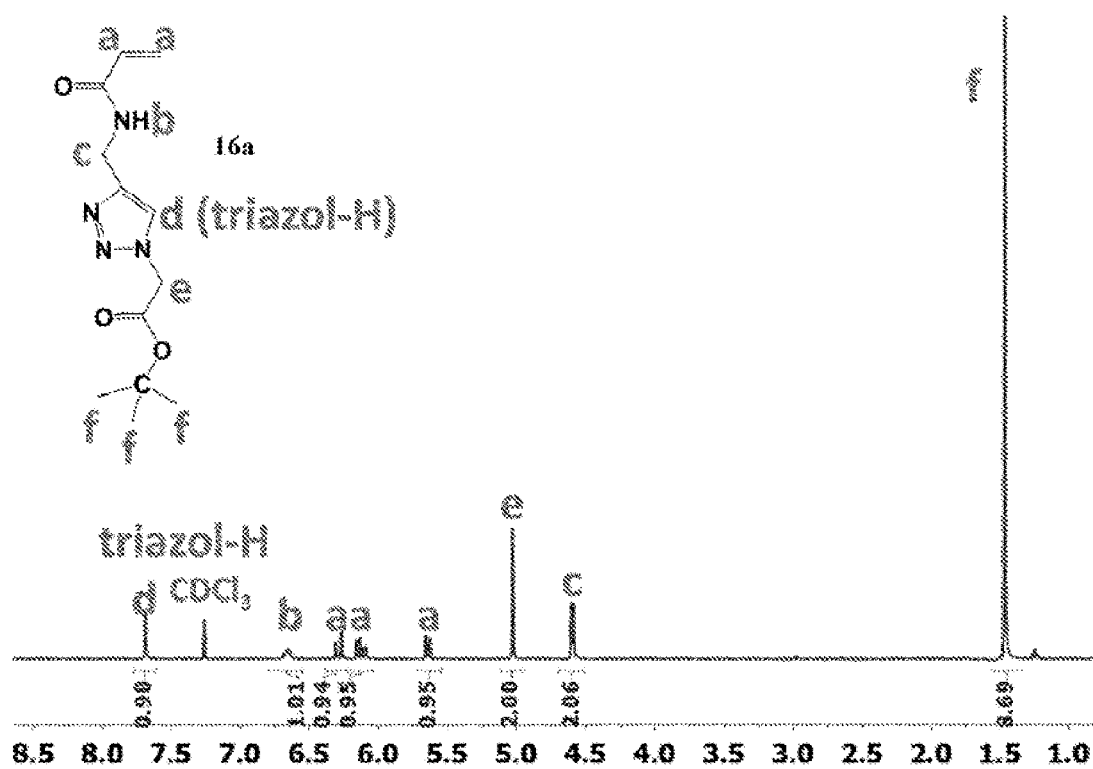


Figura 12

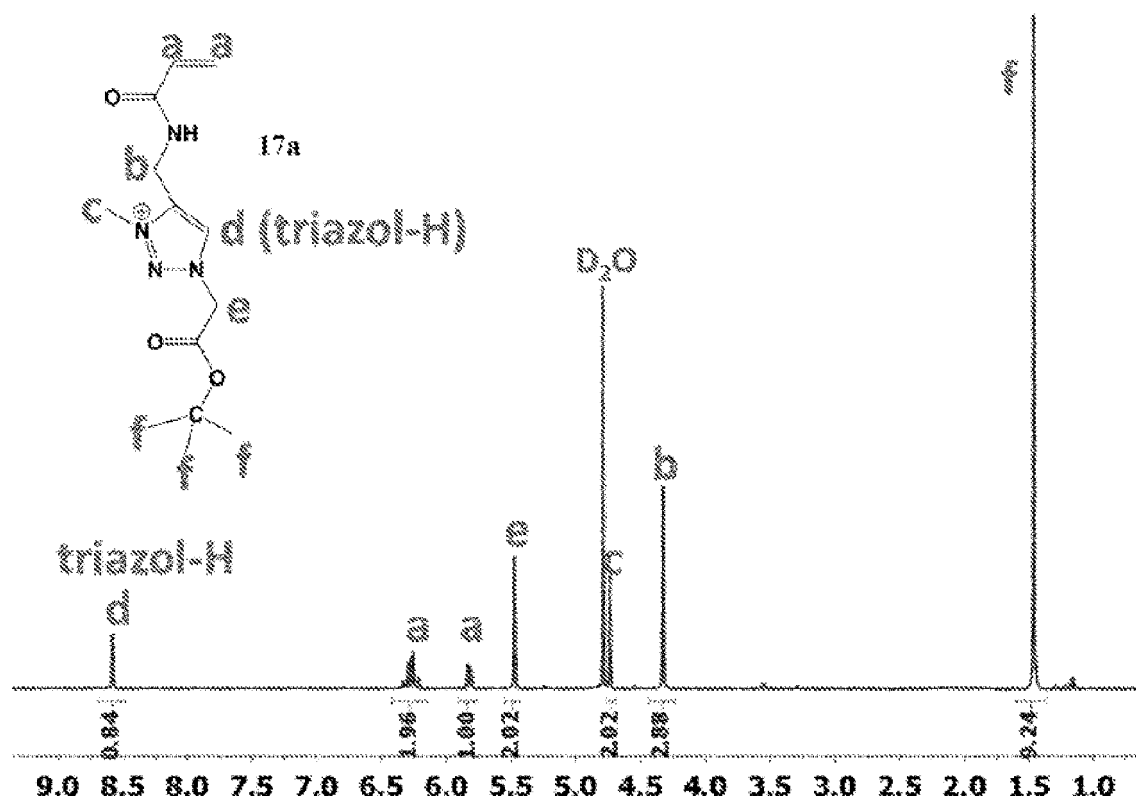


Figura 13

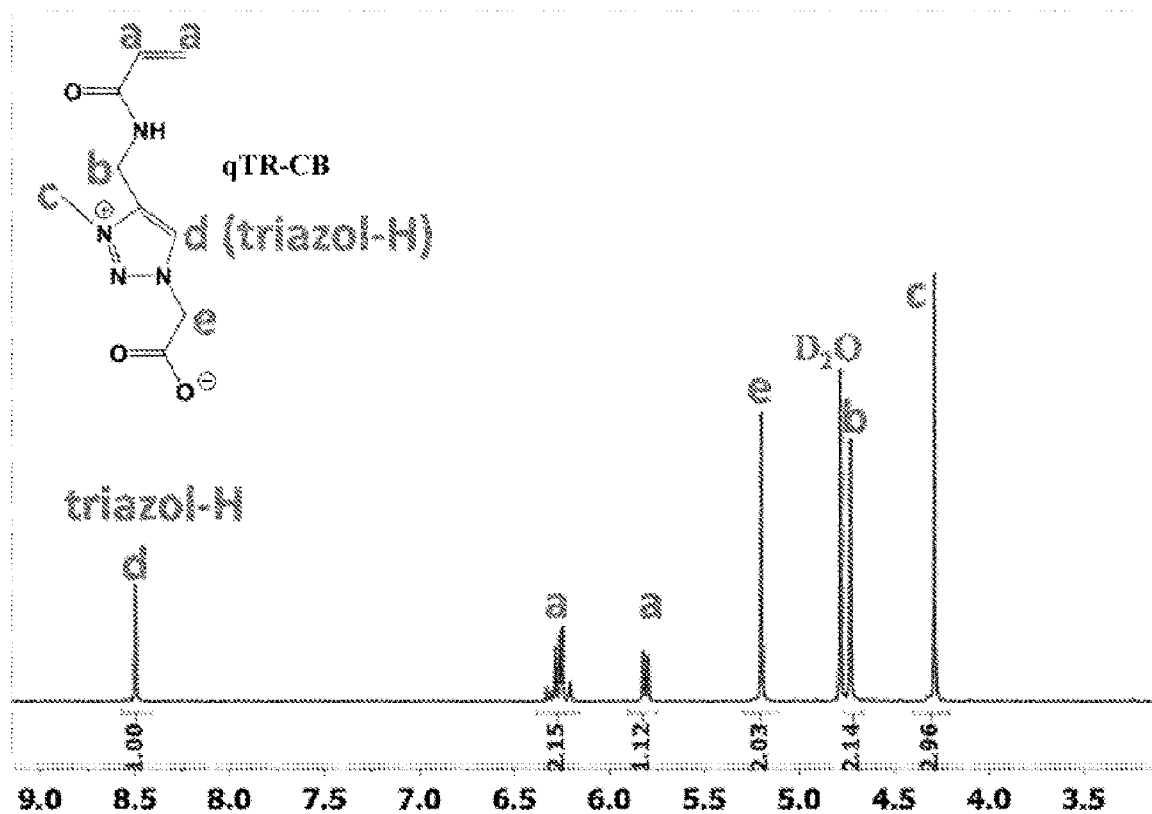


Figura 14

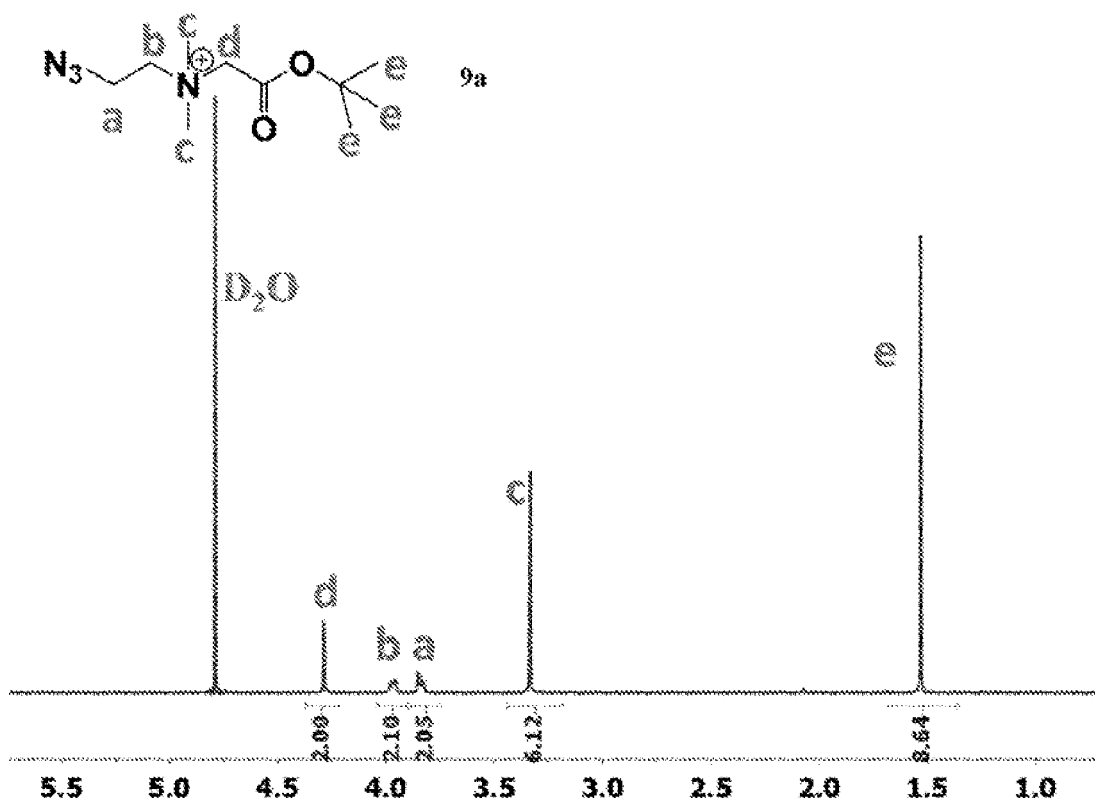


Figura 15

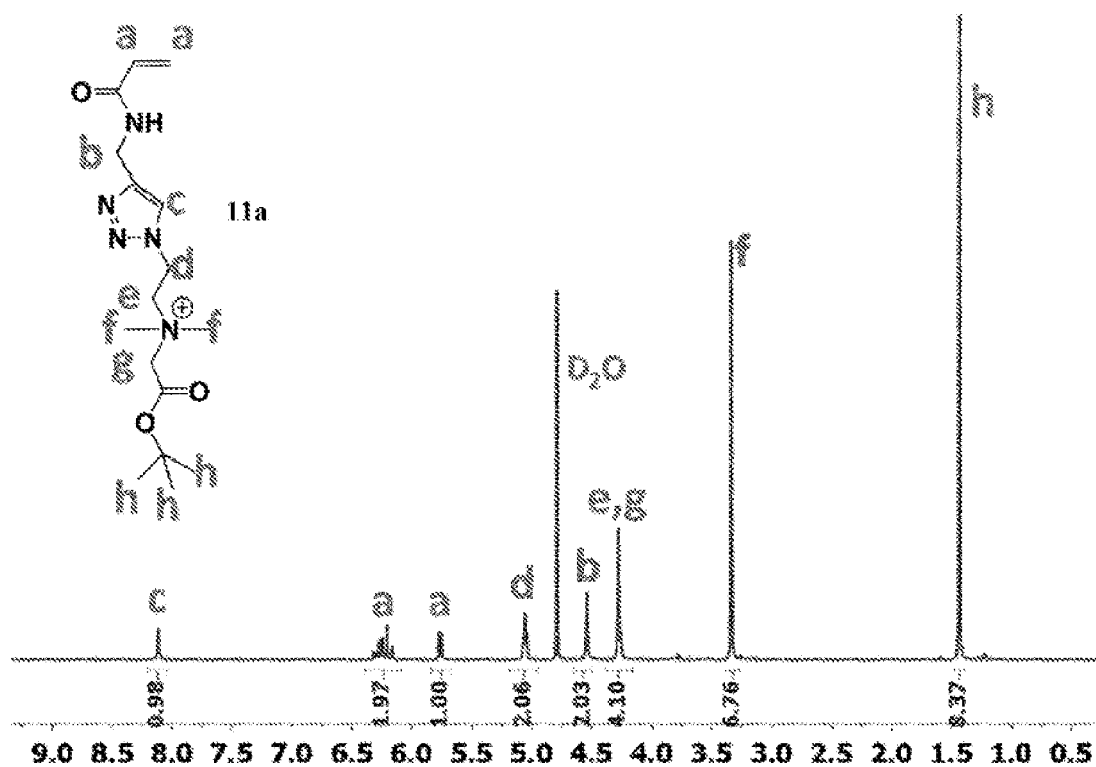


Figura 16

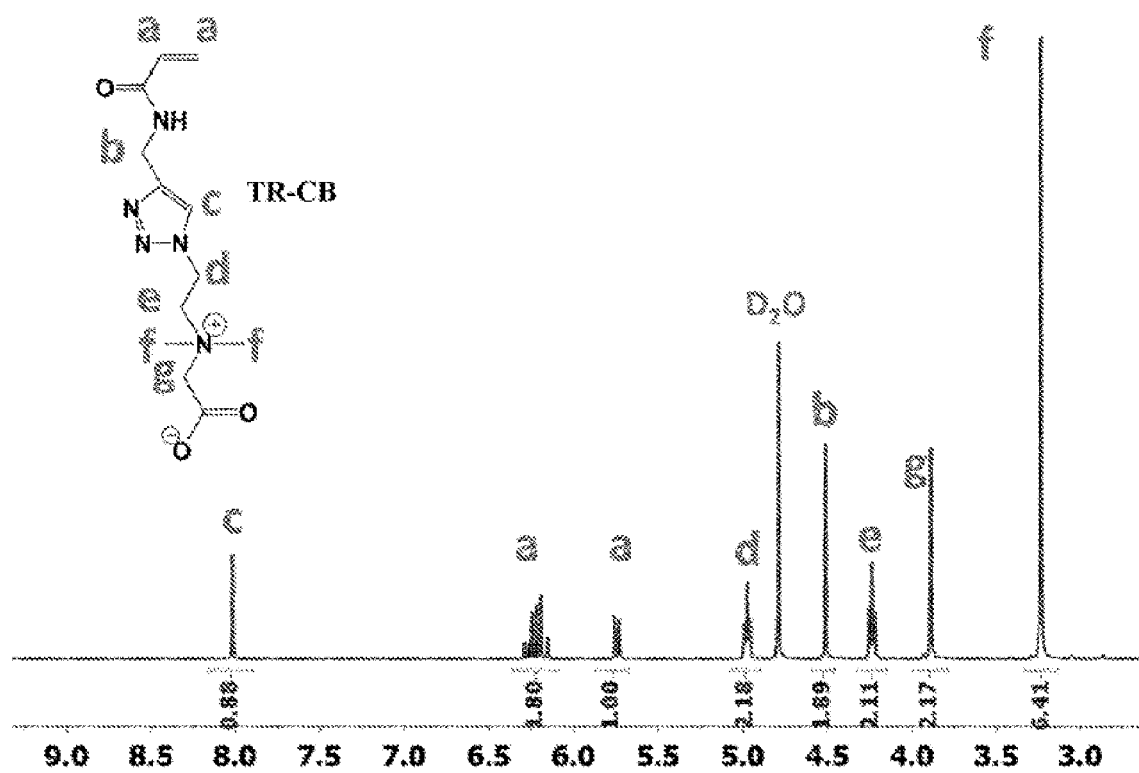


Figura 17

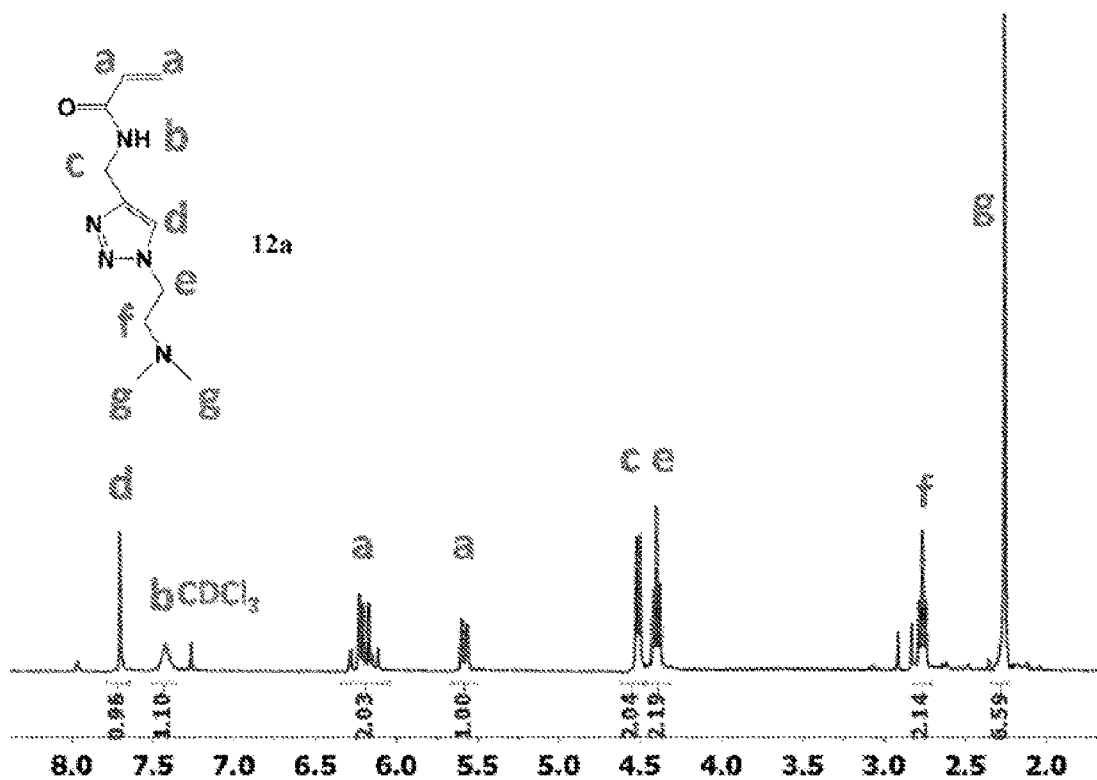


Figura 18

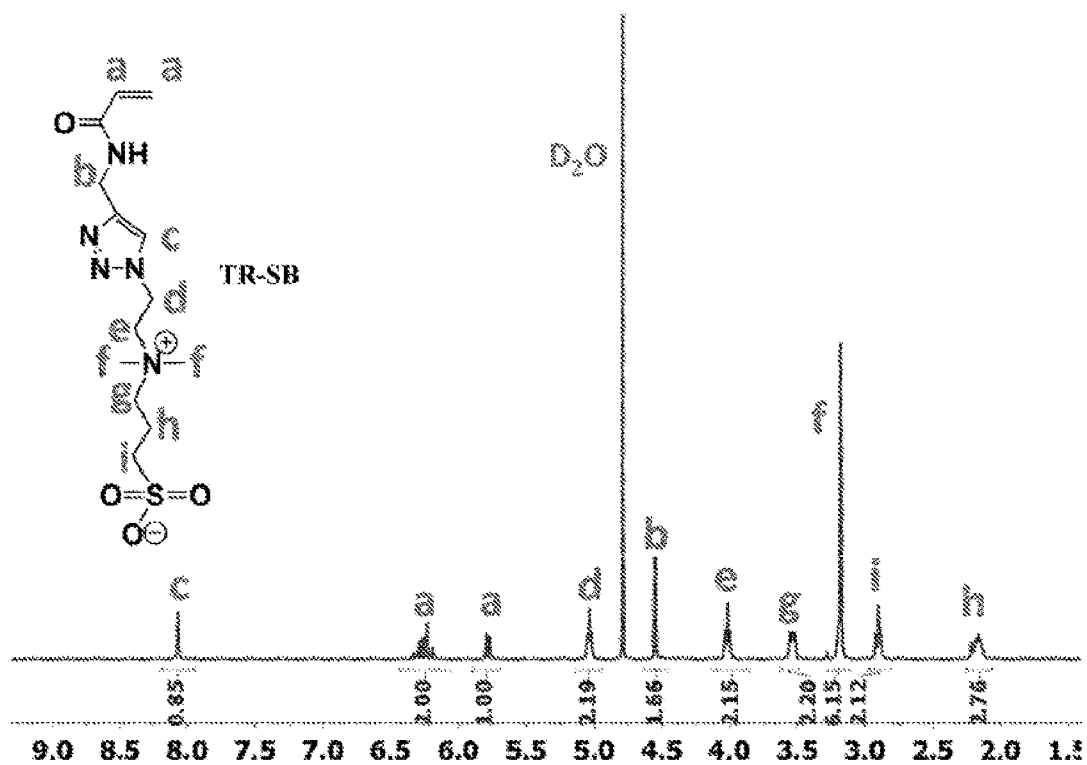


Figura 19

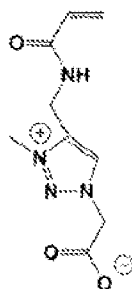


Figura 20A

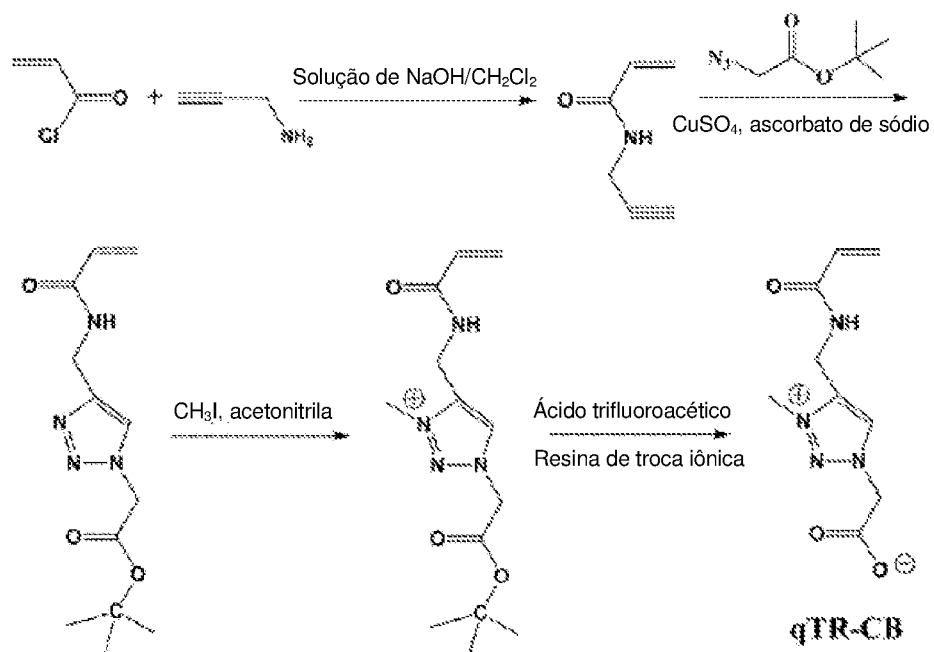


Figura 20B

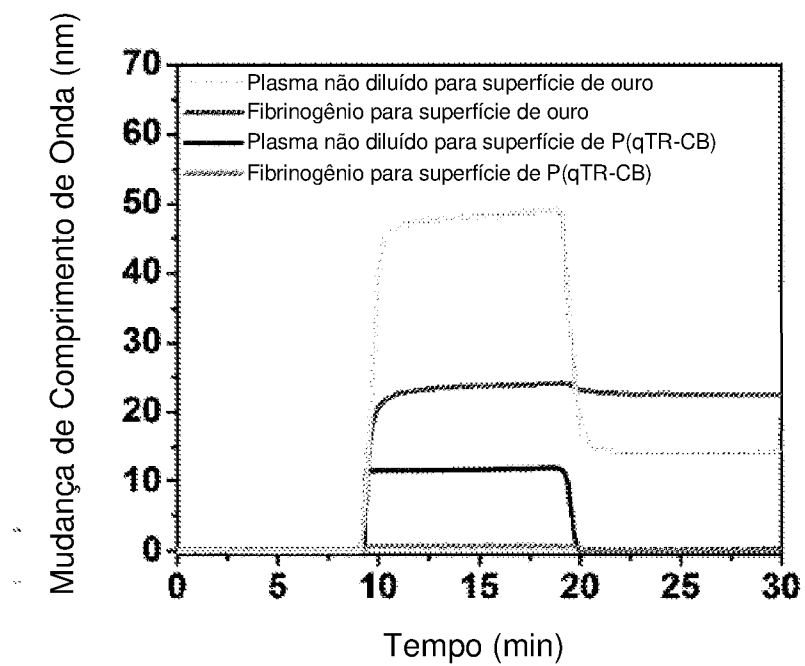


Figura 20C

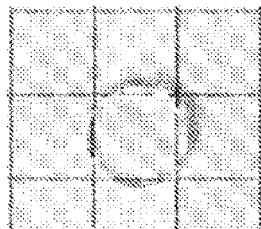
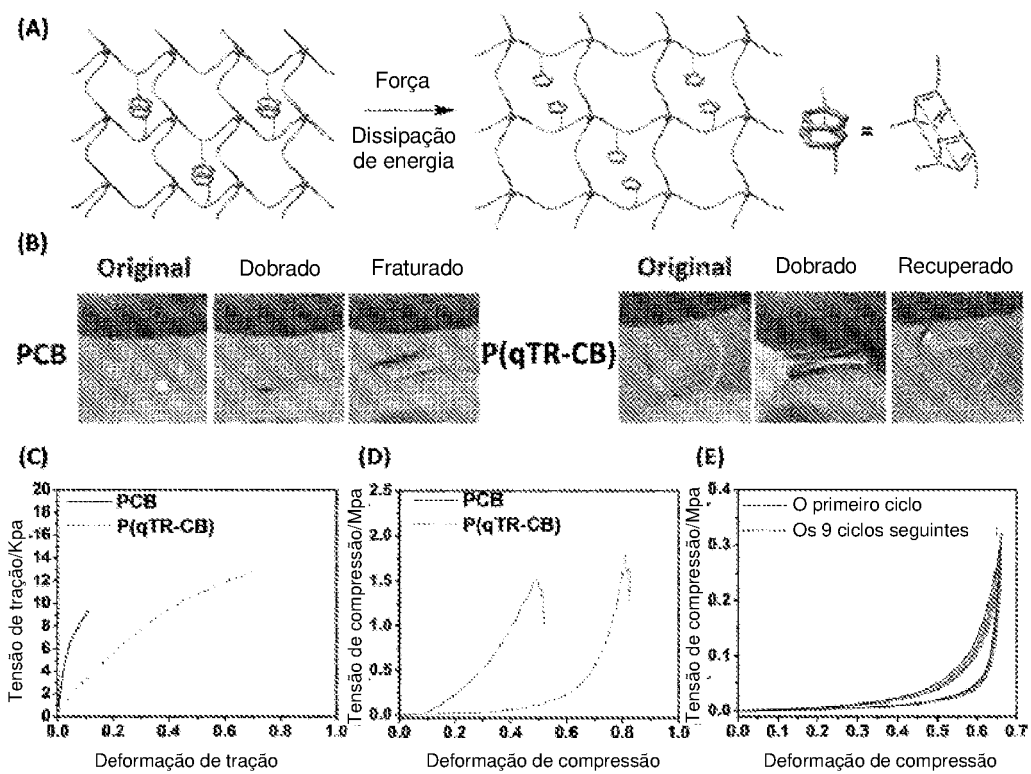
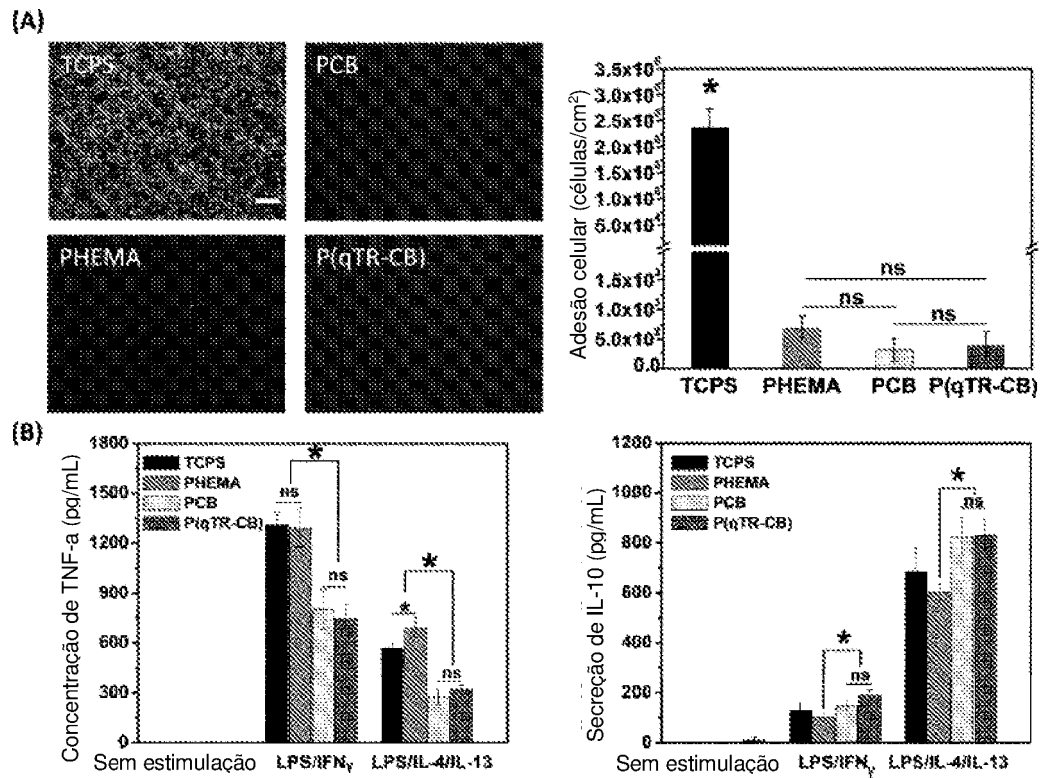


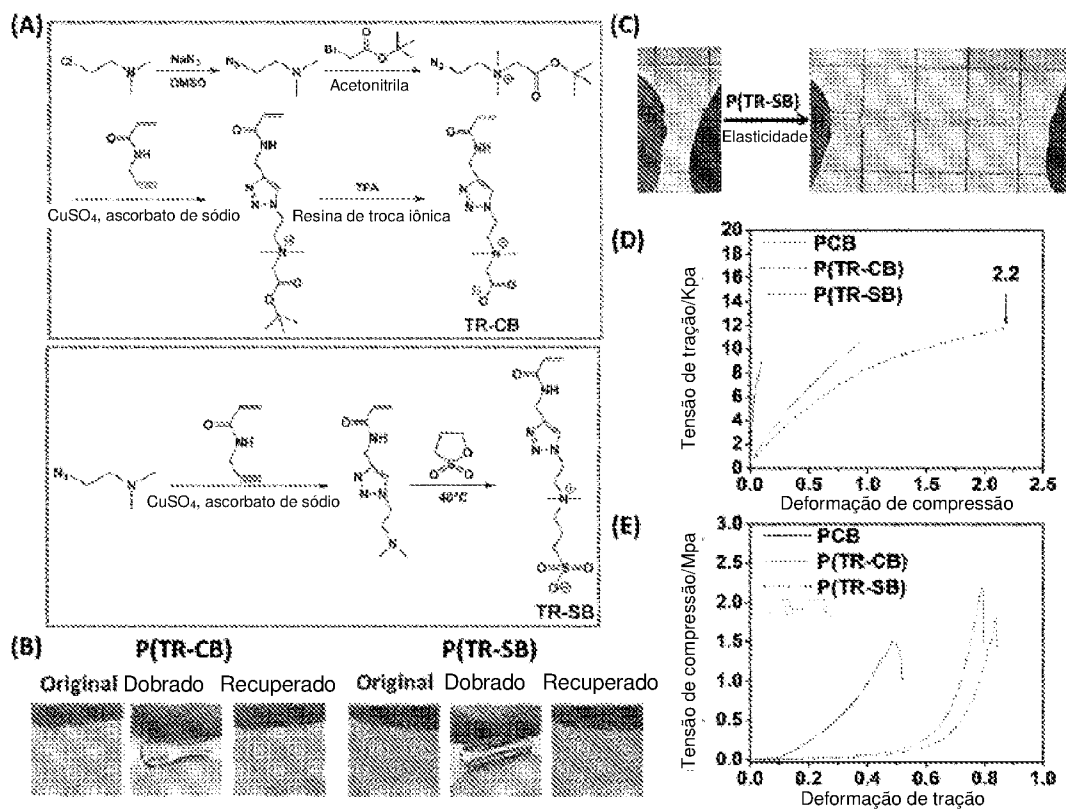
Figura 20D



Figuras 21A-21E



Figuras 22A-22B



Figuras 23A-23E

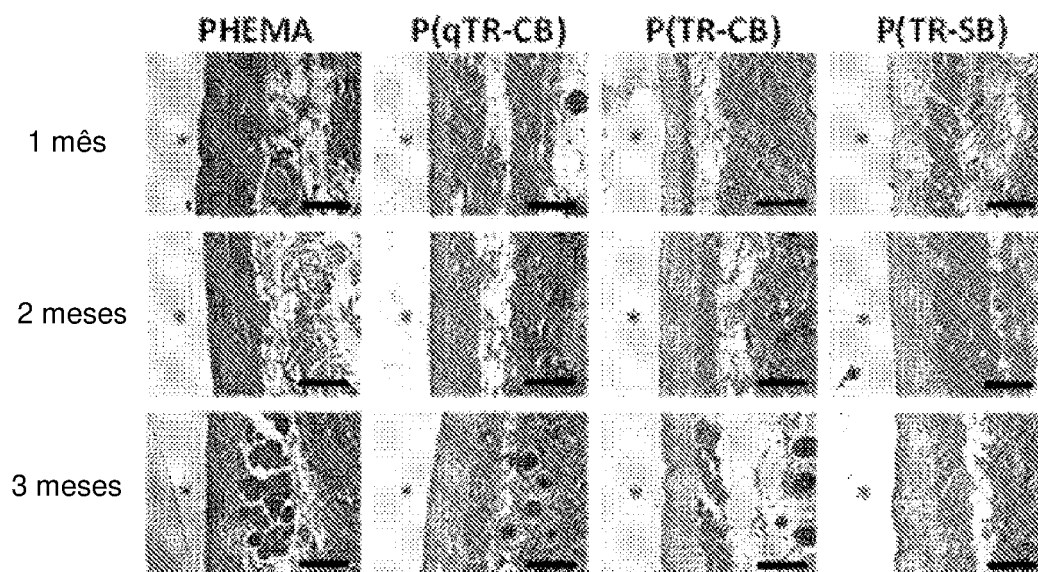


Figura 24A

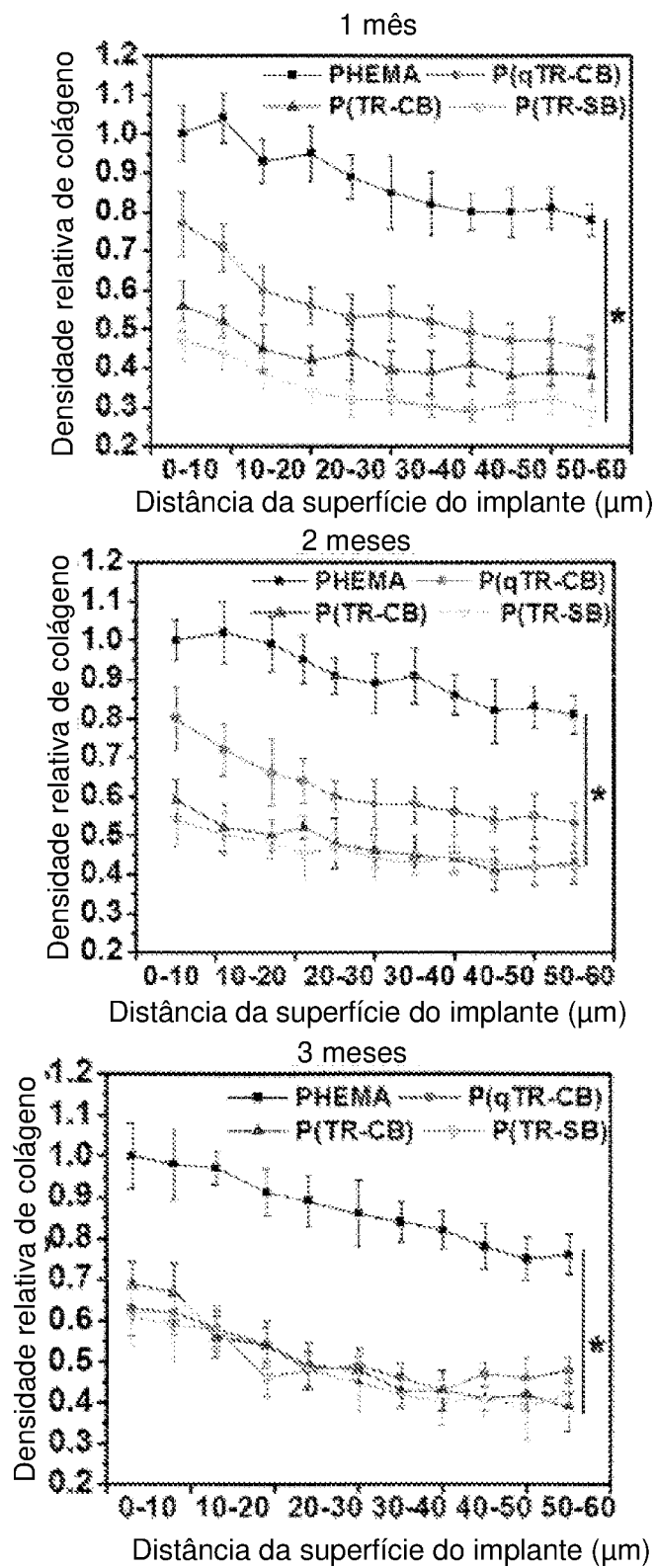
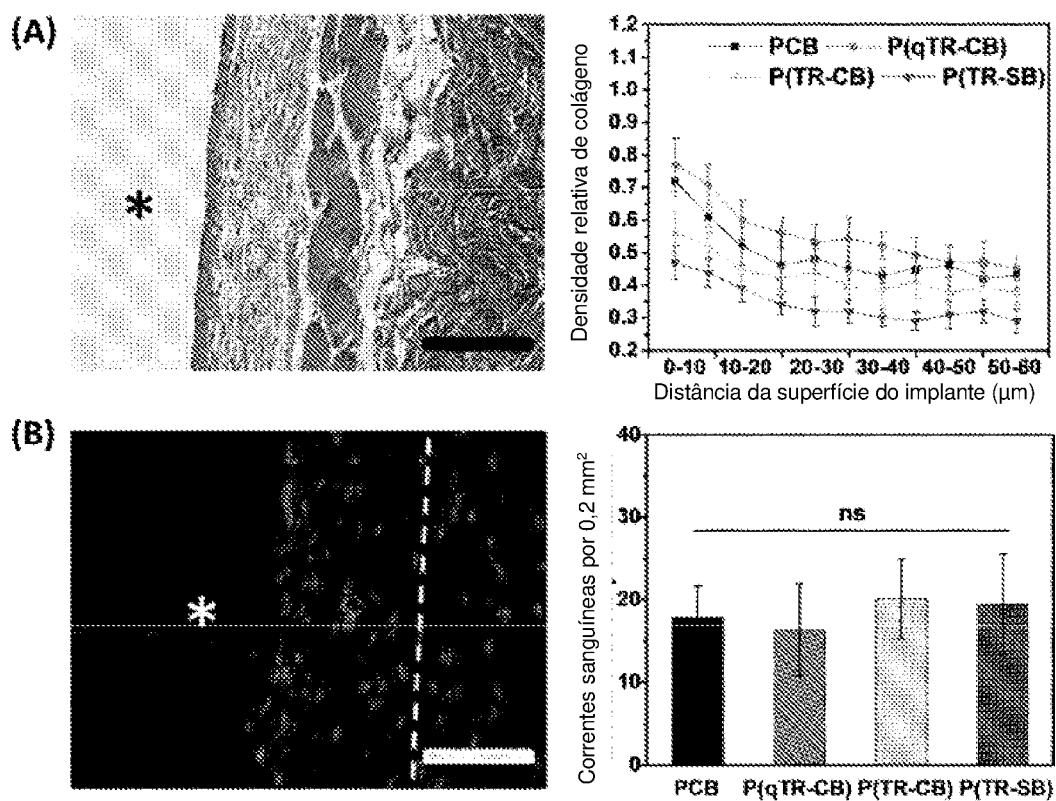


Figura 24B



Figura 25



Figuras 26A-26B

## RESUMO

Patente de Invenção: **"POLÍMEROS E HIDROGÉIS MODIFICADOS COM ZWITTERÍON"**.

A presente invenção refere-se a um polímero da Fórmula (IV): em que A, X, Q, Y, Z, m<sub>1</sub>, m<sub>2</sub>, m<sub>3</sub>, k<sub>1</sub> e k<sub>2</sub> são conforme descritos neste documento e em que as unidades monoméricas do polímero são iguais ou diferentes. A presente invenção também se refere a um monômero da Fórmula (III), em que R<sup>"</sup>, X<sup>1</sup>, Y<sup>1</sup>, Z<sup>1</sup>, m<sub>4</sub>, m<sub>5</sub> e m<sub>6</sub> são conforme descritos neste documento, e uma rede polimérica compreendendo dois ou mais monômeros da Fórmula (III). A presente invenção também se refere a um hidrogel compreendendo qualquer um dos polímeros e monômeros descritos neste documento, uma cápsula compreendendo o hidrogel, e um método de distribuição de um agente terapêutico a um sujeito usando a cápsula.