

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 415**

21 Número de solicitud: 201931063

51 Int. Cl.:

C08J 3/075 (2006.01)
C08F 220/06 (2006.01)
C08F 220/10 (2006.01)
C08F 222/00 (2006.01)
C08F 26/06 (2006.01)
C08F 8/30 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
G02C 7/04 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

29.11.2019

43 Fecha de publicación de la solicitud:

22.04.2020

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

12.02.2021

Fecha de concesión:

26.02.2021

45 Fecha de publicación de la concesión:

05.03.2021

73 Titular/es:

**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE
COMPOSTELA (100.0%)
Edificio EMPRENDIA - Campus Vida
15782 Santiago de Compostela (A Coruña) ES**

72 Inventor/es:

**VARELA GARCIA, Angela;
CONCHEIRO NINE, Angel y
ALVAREZ LORENZO, Carmen**

74 Agente/Representante:

TORRENTE VILASÁNCHEZ, Susana

54 Título: **HIDROGELES QUE COMPRENDEN UNA BASE NITROGENADA**

57 Resumen:

La presente invención se refiere a hidrogeles acrílicos que comprenden una base nitrogenada seleccionada de entre citosina, adenina, guanina, uracilo y timina, a métodos para obtener dichos hidrogeles y a las lentes de contacto preparadas a partir de dichos hidrogeles.

ES 2 755 415 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

DESCRIPCIÓN

Hidrogeles que comprenden una base nitrogenada

Campo de la invención

La presente invención se refiere a hidrogeles acrílicos que comprenden una base nitrogenada seleccionada de entre citosina, adenina, guanina, uracilo y timina, a métodos
5 para obtener dichos hidrogeles, así como al uso médico, especialmente oftálmico, de dichos hidrogeles.

Antecedentes de la invención

La naturaleza hidrofílica de los hidrogeles dificulta la carga eficiente de moléculas poco polares, como son la gran mayoría de los fármacos y las sustancias activas.

10 Para solucionar este problema, se han venido estudiando diferentes soluciones. Una de ellas es la incorporación del fármaco o de la sustancia activa en un vehículo de tamaño nano o micrométrico que después se incorpora en el hidrogel (como por ejemplo se describe en Y. Kapoor, A. Chauhan, Drug and surfactant transport in Cyclosporine A and Brij 98 laden p-HEMA hydrogels, J. Coll. Int. Sci. 322 (2008) 624–633). Sin embargo,
15 en la mayoría de estos estudios la carga del fármaco al hidrogel continúa siendo relativamente baja.

Así, aún es necesario el desarrollo de hidrogeles que sean capaces de captar sustancias poco polares y cederlas de forma controlada a lo largo del tiempo.

20 Descripción breve de la invención

Los autores de la presente invención han diseñado un nuevo hidrogel con capacidad para incorporar moléculas, incluidas moléculas poco polares, en particular fármacos y sustancias activas poco polares.

Los hidrogeles de la presente invención están diseñados de manera que presentan
25 microdominios en los que se incorporan moléculas, de manera más concreta se pueden incorporar fármacos y sustancias activas, que además pueden formar complejos con bases nitrogenadas que están incorporadas al hidrogel.

Los hidrogeles de la presente invención son útiles en el tratamiento de estados patológicos o fisiológicos, en la elaboración de sistemas de liberación tópica, transdérmica o transmucosal de moléculas y en la preparación de cosméticos.

Así, en un primer aspecto, la presente invención se dirige a un hidrogel en forma de red tridimensional caracterizado por que comprende cadenas metacrílicas y/o acrílicas entrecruzadas, en donde las cadenas comprenden grupos alquílicos a los que está unida una base nitrogenada seleccionada de entre citosina, adenina, guanina, uracilo y timina.

Un segundo aspecto de la invención se dirige a un método para preparar un hidrogel como se describió en el primer aspecto de la invención, que comprende las etapas de:

- a. polimerizar una mezcla que comprende i) monómeros metacrílicos o acrílicos monofuncionalizados, o sus combinaciones, ii) monómeros metacrílicos o acrílicos bifuncionalizados, y iii) monómeros metacrílicos o acrílicos que comprenden un grupo electrófilo, para formar un entramado base de red tridimensional; y
- b. hacer reaccionar una base nitrogenada seleccionada de entre citosina, adenina, guanina, uracilo y timina, con el entramado base.

En otro aspecto, la presente invención se dirige a un hidrogel obtenible mediante un procedimiento tal y como se describe en el segundo aspecto de la invención.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una lente de contacto que comprende un hidrogel como se describió en el primer aspecto de la invención. En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para preparar dicha lente de contacto.

En un aspecto adicional, la presente invención se dirige a un hidrogel y a una lente de contacto, tal y como se describe en los anteriores aspectos, para su uso en medicina, preferiblemente en oftalmología. Más concretamente, dicho hidrogel o lente de contacto se emplea para tratar o prevenir la sequedad del ojo, cataratas y úlceras corneales.

En otro aspecto adicional, la presente invención se dirige al uso del hidrogel en la elaboración de sistemas de liberación tópica, transdérmica o transmucosal, y en cosmética.

Descripción de las figuras

Figura 1. Representación esquemática de la reacción entre la base nitrogenada y el grupo glicidil metacrilato en la red tridimensional de hidrogel intermedio.

Figura 2. Cantidad de ácido trans-ferúlico (TA) incorporado a los hidrogeles después de 5 48 horas de inmersión de los mismos en una solución de TA (0,01 mg/mL) a 25°C.

Figura 3. Perfiles de cesión de TA en fluido lacrimal simulado a 35°C desde hidrogeles no funcionalizados con base nitrogenada (líneas continuas) y desde hidrogeles funcionalizados (líneas punteadas).

Figura 4. Cantidad de TA permeado a través de la córnea y esclera cuando se cede TA 10 desde una solución acuosa (barras blancas), o desde hidrogeles sin funcionalizar (barras negras) y funcionalizados (barras grises).

Figura 5. Cantidad de TA acumulada en la córnea y en la esclera cuando se cede TA desde una solución acuosa (barras blancas), o desde hidrogeles sin funcionalizar (barras negras) y funcionalizados (barras grises).

15

Descripción detallada de la invención

En un aspecto, la presente invención se dirige a un hidrogel en forma de red tridimensional caracterizado por que comprende cadenas metacrílicas y/o acrílicas entrecruzadas, en donde las cadenas comprenden grupos alquílicos a los que está unida 20 una base nitrogenada seleccionada de entre citosina, adenina, guanina, uracilo y timina.

En la presente invención se entiende por red tridimensional un entramado polimérico que se extiende en las tres dimensiones del espacio. Esta red tridimensional se forma cuando las cadenas poliméricas que la constituyen se encuentran entrecruzadas o reticuladas por monómeros que tienen la función de agentes reticulantes (A. Yamauchi. Gels: 25 Introduction. En: Y. Osada, K. Kajiwara. Gels Handbook, Volume 1. The Fundamentals. Academic Press, London, 2001, páginas 4-12).

En la presente invención, por cadena metacrílica o acrílica se entiende una cadena polimérica que es el resultado de la polimerización de monómeros metacrílicos o acrílicos. En la presente invención, por cadena metacrílica y acrílica se entiende una

cadena polimérica que es el resultado de la polimerización de monómeros metacrílicos y acrílicos.

Por unidad metacrílica o acrílica se entiende cada unidad monomérica que constituye la cadena polimérica tras la polimerización de monómeros metacrílicos o acrílicos.

5 Por unidades metacrílicas o acrílicas monofuncionalizadas se entienden las unidades metacrílicas o acrílicas que son el resultado de la polimerización de monómeros que contienen un único grupo metacrílico o acrílico. Por combinaciones de unidades metacrílicas o acrílicas monofuncionalizadas se entiende que se han mezclado un monómero metacrílico con otro monómero metacrílico diferente y/o con uno o más
10 monómeros acrílicos.

Por unidades metacrílicas o acrílicas bifuncionalizadas se entienden las unidades metacrílicas o acrílicas que son el resultado de la polimerización de monómeros que contienen dos o más grupos metacrílicos o acrílicos. En la presente invención, las unidades metacrílicas o acrílicas bifuncionalizadas tienen la función de agentes
15 reticulantes.

Por unidades metacrílicas o acrílicas que comprenden un grupo electrófilo se entienden las unidades metacrílicas o acrílicas que son el resultado de la polimerización de monómeros metacrílicos o acrílicos que comprenden un grupo electrófilo.

Por grupo electrófilo se entiende un átomo de carbono al que está unido un buen grupo saliente y tiene capacidad para reaccionar en una reacción de sustitución nucleófila, bimolecular o unimolecular. Así, por un monómero metacrílico o acrílico que comprende un grupo electrófilo se entiende aquel que tiene un carbono al que está unido un buen grupo saliente. Hay ejemplos comerciales de dichos monómeros que son útiles para la presente invención, como por ejemplo, glicidil metacrilato, glicidil acrilato, 3-cloro-2-
20 hidroxipropil metacrilato. Pero también se pueden preparar mediante reacciones sencillas conocidas por el experto en la materia, por ejemplo, el grupo cloro del 3-cloro-2-
25 hidroxipropil metacrilato se puede transformar en un mejor grupo saliente como por ejemplo tosilato, triflato, mesilato, fosfato, etc, y también existe bibliografía en la que se describe la preparación de estos monómeros metacrílicos o acrílicos que comprenden un
30 grupo electrófilo y que es conocida por el experto en la materia.

En una realización preferida, las cadenas metacrílicas y/o acrílicas de los hidrogeles de la invención comprenden o están formadas por unidades metacrílicas o acrílicas monofuncionalizadas, o sus combinaciones; unidades metacrílicas o acrílicas bifuncionalizadas; y unidades metacrílicas o acrílicas que comprenden un grupo
5 electrófilo. En una realización las cadenas no comprenden otro tipo de unidad.

En una realización preferida, los hidrogeles de la invención se caracterizan por que la proporción en peso de las unidades metacrílicas o acrílicas bifuncionalizadas está preferiblemente entre el 0,1% y el 10% con respecto al peso del hidrogel. En una realización preferida, la proporción en peso de las unidades metacrílicas o acrílicas que
10 comprenden un grupo electrófilo está preferiblemente entre el 0,1% y el 10% con respecto al peso del hidrogel.

Los hidrogeles de la presente invención poseen la capacidad de incorporar agua en elevadas proporciones sin disolverse. Además, los hidrogeles de la invención presentan una elevada claridad óptica, excelente biocompatibilidad y propiedades físicas y
15 mecánicas que hacen que los hidrogeles de la presente invención sean útiles como componentes de lentes de contacto, y en particular lentes de contacto blandas.

Los hidrogeles de la invención tienen además la capacidad de incorporar moléculas, de manera preferida moléculas que presentan afinidad por la base nitrogenada que está presente en el hidrogel. Y además, los hidrogeles de la invención tienen la capacidad de
20 controlar la cesión de dichas moléculas, de forma preferida la cesión a medios fisiológicos.

En una realización preferida, la molécula con afinidad por la base nitrogenada es un antioxidante. En una realización más preferida, la molécula con afinidad por la base nitrogenada se selecciona de entre ácido trans-ferúlico, edaravona, idebenona, N-acetilcisteína, ácido α -lipoico, flavonoides, isoflavonas, rutoxidos, silibinina, baicaleína, quercetina, catequinas, polifenoles, resveratrol, curcumina, vitamina A, vitamina C, vitamina E y coenzima Q. En una realización aún más preferida el antioxidante es ácido trans-ferúlico.
25

En una realización preferida, la invención se dirige a un hidrogel en forma de red tridimensional caracterizado por que comprende cadenas metacrílicas entrecruzadas, en
30 donde las cadenas comprenden grupos alquílicos a los que están unidas citosinas.

En otra realización preferida, la invención se dirige a un hidrogel en forma de red tridimensional caracterizado por que comprende cadenas metacrílicas entrecruzadas, en donde las cadenas comprenden grupos alquílicos a los que están unidas citosinas, y el hidrogel comprende además una molécula antioxidante, preferiblemente ácido transferúlico. En una realización más preferida, las cadenas metacrílicas están formadas por:

5 i) unidades metacrílicas monofuncionalizadas procedentes de los monómeros monofuncionalizados hidroxietil metacrilato y etilenglicolfeniléter metacrilato; ii) unidades metacrílicas bifuncionalizadas procedentes del monómero bifuncionalizado etilenglicol dimetacrilato; iii) unidades metacrílicas con un grupo alquílico procedente

10 del monómero con un grupo electrófilo glicidil metacrilato, donde el grupo alquílico está unido covalentemente a una citosina mediante un enlace amino.

En otra realización más preferida, las cadenas metacrílicas están formadas por: i) unidades metacrílicas monofuncionalizadas procedentes de los monómeros monofuncionalizados hidroxietil metacrilato en una proporción en peso de entre 60% y 99% respecto al peso

15 del hidrogel, preferiblemente entre 70% y 99%, más preferiblemente entre 80% y 98%, y etilenglicolfeniléter metacrilato en una proporción en peso de entre 0,1% y 10% respecto al peso del hidrogel; ii) unidades metacrílicas bifuncionalizadas procedentes del monómero bifuncionalizado etilenglicol dimetacrilato en una proporción en peso de entre 0,1% y 10% respecto al peso del hidrogel; iii) unidades metacrílicas con un grupo

20 alquílico procedente del monómero con un grupo electrófilo glicidil metacrilato en una proporción en peso de entre 0,1% y 10% respecto al peso del hidrogel, donde el grupo alquílico está unido covalentemente a una citosina mediante un enlace amino.

En otra realización preferida, la molécula con afinidad por la base nitrogenada presente en el hidrogel es un principio activo farmacéutico. En una realización más preferida, el

25 principio activo farmacéutico es capaz de formar enlaces de hidrógeno o interacciones *pi-pi stacking* con la base nitrogenada presente en el hidrogel.

En un aspecto adicional, la invención se dirige a una lente de contacto que comprende el hidrogel de la invención tal y como se describe en cualquiera de sus realizaciones.

En una realización, la lente de contacto es una lente de contacto blanda. En el contexto

30 de la presente invención, una lente de contacto blanda es una lente de contacto que tiene un módulo de elasticidad (es decir, el módulo de Young) de menos de 2,5 MPa.

En una realización, el hidrogel o la lente de contacto posee un contenido de agua en peso respecto del peso del hidrogel o lentilla del 20 % al 80 %.

En una realización, el hidrogel o lente de contacto comprende, además, agentes activos adicionales que sirven para tratar la sequedad del ojo o algún síntoma derivado tal como
5 la inflamación.

En una realización el agente activo adicional es un agente antiinflamatorio. Más particularmente, el agente antiinflamatorio se selecciona del grupo que consiste en ibuprofeno, cetoprofeno, flurbiprofeno, fenoprofeno, naproxeno, piroxicam, tenoxicam, isoxicam, meloxicam, indometacina, aceclofenac, diclofenac y una combinación de los
10 mismos.

En otro aspecto la invención se dirige a un procedimiento para la preparación de los hidrogeles de la invención, que comprende las etapas de:

- a. polimerizar una mezcla que comprende i) monómeros metacrílicos o acrílicos monofuncionalizados, o sus combinaciones, ii) monómeros metacrílicos o acrílicos bifuncionalizados, y iii) monómeros metacrílicos o acrílicos que comprenden un grupo electrófilo, para formar un entramado base de red tridimensional; y
15
- b. hacer reaccionar una base nitrogenada seleccionada de entre citosina, adenina, guanina, uracilo y timina, con el entramado base.

A través de la polimerización de la etapa a) se van formando las cadenas metacrílicas o acrílicas, o las cadenas acrílicas y metacrílicas. El entrecruzamiento de estas cadenas según crecen se puede lograr de diversas maneras, por ejemplo a través del empleo de monómeros o agentes reticulantes que comprenden más de un grupo reactivo que reacciona con diferentes cadenas crecientes sin terminar la polimerización. En una
20 realización preferida, el entrecruzamiento se logra a través del empleo de monómeros metacrílicos o acrílicos bifuncionalizados en la etapa a) En el contexto de la presente invención el significado de reticulación y entrecruzamiento es el mismo.

En una realización preferida, el entramado base de la red que se prepara en la etapa a) se prepara por polimerización de monómeros metacrílicos o acrílicos monofuncionalizados,
30 o sus combinaciones, monómeros metacrílicos o acrílicos bifuncionalizados, y monómeros metacrílicos o acrílicos que comprenden un grupo electrófilo. De este modo

se obtiene un entramado base, que comprende cadenas metacrílicas y/o acrílicas que comprenden o están formadas por unidades metacrílicas o acrílicas monofuncionalizadas, o sus combinaciones, unidades metacrílicas o acrílicas bifuncionalizadas, y unidades metacrílicas o acrílicas que comprenden un grupo electrófilo.

- 5 El entramado base que se prepara en la etapa a) es en sí un hidrogel tridimensional.

Los monómeros que dan lugar a las unidades metacrílicas o acrílicas que comprenden un grupo electrófilo son preferentemente glicidil metacrilato, glicidil acrilato, 3-cloro-2-hidroxipropil metacrilato.

- 10 Los monómeros que dan lugar a unidades metacrílicas o acrílicas que poseen un grupo metacrílico o acrílico en su estructura (monofuncionalizadas) son preferentemente hidroxietil metacrilato, etilenglicolfeniléter metacrilato, 1-(tristimetilsiloxisilpropil)-metacrilato, metilmetacrilato, N,N-dimetilacrilamida, N,N-dietilacrilamida, ácido metacrílico, ácido acrílico, aminopropil metacrilato, ciclohexil metacrilato, o fluoro-siloxano acrilato.

- 15 Los monómeros que dan lugar a unidades metacrílicas o acrílicas que poseen dos grupos metacrílicos o acrílicos en su estructura (bifuncionalizadas) son preferentemente etilenglicol dimetacrilato, 1,3-Butanediol diacrilato, 1,4-Butanediol diacrilato, 1,6-Hexanediol diacrilato, Etilenglicol diacrilato, Fluorescein O,O'-diacrilato, Glicerol 1,3-diglicerolato diacrilato, Pentaeritritol diacrilato monoestearato, 1,6-Hexanediol etoxilato
- 20 diacrilato, 3-Hidroxi-2,2-dimetilpropil 3-hidroxi-2,2-dimetilpropionato diacrilato, Bisfenol A etoxilato diacrilato, Di(etilen glicol) diacrilato, Neopentil glicol diacrilato, Poli(etilen glicol) diacrilato, Poli(propilen glicol) diacrilato, Propilen glicol glicerolato diacrilato, Tetra(etilen glicol) diacrilato, 1,3-Butanediol dimetacrilato, 1,4-Butanediol dimetacrilato, 1,6-Hexanediol dimetacrilato, Bisfenol A dimetacrilato, Diuretano
- 25 dimetacrilato, Etilen glicol dimetacrilato, Fluorescein O,O'-dimetacrilato, Glicerol dimetacrilato, Bisfenol A etoxilato dimetacrilato, Bisfenol A glicerolato dimetacrilato, Di(etilen glicol) dimetacrilato, Poli(etilenglicol) dimetacrilato, Poli(propilen glicol) dimetacrilato, Tetraetilen glicoldimetacrilato, Tri(etilen glicol) dimetacrilato, Trietilen glicol dimetacrilato, Poli(lauril metacrilato-co-etilen glicoldimetacrilato), Poli(metil
- 30 metacrilato-co-etilen glicol dimetacrilato).

En una realización preferida, los monómeros metacrílicos de la etapa a) son una combinación de los monómeros hidroxietil metacrilato y etilenglicolfeniléter metacrilato. En una realización preferida, la mezcla de la etapa a) presenta etilenglicolfeniléter metacrilato en una concentración de entre 50 y 1000 mM, más preferiblemente de entre 100 y 800 mM, aún más preferiblemente de entre 200 y 400 mM, y en particular de 400 mM.

En una realización, la mezcla de la etapa a) presenta glicidil metacrilato en una concentración de entre 50 y 1000 mM, más preferiblemente de entre 100 y 800 mM, aún más preferiblemente de entre 200 y 600 mM, y en particular de 400 mM.

10 En una realización preferida, la mezcla de la etapa a) comprende hidroxietil metacrilato, etilenglicolfeniléter metacrilato, glicidil metacrilato y etilenglicol dimetacrilato. En una realización más preferida, la mezcla de la etapa a) comprende hidroxietil metacrilato en una proporción en peso de entre 60% y 99% respecto al peso del hidrogel, preferiblemente entre 70% y 99%, más preferiblemente entre 80% y 98%, etilenglicolfeniléter metacrilato en una proporción en peso de entre 0,1% y 10% respecto al peso del hidrogel, glicidil metacrilato en una proporción en peso de entre 0,1% y 10% respecto al peso del hidrogel y etilenglicol dimetacrilato en una proporción en peso de entre 0,1% y 10% respecto al peso del hidrogel.

20 En una realización preferida, la mezcla de la etapa a) consisten en monómeros metacrílicos o acrílicos monofuncionalizados, o sus combinaciones, monómeros metacrílicos o acrílicos bifuncionalizados, y monómeros metacrílicos o acrílicos que comprenden un grupo electrófilo.

Preferiblemente, la etapa a) se lleva a cabo en presencia de un iniciador de la polimerización, por ejemplo, el azobisisobutironitrilo (AIBN). La iniciación de la polimerización se puede realizar mediante la calefacción de la mezcla de monómeros o por exposición de esta a radiación ultravioleta-visible.

El proceso de polimerización se puede realizar en moldes de dimensiones adecuadas para dotar a los hidrogeles de la forma que se requiera. Por ello, en una realización, la reacción de polimerización se lleva a cabo en un molde que dota al hidrogel de una forma de lente de contacto. En una realización preferida, el molde es un molde de vidrio, polipropileno, polietileno o politetrafluoroetileno.

En la etapa b), los grupos amino de las bases nitrogenadas, que son grupos nucleófilos, reaccionan con los grupos electrófilos presentes en el entramado base del hidrogel, dando lugar a enlaces amino, mediante una reacción de sustitución nucleófila.

La base nitrogenada de la etapa b) está en disolución, preferiblemente en disolución acuosa o en una mezcla de disolución acuosa y disolvente orgánico.

En una realización adicional, el procedimiento anteriormente descrito comprende además una etapa c) en la que una molécula con afinidad por la base nitrogenada presente en el hidrogel se incorpora al mismo en un proceso sencillo en el que dicha molécula se pone en contacto con el hidrogel obtenido en la etapa b) anteriormente descrita. Esta etapa transcurre en un medio acuoso.

En el proceso de la presente invención, se obtiene un hidrogel en el cual la base nitrogenada no ha interferido en el proceso de polimerización y entrecruzamiento, y por tanto no se obtienen entramados base en los que la base nitrogenada es un eslabón estructural de las cadenas que constituyen el hidrogel.

En una realización, los hidrogeles resultantes de cualquiera de las anteriores realizaciones se lavan, y, opcionalmente, se secan.

La reacción de polimerización puede tener lugar en un molde con el diseño adecuado para obtener una lente de contacto. Si la reacción de polimerización no se ha llevado a cabo en un molde que dota al hidrogel de una forma de lente de contacto, se puede preparar la lente de contacto mediante cortado por torno del hidrogel.

En otro aspecto, la presente invención se dirige a hidrogeles obtenibles mediante un procedimiento según cualquiera de las realizaciones anteriormente descritas.

A través del hidrogel o lente de contacto de la presente invención se administran moléculas al ojo, y más concretamente a la superficie de la parte frontal del ojo (o segmento anterior del ojo), y aún más particularmente a la córnea. Además, ventajosamente, del hidrogel o lente de contacto de la presente invención permite que dicha administración sea controlada/sostenida y no inmediata.

En una realización, la invención se dirige a un hidrogel de la presente invención, y más concretamente a una lente de contacto de la presente invención, para su uso en medicina.

Más particularmente, el uso en medicina es un uso en oftalmología.

En una realización más concreta, la invención se dirige a un hidrogel de la presente invención, y más concretamente a una lente de contacto de la presente invención, para su uso en el tratamiento o la prevención de la sequedad del ojo.

5 En una realización alternativa, la invención se dirige al uso de un hidrogel de la presente invención, y más concretamente de una lente de contacto de la presente invención, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de la sequedad del ojo.

10 En una realización alternativa, la invención se dirige a un método de prevención o tratamiento de la sequedad del ojo, que comprende administrar a un paciente que sufre la sequedad del ojo un hidrogel de la presente invención, y más concretamente de una lente de contacto de la presente invención.

En una realización particular, la lente de contacto de la presente invención se emplea con los fines anteriormente descritos y además para corregir la visión del usuario/paciente.

15 La invención se describe a continuación por medio de los siguientes ejemplos que deben considerarse meramente ilustrativos y en ningún caso limitativos del alcance de la presente invención.

Ejemplos

En los ejemplos que siguen fueron empleados los siguientes materiales:

20 Ácido transferúlico (TA) de AlfaAesar (Kandel, Alemania). 2-Hidroxietil metacrilato (HEMA) de Merck (Darmstadt, Alemania); etilenglicol dimetacrilato 98% (EGDMA), glicidil metacrilato (GMA), etilenglicolfeniléter metacrilato (EGPEM), 2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo) (AIBN), diclorodimetilsilano, citosina, 2,2'-azobis(2-amidino-
25 propano) dihidrocloruro (AAPH) y Trolox se compraron a Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania); 1,4-dioxano de Panreac (Barcelona, España); NaOH de VWR Chemicals (Leuven, Bélgica); agua purificada por ósmosis inversa (resistividad $>18\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$, MilliQ, Millipore® España). Fluido lacrimal simulado (FLS) preparado con la siguiente composición: 6,78 g/L NaCl, 2,18 g/L NaHCO_3 y 1,38 g/L KCl y 0,084 g/L $\text{CaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ con pH 7,5.

30 **Ejemplo 1.** Síntesis de hidrogeles acrílicos

Los hidrogeles se prepararon a partir de las mezclas de monómeros que se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1

Hidrogel	HEMA (mL)	EGDMA (μL)	GMA (μL)	EGPEM (μL)
G0E0	8	12.1	0	0
G0E100	8	12.1	0	150
G100E0	8	12.1	110	0
G100E100	8	12.1	110	150
G0E200	8	12.1	0	300
G200E0	8	12.1	220	0
G200E200	8	12.1	220	300
G400E0	8	12.1	430	0
G400E200	8	12.1	430	300
G600E0	8	12.1	640	0
G600E200	8	12.1	640	300

Los hidrogeles se codificaron en función de la concentración de GMA, indicado como G en el código, la concentración de EGPEM, indicado como E en el código, y en el caso de que hayan sido funcionalizados con citosina (ver ejemplo 2) el código termina en C, mientras que si no está funcionalizado la terminación es cero.

Se añadieron EGDMA (8 mM), GMA (0, 100, 200, 400 o 600 mM) y EGPEM (0, 100 o 200 mM) a HEMA y las mezclas se mantuvieron en agitación magnética (300 r.p.m., a temperatura ambiente 20-23°C) durante 15 minutos. Entonces se añadió AIBN (10 mM) y se mantuvieron en agitación 15 minutos más. Finalmente, cada disolución se inyectó en un molde y se llevó a cabo la polimerización a 50°C durante 12 horas y después a 70°C durante 24 horas más.

Los hidrogeles intermedios así obtenidos se caracterizaron mediante espectrometría de IR (FTIR Varian 670-IR equipado con un PIKE GladiATR Diamond Crystal), se observaron las bandas características de los entramados poliHEMA y se evidenció la presencia de grupos glicidilo a bandas de entre 900 cm^{-1} y 690 cm^{-1} .

Ejemplo 2. Funcionalización con una base nitrogenada

Cada hidrogel obtenido en el ejemplo 1 se sumergió en 100 mL de una mezcla agua:dioxano (1:1), se añadió 1,11 g de citosina, y la mezcla en un recipiente cerrado se mantuvo en agitación oscilatoria (30 osc/min) a 80°C durante 24 horas. Este proceso se ilustra en la Figura 1.

- 5 En paralelo, otro hidrogel se sometió al mismo tratamiento, pero sin presencia de citosina. Después de la funcionalización, los hidrogeles se cortaron en discos (10 mm de diámetro) y se lavaron con agua miliQ (1L) en agitación magnética (200 r.p.m.) cambiando el medio cada 24 horas hasta ausencia de monómeros. Finalmente, los discos se secaron a 50°C durante 24 horas.
- 10 Los hidrogeles así obtenidos se caracterizaron mediante espectrometría de IR (FTIR Varian 670-IR equipado con un PIKE GladiATR Diamond Crystal), se observaron las bandas características de los entramados poliHEMA, y se evidenció la presencia de citosina al observar la banda del grupo amido a aprox. 1655 cm⁻¹.

Ejemplo 3. Propiedades de los hidrogeles

- 15 El grado de hinchamiento se testó en agua y FLS para cada hidrogel preparado en los ejemplos 1 y 2 (medidas realizadas a temperatura ambiente, 20-23°C) y se calculó del siguiente modo:

$$\text{Grado de hinchamiento (\%)} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \cdot 100$$

Donde W₀ y W_t representan el peso del disco seco e hinchado, respectivamente.

- 20 Se observó que tanto los hidrogeles preparados en el ejemplo 1 como los hidrogeles funcionalizados con citosina preparados en el ejemplo 2, tenían un grado de hinchamiento similar, y también similar cuando se compara los resultados en agua y en FLS. El grado de hinchamiento en todos los casos se encuentra en un rango de entre 40% y 65%.

Todos los discos alcanzaron el equilibrio de hinchamiento en una hora aproximadamente.

- 25 La transmisión de la luz se midió en los discos hinchados en agua y en FLS, en un espectrofotómetro UV-Vis entre 190 y 800 nm (Agilent 8453, Alemania). Todos los discos mostraron excelentes propiedades de transmisión de la luz, con unos valores de transmitancia en el visible en un rango superior a 90%. Se observó además que los hidrogeles que incorporan citosina absorben más en el rango UV.

Todas estas propiedades hacen que los hidrogeles de la invención sean adecuados para su uso como lentes de contacto blandas, incluso los que comprenden citosinas son además adecuados para proteger al ojo de las radiaciones UV.

Ejemplo 4. Carga de moléculas con afinidad por bases nitrogenadas

- 5 Los discos de hidrogel secos se pesaron y se colocaron en 5 mL de disoluciones acuosas de TA (0,01 mg/mL) preparados con EDTA al 0,05% como estabilizante. Se mantuvieron a 25 °C bajo agitación orbital (300 rpm) durante 48 horas. La absorbancia del medio se monitorizó a 320 nm a intervalos determinados de tiempo (espectrofotómetro UV / Vis Agilent 8543, Alemania). La cantidad de TA cargado se estimó por diferencia entre la
- 10 cantidad inicial y final de TA en la solución usando una curva de calibración validada previamente. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 2 y Figura 2.

Tabla 2

Hidrogel	Cantidad incorporada (µg/mg)
G0E0-0	0.173 (0.023)
G0E0-C	0.163 (0.009)
G0E100-C	0.226 (0.019)
G100E0-C	0.179 (0.015)
G100E100-C	0.232 (0.027)
G0E200-C	0.194 (0.003)
G200E0-C	0.272 (0.006)
G200E200-C	0.256 (0.005)
G400E0-0	0.174 (0.017)
G400E0-C	0.284 (0.007)
G400E200-0	0.199 (0.002)
G400E200-C	0.413 (0.019)
G600E0-0	0.187 (0.010)
G600E0-C	0.355 (0.009)
G600E200-0	0.193 (0.004)
G600E200-C	0.315 (0.023)

Se observó que los hidrogeles preparados en el ejemplo 1 completaron la carga en las primeras 8 horas, mientras que los hidrogeles funcionalizados con citosina obtenidos en el ejemplo 2 completaron la carga tras 24 horas. Los discos que mostraron la mayor carga fueron los procedentes de hidrogeles preparados con una concentración de GMA de 400 mM y con EGPEM en una concentración de 200 mM y funcionalizados con citosina.

Ejemplo 5. Cesión de moléculas con afinidad por bases nitrogenadas

Los discos procedentes del ejemplo 4 se enjuagaron con agua, se retiró el exceso de agua de la superficie con papel de filtro, y cada disco se dispuso en un vial con 5 mL de FLS y los viales se mantuvieron bajo agitación oscilante (300 rpm) a 35 °C. A tiempos preestablecidos (0,5; 1; 2; 4; 6; 8; y 24 h) se tomaron 2,5 mL del medio de cesión, se midió la absorbancia a 320 nm (UV/VIS Agilent 8453, Alemania) y la muestra se reintegró al vial de procedencia. Para calcular la cantidad de TA cedida por cada hidrogel, a partir de las absorbancias se calculó la concentración en el medio de cesión utilizando la correspondiente recta de calibrado de TA en FLS, y a continuación se multiplicó la concentración por el volumen, y los valores se refirieron al peso inicial de cada disco de hidrogel.

Los resultados se muestran en la Figura 3. Se puede observar que los hidrogeles funcionalizados con citosina proporcionaron una cesión más sostenida en el tiempo y un *burst* menos intenso en la primera hora que en el caso de la cesión con hidrogeles que no incorporan citosina. Además, los hidrogeles funcionalizados con citosina ceden mayor cantidad de TA que los que no están funcionalizados, lo que es una ventaja desde un punto de vista terapéutico. Los mejores resultados se obtuvieron con hidrogeles funcionalizados con citosina que se prepararon con una concentración de GMA y EGPEM de 400 mM y 200 mM, respectivamente, y los que se prepararon con una concentración de GMA y EGPEM de 600 mM y 200 mM, respectivamente.

Ejemplo 6. Estudio de actividad antioxidante

Para verificar que la actividad antioxidante de TA se mantenía después de incorporarse a los hidrogeles y de cederse, se realizó un análisis de la actividad antioxidante. Se seleccionó una fuente de radicales biológicamente relevante, 2,2'-azobis (2-amidino-propano) dihidrocloruro (AAPH), para llevar a cabo el test estándar ORAC (C. Lucas-

Abellan, M.T. Mercader-Ros, M.P. Zafrilla, J.A. Gabaldon and E. Nunez-Delicado, *Food Chem. Toxicol.*, 2011, **49**, 1255-1260). Este método cuantifica la capacidad de una sustancia para proteger fluoresceína de la degradación mediante radicales libres. Así, a mayor capacidad antioxidante, menor descenso de la fluorescencia de la fluoresceína.

- 5 Se analizó el medio de liberación de FLS en el que se empaparon hidrogeles no cargados y cargados de TA. Los hidrogeles funcionalizados con citosina no cargados se probaron para verificar que no había sustancias de lixiviación que pudieran causar un artefacto (actividad antioxidante falsa) durante la prueba. Los resultados se expresaron como capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) para fines comparativos. Como se
- 10 esperaba, los hidrogeles no cargados dieron como resultado valores cercanos a cero (o incluso negativos), lo que indica que no liberaron ninguna sustancia antioxidante. Por el contrario, el G400E200-C cargado con TA condujo a la mayor actividad antioxidante, equivalente a $53.28 \pm 2.44 \mu\text{M}$ Trolox, en comparación con su homólogo libre de citosina G400E200-0 cargado con TA que tenía una actividad de $37.48 \pm 1.53 \mu\text{M}$ Trolox. Este
- 15 hallazgo corrobora la utilidad de la citosina para dotar a los hidrogeles de una capacidad mejorada para albergar TA y, lo que es aún más notable, que la interacción TA-citosina no tiene ningún efecto perjudicial sobre la actividad antioxidante de TA. De hecho, la actividad antioxidante expresada como $\mu\text{molTrolox} / \mu\text{molTA}$ dio valores en el rango de 4.8-5.0, lo cual demuestra la utilidad de los hidrogeles como vehículos de cesión de
- 20 sustancias, en este caso de TA.

Ejemplo 7. Estudio de compatibilidad celular

- La compatibilidad celular se evaluó en un modelo subrogado que utiliza membrana corioalantoidea de huevo de gallina fecundado (HET-CAM) (F. Alvarez-Rivera, D. Fernández-Villanueva, A. Concheiro and C. Alvarez-Lorenzo, *J. Pharm. Sci.*, 2016, **105**,
- 25 2855-2863). Discos de cada hidrogel cargados con TA como se obtuvieron en el ejemplo 4 se colocaron sobre la membrana corioalantoidea. Durante 5 min se observaron los posibles cambios en la vasculatura de la membrana, registrando tiempo de lisis, hemorragia y coagulación. Como control negativo se utilizó la disolución de 0,9% NaCl y como control positivo una disolución 0,1 N NaOH. Todos los discos superaron el
- 30 ensayo de compatibilidad, no originando lisis, hemorragia ni coagulación.

Además, se evaluó la citocompatibilidad in vitro de los hidrogeles G0E0-0, G400E200-0 y G400E200-C en células de epitelio corneal humano (HCEC; ATCC PCS-700-010). La línea celular se cultivó en medio Keratinocyte-Serum Free (Gibco, Gran Bretaña), suplementado con hidrocortisona (500 ng/mL), insulina (5 microg/mL),
 5 penicilina/estreptomicina 1% y antifúngico 1%, previo al tratamiento con Fibronectin-BSA-Bovin collgen I. Se sembraron HCEC (20.000 células/pocillo) en una placa de 48 pocillos en medio Keratinocyte-Serum Free y se cultivaron durante 24 h a 37°C (95% RH y 5% CO₂). Los discos se cargaron durante 24 horas en una solución de TA 10 µg/mL, se cortaron en cuatro piezas y luego se esterilizaron en autoclave (calor de vapor) en la
 10 misma solución, a 121°C durante 15 minutos. Luego, se colocó una pieza de disco en cada pocillo durante 24 h. También se añadió solución acuosa de TA (10 µg/mL) por triplicado (esterilización previa) y los controles negativos incluyeron células sin tratamiento. Después de 24 h en cultivo celular, se retiraron los discos y la solución del fármaco de los pocillos, y el ensayo de viabilidad celular se realizó siguiendo las instrucciones del
 15 fabricante utilizando WST-1 (Roche, Suiza). La absorbancia se leyó a 450 nm (lector de microplacas UV Bio-Rad Modelo 680, EE. UU.). La viabilidad celular (%) se calculó de la siguiente manera:

$$\mathbf{Viabilidad\ celular\ (\%)} = \frac{Abs_{exp}}{Abs_{control\ negativo}} \times \mathbf{100}$$

Este estudio demostró que los hidrogeles a la concentración usada de carga (10 µg/mL, 20 aprox. 51,5 µM) son compatibles, mostrando unos niveles de viabilidad celular superiores a 80% después de 24 horas de contacto directo.

Ejemplo 8. Estudio de permeabilidad corneal

Se recogieron en el matadero ojos de ganado bovino frescos y se transportaron sumergidos en PBS (tampón fosfato salino) con antibióticos añadidos (penicilina a 100
 25 IU/mL y estreptomicina a 100 µg/ml) en un baño con hielo. Se aislaron la córnea con 2-3 mm de esclera circundante y la esclera y se limpiaron con PBS antes de montarlos en una célula de difusión vertical tipo Franz, separando la cámara dadora de la receptora. Las cámaras se llenaron con tampón bicarbonato pH 7,2. Las células de difusión se
 30 dispusieron en un baño termostatzado a 37 °C y se mantuvieron en agitación 30 min.

Entonces, se retiró el tampón de la cámara donadora y se reemplazó por las muestras a testar: 2 mL de solución acuosa de TA (10 microL/mL), o discos G400E200-0 y G400E200-C en 2 mL de 0,9% NaCl. El área disponible para permeación era de 0,785 cm². Las cámaras se cubrieron con parafilm. A intervalos de 1 h se tomaron muestras de
5 1 mL de las cámaras receptoras y se reemplazó el mismo volumen con tampón, teniendo cuidado de eliminar las burbujas de las células de difusión.

Las muestras tomadas de las cámaras receptoras se filtraron a través de membranas de nailon (0,45 µm) y se midieron con un equipo HPLC (Waters 717 Autosampler, Waters 600 Controller, 996 Photodiode Array Detector) acondicionado con una columna C18
10 (Waters Symmetry C18 5µm; 4,6x250 mm) y Empower 2 como software. La fase móvil consistió en metanol:acetonitrilo:tampón fosfato (20:15:65) a 1 mL/min y 35°C (tampón KH₂PO₄ 0,68 g/L ajustado a pH 3-3,1 con ácido fosfórico). El volumen inyectado fue 50 µL, y el TA fue cuantificado a 320 nm (tiempo de retención 5 min). La recta de calibrado de ALA en fase acuosa se preparó en el intervalo de concentraciones comprendido entre
15 0,009 y 10,0 mg/mL en tampón carbonato. El contenido en TA de las muestras se calculó a partir de la curva de calibración.

Después de 6 h de ensayo, se tomó una muestra de la cámara donadora para un análisis posterior. Además, las córneas y esclera se examinaron visualmente para asegurar que no habían sufrido daño durante el ensayo.

20 Las córneas y la esclera se mantuvieron toda la noche en 3 mL de una solución etanol:agua (50:50 v/v), se sonicaron durante 99 min a 37°C, se centrifugaron (1000 r.p.m. 5 min, 25°C), se filtró y se centrifugaron de nuevo (14000 r.p.m., 20 min, 25°C). El coeficiente de permeabilidad de TA a través de la córnea y la esclera se calculó como la relación del flujo de estado estacionario y la concentración de TA en la cámara donadora.

25 Tanto en córnea como en esclera, los hidrogeles G400E200-C cargados con ácido trans-ferúlico dieron lugar a coeficientes de permeabilidad similar los obtenidos como la disolución de fármaco libre, lo que indica que la cesión a partir del hidrogel funcionalizado con citosina no es un obstáculo para su penetración en córnea y en esclera, a diferencia de lo que ocurre para los hidrogeles no funcionalizados (Figura 4). También
30 se obtuvieron valores similares de cantidad de ácido trans-ferúlico acumulada en córnea y esclera (Figura 5).

REIVINDICACIONES

1. Hidrogel en forma de red tridimensional caracterizado por que comprende cadenas metacrílicas, donde las cadenas metacrílicas están formadas por: i) unidades metacrílicas monofuncionalizadas procedentes de los monómeros monofuncionalizados hidroxietil metacrilato y etilenglicolfeniléter metacrilato; ii) unidades metacrílicas bifuncionalizadas procedentes del monómero bifuncionalizado etilenglicol dimetacrilato; y iii) unidades metacrílicas con un grupo alquílico procedente del monómero con un grupo electrófilo glicidil metacrilato, donde el grupo alquílico está unido covalentemente a una citosina mediante un enlace amino.
- 5 2. Hidrogel según la reivindicación 1, caracterizado por que la proporción en peso de las unidades metacrílicas está preferiblemente entre el 0,1% y el 10% en peso con respecto al peso del hidrogel.
3. Hidrogel según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la proporción en peso de las unidades metacrílicas que comprenden un grupo alquílico está entre el 0,1% y el 10% con respecto al peso del hidrogel.
- 15 4. Hidrogel según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el hidrogel comprende además una molécula con afinidad por la base nitrogenada presente en el hidrogel.
5. Hidrogel según la reivindicación 4, donde la molécula con afinidad por la base nitrogenada presente en el hidrogel es una molécula antioxidante.
- 20 6. Hidrogel según la reivindicación 4, donde la molécula con afinidad por la base nitrogenada presente en el hidrogel es un principio activo farmacéutico.
7. Método para preparar un hidrogel según se ha descrito en la reivindicación 1, que comprende las etapas de:
 - 25 a. polimerizar una mezcla que comprende i) los monómeros metacrílicos monofuncionalizados hidroxietil metacrilato y etilenglicolfeniléter metacrilato, ii) el monómero metacrílico bifuncionalizado etilenglicol dimetacrilato, y iii) un monómero metacrílico con un grupo electrófilo glicidil metacrilato, para formar un entramado base de red tridimensional; y
 - 30 b. hacer reaccionar una base nitrogenada citosina con el entramado base.

8. Método según la reivindicación 7, que comprende además la etapa c) poner en contacto una molécula con afinidad por la base nitrogenada con el hidrogel obtenido en la etapa b), en presencia de un medio acuoso.
9. Método según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en donde la mezcla de la etapa a) comprende además un iniciador de la polimerización.
10. Método según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en donde la reacción de la etapa b) tiene lugar en presencia de un disolvente orgánico.
11. Lente de contacto que comprende un hidrogel tal y como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
- 10 12. Método para preparar una lente de contacto tal y como se ha definido en la reivindicación 11, que comprende formar la lente de contacto a partir del hidrogel tal y como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 mediante cortado por torno del hidrogel o mediante moldeo del hidrogel, o mediante una combinación de estas técnicas.
- 15 13. Hidrogel tal y como se define en la reivindicación 6, o lente de contacto tal y como se define en la reivindicación 11, para su uso en medicina, preferiblemente en oftalmología.
14. Hidrogel o lente de contacto para su uso según la reivindicación 13, para su uso en el tratamiento o la prevención de la sequedad de ojo.
- 20 15. Hidrogel o lente de contacto para su uso según la reivindicación 13, para su uso en el tratamiento o la prevención de cataratas.
16. Hidrogel o lente de contacto para su uso según la reivindicación 13, para su uso en el tratamiento o la prevención de úlceras corneales.
17. Uso de un hidrogel tal y como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la elaboración de sistemas de liberación tópica, transdérmica o transmucosal.
- 25 18. Uso de un hidrogel tal y como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en cosmética.

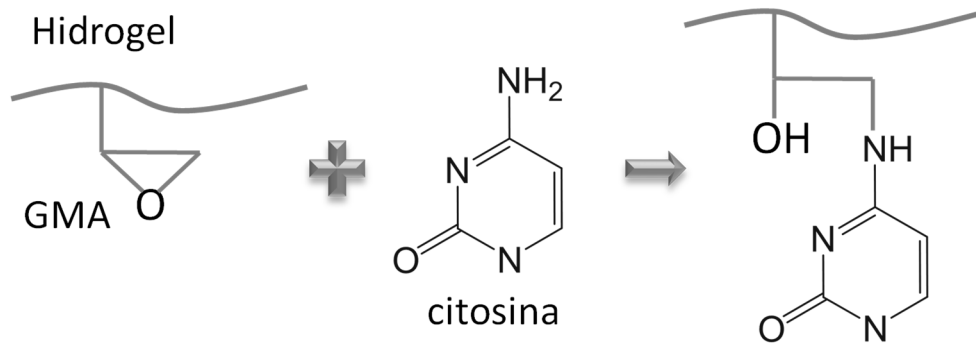


Fig. 1

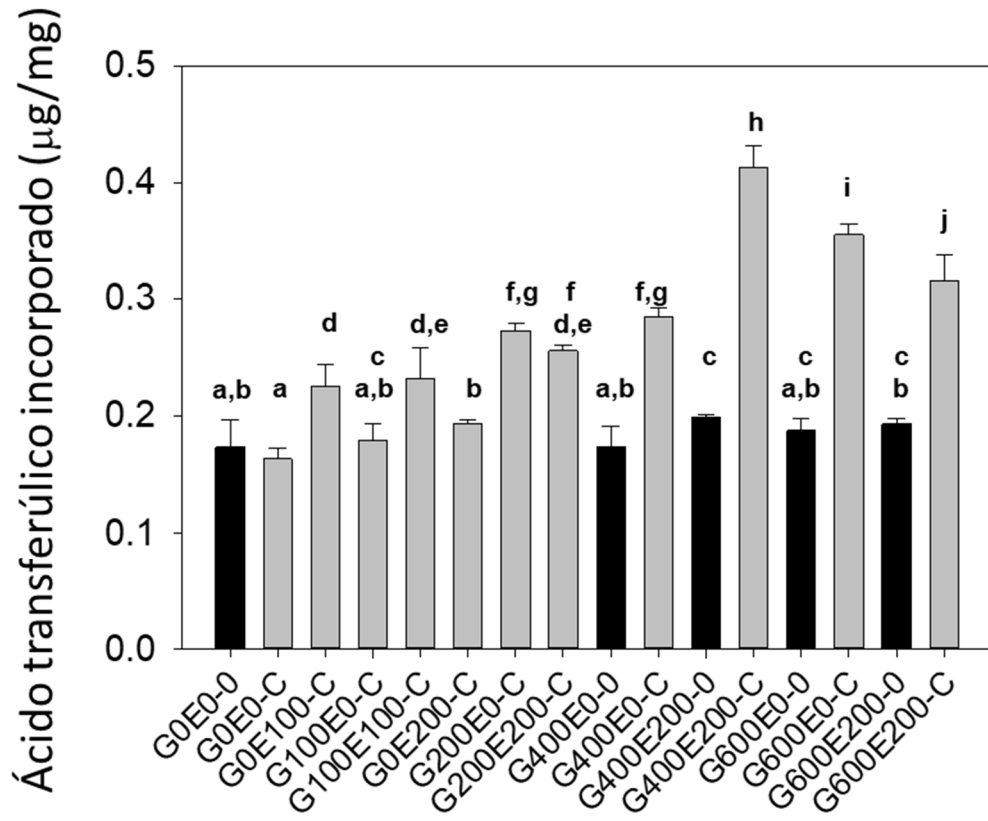


Fig. 2

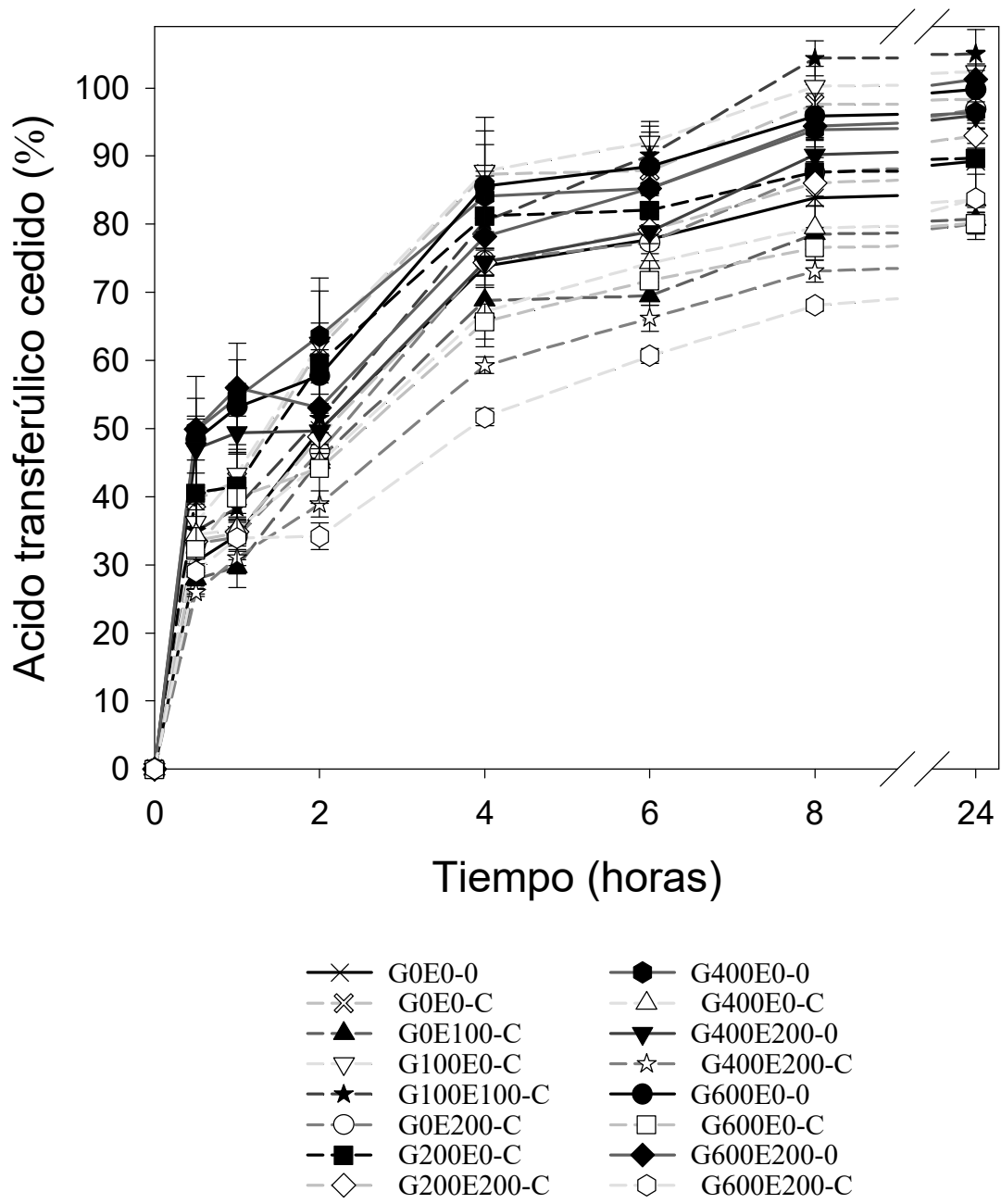


Fig. 3

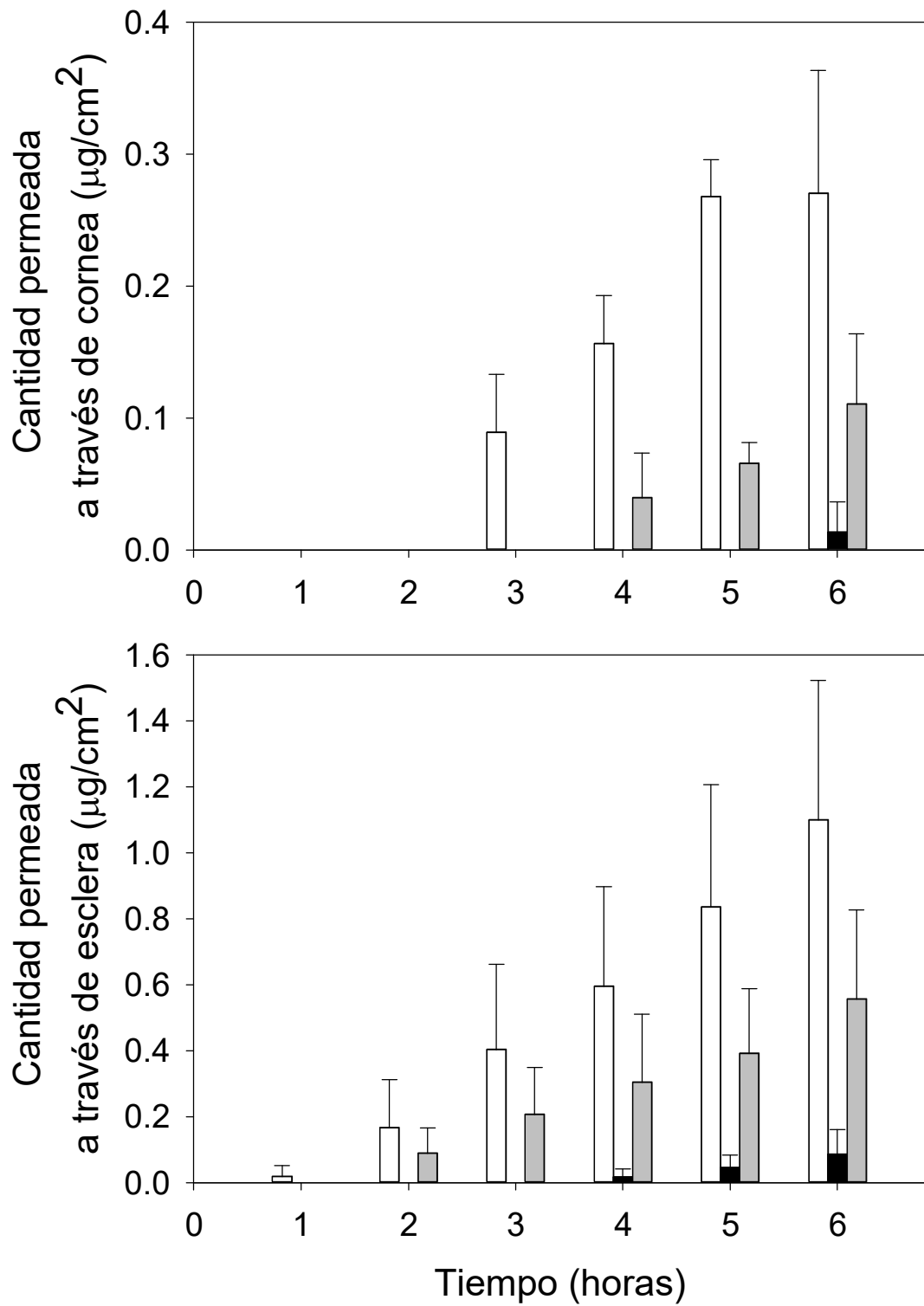


Fig. 4

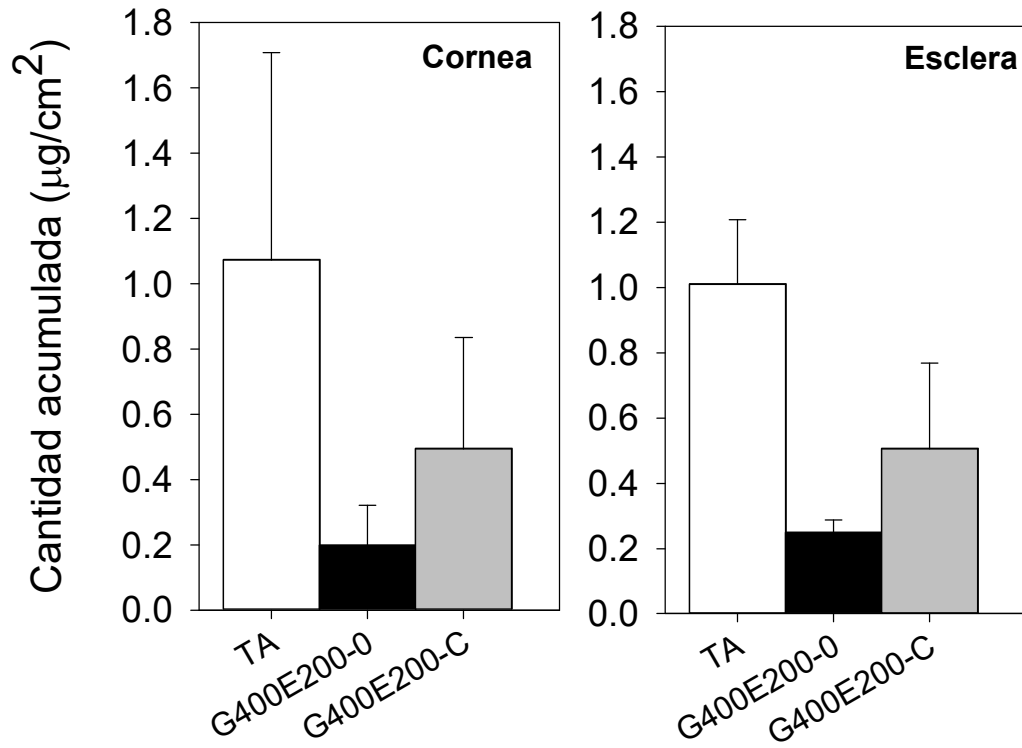


Fig. 5