

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 880 509**

51 Int. Cl.:

A61M 1/14 (2006.01)
A61M 1/36 (2006.01)
B01J 20/28 (2006.01)
B01J 20/32 (2006.01)
B01J 20/26 (2006.01)
B01D 15/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.11.2007 PCT/US2007/024361**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.05.2008 WO08063666**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.11.2007 E 07853148 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.06.2021 EP 2155285**

54 Título: **Adsorbentes poliméricos de hemoperfusión de selección de tamaño**

30 Prioridad:

20.11.2006 US 601931

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

24.11.2021

73 Titular/es:

**CYTOSORBENTS, INC. (100.0%)
7 Deer Park Dr. Suite K
Monmouth Junction, NJ 08852, US**

72 Inventor/es:

**YOUNG, WEI-TAI;
ALBRIGHT, ROBERT L. y
GOLOBISH, THOMAS D.**

74 Agente/Representante:

VÁZQUEZ FERNÁNDEZ-VILLA, Concepción

ES 2 880 509 T3

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

DESCRIPCIÓN

Adsorbentes poliméricos de hemoperfusión de selección de tamaño

5 **Antecedentes de la invención****Campo de la invención**

10 Los adsorbentes poliméricos porosos de selección de tamaño de esta invención son biocompatibles y hemocompatibles y se diseñan para funcionar en contacto directo con fluidos corporales. Estos adsorbentes son útiles junto con la hemodiálisis para extraer y controlar la concentración sanguínea de β_2 -microglobulina sin perturbar significativamente los niveles de albúmina, inmunoglobulinas, leucocitos, eritrocitos y plaquetas. Estos adsorbentes poliméricos también son muy eficaces en la extracción de citocinas a partir de la sangre de pacientes con septicemia manteniendo los componentes fisiológicamente requeridos de la sangre a niveles clínicamente aceptables. Estos adsorbentes también son útiles para la purificación de plasma sanguíneo por su capacidad para eliminar de manera selectiva toxinas proteicas de tamaño pequeño a medio sin alterar el nivel de los otros componentes del plasma.

Descripción de la técnica relacionada

20 Las técnicas de purificación de sangre extracorporeal son importantes en muchos tratamientos médicos, incluyendo hemodiálisis, hemofiltración, hemoperfusión, perfusión de plasma y combinaciones de estos métodos. La hemodiálisis y la hemofiltración implican hacer pasar sangre completa a través de fibras huecas para eliminar el exceso de agua y los compuestos de pequeño tamaño molecular, pero no pueden eliminar las toxinas proteicas como la beta-2-microglobulina (B2M) y las citocinas. La hemoperfusión consiste en hacer pasar sangre completa sobre un adsorbente para eliminar los contaminantes de la sangre. La perfusión de plasma consiste en hacer pasar plasma sanguíneo a través de un adsorbente. En la hemoperfusión, la sangre completa tratada regresa al sistema de circulación sanguínea del paciente.

30 Además de los requisitos habituales tales como la hemocompatibilidad y la esterilidad de los dispositivos médicos, un adsorbente ideal para la hemoperfusión y la perfusión de plasma debe tener una selectividad y una capacidad de adsorción adecuadas para adsorber toxinas con exclusión de componentes útiles para que sea beneficioso para el paciente.

35 Los materiales adsorbentes convencionales incluyen carbón activado, silicatos, diatomita y resinas porosas sintéticas. Se ha informado del carbón activado en la adsorción extracorporeal para el tratamiento de la esquizofrenia (Kinney, patente estadounidense; 4.300.551; 1981). Se han dado a conocer diversos adsorbentes poliméricos sintéticos para eliminar la toxina 1 del síndrome de choque tóxico, bradixinina y endotoxina a partir de la sangre (Hirai, *et al.* patentes estadounidenses 6.315.907; 2001; 6387362; 2002, y 6132610; 2000), y para eliminar venenos y/o fármacos a partir de la sangre de animales (Kunin, *et al.*, patente estadounidense 3.794.584; 1974). La adsorción por parte de los adsorbentes anteriores es generalmente bastante no selectiva y, por tanto, está limitada a tratamientos a corto plazo.

45 La mayoría de las resinas porosas comerciales se sintetizan mediante síntesis macrorreticular (Meitzner, *et al.*, patente estadounidense; 4.224.415; 1980), tales como Amberlite XAD-4® y Amberlite XAD-16® de Rohm and Haas Company, o mediante síntesis por hiperreticulación, tal como se describe en Davankov *et al.* J. Polymer Science, simposio n.º 47, 95-101 (1974), usada para fabricar las resinas Hpersol-Macronet® por Purolite Corp. Muchos adsorbentes poliméricos convencionales tienen una gran superficie de poro y capacidad de adsorción, pero una falta de selectividad debido a la amplia distribución de tamaño de poro. Otros se producen para adsorber pequeñas moléculas orgánicas o no son hemocompatibles y, por tanto, no son adecuados para la adsorción selectiva de proteínas de tamaño medio directamente a partir de los fluidos corporales.

50 Para potenciar la hemocompatibilidad, muchas técnicas implican recubrir el adsorbente hidrófobo con materiales hidrófilos tales como poliacrilamida y poli(metacrilato de hidroxietilo) (Clark, patente estadounidense 4.048.064; 1977; Nakashima, *et al.*, patente estadounidense 4.171.283; 1979). Un recubrimiento de copolímero de metacrilato de 2-hidroxietilo con metacrilato de dietilaminoetilo se informa por Watanabe, *et al.* (patente estadounidense 5.051.185; 1991). Davankov, *et al.* (patente estadounidense 6.114.466; 2000) dieron a conocer un método de injerto en la superficie externa de monómeros hidrófilos de perlas poliméricas porosas que incluyen metacrilato de 2-hidroxietilo, N-vinilpirrolidinona, N-vinilcaprolactama y acrilamida. Recientemente, Albright (patente estadounidense 6.884.829 B2; 2005) dieron a conocer el uso de dispersantes tensioactivos, incluyendo poli(alcohol vinílico), poli(metacrilato de dimetilaminoetilo), poli(vinilpirrolidinona) e hidroxietilcelulosa, durante la síntesis macrorreticular para producir una superficie hemocompatible en las perlas porosas en una síntesis de una etapa.

55 La estructura interna de los poros (distribución de diámetros de poro, volumen de poro y superficie de poro) del adsorbente es muy importante para la selectividad de adsorción. Un cartucho que contiene un lecho fijo de adsorbente con diámetros de poro efectivos que varían de 2 Angstrom a 60 Angstrom se dio a conocer para la hemoperfusión por Clark (patente estadounidense 4.048.064; 1977). Este intervalo de tamaño de poro se especificó

principalmente para la desintoxicación y la prevención de la adsorción de anticoagulantes, plaquetas y leucocitos a partir de la sangre, pero es inadecuado para adsorber proteínas de tamaño medio como el citocromo-c y la beta-2-microglobulina. De manera similar, el recubrimiento de adsorbentes inorgánicos, tales como el silicato y la diatomita, con una película de membrana que tiene tamaños de poro superiores a 20 Angstrom se dio a conocer por Mazid (patente estadounidense 5.149.425; 1992) para la preparación de adsorbentes de hemoperfusión. Más recientemente, Giebelhausen (patente estadounidense, 551.700; 2003) dio a conocer un adsorbente esférico con una microestructura pronunciada con diámetros de poro de 0-40 Angstrom y un volumen total de microporos de al menos 0,6 cm³/g para la adsorción de agentes de guerra química, gases y vapores tóxicos y agentes refrigerantes. Las estructuras de poro anteriores son demasiado pequeñas para la adsorción de proteínas de tamaño medio a partir de los fluidos fisiológicos.

Un adsorbente con una amplia distribución de tamaño de poro (40 Angstrom ~ 9.000 Angstrom de diámetro) se dio a conocer para adsorber proteínas, enzimas, antígenos y anticuerpos por Miyake *et al.* (patente estadounidense 4.246.351; 1981). El adsorbente sorbe tanto las toxinas como las proteínas beneficiosas tales como la albúmina a partir de la sangre debido a su amplia distribución de tamaño de poro. Se describieron anticuerpos inmovilizadores y proteínas de unión a IgG sobre adsorbentes poliméricos porosos para mejorar la selectividad de los adsorbentes que tienen distribuciones de tamaño de poro amplias para reducir las lipoproteínas de baja densidad, para tratar la aterosclerosis, para adsorber el factor de artritis reumatoide (Strahilevitz, patente estadounidense 6.676.622; 2004) y para eliminar el virus de la hepatitis C a partir de la sangre (Ogino *et al.* patente estadounidense 6.600.014; 2003). Sin embargo, los anticuerpos o las proteínas unidos a los adsorbentes podrían aumentar en gran medida los efectos secundarios de una hemoperfusión o de un dispositivo de perfusión de plasma y podrían aumentar en gran medida la dificultad para mantener la esterilidad de los dispositivos.

La eliminación de la beta-2-microglobulina por hemoperfusión directa fue beneficiosa para los pacientes renales (Kazama, "Nephrol. Dial. Transplant", 2001, 16:31-35). Un adsorbente con una porción potenciada de poros en un intervalo de diámetro entre 10 Angstrom y 100 Angstrom se describió por Braverman *et al.* (patente estadounidense 5.904.663; 1999) para eliminar la beta-2-microglobulina a partir de la sangre y por Davankov *et al.* (patente estadounidense 6.527.735; 2003) para eliminar toxinas en el intervalo de peso molecular de 300-30.000 Dalton a partir de un fluido fisiológico. Strom, *et al.* (patente estadounidense 6.338.801; 2002) describieron un método de síntesis para resinas poliméricas con tamaños de poro en el intervalo de 20 Angstrom a 500 Angstrom destinadas a adsorber la beta-2-microglobulina. El estudio *in vitro* de los presentes inventores muestra que las estructuras de poro propuestas por Davankov y Strom, sin embargo, son inadecuadas para una adsorción selectiva de proteínas de tamaño medio tales como la beta-2-microglobulina y el citocromo-c en presencia de albúmina sérica. DAVANKOV V *ET AL.*, "Polymeric adsorbent for removing toxic proteins from blood of patients with kidney failure" Journal of Chromatography B: Biomedical Applications, Elsevier Science Publishers, vol. 739, n.º 1, 1 de febrero de 2000, páginas 73-80 dan a conocer un polímero estirénico hiperreticulado con una proporción potenciada de mesoporos en el intervalo de 2 a 20 nm.

Otros polímeros porosos generales para un catalizador se describen en ALBRIGHT *ET AL.*, "Porous polymers as an anchor for catalysis", Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents, Elsevier, vol. 4, n.º 2, 1 de abril de 1986, páginas 155-174.

Otra resina polimérica adecuada para la adsorción de componentes no saludables de la sangre, tales como la beta2-microglobulina, se da a conocer en el documento US 2001/008958 A1.

A diferencia de las divulgaciones anteriores, los adsorbentes poliméricos porosos especificados en la presente invención demuestran una alta selectividad para adsorber proteínas de tamaño pequeño y medio con exclusión de las proteínas grandes con pesos moleculares superiores a 50.000 Dalton. Más significativamente, la presente invención da a conocer adsorbentes para hemoperfusión adecuados para el tratamiento clínico a largo plazo, ya que los componentes saludables tales como la albúmina, los glóbulos rojos, las plaquetas y los glóbulos blancos se mantienen a niveles clínicamente aceptables.

Sumario de la invención

En particular, se proporciona un polímero poroso de selección de tamaño que tiene las características definidas en la reivindicación 1. En una realización, la presente invención se refiere a un polímero poroso para sorber moléculas proteicas de tamaño pequeño a medio y excluir la sorción de proteínas sanguíneas grandes, comprendiendo el polímero una pluralidad de poros. Los poros sorben moléculas proteicas de tamaño pequeño a medio iguales o inferiores a 50.000 Dalton. En otra realización, el polímero es biocompatible y/o hemocompatible.

En aún otra realización, el polímero comprende una pluralidad de poros con diámetros de aproximadamente 75 Angstrom a aproximadamente 300 Angstrom. En otra realización, el polímero puede tener una pluralidad de poros dentro del intervalo anterior. En otra realización adicional, el polímero tiene sus poros de operación dentro del intervalo mencionado anteriormente y también puede tener poros de no operación por debajo del intervalo de 75 Angstrom. En otra realización, el polímero no tiene más del 2,0% en volumen de su volumen total de poros en poros con diámetros superiores a 300 Angstrom. Para los fines de esta invención, el término "proteínas sanguíneas

grandes" se define como cualquier proteína sanguínea de más de 50.000 Dalton de tamaño y el término "moléculas proteicas sanguíneas" se refiere a proteínas sanguíneas de tamaño pequeño a medio iguales o inferiores a 50.000 Dalton.

5 En todavía aún otra realización, la geometría del polímero es una perla esférica. En una realización adicional, el polímero tiene un volumen de poro mayor del 98,0% en poros más pequeños de 300 Angstrom de diámetro.

10 En otra realización adicional, el polímero se usa en contacto directo con sangre completa para adsorber moléculas proteicas tales como β_2 -microglobulina, pero excluyendo la sorción de proteínas sanguíneas más grandes, seleccionándose dichas proteínas sanguíneas grandes de un grupo que consiste esencialmente en hemoglobina, albúmina, inmunoglobulinas, fibrinógeno, proteínas séricas mayores de 50.000 Dalton y mezclas de los mismos. En aún otra realización adicional, el polímero tiene una selectividad de superficie interna para adsorber proteínas más pequeñas de 50.000 Dalton, que tienen de poca a ninguna selectividad para adsorber vitaminas, glucosa, electrolitos, grasas y otros nutrientes moleculares pequeños hidrófilos portados en la sangre.

15 En todavía una realización adicional, el polímero se hace poroso usando síntesis macrorreticular o síntesis de macrorredes. En todavía aún una realización adicional, el polímero se elabora usando polimerización en suspensión.

20 En otra realización, el polímero se construye a partir de monómeros aromáticos de estireno y etilvinilbenceno con reticulación proporcionada por divinilbenceno, trivinilciclohexano, trivinilbenceno, divinilnaftaleno, divinilsulfona, triacrilato de trimetilopropano, trimetacrilato de trimetilopropano y mezclas de los mismos.

25 En aún otra realización, el agente estabilizante para la polimerización en suspensión en gotículas se selecciona de un grupo que consiste esencialmente en polímeros hemocompatibilizantes, siendo dichos polímeros poli(N-vinilpirrolidinona), poli(acrilato de hidroxietilo), poli(metacrilato de hidroxietilo), hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, sales de poli(ácido acrílico), sales de poli(ácido metacrílico), poli(acrilato de dimetilaminoetilo), poli(metacrilato de dimetilaminoetilo), poli(acrilato de dietilaminoetilo), poli(metacrilato de dietilaminoetilo) y mezclas de los mismos.

30 En todavía otra realización, el polímero se hace hemocompatible mediante recubrimientos exteriores de poli(N-vinilpirrolidinona), poli(acrilato de hidroxietilo), poli(metacrilato de hidroxietilo), hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, sales de poli(ácido acrílico), sales de poli(ácido metacrílico), poli(metacrilato de dimetilaminoetilo), poli(acrilato de dimetilaminoetilo), poli(acrilato de dietilaminoetilo), poli(metacrilato de dietilaminoetilo) y mezclas de los mismos.

35 En aún otra realización, el polímero se hace hemocompatible mediante injerto superficial de los recubrimientos exteriores hemocompatibles de manera simultánea con la formación de las perlas poliméricas porosas. En todavía aún otra realización, el polímero se hace hemocompatible mediante injerto superficial de los recubrimientos exteriores hemocompatibles sobre las perlas poliméricas porosas preformadas.

40 En una realización adicional, la presente divulgación se refiere a un adsorbente polimérico para excluir la albúmina de la sorción. El polímero comprende poros con diámetros de desde aproximadamente 75 Angstrom hasta aproximadamente 300 Angstrom.

45 En otra realización adicional, la presente invención proporciona un polímero hemocompatible que comprende un intervalo de poros de operación. El intervalo de poros de operación tiene diámetros de poro de desde aproximadamente 75 Angstrom hasta aproximadamente 300 Angstrom y el polímero se diseña para adsorber moléculas proteicas sanguíneas.

50 En otra realización, la presente invención se refiere a un polímero de selección de tamaño para sorber proteínas de transmisión hemática de tamaño pequeño a medio y excluir la sorción de proteínas de transmisión hemática grandes; el polímero comprende una pluralidad de poros, y los poros tienen diámetros de desde aproximadamente 75 Angstrom hasta aproximadamente 300 Angstrom. El polímero se usa en contacto directo con sangre completa para adsorber citocinas y β_2 -microglobulina, pero excluye la adsorción de proteínas de transmisión hemática grandes, y las proteínas de transmisión hemática grandes se seleccionan de un grupo que consiste esencialmente en hemoglobina, albúmina, inmunoglobulinas, fibrinógeno, proteínas séricas mayores de 50.000 Dalton y mezclas de los mismos. Para los fines de esta invención, el término "proteínas de transmisión hemática" incluye enzimas, hormonas y proteínas reguladoras tales como citocinas y quimiocinas.

60 La presente invención da a conocer adsorbentes poliméricos porosos de selección de tamaño, biocompatibles y hemocompatibles cuyas estructuras de poro se diseñan para la eficacia en la hemoperfusión. Para la eficacia en la hemoperfusión, los adsorbentes deben sorber proteínas de manera selectiva con respecto a las otras especies moleculares pequeñas y las moléculas hidrófilas presentes en la sangre. La sorción de proteínas también debe restringirse a tamaños moleculares más pequeños de 50.000 Dalton de manera que las proteínas importantes necesarias para la homeostasis saludable (albúmina, inmunoglobulinas, fibrinógeno) permanezcan en la sangre durante el tratamiento por hemoperfusión.

Los adsorbentes poliméricos porosos de esta invención tienen un recubrimiento superficial exterior hemocompatible y un sistema de poros interno con una superficie de poro aromática para la selectividad de proteínas y un volumen de poro principal que está dentro del intervalo de diámetro de poro de 100 Angstrom a 300 Angstrom esencialmente sin poros mayores de 300 Angstrom de diámetro. El volumen de poro en poros mayores de 300 Angstrom es del 2,0% o menos del volumen total de poro. Estos adsorbentes poliméricos porosos excluyen la entrada en el sistema de poros de moléculas proteicas mayores de 50.000 Dalton, pero proporcionan un buen transporte de masas en el sistema de poros para las moléculas proteicas con tamaños menores de 35.000 Dalton.

Los polímeros porosos de esta invención se construyen a partir de monómeros aromáticos de estireno y etilvinilbenceno con reticulación proporcionada por uno de los siguientes o mezclas de los siguientes de divinilbenceno, trivinilciclohexano, triacrilato de trimetilolpropano y trimetacrilato de trimetilolpropano. Otros agentes de reticulación que pueden usarse para construir los adsorbentes poliméricos porosos de esta invención son divinilnaftaleno, trivinilbenceno y divinilsulfona, y mezclas de los mismos.

Los polímeros porosos de esta invención se elaboran mediante polimerización en suspensión en una fase acuosa formulada con iniciación por radicales libres en presencia de dispersantes en fase acuosa que se seleccionan para proporcionar una superficie exterior biocompatible y hemocompatible a las perlas poliméricas formadas. Las perlas se hacen porosas mediante la síntesis macrorreticular con un porógeno (precipitante) seleccionado apropiadamente y un perfil de tiempo-temperatura apropiado para la polimerización para desarrollar la estructura de poro apropiada.

Las perlas porosas también se elaboran con tamaños de poro pequeños mediante la metodología de hiperreticulación, que también se conoce como creación de macrorredes o síntesis de macrorredes. En esta metodología, un polímero en gel ligeramente reticulado (reticulación habitualmente de menos del dos % en peso) se hincha en un buen agente de hinchamiento difuncional para la matriz polimérica. En el estado hinchado, la matriz polimérica se reticula mediante una reacción catalizada. La reacción catalizada suele ser una reacción de Friedel-Crafts catalizada por un catalizador de ácido de Lewis. El producto resultante es un polímero macroporoso que es un polímero reticulado que tiene una estructura de poro permanente en un estado seco, no hinchado.

Para los fines de esta invención, el término "biocompatible" se define como una condición de compatibilidad con fluidos fisiológicos sin producir cambios clínicos inaceptables dentro de los fluidos fisiológicos. El término "hemocompatible" se define como una condición en la que un material, cuando se pone en contacto con sangre completa o plasma sanguíneo, da como resultado cambios fisiológicos clínicamente aceptables.

Los recubrimientos superficiales exteriores biocompatibles y hemocompatibles de las perlas poliméricas se unen covalentemente a la superficie de las perlas mediante injerto de radicales libres. El injerto de radicales libres se produce durante la transformación de las gotículas de monómero en perlas poliméricas. El dispersante que recubre y estabiliza las gotículas de monómero se une covalentemente a la superficie de la gotícula a medida que los monómeros dentro de las gotículas se polimerizan y se convierten en polímero. Los recubrimientos superficiales exteriores biocompatibles y hemocompatibles pueden injertarse covalentemente sobre las perlas poliméricas preformadas si el dispersante usado en la polimerización en suspensión no es uno que confiera biocompatibilidad o hemocompatibilidad. El injerto de recubrimientos biocompatibles y hemocompatibles sobre perlas poliméricas preformadas se lleva a cabo activando iniciadores de radicales libres en presencia de o bien los monómeros o bien oligómeros de bajo peso molecular de los polímeros que confieren biocompatibilidad o hemocompatibilidad al recubrimiento superficial.

Los recubrimientos superficiales exteriores biocompatibles y hemocompatibles de las perlas poliméricas se proporcionan por un grupo de polímeros que consiste en de poli(N-vinilpirrolidinona), poli(metacrilato de hidroxietilo), poli(acrilato de hidroxietilo), hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, sales de poli(ácido acrílico), sales de poli(ácido metacrílico), poli(metacrilato de dimetilaminoetilo), poli(acrilato de dimetilaminoetilo), poli(acrilato de dietilaminoetilo) y poli(metacrilato de dietilaminoetilo).

Los dispositivos de hemoperfusión y perfusión consisten en un lecho fijo de perlas de perlas poliméricas porosas de selección de tamaño en un recipiente de flujo continuo equipado con una malla de retención tanto en el extremo de salida como en el extremo de entrada para mantener el lecho de perlas dentro del recipiente. Las operaciones de hemoperfusión y perfusión se realizan haciendo pasar la sangre completa, el plasma sanguíneo o el fluido fisiológico a través del lecho fijo de perlas. Durante la perfusión a través del lecho de perlas, las moléculas proteicas más pequeñas de 35.000 Dalton se extraen por adsorción, mientras que el resto de los componentes fluidos pasan esencialmente sin cambios de concentración.

Para los fines de esta invención, el término "perfusión" se define como el paso de un fluido fisiológico por medio de un circuito extracorporeal adecuado a través de un dispositivo que contiene el adsorbente polimérico poroso para eliminar toxinas y proteínas a partir del fluido. El término "hemoperfusión" es un caso especial de perfusión en el que el fluido fisiológico es sangre. El término "dispersante" o "agente dispersante" se define como una sustancia que confiere un efecto estabilizante sobre una matriz finamente dividida de gotículas líquidas inmiscibles suspendidas en un medio fluidizante. El término "síntesis macrorreticular" se define como una polimerización de monómeros para dar

5 un polímero en presencia de un precipitante inerte que fuerza a las moléculas de polímero en crecimiento a salir del líquido monomérico a un determinado tamaño molecular dictado por los equilibrios de fases para dar partículas sólidas de microgel de tamaño nanométrico de simetría esférica o casi esférica empaquetadas juntas para dar una perla con poros físicos de una estructura de celda abierta, tal como se describe en la patente estadounidense 4.297.220 y Meitzner y Ohne, 27 de octubre de 1981; R.L. Albright, *Reactive Polymers*, 4, 155-174 (1986). Para los fines de esta invención, el término "sorber" se define como "captar y unir por absorción y adsorción".

Breve descripción de las varias vistas de los dibujos

10 A continuación en el presente documento, se dan a conocer realizaciones preferidas con referencia a la figura adjunta, que ilustra los datos de estructuras de poro pertinentes y los resultados de perfusión de proteínas llevados a cabo en los cinco adsorbentes.

Descripción detallada

15 Según sea necesario, se dan a conocer en el presente documento realizaciones detalladas; debe entenderse que las realizaciones dadas a conocer son simplemente a modo de ejemplo.

20 Se caracterizan cinco adsorbentes poliméricos porosos para determinar sus estructuras de poro y se evalúan para determinar su adsorción competitiva de citocromo-c (11.685 Dalton de tamaño) con respecto a albúmina sérica (66.462 Dalton de tamaño). Las síntesis de adsorbentes se describen en el ejemplo 1; la caracterización de estructuras de poro se proporciona en el ejemplo 2; el procedimiento de adsorción dinámica competitiva y los resultados se proporcionan en el ejemplo 3; y la eficacia competitiva para captar la proteína citocromo-c más pequeña con respecto a la molécula de albúmina más grande se analiza en el ejemplo 4.

25 EJEMPLO 1: SÍNTESIS DE ADSORBENTES

30 El procedimiento de síntesis consiste en (1) preparar la fase acuosa, (2) preparar la fase orgánica, (3) llevar a cabo la polimerización en suspensión y (4) purificar el producto adsorbente polimérico poroso resultante. Las composiciones de fase acuosa son las mismas para todas las polimerizaciones. La tabla 1A enumera la composición en porcentaje de la fase acuosa y la tabla 1B proporciona las cargas de material típicas para una serie de polimerización en un reactor de cinco litros.

35 Tabla 1A

Composición de fase acuosa	
	<u>% en peso</u>
Agua ultrapura	97,787
Agente dispersante: poli(alcohol vinílico)	0,290
Fosfato de monosodio	0,300
Fosfato de disodio	1,000
Fosfato de trisodio	0,620
Nitrito de sodio	0,003

Tabla 1B

Cargas de material para una serie de polimerización típica en un reactor de cinco litros	
Volumen de fase acuosa	1750,00 ml
Densidad de fase acuosa	1,035 g/ml
Peso de fase acuosa	1811,25 g
Razón volumétrica, fase acuosa/fase orgánica	1,05
Volumen de fase orgánica	1665,0 ml
Densidad de fase orgánica	0,84093 g/ml
Peso de fase orgánica, excluyendo la carga de iniciador	1400,15 g
Volumen total de reacción	3415,0 ml
Peso total de reacción	3211,40 g

ES 2 880 509 T3

Iniciador, peróxido de benzoílo puro (BPO)	8,07606 g
Iniciador, BPO al 97%	8,3258 g

(Nota: la carga de iniciador se calcula sólo en la cantidad de monómeros polimerizables introducidos en el reactor.)

Divinilbenceno (DVB) comercial al 63%, 98,65 monómeros polimerizables de DVB 794,814 g y EVB (etilvinilbenceno); 1,35% de compuestos inertes; 63,17% de DVB; 35,48% de EVB

Tolueno	269,300 g
Isooctano	336,036 g
Peróxido de benzoílo, 97%	8,3258 g
Total, carga orgánica	1408,4758 g

5 Tras la preparación de la fase acuosa y la fase orgánica, se vierte la fase acuosa en el reactor de cinco litros y se calienta hasta 65°C con agitación. Se vierte la fase orgánica premezclada que incluye el iniciador en el reactor sobre la fase acuosa con la velocidad de agitación ajustada a las rpm para la formación del tamaño de gotícula apropiado. Se calienta la dispersión de gotículas orgánicas hasta la temperatura seleccionada para la polimerización y se mantiene a esta temperatura durante el tiempo deseado para completar la conversión de los monómeros en el polímero reticulado y, por tanto, fijar la estructura de poro. Se destruye el iniciador sin reaccionar calentando la suspensión de perlas durante dos horas a una temperatura en la que la semivida del iniciador es de una hora o menos. Para el iniciador, peróxido de benzoílo, se destruye el iniciador sin reaccionar calentando la suspensión a 95°C durante dos horas.

15 Se enfría la suspensión, se extraen por sifón las aguas madres a partir de las perlas y se lavan las perlas cinco veces con agua ultrapura. Se liberan las perlas del porógeno y otros compuestos orgánicos mediante una técnica de limpieza térmica. Este procedimiento da como resultado un adsorbente poroso limpio y seco en forma de perlas poliméricas esféricas y porosas.

Tabla 1C

Componentes de las síntesis de adsorbentes					
Identidad del polímero poroso	Adsorbente 1	Adsorbente 2	Adsorbente 3	Adsorbente 4	Adsorbente 5
	% en peso ^a		% en peso ^a	% en peso ^a	% en peso ^a
Divinilbenceno, (DVB), puro	35,859	El adsorbente 2 es una resina comercial, Amberlite XAD-16®, fabricada por Rohm and Haas Company	26,163	22,4127	22,4127
Etilvinilbenceno (EVB), puro	20,141		14,695	12,5883	12,5883
Compuestos inertes	0,766		0,559	0,4790	0,4790
Tolueno	19,234		27,263	64,521	54,841
Isooctano polimerizable	24,00		31,319	0,00	9,680
Monómeros	56,00		40,8584	35,00	35,00
Peróxido de benzoílo porógeno	44,00		59,1416	65,00	65,00
(BPO), Puro; % en peso basado en el contenido de monómeros polimerizables	1,03		0,7447	2,00	4,00
Polimerización, °C/tiempo, h	75°/10 h		80°/16 h	70°/24 h	65°/24 h
				95°/2 h	95°/2 h

a.) Valor en % en peso basado en el peso total de la fase orgánica excluyendo el iniciador.

EJEMPLO 2: CARACTERIZACIÓN DE LAS ESTRUCTURAS DE PORO

Las estructuras de poro de los lechos poliméricos adsorbentes identificados en la tabla 1C se analizaron con un instrumento Micromeritics ASAP 2010. Los resultados se proporcionan en la figura en la que el volumen de poro se representa gráficamente en función del diámetro de poro. El gráfico de la figura presenta la distribución de volumen de poro en el intervalo de tamaño de poro.

El volumen de poro se divide en categorías dentro de los intervalos de tamaño de poro para cada uno de los cinco polímeros adsorbentes y estos valores se proporcionan en la tabla 2. El volumen de poro de capacidad es el volumen de poro que es accesible para la sorción de proteínas y consiste en el volumen de poro en poros mayores de 100 Angstrom de diámetro. El volumen de poro efectivo es el volumen de poro que es selectivamente accesible a proteínas más pequeñas de 35.000 Dalton y consiste en diámetros de poro dentro del intervalo de 100 a 250 Angstrom de diámetro. El volumen de poro de mayor tamaño es el volumen de poro accesible a proteínas mayores de 35.000 Dalton y consiste en el volumen de poro en poros mayores de 250 Angstrom de diámetro. El volumen de poro de menor tamaño es el volumen de poro en poros más pequeños de 100 Angstrom de diámetro y no es accesible para proteínas mayores de aproximadamente 10.000 Dalton.

Tabla 2

Caracterización de estructuras de poro de los adsorbentes					
Identidad del polímero poroso	Adsorbente 1	Adsorbente 2	Adsorbente 3	Adsorbente 4	Adsorbente 5
Volumen de poro de capacidad, cm ³ /g; Dp, 100 Å→2000 Å	0,5850	1,245	1,5156	0,3148	0,6854
Volumen de poro efectivo, cm ³ /g; Dp, 100 Å→250 Å	0,5678	0,986	0,3330	0,3060	0,6728
Volumen de poro de mayor tamaño, cm ³ /g; Dp > 250 Å	0,0172	0,259	1,1826	0,0089	0,0126
Volumen de poro de menor tamaño, cm ³ /g; Dp < 100 Å	0,3941	0,534	0,4068	0,6311	0,4716
Volumen total de poro, cm ³ /g; Dp, 17 Å→2000 Å	0,9792	1,779	1,9225	0,9459	1,1569
Volumen de poro efectivo en % de volumen de poro de capacidad	97,06	79,20	21,97	97,19	98,16

Nota: Dp es un acrónimo del diámetro de poro.

EJEMPLO 3: SELECTIVIDAD DE ADSORCIÓN DE PROTEÍNAS

Se humedecen las perlas adsorbentes poliméricas producidas en el ejemplo 1 con una disolución acuosa de alcohol isopropílico al 20% en peso y se lavan a fondo con agua ultrapura. Se introducen las perlas con diámetros comprendidos entre 300 y 850 micrómetros en un dispositivo de hemoperfusión de 200 ml que es un cartucho cilíndrico de 5,4 cm de diámetro interno y 8,7 cm de longitud. Las perlas se retienen dentro del cartucho mediante mallas en cada extremo con un tamaño de orificio de 200 micrómetros. Las tapas de los extremos con un puerto Luer central se enroscan en cada extremo para asegurar las mallas y proporcionar la distribución de fluidos y la conexión de los tubos.

Se preparan cuatro litros de una solución salina acuosa al 0,9% tamponada a un pH de 7,4 con 50 mg/litro de citocromo-c de corazón de caballo y 30 g/litro de albúmina sérica. Estas concentraciones se eligen para simular un tratamiento clínico de un paciente renal típico en el que la albúmina es abundante y la β_2 -microglobulina se encuentra a niveles mucho más bajos en su sangre. El citocromo-c de corazón del caballo con un peso molecular de 11.685 Dalton tiene un tamaño molecular muy cercano al de la β_2 -microglobulina de 11.845 Dalton y, por tanto, se elige como sustituto de la β_2 -microglobulina. La albúmina sérica es una molécula mucho más grande que el citocromo-c con un peso molecular de 66.462 Dalton y, por tanto, permite los estudios de adsorción competitiva apropiados necesarios para seleccionar el polímero poroso con la estructura de poro óptima para la exclusión de selección de tamaño de la albúmina.

La disolución de proteína se hace circular mediante una bomba de diálisis desde un depósito a través de una celda de espectrofotómetro UV de flujo continuo, el lecho de perlas, y se devuelve al depósito. La velocidad de bombeo es de 400 ml/minuto durante cuatro horas. La concentración de ambas proteínas en el depósito se mide de manera periódica por su adsorbancia UV a 408 nm para el citocromo-c y a 279 nm para la albúmina.

Los cinco adsorbentes identificados en la tabla 1C se examinaron mediante esta evaluación de sorción competitiva

de proteínas y los resultados medidos se proporciona en la tabla 3.

Tabla 3

Eficacia de selección de tamaño de los adsorbentes poliméricos porosos					
Identidad del polímero poroso	Adsorbente 1	Adsorbente 2	Adsorbente 3	Adsorbente 4	Adsorbente 5
Volumen de poro de capacidad, cm ³ /g; Dp, 100 Å→2000 Å 0,6854	0,5850	1,245	1,5156	0,3148	
Volumen de poro efectivo, cm ³ /g; Dp, 100 Å→250 Å 0,6728	0,5678	0,986	0,3330	0,3060	
Volumen de poro efectivo en % de volumen de poro de capacidad	97,06	79,20	21,97	97,19	98,16
% de citocromo-c adsorbido	89,0	96,7	95,3	57,4	90,1
% de albúmina adsorbida	3,7	8,1	13,1	1,0	1,8
Selectividad	24,05	11,94	7,27	57,1	50,06

Nota: Selectividad = % de citocromo-c adsorbido/% de albúmina adsorbida

5 EJEMPLO 4: VOLUMEN DE PORO E INTERVALO DE TAMAÑO DE PORO PARA LA CINÉTICA Y SELECTIVIDAD DE TAMAÑO ADECUADAS PARA EL CITOCROMO-C CON RESPECTO A LA ALBÚMINA

10 La tabla 3 y la figura resumen los datos de estructuras de poro pertinentes y los resultados de perfusión de proteínas llevados a cabo en los cinco adsorbentes. La selectividad para adsorber el citocromo-c con respecto a la albúmina disminuyó en el siguiente orden: adsorbente 4 > adsorbente 5 > adsorbente 1 > adsorbente 2 > adsorbente 3.

La cantidad de citocromo-c adsorbido durante la perfusión de cuatro horas disminuyó en el siguiente orden: adsorbente 2 > adsorbente 3 > adsorbente 5 > adsorbente 1 > adsorbente 4.

15 El adsorbente 4 con la selectividad más alta de 57,1 tuvo la peor cinética captando sólo el 57,4% del citocromo-c disponible durante la perfusión de cuatro horas. Este resultado cinético se produce porque el volumen de poro efectivo está ubicado en el extremo inferior del intervalo de tamaño de poro, teniendo todo su volumen de poro efectivo dentro del intervalo de tamaño de poro de 130 Angstrom a 100 Angstrom. Existe un volumen de poro insignificante en los poros mayores de 130 Angstrom y este pequeño tamaño de poro retarda la entrada del citocromo-c.

20 El adsorbente 5 con su volumen de poro principal entre 100 y 200 Angstrom tuvo la segunda selectividad más alta para el citocromo-c con respecto a la albúmina de 50,6 y tuvo un buen transporte de masas en los poros de volumen de poro efectivo captando el 90,1% del citocromo-c durante la perfusión de cuatro horas. Este polímero poroso tiene el mejor equilibrio de propiedades con una excelente selectividad de tamaño para el citocromo-c con respecto a la albúmina y muy buena capacidad para el citocromo-c durante una perfusión de cuatro horas.

25 El adsorbente 1 mostró una selectividad razonablemente buena de 24,05 para sorber el citocromo-c con respecto a la albúmina. También presentó una buena capacidad para sorber el citocromo-c durante la perfusión de cuatro horas, captando el 89,0% de la cantidad disponible.

30 El adsorbente 2 con la mayor capacidad para sorber el citocromo-c durante la perfusión de cuatro horas captó el 96,7% del citocromo-c disponible. Esta alta capacidad surge de tener un gran volumen de poro, 0,986 cm³/g, y dentro del intervalo de volumen de poro efectivo de 100 Angstrom a 250 Angstrom. Sin embargo, este polímero poroso permitió que se adsorbiera más albúmina que los adsorbentes 1, 4 y 5, ya que tiene un volumen de poro significativo, 0,250 cm³/g, en el grupo de tamaño de poro de 250 Angstrom a 300 Angstrom.

35 El adsorbente 3 con una distribución de tamaño de poro muy amplia, tal como se muestra en la figura, tuvo la peor selectividad entre el grupo de 7,27. Tiene un volumen de poro muy grande en el intervalo de tamaño de poro mayor de 250 Angstrom. Este polímero poroso tiene un volumen de poro de 1,15 cm³/g dentro del intervalo de tamaño de poro de 250 Angstrom a 740 Angstrom. A diferencia de los otros cuatro adsorbentes, este polímero poroso no es de selección de tamaño para proteínas más pequeñas de aproximadamente 150.000 Dalton, aunque sorbió el 95,3% del citocromo-c disponible durante la perfusión.

40 En comparación con las propiedades de selectivamente para sorber el citocromo-c con respecto a la albúmina y su capacidad para captar el citocromo-c durante una perfusión de cuatro horas, el adsorbente polimérico poroso 5 proporcionó el mejor rendimiento. Este polímero poroso tiene la estructura de poro apropiada para funcionar bien en la hemoperfusión junto con la hemodiálisis para personas con nefropatía en fase terminal.

50 Son posibles numerosas modificaciones y variaciones de la presente invención a la luz de las enseñanzas

anteriores. Por tanto, debe entenderse que dentro del alcance de la reivindicación acompañante adjunta en el presente documento, esta invención puede ponerse en práctica de otra manera que no sea la dada a conocer específicamente en el presente documento.

REIVINDICACIONES

1. Polímero poroso de selección de tamaño para sorber moléculas proteicas a partir de la sangre, comprendiendo dicho polímero una pluralidad de poros, sorbiendo dichos poros moléculas proteicas iguales o inferiores a 50.000 Dalton,
- 5
- en el que dicho polímero es biocompatible, en el que dicho polímero es hemocompatible,
- 10
- en el que la geometría de dicho polímero es una perla esférica,
- 15
- en el que dicho polímero se usa en contacto directo con sangre completa para adsorber moléculas proteicas tales como β_2 -microglobulina pero excluyendo la sorción de proteínas sanguíneas grandes, seleccionándose dichas proteínas sanguíneas grandes de un grupo que consiste esencialmente en hemoglobina, albúmina, inmunoglobulinas, fibrinógeno, proteínas séricas mayores de 50.000 Dalton y mezclas de los mismos, en el que dicho polímero tiene una selectividad de superficie interna para adsorber proteínas más pequeñas de 50.000 Dalton, que tiene de poca a ninguna selectividad para adsorber vitaminas, glucosa, electrolitos, grasas y otros nutrientes moleculares pequeños hidrófilos portados en la sangre,
- 20
- en el que dicho polímero se hace poroso usando síntesis macrorreticular, o en el que dicho polímero se hace poroso usando síntesis de macrorredes; o en el que dicho polímero se elabora usando polimerización en suspensión en gotículas; y en el que dicho polímero se construye a partir de monómeros aromáticos de estireno y etilvinilbenceno con reticulación proporcionada por divinilbenceno, trivinilciclohexano, trivinilbenceno, divinilnaftaleno, divinilsulfona, triacrilato de trimetilolpropano, trimetacrilato de trimetilolpropano y mezclas de los mismos, en el que un agente estabilizante para la polimerización en suspensión en gotículas se selecciona de un grupo que consiste esencialmente en polímeros hemocompatibilizantes, siendo dichos polímeros poli(N-vinilpirrolidinona), poli(acrilato de hidroxietilo), poli(metacrilato de hidroxietilo), hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, sales de poli(ácido acrílico), sales de poli(ácido metacrílico), poli(acrilato de dimetilaminoetilo), poli(metacrilato de dimetilaminoetilo), poli(acrilato de dietilaminoetilo), poli(metacrilato de dietilaminoetilo) y mezclas de los mismos, en el que dicho polímero se hace hemocompatible mediante recubrimientos exteriores de poli(N-vinilpirrolidinona), poli(acrilato de hidroxietilo), poli(metacrilato de hidroxietilo), hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, sales de poli(ácido acrílico), sales de poli(ácido metacrílico), poli(metacrilato de dimetilaminoetilo), poli(acrilato de dimetilaminoetilo), poli(acrilato de dietilaminoetilo), poli(metacrilato de dietilaminoetilo) y mezclas de los mismos,
- 25
- 30
- 35
- en el que dicho polímero se hace hemocompatible mediante injerto superficial de los recubrimientos exteriores hemocompatibles de manera simultánea con la formación de las perlas poliméricas porosas.

