

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 821 796**

51 Int. Cl.:

A61K 47/69 (2007.01)

A61K 47/59 (2007.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.05.2018 E 18382351 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2020 EP 3406265**

54 Título: **Complejos de agentes terapéuticos de base vírica y poli(beta-amino-ésteres) modificados**

30 Prioridad:

22.05.2017 GB 201708203

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

27.04.2021

73 Titular/es:

SAGETIS BIOTECH, SL (33.3%)

Via Augusta 394

08017 Barcelona, ES;

INSTITUT QUÍMIC DE SARRIÀ CETS FUNDACIÓ

PRIVADA (33.3%) y

INSTITUT D'INVESTIGACIONS BIOMÈDIQUES

AUGUST PI I SUNYER (33.3%)

72 Inventor/es:

CASCANTE CIRERA, ANNA;

BRUGRADA VILA, PAU;

BORRÓS GÓMEZ, SALVADOR y

FILLAT FONTS, CRISTINA

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 821 796 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

Complejos de agentes terapéuticos de base vírica y poli(beta-amino-ésteres) modificados

5 La invención se refiere al uso de poli(beta-amino-ésteres) modificados (PBAE) como vectores para la administración de agentes terapéuticos de base vírica en terapia. La invención también se refiere a complejos de poli(beta-amino-ésteres) modificados y agentes terapéuticos de base vírica, y a métodos de tratamiento específicos que usan estos aductos.

10 **Antecedentes de la invención**

La ausencia de vectores eficaces y seguros para la administración de agentes terapéuticos de base vírica *in vivo* sigue siendo un obstáculo para el éxito de la terapia génica sistémica. Las principales barreras son la elevada sero-prevalencia de los anticuerpos frente a los vectores víricos, y el tropismo hepático natural y la eliminación de vectores víricos con mediación hepática, que reduce significativamente la dosis circulante disponible de estos agentes tras la administración, por ejemplo la administración intravenosa. Sería deseable derivar el sistema inmunitario de forma que se favorezca una población sero-prevalente en pacientes. También sería deseable someter a estudio de ingeniería el tropismo vírico con el fin de mejorar la utilidad terapéutica (por ejemplo, el establecimiento de dianas tumorales), para mejorar la eficacia terapéutica y reducir o eliminar efectos secundarios no deseados.

20 El documento WO-2014/136100-A describe poli(beta-amino ésteres) modificados (PBAE) como vectores de administración de polinucleótidos pero no hace mención alguna de la administración de agentes terapéuticos de base vírica.

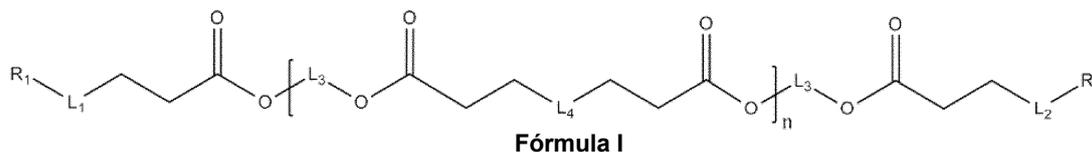
25 Rojas *et al.*, Journal of Controlled Release 237 (2016) 78-88 describen el uso de la unión de albúmina como mecanismo protector para el serotipo 5 de adenovirus humano frente a anticuerpos de neutralización (NAbs).

Descripción de la invención

30 La presente invención aborda los problemas anteriormente mencionados y proporciona el uso de PBAE con modificación terminal en la administración de agentes terapéuticos de base vírica *in vivo*. La invención también proporciona complejos de polímeros con modificación terminal con agentes terapéuticos de base vírica, métodos de preparación de los complejos, dispositivos de administración de fármacos (por ejemplo, micropartículas, nanopartículas) que incluyen estos polímeros y métodos de uso de los complejos.

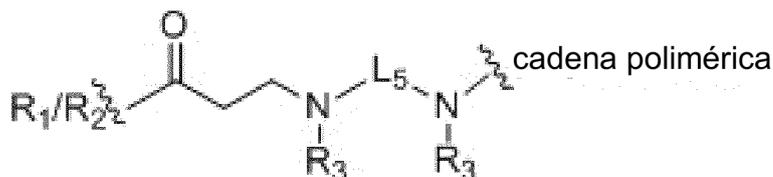
35 Los polímeros PBAE con modificación terminal tienen grupos biodegradables. La naturaleza del poliéster de estos sistemas proporciona un perfil biocompatible atractivo debido a su elevada naturaleza biodegradable y reducida toxicidad. Estos polímeros tienen aplicaciones como vectores de administración vírica en el tratamiento de muchas enfermedades tales como cáncer, enfermedades monogénicas, enfermedad vascular y enfermedades infecciosas. Otra aplicación de estos vectores de administración vírica puede ser la investigación *in vitro* como herramienta para investigar la función génica o regulación en un contexto fisiológico o celular.

45 En un primer aspecto, la invención proporciona un complejo de un agente terapéutico de base vírica con un polímero de Fórmula I:



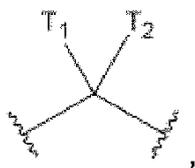
donde

50 L₁ y L₂ están seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en:

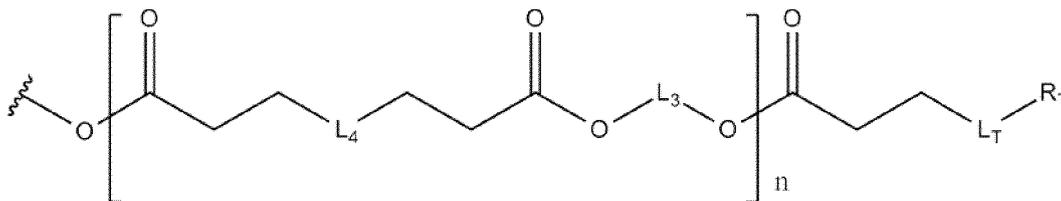


55 O, S, NR_x y un enlace; donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenoilo, cicloalquenoilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo; L₃

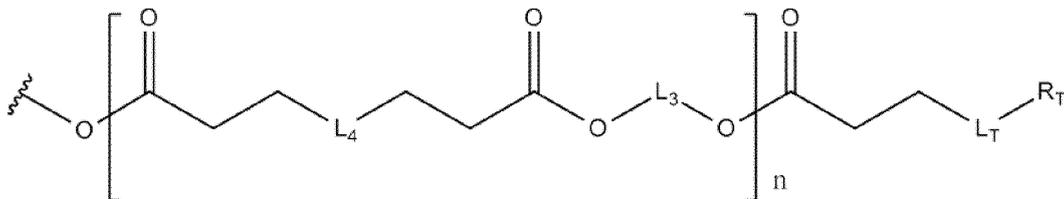
está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alquileo, alquenileno, heteroalquileo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno; o al menos una aparición de L₃ es



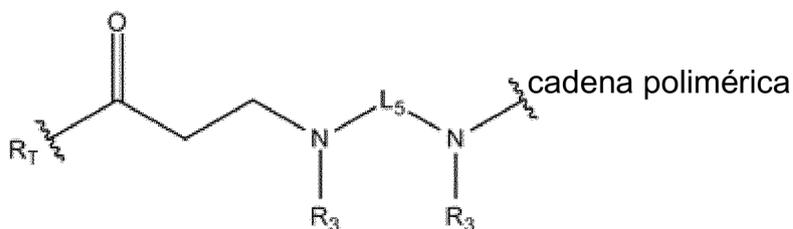
5 donde T₁ es



10 y T₂ está seleccionado entre H, alquilo o



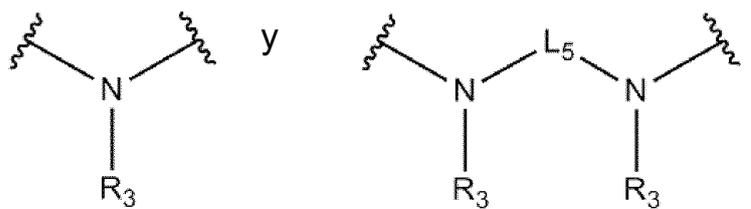
15 donde L_T está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en:



O, S, NR_x y un enlace,

20 donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo, y los restantes grupos L₃ están independientemente seleccionados en cada aparición entre el grupo que consiste en alquileo, alquenileno, heteroalquileo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno;

L₄ está independientemente seleccionado entre el grupo que consiste en



25 L₅ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alquileo, alquenileno, heteroalquileo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno;

30 R₁ y R₂ y R_T (si están presentes) están seleccionados independientemente entre un oligopéptido y R_y; donde al menos uno de R₁ y R₂ y R_T (si están presentes) es un oligopéptido;

y donde R_y está seleccionado entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alqueno, cicloalqueno, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo; cada R_3 está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alqueno, cicloalqueno, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo, heteroarilo y polialquilen glicoles, donde dicho polialquilen glicol bien está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual R_3 se encuentra unido o bien está ligado al átomo de nitrógeno al cual R_3 se encuentra unido por medio de resto de enlace, donde dicho resto de enlace es un alqueno, cicloalqueno, alqueno, cicloalqueno, heteroalqueno, heterocicloalqueno, arileno o grupo heteroarileno; y n es un número entero de 5 a 1.000;

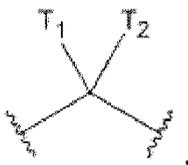
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Según el primer aspecto anterior, en algunas realizaciones al menos un grupo R_3 es un polialquilen glicol, preferentemente un polietilen glicol. En algunas realizaciones el polialquilen glicol (por ejemplo, polietilen glicol) está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual está ligado R_3 . En algunas realizaciones el polialquilen glicol (por ejemplo, polietilen glicol) está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual está ligado R_3 por medio de un resto de enlace. En realizaciones preferidas el resto de enlace es un alqueno, alqueno o grupo heteroalqueno, más preferentemente el resto de enlace es un grupo alqueno. En algunas realizaciones, el resto de enlace tiene de 3 a 20 átomos de carbono y/o heteroátomos de longitud, preferentemente de 4 a 15 átomos y/o heteroátomos de longitud, más preferentemente de 5 a 10 átomos y/o heteroátomos de longitud.

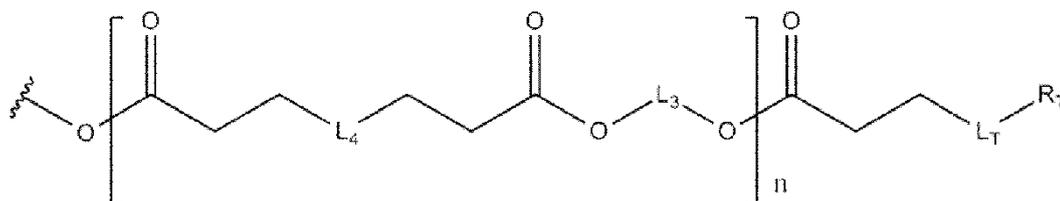
En algunas realizaciones preferidas del primer aspecto de la invención, al menos un grupo R_3 es un polialquilen glicol y el polialquilen glicol (por ejemplo, polietilen glicol) unido directamente al átomo de nitrógeno de un grupo L_4 . En algunas realizaciones al menos un grupo R_3 es un polialquilen glicol y el polialquilen glicol (por ejemplo, polietilen glicol) unido directamente al átomo de nitrógeno de un grupo L_4 por medio de un resto de enlace. En realizaciones preferidas el resto de enlace es un alqueno, alqueno o grupo heteroalqueno, más preferentemente el resto de enlace es un grupo alqueno. En algunas realizaciones, el resto de enlace tiene de 3 a 20 átomos de carbono y/o heteroátomos de longitud, preferentemente de 4 a 15 átomos y/o heteroátomos de longitud, más preferentemente de 5 a 10 átomos y/o heteroátomos de longitud.

En algunas realizaciones del primer aspecto, L_3 está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alqueno, alqueno, heteroalqueno, heteroalqueno, arileno o heteroarileno.

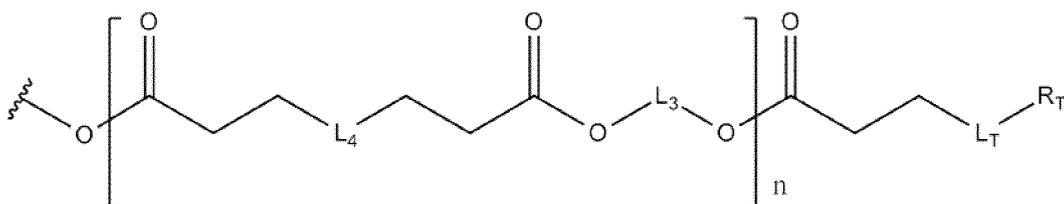
En algunas realizaciones del primer aspecto, al menos una aparición de L_3 es



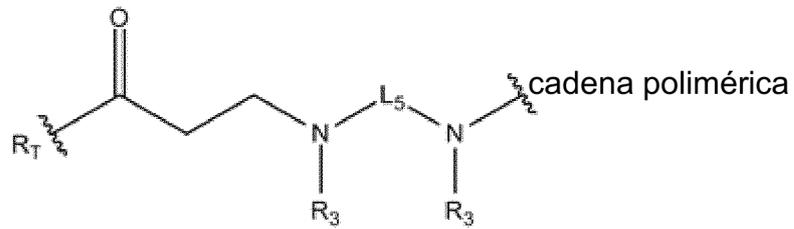
donde T_1 es



y T_2 está seleccionado entre H, alquilo o

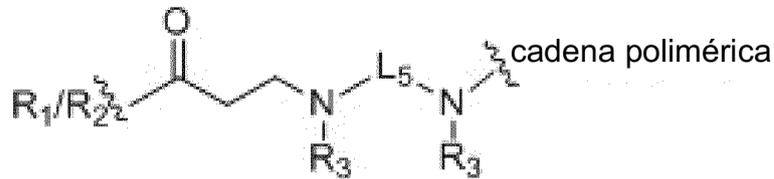


donde L_T está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en:

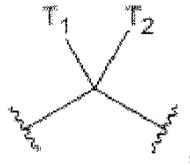


O, S, NR_x y un enlace; donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo, y los restantes grupos L₃ están independientemente seleccionados en cada aparición entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno.

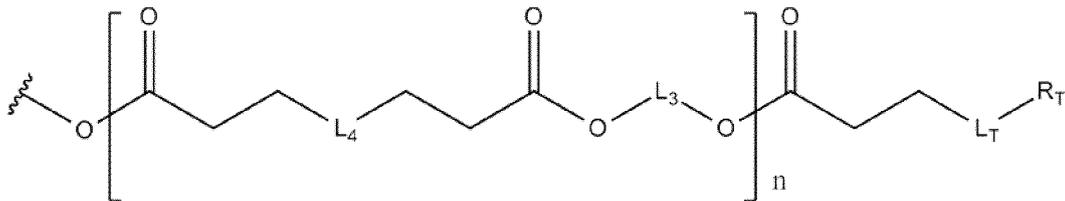
En un segundo aspecto, la invención proporciona un compuesto de **Fórmula I**, donde L₁ y L₂ están seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en:



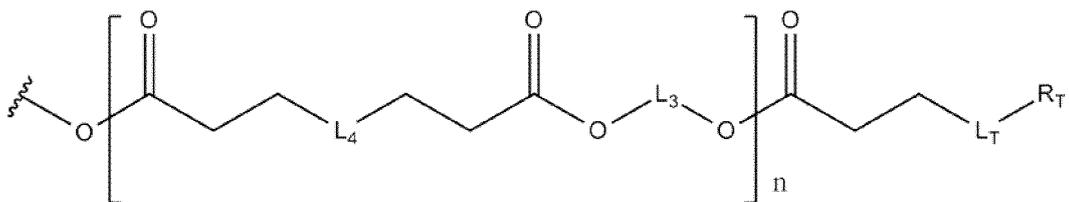
O, S, NR_x y un enlace; donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo; L₃ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno; o al menos una aparición de L₃ es



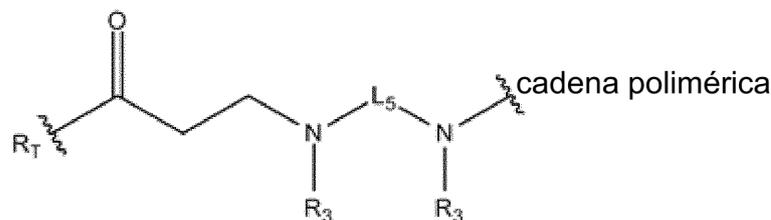
donde T₁ es



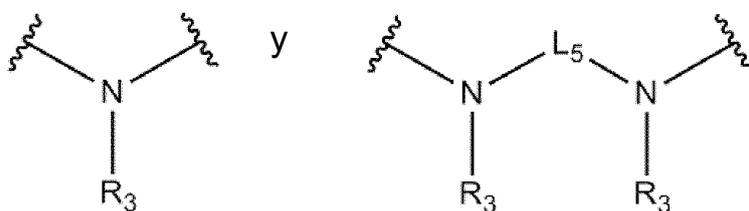
y T₂ está seleccionado entre H, alquilo o



donde L_T está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en:



- O, S, NR_x y un enlace, donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo, y los restantes grupos L₃ están independientemente seleccionados en cada aparición entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno; L₄ está independientemente seleccionado entre el grupo que consiste en



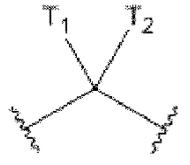
- L₅ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno; R₁ y R₂ y R_T (si están presentes) están seleccionados independientemente entre un oligopéptido y R_y; donde al menos uno de R₁ y R₂ y R_T (si están presentes) es un oligopéptido; y donde R_y está seleccionado entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo; cada R₃ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo, heteroarilo, y polialquilen glicoles donde dicho polialquilen glicol bien está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual R₃ se encuentra unido o bien está ligado al átomo de nitrógeno al cual R₃ se encuentra unido por medio de resto de enlace, donde dicho resto de enlace es un alquilenilo, cicloalquilenilo, alquenileno, cicloalquenileno, heteroalquilenilo, heterocicloalquilenilo, arileno o grupo heteroarileno; donde al menos un grupo R₃ es un polialquilen glicol; y n es un número entero de 5 a 1.000;
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- Según el segundo aspecto anterior donde al menos un grupo R₃ es un polialquilen glicol, el polialquilen glicol es preferentemente un polietilen glicol. En algunas realizaciones el segundo aspecto del polialquilen glicol (por ejemplo, polietilen glicol) está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual está ligado R₃. En algunas realizaciones el polialquilen glicol (por ejemplo, polietilen glicol) está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual está ligado R₃ por medio de un resto de enlace. En realizaciones preferidas el resto de enlace es un alquilenilo, alquenileno o grupo heteroalquilenilo, más preferentemente el resto de enlace es un grupo alquilenilo. En algunas realizaciones, el resto de enlace tiene de 3 a 20 átomos de carbono y/o heteroátomos de longitud, preferentemente de 4 a 15 átomos y/o heteroátomos de longitud, más preferentemente de 5 a 10 átomos y/o heteroátomos de longitud.

- En algunas realizaciones preferidas del segundo aspecto de la invención, al menos un grupo R₃ que es un polialquilen glicol (por ejemplo, polietilen glicol) está unido directamente al átomo de nitrógeno de un grupo L₄. En algunas realizaciones el al menos un grupo R₃ que es polialquilen glicol (por ejemplo, polietilen glicol) unido al átomo de nitrógeno de un grupo L₄ por medio de un resto de enlace. En realizaciones preferidas el resto de enlace es un alquilenilo, alquenileno o grupo heteroalquilenilo, más preferentemente el resto de enlace es un grupo alquilenilo. En algunas realizaciones, el resto de enlace tiene de 3 a 20 átomos de carbono y/o heteroátomos de longitud, preferentemente de 4 a 15 átomos y/o heteroátomos de longitud, más preferentemente de 5 a 10 átomos y/o heteroátomos de longitud.

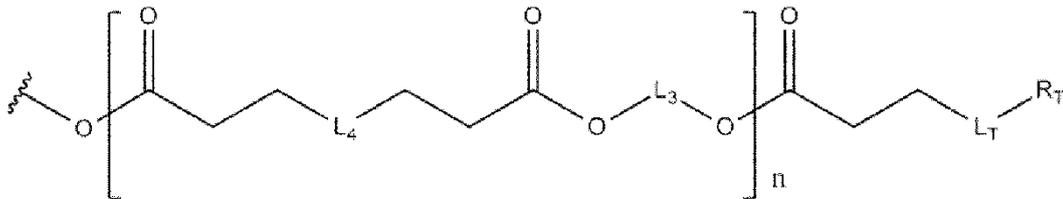
- En algunas realizaciones del segundo aspecto, L₃ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno.

En algunas realizaciones del segundo aspecto, al menos una aparición de L₃ es



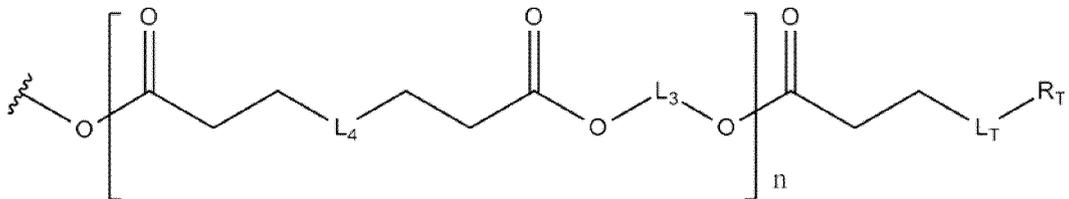
donde T₁ es

5

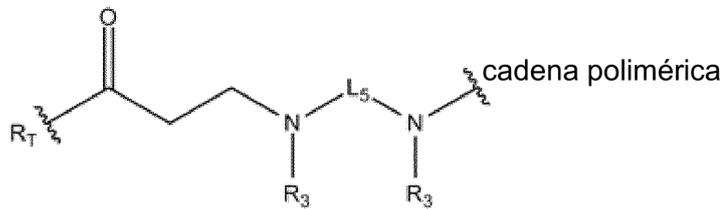


y T₂ está seleccionado entre H, alquilo o

10



donde L_T está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en:



15

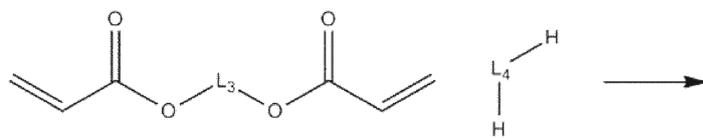
O, S, NR_x y un enlace; donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo, y los restantes grupos L₃ están independientemente seleccionados en cada aparición entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno.

20

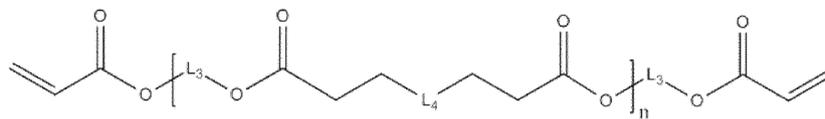
De este modo, los complejos de la presente invención comprenden PBAE con modificación terminal con al menos un oligopéptido. En algunas realizaciones de la invención, los complejos de la presente invención comprenden PBAE sustituido con al menos un grupo polialquilen glicol (preferentemente un grupo polietilen glicol) bien directamente o bien a través de un enlazador, y con modificación terminal con al menos un oligopéptido.

25

Los polímeros de **Fórmula I** se pueden preparar por medio de reacción de monómeros de diacrilato de **Fórmula II** con aminas sustituidas de fórmula L₄H₂ para formar un intermedio con terminación de acrilato, **Fórmula III**.

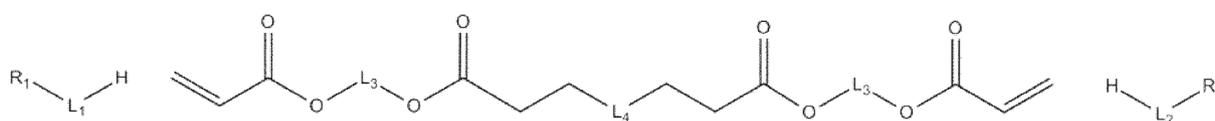


Fórmula II

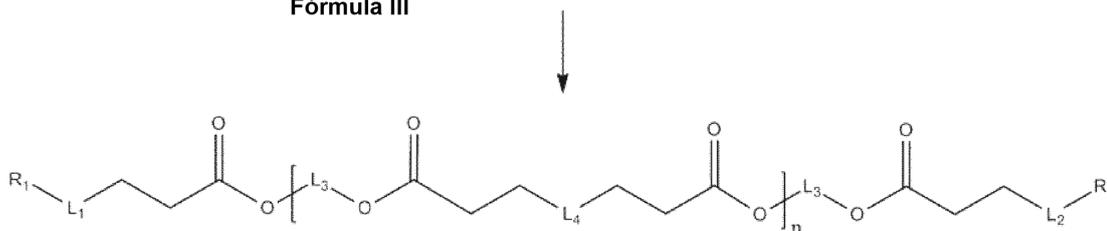


Fórmula III

5 Los grupos R_1L_1 y R_2L_2 se puede añadir posteriormente por medio de reacción con un grupo acrilato terminal para formar un polímero de **Fórmula I**.



Fórmula III



Fórmula I

10 Los polímeros de **Fórmula I** donde al menos un grupo R_3 es un resto de polialquilen glicol se pueden preparar de forma análoga por medio de reacción de monómeros de diacrilato de **Fórmula II** con aminas sustituidas de fórmula L_4H_2 donde las aminas están sustituidas con un resto de polialquilen glicol opcionalmente unido al nitrógeno de la amina a través de un resto de enlace como se ha definido con anterioridad.

15 Cada L_1 y L_2 está seleccionado para facilitar el acoplamiento de los grupos R_1 y R_2 con modificación terminal al polímero de PBAE. Cada L_1 y L_2 pueden ser un enlace, por ejemplo donde el grupo con modificación terminal sea un oligopéptido que comprende un residuo de cisteína terminal.

20 L_T está seleccionado para facilitar el acoplamiento del grupo R_T con modificación terminal al polímero de PBAE. L_T puede ser un enlace, por ejemplo donde el grupo con modificación terminal sea un oligopéptido que comprende un residuo de cisteína terminal.

25 R_x puede estar seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, alqueno, cicloalqueno, heteroalquilo y heterocicloalquilo, por ejemplo, entre el grupo que consiste en hidrógeno, alilo y cicloalquilo.

30 En los compuestos divulgados en la presente memoria donde se muestra una unidad de repetición (por medio de corchetes), cada grupo (por ejemplo, L_3 , L_4) dentro de los corchetes está seleccionado independientemente entre las definiciones proporcionadas para cada unidad de repetición individual. En otras palabras, se requiere que las unidades de repetición dentro de un polímero particular no sean idénticas.

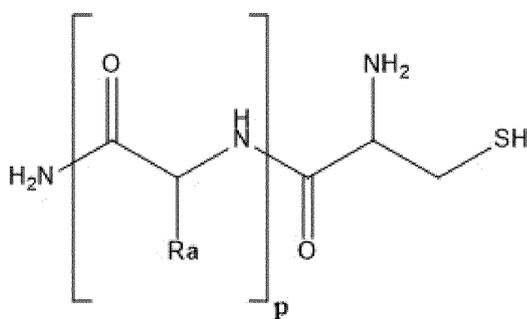
Oligopéptidos

35 Según la presente invención, un "oligopéptido" comprende una serie de al menos tres aminoácidos ligados de forma conjunta por medio de enlaces de péptido. Dichos péptidos, preferentemente contienen únicamente aminoácidos naturales, aunque se pueden emplear alternativamente aminoácidos no naturales (es decir, compuestos que no

aparecen en la naturaleza pero que se pueden incorporar a la cadena de polipéptido) y/o análogos de aminoácidos como se conocen en la técnica. Asimismo, uno o más de los aminoácidos de dichos péptidos pueden estar modificados, por ejemplo, mediante la adición de una entidad química tal como un grupo carbohidrato, un grupo fosfato, un grupo farnesilo, un grupo isofarnesilo, un grupo de ácido graso o un enlazador para conjugación, funcionalización u otra modificación, etc. Los oligopéptidos de los polímeros definidos en la presente memoria típicamente comprenden de 3 a 20 residuos de aminoácido, más preferentemente de 3 a 10 residuos de aminoácido, más preferentemente de 3 a 6 residuos de aminoácido. Como alternativa, los oligopéptidos de los polímeros definidos en la presente memoria pueden comprender de 4 a 20 residuos de aminoácido, más preferentemente de 4 a 10 residuos de aminoácido, más preferentemente de 4 a 6 residuos de aminoácido.

En los polímeros de **Fórmula I**, el o cada oligopéptido preferentemente tiene una carga neta positiva a pH 7. El o cada oligopéptido puede comprender aminoácidos de origen natural que están positivamente cargados a pH 7, es decir, lisina, arginina e histidina. Por ejemplo, el o cada oligopéptido puede estar seleccionado entre el grupo que consiste en polilisina, poliarginina o polihistidina, cada una de las cuales puede presentar terminación de cisteína.

En una realización preferida, el o cada oligopéptido es un compuesto de **Fórmula IV**:



Fórmula IV

donde p es un número entero de 2 a 19, típicamente de 3 a 9 o de 3 a 5, y donde R_a está seleccionado en cada aparición entre el grupo que consiste en $H_2N(C(=O)-NH)(CH_2)_3-$, $H_2N(CH_2)_4-$ o $(1H\text{-imidazol-4-il})-CH_2-$.

Cuando el o cada oligopéptido es un compuesto de **Fórmula IV**, el L_1 y/o L_2 (y/o L_T , cuando está presente) que une el o cada oligopéptido al polímero es un enlace y el residuo de cisteína terminal proporciona un medio de acoplamiento del o cada oligopéptido al intermedio con terminación de acrilato, **Fórmula III**. La funcionalidad de tiol proporciona una adición más rápida, más eficaz y más fácilmente controlada al doble enlace. Por el contrario, cuando el o cada oligopéptido presenta terminación de una funcionalidad amina para el acoplamiento, se requiere un exceso del presente compuesto en la etapa de acoplamiento.

En los polímeros de **Fórmula I**, el o cada oligopéptido puede tener una carga neta negativa a pH7. El o cada oligopéptido puede comprender aminoácidos de origen natural que están negativamente cargados a pH 7, es decir, ácido aspártico y ácido glutámico. Por ejemplo, el o cada oligopéptido puede estar seleccionado entre el grupo que consiste en poli(ácido aspártico) y poli(ácido glutámico), cada uno de los cuales puede presentar terminación de cisteína. En la presente realización, el o cada oligopéptido puede ser un compuesto de **Fórmula IV** donde p es un número entero de 2 a 19, típicamente de 3 a 9 o de 3 a 5, y donde R_a es $HO_2C(CH_2)_2-$ o HO_2C-CH_2- . En este caso, el L_1 y/o L_2 que une el o cada oligopéptido al polímero es un enlace y el residuo de cisteína terminal proporciona un medio de acoplamiento del o cada oligopéptido al intermedio con terminación de acrilato, **Fórmula IV**.

Como alternativa, el o cada oligopéptido puede comprender una mezcla de aminoácidos de origen natural que están negativamente cargados a pH 7 y aminoácidos de origen natural que están positivamente cargados a pH 7.

En los polímeros de **Fórmula I**, el o cada oligopéptido puede ser hidrófobo. El o cada oligopéptido puede comprender aminoácidos de origen natural que sean hidrófobos tales como valina, leucina, isoleucina, metionina, triptófano, fenilalanina, cisteína, tirosina y alanina; en particular, el o cada oligopéptido puede comprender valina, leucina, isoleucina, metionina, triptófano y fenilalanina.

En los polímeros de **Fórmula I**, el o cada oligopéptido puede ser hidrófilo. El o cada oligopéptido puede comprender aminoácidos de origen natural que sean hidrófilos tales como serina, treonina, cisteína, asparagina y glutamina, y puede además comprender aminoácidos de origen natural que estén cargados a pH 7.

Sustituyentes

En los polímeros de **Fórmula I**, bien ambos R_1 y R_2 son oligopéptidos o bien uno de R_1 y R_2 es un oligopéptido y el

otro de R_1 y R_2 es R_y .

5 Cuando uno de R_1 y R_2 es R_y , entonces R_y está preferentemente seleccionado entre el grupo que consiste en hidrógeno, $-(CH_2)_mNH_2$, $-(CH_2)_mNHMe$, $-(CH_2)_mOH$, $-(CH_2)_mCH_3$, $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_mNH_2$, $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_mOH$ y $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_mCH_3$ donde m es un número entero de 1 a 20, más preferentemente de 1 a 5. Preferentemente, R_y está seleccionado entre el grupo que consiste en $-(CH_2)_mNH_2$, $-(CH_2)_mNHMe$ y $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_mNH_2$. Preferentemente, cuando L_1 es NH o NR_x , y uno de R_1 y R_2 es R_y , entonces R_y es diferente de R_3 .

10 Los polímeros pueden ser asimétricos. Por ejemplo, en los polímeros de la invención, uno de R_1 y R_2 puede ser un oligopéptido y el otro puede ser R_y . Como alternativa, R_1 y R_2 pueden ser cada uno de ellos un oligopéptido diferente. En los polímeros en los que R_T está presente, al menos uno seleccionado entre R_1 , R_2 y la una o dos apariciones de R_T puede ser un oligopéptido y los grupos restantes están seleccionados entre R_1 , R_2 y la una o dos apariciones de R_T pueden ser R_y . Como alternativa, R_1 , R_2 y la una o dos apariciones de R_T pueden ser cada uno un oligopéptido diferente.

15 Por ejemplo, en los polímeros de la invención uno de R_1 y R_2 puede ser CysArgArgArg y el otro puede proceder de $H_2N(CH_2)_3CH(CH_3)CH_2NH_2$.

20 L_3 y L_5 pueden estar seleccionados independientemente entre alquileo, alquenileno, heteroalquileo o heteroalquenileno e incluir enlazadores de polietilén glicol. Dichos restos de alquileo, alquenileno, heteroalquileo o heteroalquenileno pueden ser de 1-20 átomos de carbono, preferentemente de 1-12 átomos de carbono, más preferentemente de 1-6 átomos de carbono. Dichos enlazadores de polietilén glicol pueden ser de 3 a 25 átomos de longitud, preferentemente de 3 a 18 átomos de longitud.

25 En una realización preferida, L_3 y L_5 pueden estar seleccionados independientemente entre restos de alquileo, preferentemente de 1-12 átomos de carbono, más preferentemente de 1-6 átomos de carbono, más preferentemente de 3-5 átomos de carbono, y en una realización preferida de 4 átomos de carbono.

30 En una realización particularmente preferida, L_3 está seleccionado entre $-CH_2-$, $-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_5-$ y $-(CH_2)_6-$.

35 En una realización adicional, uno o más átomos de carbono de L_3 y/o L_5 (en particular como se define en las realizaciones preferidas anteriormente mencionadas) puede estar sustituido con $-S-S-$. En la presente realización, L_3 está preferentemente seleccionado entre $-(CH_2)_z-S-$ $S-(CH_2)_z-$ donde el valor de cada z está seleccionado independientemente de 1 a 4 y preferentemente de 2 a 3 y preferentemente 2, preferentemente donde el valor de cada z es el mismo. La inclusión de al menos un enlace de disulfuro en la cadena principal polimérica puede facilitar el desempañetado de los agentes terapéuticos de base vírica dentro de los dianocitos.

40 Preferentemente, L_4 está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en $-N(R_3)-$.

45 Preferentemente, cada R_3 está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, $-(CH_2)_pNH_2$, $-(CH_2)_pN-HMe$, $-(CH_2)_pOH$, $-(CH_2)_pCH_3$, $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_qNH_2$, $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_qOH$, $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_qCH_3$, y polialquilen glicoles, donde p es un número entero de 1 a 20 (preferentemente de 1 a 5) y q es un número entero de 1 a 10, por ejemplo de 1 a 5, y donde dicho polialquilen glicol bien está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual R_3 se encuentra unido o bien está ligado al átomo de nitrógeno al cual R_3 se encuentra unido por medio de resto de enlace, donde dicho resto de enlace es un alquileo, cicloalquileo, alquenileno, cicloalquenileno, heteroalquileo, heterocicloalquileo, arileno o grupo heteroarileno. En algunas realizaciones de la invención al menos un grupo R_3 es un polialquilen glicol, preferentemente un polietilén glicol. En algunas realizaciones, el resto de enlace que une el al menos un grupo R_3 que es un polialquilen glicol al átomo de nitrógeno al cual R_3 está unido es un alquileo, alquenileno o grupo heteroalquileo, preferentemente un grupo alquileo. En algunas realizaciones, el resto de enlace tiene de 3 a 20 átomos de carbono y/o heteroátomos de longitud, preferentemente de 4 a 15 átomos y/o heteroátomos de longitud, más preferentemente de 5 a 10 átomos y/o heteroátomos de longitud.

55 En la **Fórmula I** o **III** anteriores, n es preferentemente de 10 a 700, más preferentemente del 20 a 500. El peso molecular del polímero de **Fórmula I** o **Fórmula III** es preferentemente de 500 a 150.000 g/mol, más preferentemente de 700 a 100.000 g/mol, más preferentemente de 2.000 a 50.000 g/mol, más preferentemente de 5.000 a 40.000 g/mol. En realizaciones donde al menos un grupo R_3 es un polialquilen glicol (por ejemplo, polietilén glicol), el peso molecular del polímero de **Fórmula I** o **Fórmula III** es preferentemente de 2.500 a 150.000 g/mol, más preferentemente de 2.700 a 100.000 g/mol, más preferentemente de 4.000 a 50.000 g/mol, más preferentemente de 7.000 a 40.000 g/mol.

Compuestos de la invención

65 Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en formas geométricas o estereoisoméricas particulares. La presente invención contempla todos los citados compuestos, incluyendo isómeros cis- y trans-

enantiómeros *R*- y *S*-, diastereómeros, isómeros-(D), isómeros-(L), mezclas racémicas de los mismos y otras mezclas de los mismos, ya que se encuentran dentro del alcance de la invención. Pueden existir átomos de carbono asimétricos en un sustituyente, tal como un grupo alquilo. Se pretende que todos los citados isómeros, así como mezclas de los mismos, queden incluidos en la presente invención.

5 Las mezclas isoméricas que contienen cualquiera de una diversidad de relaciones isoméricas se pueden utilizar de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, cuando únicamente se combinan dos isómeros, las mezclas que contienen relaciones isoméricas de 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 95:5, 96:4, 97:3, 98:2 o 99:1 están todas contempladas por la presente invención. Los expertos en la técnica apreciarán fácilmente que se contemplan relaciones análogas para mezclas isoméricas más complejas.

Grupos químicos

15 El término "halógeno" (o "halo") incluye flúor, cloro, bromo y yodo.

El término "alquilo" incluye grupos hidrocarbilo acíclicos monovalentes, lineales o ramificados, saturados. Alquilo es de manera apropiada alquilo C₁₋₁₀, o alquilo C₁₋₆, o alquilo C₁₋₄, tal como grupos metilo, etilo, n-propilo, i-propilo o t-butilo. Alquilo puede estar sustituido.

20 El término "cicloalquilo" incluye grupos hidrocarbilo cíclicos monovalentes, saturados. Cicloalquilo es de manera apropiada cicloalquilo C₃₋₁₀, o cicloalquilo C₃₋₆ tal como ciclopentilo o ciclohexilo. Cicloalquilo puede estar sustituido.

El término "alcoxi" significa alquil-O-.

25 El término "alquilamino" significa alquil-NH-.

El término "alquiltio" significa alquil-S(O)_t-, donde t es como se define a continuación.

30 El término "alquenilo" incluye grupos hidrocarbilo acíclicos monovalentes, lineales o ramificados, insaturados, que tienen al menos un doble enlace carbono-carbono y, de manera apropiada, no hay enlaces triples carbono-carbono. Alquenilo es de manera apropiada alquenilo C₂₋₁₀, o alquenilo C₂₋₆, o alquenilo C₂₋₄. Alquenilo puede estar sustituido.

35 El término "cicloalquenilo" incluye grupos hidrocarbilo cíclicos monovalentes, parcialmente insaturados, que tienen al menos un doble enlace carbono-carbono y, de manera apropiada, no hay enlaces triples carbono-carbono. Cicloalquenilo es de manera apropiada cicloalquenilo C₃₋₁₀ o cicloalquenilo C₅₋₁₀, por ejemplo, ciclohexenilo o benzociclohexilo. Cicloalquenilo puede estar sustituido.

40 El término "alquinilo" incluye grupos hidrocarbilo acíclicos monovalentes, lineales o ramificados, insaturados, que tienen al menos un triple enlace carbono-carbono y, de manera apropiada, no hay enlaces dobles carbono-carbono. Alquinilo es de manera apropiada alquinilo C₂₋₁₀, o alquinilo C₂₋₆, o alquinilo C₂₋₄. Alquinilo puede estar sustituido.

45 El término "alquilenilo" incluye grupos hidrocarbilo acíclicos divalentes, lineales o ramificados, saturados. Alquilenilo es de manera apropiada alquilenilo C₁₋₁₀, o alquilenilo C₁₋₆, o alquilenilo C₁₋₄, tal como grupos metileno, etileno, n-propileno, i-propileno o t-butileno. Alquilenilo puede estar sustituido.

50 El término "alquenileno" incluye grupos hidrocarbilo acíclicos divalentes, lineales o ramificados, insaturados, que tienen al menos un doble enlace carbono-carbono y, de manera apropiada, no hay enlaces triples carbono-carbono. Alquenileno es de manera apropiada alquenileno C₂₋₁₀, o alquenileno C₂₋₆, o alquenileno C₂₋₄. Alquenileno puede estar sustituido.

55 El término "heteroalquilo" incluye grupos alquilo, por ejemplo, grupo alquilo C₁₋₆₅, grupos alquilo C₁₋₁₇ o grupos alquilo C₁₋₁₀, en los que hasta veinte átomos de carbono, o hasta diez átomos de carbono, o hasta dos átomos de carbono, o un átomo de carbono, están sustituidos de forma independiente por O, S(O)_t o N, con la condición de que al menos uno de los átomos de carbono de alquilo permanezca. El grupo heteroalquilo puede presentar unión de C o estar hetero-unido, es decir, puede estar unido al resto de la molécula a través de un átomo de carbono o a través de O, S(O)_t o N, donde t es como se define a continuación. Heteroalquilo puede estar sustituido.

60 La expresión "heterocicloalquilo" incluye grupos cicloalquilo en los que hasta diez átomos de carbono, o hasta dos átomos de carbono, o un átomo de carbono, están sustituidos de forma independiente por O, S(O)_t o N, con la condición de que al menos uno de los átomos de carbono de cicloalquilo permanezca. Los ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen oxiranilo, tiaranilo, aziridinilo, oxetanilo, tiatanilo, azetidino, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofenilo, pirrolidinilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, piperidinilo, 1,4-dioxanilo, 1,4-oxatiano, morfolinilo, 1,4-ditianilo, piperazinilo, 1,4-azatiano, oxepanilo, tiepanilo, azepanilo, 1,4-dioxepanilo, 1,4-oxatiepanilo, 1,4-oxaazepanilo, 1,4-ditiepanilo, 1,4-tieazepanilo y 1,4-diazepanilo. El grupo heterocicloalquilo puede tener un enlace C o un enlace N, es decir, puede estar unido al resto de la molécula a través de un átomo de carbono o a través de nitrógeno. Heterocicloalquilo puede estar sustituido.

5 El término "heterocicloalquilo" incluye grupos alqueno, por ejemplo, grupo alqueno C₁₋₆₅, grupos alqueno C₁₋₁₇ o grupos alqueno C₁₋₁₀, en los que hasta veinte átomos de carbono, o hasta diez átomos de carbono, o hasta dos átomos de carbono, o un átomo de carbono, están sustituidos de forma independiente por O, S(O)_t o N, con la condición de que al menos uno de los átomos de carbono del alqueno permanezca. El grupo heteroalqueno puede presentar unión de C o estar hetero-unido, es decir, puede estar unido al resto de la molécula a través de un átomo de carbono o a través de O, S(O)_t o N. Heteroalqueno puede estar sustituido.

10 El término "heterocicloalqueno" incluye grupos cicloalqueno en los que hasta tres átomos de carbono, o hasta dos átomos de carbono, o un átomo de carbono, están sustituidos de forma independiente por O, S(O)_t o N, con la condición de que al menos uno de los átomos de carbono de cicloalqueno permanezca. Los ejemplos de grupos heterocicloalqueno incluyen oxirano, 3,4-dihidro-2H-pirano, 5-6-dihidro-2H-pirano, 2H-pirano, 1,2,3,4-tetrahidropiridinilo y 1,2,5,6-tetrahidropiridinilo. El grupo heterocicloalqueno puede tener un enlace C o un enlace N, es decir, puede estar unido al resto de la molécula a través de un átomo de carbono o a través de nitrógeno. Heteroalqueno puede estar sustituido.

20 El término "heteroalquino" incluye grupos alquino, por ejemplo, grupo alquino C₁₋₆₅, grupos alquino C₁₋₁₇ o grupos alquino C₁₋₁₀, en los que hasta veinte átomos de carbono, o en los que hasta diez átomos de carbono, o hasta dos átomos de carbono, o un átomo de carbono, están sustituidos de forma independiente por O, S(O)_t o N, con la condición de que al menos uno de los átomos de carbono del alquino permanezca. El grupo heteroalquino puede presentar unión de C o estar hetero-unido, es decir, puede estar unido al resto de la molécula a través de un átomo de carbono o a través de O, S(O)_t o N. Heteroalquino puede estar sustituido.

25 El término "heteroalqueno" incluye grupos alqueno, por ejemplo, grupo alqueno C₁₋₆₅, grupos alqueno C₁₋₁₇ o grupos alqueno C₁₋₁₀, en los que hasta veinte átomos de carbono, o en los que hasta diez átomos de carbono, o hasta dos átomos de carbono, o un átomo de carbono, están sustituidos de forma independiente por O, S(O)_t o N, con la condición de que al menos uno de los átomos de carbono del alqueno permanezca. Heteroalqueno puede estar sustituido.

30 El término "heteroalquino" incluye grupos alqueno, por ejemplo, grupo alqueno C₁₋₆₅, grupos alqueno C₁₋₁₇ o grupos alqueno C₁₋₁₀, en los que hasta veinte átomos de carbono, o en los que hasta diez átomos de carbono, o hasta dos átomos de carbono, o un átomo de carbono, están sustituidos de forma independiente por O, S(O)_t o N, con la condición de que al menos uno de los átomos de carbono del alqueno permanezca. Heteroalqueno puede estar sustituido.

35 El término "arilo" incluye grupos hidrocarbilo acíclicos monovalentes, aromáticos, saturados, tales como fenilo o naftilo (por ejemplo, 1-naftilo o 2-naftilo). En general, los grupos arilo pueden ser grupos aromáticos de anillo condensado monocíclico o policíclico. Los arilo preferidos son arilo C₆-C₁₄. Arilo puede estar sustituido.

40 Otros ejemplos de grupos arilo son derivados monovalentes de acenitrilo, acenafeno, acefenantrilo, antraceno, azuleno, criseno, coroneno, fluorantrilo, fluoreno, as-indaceno, s-indaceno, indeno, naftaleno, ovaleno, perileno, fenaleno, fenantreno, piceno, pleiadeno, pireno, pirantreno y rubiceno.

45 El término "arilalquilo" significa alquilo sustituido con un grupo arilo, por ejemplo, bencilo.

El término "heteroarilo" incluye grupos arilo en los que uno o más átomos de carbono están sustituidos cada uno por heteroátomos seleccionados independientemente entre O, S, N y NR^N, donde R^N se define a continuación (y en una realización es H o alquilo (por ejemplo, alquilo C₁₋₆)). Heteroarilo puede estar sustituido.

50 En general, los grupos heteroarilo pueden ser grupos heteroaromáticos de anillo condensado monocíclicos o policíclicos (por ejemplo, bicíclicos). Típicamente, los grupos heteroarilo contienen 5-14 miembros de anillo (preferentemente 5-10 miembros) donde 1, 2, 3, o 4 miembros de anillo están seleccionados independientemente entre O, S, N y NR^N. Un grupo heteroarilo, de manera apropiada, es un anillo condensado bicíclico de 5, 6, 9 o 10 miembros, por ejemplo, un anillo condensado monocíclico de 5 miembros, 6 miembros monocíclico, 9 miembros bicíclico o 10 miembros bicíclico.

Los grupos heteroaromáticos monocíclicos incluyen grupos heteroaromáticos que contienen 5-6 miembros de anillo en los que 1, 2, 3 o 4 miembros de anillo están seleccionados independientemente entre O, S, N o NR^N.

60 Los grupos heteroarilo monocíclicos de 5 miembros pueden contener 1 miembro de anillo que es un grupo -NR^N, un átomo de O o un átomo de S y, opcionalmente, 1-3 miembros de anillo (por ejemplo, 1 o 2 miembros de anillo) que son átomos de =N- (donde el resto de los 5 miembros de anillo son átomos de carbono).

65 Los ejemplos de grupos heteroarilo monocíclicos de 5 miembros son pirrolilo, furanilo, tiofenilo, pirazolilo, imidazolilo, isoxazolilo, oxazolilo, isotiazolilo, tiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, piridilo, pirimidinilo, piridazinilo, pirazinilo, 1,3,5-triazinilo, 1,2,4-

triazinilo, 1,2,3-triazinilo y tetrazolilo.

Los ejemplos de grupos heteroarilo monocíclicos de 6 miembros son piridinilo, piridazinilo, pirimidilo y pirazinilo.

- 5 Los grupos heteroarilo monocíclicos de 6 miembros pueden contener 1 o 2 miembros de anillo que son átomos de =N- (donde el resto de los 6 miembros de anillo son átomos de carbono).

10 Los grupos heteroaromáticos bicíclicos incluyen grupos heteroaromáticos de anillo condensado que contienen 9-14 miembros de anillo donde 1, 2, 3 o 4 o más miembros de anillo están seleccionados independientemente entre O, S, N o NR^N.

15 Los grupos heteroarilo bicíclicos de 9 miembros pueden contener 1 miembro de anillo que es un grupo -NR^N-, un átomo de -O- o un átomo de -S- y, opcionalmente, 1-3 miembros de anillo (por ejemplo, 1 o 2 miembros de anillo) que son átomos de =N- (donde el resto de los 9 miembros de anillo son átomos de carbono).

20 Los ejemplos de grupos heteroarilo bicíclicos de anillo condensado de 9 miembros son benzofuranilo, benzotiofenilo, indolilo, benzoimidazolilo, indazolilo, benzotriazolilo, pirrolo[2,3-b]piridinilo, pirrolo[2,3-c]piridinilo, pirrolo[3,2-c]piridinilo, pirrolo[3,2-b]piridinilo, imidazo[4,5-b]piridinilo, imidazo[4,5-c]piridinilo, pirazolo[4,3-d]piridinilo, pirazolo[4,3-c]piridinilo, pirazolo[3,4-c]piridinilo, pirazolo[3,4-b]piridinilo, isoindolilo, indazolilo, purinilo, indolinilo, imidazo[1,2-a]piridinilo, imidazo[1,5-a]piridinilo, pirazolo[1,2-a]piridinilo, pirrolo[1,2-b]piridazinilo y imidazo[1,2-c]pirimidinilo.

Los grupos heteroarilo bicíclicos de 10 miembros pueden contener 1-3 miembros de anillo que son átomos de =N- (donde el resto de los 10 miembros de anillo son átomos de carbono).

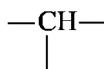
25 Los ejemplos de grupos heteroarilo bicíclicos de anillo condensado de 10 miembros son quinolinilo, isoquinolinilo, cinnolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, ftalazinilo, 1,6-naftiridinilo, 1,7-naftiridinilo, 1,8-naftiridinilo, 1,5-naftiridinilo, 2,6-naftiridinilo, 2,7-naftiridinilo, pirazolo[3,2-d]pirimidinilo, pirazolo[4,3-d]pirimidinilo, pirazolo[3,4-d]pirimidinilo, pirazolo[2,3-d]pirimidinilo, pirrolo[2,3-b]pirazinilo, pirrolo[3,4-b]pirazinilo, pirimido[5,4-d]pirimidinilo, pirazino[2,3-b]pirazinilo y pirimido[4,5-d]pirimidinilo.

30 El término "heteroarilalquilo" significa alquilo sustituido con un grupo heteroarilo.

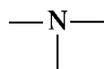
35 Ejemplos de grupos acilo incluyen alquil-C(=O)-, cicloalquil-C(=O)-, alquenil-C(=O)-, cicloalquenil-C(=O)-, heteroalquil-C(=O)-, heterocicloalquil-C(=O)-, aril-C(=O)- o heteroaril-C(=O)-, en particular, alquil-C(=O)- y aril-C(=O)-.

40 A menos que se indique explícitamente lo contrario, cuando las combinaciones de los grupos se refieren en la presente memoria como un resto, por ejemplo, arilalquilo, el último grupo mencionado contiene el átomo por medio del cual el resto se une al resto de la molécula.

40 Cuando se hace referencia a un átomo de carbono de un grupo alquilo u otro grupo que está sustituido por O, S(O)_t o N, lo que se pretende es que:



45 esté sustituido por



50 -CH= está sustituido por -N=;

≡C-H está sustituido por ≡N; o

55 -CH₂- está sustituido por -O-, -S(O)_t- o -NR^N-.

60 A modo de aclaración, en relación con los grupos que contiene heteroátomos anteriormente mencionados (tales como heteroalquilo etc.), donde se proporciona un número de átomos de carbono, por ejemplo heteroalquilo C₃₋₆, lo que se pretende es un grupo basado en alquilo C₃₋₆ en el que uno de más de los 3-6 átomos de carbono de cadena esté sustituido por O, S(O)_t o N. Por consiguiente, grupo heteroalquilo C₃₋₆, por ejemplo, contiene menos de 3-6 átomos de carbono de cadena.

Cuando se ha mencionado anteriormente, R^N es H, alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, -C(O)-alquilo, -C(O)-arilo, -

C(O)-heteroarilo, -S(O)_t-alquilo, -S(O)_t-arilo o -S(O)_t-heteroarilo. R^N puede, en particular, ser H, alquilo (por ejemplo, alquilo C₁₋₆) o cicloalquilo (por ejemplo cicloalquilo C₃₋₆).

Quando se ha mencionado anteriormente, t es independientemente 0, 1 o 2, por ejemplo 2. Típicamente, t es 0.

5 Cuando un grupo tiene al menos 2 posiciones que pueden estar sustituidas, el grupo puede estar sustituido en ambos extremos de una cadena de alquileo o heteroalquileo para formar un resto cíclico.

10 Opcionalmente, los grupos sustituidos (por ejemplo, alquilo, cicloalquilo, alcoxi, alqueno, cicloalqueno, alquino, alquileo, alquilenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, heteroalqueno, heterocicloalqueno, heteroalquino, heteroalquileo, heteroalquilenilo, arilo, arilalquilo, arilheteroalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o heteroarilheteroalquilo, etc.) pueden estar sustituidos o no sustituidos, o pueden no estar sustituidos. Típicamente, la sustitución implica la sustitución teórica de un átomo de hidrógeno por un grupo sustituyente, o dos átomos de hidrógeno en caso de sustitución por =O.

15 Cuando existe sustitución, generalmente es de 1 a 3 sustituyentes, o de 1 o 2 sustituyentes o 1 sustituyente.

20 El(los) sustituyente(s) opcional(es) es/son independientemente halógeno, trihalometilo, trihaloetilo, -OH, -NH₂, -NO₂, -CN, -N⁺(alquilo C₁₋₆)₂O⁻, -CO₂H, -CO₂alquilo C₁₋₆, -SO₃H, -SOalquilo C₁₋₆, -SO₂alquilo C₁₋₆, -SO₃alquilo C₁₋₆, -OC(=O)Oalquilo C₁₋₆, -C(=O)H, -C(=O)alquilo C₁₋₆, -OC(=O)alquilo C₁₋₆, =O, -NH(alquilo C₁₋₆), -N(alquilo C₁₋₆)₂, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(alquilo C₁₋₆)₂, -N(alquilo C₁₋₆)C(=O)alquilo C₁₋₆, -N(alquilo C₁₋₆)C(=O)N(alquilo C₁₋₆)₂, -OC(=O)N(alquilo C₁₋₆)₂, -N(alquilo C₁₋₆)C(=O)alquilo C₁₋₆, -C(=S)N(alquilo C₁₋₆)₂, -N(alquilo C₁₋₆)C(=S)alquilo C₁₋₆, -SO₂N(alquilo C₁₋₆)₂, -N(alquilo C₁₋₆)SO₂alquilo C₁₋₆, -N(alquilo C₁₋₆)C(=S)N(alquilo C₁₋₆)₂, -N(alquilo C₁₋₆)SO₂N(alquilo C₁₋₆)₂, -alquilo C₁₋₆, -heteroalquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆, -heterocicloalquilo C₃₋₆, -alqueno C₂₋₆, -heteroalqueno C₂₋₆, -cicloalqueno C₃₋₆, -heterocicloalqueno C₃₋₆, -alquino C₂₋₆, -heteroalquino C₂₋₆, -Z^u-alquilo C₁₋₆, -Z^u-cicloalquilo C₃₋₆, -Z^u-alqueno C₂₋₆, -Z^u-cicloalqueno C₃₋₆ o -Z^u-alquino C₂₋₆, donde Z^u es independientemente O, S, NH o N(alquilo C₁₋₆).

30 En otra realización, el(los) sustituyente(s) opcional(es) es/son independientemente halógeno, trihalometilo, trihaloetilo, -NO₂, -CN, -N+(alquilo C₁₋₆)₂O⁻, -CO₂H, -SO₃H, -SOalquilo C₁₋₆, -SO₂alquilo C₁₋₆, -C(=O)H, -C(=O)alquilo C₁₋₆, =O, -N(alquilo C₁₋₆)₂, -C(=O)NH₂, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆, -heterocicloalquilo C₃₋₆, -Z^u-alquilo C₁₋₆ o -Z^u-cicloalquilo C₃₋₆, donde Z^u es como se ha definido con anterioridad.

35 En otra realización, el(los) sustituyente(s) opcional(es) es/son independientemente halógeno, trihalometilo, -NO₂, -CN, -CO₂H, -C(=O)alquilo C₁₋₆, =O, -N(alquilo C₁₋₆)₂, -C(=O)NH₂, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆, -heterocicloalquilo C₃₋₆, -Z^u-alquilo C₁₋₆ o -Z^u-cicloalquilo C₃₋₆, donde Z^u es como se ha definido con anterioridad.

40 En otra realización, el(los) sustituyente(s) opcional(es) es/son independientemente halógeno, -NO₂, -CN, -CO₂H, =O, -N(alquilo C₁₋₆)₂, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆ o -heterocicloalquilo C₃₋₆.

45 En otra realización, el(los) sustituyente(s) opcional(es) es/son independientemente halógeno, -OH, NH₂, NH(alquilo C₁₋₆), -N(alquilo C₁₋₆)₂, -alquilo C₁₋₆, -cicloalquilo C₃₋₆ o -heterocicloalquilo C₃₋₆.

50 La expresión "polialquilen glicol" (PAG) hace referencia a compuestos que tienen la fórmula general H-[O-C_yH_{2y}]_x-OH, tales como H-[O-CH₂-CH₂]_x-OH (polietilen glicol o PEG) y H-[O-CH(CH₃)-CH₂]_x-OH (polipropilen glicol). Cuando se encuentra un compuesto de la invención, el PAG está unido por medio del enlace entre un átomo de carbono y uno de los grupos hidroxilo terminales, por ejemplo, en el caso de PEG el sustituyente sería H-[O-CH₂-CH₂]_x. Los polialquilen glicoles usados en los compuestos de la invención, a menos que se definan de otra manera, pueden tener un peso molecular de 500 a 20.000 g/mol, preferentemente de 1.000 a 10.000 g/mol, más preferentemente de 2.000 a 5.000 g/mol, más preferentemente de 2.000 a 3.500 g/mol.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "polímero de **Fórmula I**" incluye derivados farmacéuticamente aceptables del mismo y polimorfos, isómeros y variantes isotópicamente marcadas del mismo.

55 La expresión "derivado farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato profármaco de un polímero de **Fórmula I**. Los derivados farmacéuticamente aceptables hacen referencia de manera apropiada a sales farmacéuticamente aceptables, solvatos o hidratos de un polímero de **Fórmula I**.

60 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" incluye una sal preparada a partir de ácidos o bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables o bases y ácidos orgánicos o inorgánicos.

65 Los polímeros de **Fórmula I** que contienen grupos básicos, por ejemplo amino, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos. La adición de ácido farmacéuticamente aceptable de los polímeros de **Fórmula I** puede incluir, pero sin limitación, aquellos ácidos inorgánicos tales como ácidos hidrohálidos (por ejemplo, ácido clorhídrico, bromhídrico y yodhídrico), ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico. La adición de ácido farmacéuticamente aceptable de los polímeros de **Fórmula I** puede incluir, pero sin limitación, aquellos ácidos

orgánicos tales como ácidos alifáticos, aromáticos, carboxílicos y clases sulfónicas de ácidos orgánicos, ejemplos de los cuales se incluye en: ácidos monocarboxílicos alifáticos tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico; ácidos hidroxil alifáticos tales como ácido láctico, ácido cítrico, ácido tartárico o ácido málico; ácidos dicarboxílicos tales como ácido maleico o ácido succínico; ácidos carboxílicos aromáticos tales como ácido benzoico, ácido p-clorobenzoico, ácido fenilacético, ácido difenilacético o ácido trifenilacético; ácidos hidroxil aromáticos tales como ácido o-hidroxibenzoico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido 1-hidroxinaftalen-2-carboxílico o ácido 3-hidroxinaftalen-2-carboxílico; y ácido sulfónicos tales como ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico o ácido bencenosulfónico. La adición de otras sales de ácidos farmacéuticamente aceptables de los polímeros de **Fórmula I** puede incluir, pero sin limitación, aquellas de ácido glicólico, ácido glucurónico, ácido furoico, ácido glutámico, ácido antranílico, ácido salicílico, ácido mandélico, ácido embónico (pamoico), ácido pantoténico, ácido esteárico, ácido sulfanílico, ácido algénico y ácido galactourónico. Donde el polímero de **Fórmula I** comprende una pluralidad de grupos básicos, se pueden protonar múltiples centros para proporcionar sales múltiples, por ejemplo, di- o tri-sales de compuestos de **Fórmula I**. Por ejemplo, una sal de ácido hidrohálico de un polímero de **Fórmula I** como se describe en la presente memoria puede ser un monohidrohaluro, dihidrohaluro o trihidrohaluro, etc. Las sales incluyen, pero sin limitación, aquellas resultantes de la adición de cualesquiera de los ácidos divulgados con anterioridad. En una realización del polímero de **Fórmula I**, dos grupos básicos forman sales de adición. En una realización adicional, los dos contraiones de sal de adición son las mismas especies, por ejemplo, dihidrocloruro, dihidrosulfuro etc. Típicamente, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de hidrocioruro, tal como una sal de dihidrocloruro.

Los polímeros de **Fórmula I** que contienen grupos ácidos, por ejemplo carboxilo, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases. Las sales básicas farmacéuticamente aceptables de los polímeros de **Fórmula I** pueden incluir, pero sin limitación, sales metálicas tales como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos (por ejemplo, sodio, potasio, magnesio o calcio) y sales de cinc o aluminio. Las sales básicas farmacéuticamente aceptables de los polímeros de **Fórmula I** pueden incluir, pero sin limitación, sales formadas con amoníaco o aminas orgánicas farmacéuticamente aceptables o bases heterocíclicas tales como etanolaminas (por ejemplo, dietanolamina), bencilaminas, N-metil-glucamina, aminoácidos (por ejemplo, lisina) o piridina.

También se pueden formar hemisales de ácidos o bases, por ejemplo, sales de hemisulfato.

Las sales farmacéuticamente aceptables de polímeros de **Fórmula I** se pueden preparar por medio de métodos bien conocidos en la técnica.

Para una revisión de las sales farmacéuticamente aceptables, véase Stahl y Wermuth, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

Los polímeros de **Fórmula I** pueden existir tanto en formas solvatadas como no solvatadas. El término "solvato" incluye complejos moleculares que comprenden el polímero y una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptables tales como agua o alcoholes C₁₋₆, por ejemplo, etanol. El término "hidrato" significa un "solvato" donde el disolvente es agua.

Los polímeros pueden existir en estados sólidos a partir de formas de amorfas a cristalinas. Todas las formas sólidas se incluyen dentro de la invención.

Los polímeros pueden existir en una o más formas geométricas, ópticas, enantioméricas, diastereoméricas y tautoméricas, incluyendo pero sin limitación formas *cis*- y *trans*-, formas *E*- y *Z*-, *R*-, *S*- y formas meso, ceto- y enol-. Todas las formas isoméricas se incluyen dentro de la invención. Las formas isoméricas pueden ser una forma isoméricamente pura o enriquecida, así como también mezclas de isómeros (por ejemplo, mezclas racémicas o diastereoméricas).

La invención incluye polímeros isotópicamente marcados y farmacéuticamente aceptables de **Fórmula I**, donde uno o más átomos están sustituidos por átomos que tiene el mismo número atómico, pero diferente masa atómica o número másico con respecto a la masa atómica o número másico que normalmente se encuentra en la naturaleza.

Los ejemplos de isótopos apropiados para la inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, tales como ²H y ³H, carbono, tales como ¹¹C, ¹³C y ¹⁴C, cloro, tales como ³⁶Cl, flúor, tales como ¹⁸F, yodo, tales como ¹²³I e ¹²⁵I, nitrógeno, tales como ¹³N y ¹⁵N, oxígeno, tal como ¹⁵O, ¹⁷O y ¹⁸O, fósforo, tal como ³²P y azufre, tal como ³⁵S. Determinados polímeros isotópicamente marcados de **Fórmula I**, por ejemplo, aquellos que incorporan un isótopo radioactivo, son útiles en estudios de distribución tisular de fármaco y/o sustrato. Los isótopos radioactivos de ³H y ¹⁴C son particularmente útiles para este fin a la vista de su facilidad de incorporación y medios de detección disponibles.

La sustitución con isótopos de emisión de positrones, tales como ¹¹C, ¹⁸F, ¹⁵O y ¹³N, pueden resultar útiles en estudios de Topografía de Emisión de Positrones (PET) para el examen de la ocupación del receptor de sustrato.

Los polímeros isotópicamente marcados de **Fórmula I** se pueden preparar generalmente por medio de técnicas

convencionales conocidas por los expertos en la técnica o por medio de procesos análogos a los descritos en la presente memoria usando un reactivo apropiados marcado isotópicamente en lugar del reactivo no marcado previamente empleado.

- 5 Se aprecia que los polímeros, como se describe en el presente documento, pueden estar sustituidos con un número de sustituyentes o restos funcionales. Los términos sustituido, si van precedidos del término "opcionalmente o no, y sustituyente, como se utiliza en el presente documento, hacen referencia a la capacidad, tal como se aprecia por parte de una persona experta en la técnica, para modificar un grupo funcional por otro grupo funcional con la condición de que la valencia de todos los átomos se mantenga. Cuando más de una posición de una estructura
- 10 concreta se puede sustituir con más de un sustituyente seleccionado entre un grupo específico, los sustituyentes pueden ser bien iguales o bien diferentes en cualquier posición. Los sustituyentes también pueden estar sustituidos de forma adicional (por ejemplo, un sustituyente de grupo arilo puede tener otro sustituyente del mismo, tal como otro grupo arilo, que esté sustituido de forma adicional con flúor en una o más posiciones).
- 15 El término tiohidroxilo o tiol, como se utiliza en el presente documento, hace referencia a un grupo de fórmula -SH.

Agentes terapéuticos de base vírica

20 El agente terapéutico de base vírica puede ser cualquier vector apropiados para uso en terapia. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es apropiado para su uso en terapia génica vírica sistémica. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es un vector vírico oncolítico. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es una vacuna.

25 El agente terapéutico de base vírica puede ser un vector adenovírico, un vector vírico adeno-asociado (AAV), o un vector retrovírico tal como un vector lentivírico. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es un vector adenovírico o un vector vírico adeno-asociado (AAV). En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es un vector adenovírico. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es un vector vírico adeno-asociado. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es un vector retrovírico, tal como un vector lentivírico.

30 En algunas realizaciones el virus es un vector vírico apropiado para uso en terapia diferente de un vector retrovírico. En algunas realizaciones, el virus es un vector vírico apropiado para su uso en terapia diferentes de un vector lentivírico. En algunas realizaciones el virus es un vector vírico apropiado para uso en terapia diferente del adenovirus oncolítico AdNuPARmE1A o AduPARmE1A.

35 En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica está seleccionado entre un vector vírico de herpes simple, un vector vírico de vacuna, un vector vírico de estomatitis vesicular, un vector reovírico y un vector vírico Semliki forest. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es un vector vírico de herpes simple. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es un vector vírico de vacuna.

40 Preferentemente, el agente terapéutico de base vírica es un vector adenovírico. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es un vector adenovírico oncolítico, que incluye AdNuPARmE1A y AduPARmE1A. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es AdNuPARmE1A. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica es AduPARmE1A.

45 En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica está encapsulado, por ejemplo un vector lentivírico. En algunas realizaciones, el agente terapéutico de base vírica no está encapsulado, por ejemplo un vector adenovírico.

50 En una realización, la superficie del agente terapéutico de base vírica comprende sitios de unión apropiados para la unión a un polímero de **Fórmula I** donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta positiva a pH 7. En general, la superficie del agente terapéutico de base vírica tiene carga negativa e interacciona con polímeros con carga positiva de Fórmula I.

55 En una realización alternativa, la superficie del agente terapéutico de base vírica comprende sitios de unión apropiados para la unión a un polímero de **Fórmula I** donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta negativa a pH 7.

60 En los complejos de la presente invención, el agente terapéutico de base vírica está preferentemente unido no covalentemente al polímero de **Fórmula I**, por ejemplo, por medio de unión de hidrógeno, interacción electrostática o encapsulado físico, y típicamente la interacción es electrostática. Preferentemente, el agente terapéutico de base vírica y el polímero de **Fórmula I** están unidos por medio de una o más interacciones seleccionadas entre interacciones dipolo-dipolo, interacciones ion-dipolo, interacciones de dipolo inducido por iones y/o enlace de hidrógeno. El(los) agente(s) terapéutico(s) de base vírica está(n) encapsulado(s) de manera apropiada dentro de las

65 nanopartículas.

En algunas realizaciones, la superficie del agente terapéutico de base vírica está negativamente cargada y los polímeros de la invención se caracterizan por un extremo terminal con carga altamente positiva que interacciona fácilmente dentro de la superficie vírica, una cadena principal polimérica con carga ligeramente positiva que contribuye a estabilizar la interacción entre el polímero y la partícula vírica y una cadena secundaria hidrófoba que permite la interacción del polímero con componentes lipídicos de la envoltura vírica.

Los complejos de la invención proporcionan, de manera inesperada, una o más, y preferentemente todas, las siguientes propiedades:

- (i) capacidad de enmascaramiento del agente terapéutico de base vírica frente a anticuerpos de neutralización;
- (ii) menor activación de la respuesta inmunológica adaptativa por parte del agente terapéutico de base vírica;
- (iii) aumento del tiempo de circulación en sangre del agente terapéutico de base vírica;
- (iv) disminución del tropismo hepático del agente terapéutico de base vírica; y
- (v) mayor tropismo tumoral del agente terapéutico de base vírica.

El efecto combinado de estas propiedades es que los complejos de la invención puede permitir dosificaciones del agente terapéutico de base vírica que son mucho mayores (por ejemplo, posiblemente al menos aproximadamente de 10 a 20 veces mayores) que los regímenes convencionales existentes a utilizar.

En un tercer aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un agente terapéutico de base vírica revestido con un material polimérico que comprende o que consiste en polímero(s) de **Fórmula I** como se ha definido anteriormente en uno cualquiera de los aspectos previos de la invención.

Agentes terapéuticos de base vírica revestidos

La presente invención proporciona agentes terapéuticos de base vírica descritos en la presente memoria que están revestidos con un material polimérico que comprende o que consiste en polímero(s) de **Fórmula I** como se ha definido anteriormente en uno cualquiera de los aspectos de la invención.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un agente terapéutico de base vírica como se describe en la presente memoria que está revestido con una combinación de dos o más polímeros diferentes de **Fórmula I**, donde al menos uno de los polímeros es un polímeroPAG-ilado o PEG-ilado de **Fórmula I** y al menos uno de los polímeros no contiene un resto PAG o PEG.

En algunas realizaciones la presente invención proporciona el adenovirus AdNuPARmE1A (véase ejemplos 9 y 10 siguientes) que está revestido con un material polimérico que comprende o consiste en polímero(s) de **Fórmula I** como se define en la presente memoria de acuerdo con cualquiera de los aspectos de la invención. En algunas realizaciones, el material polimérico es una combinación de dos polímeros diferentes de **Fórmula I** como se describe en la presente memoria o como ha descrito en la presente memoria con anterioridad.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un agente terapéutico de base vírica revestido con una combinación de (i) R3C-C6-CR3 (véase ejemplo 3A siguiente) y (ii) R3C-C6-CR3-PEG (véase ejemplo 5A siguiente), preferentemente donde los polímeros (i) y (ii) están presentes en una relación de 65:35.

En algunas realizaciones la presente invención proporciona el adenovirus AdNuPARmE1A (véase los ejemplos 9 y 10 siguientes) revestido con una combinación de (i) R3C-C6-CR3 (véase el ejemplo 3A siguiente) y (ii) R3C-C6-CR3-PEG (véase el ejemplo 5A siguiente) donde los polímeros (i) y (ii) están presentes en una relación de 65:35. Este agente terapéutico de base vírica revestido se denomina SAG-101.

En algunas realizaciones la invención proporciona agentes terapéuticos de base vírica como se describe en la presente memoria que están revestidos con un material polimérico que comprende o que consiste en uno o más polímero(s) de **Fórmula I** como se define en la presente memoria donde el agente terapéutico de base vírica revestido es diferente de SAG-101.

En algunas realizaciones la invención proporciona agentes terapéuticos de base vírica como se describe en la presente memoria que están revestidos con un material polimérico que comprende o que consiste en uno o más polímero(s) de **Fórmula I** como se define en la presente memoria donde el agente terapéutico de base vírica es un vector retrovírico (tal como un vector lentivírico), vector adenovírico, vector vírico adeno-asociado, vector vírico de herpes simple, un vector vírico de vacuna, un vector vírico de estomatitis vesicular, un vector reovírico o un vector vírico Semliki forest.

En algunas realizaciones la invención proporciona agentes terapéuticos de base vírica como se describe en la presente memoria que están revestidos con un material polimérico que comprende o que consiste en uno o más polímero(s) de **Fórmula I** como se define en la presente memoria donde el agente terapéutico de base vírica es cualquier vector vírico apropiado para uso en terapia diferente de un vector retrovírico, por ejemplo, donde el agente terapéutico de base vírica es un vector adenovírico, vector vírico adeno-asociado, vector vírico de herpes simple, un

vector vírico de vacuna, un vector vírico de estomatitis vesicular, vector reovírico o un vector vírico Semliki forest, por ejemplo, donde el agente terapéutico de base vírica es un vector adenovírico o un vector vírico adeno-asociado.

5 En algunas realizaciones la invención proporciona agentes terapéuticos de base vírica como se describe en la presente memoria que están revestidos con un material polimérico que comprende o que consiste en uno o más polímero(s) de **Fórmula I** como se define en la presente memoria donde el agente terapéutico de base vírica es cualquier vector vírico apropiado para uso en terapia diferente de un vector lentivírico, por ejemplo, donde el agente terapéutico de base vírica es un vector retrovírico (diferente de un vector lentivírico), vector adenovírico, vector vírico adeno-asociado, vector vírico de herpes simple, un vector vírico de vacuna, un vector vírico de estomatitis vesicular,
10 vector reovírico o un vector vírico Semliki forest, por ejemplo, donde el agente terapéutico de base vírica es un vector adenovírico, vector vírico adeno-asociado o un vector retrovírico tal como un vector lentivírico.

15 En algunas realizaciones la invención proporciona agentes terapéuticos de base vírica como se describe en la presente memoria que están revestidos con un material polimérico que comprende o que consiste en uno o más polímero(s) de **Fórmula I** como se define en la presente memoria donde el agente terapéutico de base vírica es cualquier vector vírico apropiado para uso en terapia diferente de un vector adenovírico, por ejemplo, donde el agente terapéutico de base vírica es un vector retrovírico, vector vírico adeno-asociado, vector vírico de herpes simple, un vector vírico de vacuna, un vector vírico de estomatitis vesicular, vector reovírico o un vector vírico Semliki forest, por ejemplo, donde el agente terapéutico de base vírica es un vector vírico adeno-asociado, un vector
20 retrovírico o un vector lentivírico.

25 En algunas realizaciones la invención proporciona agentes terapéuticos de base vírica como se describe en la presente memoria que están revestidos con un material polimérico que comprende o que consiste en uno o más polímero(s) de **Fórmula I** como se define en la presente memoria donde el agente terapéutico de base vírica es cualquier vector vírico apropiado para uso en terapia diferente del adenovirus AdNuPARmE1A.

30 En algunas realizaciones la invención proporciona agentes terapéuticos de base vírica como se describe en la presente memoria que están revestidos con un material polimérico que comprende o que consiste en uno o más polímero(s) de **Fórmula I** como se define en la presente memoria donde el agente terapéutico de base vírica es un vector vírico de herpes simple, un vector vírico de vacuna, un vector vírico de estomatitis vesicular, un vector reovírico o un vector vírico Semliki forest.

Nanopartículas

35 La composición puede comprender nanopartículas y/o micropartículas que contienen el agente terapéutico de base vírica revestido con el material polimérico de **Fórmula I**. La composición puede comprender dos o más polímeros diferentes como se define en la **Fórmula I**. Por ejemplo, la composición puede comprender polímeros de **Fórmula I** donde R_1 y R_2 son ambos CysLysLysLys y polímeros de **Fórmula I** donde R_1 y R_2 son ambos CysHisHisHis. La composición puede comprender un primer polímero de **Fórmula I** donde R_1 y R_2 son ambos CysArgArgArg y no está
40 presente ningún resto de polialquilen glicol, en combinación con un segundo polímero de **Fórmula I** donde R_1 y R_2 son ambos CysArgArgArg y está presente un resto de polialquilen glicol, por ejemplo, R3C-C6-CR3-PEG o R3C-C6-CR3-linkPEG.

45 La invención se comenta principalmente a continuación con respecto a las nanopartículas. Se comprende que la discusión aplica igualmente a micropartículas.

50 Las nanopartículas pueden comprender un agente terapéutico de base vírica y polímeros de **Fórmula I** donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta positiva a pH 7. Los oligopéptidos con carga positiva interaccionan con un agente terapéutico de base vírica durante el proceso de formación de las nanopartículas y facilitan el encapsulado del agente terapéutico de base vírica en las nanopartículas.

55 Las nanopartículas pueden comprender polímeros de **Fórmula I** donde el o cada oligopéptido tiene una carga negativa a pH 7 y un agente terapéutico de base vírica que tiene una carga neta positiva a pH 7. Los oligopéptidos con carga negativa interaccionan con un agente terapéutico de base vírica con carga positiva durante el proceso de formación de nanopartículas y facilitan el encapsulado del agente terapéutico de base vírica en las nanopartículas.

Las nanopartículas pueden comprender opcionalmente una mezcla de polímeros diferentes de **Fórmula I**. Por ejemplo, las nanopartículas pueden comprender

60 (a) un polímero de acuerdo con la **Fórmula I** donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta positiva a pH 7; y
(b) un polímero de acuerdo con la **Fórmula I** donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta positiva a pH 7.

65 De este modo, la invención proporciona nanopartículas con carga superficial neta que puede variar mediante modificación de las proporciones de los polímeros (a) y (b) anteriores. La relación de (a) con respecto a (b) puede ser de 1:99, 5:95, 10:90, 25:75, 50:50, 75:25, 90:10, 95:5, o 99:1 en peso.

Dichas nanopartículas resultan apropiadas para el encapsulado del agente terapéutico de base vírica y muestran propiedades farmacológicas mejoradas.

5 En algunas realizaciones, los polímeros de acuerdo con la **Fórmula I** donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta positiva a pH 7 se pueden usar en combinación con los polímeros de acuerdo con la **Fórmula I** donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta positiva a pH 7.

10 Además, la inclusión de los polímeros modificados con oligopéptidos que tienen una carga neta negativa a pH 7 pueden facilitar la administración de las nanopartículas a través de las complejas barreras corporales, tal como la mucosa intestinal o pulmonar, ya que la carga superficial neta puede variar durante la interacción con esas barreras.

15 Las nanopartículas pueden comprender una mezcla de dos o más polímeros diferentes de **Fórmula I** en combinación con el agente terapéutico de base vírica. Las nanopartículas pueden comprender una combinación de un primer polímero de **Fórmula I** que está PAG-ilado o PEG-ilado, y un segundo polímero de **Fórmula I** que no está PAG-ilado o PEG-ilado. Por ejemplo, las nanopartículas pueden comprender (i) un polímero como se define en los aspectos previos de la invención que se caracterizan por que al menos un grupo R_3 que es un polialquilen glicol, en combinación con (ii) un segundo polímero que no se caracteriza por un grupo R_3 que es un polialquilen glicol. La relación de los dos polímeros diferentes (i) con respecto a (ii) puede ser de 1:99, 5:95, 10:90, 25:75, 35:65, 50:50, 65:35, 75:25, 90:10, 95:5, o 99:1 en peso o en volumen. En una realización, la relación de los polímeros (i) y (ii) es de 25:75 a 45:55, preferentemente de 35:65 (v/v).

Las nanopartículas de la presente invención se pueden formar con un elevado contenido de agente activo y elevada eficacia de encapsulado.

25 En la presente memoria, la eficacia de encapsulado de agente activo hace referencia al agente terapéutico de base vírica incorporado en las nanopartículas en forma de porcentaje en peso del agente activo total usado en el método de preparación de las nanopartículas que contienen agente terapéutico de base vírica. Típicamente, es hasta e incluyendo un 95 %, más típicamente de un 70 % a un 95 %.

30 En la presente memoria, el atrapamiento de agente terapéutico de base vírica hace referencia al porcentaje en peso del agente vírico en las nanopartículas cargadas con agente vírico. El atrapamiento del agente terapéutico de base vírica es preferentemente de al menos un 2 % en peso, más preferentemente al menos un 5 % en peso, más preferentemente al menos un 10 % en peso y típicamente está dentro del intervalo de un 2 % en peso a un 20 % en peso, más preferentemente de un 5 % en peso a un 20 % en peso, más preferentemente de un 10 % en peso a un 20 % en peso.

40 Cuando la composición comprende nanopartículas, preferentemente, las nanopartículas constituyen de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 90 % en peso de la composición. Más preferentemente, las nanopartículas constituyen de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 50 % en peso de la composición, más preferentemente, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 30 %. La composición puede comprender además un vehículo. El vehículo puede ser un diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, como se conoce en la técnica. El vehículo es típicamente inactivo desde el punto de vista farmacológico. Preferentemente, el vehículo es un líquido polar. Los vehículos particularmente preferidos incluyen agua y disoluciones acuosas fisiológicamente aceptables que contienen sales y/o tampones, por ejemplo, disolución salina o disolución salina tamponada con fosfato. Opcionalmente, el vehículo es un fluido biológico. Un vehículo líquido se puede eliminar por medio de, por ejemplo, liofilización, evaporación o centrifugación para almacenamiento o para proporcionar un polvo para administración nasal o pulmonar, un polvo para suspensión para infusión, o comprimidos o cápsulas para administración oral.

50 La administración de las composiciones descritas en la presente memoria puede ser por medio de cualesquiera modos de administración aceptados para dichas composiciones que incluyen, aunque no de forma limitativa, oral, sublingual, subcutánea, intravenosa, intratumoral, intranasal, tópica, transdérmica, intraperitoneal, intramuscular, intrapulmonar, vaginal, rectal o intraocular. En algunas realizaciones, se usa administración oral o parenteral. En algunas realizaciones las composiciones se administran por vía intravenosa o intratumoral.

55 Las nanopartículas son biocompatibles y suficientemente resistentes a su entorno de uso de manera que una cantidad suficiente de las nanopartículas permanece sustancialmente intacta tras la entrada en el cuerpo del mamífero de forma que sea capaz de alcanzar la diana deseada y logre el efecto fisiológico deseado. Los polímeros descritos en la presente memoria son biocompatibles y preferentemente biodegradables.

60 En la presente memoria, el término "biocompatible" describe una sustancia que se puede insertar o inyectar en un sujeto vivo sin provocar una respuesta adversa. Por ejemplo, no provoca inflamación o rechazo agudo por parte del sistema inmunológico que no se pueda controlar de manera adecuada. Se reconoce que "biocompatible" es un término relativo, y cabe esperar cierto grado de respuesta inmunológica incluso para sustancias que sean altamente compatibles con los tejidos vivos. Un ensayo *in vitro* para evaluar la biocompatibilidad de una sustancia consiste en exponerla a las células; las sustancias biocompatibles típicamente no dan lugar a una muerte celular significativa

(por ejemplo, > 20 %) en concentraciones moderadas (por ejemplo, de 29 µg/10⁴ células).

En la presente memoria, el término "biodegradable" describe un polímero que se degrada en un entorno fisiológico para formar monómeros y/u otros restos no poliméricos que se pueden reutilizar por parte de las células o se pueden eliminar sin un efecto tóxico significativo. La degradación puede ser biológica, por ejemplo, mediante actividad enzimática o maquinaria celular, o puede ser química, típicamente un proceso químico que tiene lugar en condiciones fisiológicas. La degradación de un polímero puede tener lugar a tasa variables, con una semivida del orden de días, semanas, meses o años, dependiendo del polímero o copolímero usado. Preferentemente, los componentes no inducen inflamación u otros efectos adversos *in vivo*. En determinadas realizaciones preferidas, las reacciones químicas basadas en la ruptura de los compuestos biodegradables no están catalizadas.

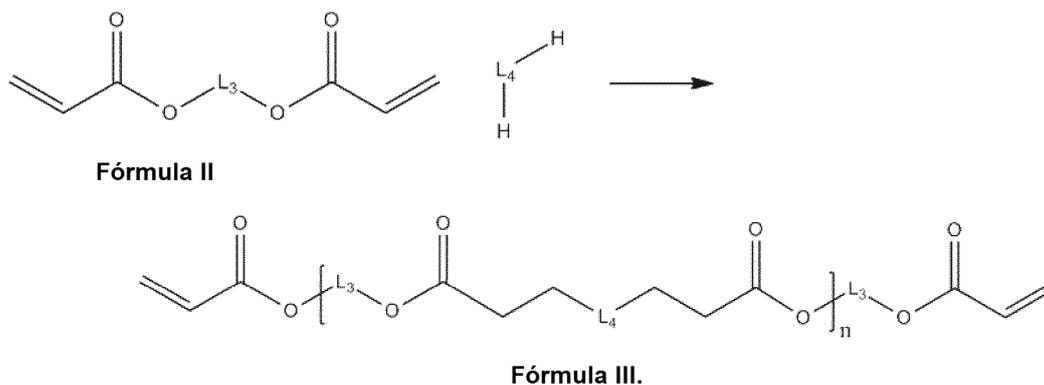
En la presente memoria, el término "nanopartículas" hace referencia a una partícula sólida con un diámetro de aproximadamente 1 nm a menos de 1000 nm. En la presente memoria, el término "nanopartículas" hace referencia a una partícula sólida con un diámetro de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 100 µm. El diámetro medio de las nanopartículas de la presente invención se puede determinar por medio de métodos conocidos en la técnica, preferentemente por medio de dispersión de luz dinámica. En particular, la invención se refiere a nanopartículas que son partículas sólidas con un diámetro de aproximadamente 1 nm a menos de 1000 nm, cuando se analiza por medio de dispersión de luz dinámica con un ángulo de dispersión de 90° y a una temperatura de 25 °C, usando una muestra apropiadamente diluida con agua filtrada y un instrumento apropiado tal como instrumentos Zetasizer™ de Malvern Instruments (UK) de acuerdo con el método de ensayo estándar ISO 22412:2008 (método acumulados A 1.3.2). Cuando se dice que una partícula tiene un diámetro de x nm, generalmente existe una distribución de partículas de aproximadamente esta media, pero al menos un 50 % en número (por ejemplo, > 60 %, >70 %, >80 %, >90 %, o más) de partículas tienen un diámetro dentro del intervalo de x ±20 %. El diámetro de las nanopartículas de la presente invención se puede determinar también por medio de microscopía electrónica de barrido.

Preferentemente, el diámetro de la nanopartícula es de aproximadamente 10 a menos de 1000 nm, más preferentemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 nm, más preferentemente de 50 a aproximadamente 400 nm, más preferentemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 150 nm. Como alternativa, el diámetro de la nanopartícula es de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 nm. En una realización, las nanopartículas exhiben un grado de aglomeración menor que un 10 %, preferentemente menor que un 5 %, preferentemente menor que un 1 %, y preferentemente las nanopartículas no están sustancialmente aglomeradas, como se determina por medio de microscopía electrónica de transmisión.

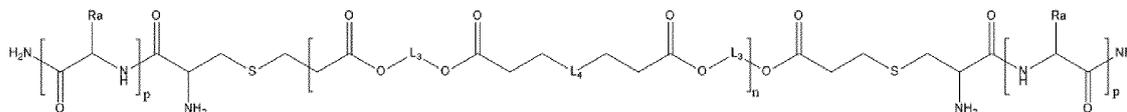
La presente invención además proporciona un método de encapsulado de un agente terapéutico de base vírica en una matriz de polímero de **Fórmula I** para formar nanopartículas, comprendiendo el método: proporcionar el agente terapéutico de base vírica; proporcionar el polímero; y poner en contacto el agente terapéutico de base vírica y el polímero en condiciones apropiadas para formar nanopartículas. En particular, el agente terapéutico de base vírica se puede mezclar en disolución a concentraciones apropiadas para obtener la relación deseada, se puede mezclar lentamente y posteriormente se puede incubar a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos para permitir la interacción electrostática entre la carga superficial negativa del virus y la carga positiva del polímero objeto de formación. El complejo polímero-virus se encuentran entonces listo para ser utilizado.

Métodos sintéticos

Un método para sintetizar el polímero de **Fórmula I** comprende las etapas de hacer reaccionar un compuesto de **Fórmula II**, donde L₃ es como se ha definido anteriormente, con un compuesto de fórmula L₄H₂, donde L₄ es como se ha definido anteriormente, para producir un polímero de **Fórmula III** como se muestra a continuación.



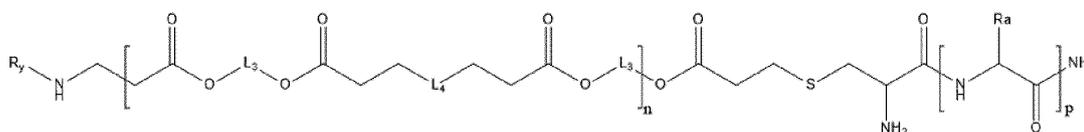
El compuesto de **Fórmula III** se hace reaccionar con compuestos de **Fórmula IV** para formar un compuesto de **Fórmula V**:



Fórmula V,

5 donde p y R_a independientemente en cada aparición están seleccionados entre el listado definido con anterioridad. En algunos casos, cada aparición de p es la misma y los grupos R_a están seleccionados de forma que la secuencia de grupos R_a partiendo del enlace de azufre es la misma en cada extremo del compuesto, es decir, p y R_a están seleccionados de forma que el polímero tiene simetría de doble pliegue aproximadamente L_4 .

10 En una alternativa de la etapa anterior, el compuesto de **Fórmula III** se hace reaccionar además con compuestos fórmula H_2NR_y , donde R_y es como se ha definido anteriormente, y los compuestos de **Fórmula IV** y la mezcla resultante se separa para obtener un compuesto de **Fórmula VI**:



Fórmula VI,

15 donde R_a está seleccionado independientemente en cada aparición entre los listados definidos anteriormente y p es como se ha definido con anterioridad.

20 Se reconoce que los métodos adicionales de unión de un oligopéptido al compuesto de **Fórmula III** estarían disponibles para la persona experta, la cual tendría en cuenta los nucleófilos apropiados para la reacción en los grupos acrilato terminales de **Fórmula III**.

25 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un complejo o una composición como se define en la presente memoria para uso en medicina.

30 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un complejo o una composición como se define en la presente memoria para uso en una terapia génica vírica sistémica.

35 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un complejo o una composición como se define en la presente memoria para uso en el tratamiento de cáncer. En algunas realizaciones el cáncer es cáncer hepático. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de páncreas.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra los resultados de los ensayos de coagulación.

40 La Figura 2 muestra los resultados de los ensayos para determinar la activación de las plaquetas. Los ensayos de polímero se muestran como la barra a mano izquierda en cada uno de los resultados de "polímero" y "polímero + ADP" de la Figura 2. Los ensayos de DMSO se muestran como la barra a mano derecha en cada uno de los resultados de "polímero" y "polímero + ADP" de la Figura 2.

45 La Figura 3 muestra una representación esquemática del adenovirus oncolítico AdNuPARmE1A.

La Figura 4 muestra representaciones esquemáticas de adenovirus AduPARmE1A y AdNuPARmE1A.

50 La Figura 5 muestra un virus (1) sin el revestimiento polimérico de acuerdo con la invención, y el mismo virus atacado por un anticuerpo de enlace (2)

La Figura 6 muestra un virus revestido (1) con un revestimiento polimérico (3) de acuerdo con la invención. El anticuerpo (4) es incapaz de unirse al virus debido a la presencia del revestimiento polimérico.

55 La Figura 7 muestra los resultados de los ensayos para determinar la capacidad de enmascaramiento de los polímeros de PBAE frente a los anticuerpos de neutralización.

La Figura 8 muestra los resultados de los ensayos para determinar la activación de la respuesta inmunológica adaptativa, específicamente la determinación del ND50 comentado a continuación en la presente memoria.

5 La Figura 9 muestra los resultados de los ensayos para determinar los parámetros cinéticos de circulación sanguínea.

La Figura 10 muestra los resultados de los ensayos para determinar el tropismo hepático donde RLU hace referencia a Unidades de Luz Relativas.

10 La Figura 11 muestra los resultados de los ensayos para determinar el tropismo tumoral donde RLU hace referencia a Unidades de Luz Relativas.

La Figura 12 muestra el protocolo del estudio de actividad antitumoral explicado en el ejemplo 16.

15 La Figura 13 muestra los resultados del estudio llevado a cabo en el ejemplo 16.

La Figura 14 muestra los resultados del estudio llevado a cabo en el ejemplo 16.

20 La Figura 15 muestra los resultados del estudio llevado a cabo en el ejemplo 17.

La Figura 16 muestra los resultados del estudio llevado a cabo en el ejemplo 17.

La figura 17 muestra los resultados del estudio llevado a cabo en el ejemplo 17.

25 La figura 18 muestra los resultados del estudio llevado a cabo en el ejemplo 17.

La Figura 19 muestra una microfotografía de microscopía electrónica de transmisión de SAG-101.

30 La Figura 20 muestra los resultados del estudio llevado a cabo en el ejemplo 19.

La Figura 21 muestra una microfotografía de microscopía electrónica de barrido de las nanopartículas del ejemplo 20.

35 La invención se ilustra adicionalmente por medio de los siguientes ejemplos. Se aprecia que los ejemplos son con fines ilustrativos únicamente y no se pretende que limiten la invención como se ha descrito con anterioridad. Se pueden hacer modificaciones de los detalles sin desviarse del alcance de la invención.

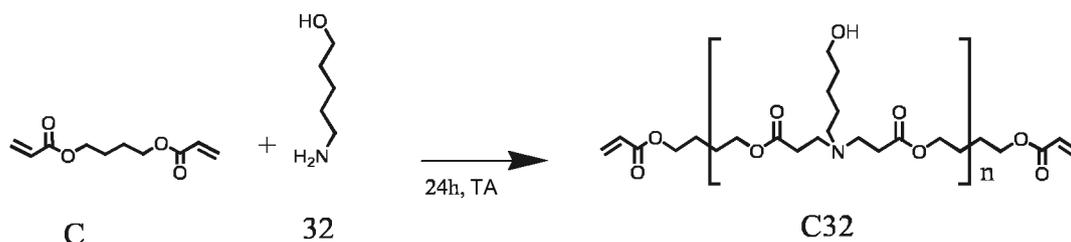
Ejemplos

40 Ejemplo 1: Síntesis de polímeros PBAE

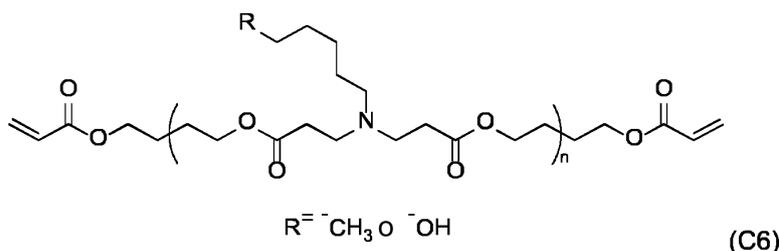
Se sintetizaron poli(β -aminoésteres) mediante un procedimiento de dos etapas, descrito en la bibliografía (por ejemplo, en Montserrat, N. *et al.* J. Biol. Chem. 286, 12417-12428 (2011)). En primer lugar, se sintetizó un polímero con terminación de acrilato mediante reacción de adición de aminas primarias con diacrilatos (a una relación molar de 1:1,2 de amina:diacrilato). Por último, se obtuvieron PBAEs por medio de modificación de la protección terminal del polímero resultante con terminación de acrilato con diferentes tipos de restos que portan amina y tiol. Se confirmaron las estructuras sintetizadas por medio de análisis de ^1H -RMN y FT-IR. Se registraron los espectros de RMN en un Varian 400 MHz (Varian NMR Instruments, Claredon Hills, IL) y se usó metanol- d_4 como disolvente. Se obtuvieron los espectros de IR usando un Nicolet Magna 560 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) con un separador de haz de KBr, usando metanol como disolvente en película evaporada. Se llevó a cabo la determinación de peso molecular en un sistema HPLC Hewlett-Packard 1050 Series equipado con dos columnas GPC Ultrastyrigel, 10^3 y 10^4 Å (5 μm mixtas, 300 mm x 19 mm, Waters Millipore Corporation, Milford, MA, EE.UU) y THF como fase móvil. Se calculó el peso molecular por medio de comparación con los tiempos de retención de patrones de poliestireno.

55 Ejemplo 2: Síntesis de intermedio con terminación de acrilato (C32)

60 Se mezclaron diacrilato de 1,4-butanodiol (8,96 g, $4,07 \times 10^{-2}$ mol) y 5-amino-1-pentanol (3,5 g, $3,39 \times 10^{-2}$ mol) en un vial. Se agitó la mezcla a 90 °C durante 24 h, y posteriormente se enfrió a temperatura ambiente para formar un sólido ligeramente viscoso amarillo, el intermedio con terminación de acrilato (designado como C32). Se almacenó el intermedio C32 a 4 °C antes de uso en etapas posteriores.



Ejemplo 2A: Síntesis de intermedio con terminación de acrilato (C6)



5

Se mezclaron en un matraz de fondo redondo 5-amino-1-pentanol (3,9 g, 38 mmol), hexilamina (3,8 g, 38 mmol) y diacrilato de 1,4-butanodiol (18 g, 82 mmol) y se agitó la reacción a 90 °C bajo nitrógeno durante 18 h. Tras enfriar a temperatura ambiente, se recogió el producto (designado como C6) en forma de aceite amarillo (25 g, n = 8, Mw = 2300). El producto se analizó por medio de RMN y GPC.

10

¹H-RMN (CDCl₃): 6,40 (dd, 2H, J 17,3, 1,5 Hz), 6,11 (dd, 2H, J 17,3, 10,4 Hz), 5,82 (dd, 2H, J 10,4, 1,5 Hz), 4,18 (m, 4H), 4,08 (m, 32 H), 3,61 (m, 16H), 2,76 (m, 32H, J 7,2 Hz), 2,41 (m, 48H), 1,69 (m, 32H), 1,56 (m, 8H), 1,49-1,20 (m, 40H) y 0,87 (t, 12H, J 6,9 Hz) ppm.

Ejemplo 2B: Síntesis de intermedio con terminación de acrilato que se caracteriza por enlace disulfuro

Se polimerizó 4-amino-1-butanol o 5-amino-1-pentanol con una mezcla equimolar de diacrilato de hexan-1,6-diilo y disulfandiilbis(etano-2,1-diil)diacrilato para formar intermedios con terminación de acrilato que se caracterizan por un enlace disulfuro.

20

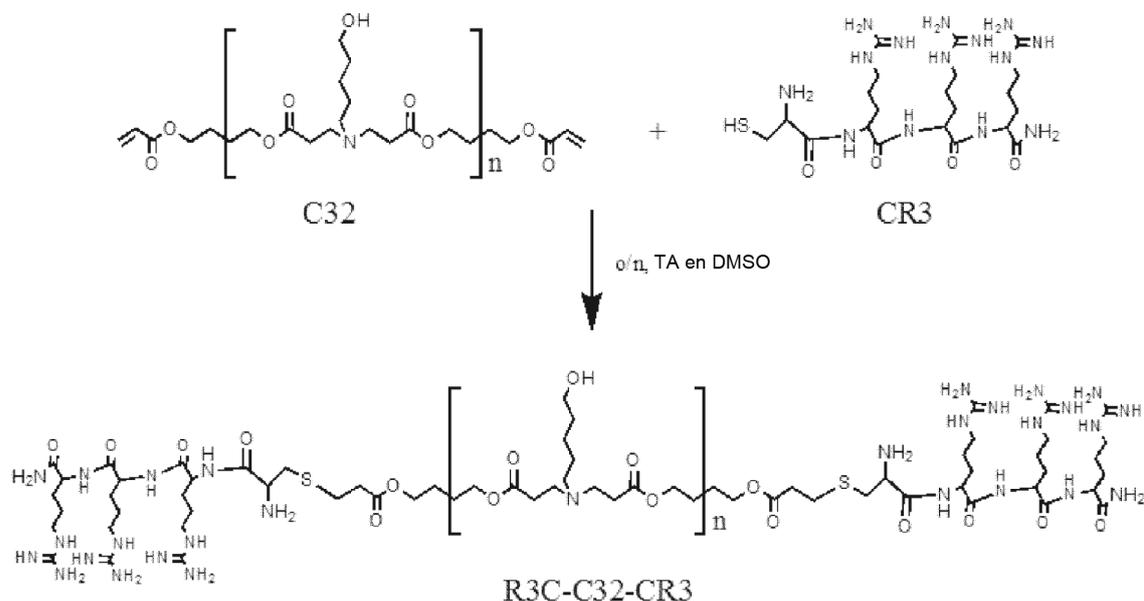
Ejemplo 3: Síntesis de PBAE con modificación terminal de oligopéptidos

En general, se obtuvieron PBAE con modificación de oligopéptido como se muestra a continuación: se mezclaron polímero C32 o C32SS con terminación de acrilato y oligopéptido con terminación bien de amina o de tiol (por ejemplo, HS-Cys-Arg-Arg-Arg (CR3), H₂N-Arg-Arg-Arg (R3) o HS-Cys-Glu-Glu-Glu (CE3) - otros oligopéptidos se indican por medio de abreviaturas similares usando el código convencional de una letra) con una relación molar de 1:2 en DMSO. Se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente y se obtuvo el polímero resultante por medio de precipitación en éter dietílico:acetona (3:1).

25

(a) Se muestra el siguiente procedimiento sintético para obtener PBAEs con modificación terminal de tri-arginina a modo de ejemplo: Se preparó el intermedio C32 como se describe en el Ejemplo 2 anterior. Se mezcló una disolución del intermedio C32 (0,15 g, 0,075 mmol) en DMSO (2 ml) con la disolución correspondiente de oligopéptido (Cys-Arg-Arg-Arg (CR3; 0,11 g, 0,15 mmol)) en DMSO (1 ml) en una relación molar apropiada, 1:2 respectivamente. La mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente, posteriormente se precipitó en éter dietílico/acetona (3:1).

35



IR (película evaporada): $\nu = 721, 801, 834, 951, 1029, 1133$ (C-O), $1201, 1421, 1466, 1542, 1672$ (C=O, a partir de amida de péptido), 1731 (C=O, a partir de éster), $2858, 2941, 3182, 3343$ (N-H, O-H) cm^{-1} **¹H-RMN** (400 MHz, CD_3OD , TMS) (ppm): $\delta = 4,41\text{-}4,33$ (a, $\text{NH}_2\text{-C(=O)-CH-NH-C(=O)-CH-NH-C(=O)-CH-NH-C(=O)-CH-CH}_2\text{-}$), $4,11$ (t, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), $3,55$ (t, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$), $3,22$ (a, $\text{NH}_2\text{-C(=NH)-NH-CH}_2\text{-}$, $\text{OH-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH}_2\text{-N-}$), $3,04$ (t, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-}$), $2,82$ (dd, $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-}$), $2,48$ (a, $-\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(=O)-O}$), $1,90$ (m, $\text{NH}_2\text{-C(=NH)-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH}_2\text{-CH-}$), $1,73$ (a, $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), $1,69$ (m, $\text{NH}_2\text{-C(=NH)-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$), $1,56$ (a, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$), $1,39$ (a, $-\text{N-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-OH}$).

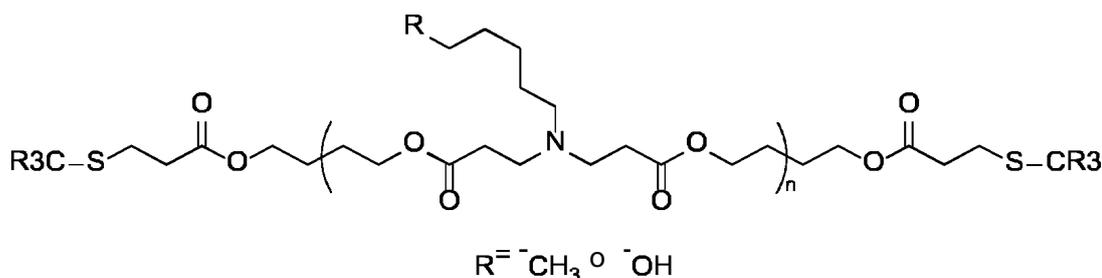
(b) Se prepararon oligopéptidos modificados con tri-lisina (K3C-C32-CK3) de acuerdo con el mismo protocolo y se caracterizó como se muestra a continuación:

IR (película evaporada): $\nu = 721, 799, 834, 1040, 1132, 1179$ (C-O), $1201, 1397, 1459, 1541, 1675$ (C=O, a partir de amida de péptido), 1732 (C=O, a partir de éster), $2861, 2940, 3348$ (N-H, O-H) cm^{-1} **¹H-RMN** (400 MHz, CD_3OD , TMS) (ppm): $\delta = 4,38\text{-}4,29$ (a, $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH-}$), $4,13$ (t, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$), $3,73$ (a, $\text{NH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-S-}$), $3,55$ (t, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$), $2,94$ (a, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-}$, $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH-}$), $2,81$ (dd, $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-}$), $2,57$ (a, $-\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(=O)-O}$), $1,85$ (m, $\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH}_2\text{-CH-}$), $1,74$ (a, $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), $1,68$ (m, $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH-}$), $1,54$ (a, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$), $1,37$ (a, $-\text{N-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-OH}$).

(c) Se prepararon oligopéptidos modificados con tri-histidina (H3C-C32-CH3) de acuerdo con el mismo protocolo y se caracterizó como se muestra a continuación:

IR (película evaporada): $\nu = 720, 799, 832, 1040, 1132, 1201, 1335, 1403, 1467, 1539, 1674$ (C=O, a partir de amida de péptido), 1731 (C=O, a partir de éster), $2865, 2941, 3336$ (N-H, O-H) cm^{-1} **¹H-RMN** (400 MHz, CD_3OD , TMS) (ppm): $\delta = 8,0\text{-}7,0$ (a, $-\text{N(=CH)-NH-C(=CH)-}$), $4,61\text{-}4,36$ (a, $-\text{CH}_2\text{-CH-}$), $4,16$ (t, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$), $3,55$ (t, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$), $3,18$ (t, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N-}$), $3,06$ (dd, $-\text{CH}_2\text{-CH-}$), $2,88$ (a, $\text{OH-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH}_2\text{-N-}$), $2,82$ (dd, $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-}$), $2,72$ (a, $-\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(=O)-O}$), $1,75$ (a, $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), $1,65$ (m, $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH-}$), $1,58$ (a, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$), $1,40$ (a, $-\text{N-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-OH}$).

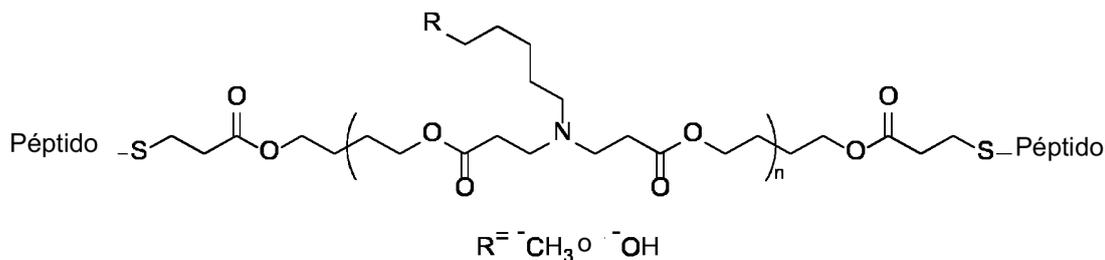
Ejemplo 3A: Síntesis de PBAE con modificación terminal de oligopéptidos (R3C-C6-CR3)



Para obtener el clorhidrato del péptido, se añadieron 20 ml de HCl 0,1 M al péptido CRRR (200 mg) y se secó por congelación la disolución.

En un matraz de fondo redondo, se mezclaron una disolución de PBAE C6 (113 mg, 0,054 mmol) en sulfóxido de dimetilo (1,1 ml) y una disolución de clorhidrato de péptido CRRR (99 mg, 0,13 mmol) en sulfóxido de dimetilo (1 ml). Se agitó la reacción a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 24 h. Se añadió la mezcla de reacción sobre éter dietílico-acetona (7:3) y se obtuvo un precipitado blanco. Se centrifugó la suspensión a 4000 rpm durante 10 minutos y se eliminó el disolvente. Se lavó el sólido dos veces con éter dietílico-acetona (7:3) y se secó a vacío para obtener un sólido blanco (233 mg). Se analizó el producto por medio de RMN (MeOD) y la estructura estuvo en concordancia.

Ejemplo 3B: Síntesis de otros PBAE con modificación terminal de oligopéptidos



Se usó el mismo procedimiento descrito para la síntesis de PBAE R3C-C6-CR3 con PBAE C6 para la síntesis de:

- 15
- PBAE H3C-C6-CH3 con péptido CHHH.
 - PBAE K3C-C6-CK3 con péptido CKKK.
 - PBAE D3C-C6-CD3 con péptido CDDD.
 - PBAE E3C-C6-CE3 con péptido CEEE.

20 Ejemplo 3C: Síntesis de otros PBARs con modificación terminal de oligopéptidos

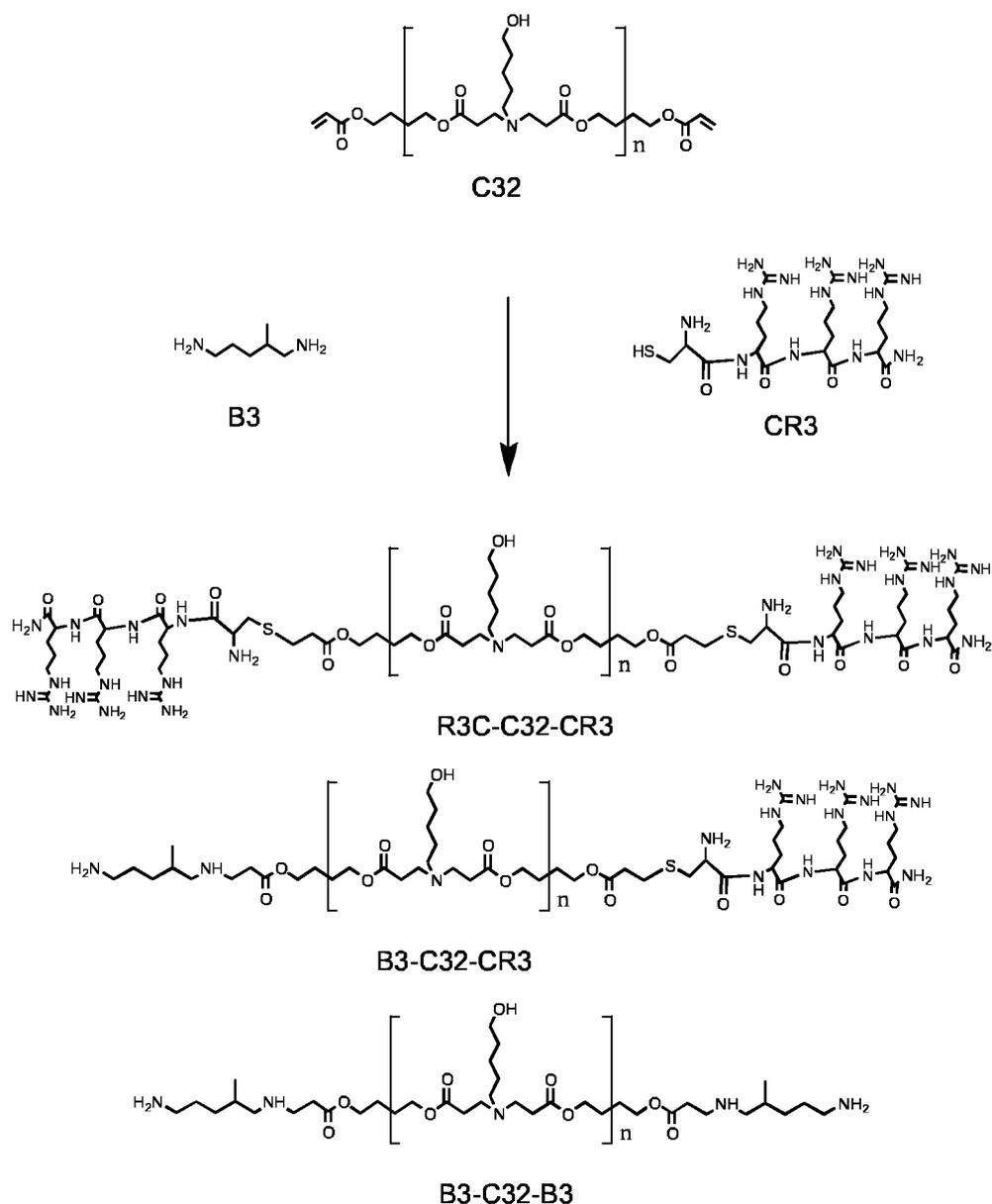
Se puede usar el procedimiento descrito anteriormente para la síntesis de PBAE R3C-C6-CR3 con PBAE C32 para la síntesis de:

- 25
- PBAE R3C-C32-CR3 con péptido CRRR.
 - PBAE H3C-C32-CH3 con péptido CHHH.
 - PBAE K3C-C32-CK3 con péptido CKKK.
 - PBAE D3C-C32-CD3 con péptido CDDD.
 - PBAE E3C-C32-CE3 con péptido CEEE.

30 Ejemplo 4: Síntesis de PBAE con modificaciones terminales asimétricas

En general, se obtuvieron PBAE con modificación de oligopéptido asimétrica como se muestra a continuación: Se mezclaron polímero C32 (o C32SS) con terminación de acrilato y oligopéptido con terminación bien de amina o de tiol (por ejemplo, CR3, R3 o CE3) con una relación molar de 1:1 en DMSO. La mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Se añadió una cantidad equimolar de un segundo oligopéptido con terminación de amina o tiol, o de una amina primaria, y se agitó la mezcla durante una noche a temperatura ambiente. Se obtuvieron los polímeros de PBAE asimétricos resultantes por medio de precipitación en éter dietílico/acetona (3:1).

40 Se muestra el siguiente procedimiento sintético para obtener PBAEs B3-C32-CR3 con modificación terminal asimétrica a modo de ejemplo: se mezcló una disolución del intermedio C32 (0,15 g, 0,075 mmol) en DMSO (2 ml) con la disolución correspondiente de oligopéptido Cys-Arg-Arg-Arg (CR3; 0,055 g, 0,075 mmol) en DMSO (1 ml) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadió 2-metil-1,5-pentandiamina (0,017 g, 0,02 ml, 0,15 mmol) en la mezcla durante 4 h a temperatura ambiente en DMSO. Se obtuvo una mezcla de polímero B3-C32-CR3 con modificación terminal asimétrico con B3-C32-B3 y R3C-C32-CR3 por medio de precipitación durante la noche en éter dietílico/acetona (3:1). Se puede separar el polímero B3-C32-CR3 con modificación terminal asimétrico de la mezcla por medio de métodos convencionales.



5

Ejemplo 5A: Síntesis de PBAE modificado con PEG

Etapa 1: Síntesis de MeO-PEG-COOH

10

A una disolución de MeO-PEG (5 g, Mw = 2000, 2,5 mmol) y anhídrido succínico (0,275 g, 2,75 mmol) en diclorometano (5 ml) se añadió trietilamina (0,174 ml, 1,25 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 h y se lavó con HCl 1 M (1 ml) dos veces. Se lavó la fase orgánica con salmuera dos veces y se secó sobre MgSO₄. Se filtró el sólido y se evaporó el disolvente a vacío para obtener un sólido blanco (4,47 g). Se analizó el producto por medio de RMN (CDCl₃) y la estructura estuvo en concordancia.

15

Etapa 2: Síntesis de N-boc 5-amino-1-pentanol

20

A una disolución de 5 amino-1-pentanol (0,525 g, 5,1 mmol) y trietilamina (0,779 ml, 5,6 mmol) en diclorometano (16 ml) se añadió una disolución de dicarbonato de di-terc-butilo (1,1 g, 5,1 mmol) en diclorometano (5 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h y se lavó con HCl 0,5 M (1 ml) tres veces. Se secó la fase orgánica sobre MgSO₄. Se filtró el sólido y se evaporó el disolvente a vacío para obtener un sólido blanco (1,3 g). Se analizó el producto por medio de RMN (CDCl₃) y la estructura estuvo en concordancia.

25

Etapa 3: Síntesis de MeO-PEG-NHBoc

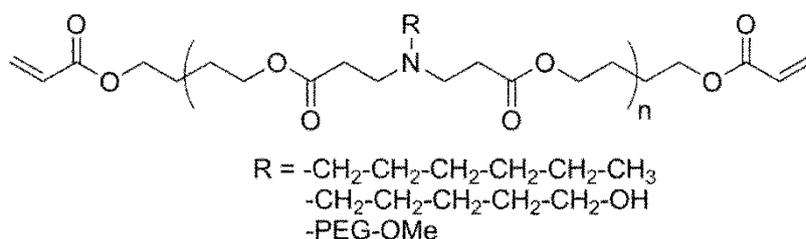
A una disolución de MeO-PEG-COOH (1 g, 0,49 mmol) en diclorometano (14 ml) se añadieron

diciclohexilcarbodiimida (151 mg, 0,74 mmol) y N,N'-dimetilaminopiridina (9 mg, 0,074 mmol). Transcurridos 5 minutos, se añadió una disolución de N-boc 5-amino-1-pentanol (100 mg, 0,49 mmol) en diclorometano (1 ml) a la mezcla. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 6 h y posteriormente se filtró el sólido. Se evaporó el disolvente a vacío y se lavó el residuo con éter dietílico (5 ml) tres veces. Se secó el producto a vacío para obtener un sólido blanco (0,940 g). Se analizó el compuesto por medio de RMN (CDCl₃) y la estructura estuvo en concordancia con la estructura anticipada.

Etapa 4: Síntesis de MeO-PEG-NH₂

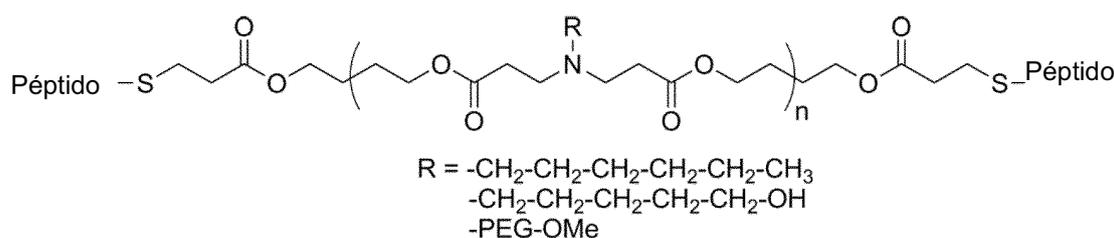
A una disolución de MeO-PEG-NHBoc (464 mg, 0,21 mmol) en diclorometano (3 ml) se añadió ácido trifluoroacético (1,2 ml) a 0 °C. Se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 10 minutos y posteriormente se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se redujo el disolvente a vacío y se lavó el residuo con éter dietílico (5 ml) dos veces. Se disolvió el producto en diclorometano (8 ml) y se lavó con NaOH 0,5 M (1 ml) dos veces. Se lavó la fase orgánica con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Se filtró el sólido y se evaporó el disolvente a vacío para obtener un sólido blanco (319 mg). Se analizó el producto por medio de RMN (CDCl₃) y la estructura estuvo en concordancia con la estructura anticipada.

Etapa 5: Síntesis de polímeros PBAE C6-PEG



Se mezclaron 5 amino-1-pentanol (42 mg, 0,41 mmol), hexilamina (41 mg, 0,41 mmol) y MeO-PEG-NH₂ (314 mg, 0,14 mmol) en diclorometano (2 ml) y se redujo el disolvente a vacío. Se añadió al residuo diacrilato de 1,4-butanodiol (198 mg, 1 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a 90 °C bajo nitrógeno durante 18 h. Tras enfriar a temperatura ambiente, se recogió el producto en forma de sólido amarillo (527 mg, n = 7). Se analizó el producto por medio de RMN (CDCl₃) y la estructura estuvo en concordancia.
¹H-RMN (CDCl₃): 6,40 (dd, 2H, J 17,3, 1,5 Hz), 6,11 (dd, 2H, J 17,3, 10,4 Hz), 5,82 (dd, 2H, J 10,4, 1,5 Hz), 4,18 (m, 4H), 4,08 (m, 2H), 3,63 (m, -OCH₂-CH₂O-, PEG), 3,37 (s, CH₃O-, PEG), 2,76 (m, 28H), 2,43 (m, 42H), 1,80-1,20 (m) y 0,87 (t, 12H, J 6,9 Hz) ppm.

Etapa 6: Síntesis de polímeros PBAE R3C-C6-CR3-PEG



Para obtener el clorhidrato del péptido, se añadieron 15 ml de HCl 0,1 M al péptido CRRR (150 mg) y se secó por congelación la disolución.

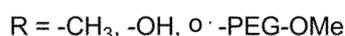
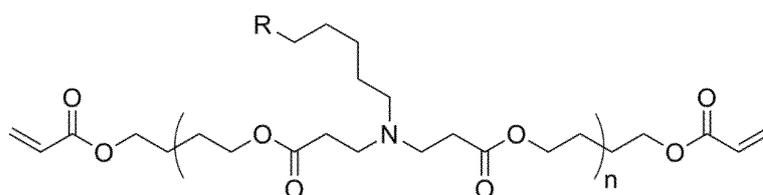
En un matraz de fondo redondo, se mezclaron una disolución de PBAE C6-PEG (92 mg, 0,022 mmol) en sulfóxido de dimetilo (1,2 ml) y una disolución de clorhidrato de péptido CRRR (40 mg, 0,054 mmol) en sulfóxido de dimetilo (1,1 ml). Se agitó la reacción a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 20 h. Se añadió la mezcla de reacción sobre éter dietílico-acetona (7:3) y se obtuvo un precipitado blanco. Se centrifugó la suspensión a 4000 rpm durante 10 minutos y se eliminó el disolvente. Se lavó el sólido dos veces con éter dietílico-acetona (7:3) y se secó a vacío para obtener un sólido blanco (133 mg). Se analizó el producto por medio de RMN (MeOD) y la estructura estuvo en concordancia.

Ejemplo 5B: Síntesis de PBAEs modificados con PEG donde PEG está unido al PBAE a través de un resto de enlace

Etapa 1: Síntesis de Ácido metoxi-PEG

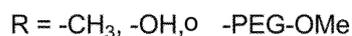
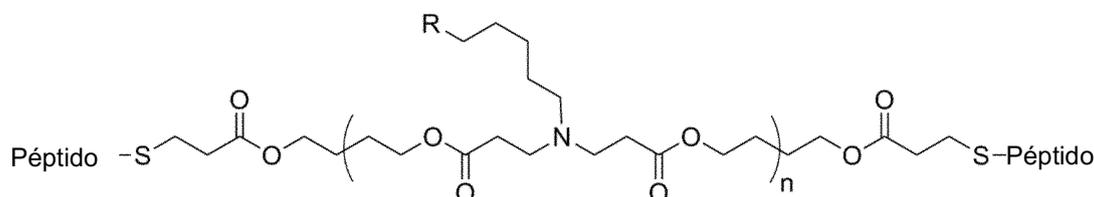
1. Añadir metoxi-PEG (5 g, 2,5 mmol) a un matraz de fondo redondo.
2. Añadir diclorometano (5 ml) al matraz.
3. Añadir anhídrido succínico (0,275 g, 2,75 mmol) a la disolución.
4. Añadir trietilamina (0,174 ml, 1,25 mmol) a la mezcla.
5. Después, agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 4 h.
6. Lavar la reacción de mezcla con HCl 1 M (1 ml) dos veces.
7. Lavar la disolución con salmuera dos veces.
8. Secar la fase orgánica sobre MgSO₄.
9. Filtrar el sólido y evaporar el disolvente a vacío.

Etapa 2: Reacción de esterificación



1. Añadir ácido metoxi-PEG (230 mg, 0,11 mmol) en un tubo con tapa a rosca.
2. Añadir diclorometano (1,5 ml) al tubo.
3. Añadir dicitclohexilcarbodiimida (34 mg, 0,17 mmol) a la disolución.
4. Agitar la disolución durante 20 minutos a temperatura ambiente.
5. Añadir una disolución de PBAE C6 (200 mg, 0,099 mmol) en diclorometano (1 ml).
6. Después, agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 20 h.
7. Filtrar el sólido y evaporar el disolvente a vacío.

Etapa 3: Reacción con péptidos



1. Añadir HCl 0,1 M HCl (20 ml) al péptido Cys-Arg-Arg-Arg (200 mg).
2. Congelar la disolución a -80 °C y secar por congelación el péptido.
3. Preparar una disolución de PBAE C6-linkPEG (114 mg, 0,027 mmol) en diclorometano (0,8 ml).
4. Preparar una disolución de Cys-Arg-Arg-Arg (50 mg, 0,068 mmol) en diclorometano (0,8 ml).
5. Mezclar las dos disoluciones en un tubo con tapa de rosca.
6. Agitar la mezcla de disolución a temperatura ambiente durante 20 h.
7. Añadir gota a gota la mezcla a éter dietílico/acetona 7:3 (8 ml).
8. Centrifugar la suspensión a 4000 rpm durante 10 minutos y eliminar el disolvente.
9. Lavar el sólido con éter dietílico/acetona 7:3 (4 ml) dos veces.
10. Secar el producto a vacío.
11. Preparar una disolución de 100 mg/ml del producto en sulfóxido de dimetilo.

Ejemplo 6: Biblioteca de compuestos

Se sintetizó una biblioteca de diferentes PBAEs con modificación terminal de oligopéptido mediante adición de aminas primarias a diacrilatos seguida de modificación terminal. De acuerdo con la **Fórmula I**, se sintetizaron los PBAEs con modificación terminal de oligopéptido mostrados en la Tabla 1.

Tabla 1: Biblioteca de PBAEs con modificación terminal de oligopéptido donde al menos uno de R₁ y R₂ es un oligopéptido

Polímero	L ₃	L ₄	HL ₁ -R ₁	HL ₂ -R ₂
----------	----------------	----------------	---------------------------------	---------------------------------

ES 2 821 796 T3

Polímero	L ₃	L ₄	HL ₁ -R ₁	HL ₂ -R ₂
R3-C32-R3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H ₂ N-Arg-Arg-Arg	H ₂ N-Arg-Arg-Arg
K3-C32-K3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	NH ₂ -Lys-Lys-Lys	H ₂ N-Lys-Lys-Lys
H3-C32-H3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	NH ₂ -His-His-His	NH ₂ -His-His-His
R3C-C32-CR3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Arg-Arg-Arg	HS-Cys-Arg-Arg-Arg
K3C-C32-CK3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Lys-Lys-Lys	HS-Cys-Lys-Lys-Lys
H3C-C32-CH3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-His-His-His	HS-Cys-His-His-His
B3-C32-R3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H ₂ N-CH ₂ -(CH ₂) ₂ - CH(CH ₃)-CH ₂ -NH ₂	H ₂ N-Arg-Arg-Arg
B3-C32-CR3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H ₂ N-CH ₂ -(CH ₂) ₂ - CH(CH ₃)-CH ₂ -NH ₂	HS-Cys-Arg-Arg-Arg
B3-C32-CK3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H ₂ N-CH ₂ -(CH ₂) ₂ - CH(CH ₃)-CH ₂ -NH ₂	HS-Cys-Lys-Lys-Lys

(continuación)

Polímero	L ₃	L ₄	HL ₁ -R ₁	HL ₂ -R ₂
B3-C32-CH3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H ₂ N-CH ₂ -(CH ₂) ₂ - CH(CH ₃)-CH ₂ -NH ₂	HS-Cys-His-His- His
R3C-C32-CK3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Arg-Arg-Arg	HS-Cys-Lys-Lys- Lys
R3C-C32-CH3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Arg-Arg-Arg	HS-Cys-His-His- His
K3C-C32-CH3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Lys-Lys-Lys	HS-Cys-His-His- His
R3C-C32SS- CR3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Arg-Arg-Arg	HS-Cys-Arg-Arg- Arg
K3C-C32SS- CK3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Lys-Lys-Lys	HS-Cys-Lys-Lys- Lys
H3C-C32SS- CH3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-His-His-His	HS-Cys-His-His- His
B3-C32SS-CR3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H ₂ N-CH ₂ -(CH ₂) ₂ - CH(CH ₃)-CH ₂ -N H ₂	HS-Cys-Arg-Arg- Arg
B3-C32SS-CK3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H ₂ N-CH ₂ -(CH ₂) ₂ - CH(CH ₃)-CH ₂ -N H ₂	HS-Cys-Lys-Lys- Lys
B3-C32SS-CH3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H ₂ N-CH ₂ -(CH ₂) ₂ - CH(CH ₃)-CH ₂ -NH ₂	HS-Cys-His-His- His
R3C-C32SS- CK3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Arg-Arg-Arg	HS-Cys-Lys-Lys- Lys
R3C-C32SS- CH3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Arg-Arg-Arg	HS-Cys-His-His- His
K3C-C32SS- CH3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Lys-Lys-Lys	HS-Cys-His-His- His
D3C-C32-CD3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Asp-Asp-Asp	HS-Cys-Asp-Asp- Asp
E3C-C32-CE3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Glu-Glu-Glu	HS-Cys-Glu-Glu- Glu
D3C-C32-CE3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H S-Cys-Asp-Asp-Asp	HS-Cys-Glu-Glu- Glu
E3C-C32SS- CD3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Glu-Glu-Glu	HS-Cys-Asp-Asp- Asp
E3C-C32SS- CE3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Glu-Glu-Glu	HS-Cys-Glu-Glu- Glu
D3C-C32SS- CE3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ - CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H S-Cys-Asp-Asp-Asp	HS-Cys-Glu-Glu- Glu
R3C-C6-CR3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Arg-Arg-Arg	HS-Cys-Arg-Arg- Arg
		>N-(CH ₂) ₅ -CH ₃		
H3RC-C6- CRH3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Arg-His-His-His	HS-Cys-Arg-His- His-His
		>N-(CH ₂) ₅ -CH ₃		

(continuación)

Polímero	L ₃	L ₄	HL ₁ -R ₁	HL ₂ -R ₂
R3C-C6-CR3-linkPEG	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Arg-His-His-His	HS-Cys-Arg-His-His-His
		>N-(CH ₂) ₅ -CH ₃ >N-(CH ₂) ₅ -PEG-OMe		
R3C-C6-CR3-PEG	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	HS-Cys-Arg-Arg-Arg	HS-Cys-Arg-Arg-Arg
		>N-(CH ₂) ₅ -CH ₂		
		>N-PEG-OMe		

Tabla 2: Biblioteca de PBAEs con modificación terminal (compuestos de referencia)

Polímero	L ₃	L ₄	HL ₁ -R ₁	HL ₂ -R ₂
B3	-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	NH ₂ -CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ -NH ₂	H ₂ N-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ -NH ₂
B3-C32SS-B3	-CH ₂ -CH ₂ -S-S-CH ₂ -CH ₂ -	>N-(CH ₂) ₅ -OH	H ₂ N-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ -NH ₂	H ₂ N-CH ₂ -(CH ₂) ₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ -NH ₂

Ejemplo 7: Ensayo de coagulación

5 Generalmente, la cascada de coagulación se divide en tres mecanismos. Se evaluó el efecto de los polímeros descritos en la presente solicitud sobre los tres mecanismos de coagulación midiendo tres parámetros representativos. Específicamente, se midió el mecanismo intrínseco por medio del tiempo de tromboplastina parcialmente activada, se midió el mecanismo extrínseco por medio del tiempo de protrombina y se evaluó el mecanismo común final mediante medición del tiempo de trombina. Se evaluaron los posibles cambios en la cascada de coagulación debida a la unión o agotamiento de los factores de coagulación con los polímeros descritos en la presente invención midiendo el tiempo necesario para generar la formación de un coágulo.

10 El polímero usado contiene un 65 % de R3C-C6-CR3 y un 35 % de R3C-C6-CR3-PEG. Se estudiaron tres concentraciones diferentes: 355 µg/ml, 213 µg/ml y 106,5 µg/ml. Brevemente, se incubaron los polímeros con plasma completo humano a partir de al menos tres donantes. Se detectó la formación de coágulo por medio de un sistema de detección basado en viscosidad, usando un analizador de hemostasis, que mide en segundos. Este sistema evita la interferencia debida a los atributos fisicoquímicos de la muestra. Los valores de referencia para cada mecanismo son los siguientes: tiempo parcial de tromboplastina parcial (APTT) ≤ 34,1 s, tiempo de protrombina (PT) ≤ 13,4 s y tiempo de trombina (TT) ≤ 21 s. No existe recomendación alguna sobre el grado de prolongación, pero generalmente se considera fisiológicamente significativo una prolongación ≥ 2 veces el control normal.

15 Como se muestra en la Figura 1, no existen alteraciones de los tiempos de coagulación del plasma completo humano (control negativo) con respecto al control normal. Se usaron los controles normal y patológico (anormal) como controles internos de la técnica. Debido a que las reservas poliméricas se disolvieron en DMSO, también se incluye un control de la disolución en los ensayos. DMSO solo no mostró cambios en los tiempos de coagulación.

20 Como se muestra en la Figura 1, los polímeros no indujeron alteraciones significativas en los tiempos de coagulación a ninguna de las concentraciones sometidas a ensayo. Los tiempos de coagulación estuvieron dentro de los límites normales tras exposición del polímero a 355 µg/ml, 213 µg/ml y 106,5 µg/ml. El polímero disminuye el tiempo de protrombina (PT) a las concentraciones más elevadas sometidas a ensayo y fue estadísticamente significativo con respecto al control negativo.

Ejemplo 8: Ensayo de activación de las plaquetas

35 La activación de las plaquetas surge con el desgranulado y la activación de las células endoteliales, leucocitos y otras plaquetas, lo cual provoca finalmente la formación de un trombo. Las plaquetas son células con forma de disco anucleares de pequeño tamaño implicadas en la hemostasis primaria. Su estructura interna y la membrana juegan un papel central en la activación de las plaquetas. Uno de los marcadores más fiable para la activación de las plaquetas es CD62P. Esta es una proteína de selectina específica de plaquetas, que se expresa sobre la membrana interna de los α-gránulos de las plaquetas en reposo. Este receptor actúa como mediador en la inmovilización y enrollamiento de las plaquetas sobre la superficie de las células endoteliales activadas. Tras la activación de las plaquetas y la secreción de gránulos, la membrana de los α-gránulos se funde con la membrana plasmática externa y el antígeno CD62P se expresa sobre la superficie de la plaqueta activada.

Se midió el efecto de los polímeros descritos en la presente solicitud para inducir o inhibir la activación de las plaquetas por medio de la expresión de C62P sobre la superficie de la plaqueta activada por medio de citometría de flujo. El polímero usado contiene un 65 % de R3C-C6-CR3 y un 35 % de R3C-C6-CR3-PEG. Se estudiaron tres concentraciones diferentes: 355 µg/ml, 213 µg/ml y 106,5 µg/ml. Los resultados se normalizaron con respecto al nivel de base (control negativo). Se consideró un resultado positivo si la intensidad relativa fluorescente fue > 2,0 con respecto al control negativo.

Como se muestra en la Figura 2, los polímeros no inducen la activación de las plaquetas a ninguna de las concentraciones sometidas a ensayo cuando se incubó con un grupo de plasma rico en plaquetas (PRP). Debido a que la reserva polimérica se disolvió en DMSO, también se incluye un control de la disolución en los ensayos. Como se muestra en la Figura 2, DMSO no indujo la activación de las plaquetas.

Como control del potencial efecto inhibitor del polímero sobre la activación de las plaquetas, también se llevó a cabo el ensayo con ADP (adenosin difosfato). El polímero no inhibió la activación de las plaquetas en presencia de ADP. El resultado sugiere que los polímeros descritos en la presente solicitud no inducen o inhiben la activación de las plaquetas en las condiciones sometidas a ensayo.

Ejemplo 9: Virus AdNuPARmE1A

Estructura

Los genes con respuesta a entalladura se caracterizan por medio de un dominio de unión de ADN, que reconoce el factor de transcripción CSL, en la región del promotor. La presencia de los sitios de unión de CSL "emparejados por secuencia" (SPS) con orientación cabeza-a-cabeza y separados por 16nt favorece la dimerización del complejo transcripcional con entalladura, lo cual se traduce en la activación transcripcional de genes diana con entalladura, tales como Hes1 (Nam Y, Sliz P, Pear WS, Aster JC, Blacklow SC. El conjunto de cooperación de complejos de entalladura de alto orden funciona como conmutador para inducir la transcripción. Proc Natl Acad Sci USA. 2007; 104:2103-2108).

AdNuPARmE1A contiene un promotor sintético, sometido a estudio de ingeniería con tres secuencias que responden a la activación de la transducción de señales de entalladura (SPS) y un promotor uPAR mínimo, que controla la expresión E1A. Por otra parte, el elemento B2 nuclear entremezclado corto 214 bp procedente de la región de frontera de hormona de crecimiento (SINEB2) se inserta aguas arriba del promotor uPAR para actuar como secuencia de aislante con el fin de evitar la posible activación transcripcional inespecífica de E1A por parte del promotor vírico ITR, lo cual se traduciría en una disminución de la selectividad tumoral. La expresión del gen adenovírico E1A se controla por medio del promotor 3xSPSuPARm. Se sometió a clonación la secuencia de aislante SINEB2 aguas arriba de la secuencia de promotor (véase la Figura 3).

Producción y análisis

Se genera el adenovirus oncolítico AdNuPARmE1A en primer lugar sometiendo a clonación el promotor 3xSPSuPARm para dar lugar a un vector pShuttle e insertando el aislante SINEB2 aguas arriba del promotor para generar pShSINE3xSPSuPARmE1A. La recombinación homóloga del vector pShSINE3xSPSuPARmE1A con el genoma adenovírico, se lleva a cabo siguiente el protocolo normalizado para generar pAdNuPARmE1A. Posteriormente se someten a transfección los genomas recombinantes en células HEK293 y se amplifica en células A549 y se purifica por medio de tinción en bandas con cloruro de cesio convencional (Mato-Berciano A1, Raimondi G, Maliandi MV, Alemany R, Montoliu L, Fillat C. El adenovirus oncolítico con regulación de uPAR sensible a entalladura evita eficazmente la proliferación del tumor pancreático y desencadena efectos anticancerígenos sinérgicos con gemcitabina y nab-paclitaxel. Oncotarget. 2017; 8(14) 22700-22715).

Se determina la concentración de adenovirus por medio de dos métodos diferentes:

- a) la concentración de partículas físicas (vp/ml) se determina por medio de lectura óptica de densidad (OD260)
- b) las unidades formadoras de placa (pfu/ml) se determina sobre células HEK293 por medio del método basado en tinción de anti-hexon.

Ejemplo 10: Virus AduPARmE1A y AdNuPARmE1A

Se generó un virus oncolítico AduPARmE1A en el que la expresión génica E1A se reguló por medio del promotor uPAR. Se sometió a estudio de ingeniería una secuencia de Kozak aguas arriba del gen E1A para aumentar su potencia de replicación (esta secuencia sobre una molécula de ARNm es reconocida por el ribosoma como el sitio de inicio translacional, a partir del cual se codifica una proteína por parte de esa molécula de ARNm). Se introduce un fragmento de ADN a partir del locus de distrofia miotónica (DM-1), con actividad aislante de bloqueo de potenciador, aguas arriba del promotor uPAR para aislarlo del potenciador y las unidades transcripcionales del genoma de adenovirus (véase Figura 4).

AdNuPARmE1A tiene la misma estructura, pero una versión más corta del potenciador uPAR y tres elementos de respuesta capaces de unir al dominio intracelular de entalladura (NICD) (véase Figura 2).

5 Ejemplo 11: Formación y caracterización de complejos polímero-virus

Consideraciones antes de la preparación del complejo

10 Se debe someter la reserva vírica a valoración por medio de vp/ml y pfu/ml y la relación entre vp/pfu debe estar por debajo de 100. Si no se alcanzan los criterios de aceptación de calidad, es necesario repetir la producción del virus. Es necesario disponer de valoración física Vp/ml antes de proceder con el presente procedimiento.

15 La formulación principal usada es R3C-C6-CR3/R3C-C6-CR3-PEG con una relación de 65/35, pero el presente protocolo se puede adaptar para usar otras formulaciones. Lo único es que se debe mantener la relación moléculas PBAE 4e6/vp.

Procedimiento para escala *in vitro*

- 20 1. Tomar una alícuota de virus de 2 µl del congelador a -80 °C (*No se recomienda el proceso de congelación-descongelación de vectores adenovíricos, ya que pierden su eficacia de infección. Por esta razón, cuando se produce el virus, se recomienda especialmente tomar una alícuota en cantidades pequeñas, con el fin de descongelar únicamente la fracción destinada a uso*). Se debería descongelar el virus muy lentamente en hielo.
- 25 2. Descongelar ambos polímeros y preparar una mezcla a 65/35 v/v. La mezcla polimérica se puede almacenar a -20 °C.
3. Cuando se prepara el virus revestido a usar *in vitro*, se reviste una alícuota completa de 2 µl. Preparar una dilución 1/50 de reserva vírica en PBS (2 µl de virus + 98 µl de PBS). La disolución resultante se marca como **VS**.
4. Calcular la cantidad de polímero necesario (µl de reserva de PBAE) para revestir todas las partículas víricas en VS siguiendo la ecuación 1.

30

$$mPBAEs = \left(\frac{VPt}{1000} * Vreserva \text{ ul} \right) - 4e6$$

$$X \text{ ul de reserva de PBAE} = \frac{mPBAEs * 3287.52 \frac{g}{mol} * 1e4}{6,023e23}$$

Ecuación 1. VPt hace referencia a la valoración física en VP/ml

- 35 5. Preparar la disolución polimérica (**PS**) por medio de mezcla de PBS con el volumen calculado de reserva de PBAE hasta un volumen final de 100 µl.
6. Mezclar **PS** y **VS** añadiendo **PS** sobre **VS** y tomando con pipeta arriba y abajo lentamente al menos 10 veces.
7. Incubar la muestra durante 30 minutos a temperatura ambiente para permitir la interacción electrostática entre la carga superficial negativa del virus y la carga positiva del polímero.
- 40 8. Ahora la muestra se encuentra lista para su uso teniendo en cuenta que la valoración resultante está diluida 100 veces. Se puede diluir con medio completo para alcanzar la concentración de trabajo deseada.

Procedimiento para escala *in vivo*

- 45 1. Calcular **VPs** total necesarios teniendo en cuenta el nº. de animales (con un exceso de 1 animal cada 4 animales) y la dosis (típicamente 4×10^{10} vp/animal inyectado por vía intravenosa en 100 µl de inyección intravenosa a través de la vena de la cola).
2. Calcular el volumen de reserva vírica necesario (**Vreserva**) para preparar una disolución inyectable de 4×10^{11} VPs/ml en un volumen final de 1 ml de disolución salina fisiológica de cloruro sódico al 0,9 %. (La concentración de disolución inyectable depende de la dosis de trabajo, en este caso 4×10^{10} VP/animal)
- 50 3. Calcular la cantidad total de disolución de reserva de PBAE necesaria para revestir todas las partículas víricas.

55

$$mPBAEs = (4e11 \text{ total VPs}) * 4e6$$

$$X \text{ ul de reserva de PBAE} = \frac{mPBAEs * 3287.52 \frac{g}{mol} * 1e4}{6,023e23}$$

- 60 4. Preparar la disolución polimérica (**PS**) por medio de mezcla de disolución salina al 0,9 % con el volumen calculado de reserva de PBAE hasta un volumen final de 200 µl.
5. Preparar la disolución vírica (**VS**) por medio de mezcla de disolución salina al 0,9 % con el volumen calculado de reserva vírica hasta un volumen final de 200 µl.
6. Mezclar **PS** y **VS** añadiendo **PS** sobre **VS** y tomando con pipeta arriba y abajo lentamente al menos 10 veces.
7. Incubar la muestra durante 30 minutos a temperatura ambiente para permitir la interacción electrostática entre la carga superficial negativa del virus y la carga positiva del polímero.

8. Añadir 600 µl de disolución salina al 0,9 % y mezclar tomando con la pipeta lentamente 5 veces.
9. La muestra se encuentra lista para inyección (por ejemplo, la muestra puede tratar 8 animales).

Ejemplos 12-16

5 Todos los datos no clínicos, excepto los resultados de actividad antitumoral (ejemplo 16), se han obtenido con un adenovirus serotipo 5 recombinante, denominado AdTrackluc (AdTL), que expresa dos genes indicadores, GFP y luciferasa. Además, en los estudios *in vivo*, el virus se ha combinado con dos revestimientos diferentes: **C6Ad**, que
10 corresponde a un 100 % de revestimiento R3C-C6-CR3 y **CPEGAd**, que representa una combinación de un 65 % de R3C-C6-CR3 y un 35 % de R3C-C6-CR3-PEG.

Ejemplo 12: Capacidad de enmascaramiento frente a anticuerpos de neutralización

15 Con el fin de determinar qué combinación polimérica fue la mejor para proteger los adenovirus frente a los anticuerpos de neutralización anti-Ad5 (Nabs), se revistieron partículas víricas con diferentes combinaciones de R3C-C6-CR3 con polímeros H3C-C6-CH3 y R3C-C6-CR3-PEG, y se incubaron posteriormente muestras desnudas y
20 revestidas con Nabs durante 30 minutos. Se usaron adenovirus desnudos como control de muestra. Después, se añadieron preparaciones víricas (MOI 50) a placas de 96 pocillos que contenían $1,5 \times 10^4$ células PANC-1. Transcurridas 2 h, se modificó el medio y se incubaron las células 48 h. Finalmente, se cuantificaron las células GFP positivo por medio de análisis por citometría de flujo.

Las combinaciones poliméricas sometidas a ensayo son las siguientes:

Designación	R3C-C6-CR3	R3C-C6-CR3-PEG	H3C-C6-CH3
C6CR3-25 %	75 %	25 %	0 %
C6CR3-35 %	65 %	35 %	0 %
C6CR3-45 %	55 %	45 %	0 %
C6CRH3	60 %	0 %	40 %
C6CRH3-25 %	35 %	25 %	40 %

25 Como se muestra en la Figura 7, cuando se incuban adenovirus desnudos en presencia de anticuerpos de neutralización (+ Desnudos), su capacidad de transducción se ve reducida significativamente de un 80 % a un 55 %. Entre las diferentes combinaciones de revestimiento, se observó que un revestimiento que contenía un 65 % de R3C-C6-CR3 y un 35 % de R3C-C6-CR3-PEG (denominado C6CR3-35 % en el gráfico) confirió una protección
30 destacada frente a los anticuerpos de neutralización anti-Ad5 (véase el resultado individual resaltado en el rectángulo). Además, el revestimiento no solo no aumentó la capacidad infecciosa del virus, sino que indujo un aumento de su potencia (véase los resultados múltiples resaltados en el rectángulo más grande).

Ejemplo 13: Activación de la respuesta inmunológica adaptativa

35 También se estudió el método por medio del cual las partículas víricas desnudas y revestidas activaron la respuesta inmunológica adaptativa tras dos administraciones intravenosas. Se dividieron ratones C57BL/6J (n=6) en tres grupos (Naked Ad, R3C-C6-CR3 Ad, y R3C-C6-CR3-35 %PEG-Ad). se inyectaron 1×10^{10} vp/animal, en los días 0 y 14, en la vena de la cola de ratones C57BL/6J (n = 5) una semana después, en el día 21, se sacrificaron los
40 animales y se recogió la sangre por medio de punción intracardiaca. A continuación, se extrajo el suero y se inactivó térmicamente y se usó para llevar a cabo los ensayos de neutralización en presencia de adenovirus desnudos.

Con el fin de comparar la concentración de anticuerpo de cada muestra, se calculó la dilución de neutralización 50 (ND50) para cada anti-suero. Se determinó ND50, definido como la dilución del suero necesaria para neutralizar la
45 mitad de la transducción vírica, como se muestra a continuación. Se incubaron Ads desnudos (MOI 0,25) durante 1 hora en placas de 96 pocillos con diluciones seriadas de suero procedente de ratones inmunizados con Ads desnudo y revestido. Después, se añadieron 1×10^5 HEK293 células a cada pocillo. Transcurridas 24 h, se cuantificó la actividad de luciferasa y se calculó ND50.

50 Como se muestra en la Figura 8, los animales con inyección de CPEGAd produjeron tres veces menos sueros de neutralización que los que tenían inyección con Ads desnudo, lo que indica que la estrategia de revestimiento CPEG (65 % R3C-C6-CR3 + 35 %R3C-C6-CR3-PEG) redujo la activación de la respuesta inmunológica adaptativa. En el caso de C6Ad, esta diferencia resultó menos sorprendente.

Ejemplo 14: Aumento del tiempo de circulación sanguínea

55 Con el fin de comparar los parámetros cinéticos de circulación sanguínea de partículas víricas desnudas y

revestidas, se inyectaron 1×10^{10} vp/animal en la vena de la cola de ratones CC57BL/6J (n=5). Se establecieron tres grupos, Ad-desnudo, C6Ad y CPEGAd, y se extrajeron muestras de sangre de la vena safena en dos instantes posteriores a la inyección: 2 minutos y 10 minutos. A continuación, se llevó a cabo la extracción de ADN genómico a partir de cada muestra de sangre y se cuantificaron los genomas víricos/ μ l usando cebadores específicos de hexón por medio de qPCR.

Se determinaron los parámetros cinéticos de circulación sanguínea como se muestra a continuación. Se llevó a cabo la extracción de ADN genómico a partir de cada muestra de sangre y se cuantificaron las copias de genomas víricos usando primers específicos de hexón por medio de qPCR. Se analizó la condición de 100 % (equivalente a la dosis inyectada) mediante dilución de la dosis administrada en 2 ml de sangre de ratón antes de la extracción de ADN. Se calculó el área bajo la curva a partir de 2 minutos hasta 10 minutos y se transformó en número de veces de cambio.

Como se muestra en la Figura 9, las partículas víricas revestidas presentaron un tiempo de circulación mejorado, especialmente aquellas revestidas con una combinación de CPEG. En particular, su área bajo la curva, de 2 minutos a 10 minutos, fue 3 veces más grande cuando se compara con los adenovirus víricos desnudos.

Ejemplo 15A: Tropismo hepático

Uno de los principales problemas asociados a adenovirus es su elevado tropismo frente al hígado, el cual es responsable de su hepatotoxicidad significativa. Con el fin de determinar si el revestimiento polimérico de la invención podría disminuir su comportamiento natural, se administraron 1×10^{10} vp de adenovirus desnudos y revestidos (C6Ad y CPEGAd) en la vena de la cola de ratones C57BL/6J (n=5) y 5 días después, se tomaron imágenes bioluminiscentes corporales y se cuantificó la actividad de luciferasa a partir del homogeneizados hepáticos de ratones tratados con Ads desnudo o revestido con dos polímeros diferentes (C6Ad, y CPEGAd).

Como se muestra en la Figura 10, ambos tipos de partículas víricas revestidas redujeron significativamente la capacidad de transducción de los hepatocitos, lo que indica que el revestimiento polimérico podría modificar de hecho el tropismo adenovírico natural.

Ejemplo 15B: Tropismo tumoral

Para determinar si el menor tropismo hepático observado con Ads también tiene lugar en ratones que portan tumores, se llevó a cabo el siguiente estudio. Se administraron subcutáneamente 1×10^6 células PANC-1 (procedentes de adenocarcinoma de páncreas humano) en ratones inmunodeficientes Balb/C nu/nu y cuando los tumores alcanzaron un volumen de aproximadamente 150 mm^3 , se administraron 1×10^{10} vp de adenovirus desnudos y revestidos (C6Ad y CPEGAd) en la vena de la cola (n= 6). Cinco días después de la inyección, se sacrificaron los animales y se cuantificó la actividad de luciferasa (usada como gen indicador) a partir de los tumores y homogeneizados hepáticos de ratones tratados con Ads desnudo o Ads revestido con dos polímeros diferentes (C6Ad, CPEGAd).

Como se puede apreciar en la Figura 11, aparte de la disminución significativa de transducción observada previamente en el hígado, cuando Ads se revistieron con el revestimiento polimérico denominado CPEG, se detectó una infección mayor marcada en los tumores. Esta tendencia no se apreció con C6Ad, probablemente debido a la ausencia de PEG en la formulación. Conjuntamente, estos resultados condujeron a una relación tumor-hígado significativamente mayor cuando se administraron CPEGAd en comparación con Ads desnudo.

Ejemplo 16: Actividad antitumoral creciente

De acuerdo con los datos obtenidos con dos adenovirus recombinantes revestidos diferentes (AdTL), C6Ad y CPEGAd, se escogió el último revestimiento que consistía en un 65 % de R3C-C6-CR3 + 35 % de R3C-C6-CR3-PEG para combinar con el adenovirus oncolítico AdNuPARmE1A con el fin de formar SAG-101.

Con el fin de estudiar el efecto del revestimiento polimérico sobre el efecto terapéutico del virus, se llevó a cabo un estudio de eficacia en ratones que portaban tumores. En particular, se comparó la eficacia de AdNuPARmE1A revestido (SAG-101) tras administración sistémica con la de AdNuPARmE1A desnudo en ratones pre-inmunizados o sin tratamiento previo. Para generar el estado preinmunizado en ratones atímicos, se inmunizaron de forma pasiva los ratones por medio de inyección intraperitoneal de suero de neutralización anti-Ad5 procedente de ratones C57BL6 (se inyectó por vía intraperitoneal a ratones atímicos que portan tumores PANC-1 subcutáneos bien con PBS (grupos sin tratamiento previo) o con suero de ratones de neutralización anti-Ad5 (grupos pre-inmunizados)). Al día siguiente, se inyectó PBS o 4×10^{10} vp de AdNuPARmE1A desnudo o revestido (SAG-101) (n=8) a los ratones sin tratamiento previo o inmunizados pasivamente que portaban tumores PANC-1, y se evaluó el volumen tumoral. La Figura 12 resume el protocolo del presente experimento llevado a cabo para determinar el efecto del revestimiento polimérico sobre el efecto terapéutico de AdNuPARmE1A. Cada grupo tuvo n = 8.

Como se muestra en la Figura 13, se apreció una reducción significativa del crecimiento tumoral en tres de los grupos tratados (AdNuPARmE1A desnudo y sin tratamiento previo revestido y AdNuPARmE1A revestido pre-

inmunizado) en comparación con el control de disolución salina y los grupos víricos desnudos pre-inmunizados (*Los resultados se expresan como media +/- desviación típica (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001)*). De manera importante, el grupo revestido pre-inmunizado mostró un efecto muy similar cuando se comparó con el virus desnudo sin tratamiento previo, lo que indica que el revestimiento polimérico protegió al virus frente a los anticuerpos de neutralización pre-existentes. Por otra parte, el grupo revestido sin tratamiento previo fue significativamente más eficaz que el grupo desnudo sin tratamiento previo. Una revisión de los resultados medios de supervivencia y cambio de la fracción de supervivencia con el tiempo para cada grupo sometido a ensayo se explica en la Figura 14.

Los datos experimentales demuestran que las partículas víricas revestidas exhiben, de forma inesperada, las siguientes propiedades:

1. menor tendencia a la neutralización por parte de anticuerpos;
2. menor capacidad de generación de respuesta inmunológica adaptativa *novo*;
3. parámetros mejorados de torrente sanguíneo; y
4. mayor tropismo hepático, para aprovechar la transducción tumoral.

Ejemplo 17:

Con el fin de estudiar la toxicidad de AdNuPARmE1A revestido (SAG-101), se llevó a cabo un estudio de toxicidad. El revestimiento consistió en **CPEGAd**, que representa una combinación de un 65 % de R3C-C6-CR3 y un 35 % de R3C-C6-CR3-PEG. Se compararon dosis de SAG-101 tras administración intravenosa con las de AdNuPARmE1A desnudo (Ad) en ratones BALB/C inmunocompetentes. Se inyectó por vía intravenosa PBS o 4×10^{10} vp de AdNuPARmE1A desnudo o revestido (es decir "dosis baja"), o $7,5 \times 10^{10}$ vp de AdNuPARmE1A desnudo o revestido (es decir, "dosis elevada") a ratones inmunocompetentes.

Ejemplo 17A: Peso corporal

Como se muestra en la Figura 15, no se apreciaron cambios de significativos ($p > 0,05$) de peso corporal entre los grupos, aunque los ratones que recibieron dosis elevada de AdNuPARmE1 (Ad) no mostraron una reducción importante de peso corporal en el día cinco después de la inyección. El grupo al cual se administró la dosis elevada de SAG-101 mostró una reducción de peso corporal, lo que indica una menor toxicidad asociada a las partículas víricas revestidas.

Ejemplo 17B: Niveles de transaminasas

Se determinó la actividad enzimática de transaminasas en suero en el día 7 después de la inyección IV vírica. Específicamente, se midieron los niveles de aspartato transaminasa (AST) y alanina transaminasa (ALT) a partir de sangre tomada en forma de punción intracardiaca.

Las aminotransferasas (AST, ALT) se analizan comúnmente en suero para evaluar y controlar el daño hepático y las posibles infecciones víricas del hígado. Estas enzimas presentan un valor elevado para muchas formas de enfermedad hepática, presumiblemente como resultado de la fuga procedente a partir de células dañadas. ALT se encuentra principalmente en el hígado, pero también en cantidades pequeñas en los riñones, corazón, músculos y páncreas. AST está presente en el hígado pero también en cantidades considerables en otros tejidos que incluyen los músculos.

Como se muestra en la Figura 16, los niveles de transaminasas fueron significativamente elevados ($*p < 0,05$) cuando se administró una dosis elevada de virus desnudo (AdNu), lo que es indicativo de daño hepático. Este efecto no se apreció en ratones que recibieron la misma dosis de SAG-101. De este modo, los datos experimentales demuestran que las partículas víricas revestidas proporcionan una disminución de los niveles de transaminasa.

Ejemplo 17C: Hemograma y recuento de plaquetas

Se llevó a cabo un análisis de hemograma y recuento de plaquetas. El recuento de plaquetas estuvo basado en la extracción sanguínea a partir de la vena de la cola de ratones cada dos días desde el día 1 hasta el día 7. Como se muestra en la figura 17B, no se detectaron cambios significativos en el hemograma en el día 7 entre ratones que recibieron AdNuPARmE1A desnudo (Ad) o AdNuPARmE1A revestido (CPEGAd).

Además, no se apreció trombocitopenia, como se muestra en la figura 17A. No hubo diferencias significativas entre el número de plaquetas en ratones que recibieron AdNuPARmE1A desnudo (Ad) o AdNuPARmE1A revestido (SAG101).

Ejemplo 17D: Cuantificación de citoquina

Se midieron los niveles de citoquinas. A las seis horas y tres días después de la inyección, se tomaron alícuotas de sangre y se evaluó la concentración de citoquina usando una plataforma de tecnología Luminex xMAP®. Como se

muestra en la Figura 18, no se apreciaron diferencias significativas en los niveles de citoquinas tras la administración de AdNuPARmE1A desnudo y SAG-101, lo que indica que los polímeros de SAG-101 no aumentaron la toxicidad del virus.

5 Ejemplo 18: Microfotografía TEM

La Figura 19A indica una microfotografía TEM que muestra SAG-101 de bajo aumento (barra de escala de 20 µm) y la Figura 19B proporciona una microfotografía TEM que muestra SAG-101 con elevado aumento (barra de escala 200 nm). Como se aprecia en las Figuras 19A y 19B, no se apreciaron grandes agregados cuando se analizan las muestras a bajo aumento.

10 Ejemplo 19: Cambio de carga superficial

Se revistieron partículas víricas adeno-asociadas (AAV) con polímeros de 65 % de R3C-C6-CR3 + 35 % de R3C-C6-CR3-PEG. Se sometió a monitorización la formación de revestimiento polimérico mediante evaluación del cambio de carga superficial con el fin de determinar las concentraciones apropiadas de revestimiento, es decir, las relaciones apropiadas de AAV con respecto a polímero.

La superficie de AAVs presentaron carga negativa (como se puede apreciar en las Figuras 20A y 20B), mientras que el polímero usado ofreció una carga neta positiva. De este modo, una vez que el polímero cubrió eficazmente el virus, la carga superficial del complejo fue positiva. El cambio de carga superficial se evaluó por tanto para monitorizar la formación de revestimiento polimérico. Se sometieron a ensayo diferentes relaciones con el fin de seguir su cambio de carga superficial. La Figura 20B muestra una meseta en la medición de carga superficial. De este modo, la adición de polímero adicional resultó ilógica. En la Figura 20A, se sometieron a ensayo relaciones de polímero/virus de separación estrecha con el fin de apreciar un cambio progresivo de la carga superficial.

Como se puede apreciar en la Figura 20, cuando se usaron relaciones de 1e-9 µg de PBAE/partícula vírica AAV (VP) o mayores, se apreciaron superficies positivas, como viene indicado por las mediciones de valor de potencial Z positivo, lo que indica que las partículas de AAV estaban revestidas. Como se puede apreciar en la Figura 20B, la variabilidad de las mediciones de valor de potencial Z para los polímeros libres es muy elevada, en comparación con los valores correspondientes a la formación de un revestimiento de AAV.

30 Ejemplo 20: Microscopía electrónica de barrido

Se caracterizaron partículas **víricas** adeno-asociadas (AAV) ("AAV desnudo"), partículas AAV revestidas con **C6Ad**, que corresponde a un 100 % de revestimiento R3C-C6-CR3 y partículas AAB revestidas con CPEGAd, que representa una combinación de un 65 % de R3C-C6-CR3 y un 35 % de R3C-C6-CR3-PEG, por medio de microscopía electrónica de barrido, como se muestra en la Figura 21. Brevemente, se prepararon 200 µl de cada muestra (virus desnudo y revestido) (como se describe en otros ejemplos) a una concentración final de 10¹¹ vp/ml (que fue la concentración requerida para obtener una visualización óptima). Se depositaron las muestras sobre la rejilla y se incubaron durante un minuto. A continuación, se irradiaron con oro durante 40 segundos para crear una capa fina sobre las mismas. Por último, se analizaron con un Microscopio Electrónico de Barrido con Emisión de Campo.

45 Además, se usó microscopía electrónica de barrido para determinar el diámetro de las nanopartículas (en nm):

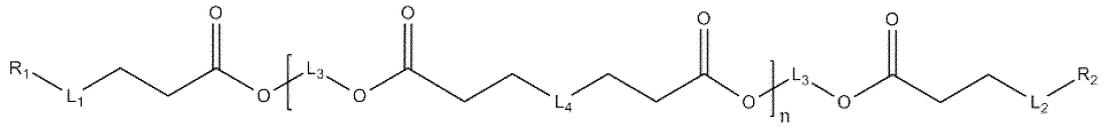
(todo en nm)	AAV desnudo	C6-AAV	CPEG-AAV	Agregados de C6-AAV
Media	24,81	50,32	68,12	150,40
Desviación típica	4,52	16,79	13,24	53,59
Max	39,05	119,65	118,46	372,55
Min	10,98	17,21	27,75	49,48
Recuentos	1000	1000	1000	1000

Aparece una distribución más amplia para las nanopartículas de C6-AAV debido a la presencia de agregados. Como se muestra a partir de los datos anteriores, todos los agregados fueron menores de 500 nm y, de este modo, esta muestra también se podría usar para administración intravenosa.

50 **REALIZACIONES**

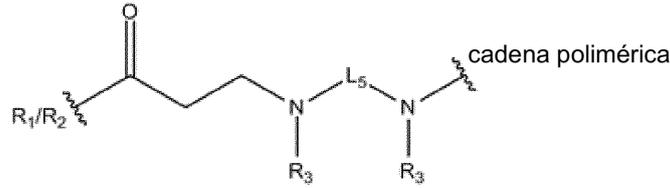
1. Un complejo de un agente terapéutico de base vírica con un polímero de fórmula I:

55

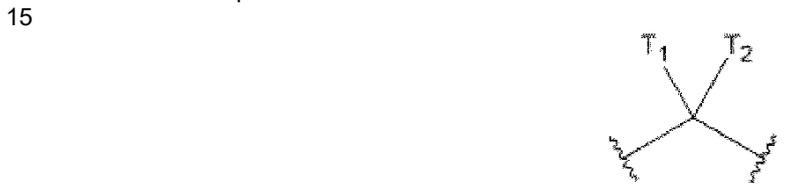


Fórmula I

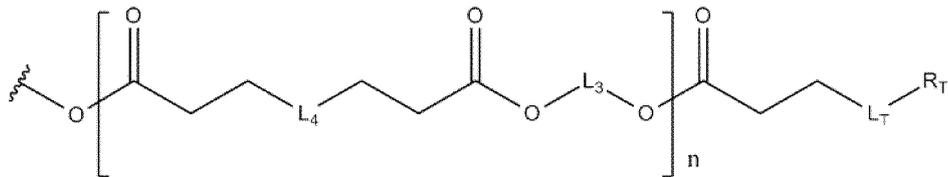
5 donde cada L₁ y L₂ están seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en:



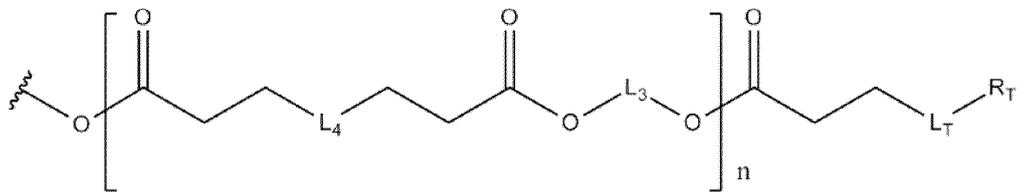
10 O, S, NR_x y un enlace; donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo; L₃ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno; o al menos una aparición de L₃ es



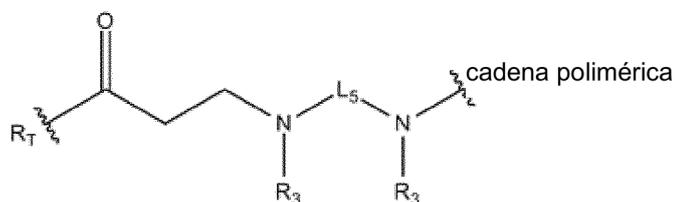
donde T₁ es



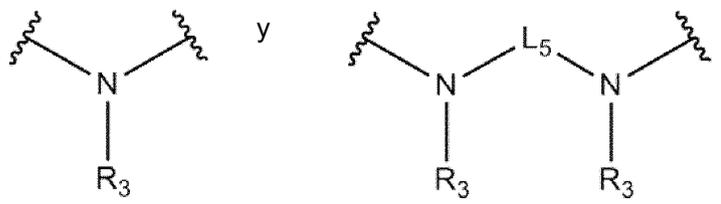
20 y T₂ está seleccionado entre H, alquilo o



25 donde L_T está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en:



O, S, NR_x y un enlace, donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo, y los restantes grupos L₃ están independientemente seleccionados en cada aparición entre el grupo que consiste en alquileo, alquenileno, heteroalquileo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno; L₄ está seleccionado entre el grupo que consiste en

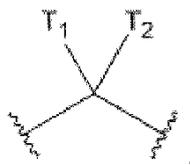


L5 está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alquileo, alquenileno, heteroalquileo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno; R₁ y R₂ y R_T (si están presentes) están seleccionados independientemente entre un oligopéptido y R_y; donde al menos uno de R₁ y R₂ y R_T (si están presentes) es un oligopéptido; y donde R_y está seleccionado entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo; cada R₃ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo, heteroarilo y polialquilen glicoles, donde dicho polialquilen glicol bien está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual R₃ se encuentra unido o bien está ligado al átomo de nitrógeno al cual R₃ se encuentra unido por medio de resto de enlace, donde dicho resto de enlace es un alquileo, cicloalquileo, alquenileno, cicloalquenileno, heteroalquileo, heterocicloalquileo, arileno o grupo heteroarileno; y n es un número entero de 5 a 1.000;

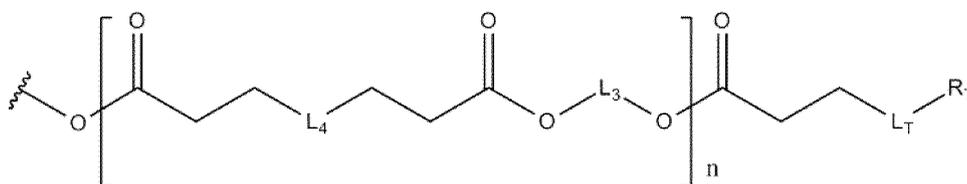
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El complejo de acuerdo con la realización 1, en donde L₃ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alquileo, alquenileno, heteroalquileo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno.

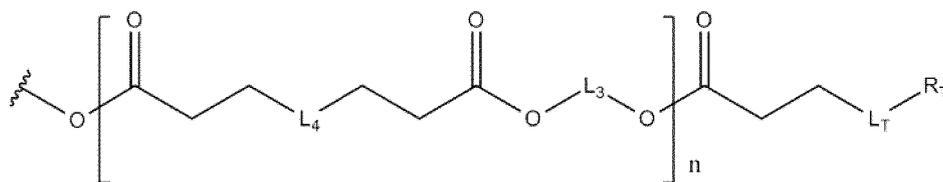
3. El complejo de acuerdo con la realización 1, donde al menos una aparición de L₃ es



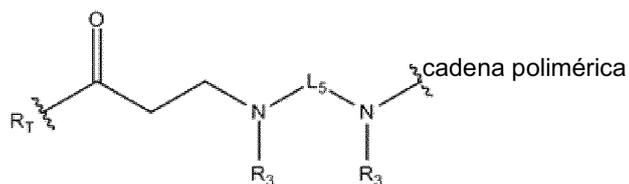
donde T₁ es



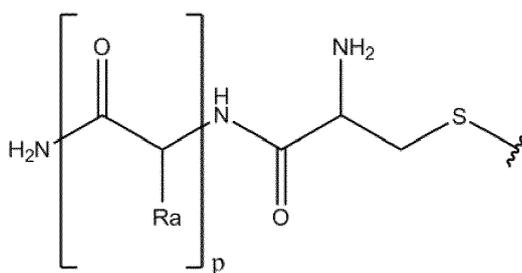
y T₂ está seleccionado entre H, alquilo o



donde L_T está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en:



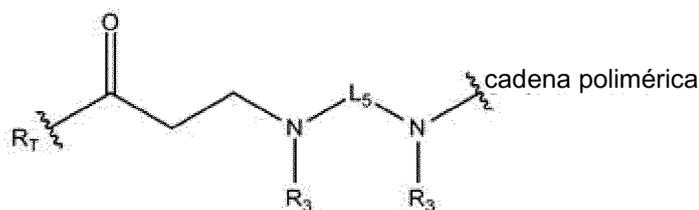
- 5 O, S, NR_x y un enlace; donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo, y los restantes grupos L₃ están independientemente seleccionados en cada aparición entre el grupo que consiste en alquileo, alquenileno, heteroalquileo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno.
- 10 4. El complejo de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 3, donde al menos un grupo R₃ es un polialquilen glicol, preferentemente un polietilen glicol.
5. El complejo de acuerdo con la realización 4, donde al menos un grupo R₃ que es polialquilen glicol está unido al átomo de nitrógeno de un grupo L₄ bien directamente o bien a través de un resto de enlace.
- 15 6. El complejo de acuerdo con la realización 4 o la realización 5, donde el al menos un grupo R₃ que es un polialquilen glicol está unido al átomo de nitrógeno al cual está unido a través de un resto de enlace que es un grupo alquileo, alquenileno o grupo heteroalquileo.
- 20 7. El complejo de acuerdo con la realización 4 o la realización 5, donde el al menos un grupo R₃ que es un polialquilen glicol está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual está unido.
8. El complejo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el o cada oligopéptido comprende de 3 a 20 residuos de aminoácido.
- 25 9. El complejo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta positiva a pH7.
10. El complejo de la realización 9, donde el o cada oligopéptido comprende residuos de aminoácido seleccionados entre el grupo que consiste en lisina, arginina e histidina.
- 30 11. El complejo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el o cada oligopéptido es un compuesto de Fórmula VII:



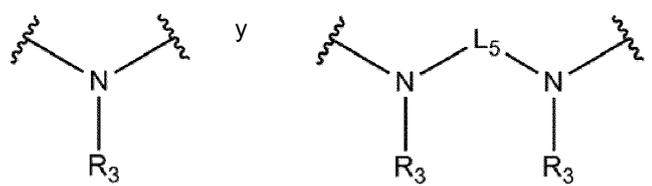
Fórmula VII

- 35 donde p es un número entero de 2 a 19 y donde R_a está seleccionado en cada aparición entre el grupo que consiste en H₂NC(=NH)-NH(CH₂)₃-, H₂N(CH₂)₄- o (1H-imidazol-4-il)-CH₂-.
- 40 12. El complejo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, donde R₁ y R₂ son ambos oligopéptidos.
13. El complejo de la realización 12, donde R₁ y R₂ son oligopéptidos diferentes.
- 45 14. El complejo de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-11, donde uno de R₁ y R₂ es un oligopéptido y uno de R₁ y R₂ es R_y.
15. El complejo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, donde n es de 10 a 700, o de 20 a 500.

16. El complejo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, donde R_y está seleccionado entre el grupo que consiste en hidrógeno, $-(CH_2)_mNH_2$, $-(CH_2)_mNHMe$, $-(CH_2)_mOH$, $-(CH_2)_mCH_3$, $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_mNH_2$, $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_mOH$ o $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_mCH_3$ donde m es un número entero de 1 a 20.
- 5 17. El complejo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, donde cada L_3 está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en $-alquileo C_{1-10}$ - $(S-S)_q$ - $alquileo C_{1-10}$, donde q es 0 o 1.
- 10 18. El complejo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, donde cada R_3 está seleccionado independientemente entre hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alqueno C_{1-6} , alquino C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , halógeno, arilo, heterocíclicos, heteroarilo, ciano, $-O_2C$ -alquilo C_{1-6} , carbamoilo, $-CO_2H$, $-CO_2$ -alquilo C_{1-6} , alquil C_{1-6} tioéter, tiol, ureido y polialquilen glicoles, donde dicho polialquilen glicol bien está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual R_3 se encuentra unido o bien está ligado al átomo de nitrógeno al cual R_3 se encuentra unido por medio de resto de enlace, donde dicho resto de enlace es un alquileo, cicloalquileo, alqueno, cicloalqueno, heteroalquileo, heterocicloalquileo, arileno o grupo heteroarileno.
- 15 19. El complejo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, donde L_4 está seleccionado entre $-N(R_3)-$ y/o donde L_3 está seleccionado entre grupos alquileo C_{1-6} .
- 20 20. El complejo de una cualquiera de las realizaciones anteriores, donde al menos un grupo R_3 es polialquilen glicol.
21. Una composición que comprende un agente terapéutico de base vírica revestido con un material polimérico que comprende o que consiste en polímero(s) de Fórmula I como se define en una cualquiera de las realizaciones 1 a 20.
- 25 22. La composición de la realización 21, donde la composición comprende nanopartículas que contienen el agente terapéutico de base vírica revestido con material polimérico que comprende o que consiste en polímero(s) de Fórmula I como se define en una cualquiera de las realizaciones 1 a 20.
- 30 23. El complejo de una cualquiera de las realizaciones 1 a 20 o la composición de las realizaciones 21 o 22, donde el agente terapéutico de base vírica y el(los) polímero(s) están unidos por medio de enlace no covalente.
- 35 24. El complejo de una cualquiera de las realizaciones 1 a 20 o 23 o la composición de cualquiera de las realizaciones 21 a 23, donde la superficie de dicho agente terapéutico de base vírica comprende sitios de unión apropiados para la unión a un polímero de Fórmula I donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta positiva a pH 7.
- 40 25. El complejo de una cualquiera de las realizaciones 1 a 20 o 23 a 24 o la composición de cualquiera de las realizaciones 21 a 24, donde el agente terapéutico de base vírica está seleccionado entre un vector adenovírico, un vector vírico adeno-asociado, un vector retrovírico, un vector lentivírico, un vector vírico de herpes simple, un vector vírico de vacuna, un vector vírico de estomatitis vesicular, un vector reovírico o un vector vírico Semliki forest.
- 45 26. El complejo o la composición de la realización 25, donde el agente terapéutico de base vírica está seleccionado entre un vector adenovírico, un vector vírico adeno-asociado, un vector retrovírico y un vector lentivírico, y preferentemente donde el agente terapéutico de base vírica es un vector adenovírico o un vector vírico adeno-asociado.
- 50 27. Un complejo de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 20 o 23 a 26 o una composición de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 21 a 26 para su uso en medicina.
- 55 28. Un complejo de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 20 o 23 a 26 o una composición de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 21 a 26 para su uso en terapia génica vírica sistémica, en particular para el tratamiento del cáncer, en particular cáncer hepático o cáncer de páncreas.
29. Un método de encapsulado de un complejo de un agente terapéutico de base vírica y uno o más polímeros de Fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 20 para formar nanopartículas, comprendiendo el método las etapas de: proporcionar el agente terapéutico de base vírica; proporcionar el(los) polímero(s) de Fórmula (I); y poner en contacto el agente terapéutico de base vírica y el(los) polímero(s) en condiciones apropiadas para formar nanopartículas.



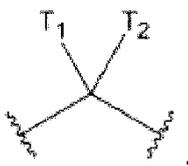
O, S, NR_x y un enlace, donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo, y los restantes grupos L₃ están independientemente seleccionados en cada aparición entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno; L₄ está seleccionado entre el grupo que consiste en



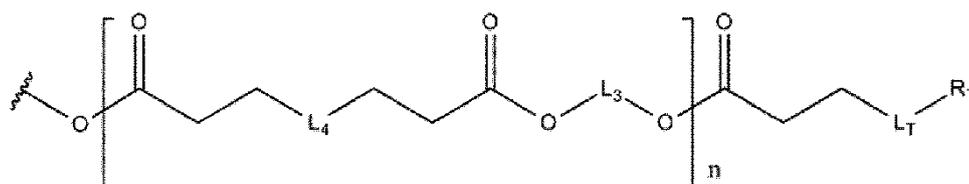
L₅ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno; R₁ y R₂ y R_T (si están presentes) están seleccionados independientemente entre un oligopéptido y R_y; donde al menos uno de R₁ y R₂ y R_T (si están presentes) es un oligopéptido; y donde R_y está seleccionado entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo; cada R₃ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo, heteroarilo y polialquilen glicoles, donde dicho polialquilen glicol bien está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual R₃ se encuentra unido o bien está ligado al átomo de nitrógeno al cual R₃ se encuentra unido por medio de resto de enlace, donde dicho resto de enlace es un alquilenilo, cicloalquilenilo, alquenileno, cicloalquenileno, heteroalquilenilo, heterocicloalquilenilo, arileno o grupo heteroarileno; y n es un número entero de 5 a 1.000;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

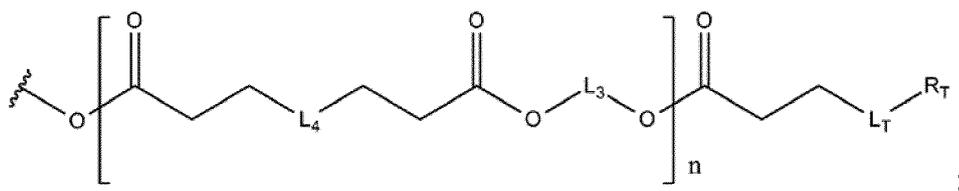
2. El complejo de acuerdo con la reivindicación 1, donde (i) L₃ está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno; o (ii) al menos una aparición de L₃ es



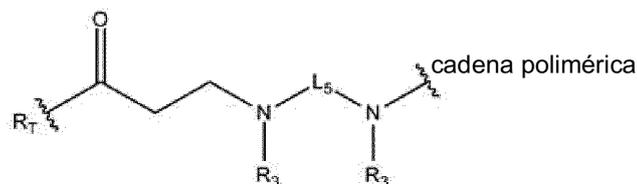
donde T₁ es



y T₂ está seleccionado entre H, alquilo o



donde L_T está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en:



5

O, S, NR_x y un enlace; donde R_x está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo, cicloalquilo, alquenilo, cicloalquenilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, acilo, arilo o heteroarilo, y los restantes grupos L_3 están independientemente seleccionados en cada aparición entre el grupo que consiste en alquilenilo, alquenileno, heteroalquilenilo, heteroalquenileno, arileno o heteroarileno.

10

3. El complejo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde al menos un grupo R_3 es un polialquilen glicol, preferentemente un polietilen glicol; por ejemplo, donde al menos un grupo R_3 que es polialquilen glicol está unido al átomo de nitrógeno de un grupo L_4 bien directamente o bien a través de un resto de enlace.

15

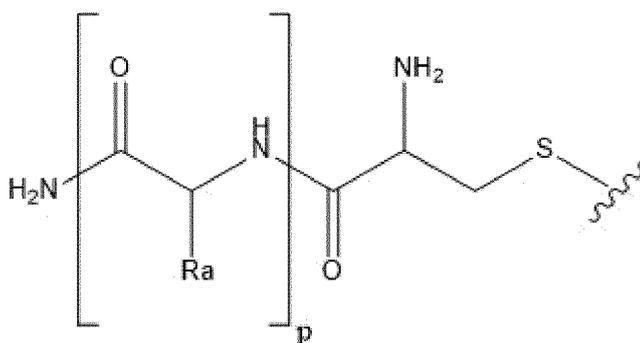
4. El complejo de acuerdo con la reivindicación 3, donde (i) el al menos un grupo R_3 que es un polialquilen glicol está unido al átomo de nitrógeno al cual está unido a través de un resto de enlace que es un grupo alquilenilo, alquenileno o grupo heteroalquilenilo; o (ii) el al menos un grupo R_3 que es un polialquilen glicol está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual está unido.

20

5. El complejo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el o cada oligopéptido comprende de 3 a 20 residuos de aminoácido; y/o donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta positiva a pH 7, por ejemplo, donde el o cada oligopéptido comprende residuos de aminoácido seleccionados entre el grupo que consiste en lisina, arginina e histidina.

25

6. El complejo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el o cada oligopéptido es un compuesto de Fórmula VII:



30

Fórmula VII

donde p es un número entero de 2 a 19 y donde R_a está seleccionado en cada aparición entre el grupo que consiste en $H_2NC(=NH)-NH(CH_2)_3-$, $H_2N(CH_2)_4-$ o $(1H-imidazol-4-il)-CH_2-$.

35

7. El complejo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde R_1 y R_2 son ambos oligopéptidos; por ejemplo, donde R_1 y R_2 son oligopéptidos diferentes.

40

8. El complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde uno de R_1 y R_2 es un oligopéptido y uno de R_1 y R_2 es R_y .

9. El complejo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde n es de 10 a 700, o de 20 a 500; y/o donde R_y está seleccionado entre el grupo que consiste en hidrógeno, $-(CH_2)_mNH_2$, $-(CH_2)_mNHMe$, $-(CH_2)_mOH$, $-(CH_2)_mCH_3$, $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_mNH_2$, $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_mOH$ o $-(CH_2)_2(OCH_2CH_2)_mCH_3$ donde m es un número entero de 1 a 20; y/o donde cada L_3 está seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en -alquileo C_{1-10} - (S-S)_q-alquileo C_{1-10} , donde q es 0 o 1.
10. El complejo de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde cada R_3 está seleccionado independientemente entre hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alqueno C_{1-6} , alquino C_{1-6} , hidroxialquilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , halógeno, arilo, heterocíclicos, heteroarilo, ciano, $-O_2C$ -alquilo C_{1-6} , carbamoilo, $-CO_2H$, $-CO_2$ -alquilo C_{1-6} , alquil C_{1-6} tioéter, tiol, ureido y polialquilen glicoles, donde dicho polialquilen glicol bien está unido directamente al átomo de nitrógeno al cual R_3 se encuentra unido o bien está ligado al átomo de nitrógeno al cual R_3 se encuentra unido por medio de resto de enlace, donde dicho resto de enlace es un alquileo, cicloalquileo, alqueno, cicloalqueno, heteroalquileo, heterocicloalquileo, arileno o grupo heteroarileno; y/o donde L_4 está seleccionado entre $-N(R_3)-$ y/o donde L_3 está seleccionado entre grupos alquileo C_{1-6} ; y/o donde al menos un grupo R_3 es polietilen glicol.
11. Una composición que comprende un agente terapéutico de base vírica revestido con un material polimérico que comprende o que consiste en polímero(s) de **Fórmula I** como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.
12. La composición de la reivindicación 11, donde la composición comprende nanopartículas que contienen el agente terapéutico de base vírica revestido con material polimérico que comprende o que consiste en polímero(s) de **Fórmula I** como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.
13. El complejo de una cualquiera de las realizaciones 1 a 10 o la composición de las reivindicaciones 11 o 12, donde el agente terapéutico de base vírica y el(los) polímero(s) están unidos por medio de enlace no covalente.
14. El complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o 13 o la composición de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, donde la superficie de dicho agente terapéutico de base vírica comprende sitios de unión apropiados para la unión a un polímero de **Fórmula I** donde el o cada oligopéptido tiene una carga neta positiva a pH 7.
15. El complejo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o 13 a 14 o la composición de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, donde el agente terapéutico de base vírica está seleccionado entre un vector adenovírico, un vector vírico adeno-asociado, un vector retrovírico, un vector lentivírico, un vector vírico de herpes simple, un vector vírico de vacuna, un vector vírico de estomatitis vesicular, un vector reovírico o un vector vírico Semliki forest; por ejemplo, donde el agente terapéutico de base vírica está seleccionado entre un vector adenovírico, un vector vírico adeno-asociado, un vector retrovírico y un vector lentivírico, y preferentemente donde el agente terapéutico de base vírica es un vector adenovírico o un vector vírico adeno-asociado.
16. Un complejo de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 10 o 13 a 15 o una composición de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 15 para su uso en medicina; o un complejo de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 a 10 o 13 a 15 o una composición de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 11 a 15 para su uso en terapia génica vírica sistémica, en particular para el tratamiento del cáncer, en particular cáncer hepático o cáncer de páncreas.
17. Un método de encapsulado de un complejo de un agente terapéutico de base vírica y uno o más polímeros de **Fórmula I** de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para formar nanopartículas, comprendiendo el método las etapas de: proporcionar el agente terapéutico de base vírica; proporcionar el(los) polímero(s) de **Fórmula I**; y poner en contacto el agente terapéutico de base vírica y el(los) polímero(s) en condiciones apropiadas para formar nanopartículas.

FIGURA 1

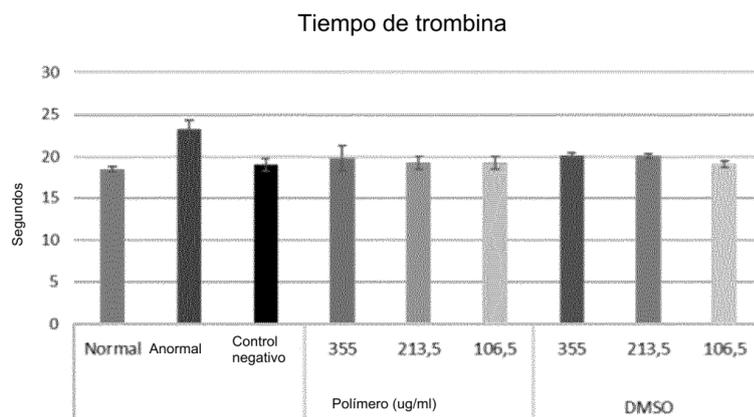
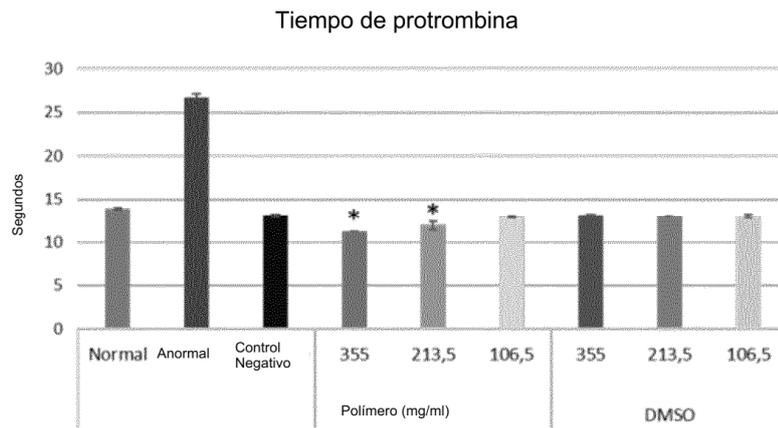
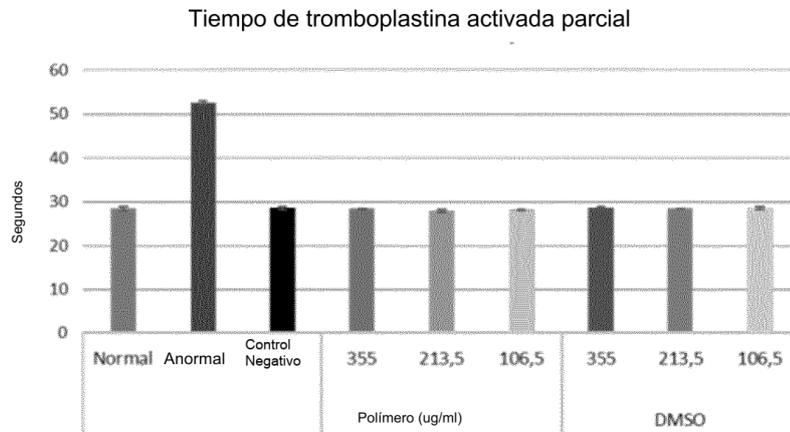


FIGURA 2

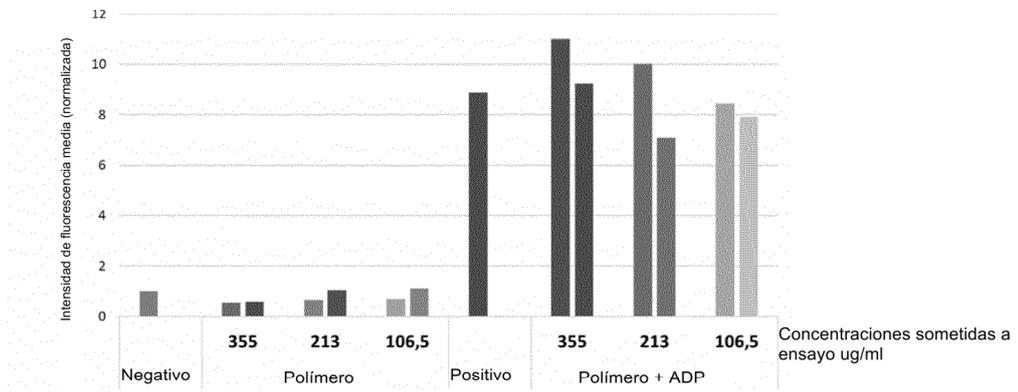


FIGURA 3



FIGURA 4

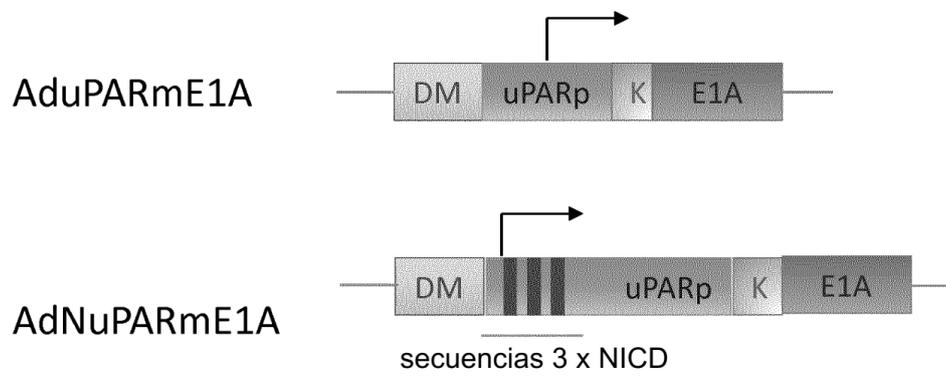


FIGURA 5

Adenovirus desnudo

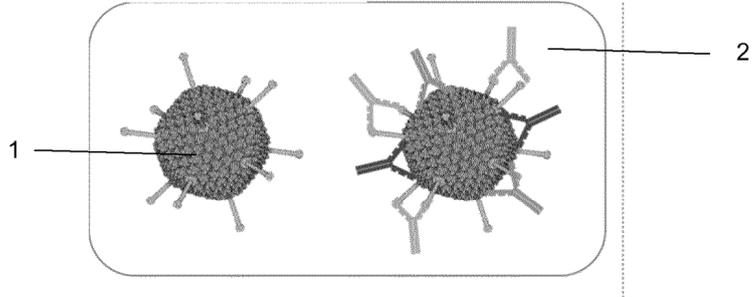


FIGURA 6

Revestido

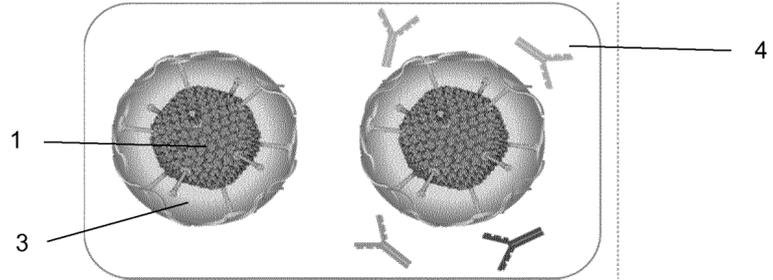


FIGURA 7

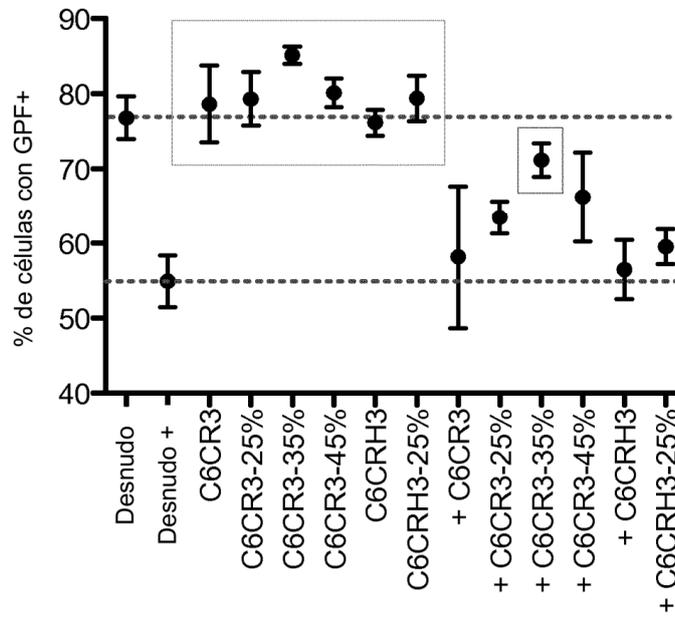


FIGURA 8

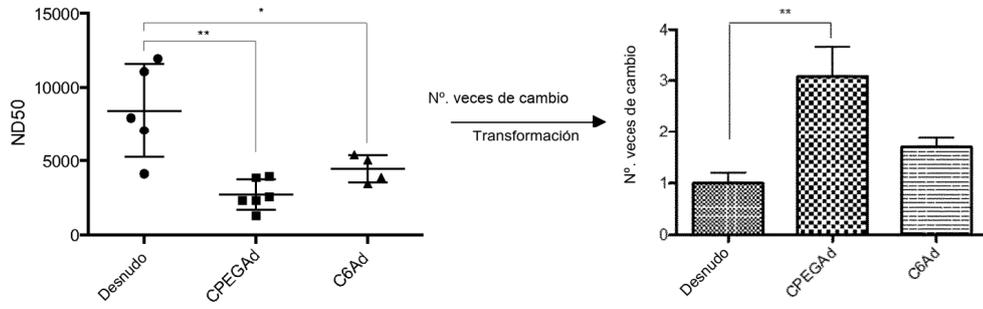


FIGURA 9

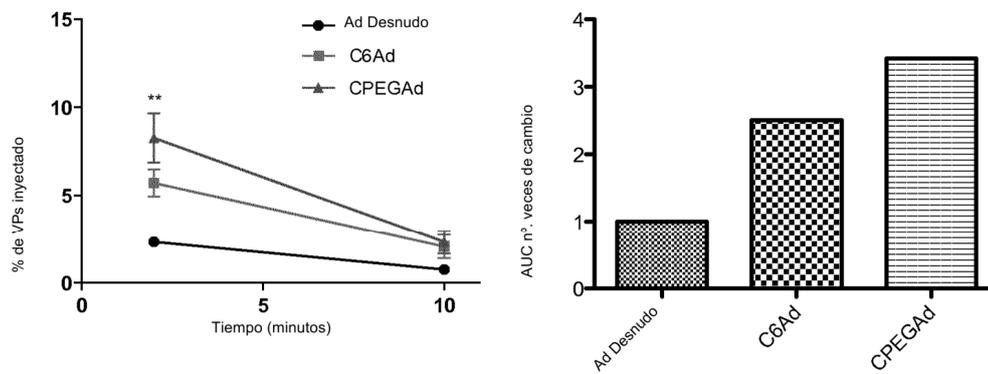


FIGURA 10

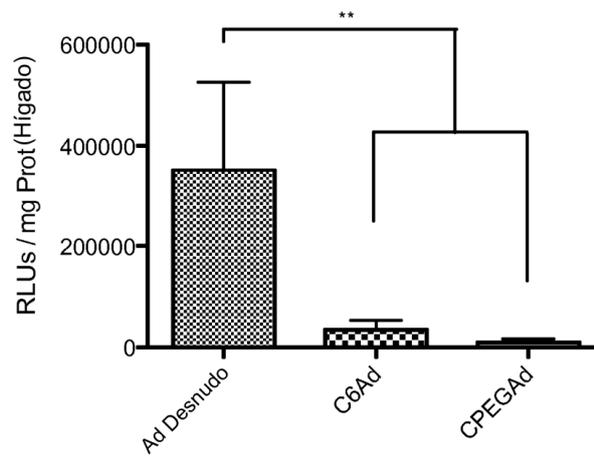
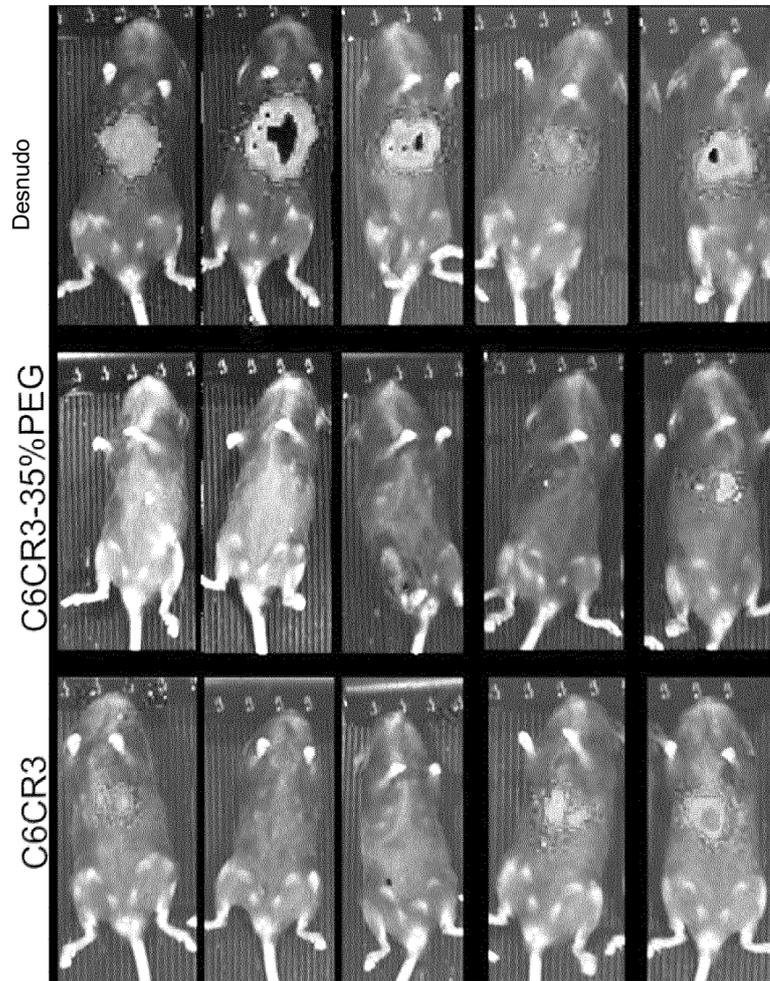


FIGURA 11

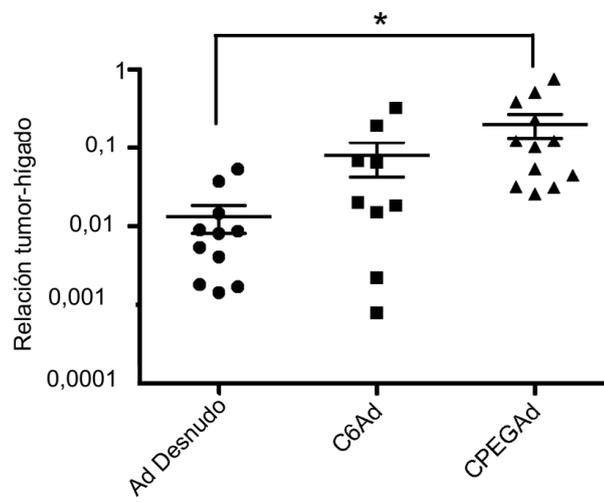
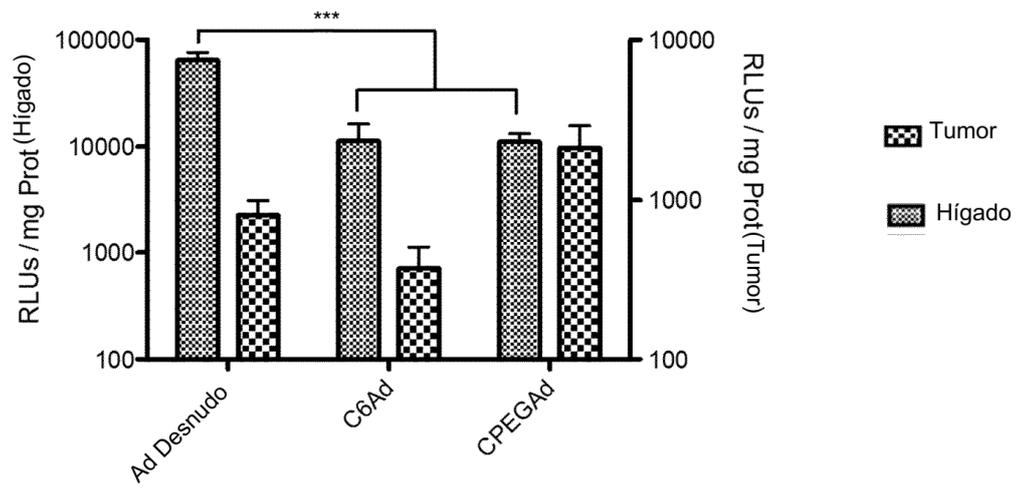


FIGURA 12

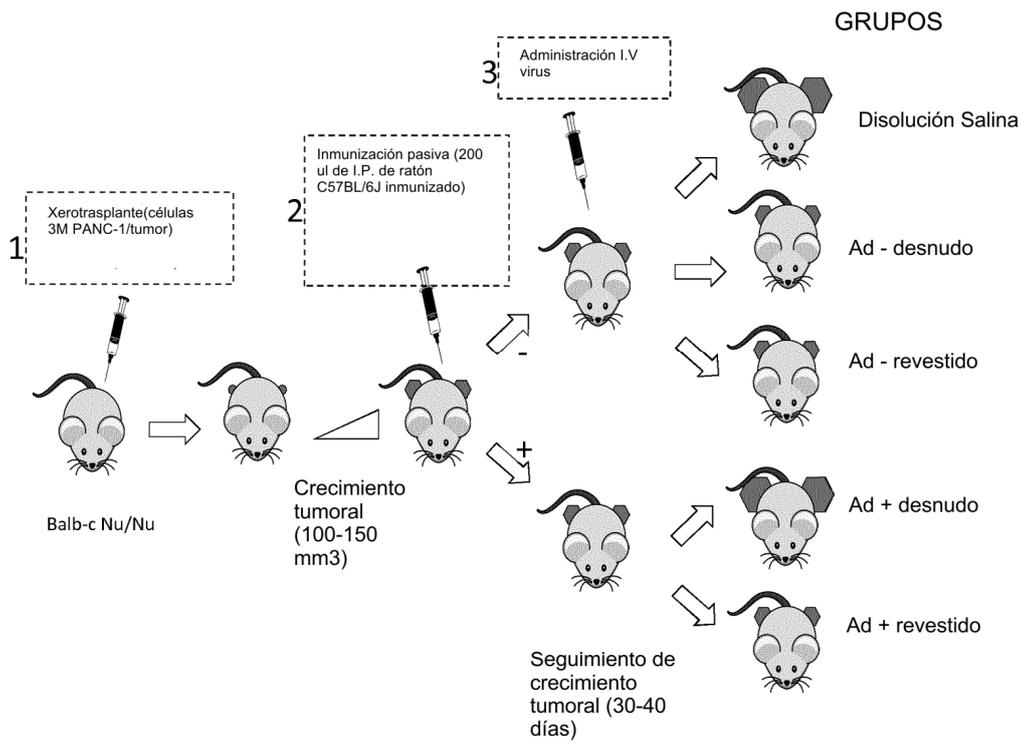


FIGURA 13

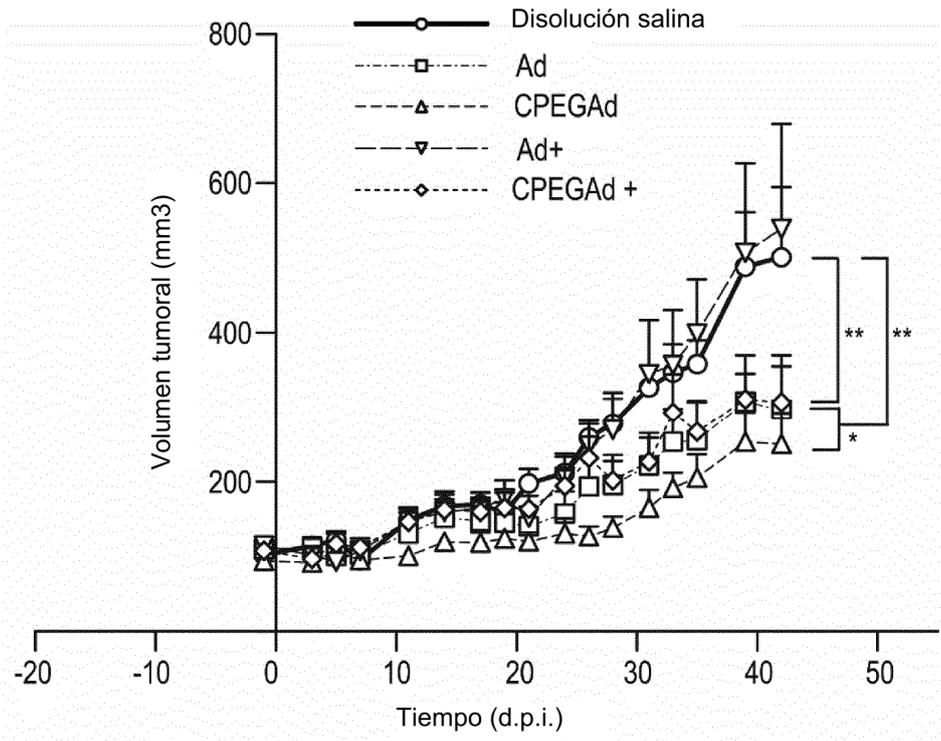


FIGURA 14

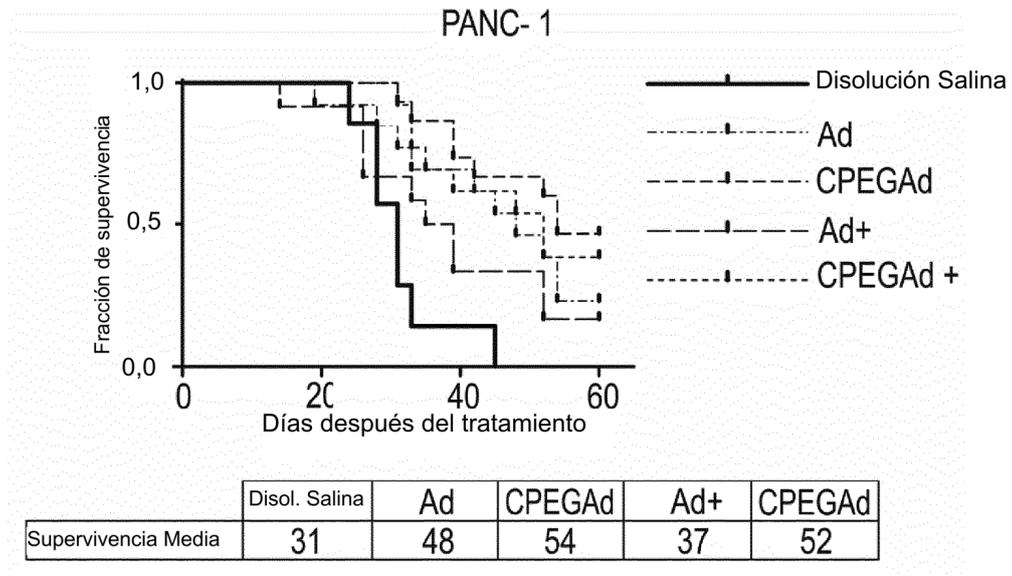


FIGURA 15

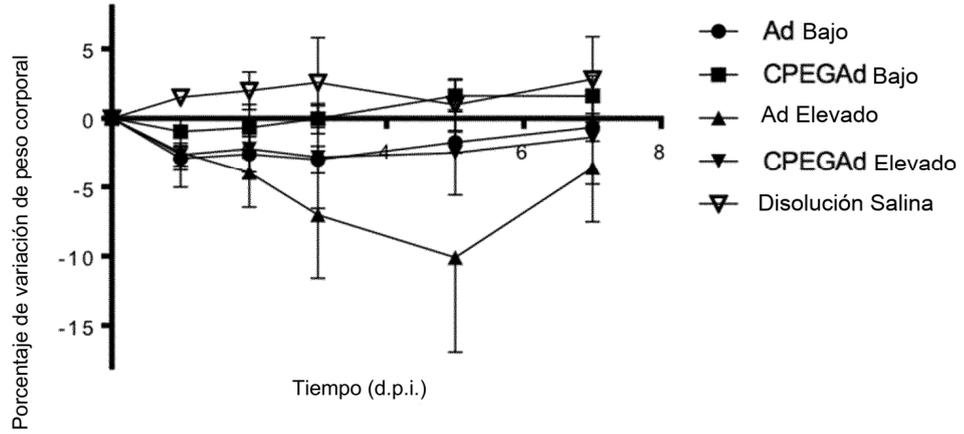


FIGURA 16

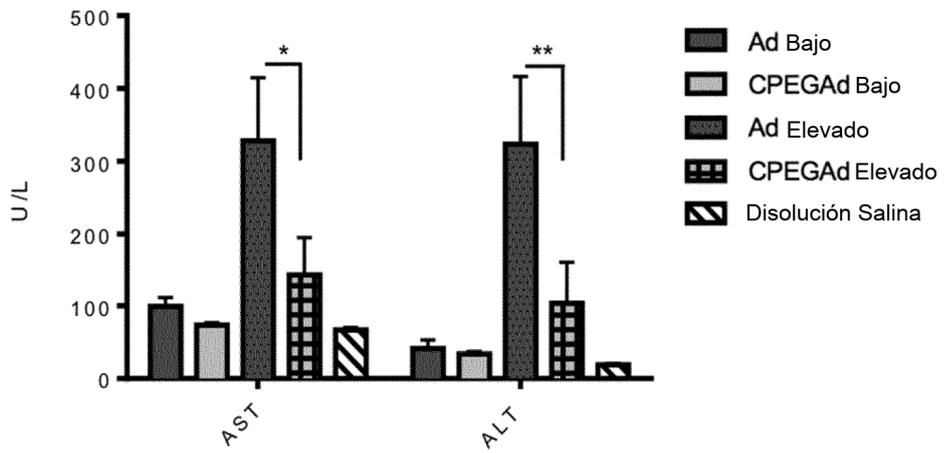


FIGURA 17A

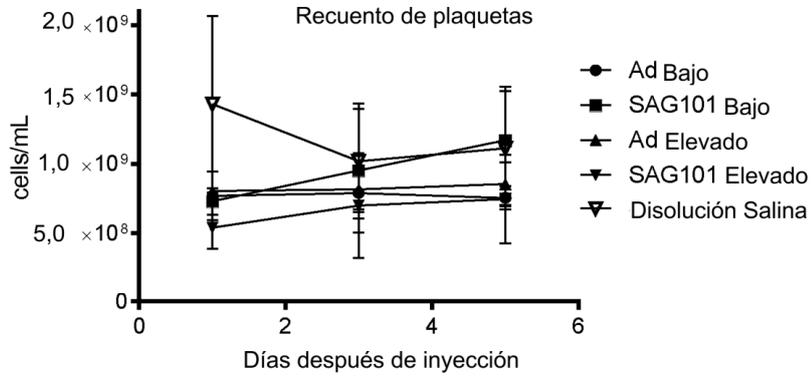


FIGURA 17B

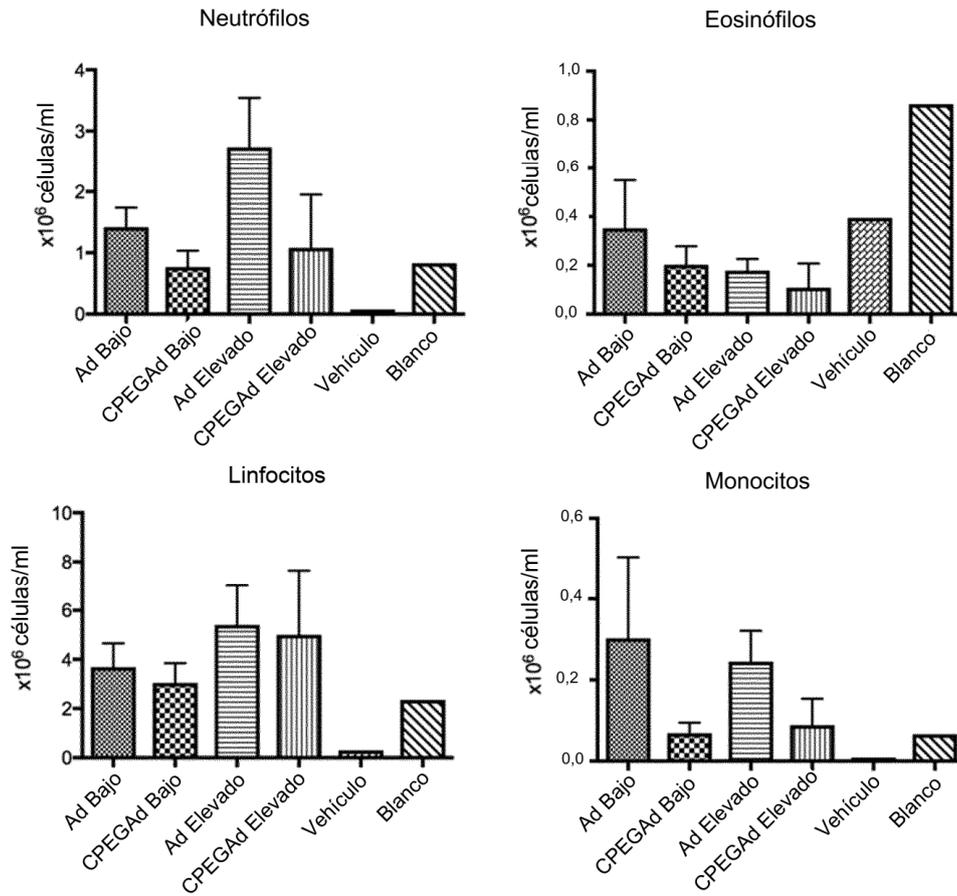


FIGURA 18

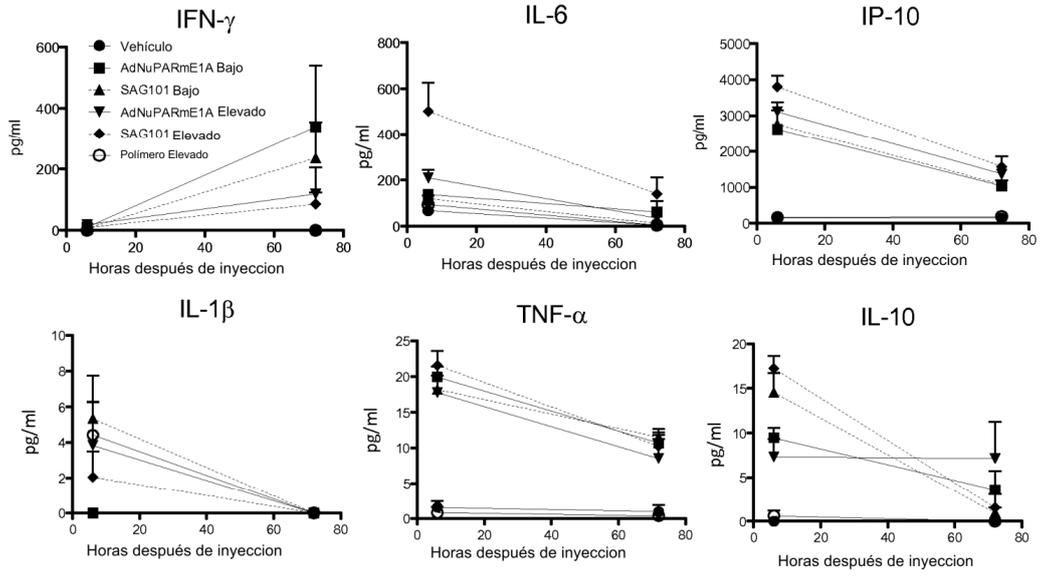


FIGURA 19A

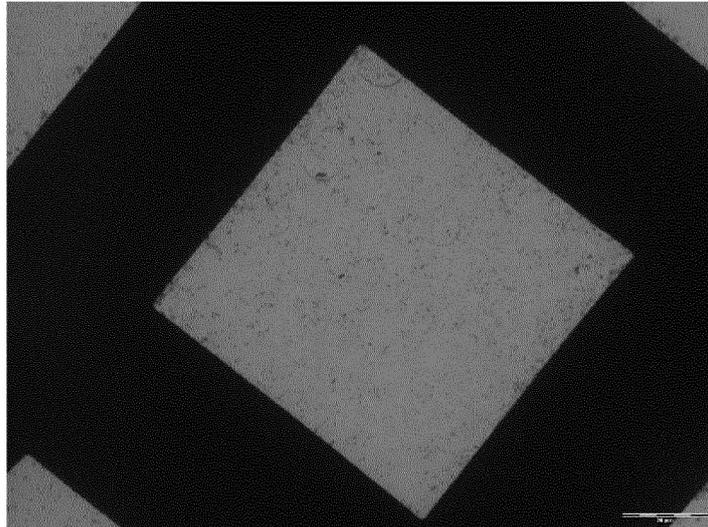


FIGURA 19B

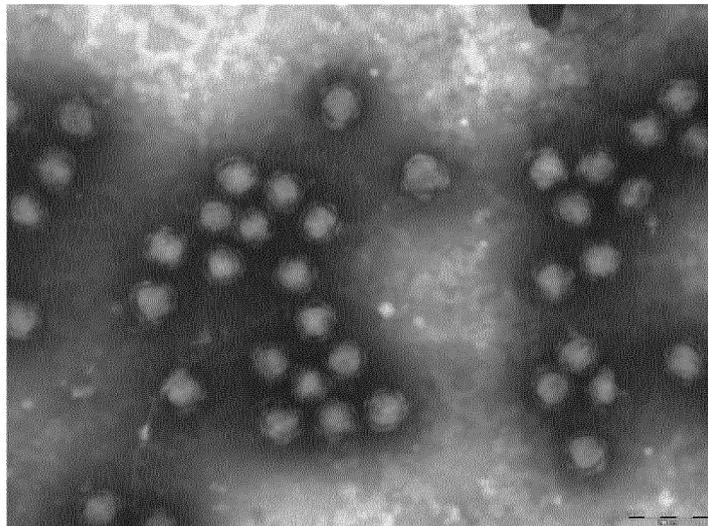


FIGURA 20A

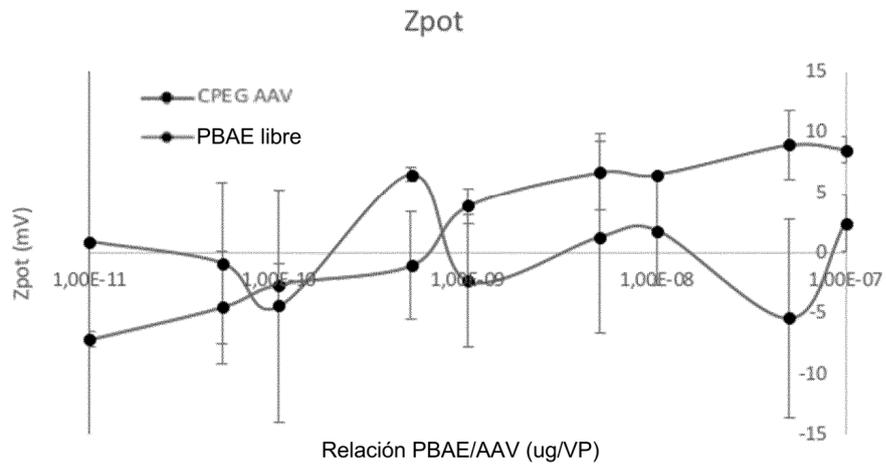


FIGURA 20B

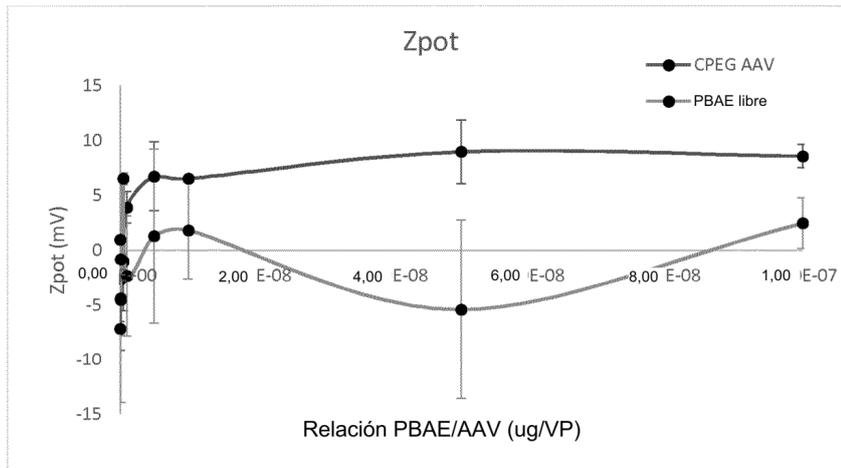


FIGURA 21

