

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 235**

51 Int. Cl.:

C08F 283/06 (2006.01) **C08G 69/40** (2006.01)

C08G 69/10 (2006.01)

A61K 47/34 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 31/337 (2006.01)

A61K 31/427 (2006.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

A61K 31/475 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.03.2013 E 13001333 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015 EP 2660255**

54 Título: **Copolímeros en bloque para micelas estables**

30 Prioridad:

11.04.2012 US 201261622755 P

14.06.2012 US 201261659841 P

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

18.02.2016

73 Titular/es:

INTEZYNE TECHNOLOGIES INC. (100.0%)

3720 Spectrum Boulevard, Suite 104

Tampa, FL 33612, US

72 Inventor/es:

SILL, KEVIN;

CARIE, ADAM;

VOJKOVSKY, TOMAS y

SEMPLE, EDWARD J.

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 560 235 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

Copolímeros en bloque para micelas estables.

5 **Campo de la Invención**

La presente invención se refiere al campo de química de polímeros y más particularmente a copolímeros multibloque y usos de los mismos.

10 **Antecedentes de la Invención**

El desarrollo de nuevos agentes terapéuticos ha mejorado drásticamente la calidad de vida e índice de supervivencia de pacientes que padecen una variedad de trastornos. Sin embargo, las innovaciones para el suministro de fármaco son necesarias para mejorar la tasa de éxito de estos tratamientos. Específicamente, todavía son necesarios los sistemas de suministro que minimicen eficazmente la excreción prematura y/o metabolismo de agentes terapéuticos y administren estos agentes específicamente a células enfermas reduciendo de este modo su toxicidad a células sanas.

Los portadores de fármaco nanoscópicos racionalmente diseñados o "nanovectores", ofrecen un enfoque prometedor para lograr estas metas debido a su capacidad inherente para superar muchas barreras biológicas. Sin embargo, su multifuncionalidad permite la incorporación de grupos de direccionamiento celular, agentes diagnósticos, y una multitud de fármacos en un sistema de suministro único. Las micelas de polímero, formadas por el ensamblaje molecular de copolímeros en bloque anfifílicos, funcionales, representan un tipo notable de nanovector multifuncional.

Las micelas de polímero son particularmente atractivas debido a su capacidad para suministrar grandes cargas útiles de una variedad de fármacos (por ejemplo, molécula pequeña, proteínas, y terapéuticos de ADN/ARN), su estabilidad *in vivo* mejorada comparada con otros portadores coloidales (por ejemplo, liposomas), y su tamaño nanoscópico que permite la acumulación pasiva en tejidos enfermos, tales como tumores sólidos, por su efecto de retención y penetración mejorados (EPR, por sus siglas en inglés). Usando funcionalidad de superficie apropiada, las micelas de polímero son además decoradas con grupos de direccionamiento a la célula y potenciadores de la penetración que pueden activamente dirigirse a células enfermas y ayudan en la entrada celular, lo que produce el suministro mejorado específico de la célula.

Mientras el autoensamblaje representa un método conveniente para el diseño ascendente de nanovectores, las fuerzas que conducen y sostienen el ensamblaje de micelas de polímero son dependientes de la concentración e inherentemente reversibles. En aplicaciones clínicas, donde las micelas de polímero se diluyen rápidamente después de la administración, esta reversibilidad, junto con altas concentraciones de componentes sanguíneos desestabilizantes de la micela (por ejemplo, proteínas, lípidos, y fosfolípidos), a menudo conduce a la disociación prematura de micelas cargadas de fármaco antes de que el objetivo activo o pasivo se logre eficazmente. Para que las micelas de polímero alcancen completamente su potencial dirigido a la célula y exploten su multifuncionalidad contemplada, el tiempo de circulación *in vivo* se debe mejorar. Se necesitan vehículos de suministro de fármaco, que sean infinitamente estables a la dilución post-administración, puedan evitar las barreras biológicas (por ejemplo, absorción del sistema reticuloendotelial (SRE), y administrar fármacos en respuesta al medio fisiológico encontrado en tejidos enfermos, tales como tumores sólidos.

Breve Descripción de las Figuras

Figura 1. Ilustraciones esquemáticas que representan el copolímero tribloque (véase la figura 1A) y la micela de polímero (véase, la figura 1 B) de la presente invención.

Figura 2. Ilustraciones esquemáticas que muestran la preparación de micelas cargadas de fármaco.

Figura 3. Ilustraciones esquemáticas que muestran el entrecruzamiento de una micela cargada de fármaco con iones de metal.

Figura 4. Ilustraciones esquemáticas que representan la micela cargada de fármaco, entrecruzada de la presente invención.

Figura 5. Validación de encapsulación de daunorubicina por diálisis de la formulación no entrecruzada a 20 mg/ml (barra negra) y 0,2 mg/ml (barra blanca) durante 6 horas contra tampón fosfato pH 8.

Figura 6. Verificación de entrecruzamiento dependiente de hierro por diálisis a 0,2 mg/ml en tampón fosfato a pH durante 6 horas.

Figura 7. Verificación de la dependencia del tiempo en el entrecruzamiento mediado por hierro por diálisis a 0,2

mg/ml en tampón fosfato pH 8 durante 6 horas.

Figura 8. La muestra no entrecruzada se reconstituyó a 20 mg/ml y pH ajustado a 3, 4, 5, 6, 7, 7,4 y 8 para determinar la dependencia del pH del entrecruzamiento mediado por hierro. Las muestras se diluyeron a 0,2 mg/ml y se dializaron contra tampón fosfato 10 mM pH 8 durante 6 horas.

Figura 9. Liberación dependiente del pH de la formulación de daunorubicina entrecruzada dializada contra tampón fosfato 10 mM a pH ajustado a 3, 4, 5, 6, 7, 7,4 y 8 durante 6 horas.

Figura 10. Liberación dependiente de sal de la formulación de daunorubicina entrecruzada a 0,2 mg/ml dializada contra tampón fosfato 10 mM con concentraciones de NaCl de 0, 10, 50, 100, 200, 300, 400 o 500 mM.

Figura 11. Histograma de DLS que demuestra la distribución del tamaño de partícula para la formulación de aminopterina entrecruzada.

Figura 12. Verificación de encapsulación por diálisis de la formulación por encima (20 mg/ml, barra negra) y por debajo (0,2 mg/ml, barra blanca) de la CMC.

Figura 13. Verificación de entrecruzamiento y liberación dependiente del pH de formulación de aminopterina a 0,2mg/ml por diálisis en tampón fosfato 10 mM durante 6 horas.

Figura 14. Viabilidad celular para células de cáncer de pulmón A549 tratadas con aminopterina libre, formulación de aminopterina no entrecruzada, formulación de aminopterina entrecruzada, vehículo de micela vacío no entrecruzado, y vehículo de micela vacío entrecruzado.

Figura 15. Viabilidad celular para células de cáncer de ovario OVCAR3 tratadas con aminopterina libre, formulación de aminopterina no entrecruzada, formulación de aminopterina entrecruzada, vehículo de micela vacío no entrecruzado y vehículo de micela vacío entrecruzado.

Figura 16. Viabilidad celular para células de cáncer pancreático PANC-1 (receptor de folato +) tratadas con aminopterina libre, formulación de aminopterina no entrecruzada, formulación de aminopterina entrecruzada, vehículo de micela vacío no entrecruzado y vehículo de micela vacío entrecruzado.

Figura 17. Viabilidad celular para células de cáncer pancreático BxPC3 (receptor de folato -) tratadas con aminopterina libre, formulación de aminopterina no entrecruzada, formulación de aminopterina entrecruzada, vehículo de micela vacío no entrecruzado y vehículo de micela vacío entrecruzado.

Figura 18. Concentración de SN-38 en el compartimiento de plasma de ratas a partir de la formulación de IT-141 (NHOH; 127C) comparada con la formulación de IT-141 (Asp; 127E) a 10 mg/kg.

Figura 19. Farmacocinética en rata de formulaciones de SN-38.

Figura 20. Liberación dependiente del pH de formulación de cabizataxel entrecruzada dializada contra tampón fosfato 10 mM a pH ajustado a 3, 4, 5, 6, 7, 7,4 y 8 durante 6 horas.

Figura 21. Farmacocinética de daunorubicina libre y formulaciones de daunorubicina en ratas.

Figura 22. Niveles en plasma de rata de cabizataxel después de la administración de la formulación de cabizataxel entrecruzada y cabizataxel libre.

Figura 23. Eficacia anti-tumoral de formulaciones de SN-38 entrecruzadas en un modelo de xenoinjerto HCT-116.

Figura 24. Biodistribución de aminopterina a partir de formulaciones de aminopterina entrecruzadas en un modelo de xenoinjerto OVCAR-3.

Figura 25. Eficacia antitumoral de formulaciones de aminopterina entrecruzadas en un modelo de xenoinjerto MFE-296.

Descripción Detallada de la Invención

1. Descripción General:

Según una realización, la presente invención proporciona una micela que comprende un copolímero multibloque que comprende un bloque hidrofílico polimérico, opcionalmente un poli(bloque de aminoácido) entrecruzable o entrecruzado, y un bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico, caracterizada porque tal micela tiene un núcleo interno, opcionalmente un núcleo externo entrecruzable o entrecruzado, y una cubierta hidrofílica. Se

apreciará que el bloque hidrofílico polimérico corresponde a la cubierta hidrofílica, el poli(bloque de aminoácido) opcionalmente entrecruzable o entrecruzado corresponde al núcleo externo opcionalmente entrecruzado, y el bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico corresponde al núcleo interno.

- 5 El bloque de "poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico", como se describe en el presente documento, consiste en una mezcla de enantiómeros D y L para facilitar la encapsulación de fracciones hidrofóbicas. Está bien establecido que homopolímeros y copolímeros de aminoácidos, que consisten en un estereoisómero único, pueden presentar estructuras secundarias tales como la hélice α o lámina β . Véase *α -Aminoacid-N-Carboxi-Anhydrides and Related Heterocycles*, H.R. Kricheldorf, Springer-Verlag, 1987. Por ejemplo, poli(glutamato de L-bencilo) presenta típicamente una conformación α -helicoidal; sin embargo esta estructura secundaria puede ser alterada por un cambio de solvente o temperatura (véase *Advances in Protein Chemistry XVI*, P. Urnes and P. Doty, Academic Press, Nueva York 1961). La estructura secundaria también puede ser alterada por la incorporación de aminoácidos estructuralmente distintos tales como aminoácidos que forman láminas β (por ejemplo, prolina) o a través de la incorporación de aminoácidos con estereoquímica distinta (por ejemplo, mezcla de estereoisómeros D y L), que produce poli(aminoácidos) con una conformación de espiral aleatoria. Véase Sakai, R.; Ikeda, S.; Isemura, T. *Bull Chem. Soc. Japan* 1969, 42, 1332-1336, Paolillo, L.; Temussi, P.A.; Bradbury, E.M.; Crane-Robinson, C. *Biopolymers* 1972, 11, 2043-2052, y Cho, I.; Kim, J.B.; Jung, H.J. *Polymer* 2003, 44, 5497-5500.

20 Mientras los métodos para influir la estructura secundaria de poli(aminoácidos) se han conocido durante algún tiempo, se ha descubierto de manera sorprendente que los copolímeros en bloque que poseen una conformación de espiral aleatoria son particularmente útiles para la encapsulación de moléculas hidrofóbicas y nanopartículas cuando se compara con polímeros en bloque similares que poseen un segmento helicoidal. Véase Solicitud de Patente Estadounidense 2008-0274173. Sin querer estar unido a ninguna teoría particular, se cree que los copolímeros en bloque proporcionados que tienen una conformación de espiral-espiral permiten el empaquetamiento y carga eficaces de fracciones hidrofílicas dentro del núcleo de la micela, mientras que las demandas estéricas de una conformación de varilla-espiral para un copolímero en bloque que contiene hélice produce encapsulación menos eficaz.

30 Las fuerzas hidrofóbicas que dirigen el ensamblaje acuoso de portadores de fármaco coloidales, tales como micelas de polímero y liposomas, son relativamente débiles, y estas estructuras ensambladas se disocian por debajo de una concentración finita conocida como la concentración micelar crítica (CMC). El valor de CMC de las micelas de polímero es de gran importancia en aplicaciones clínicas debido a que los portadores coloidales cargados de fármaco se diluyen en la corriente sanguínea después de la administración y alcanzan rápidamente concentraciones por debajo de la CMC (μ M o menos). Este efecto de dilución conducirá a la disociación de la micela y la liberación del fármaco fuera del área objetivo y cualquiera de los beneficios asociados con el tamaño de la micela (efecto EPR) o direccionamiento activo se perderá. Mientras que una gran cantidad de investigación a lo largo de los años 90 se enfocó en identificar micelas de polímero con valores de CMC ultrabajos (nM o menos), Maysinger (Savic et. al, *Langmuir*, 2006, p3570-3578) y Schiochet (Lu et. al, *Macromolecules*, 2011, p6002-6008) han redefinido el concepto de una CMC biológicamente relevante mostrando que los valores de CMC para las micelas de polímero cambian en dos órdenes de magnitud cuando los valores de CMC en solución salina se comparan con y sin suero.

45 Además de su morfología de núcleo-cubierta, las micelas de polímero pueden ser modificadas para permitir el direccionamiento celular activo y pasivo para maximizar los beneficios de agentes terapéuticos actuales y futuros. Debido a que las micelas cargadas de fármaco poseen típicamente diámetros mayores de 20 nm, presentan tiempo de circulación drásticamente incrementado cuando se comparan con fármacos independientes debido a la depuración renal minimizada. Esta característica única de nanovectores y fármacos poliméricos conduce a la acumulación selectiva en el tejido enfermo, especialmente tejido canceroso debido al efecto de pentetración y retención ("EPR") mejorado. El efecto EPR es una consecuencia de la naturaleza desorganizada de la vasculatura tumoral, que produce permeabilidad incrementada de los terapéuticos poliméricos y retención de fármaco en el sitio del tumor. Además del direccionamiento de células pasivo por el efecto EPR, las micelas se diseñan para dirigirse activamente a células tumorales a través de la unión química de grupos de direccionamiento a la periferia de la micela. La incorporación de tales grupos muy a menudo se realiza a través de la funcionalización de grupo terminal del bloque hidrofílico usando técnicas de conjugación química. Como las partículas virales, las micelas funcionalizadas con grupos de direccionamiento utilizan interacciones ligando-receptor para controlar la distribución espacial de las micelas después de la administración, mejorando además el suministro de terapéuticos específico de la célula. En terapia contra el cáncer, se diseñan grupos de direccionamiento para interactuar con receptores que están sobreexpresados en tejido canceroso con relación al tejido normal tal como ácido fólico, oligopéptidos, azúcares, y anticuerpos monoclonales. Véase Pan, D.; Turner, J. L.; Wooley, K. L. *Chem. Commun.* 2003, 2400-2401; Gabizon, A.; Shmeeda, H.; Horowitz, A.T.; Zalipsky, S. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004, 56, 1177-1202; Reynolds, P. N.; Dmitriev, I.; Curiel, D. T. *Vector. Gene Ther.* 1999, 6, 1336-1339; Derycke, A. S. L.; Kamuhabwa, A.; Gijssens, A.; Roskams, T.; De Vos, D.; Kasran, A.; Huwyler, J.; Missiaen, L.; de Witte, P. A. M. *T J. Nat. Cancer Inst.* 2004, 96, 1620-30; Nasongkla, N.; Shuai, X.; Ai, H.; Weinberg, B. D. P., J.; Boothman, D. A.; Gao, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43, 6323-6327; Jule, E.; Nagasaki, Y.; Kataoka, K. *Bioconj. Chem.* 2003, 14, 177-186; Stubenrauch, K.; Gleiter, S.; Brinkmann, U.; Rudolph, R.; Lilie, H. *Biochem. J.* 2001, 356, 867-873; Kurschus, F. C.; Kleinschmidt, M.; Fellows, E.; Dornmair, K.; Rudolph, R.; Lilie, H.; Jenne, D. E. *FEBS Lett.* 2004, 562, 87-92; y Jones, S. D.; Marasco, W. A. *Adv. Drug Del. Rev.* 1998, 31, 153-170.

A pesar del gran volumen de trabajo en portadores de fármaco micelares, se ha enfocado poco esfuerzo en la mejora de su estabilidad *in vivo* a la dilución. Una razón potencial es que los efectos verdaderos de la dilución de micelas *in vivo* no se comprenden completamente hasta que se utilicen estudios en animales más grandes. Debido a que el metabolismo del ratón es muy superior que el de los animales más grandes, pueden recibir dosis considerablemente superiores de fármacos tóxicos cuando se comparan con animales más grandes tales como ratas o perros. Por lo tanto, cuando se administran micelas cargadas de fármaco y se diluyen completamente a través del volumen de sangre completo, la concentración de polímero correspondiente siempre será más alta en el modelo de ratón. Por lo tanto, sería muy deseable preparar una micela que esté estabilizada (entrecruzada) a la dilución en medios biológicos.

En la presente invención, el poli(bloque de aminoácido) opcionalmente entrecruzable o entrecruzado está compuesto de funcionalidad química que se une fuertemente o coordina con iones de metal. Un ejemplo específico son los ácidos hidroxámicos y hierro (III). Otro ejemplo son grupos hidroxibenceno orto-sustituídos (catecoles) con hierro. Las fracciones tanto de ácido hidroxámico como catecol son comunes en sideróforos, agentes quelantes de hierro de alta afinidad producidos por microorganismos. Adicionalmente, se ha descrito que los poli(acrilatos) modificados de ácido hidroxámico pueden formar un gel entrecruzado después del tratamiento con hierro (III) (Rosthauser y Winston, *Macromolecules*, 1981, p538-543). Sin desear estar unido por ninguna teoría particular, se cree que la incorporación de grupos quelantes de metal de alta afinidad tal como ácidos hidroxámicos y catecoles en el núcleo externo de la micela, después del tratamiento con un ión de metal producirá una micela que es estable a la dilución dentro del medio biológico.

El trabajo previo ha utilizado ácidos carboxílicos para interactuar con iones de metal con el fin de proporcionar estabilidad de micelas. Véase la Solicitud de Patente Estadounidense 2006-0240092. Se ha descubierto de manera sorprendente que el uso de polímeros modificados con ácido hidroxámico es eficaz para estabilizar reversiblemente la micela de polímero a la dilución dentro del medio biológico. Se ha demostrado que esta química de ácido hidroxámico es particularmente eficaz cuando se encapsula un fármaco que posee una o más funcionalidades químicas que se sabe se unen al hierro (por ejemplo, ácidos carboxílicos). Sin desear estar unido por ninguna teoría particular, se cree que los iones de metal usados para estabilizar la micela preferentemente se unirán al grupo quelante de metal de alta afinidad tales como ácidos hidroxámicos y catecoles, produciendo una micela estabilizada. Además, la reacción de quelación entre el hierro (III) y fracciones de ácido hidroxámico se desarrolla en segundos, permitiendo una rápida etapa de entrecruzamiento.

2. Definiciones:

Los compuestos de esta invención incluyen aquellos descritos en general anteriormente, y además se ilustra por las realizaciones, subrealizaciones, y especies descritas en el presente documento. Como se usa en el presente documento, las siguientes definiciones deben aplicarse a menos que se indique de otro modo. Para los fines de esta invención, los elementos químicos son identificados según la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75^a Ed. Adicionalmente, se describen principios generales de química orgánica en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y "March's Advanced Organic Chemistry", 5^a Ed., Ed.: Smith, M.B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001, cuyos contenidos completos se incorporan de este modo por referencia.

Como se usa en el presente documento, el término "polimerización secuencial", y variaciones del mismo, se refiere al método en donde, después que un primer monómero (por ejemplo, NCA, lactama, o imida) se incorpora en el polímero, de este modo formando un "bloque" de aminoácido, un segundo monómero (por ejemplo, NCA, lactama, o imida) se añade a la reacción para formar un segundo bloque de aminoácido, proceso que puede continuarse de una forma similar para introducir bloques de aminoácido adicionales en los copolímeros de bloques múltiples resultantes.

Como se usa en el presente documento, el término "copolímero multibloque" se refiere a un polímero que comprende una porción de polímero sintético y dos o más porciones de poli(aminoácido). Tales copolímeros multibloque incluyen aquellos que tienen el formato W-X-X', en donde W es una porción de polímero sintético y X y X' son cadenas de poli(aminoácido) o "bloques de aminoácidos". En ciertas realizaciones, los copolímeros multibloque de la presente invención son copolímeros tribloque. Como se describe en el presente documento, uno o más de los bloques de aminoácidos pueden ser "bloques mezclados", que significa que estos bloques pueden contener una mezcla de monómeros de aminoácido creando de este modo copolímeros multibloque de la presente invención. En algunas realizaciones, los copolímeros multibloque de la presente invención comprenden un bloque de aminoácido mezclado y son copolímeros tetrabloque.

Un experto en la materia reconocerá que una unidad de repetición de monómero se define por un paréntesis alrededor de la unidad de monómero de repetición. El número (o letra que representa un intervalo numérico) a la derecha inferior del paréntesis representa el número de unidades de monómero que están presentes en la cadena de polímero. En el caso donde solamente un monómero representa el bloque (por ejemplo, un homopolímero), el bloque se indicará solamente por el paréntesis. En el caso de un bloque mezclado, los monómeros múltiples

comprenden un bloque continuo, único. Se entenderá que los corchetes definirán una porción o bloque. Por ejemplo, un bloque puede consistir en cuatro monómeros individuales, cada uno definido por su propia serie individual de paréntesis y número de unidades de repetición presentes. Todas las cuatro series de paréntesis estarán encerradas por una serie de corchetes, que indica que todos los cuatro de estos monómeros se combinan en orden aleatorio, o casi aleatorio, para comprender el bloque mezclado. Por claridad, el bloque aleatoriamente mezclado de [BCADDCBADABCDABC] se representaría en forma abreviada por [(A)₄(B)₄(C)₄(D)₄].

Como se usa en el presente documento, la unidad de repetición de monómero descrita anteriormente es un valor numérico que representa el número medio de unidades de monómero que componen la cadena de polímero. Por ejemplo, un polímero representado por (A)₁₀ corresponde a un polímero que consiste en diez unidades de monómero "A" unidas. Un experto en la materia reconocerá que el número 10 en este caso representará una distribución de números con una media de 10. La amplitud de esta distribución está representada por el índice de polidispersidad (PDI). Un PDI de 1,0 representa un polímero en donde cada longitud de cadena es exactamente la misma (por ejemplo, una proteína). Un PDI de 2,0 representa un polímero en donde las longitudes de cadena tienen una distribución Gaussiana. Los polímeros de la presente invención típicamente poseen un PDI de menos de 1,20.

Como se usa en el presente documento, el término "copolímero tribloque" se refiere a un polímero que comprende una porción de polímero sintético y dos porciones de poli(aminoácidos).

Como se usa en el presente documento, el término "copolímero tetrabloque" se refiere a un polímero que comprende una porción de polímero sintético y bien dos porciones de poli(aminoácido), en donde 1 porción de poli(aminoácido) es un bloque mezclado o un polímero que comprende una porción de polímero sintético y tres porciones de poli(aminoácidos).

Como se usa en el presente documento, el término "núcleo interno" como se aplica a una micela de la presente invención se refiere al centro de la micela formado por el bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico. Según la presente invención, el núcleo interno no está entrecruzado. A modo de ilustración, en un polímero tribloque del formato W-X'-X", como se describe anteriormente, el núcleo interno corresponde al bloque X".

Como se usa en el presente documento, el término "núcleo externo" como se aplica a una micela de la presente invención se refiere a la capa formada por el primer bloque de poli(aminoácido). El núcleo externo está entre el núcleo interno y la cubierta hidrofílica. Según la presente invención, el núcleo externo es bien entrecruzable o está entrecruzado. A modo de ilustración, en un polímero tribloque del formato W-X'-X", como se describe anteriormente, el núcleo externo corresponde al bloque X'. Se contempla que el bloque X' pueda ser un bloque mezclado.

Como se usa en el presente documento, los términos "cargado de fármaco" y "encapsulado", y derivados de los mismos, se usan intercambiamente. Según la presente invención, una micela "cargada de fármaco" se refiere a una micela que tiene un fármaco, o agente terapéutico, situado dentro del núcleo de la micela. En ciertos casos, el fármaco o agente terapéutico está situado en la interfase entre el núcleo y la corona hidrofílica. Esto también se denomina un fármaco, o agente terapéutico, que está "encapsulado" dentro de la micela.

Como se usa en el presente documento, el término "bloque hidrofílico polimérico" se refiere a un polímero que no es un poli(aminoácido) y es de naturaleza hidrofílica. Tales polímeros hidrofílicos son bien conocidos en la técnica e incluyen óxido de polietileno (también denominado polietilenglicol o PEG), y derivados del mismo, poli(N-vinil-2-pirolidona), y derivados de la misma, poli(N-isopropilacrilamida), y derivados de la misma, poli(acrilato de hidroxietilo), y derivados del mismo, poli(metacrilato de hidroxietilo), y derivados del mismo, y polímeros de N-(2-hidroxipropoil)metacrilamida (HMPA) y derivados de los mismos.

Como se usa en el presente documento, el término "poli(aminoácido)" o "bloque de aminoácido" se refiere a una cadena de aminoácido unida covalentemente en donde tal monómero es una unidad de aminoácido. Tales unidades de aminoácido incluyen aminoácidos naturales y no naturales. En ciertas realizaciones, cada unidad de aminoácido del poli(bloque de aminoácido) opcionalmente entrecruzable o entrecruzado está en la configuración L. Tales poli(aminoácidos) incluyen aquellos que tienen grupos funcionales adecuadamente protegidos. Por ejemplo, los monómeros de aminoácido pueden tener fracciones hidroxilo o amino, que están opcionalmente protegidas por un grupo protector de hidroxilo o un grupo protector de amino, según sea apropiado. Tales grupos protectores de hidroxilo y grupos protectores de amino adecuados se describen en más detalle en el presente documento, posteriormente. Como se usa en el presente documento, un bloque de aminoácido comprende uno o más monómeros o una serie de dos o más monómeros. En ciertas realizaciones, un bloque de aminoácido comprende uno o más monómeros de manera que el bloque total es hidrofílico. En todavía otras realizaciones, los bloques de aminoácidos de la presente invención incluyen bloques de aminoácidos aleatorios, es decir, bloques que comprenden una mezcla de residuos de aminoácidos.

Como se usa en el presente documento, el término "bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado" se refiere a un bloque de poli(aminoácido) en donde el poli(aminoácido) consiste en una mezcla de aminoácidos tanto en las configuraciones D como L. En ciertas realizaciones, el bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado es hidrofóbico. En otras realizaciones, el bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado consiste en una mezcla de grupos de cadena lateral

de aminoácidos hidrofóbicos en configuración D y aminoácidos hidrofílicos en configuración L de manera que el bloque de poli(aminoácido) total que comprende es hidrofóbico.

5 Poli(aminoácidos) ejemplares incluyen poli(glutamato de bencilo), poli(aspartato de bencilo), poli(L-leucina-co-tirosina), poli(D-leucina-co-tirosina), poli(L-fenilalanina-co-tirosina), poli(D-fenilalanina-co-tirosina), poli(L-leucina-co-ácido aspártico), poli(D-leucina-co-ácido aspártico), poli(L-fenilalanina-co-ácido aspártico), poli(D-fenilalanina-co-ácido aspártico).

10 Como se usa en el presente documento, la frase “grupo de cadena lateral de aminoácido natural” se refiere al grupo de cadena lateral de cualquiera de los 20 aminoácidos naturales en las proteínas. Por claridad, el grupo de cadena lateral -CH₃ podría representar el aminoácido alanina. Tales aminoácidos naturales incluyen los aminoácidos no polares o hidrofóbicos, glicina, alanina, valina, leucina isoleucina, metionina, fenilalanina, triptofano, y prolina. La cisteína algunas veces se clasifica como no polar o hidrofóbica y otras veces como polar. Los aminoácidos naturales también incluyen aminoácidos polares o hidrofílicos, tales como tirosina, serina, treonina, ácido aspártico (también conocido como aspartato, cuando se carga), ácido glutámico (también conocido como glutamato, cuando se carga), asparragina, y glutamina. Ciertos aminoácidos polares o hidrofílicos, tienen cadenas laterales cargadas. Tales aminoácidos cargados incluyen lisina, arginina, e histidina. Un experto en la materia reconocería que la protección de una cadena lateral de aminoácido polar o hidrofílico puede hacer tal aminoácido no polar. Por ejemplo, un grupo hidroxilo de tirosina adecuadamente protegido puede hacer tal tirosina no polar e hidrofóbica en virtud de proteger el grupo hidroxilo.

25 Como se usa en el presente documento, la frase “grupo de cadena lateral de aminoácido no natural” se refiere a aminoácidos no incluidos en la lista de 20 aminoácidos naturales en las proteínas, como se describe anteriormente. Tales aminoácidos incluyen el isómero D de cualquiera de los 20 aminoácidos naturales. Los aminoácidos no naturales también incluyen homoserina, ornitina, y tiroxina. Otras cadenas laterales de aminoácidos no naturales son las conoce bien el experto en la materia e incluyen cadenas laterales alifáticas no naturales. Otros aminoácidos no naturales incluyen aminoácidos modificados, que incluyen los que están N-alquilados, ciclados, fosforilados, acetilados, amidados, azidilados, marcados, y similares.

30 Como se usa en el presente documento, el término “tacticidad” se refiere a la estereoquímica del bloque hidrofóbico de poli(aminoácido). Un bloque de poli(aminoácido) que consiste en un estereoisómero único (por ejemplo, todo el isómero L) se denomina “isotáctico”. Un poli(aminoácido) que consiste en una incorporación aleatoria de monómeros de aminoácido D y L se denomina un polímero “atáctico”. Un poli(aminoácido) con estereoquímica alternante (por ejemplo, ...DLDLDL...) se denomina un polímero “sindiotáctico”. La tacticidad del polímero se describe en más detalle en “Principles of Polymerization”, 3ª Ed., G. Odian, John Wiley & Sons, Nueva York: 1991, cuyos contenidos completos se incorporan de este modo por referencia.

40 Como se usa en el presente documento, la frase “extremo de cadena de polímero vivo” se refiere al término que resulta de una reacción de polimerización la cual mantiene la capacidad para reaccionar además con un monómero adicional o con un terminador de polimerización.

45 Como se usa en el presente documento, el término “terminación” se refiere a unir un grupo terminal con un extremo de cadena de polímero por la reacción de un polímero vivo con un compuesto apropiado. Alternativamente, el término “terminación” puede referirse a unir un grupo terminal a un extremo hidroxilo o amina, o derivado del mismo, de la cadena de polímero.

50 Como se usa en el presente documento, el término “terminador de polimerización” se usa intercambiamente con el término “agente de terminación de polimerización” y se refiere a un compuesto que reacciona con un extremo de cadena de polímero vivo para dar a un polímero un grupo terminal. Alternativamente, el término “terminador de polimerización” puede referirse a un compuesto que reacciona con un extremo hidroxilo o amina, o derivado del mismo, de la cadena de polímero, para dar a un polímero un grupo terminal.

55 Como se usa en el presente documento, el término “iniciador de polimerización” se refiere a un compuesto, que reacciona con, o cuya forma anión o base libre reacciona con, el monómero deseado en una manera que produce polimerización de tal monómero. En ciertas realizaciones, el iniciador de polimerización es el compuesto que reacciona con un óxido de alquileo para proporcionar un bloque de óxido de polialquileo. En otras realizaciones, el iniciador de polimerización es una sal de amina como se describe en el presente documento. En ciertas realizaciones, el iniciador de polimerización es una sal de amina de ácido trifluoroacético.

60 El término “alifático” o “grupo alifático”, como se usa en el presente documento, indica una fracción de hidrocarburo que puede ser de cadena lineal (es decir, no ramificada), ramificada, o cíclica (que incluye fusionada, en puente, y policíclica espiro-fusionada) y puede ser completamente saturada o puede contener una o más unidades de insaturación, pero que no es aromática. A menos que se especifique de otro modo, los grupos alifáticos contienen 1-20 átomos de carbono. En algunas realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-10 átomos de carbono. En otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-8 átomos de carbono. En todavía otras realizaciones, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono, y en aún otras realizaciones los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos

de carbono. Los grupos alifáticos incluyen, pero no se limitan a, grupos alquilo, alqueno y alquino lineales o ramificados, e híbridos de los mismos tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalqueno)alquilo o (cicloalquil)alqueno.

5 El término "heteroátomo" significa uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio. Esto incluye cualquier forma oxidada de nitrógeno, azufre, fósforo o silicio; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico, o; un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico que incluye =N- como en 3,4-dihidro-2H-pirrolilo, -NH- como en pirrolidinilo, o =N(R¹)- como en pirrolidinilo N-sustituido.

10 El término "insaturado", como se usa en el presente documento, significa que una fracción tiene una o más unidades de insaturación.

15 Como se usa en el presente documento, el término "cadena de hidrocarburo C₁₋₁₂ lineal o ramificada, saturada o insaturada, bivalente", se refiere a cadenas alqueno, alqueno y alquino bivalentes que son lineales o ramificadas como se define en el presente documento.

20 El término "arilo" usado solo o como parte de una fracción más grande como en "aralquilo", "aralcoxi", o "arilalcoxilalquilo", se refiere a sistemas de anillo monocíclico, bicíclico, y tricíclico que tienen un total de cinco a catorce elementos en el anillo, en donde al menos un anillo en el sistema es aromático y en donde cada anillo en el sistema contiene de tres a siete elementos en el anillo. El término "arilo" se puede usar intercambiamente con el término "anillo arilo".

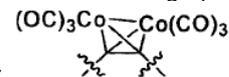
25 Como se describe en el presente documento, los compuestos de la invención pueden contener fracciones "opcionalmente sustituidas". En general, el término "sustituido", vaya precedido por el término "opcionalmente" o no, significa que uno o más hidrógenos de la fracción designada se sustituyen con un sustituyente adecuado. A menos que se indique de otro modo, un grupo "opcionalmente sustituido" puede tener un sustituyente adecuado en cada posición sustituible del grupo, y cuando más de una posición en cualquier estructura dada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado de un grupo especificado, el sustituyente puede ser el mismo o diferente en cada posición. Combinaciones de sustituyentes contempladas por esta invención son preferiblemente aquellas que producen la formación de compuestos estables o químicamente factibles. El término "estable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no están sustancialmente alterados cuando se someten a condiciones para permitir su producción, detección, y, en ciertas realizaciones, su recuperación, purificación, y uso para uno o más de los fines descritos en el presente documento.

35 Sustituyentes monovalentes en un átomo de carbono sustituible de un grupo "opcionalmente sustituido" son independientemente halógeno; -(CH₂)₀₋₄R^o; -(CH₂)₀₋₄OR^o; -O-(CH₂)₀₋₄C(O)OR^o; -(CH₂)₀₋₄CH(OR^o)₂; -(CH₂)₀₋₄SR^o; -(CH₂)₀₋₄Ph, que pueden estar sustituidos con R^o; -(CH₂)₀₋₄O(CH₂)₀₋₁Ph que pueden estar sustituidos con R^o; -CH=CHPh, que pueden estar sustituidos con R^o; -NO₂; -CN; -N₃; -(CH₂)₀₋₄N(R^o)₂; -(CH₂)₀₋₄N(R^o)C(O)R^o; -N(R^o)C(S)R^o; -(CH₂)₀₋₄N(R^o)C(O)NR^o₂; -N(R^o)C(S)NR^o₂; -(CH₂)₀₋₄N(R^o)C(O)OR^o; -N(R^o)N(R^o)C(O)R^o; -N(R^o)N(R^o)C(O)NR^o₂; -N(R^o)N(R^o)C(O)OR^o; -(CH₂)₀₋₄C(O)R^o; -C(S)R^o; -(CH₂)₀₋₄C(O)OR^o; -(CH₂)₀₋₄C(O)SR^o; -(CH₂)₀₋₄C(O)OSiR^o₃; -(CH₂)₀₋₄OC(O)R^o; -OC(O)(CH₂)₀₋₄SR^o; -SC(S)SR^o; -(CH₂)₀₋₄SC(O)R^o; -(CH₂)₀₋₄C(O)NR^o₂; -C(S)NR^o₂; -C(S)SR^o; -SC(S)SR^o; -(CH₂)₀₋₄OC(O)NR^o₂; -C(O)N(OR^o)R^o; -C(O)C(O)R^o; -C(O)CH₂C(O)R^o; -C(NOR^o)R^o; -(CH₂)₀₋₄SSR^o; -(CH₂)₀₋₄S(O)₂R^o; -(CH₂)₀₋₄S(O)₂OR^o; -(CH₂)₀₋₄OS(O)₂R^o; -S(O)₂NR^o₂; -(CH₂)₀₋₄S(O)R^o; -N(R^o)S(O)₂NR^o₂; -N(R^o)S(O)₂R^o; -N(OR^o)R^o; -C(NH)NR^o₂; -P(O)₂R^o; -P(O)R^o₂; -O P(O)R^o₂; -OP(O)(OR^o)₂; SiR^o₃; -(alqueno C₁₋₄ lineal o ramificado)O-N(R^o)₂; o -(alqueno C₁₋₄ lineal o ramificado)C(O)O-N(R^o)₂, en donde cada R^o puede estar sustituido como se define posteriormente y es independientemente hidrógeno, alifático C₁₋₆, -CH₂Ph, -O(CH₂)₀₋₁Ph, o un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo, de 5-6 elementos que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de R^o, tomadas junto con su(s) átomo(s) intermedios, forman un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo mono- o bicíclico, de 3-12 elementos que tienen 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, que puede estar sustituido como se define posteriormente.

50 Sustituyentes monovalentes en R^o (o el anillo formado tomando dos apariciones independientes de R^o junto con sus átomos intermedios), son independientemente halógeno, -(CH₂)₀₋₂R^o, -(haloR^o), -(CH₂)₀₋₂OH, -(CH₂)₀₋₂OR^o, -(CH₂)₀₋₂CH(OR^o)₂; -O(haloR^o), -CN, -N₃, -(CH₂)₀₋₂C(O)R^o, -(CH₂)₀₋₂C(O)OH, -(CH₂)₀₋₂C(O)OR^o, -(CH₂)₀₋₂SR^o, -(CH₂)₀₋₂SH, -(CH₂)₀₋₂NH₂, -(CH₂)₀₋₂NHR^o, -(CH₂)₀₋₂NR^o₂, -NO₂, -SiR^o₃, -OSiR^o₃, -C(O)SR^o, -(alqueno C₁₋₄ lineal o ramificado)C(O)OR^o, o -SSR^o en donde cada R^o está sin sustituir o donde precedido por "halo" está sustituido solamente con uno o más halógenos, y se selecciona independientemente de alifático C₁₋₄, -CH₂Ph, -O(CH₂)₀₋₁Ph, o un anillo, saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-6 elementos que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre. Tales sustituyentes divalentes en un átomo de carbono saturado de R^o incluyen =O y =S.

65 Sustituyentes divalentes en un átomo de carbono saturado de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen los siguientes: =O, =S, =NNR^o₂, =NNHC(O)R^o, =NNHC(O)OR^o, =NNHS(O)₂R^o, =NR^o, =NOR^o, -O(C(R^o)₂)₂₋₃O-, o -S(C(R^o)₂)₂₋₃S-, en donde cada aparición independiente de R^o se selecciona de hidrógeno, alifático C₁₋₆ que puede estar sustituido como se define posterior, o un anillo, saturado, parcialmente insaturado, o arilo sin sustituir de 5-6 elementos que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre.

Sustituyentes divalentes que están unidos a carbonos sustituibles vecinales de un grupo “opcionalmente sustituido” incluyen: $-O(CR^*_2)_{2-3}O-$, en donde cada aparición independiente de R^* se selecciona de hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define posteriormente, o un anillo saturado, parcialmente insaturado, o anillo sin sustituir de 5-6 elementos que tienen 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre. Un sustituyente tetravalente que se une a carbonos de metileno sustituibles vecinales de un grupo



“opcionalmente sustituido” es el agrupamiento de dicobalto hexacarbonilo representado por cuando se representa con los metilenos que porta.

10 Sustituyentes adecuados en el grupo alifático de R^* incluyen halógeno, $-R^\bullet$, $-(haloR^\bullet)$, $-OH$, $-OR^\bullet$, $-O(haloR^\bullet)$, $-CN$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR^\bullet$, $-NH_2$, $-NHR^\bullet$, $-NR^\bullet_2$, o $-NO_2$, en donde cada R^\bullet está sin sustituir o donde precedido por “halo” está sustituido solamente con uno o más halógenos, y es independientemente alifático C_{1-4} , $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado, o anillo de 5-6 elementos que tienen 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre.

15 Sustituyentes adecuados en un nitrógeno sustituible de un grupo “opcionalmente sustituido” incluyen $-R^\dagger$, $-NR^\dagger_2$, $-C(O)R^\dagger$, $-C(O)OR^\dagger$, $-C(O)C(O)R^\dagger$, $-C(O)CH_2C(O)R^\dagger$, $-S(O)_2R^\dagger$, $-S(O)_2NR^\dagger_2$, $-C(S)NR^\dagger_2$, $-C(NH)NR^\dagger_2$, o $-N(R^\dagger)S(O)_2R^\dagger$; en donde cada R^\dagger es independientemente hidrógeno, alifático C_{1-6} que puede estar sustituido como se define posteriormente, $-OPh$ sin sustituir, o un anillo saturado, parcialmente insaturado, o anillo sin sustituir de 5-6 elementos que tienen 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de R^\dagger , tomadas junto con su(s) átomo(s) intermedios forman un anillo saturado, parcialmente insaturado, o anillo mono- o bicíclico, de 3-12 elementos sin sustituir que tienen 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre.

25 Sustituyentes adecuados en el grupo alifático de R^\dagger son independientemente halógeno, $-R^\bullet$, $-(haloR^\bullet)$, $-OH$, $-OR^\bullet$, $-O(haloR^\bullet)$, $-CN$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR^\bullet$, $-NH_2$, $-NHR^\bullet$, $-NR^\bullet_2$, o $-NO_2$, en donde cada R^\bullet está sin sustituir o donde precedido por “halo” está sustituido solamente con uno o más halógenos, y es independientemente alifático C_{1-4} , $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado, o anillo de 5-6 elementos que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre.

30 Los grupos hidroxilo protegidos se conocen bien conocidos en la técnica e incluyen aquellos descritos en detalle en *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene y P. G. M. Wuts, 3ª edición, John Wiley & Sons, 1999, cuya totalidad se incorpora en el presente documento por referencia. Ejemplos de grupos hidroxilo adecuadamente protegidos incluyen además, pero no se limitan a, ésteres, carbonatos, aliléteres de sulfonato, éteres, sililéteres, alquiléteres, arilalquiléteres, y alcóxialquiléteres. Ejemplos de ésteres adecuados incluyen formiatos, acetatos, propionatos, pentanoatos, crotonatos, y benzoatos. Ejemplos específicos de ésteres adecuados incluyen formiato, formiato de benzoilo, cloroacetato, trifluoroacetato, metoxiacetato, trifenilmetoxiacetato, p-clorofenoxiacetato, 3-fenilpropionato, 4-oxopentanoato, 4,4-(etilenditio)pentanoato, pivaloato (trimetilacetato), crotonato, 4-metoxicrotonato, benzoato, p-benilbenzoato, 2,4,6-trimetilbenzoato. Ejemplos de carbonatos incluyen carbonato de 9-fluorenilmetilo, etilo, 2,2,2-tricloroetilo, 2-(trimetilsilil)etilo, 2-(fenilsulfonil)etilo, vinilo, alilo, y p-nitrobencilo. Ejemplos de sililéteres incluyen trimetilsililo, trietilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, triisopropilsililéter, y otros trialkilsililéteres. Ejemplos de alquiléteres incluyen éter de metilo, bencilo, p-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, tritilo, t-butilo, y alil, o derivados de los mismos. Alcóxialquiléteres incluyen acetales tales como metoximetilo, metiltiometo, (2-metoxietoxi)metilo, benciloximetilo, beta-(trimetilsilil)etoximetilo, y tetrahidropiran-2-iléter. Ejemplos de arilalquiléteres incluyen bencilo, p-metoxibencilo (MPM), 3,4-dimetoxibencilo, O-nitrobencilo, p-nitrobencilo, p-halobencilo, 2,6-diclorobencilo, p-cianobencilo, 2- y 4-picoliléteres.

Las aminas protegidas se conocen bien en la técnica e incluyen aquellas descritas en detalle en Greene (1999). Aminas monoprotegidas incluyen además, pero no se limitan a, aralquilaminas, carbamatos, alilaminas, amidas, y similares. Ejemplos de fracciones amino monoprotegidas incluyen t-butiloxycarbonilamino (-NHBOC), etiloxycarbonilamino, metiloxycarbonilamino, tricloroetiloxycarbonilamino, aliloxycarbonilamino (-NHAlOc), benciloxycarbonilamino (-NHCBZ), alilamino, bencilamino (-NHBn), fluorenilmetilcarbonilo (-NHFmoc), formamido, acetamido, cloroacetamido, dicloroacetamido, tricloroacetamido, fenilacetamido, trifluoroacetamido, benzamido, t-butildifenilsililo, y similares. Aminas diprotegidas incluyen aminas que están sustituidas con dos sustituyentes seleccionados independientemente de aquellas descritas anteriormente como aminas monoprotegidas, y además incluyen imidas cíclicas, tales como ftalimida, maleimida, succinimida, y similares. Aminas diprotegidas también incluyen pirroles y similares, 2,2,5,5-tetrametil-[1,2,5]azadisilolidina y similares, y azida.

Aldehídos protegidos se conocen bien en la técnica e incluyen aquellos descritos en detalle en Greene (1999). Los aldehídos protegidos además incluyen, pero no se limitan a, acetales acíclicos, acetales cíclicos, hidrazonas, iminas, y similares. Ejemplos de tales grupos incluyen dimetilacetal, dietilacetal, diisopropilacetal, dibencilacetal, bis(2-nitrobencil)acetal, 1,3-dioxanos, 1,3-dioxolanos, semicarbazonas, y derivados de los mismos.

Ácidos carboxílicos protegidos se conocen bien en la técnica e incluyen aquellos descritos en detalle en Greene (1999). Los ácidos carboxílicos protegidos incluyen además, pero no se limitan a, ésteres alifáticos C_{1-6}

opcionalmente sustituidos, arilésteres opcionalmente sustituidos, sililésteres, ésteres activados, amidas, hidrazidas, y similares. Ejemplos de tales grupos ésteres incluyen éster de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, bencilo, y fenilo, en donde cada grupo está opcionalmente sustituido. Ácidos carboxílicos protegidos adicionales incluyen oxazolinas y ortoésteres.

5 Tioles protegidos se conocen bien en la técnica e incluyen aquellos descritos en detalle en Greene (1999). Tioles protegidos incluyen además, pero no se limitan a, disulfuros, tioéteres, sililtioéteres, tioésteres, tiocarbonatos, y tiocarbamatos, y similares. Ejemplos de tales grupos incluyen, pero no se limitan a, alquiltioéteres, tioésteres de bencilo y bencilo sustituido, trifenilmeltioéteres, y tricloroetoxicarboniltioéster, por nombrar solo algunos.

10 A menos que se indique de otro modo, las estructuras representadas en el presente documento también se pretende que incluyan todas las formas isoméricas (por ejemplo, enantiomérica, diastereomérica, y geométrica (o conformacional)) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, isómeros de enlace doble Z y E, e isómeros conformacionales de Z y E. Por lo tanto, isómeros estereoquímicos únicos así como también mezclas enantioméricas, diastereoméricas, y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos están dentro del ámbito de la invención. A menos que se indique de otro modo, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la invención están dentro del ámbito de la invención. Adicionalmente, a menos que se indique de otro modo, las estructuras representadas en el presente documento también se pretende que incluyan compuestos que difieren solamente en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras excepto para la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido con ^{13}C o ^{14}C están dentro del ámbito de esta invención. Tales compuestos son útiles, por ejemplo, como en experimentos de dispersión de neutrón, como sondas o herramientas analíticas en ensayos biológicos.

25 Como se usa en el presente documento, el término "fracción detectable" se usa intercambiamente con el término "marcador" y se refiere a cualquier fracción capaz de ser detectada (por ejemplo, marcadores primarios y marcadores secundarios). Una "fracción detectable" o "marcador" es el radical de un compuesto detectable.

30 Marcadores "primarios" incluyen fracciones que contienen radioisótopos (por ejemplo, fracciones que contienen ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , o ^{14}C), etiquetas de masa, y marcadores fluorescentes, y son grupos indicadores que generan señal que se pueden detectar sin modificaciones adicionales.

35 Otros marcadores primarios incluyen aquellos útiles para la tomografía de emisión de positrón que incluyen moléculas que contienen radioisótopos (por ejemplo, ^{18}F) o ligandos con metales radioactivos unidos (por ejemplo, ^{62}Cu). En otras realizaciones, los marcadores primarios son agentes de contraste para imagenología de resonancia magnética tales como partículas de gadolinio, quelatos de gadolinio, u óxido de hierro (por ejemplo, Fe_3O_4 y Fe_2O_3). De manera similar, las nanopartículas semiconductoras (por ejemplo, selenuro de cadmio, sulfuro de cadmio, telurido de cadmio) son útiles como marcadores fluorescentes. Otras nanopartículas de metal (por ejemplo, oro coloidal) también sirven como marcadores primarios.

40 Marcadores "secundarios" incluyen fracciones tales como biotina, o antígenos de proteína, que requieren la presencia de un segundo compuesto para producir una señal detectable. Por ejemplo, en el caso de un marcador de biotina, el segundo compuesto puede incluir conjugados estreptavidina-enzima. En el caso de un marcador de antígeno, el segundo compuesto puede incluir un conjugado anticuerpo-enzima. Adicionalmente, ciertos grupos fluorescentes pueden actuar como marcadores secundarios transfiriendo energía a otro compuesto o grupo en un proceso de transferencia de energía de resonancia fluorescente (FRET) no radiativa, causando que el segundo compuesto o grupo entonces genere la señal que es detectada.

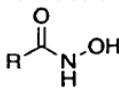
50 A menos que se indique de otro modo, las fracciones que contienen radioisótopo son grupos de hidrocarburos opcionalmente sustituidos que contienen al menos un radioisótopo. A menos que se indique de otro modo, las fracciones que contienen radioisótopo contienen desde 1-40 átomos de carbono y un radioisótopo. En ciertas realizaciones, las fracciones que contienen radioisótopo contienen desde 1-20 átomos de carbono y un radioisótopo.

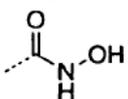
55 Los términos "marcador fluorescente", "grupo fluorescente", "compuesto fluorescente", "tinte fluorescente", y "fluoróforo", como se usan en el presente documento, se refieren a compuestos o fracciones que absorben energía de luz en una longitud de onda de excitación definida y emiten energía de luz a una diferente longitud de onda. Ejemplos de compuestos fluorescentes incluyen, pero no se limitan a: tintes Alexa Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 532, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660 y Alexa Fluor 680), tintes AMCA, AMCA-S, BODIPY (BODIPY FL, BODIPY R6G, BODIPY TMR, BODIPY TR, BODIPY 60 530/550, BODIPY 558/568, BODIPY 564/570, BODIPY 576/589, BODIPY 581/591, BODIPY 630/650, BODIPY 650/665), Carboxirodamina 6G, carboxi-X-rodamina (ROX), Cascade Blue, Cascade Yellow, Cumarina 343, tintes de Cianuro (Cy3, Cy5, Cy3.5, Cy5.5), Dansilo, Dapoxilo, Dialquilaminocumarina, 4',5'-Dicloro-2',7'-dimetoxi-fluoresceína, DM-NERF, Eosina, Eritrosina, Fluoresceína, FAM, Hidroxicumarina, TintesIR (IRD40, IRD 700, IRD 800), JOE, Lissamina rodamina B, Marina Blue, Metoxi cumarina, Nafto fluoresceína, Oregon Green 488, Oregon Green 500, Oregon Green 514, Pacific Blue, PyMPO, Pireno, Rodamina B, Rodamina 6G, Rodamina Green, Rodamina Red, Rodol Green, 2',4',5',7'-Tetra-bromosulfona-fluoresceína, Tetrametil-rodamina (TMR), Carboxitetrametilrodamina

(TAMRA), Texas Red, Texas Red-X.

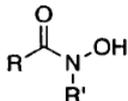
El término "sustrato", como se usa en el presente documento se refiere a cualquier material o complejo macromolecular al que se puede unir un grupo final funcionalizado de un copolímero en bloque. Ejemplos de sustratos comúnmente usados incluyen, pero no se limitan a, superficies de vidrio, superficies de sílice, superficies de plástico, superficies de metal, superficies que contienen un recubrimiento químico o metálico, membranas (por ejemplo, nailon, polisulfona, sílice), micro-bolas (por ejemplo, látex, poliestireno, u otro polímero), matrices de polímero porosas (por ejemplo, gel de poli(acrilamida, polisacárido, polimetacrilato), complejos macromoleculares (por ejemplo, proteína, polisacárido).

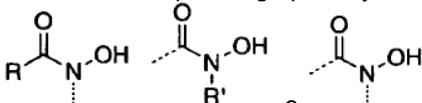
El término ácido hidroxámico, como se usa en el presente documento, se refiere a una fracción que contiene un

grupo funcional de ácido hidroxámico (-CO-NH-OH). La estructura es representada por  y también puede

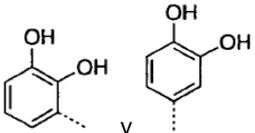
ser representada por . Un experto en la materia reconocería que el enlace discontinuo representa el punto de unión al resto de la molécula.

El término hidroxamato, como se usa en el presente documento, se refiere a una fracción que contiene ya sea ácido hidroxámico o un ácido hidroxámico N-sustituido. Debido a la N-sustitución, existen dos ubicaciones separadas para

la unión química, como se muestra por los grupos R y R' aquí . Los hidroxamatos también pueden estar

representados por  en el presente documento.

El término catecol como se usa en el presente documento, se refiere a un derivado de orto-dihidroxibenceno

sustituido. Dos diferentes conformaciones isoméricas están representadas por . El catecol también se conoce como pirocatecol y bencen-1,2-diol.

3. Descripción de realizaciones ejemplares:

A. Copolímeros multibloque

En ciertas realizaciones, el copolímero multibloque comprende un bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico, un bloque de poli(aminoácido) que contiene ácido hidroxámico, y un bloque de poli(aminoácido) hidrofóbico caracterizado porque la micela resultante tiene un núcleo interno, un núcleo externo que contiene ácido hidroxámico, y una cubierta hidrofílica. Se apreciará que el bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico corresponde a la cubierta hidrofílica, el bloque de poli(aminoácido) que contiene ácido hidroxámico estabilizante corresponde al núcleo externo que contiene ácido hidroxámico, y el bloque de poli(aminoácido) hidrofóbico corresponde al núcleo interno.

En otras realizaciones, el copolímero multibloque comprende un bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico, un bloque de poli(aminoácido) que contiene catecol, y un bloque de poli(aminoácido) hidrofóbico caracterizado porque la micela resultante tiene un núcleo interno, un núcleo externo que contiene catecol, y una cubierta hidrofílica. Se apreciará que el bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico corresponde a la cubierta hidrofílica, el bloque de poli(aminoácido) que contiene catecol estabilizante corresponde al núcleo externo que contiene catecol, y el bloque de poli(aminoácido) hidrofóbico corresponde al núcleo interno.

En ciertas realizaciones, el copolímero multibloque comprende un bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico, un bloque de poli(aminoácido) que contiene hidroxamato, y un bloque de poli(aminoácido) hidrofóbico caracterizado porque la micela resultante tiene un núcleo interno, un núcleo externo que contiene hidroxamato, y una cubierta hidrofílica. Se apreciará que el bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico corresponde a la cubierta hidrofílica, el bloque de poli(aminoácido) que contiene hidroxamato estabilizante corresponde al núcleo externo que contiene hidroxamato, y el bloque de poli(aminoácido) hidrofóbico corresponde al núcleo interno.

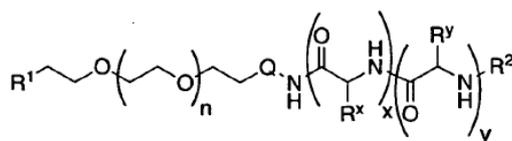
En ciertas realizaciones, el copolímero multibloque comprende un bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico, un bloque de

5 poli(aminoácido) que contiene ácido hidroxámico, y un bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico caracterizado porque la micela resultante tiene un núcleo interno, un núcleo externo que contiene ácido hidroxámico, y una cubierta hidrofílica. Se apreciará que el bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico corresponde a la cubierta hidrofílica, bloque de poli(aminoácido) que contiene ácido hidroxámico estabilizante corresponde al núcleo externo que contiene ácido hidroxámico, y el bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico corresponde al núcleo interno.

10 En otras realizaciones, el copolímero multibloque comprende un bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico, un bloque de poli(aminoácido) que contiene catecol, y un bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico caracterizado porque la micela resultante tiene un núcleo interno, un núcleo externo que contiene catecol, y una cubierta hidrofílica. Se apreciará que el bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico corresponde a la cubierta hidrofílica, el bloque de poli(aminoácido) que contiene catecol estabilizante corresponde al núcleo externo que contiene catecol, y el bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico corresponde al núcleo interno.

15 En ciertas realizaciones, el copolímero multibloque comprende un bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico, un bloque de poli(aminoácido) que contiene hidroxamato, y un bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico caracterizado porque la micela resultante tiene un núcleo interno, un núcleo externo que contiene hidroxamato, y una cubierta hidrofílica. Se apreciará que el bloque de poli(etilenglicol) hidrofílico corresponde a la cubierta hidrofílica, el bloque de poli(aminoácido) que contiene hidroxamato estabilizante corresponde al núcleo externo que contiene hidroxamato, y el bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico corresponde al núcleo interno.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un copolímero tribloque de fórmula I:



I

25 en donde:

n es 20-500;

30 x es de 3 a 50;

y es de 5 a 100;

R^x es una fracción que contiene hidroxamato o catecol;

35 R^y se selecciona de uno o más grupos de cadena lateral de aminoácido natural o no natural de manera que el bloque total es hidrofóbico;

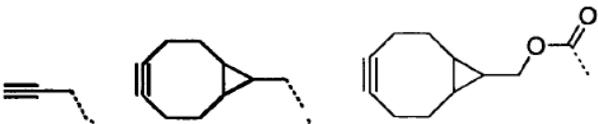
R¹ es -Z(CH₂CH₂Y)_p(CH₂)_tR³, en donde:

40 Z es -O-, -NH-, -S-, -C≡C-, o -CH₂-;

cada Y es independientemente -O- o -S-

45 p es 0-10;

t es 0-10; y

50 R³ es hidrógeno, -N₃, -CN, -NH₂, -CH₃, , una fracción de ciclooctino estirado, una amina monoprottegida, una amina diprottegida, un aldehído opcionalmente protegido, un hidroxilo opcionalmente protegido, un ácido carboxílico opcionalmente protegido, un tiol opcionalmente protegido, o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-8 elementos que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 8-10 elementos que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o una fracción detectable;

Q es un enlace de valencia o una cadena hidrocarburo C₁₋₁₂ lineal o ramificada, saturada o insaturada, bivalente, en donde 0-6 unidades de metileno de Q se sustituyen independientemente por -Cy-, -O-, -NH-, -S-, -OC(O)-, -C(O)O-, -C(O)-, -SO-, -SO₂-, -NHSO₂-, -SO₂NH-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, -OC(O)NH-, o -NHC(O)O-, en donde:

-Cy- es un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 5-8 elementos opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 8-10 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente a partir de nitrógeno, oxígeno, o azufre;

R² es una amina monoprotectada, una amina diprotectada, -N(R⁴)₂, -NR⁴C(O)R⁴, -NR⁴C(O)N(R⁴)₂, -NR⁴C(O)OR⁴, o -NR⁴SO₂R⁴; y

cada R⁴ es independientemente hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-8 elementos, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente a partir de nitrógeno, oxígeno, o azufre, un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 8-10 elementos que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o una fracción detectable, o:

dos R⁴ en el mismo átomo de nitrógeno se toman junto con tal átomo de nitrógeno para formar un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo, de 4-7 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre.

Según otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I, como se describe anteriormente, en donde tales compuestos tienen un índice de polidispersidad ("PDI") de 1,0 a 1,2. Según otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I, como se describe anteriormente, en donde tal compuesto tiene un índice de polidispersidad ("PDI") de 1,01 a 1,10. Según con aún otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I, como se describe anteriormente, en donde tal compuesto tiene un índice de polidispersidad ("PDI") de 1,10 a 1,20. Según con otras realizaciones, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I que tiene un PDI de menos de 1,10.

Como se define en general anteriormente, n es de 20 a 500. En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona compuestos en donde n es 225. En otras realizaciones, n es de 40 a 60. En otras realizaciones, n es de 60 a 90. En todavía otras realizaciones, n es de 90 a 150. En otras realizaciones, n es de 150 a 200. En algunas realizaciones, n es de 200 a 300, de 300 a 400, o de 400 a 500. En todavía otras realizaciones, n es de 250 a 280. En otras realizaciones, n es de 300 a 375. En otras realizaciones, n es de 400 a 500. En ciertas realizaciones, n se selecciona de 50 ± 10. En otras realizaciones, n se selecciona de 80 ± 10, 115 ± 10, 180 ± 10, 225 ± 10, o 275 ± 10.

En ciertas realizaciones, x es de 3 a 50. En ciertas realizaciones, x es 10. En otras realizaciones, x es 20. Según aún otra realización, x es 15. En otras realizaciones, x es 5. En otras realizaciones, x se selecciona de 5 ± 3, 10 ± 3, 10 ± 5, 15 ± 5, o 20 ± 5.

En ciertas realizaciones, y es de 5 a 100. En ciertas realizaciones, y es 10. En otras realizaciones, y es 20. Según aún otra realización, y es 15. En otras realizaciones, y es 30. En otras realizaciones, y se selecciona de 10 ± 3, 15 ± 3, 17 ± 3, 20 ± 5, o 30 ± 5.

En ciertas realizaciones, la fracción R³ del grupo R¹ de fórmula I es -N₃.

En otras realizaciones, la fracción R³ del grupo R¹ de fórmula I es -CH₃.

En algunas realizaciones, la fracción R³ del grupo R¹ de fórmula I es hidrógeno.

En ciertas realizaciones, la fracción R³ del grupo R¹ de fórmula I es un grupo alifático opcionalmente sustituido. Ejemplos incluyen metilo, t-butilo, 5-norbornen-2-ilo, octan-5-ilo, acetilenilo, trimetilsililacetilenilo, triisopropilsililacetilenilo, y t-butildimetilsililacetilenilo. En algunas realizaciones, tal fracción R³ es un grupo alquilo opcionalmente sustituido. En otras realizaciones, tal fracción R³ es un grupo alquinilo o alquenilo opcionalmente sustituido. Cuando tal fracción R³ es un grupo alifático sustituido, los sustituyentes en R³ incluyen CN, N₃, trimetilsililo, triisopropilsililo, t-butildimetilsililo, N-metilpropiolamido, N-metil-4-acetilenilanilino, N-metil-4-acetilenilbenzoamido, bis-(4-etinil-bencil)-amino, dipropargilamino, di-hex-5-inil-amino, di-pent-4-inil-amino, di-but-3-inil-amino, propargiloxi, hex-5-iniloxi, pent-4-iniloxi, di-but-3-iniloxi, N-metil-propargilamino, N-metil-hex-5-inil-amino, N-metil-pent-4-inil-amino, N-metil-but-3-inil-amino, 2-hex-5-inildisulfanilo, 2-pent-4-inildisulfanilo, 2-but-3-inildisulfanilo, y 2-propargildisulfanilo. En ciertas realizaciones, el grupo R¹ es 2-(N-metil-N-(etinilcarbonil)amino)etoxi, 4-etinilbenciloxi, o 2-(4-etinilfenoxi)etoxi.

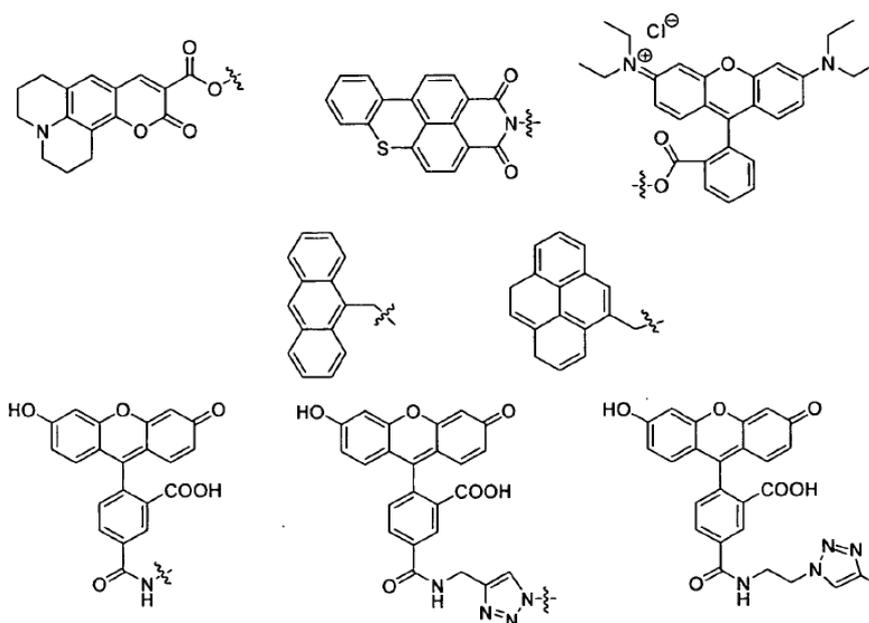
En ciertas realizaciones, la fracción R³ del grupo R¹ de fórmula I es un grupo arilo opcionalmente sustituido. Ejemplos incluyen fenilo opcionalmente sustituido y piridilo opcionalmente sustituido. Cuando tal fracción R³ es un

grupo arilo sustituido, los sustituyentes en R^3 incluyen CN , N_3 , NO_2 , $-CH_3$, $-CH_2N_3$, $-CH=CH_2$, $-C\equiv CH$, Br , I , F , bis-(4-etinil-bencil)-amino, dipropargilamino, di-hex-5-inil-amino, di-pent-4-inil-amino, di-but-3-inil-amino, propargiloxi, hex-5-iniloxi, pent-4-iniloxi, di-but-3-iniloxi, 2-hex-5-iniloxi-etildisulfanilo, 2-pent-4-iniloxi-etildisulfanilo, 2-but-3-iniloxi-etildisulfanilo, 2-propargiloxi-etildisulfanilo, bis-benciloxi-metilo, [1,3]dioxolan-2-ilo, y [1,3]dioxan-2-ilo.

En otras realizaciones, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es un grupo aldehído protegido. En ciertas realizaciones la fracción de aldehído protegido de R^3 es un acetal acíclico, un acetal cíclico, una hidrazona, o una imina. Grupos R^3 ejemplares incluyen dimetilacetal, dietilacetal, diisopropilacetal, dibencilacetal, bis(2-nitrobencil)acetal, 1,3-dioxano, 1,3-dioxolano, y semicarbazona. En ciertas realizaciones, R^3 es un acetal acíclico o un acetal cíclico. En otras realizaciones, R^3 es un dibencilacetal.

En aún otras realizaciones, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es un grupo ácido carboxílico protegido. En ciertas realizaciones, la fracción ácido carboxílico protegido de R^3 es un éster opcionalmente sustituido seleccionado de alifático C_{1-6} o arilo, o un sililéster, un éster activado, una amida, o una hidrazida. Ejemplos de tales grupos éster incluyen éster de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, bencilo, y fenilo. En otras realizaciones, la fracción ácido carboxílico protegido de R^3 es una oxazolina o un ortoéster. Ejemplos de tales fracciones ácido carboxílico protegido incluyen oxazolin-2-ilo y 2-metoxi-[1,3]dioxin-2-ilo. En ciertas realizaciones, el grupo R^1 es oxazolin-2-ilmetoxi o 2-oxazolin-2-il-1-propoxi.

En todavía otras realizaciones, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es una fracción detectable. Según un aspecto de la invención, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es una fracción fluorescente. Tales fracciones fluorescentes son bien conocidas en la técnica e incluyen cumarinas, quinolonas, benzoisoquinolonas, hostasol, y tintes de rodamina, por nombrar solo algunos. Las fracciones fluorescentes ejemplares del grupo R^3 de R^1 incluyen antracén-9-ilo, piren-4-ilo, 9-H-carbazol-9-ilo, el carboxilato de rodamina B, el carboxilato de cumarina 343. En ciertas realizaciones, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es una fracción detectable seleccionada de:

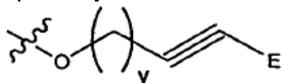


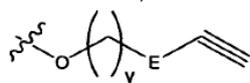
En ciertas realizaciones, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es un grupo adecuado para química clic. Las reacciones clic tienden a involucrar reactivos de alta energía ("resorte cargado") con coordinados de reacción bien definidos, dando origen a eventos que forman enlaces selectivos de amplio alcance. Ejemplos incluyen el atrapamiento nucleofílico de electrófilos de anillo estirado (epóxido, aziridinas, iones de aziridinio, iones de episulfonio), ciertas formas de reactividad de carbonilo (aldehídos e hidrazinas o hidroxilaminas, por ejemplo), y varios tipos de reacciones de cicloadición. La cicloadición 1,3-dipolar de azida-alquilo es una de tal reacción. La química clic es conocida en la técnica y un experto en la materia reconocería que ciertas fracciones R^3 de la presente invención son adecuadas para química clic.

Compuestos de fórmula I que tienen fracciones R^3 adecuadas para química clic son útiles para conjugar dichos compuestos a sistemas biológicos o macromoléculas tales como proteínas, virus, y células, por nombrar solo algunos. La reacción clic se sabe que se desarrolla rápida y selectivamente en condiciones fisiológicas. Por el contrario, la mayoría de las reacciones de conjugación se llevan a cabo usando la funcionalidad de amina primaria en las proteínas (por ejemplo, lisina o grupo terminal de proteína). Debido a que la mayoría de las proteínas contienen una multitud de lisinas y argininas, tal conjugación se produce incontrolablemente en sitios múltiples en la proteína. Esto es particularmente problemático cuando las lisinas o argininas están localizadas cerca del sitio activo

de una enzima u otra biomolécula. De este modo, otra realización de la presente invención proporciona un método para conjugar los grupos R^1 de un compuesto de fórmula I a una macromolécula mediante química clic. Aún otra realización de la presente invención proporciona una macromolécula conjugada a un compuesto de fórmula I mediante el grupo R^1 .

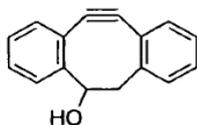
5 Según una realización, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es un grupo que contiene azida. Según otra realización, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es un grupo que contiene alquino. En ciertas realizaciones, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I tiene una fracción alquino terminal. En otras realizaciones, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es una fracción alquino que tiene un grupo atrayente del electrón. Por consiguiente, en tales

10 realizaciones, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es , en donde E es un grupo atrayente de electrón e y es 0-6. Tales grupos atrayentes del electrón los conoce el experto en la materia. En ciertas realizaciones, E es un éster. En otras realizaciones, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es

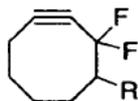


, en donde E es un grupo atrayente del electrón, tal como un grupo $-C(O)O-$ e y es 0-6.

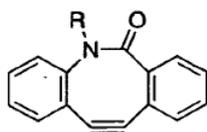
15 Ciertas fracciones clic libres de metal se conocen en la literatura. Ejemplos incluyen 4-dibenzociclooctinol (DIBO)



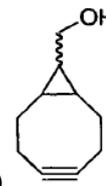
(de Ning et. al; *Angew Chem Int Ed*, 2008, 47, 2253); ciclooctinos difluorados (DIFO o DFO)



(de Codelli, et. al.; *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130, 11486-11493.); biarilazaciclooctinona (BARAC)

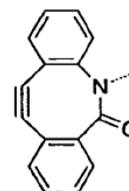
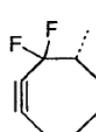
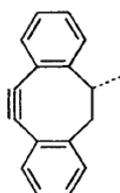
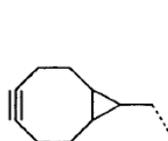


(de Jewett et. al; *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132, 3688); o biciclononino (BCN)



20 (de Dommerholt, et. al.; *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49, 9422-9425). La preparación de derivados PEG clic libres de metal se describe en la Solicitud Estadounidense Número 13/601.606, cuyos contenidos completos están de este modo incorporados por referencia.

25 Según una realización, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es una fracción clic libre de metal. En otra realización, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es una fracción de ciclooctino estirado opcionalmente sustituida. En ciertas realizaciones, la fracción R^3 del grupo R^1 de fórmula I es una fracción clic libre de metal seleccionada de:



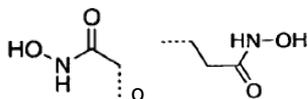
30 Como se define en general anteriormente, Q es un enlace de valencia o una cadena hidrocarburo C_{1-12} lineal o ramificada, saturada o insaturada, bivalente, en donde 0-6 unidades de metileno de Q se sustituyen independientemente por $-Cy-$, $-O-$, $-NH-$, $-S-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-C(O)-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-NHSO_2-$, $-SO_2NH-$, $-NHC(O)-$, $-C(O)NH-$, $-OC(O)NH-$, o $-NHC(O)O-$, en donde $-Cy-$ es un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 5-8 elementos opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 8-10 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre. En ciertas realizaciones, Q es un enlace de valencia. En otras realizaciones, Q es una cadena alqueno C_{1-12} saturada, bivalente, en donde 0-6 unidades de metileno de Q se sustituyen independientemente por $-Cy-$, $-O-$, $-NH-$, $-S-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, o $-C(O)-$, en donde $-Cy-$ es un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 5-8 elementos opcionalmente sustituido que tienen 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 8-10 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados

independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre.

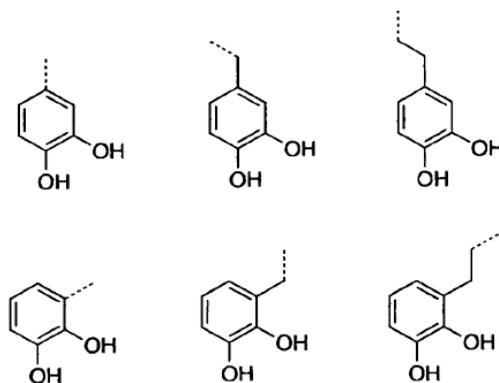
En ciertas realizaciones, Q es -Cy- (es decir, una cadena alqueno C₁ en donde la unidad de metileno está sustituida por -Cy-), en donde -Cy- es un anillo saturado, parcialmente insaturado, o anillo bivalente, de 5-8 elementos opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre. Según un aspecto de la presente invención, -Cy- es un grupo arilo bivalente opcionalmente sustituido. Según otro aspecto de la presente invención, -Cy- es un grupo fenilo bivalente opcionalmente sustituido. En otras realizaciones, -Cy- es un anillo carbocíclico saturado, bivalente de 5-8 elementos opcionalmente sustituido. En todavía otras realizaciones, -Cy- es un anillo heterocíclico saturado, bivalente de 5-8 elementos, opcionalmente sustituido que tiene 1-2 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre. Grupos -Cy- ejemplares incluyen anillos bivalentes seleccionados de fenilo, piridilo, pirimidinilo, ciclohexilo, ciclopentilo, o ciclopropilo.

Como se define anteriormente, R^x es una fracción que contiene hidroxamato o catecol. En ciertas realizaciones, R^x es una fracción que contiene ácido hidroxámico. En otras realizaciones, R^x es una fracción que contiene catecol.

En ciertas realizaciones, R^x se selecciona de



En ciertas realizaciones, R^x se selecciona de:



Como se define anteriormente, R^y se selecciona a partir de uno o más grupos de cadena lateral de aminoácido natural o no natural de manera que el bloque total es hidrofóbico. Tales grupos de cadena lateral de aminoácido hidrofóbico incluyen una cadena lateral de tirosina opcionalmente protegida, una cadena lateral de serina opcionalmente protegida, una cadena lateral de treonina opcionalmente protegida, fenilalanina, alanina, valina, leucina, triptofano, prolina, bencil y glutamatos de alquilo, o aspartatos de bencilo y alquilo o mezclas de los mismos. Un experto en la materia reconocería que la protección de una cadena lateral de aminoácido polar o hidrofóbico puede hacer tal aminoácido no polar. Por ejemplo, un grupo hidroxilo de tirosina adecuadamente protegido puede hacer tal tirosina no polar e hidrofóbica en virtud de proteger el grupo hidroxilo. Los grupos protectores para los grupos funcionales hidroxilo, amino, y tiol, y carboxilato de R^y son como se describen en el presente documento. Además, un experto en la materia reconocería que las cadenas de aminoácido hidrofílicas e hidrofóbicas se pueden combinar de manera que el bloque total sea hidrofóbico. Por ejemplo, una mayoría de grupos de cadena lateral de leucina se pueden combinar con una mayoría de grupos de cadena lateral de ácido aspártico en donde el bloque resultante es hidrofóbico puro. Tales mezclas de grupos de cadena lateral de aminoácido incluyen tirosina y leucina, tirosina y fenilalanina, serina y fenilalanina, ácido aspártico y fenilalanina, ácido glutámico y fenilalanina, tirosina y glutamato de bencilo, serina y glutamato de bencilo, ácido aspártico y glutamato de bencilo, ácido glutámico y glutamato de bencilo, ácido aspártico y leucina, y ácido glutámico y leucina.

En algunas realizaciones, R_y consiste en una mezcla de tres grupos de cadena lateral de aminoácido natural o no natural de manera que el bloque total es hidrofóbico. Tales mezclas ternarias de grupos de cadena lateral de aminoácido incluyen, pero no se limitan a: leucina, tirosina, y ácido aspártico; leucina, tirosina, y ácido glutámico; fenilalanina, tirosina, y ácido aspártico; o fenilalanina, tirosina, y ácido glutámico.

En otras realizaciones, R^y consiste en una mezcla de grupos de cadena lateral de aminoácido D-hidrofóbicos y L-hidrofílicos de manera que el bloque de poli(aminoácido) total que comprende R^y es hidrofóbico y es una mezcla de aminoácidos de configuración D y L. Tales mezclas de grupos de cadena lateral de aminoácido incluyen L-tirosina y D-leucina, L-tirosina y D-fenilalanina, L-serina y D-fenilalanina, L-ácido aspártico y D-fenilalanina, L-ácido glutámico y D-fenilalanina, L-tirosina y D-glutamato de bencilo, L-serina y D-glutamato de bencilo, L-ácido aspártico y D-glutamato de bencilo, L-ácido glutámico y D-glutamato bencil, L-ácido aspártico y D-leucina, y L-ácido glutámico y D-leucina. La relaciones (D-hidrofóbica a L-hidrofílica) de tales mezclas incluyen cualquiera de 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1,

1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, y 1:6.

Como se define en general anteriormente, el grupo R^2 de fórmula I es una amina monoprotendida, una amina diprotendida, $-NHR^4$, $-N(R^4)_2$, $-NHC(O)R^4$, $-NR^4C(O)R^4$, $NHC(O)NHR^4$, $-NHC(O)N(R^4)_2$, $-NR^4C(O)NHR^4$, $NR^4C(O)N(R^4)_2$, $-NHC(O)OR^4$, $-NR^4C(O)OR^4$, $-NHSO_2R^4$, o $-NR^4SO_2R^4$, en donde cada R^4 es independientemente un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-8 elementos, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 8-10 elementos que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o una fracción detectable, o dos R^4 en el mismo átomo de nitrógeno se toman junto con dicho átomo de nitrógeno para formar un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 4-7 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre.

En ciertas realizaciones, el grupo R^2 de fórmula I es $-NHR^4$ o $-N(R^4)_2$ en donde cada R^4 es un grupo alifático opcionalmente sustituido. Un grupo R^4 ejemplar es 5-norbornen-2-il-metilo. Según aún otro aspecto de la presente invención, el grupo R^{2a} de fórmula I es $-NHR^4$ en donde R^4 es un grupo alifático C_{1-6} sustituido con N_3 . Ejemplos incluyen $-CH_2N_3$. En algunas realizaciones, R^4 es un grupo alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido. Ejemplos incluyen metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, 2-(tetrahidropiran-2-iloxi)etilo, piridin-2-ildisulfanilmetilo, metildisulfanilmetilo, (4-acetilenilfenil)metilo, 3-(metoxicarbonil)-prop-2-inilo, metoxicarbonilmetilo, 2-(N-metil-N-(4-acetilenilfenil)carbonilamino)-etilo, 2-phthalimidoetilo, 4-bromobencilo, 4-clorobencilo, 4-fluorobencilo, 4-yodobencilo, 4-propargiloxibencilo, 2-nitrobencilo, 4-(bis-4-acetilenilbencil)aminometil-bencilo, 4-propargiloxi-bencilo, 4-dipropargilamino-bencilo, 4-(2-propargiloxi-etildisulfanil)bencilo, 2-propargiloxi-etilo, 2-propargildisulfanil-etilo, 4-propargiloxi-butilo, 2-(N-metil-N-propargilamino)etilo, y 2-(2-dipropargilaminoetoxi)-etilo. En otras realizaciones, R^4 es un grupo alqueno C_{2-6} opcionalmente sustituido. Ejemplos incluyen vinilo, alilo, crotilo, 2-propenilo, y but-3-enilo. Cuando el grupo R^4 es un grupo alifático sustituido, los sustituyentes en R^4 incluyen N_3 , CN, y halógeno. En ciertas realizaciones, R^4 es $-CH_2CN$, $-CH_2CH_2CN$, $-CH_2CH(OCH_3)_2$, 4-(bisbenciloximetil)fenilmetilo, y similares.

Según otro aspecto de la presente invención, el grupo R^2 de fórmula I es $-NHR^4$ en donde R^4 es un grupo alquino C_{2-6} opcionalmente sustituido. Ejemplos incluyen $-CC\equiv CH$, $-CH_2C\equiv CH$, $-CH_2C\equiv CCH_3$, y $-CH_2CH_2C\equiv CH$.

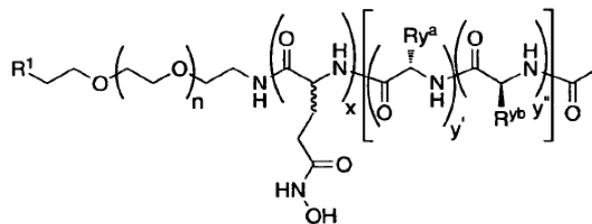
En ciertas realizaciones, el grupo R^2 de fórmula I es $-NHR^4$ en donde R^4 es un anillo arilo de 5-8 elementos opcionalmente sustituido. En ciertas realizaciones, R^4 es fenilo opcionalmente sustituido o piridilo opcionalmente sustituido. Ejemplos incluyen fenilo, 4-t-butoxicarbonilaminofenilo, 4-azidometilfenilo, 4-propargiloxifenilo, 2-piridilo, 3-piridilo, y 4-piridilo. En ciertas realizaciones, R^{2a} es 4-t-butoxicarbonilaminofenilamino, 4-azidometilfenilamino, o 4-propargiloxifenilamino.

En ciertas realizaciones, el grupo R^{2a} de fórmula I es $-NHR^4$ en donde R^4 es un anillo fenilo opcionalmente sustituido. Sustituyentes en el anillo fenilo de R^4 incluyen halógeno; $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, que pueden estar sustituidos con R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ que pueden estar sustituidos con R° ; $-CH=CHPh$, los cuales pueden ser sustituidos con R° ; $-NO_2$; $-CN$; $-N_3$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$; $-C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$; $-C(S)NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$; $-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(O)C(O)R^\circ$; $-C(O)CH_2C(O)R^\circ$; $-C(NOR^\circ)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^\circ$; $-S(O)_2NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)S(O)_2NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)S(O)_2R^\circ$; $-N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(NH)NR^\circ_2$; $-P(O)_2R^\circ$; $-P(O)R^\circ_2$; $-O P(O)R^\circ_2$; SiR°_3 ; en donde cada aparición independiente de R° es como se define en la presente anteriormente. En otras realizaciones, el grupo R^{2a} de fórmula I es $-NHR^4$ en donde R^4 es fenilo sustituido con uno o más grupos alifáticos C_{1-6} opcionalmente sustituidos. En todavía otras realizaciones, R^4 es fenilo sustituido con vinilo, alilo, acetilenilo, $-CH_2N_3$, $-CH_2CH_2N_3$, $-CH_2C\equiv CCH_3$, o $-CH_2C\equiv CH$.

En ciertas realizaciones, el grupo R^2 de fórmula I es $-NHR^4$ en donde R^4 es fenilo sustituido con N_3 , $N(R^\circ)_2$, CO_2R° , o $C(O)R^\circ$ en donde cada R° es independientemente como se define en el presente documento anteriormente.

En ciertas realizaciones, el grupo R^2 de fórmula I es $-N(R^4)_2$ en donde cada R^4 es independientemente un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, fenilo, naftilo, un anillo arilo de 5-6 elementos que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo arilo bicíclico de 8-10 elementos que tiene 1-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o una fracción detectable.

En otras realizaciones, el grupo R^2 de fórmula I es $-N(R^4)_2$ en donde los dos grupos R^4 se toman junto con dicho átomo de nitrógeno para formar un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 4-7 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre. Según otra realización, los dos grupos R^4 se toman juntos para formar un anillo saturado o parcialmente insaturado de 5-6 elementos que tiene un nitrógeno en donde dicho anillo está sustituido con uno o dos grupos oxo. Tales grupos R^{2a} incluyen, pero no se limitan a, ftalimida, maleimida y succinimida.

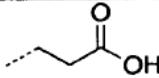
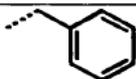
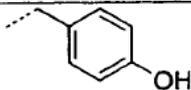
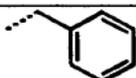
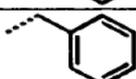
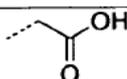
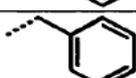
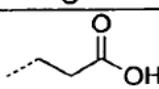
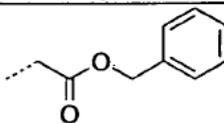
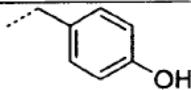
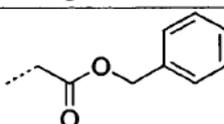
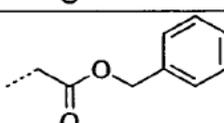
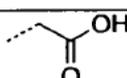
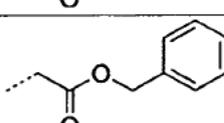
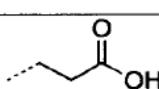
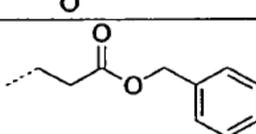
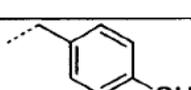
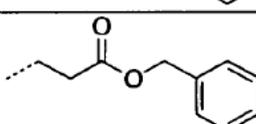
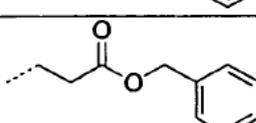
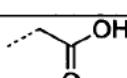
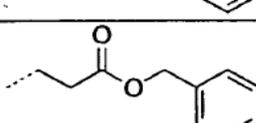
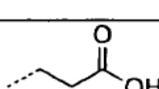
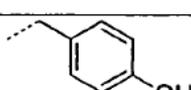


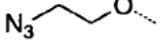
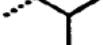
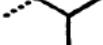
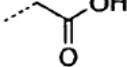
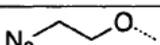
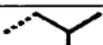
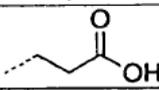
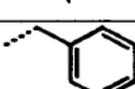
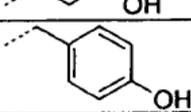
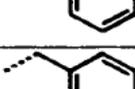
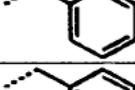
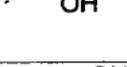
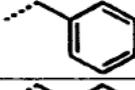
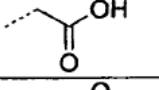
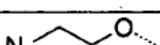
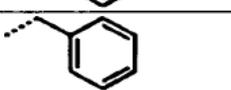
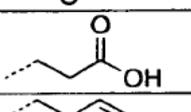
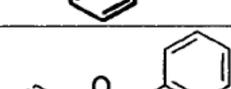
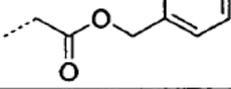
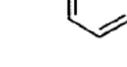
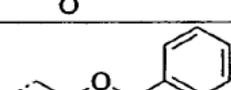
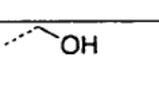
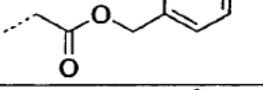
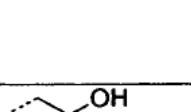
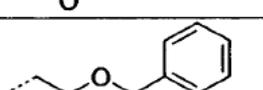
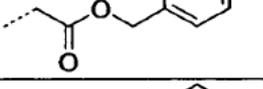
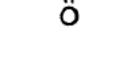
en donde n es de 20 a 500, x es de 3 a 50, y' es de 3 a 50, e y'' es de 3 a 50.

Tabla 1.

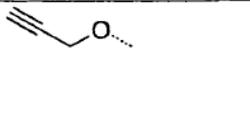
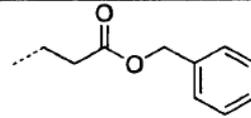
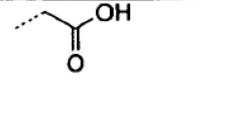
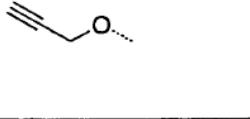
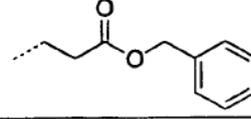
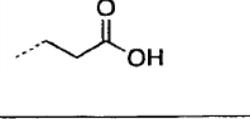
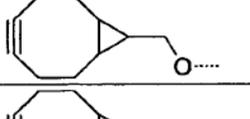
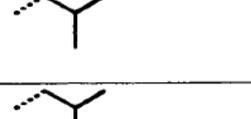
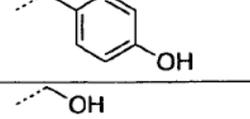
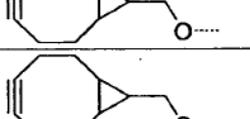
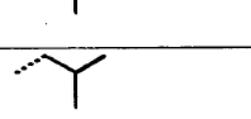
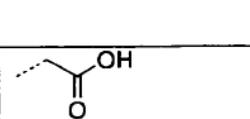
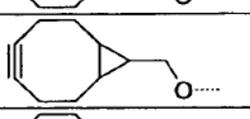
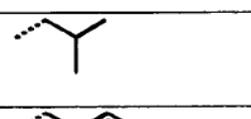
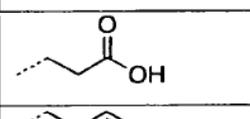
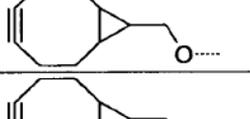
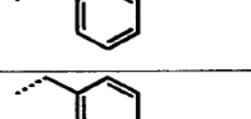
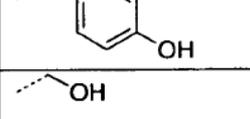
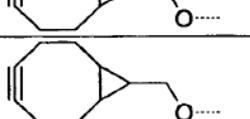
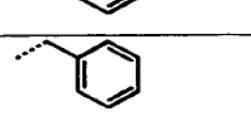
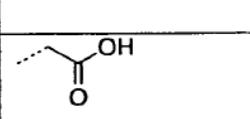
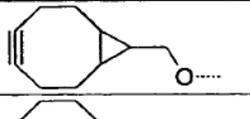
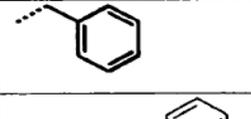
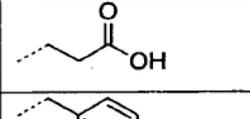
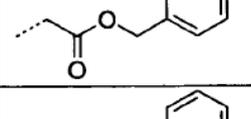
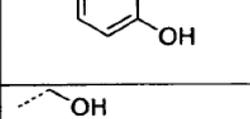
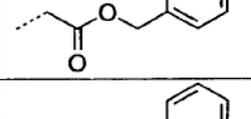
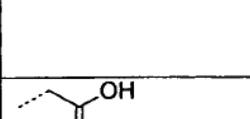
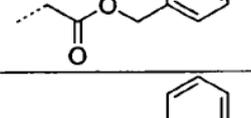
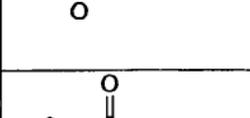
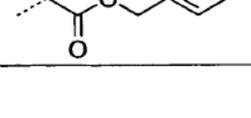
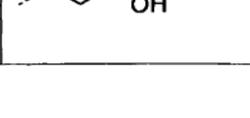
5

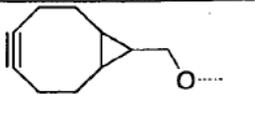
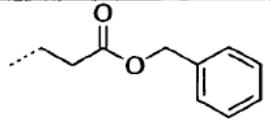
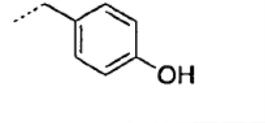
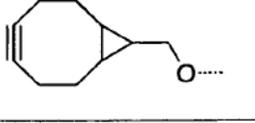
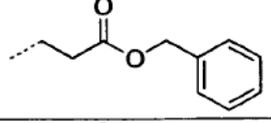
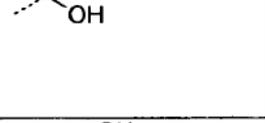
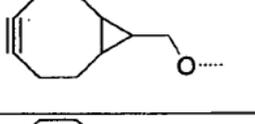
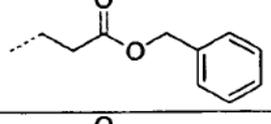
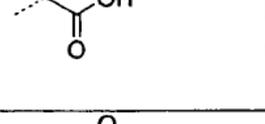
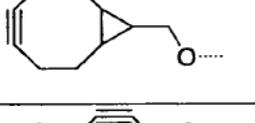
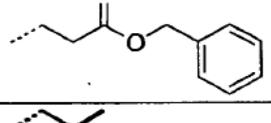
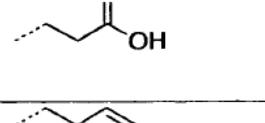
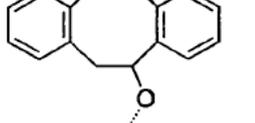
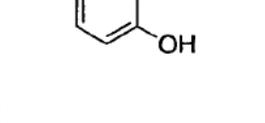
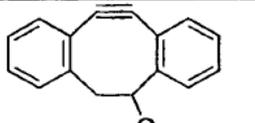
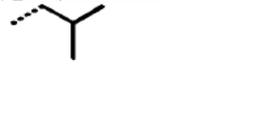
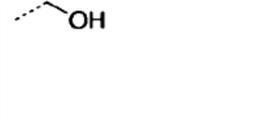
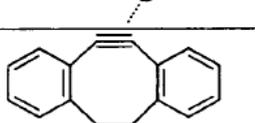
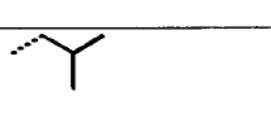
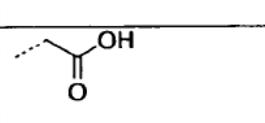
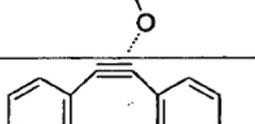
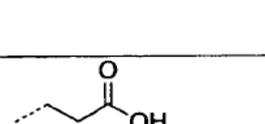
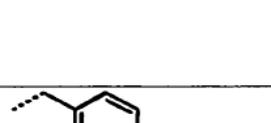
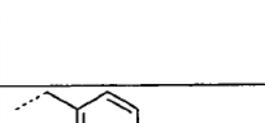
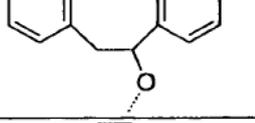
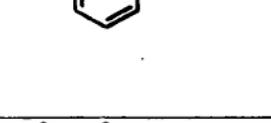
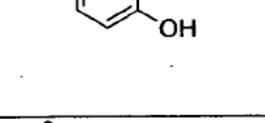
Compuesto #	R ¹	R ^{y^a}	R ^{y^b}
1	CH ₃ O----		
2	CH ₃ O----		
3	CH ₃ O----		

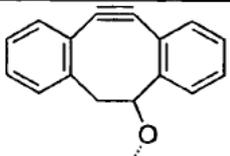
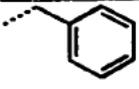
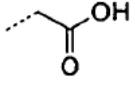
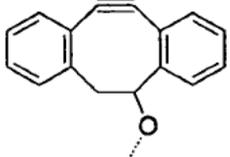
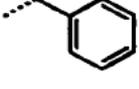
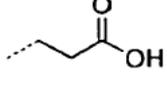
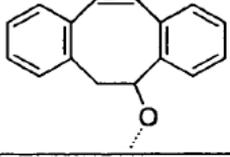
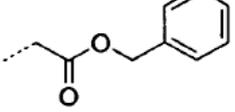
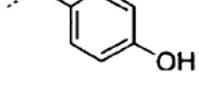
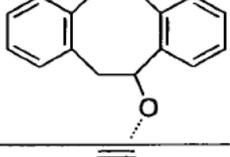
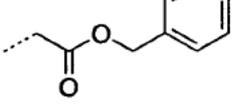
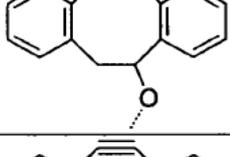
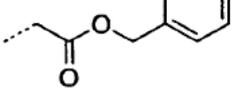
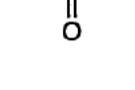
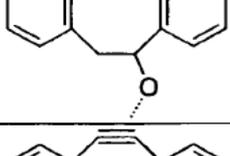
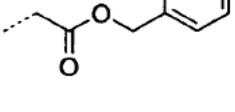
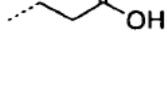
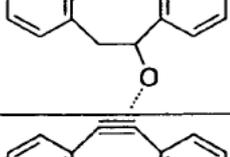
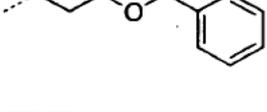
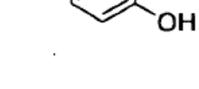
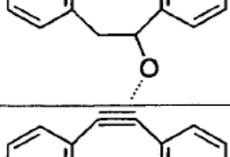
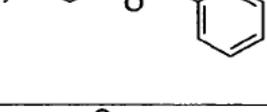
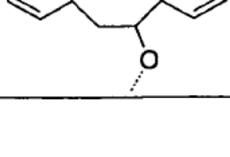
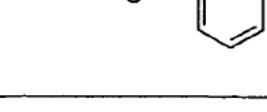
4	CH ₃ O.....		
5	CH ₃ O.....		
6	CH ₃ O.....		
7	CH ₃ O.....		
8	CH ₃ O.....		
9	CH ₃ O.....		
10	CH ₃ O.....		
11	CH ₃ O.....		
12	CH ₃ O.....		
13	CH ₃ O.....		
14	CH ₃ O.....		
15	CH ₃ O.....		
16	CH ₃ O.....		
17	N ₃		

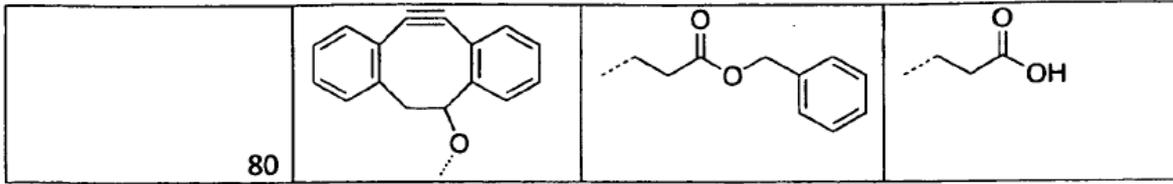
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
31			

32			
33			
34			
35			
36			
37			
38			
39			
40			
41			
42			
43			
44			
45			
46			

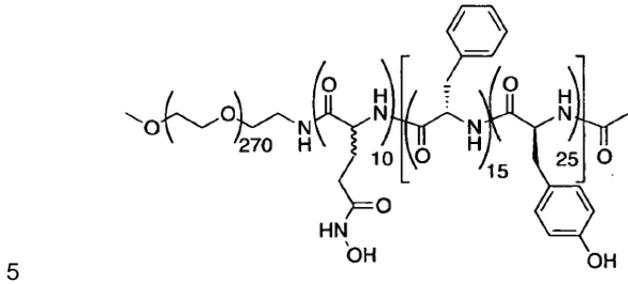
47			
48			
49			
50			
51			
52			
53			
54			
55			
56			
57			
58			
59			
60			

61			
62			
63			
64			
65			
66			
67			
68			
69			
70			

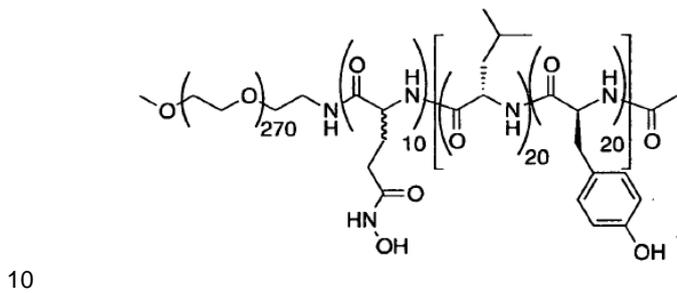
71			
72			
73			
74			
75			
76			
77			
78			
79			



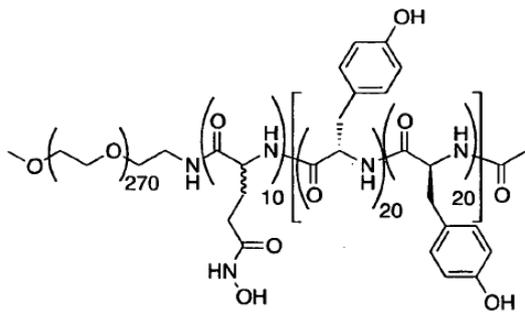
En ciertas realizaciones, un copolímero tribloque de fórmula II es



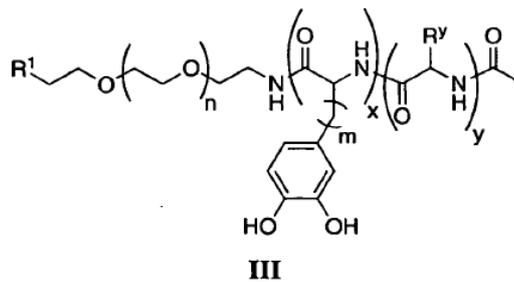
En ciertas realizaciones, un copolímero tribloque de fórmula II es



En ciertas realizaciones, un copolímero tribloque de fórmula II es



En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un copolímero tribloque de fórmula III:



en donde:

20 n es 20-500;

m es 0, 1, o 2;

x es de 3 a 50;

y es de 5 a 100;

R^y se selecciona de uno o más grupos de cadena lateral de aminoácido natural o no natural de manera que el bloque total es hidrofóbico;

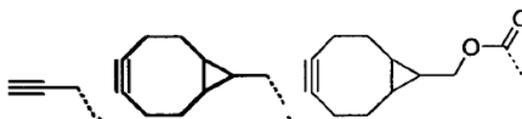
R¹ es -Z(CH₂CH₂Y)_p(CH₂)_tR³, en donde:

Z es -O-, -NH-, -S-, -C≡C-, o -CH₂-;

cada Y es independientemente -O- o -S-;

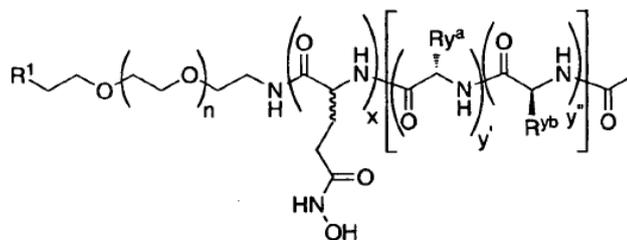
p es 0-10;

t es 0-10; y



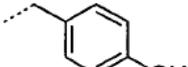
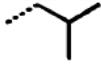
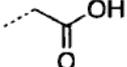
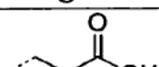
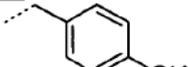
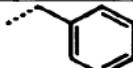
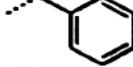
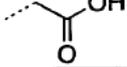
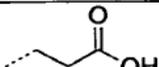
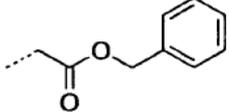
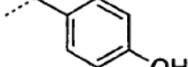
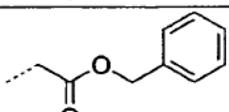
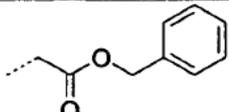
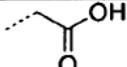
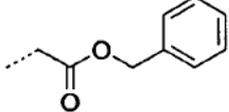
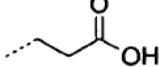
R³ es hidrógeno, -N₃, -CN, -NH₂, -CH₃, una fracción de ciclooctino estirado, una amina monoprottegida, una amina diprottegida, un aldehído opcionalmente protegido, un hidroxilo opcionalmente protegido, un ácido carboxílico opcionalmente protegido, un tiol opcionalmente protegido, o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-8 elementos, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 8-10 elementos que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o una fracción detectable.

En ciertas realizaciones, un copolímero tribloque de fórmula III se selecciona de los siguientes compuestos ejemplares como se muestra en la Tabla 2,



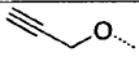
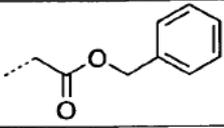
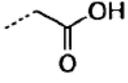
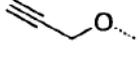
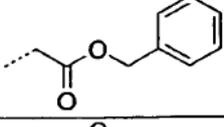
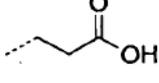
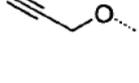
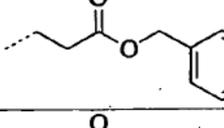
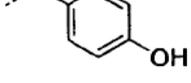
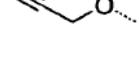
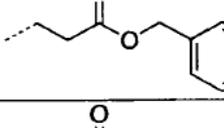
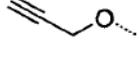
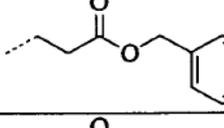
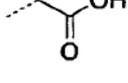
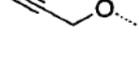
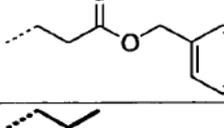
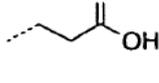
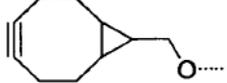
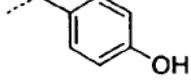
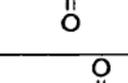
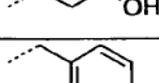
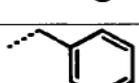
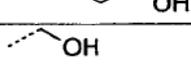
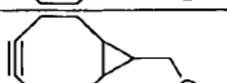
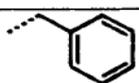
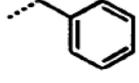
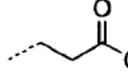
en donde n es de 20 a 500, x es de 3 a 50, y' es de 3 a 50, e y'' es de 3 a 50.

Tabla 2

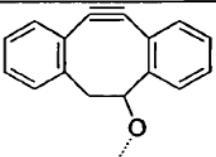
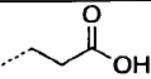
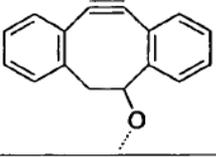
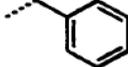
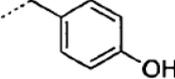
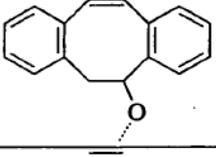
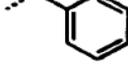
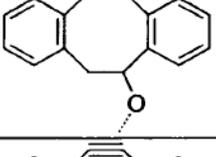
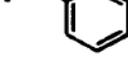
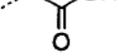
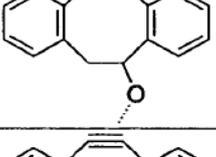
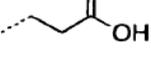
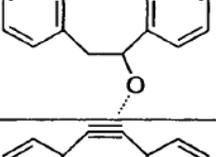
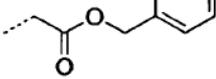
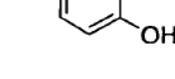
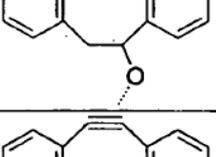
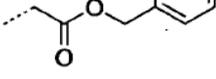
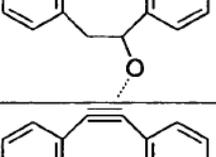
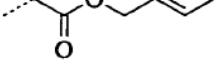
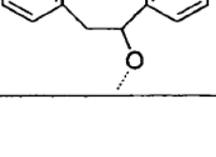
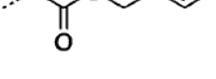
81	CH ₃ O		
82	CH ₃ O		
83	CH ₃ O		
84	CH ₃ O		
85	CH ₃ O		
86	CH ₃ O		
87	CH ₃ O		
88	CH ₃ O		
89	CH ₃ O		
90	CH ₃ O		
91	CH ₃ O		
92	CH ₃ O		

93	CH ₃ O		
94	CH ₃ O		
95	CH ₃ O		
96	CH ₃ O		
97	N ₃		
98	N ₃		
99	N ₃		
100	N ₃		
101	N ₃		
102	N ₃		
103	N ₃		
104	N ₃		
105	N ₃		
106	N ₃		
107	N ₃		

108			
109			
110			
111			
112			
113			
114			
115			
116			
117			
118			
119			
120			
121			
122			

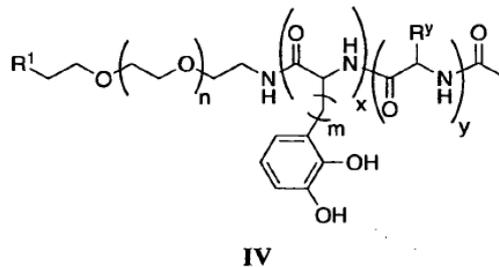
123			
124			
125			
126			
127			
128			
129			
130			
131			
132			
133			
134			
135			
136			

137			
138			
139			
140			
141			
142			
143			
144			
145			
146			
147			

148			
149			
150			
151			
152			
153			
154			
155			
156			

157			
158			
159			
160			

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un copolímero tribloque de fórmula IV:



5

en donde:

n es 20-500;

10

m es 0, 1, o 2;

x es de 3 a 50;

15

y es de 5 a 100;

R^y se selecciona de uno o más grupos de cadena lateral de aminoácido natural o no natural de manera que el bloque total es hidrofóbico;

20

R¹ es -Z(CH₂CH₂Y)_p(CH₂)_tR³, en donde:

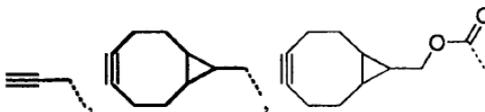
Z es -O-, -NH-, -S-, -C≡C-, o -CH₂-;

cada Y es independientemente -O- o -S-;

25

p es 0-10;

t es 0-10; y



R³ es hidrógeno, -N₃, -CN, -NH₂, -CH₃, una fracción de ciclooctino estirado, una amina monoprotectada, una amina diprotectada, un aldehído opcionalmente protegido, un hidroxilo opcionalmente protegido, un ácido carboxílico opcionalmente protegido, un tiol opcionalmente protegido, o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-8 elementos, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 8-10 elementos que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o una fracción detectable.

B. Unión del grupo de direccionamiento

Compuestos de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV que tienen fracciones R³ adecuadas para química clic son útiles para la conjugación de tales compuestos a sistemas biológicos o macromoléculas tales como péptidos, proteínas, virus, y células, por nombrar solo algunos. Se sabe que la reacción clic se desarrolla rápida y selectivamente en condiciones fisiológicas. Por el contrario, la mayoría de las reacciones de conjugación se llevan a cabo usando la funcionalidad amina primaria en las proteínas (por ejemplo, lisina o grupo terminal de la proteína). Debido a que la mayoría de las proteínas contienen una multitud de lisinas y argininas, tal conjugación ocurre de manera incontrolable en sitios múltiples en la proteína. Esto es particularmente problemático cuando las lisinas o argininas están localizadas cerca del sitio activo de una enzima u otra biomolécula. De este modo, otra realización de la presente invención proporciona un método para conjugar los grupos R¹ de un compuesto de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV a una macromolécula mediante química clic. Aún otra realización de la presente invención proporciona una macromolécula conjugada a un compuesto de cualquiera de de las fórmulas I, II, III, y IV mediante el grupo R¹.

Después de la incorporación de las porciones de bloque de poli(aminoácido) en el copolímero multibloque de la presente invención que resultan en un copolímero multibloque de la forma W-X-X', la otra funcionalidad del grupo terminal, que corresponde a la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV se puede usar para unirse a grupos de direccionamiento para suministro específico a la célula que incluye, pero no se limita a, unión de grupos de direccionamiento para suministro específico a la célula que incluye, pero no se limita a, proteínas, oligopéptidos, anticuerpos, monosacáridos, oligosacáridos, vitaminas, u otras biomoléculas pequeñas. Tales grupos de direccionamiento incluyen, pero no se limitan a anticuerpos monoclonales y policlonales (por ejemplo, anticuerpos IgG, IgA, IgM, IgD, IgE), azúcares (por ejemplo, manosa, manosa-6-fosfato, galactosa), proteínas (por ejemplo, transferrina), oligopéptidos (por ejemplo, oligopéptidos que contienen RGD cíclicos y acíclicos), y vitaminas (por ejemplo, folato). Alternativamente, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV está unida a una biomolécula, fármaco, célula, u otro sustrato.

En otras realizaciones, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV está unida a biomoléculas las cuales promueven la entrada celular y/o escape endosomal. Tales biomoléculas incluyen, pero no se limitan a, oligopéptidos que contienen dominios de transducción de proteína tales como la secuencia de péptido Tat del VIH (GRKKRRQRRR) u oligoarginina (RRRRRRRRR). Los oligopéptidos que sufren cambios conformacionales en medio de pH variables tales como oligohistidina (HHHHH) también promueven la entrada celular y escape endosomal.

En otras realizaciones, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV está unida a fracciones detectables, tales como tintes o marcadores fluorescentes para tomografía de emisión de positrón que incluyen moléculas que contienen radioisótopos (por ejemplo, ¹⁸F) o ligandos con metales radioactivos unidos (por ejemplo, ⁶²Cu). En otras realizaciones, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV está unida a agentes de contraste para imagenología de resonancia magnética tales como partículas de gadolinio, quelatos de gadolinio, u óxido de hierro (por ejemplo, Fe₃O₄ y Fe₂O₃). En otras realizaciones, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV está unida a una nanopartícula semiconductora tal como selenuro de cadmio, sulfuro de cadmio, o telurido de cadmio o unida a otras nanopartículas de metal tales como oro coloidal. En otras realizaciones, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV está unida a superficies naturales o sintéticas, células, virus, tintes, fármacos, agentes quelantes, o se usa para incorporación en hidrogeles u otros andamiajes de tejidos.

En una realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un alquino o un derivado alquilo terminal que es capaz de someterse a reacciones de cicloadición [3+2] con moléculas y biomoléculas que portan azida complementarias. En otra realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es una azida o un derivado de azida que es capaz de someterse a reacciones de cicloadición [3+2] con moléculas y biomoléculas que portan alquino complementarias (es decir, química clic).

La química clic ha llegado a ser un método popular de bioconjugación debido a su alta reactividad y selectividad, aún en medios biológicos. Véase Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001, 40, 2004-2021; y Wang, Q.; Chan, T. R.; Hilgraf, R.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Finn, M. G. *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 3192-3193. Además, las técnicas recombinantes actualmente disponibles permiten la introducción de azidas y

aminoácidos no canónicos que portan alquinos en proteínas, células, virus, bacterias, y otras entidades biológicas que consisten en o presentan proteínas. Véase Link, A. J.; Vink, M. K. S.; Tirrell, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 10598-10602; Deiters, A.; Cropp, T. A.; Mukherji, M.; Chin, J. W.; yerson, C; Schultz, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 11782-11783.

5 En otra realización, la reacción de cicloadición [3+2] de los nanovectores que portan azida o acetileno y biomoléculas que portan azida o acetileno complementarios, son catalizadas por metales de transición. Las moléculas que contienen cobre las cuales catalizan la reacción "clic" incluyen, pero no se limitan a, bromuro de cobre (CuBr), cloruro de cobre (CuCl), sulfato de cobre (CuSO₄), yoduro de cobre (CuI), [Cu(MeCN)₄](OTf), y [Cu(MeCN)₄](PF₆). Los ligandos que se unen a metal orgánico e inorgánico pueden ser usados junto con catalizadores de metal e incluyen, pero no se limitan a, ascorbato de sodio, ligandos de tris(triazolil)amina, tris(carboxietil)fosfina (TCEP), y ligandos de batofenantrolina sulfonados.

15 En otra realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un derivado de hidrazina o hidrazida que es capaz de someterse a reacción con biomoléculas que contienen aldehídos o cetonas para formar enlaces de hidrazona. En otra realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un derivado de aldehído o cetona que es capaz de someterse a reacción con biomoléculas que contienen un derivado de hidrazina o hidrazida para formar enlaces de hidrazona.

20 En otra realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un derivado de hidroxilamina el cual es capaz de someterse a reacción con biomoléculas que contienen aldehídos o cetonas. En otra realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un aldehído o cetona el cual es capaz de someterse a reacción con biomoléculas que contienen una hidroxilamina, o un derivado de hidroxilamina.

25 En aún otra realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un derivado de aldehído o cetona el cual es capaz de someterse a reacción con biomoléculas que contienen aminas primarias o secundarias para formar enlaces imina. En otra realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es una amina primaria o secundaria la cual es capaz de someterse a reacción con biomoléculas que contienen una funcionalidad aldehído o cetona para formar enlaces imina. Se apreciará que los enlaces imina pueden ser además convertidos a enlaces amina estables por tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, hidruro de aluminio y litio, borohidruro de sodio, cianoborohidruro de sodio, etc.)

35 En aún otra realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es una amina (primaria o secundaria) o alcohol el cual es capaz de someterse a reacción con biomoléculas que contienen ésteres activados (por ejemplo, 4-nitrofenoléster, N-hidroxisuccinimida, pentafluorofeniléster, orto-piridiltioéster), para formar enlaces amida o éster. En todavía otras realizaciones, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un éster activado el cual es capaz de someterse a reacción con biomoléculas que poseen amina (primaria o secundaria) o alcoholes para formar enlaces amida o éster.

40 En todavía otras realizaciones, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es una amina o alcohol el cual está unido a biomoléculas con funcionalidad de ácido carboxílico usando un agente de acoplamiento. En todavía otras realizaciones, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es una funcionalidad de ácido carboxílico la cual está unida a biomoléculas que contienen funcionalidad amina o alcohol usando un agente de acoplamiento. Tales agentes de acoplamiento incluyen, pero no se limitan a, carbodiimidias (por ejemplo, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC), diisopropilcarbodiimida (DIC), dicitclohexilcarbodiimida (DCC)), derivados de aminio o fosfonio (por ejemplo, PyBOP, PyAOP, TBTU, HATU, HBTU), o una combinación de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) y un derivado de aminio o fosfonio.

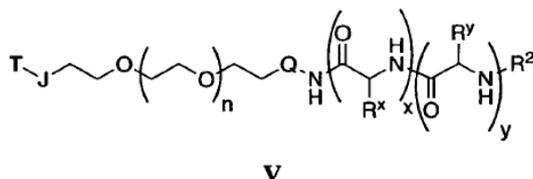
50 En otra realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un electrófilo tal como una maleimida, un derivado de maleimida, o un derivado de bromoacetamida, el cual es capaz de reacción con biomoléculas que contienen tioles o aminas. En otra realización, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un nucleófilo tal como una amina o tiol el cual es capaz o reacciona con biomoléculas que contienen funcionalidad electrofílica tal como maleimida, un derivado de maleimida, o un derivado de bromoacetamida.

55 En todavía otras realizaciones, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es una fracción de disulfuro de orto-piridilo la cual se somete a intercambio de disulfuro con biomoléculas que contienen funcionalidad tiol. En todavía otras realizaciones, la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un tiol o derivado tiol el cual se somete a intercambio de disulfuro con biomoléculas que contienen funcionalidad de disulfuro de orto-piridilo. Se apreciará que tales reacciones de intercambio resultarán en un enlace disulfuro, el cual es reversible en presencia de un agente reductor (por ejemplo, glutatión, ditioneitol (DTT), etc.).

65 En ciertas realizaciones, las micelas de la presente invención son micelas mezcladas que comprenden uno o más compuestos de fórmulas I, II, III, y IV. Se apreciará que las micelas mezcladas que tienen diferentes grupos R¹, como se describe en el presente documento, se pueden conjugar a múltiples otros compuestos y/o macromoléculas. Por ejemplo, una micela mezclada de la presente invención puede tener un grupo R¹ adecuado para química clic y otro grupo R¹ adecuado para la unión covalente mediante una variedad de reacciones de acoplamiento. Tal micela

mezclada se puede conjugar a diferentes compuestos y/o macromoléculas mediante estos diferentes grupos R¹. Tales reacciones de conjugación las conoce bien el experto en la materia e incluye aquellas descritas en el presente documento.

5 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un copolímero de tribloque de fórmula V:



10 en donde cada uno de Q, x, y, n, R^x, R^y y R² es como se define anteriormente y como se describe en las clases y subclases en el presente documento, tanto individualmente como en combinación;

J es independientemente un enlace de valencia o una cadena hidrocarburo C₁₋₁₂ lineal o ramificada, saturada o insaturada, bivalente, en donde 0-6 unidades de metileno de Q se sustituyen independientemente por -Cy-, -O-, -NH-, -S-, -OC(O)-, -C(O)O-, -C(O)-, -SO-, -SO₂-, -NHSO₂-, -SO₂NH-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, -OC(O)NH-, o -NHC(O)O-, en donde:

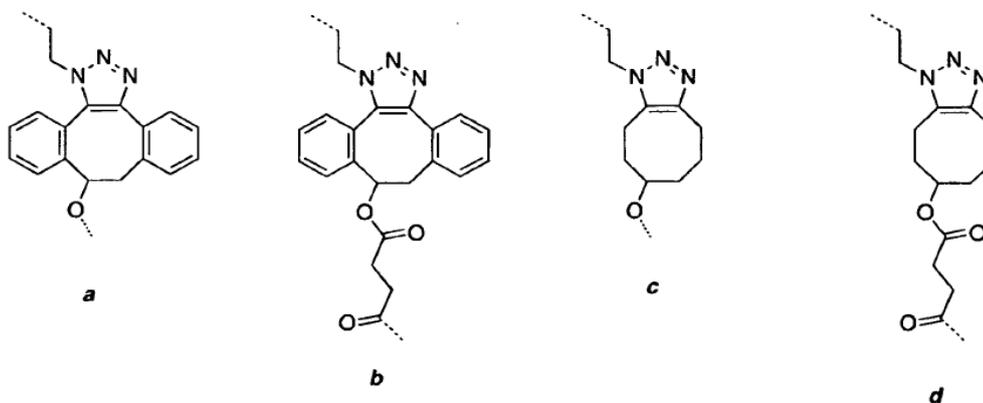
15 -Cy- es un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 5-8 elementos opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 8-10 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre;

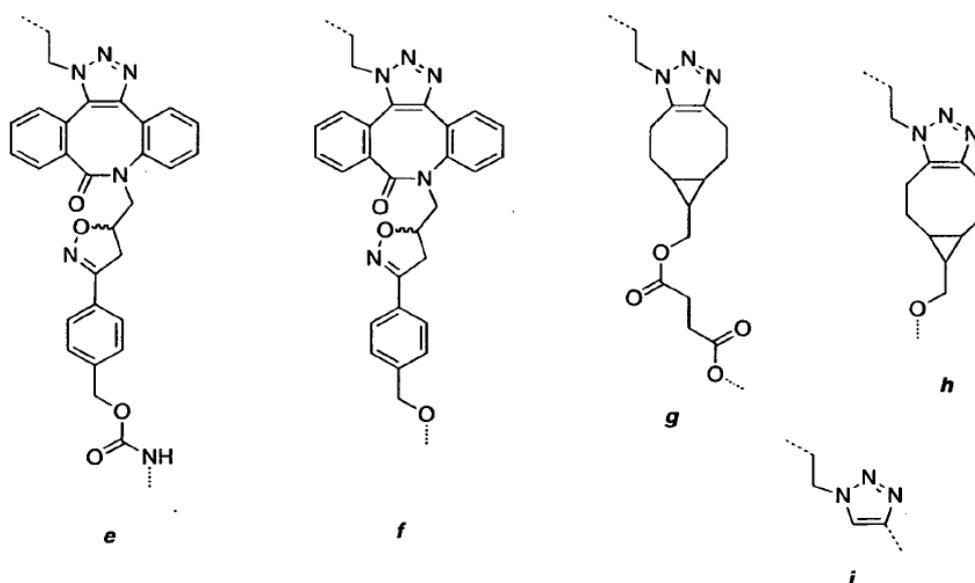
20 cada T es independientemente un grupo de direccionamiento.

25 Como se describe en general anteriormente, T es un grupo de direccionamiento. Tales grupos de direccionamiento se describen en detalle en la publicación de solicitud de patente Estadounidense número 2009/01 10662, publicada el 30 de abril de 2009, cuya totalidad se incorpora de este modo por referencia. Se describen grupos de direccionamiento adicionales en detalle en la solicitud de patente Estadounidense número 13/415,910, presentada el 9 de Marzo de 2012, cuya totalidad está de este modo incorporada por referencia.

30 En ciertas realizaciones, el grupo J es un enlace de valencia como se describe anteriormente. En ciertas realizaciones, el grupo J es un grupo metileno. En otras realizaciones, el grupo J es un grupo carbonilo. En ciertas realizaciones, el grupo J de fórmula V es un enlace de valencia. En otras realizaciones, el grupo J está representado por una fracción en la Tabla 3.

35 Tabla 3.





C. Formación de Micelas

5 Los copolímeros multibloque anfífilicos, como se describen en el presente documento, pueden auto-ensamblarse en solución acuosa para formar estructuras de tamaño nano y micro. En agua, estos copolímeros multibloque anfífilicos se ensamblan por micelización multimolecular cuando están presentes en solución por encima de la concentración micelar crítica (CMC). Sin desear estar unido por ninguna teoría particular, se cree que la porción o “bloque” de poli(aminoácido) hidrofóbica del copolímero, se colapsa para formar el núcleo micelar, mientras el bloque de PEG hidrofílico forma una corona periférica e imparte solubilidad en agua. En ciertas realizaciones, los copolímeros multibloque según la presente invención poseen distintos segmentos hidrofóbicos e hidrofílicos que forman micelas. Además, estos polímeros multibloque comprenden opcionalmente un bloque de poli(aminoácido) que contiene funcionalidad para entrecruzamiento. Se apreciará que esta funcionalidad se encuentra en la cadena lateral del aminoácido correspondiente.

15

D. Carga de Fármaco

Según una realización, la presente invención proporciona una micela que comprende un copolímero tribloque el cual comprende un bloque hidrofílico polimérico, opcionalmente un poli(bloque de aminoácido) entrecruzable o entrecruzado, y un bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico, caracterizado en que dicha micela tiene un núcleo interno, opcionalmente un núcleo externo entrecruzable o entrecruzado, y una cubierta hidrofílica. Como se describe en el presente documento, las micelas de la presente invención son especialmente útiles para encapsular agentes terapéuticos. En ciertas realizaciones el agente terapéutico es hidrofóbico.

20

25 Sin desear estar unido por ninguna teoría particular, se cree que la acomodación de agentes terapéuticos estructuralmente diversos dentro de una micela de la presente invención se efectúa ajustando el bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado hidrofóbico, es decir, el bloque que comprende R^y. Como se discute anteriormente, la mezcla hidrofóbica de estereoisómeros D y L proporciona un bloque de poli(aminoácido) con una conformación de espiral aleatorio de este modo mejorando la encapsulación de fármacos hidrofóbicos.

30

Fármacos de molécula pequeña hidrofóbicos adecuados para cargar en micelas de la presente invención se conocen bien en la técnica. En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco como se describe en el presente documento. En otras realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es un fármaco hidrofóbico seleccionado de aquellos descritos en el presente documento, posteriormente.

35

Como se usa en el presente documento, los términos fármacos de molécula pequeña hidrofóbicos, fármacos de molécula pequeña, agente terapéutico, y agentes terapéuticos hidrofóbicos son todos intercambiables.

40 Según otra realización, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco que comprende un copolímero tribloque de fórmula I y un agente terapéutico.

Según otra realización, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco que comprende un copolímero tribloque de fórmula I y un agente terapéutico hidrofóbico.

45

En otras realizaciones, la presente invención proporciona un sistema que comprende un copolímero tribloque de fórmula I y un agente terapéutico hidrofóbico. En otra realización, la presente invención proporciona un sistema que comprende un copolímero tribloque de cualquiera de las fórmulas I, II, III, o IV, ya sea individualmente o en combinación, y un agente terapéutico hidrofóbico. En aún otra realización, la presente invención proporciona un sistema que comprende un copolímero tribloque de fórmula II y un agente terapéutico hidrofóbico.

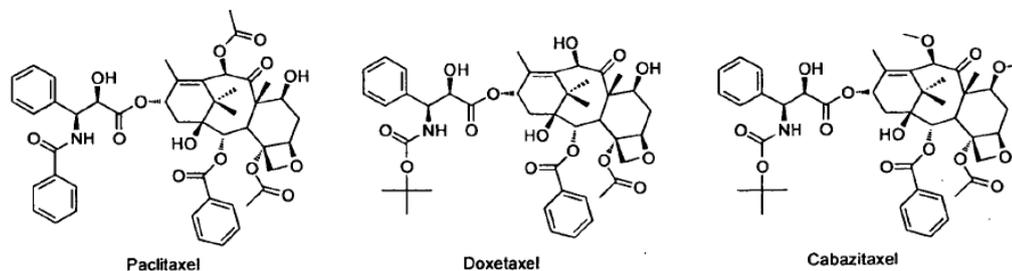
En algunas realizaciones, la presente invención proporciona una micela, que tiene un agente terapéutico hidrofóbico adecuado encapsulado en esta, que comprende un copolímero multibloque de fórmula I y un copolímero multibloque de fórmula V, en donde cada una de la fórmula I y fórmula V son como se definen anteriormente y se describen en el presente documento, en donde la relación de la fórmula I a la fórmula V está entre 1000:1 y 1:1. En otras realizaciones, la relación es 1000:1, 100:1, 50:1, 33:1, 25:1, 20:1, 10:1, 5:1, o 4:1. En aún otras realizaciones, la relación está entre 100:1 y 25:1.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona una micela, que tiene un agente terapéutico hidrofóbico encapsulado en esta, que comprende un copolímero multibloque de fórmula II y un copolímero multibloque de fórmula V, en donde cada una de la fórmula II y fórmula V son como se definen anteriormente y se describen en el presente documento, en donde la relación de la fórmula II a la fórmula V está entre 1000:1 y 1:1. En otras realizaciones, la relación es 1000:1, 100:1, 50:1, 33:1, 25:1, 20:1, 10:1, 5:1, o 4:1. En aún otras realizaciones, la relación está entre 100:1 y 25:1.

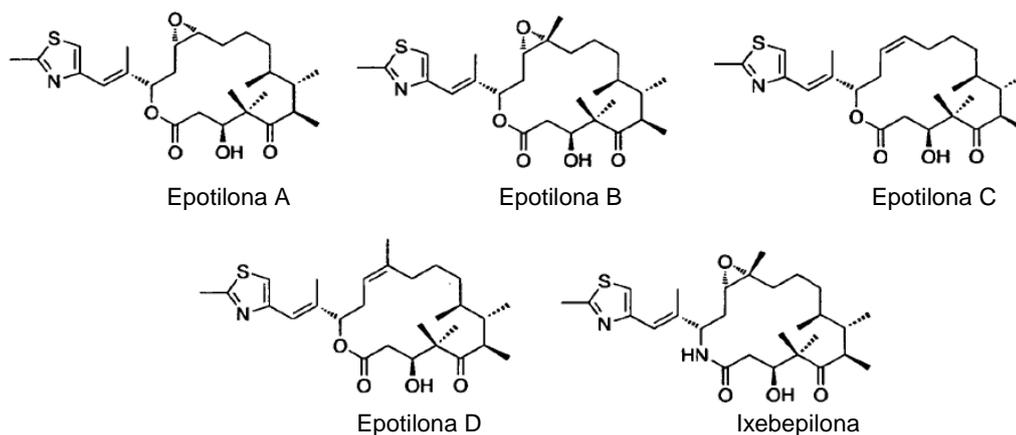
Realizaciones con respecto a cada uno de los grupos R^1 , R^{2a} , Q, R^x , R^y , n, m, y m' de fórmula I, son como se describen en varias clases y subclases, tanto individualmente como en combinación, en el presente documento.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es un taxano.

Los taxanos son bien conocidos en la literatura y son productos naturales producidos por las plantas del género *Taxus*. El mecanismo de acción es estabilización de microtúbulos, de este modo inhibiendo la mitosis. Muchos taxanos son escasamente solubles o casi completamente insolubles en agua. Epotilonas ejemplares se muestran a continuación.



Las epotilonas son un grupo de moléculas que se ha mostrado que son estabilizadores de microtúbulos, un mecanismo similar al paclitaxel (Bollag DM et al. Cancer Res. 1995, 55, 2325-2333). Estudios bioquímicos demuestran que las epotilonas pueden desplazar al paclitaxel de la tubulina, lo que sugiere que compiten por el mismo sitio de unión (Kowalski RJ, Giannakakou P, Hamel E. J Biol Chem. 1997, 272, 2534-2541). Una ventaja de las epotilonas es que ejercen un efecto citotóxico mucho mayor en células que sobreexpresan PGP comparado con el paclitaxel. Epotilonas ejemplares se muestran a continuación.



En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es paclitaxel.

5 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es docetaxel.

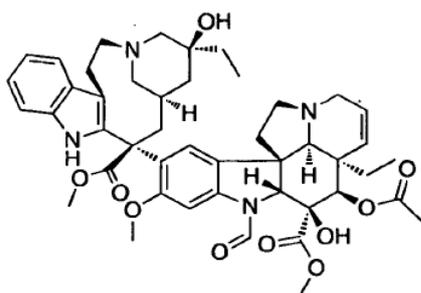
10 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento e, en donde el fármaco es cabazitaxel.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es una epotilona.

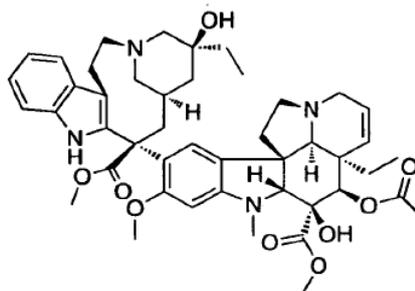
15 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es Epotilona B o Epotilona D.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es Epotilona A o Epotilona C.

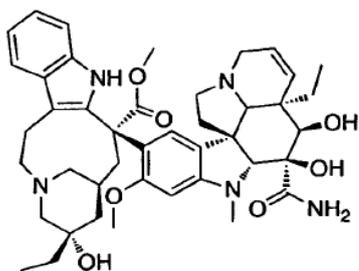
20 Los alcaloides de la vinca son bien conocidos en la literatura y son una serie de agentes antimetabólicos. Los alcaloides de la vinca incluyen vinblastina, vincristina, vindesina, y vinorelbina, y actúan para prevenir la formación de microtúbulos. Alcaloides de la vinca ejemplares se muestran a continuación.



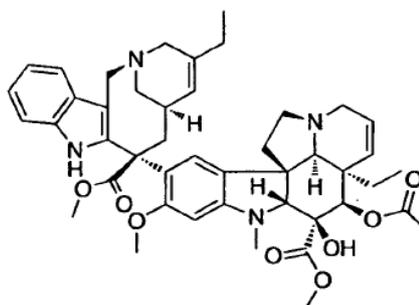
Vincristina



Vinblastina



Vindesina

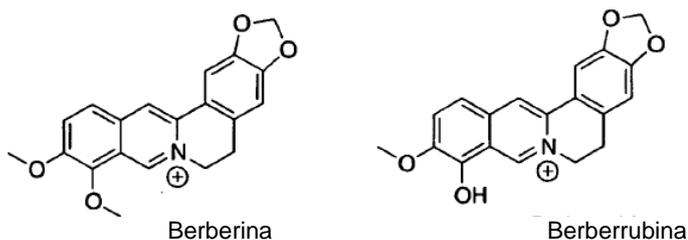


Vinorelbina

30 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es un alcaloide de la vinca.

35 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es vinorelbina.

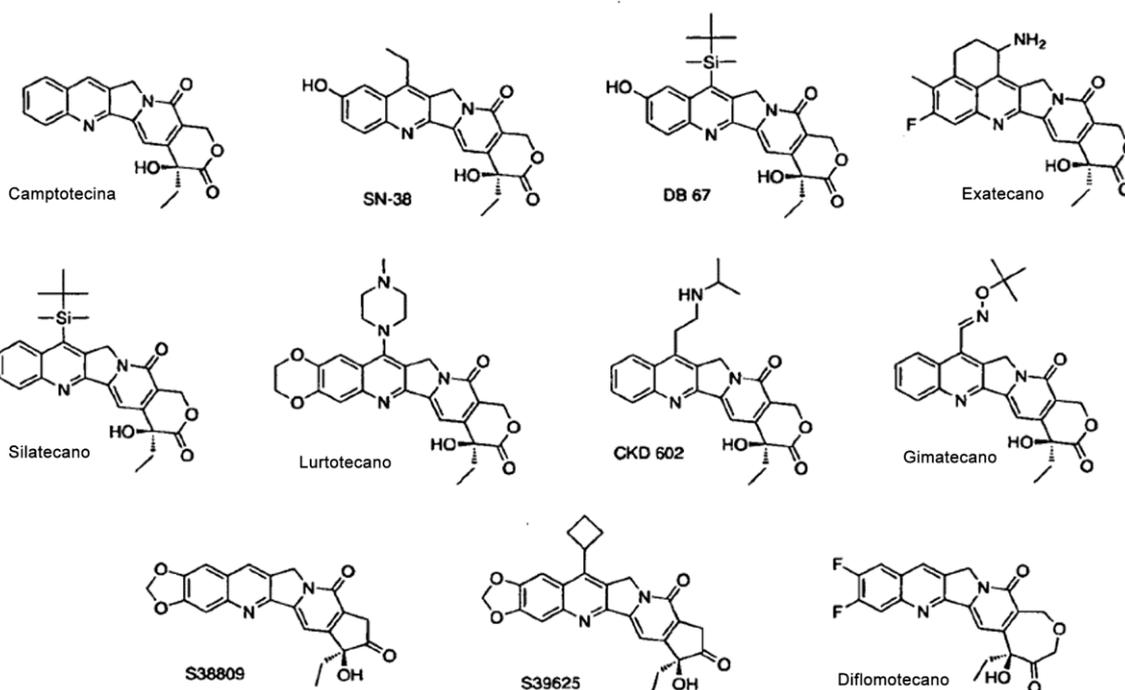
40 La berberina es bien conocida en la literatura y muestra efectos farmacéuticos en una gama de aplicaciones que incluyen aplicaciones antibacterianas y oncología. La actividad anti-tumoral de berberina y derivados asociados se describe en Hoshi, et. al. *Gann*, 1976, 67, 321-325. Específicamente, la berberrubina y derivados de éster de berberrubina se muestran por tener actividad antitumoral incrementada con respecto a la berberina. Las estructuras de berberina y berberrubina se muestran a continuación.



5 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presentedocumento, en donde el fármaco es berberina.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es berberrubina.

10 El alcoloide antitumoral camptotecina (CPT) es un agente anticanceroso de amplio espectro que se dirige a la topoisomerasa I del ADN. Aunque la CPT ha mostrado actividad antitumoral prometedora *in vitro* e *in vivo*, no se ha usado clínicamente debido a su baja eficacia terapéutica y toxicidad grave. Entre los análogos de CPT, se ha mostrado recientemente que el clorhidrato de irinotecano (CPT-11) es activo contra el cáncer colorrectal, de pulmón y ovario. El CPT-11 mismo es un profármaco y se convierte a 7-etil-10-hidroxi-CPT (conocido como SN-38), un metabolito biológicamente activo de CPT-11, por carboxilésterasas *in vivo*. Un número de derivados de camptotecina están en desarrollo, cuyas estructuras se muestran a continuación.



20 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es una camptotecina.

25 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es SN-38.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es S39625.

30 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presentedocumento, en donde el fármaco es una antraciclina.

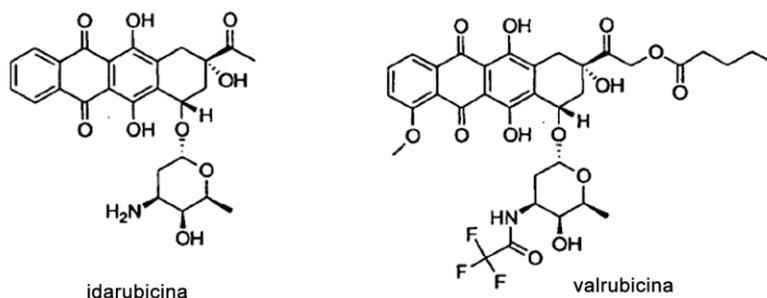
Se han producido varios derivados de antraciclina y han encontrado uso en la clínica para el tratamiento de

leucemias, linfoma de Hodgkin, así como también cánceres de vejiga, mama, estómago, pulmón, ovarios, tiroides, y sarcoma de tejido blando. Tales derivados de antraciclina incluyen daunorubicina (también conocida como Daunomicina o daunomicina cerubidina), doxorubicina (también conocida como DOX, hidroxidaunorubicina, o adriamicina), epirubicina (también conocido como Elenice o Farmorubicina), idarubicina (también conocido como 4-desmetoxidaunorubicina, Zavedos, o Idamicina), y valrubicina (también conocido como N-trifluoroacetiladriamicina-14-valerato o Valstar). Las antraciclinas típicamente se preparan como una sal de amonio (por ejemplo, sal clorhidrato) para mejorar la solubilidad en agua y permitir facilidad de administración.

5



10



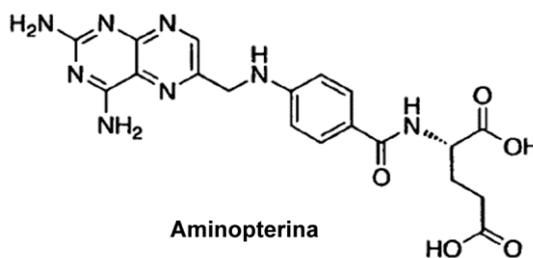
En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es daunorubicina.

15

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es doxorubicina.

La aminopterina es bien conocida en la literatura y es un análogo de ácido fólico que es un agente antineoplásico. La aminopterina funciona como un inhibidor de enzima compitiendo por el sitio de unión a folato de la enzima dihidrofolato reductasa. La estructura de aminopterina se muestra a continuación.

20

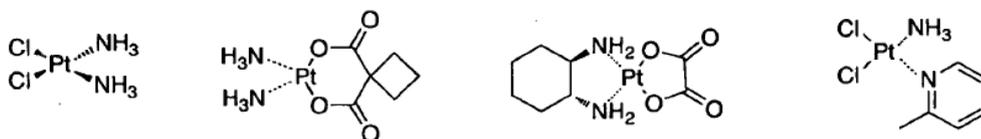


25

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es aminopterina.

Los terapéuticos a base de platino son bien conocidos en la literatura. Los terapéuticos de platino son muy usados en oncología y actúan para entrecruzar ADN que produce muerte celular (apoptosis). Carboplatino, picoplatino, cisplatino, y oxaliplatino son terapéuticos de platino ejemplares y las estructuras se muestran a continuación.

30



Cisplatino

Carboplatino

Oxaliplatino

Picoplatino

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es picoplatino.

5 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es un terapéutico de platino.

10 Los fármacos de molécula pequeña adecuados para cargar en micelas de la presente invención son bien conocidos en la técnica. En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es un fármaco hidrofóbico seleccionado de analgésicos, agentes antiinflamatorios, inhibidores de HDAC, inhibidores mitóticos, estabilizadores de microtúbulos, intercaladores de ADN, inhibidores de topoisomerasa, antihelmínticos, agentes antiarrítmicos, agentes antibacterianos, agentes antivirales, anticoagulantes, antidepresivos, antidiabéticos, antiepilépticos, agentes antifúngicos, agentes antigota, agentes antihipertensivos, antimalaríales, agentes antimigraña, agentes antimuscarínicos, agentes antineoplásicos, agentes que mejoran la disfunción eréctil, inmunosupresores, agentes antiprotozoarios, agentes antitiroideos, agentes ansiolíticos, sedantes, hipnóticos, neurolépticos, β -bloqueadores, agentes inotrópicos cardiacos, corticoesteroides, diuréticos, agentes antiparquinsonianos, agentes gastrointestinales, antagonistas del receptor histamina, queratolíticos, agentes reguladores de lípidos, agentes antianginales, inhibidores de Cox-2, inhibidores del leucotrieno, macrólidos, relajantes musculares, agentes nutricionales, analgésicos opioides, inhibidores de proteasas, hormonas sexuales, estimulantes, relajantes musculares, agentes antiosteoporosis, agentes antiobesidad, mejoradores de las capacidades intelectuales, agentes anticontinencia urinaria, agentes antihipertrofia prostática benigna, ácidos grasos esenciales, ácidos grasos no esenciales, y mezclas de los mismos.

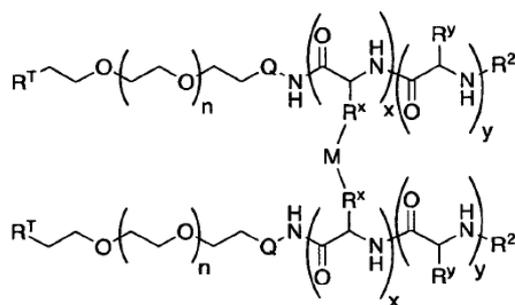
25 En otras realizaciones, el fármaco hidrofóbico se selecciona de uno o más anlagésicos, agentes antibacterianos, agentes antivirales, agentes antiinflamatorios, antidepresivos, antidiabéticos, antiepilépticos, agentes antihipertensivos, agentes antimigraña, inmunosupresores, agentes ansiolíticos, sedantes, hipnóticos, neurolépticos, β -bloqueadores, agentes gastrointestinales, agentes reguladores de lípidos, agentes antianginales, inhibidores de Cox-2, inhibidores del leucotrieno, macrólidos, relajantes musculares, analgésicos opioides, inhibidores de proteasas, hormonas sexuales, mejoradores de las capacidades intelectuales, agentes antiincontinencia urinaria, y mezclas de los mismos.

35 Según un aspecto, la presente invención proporciona una micela, como se describe en el presente documento, cargada con un fármaco hidrofóbico seleccionado de uno cualquiera o más de una Exemestance (aromasina), Camptosar (irinotecano), Elence (epirubicina), Femara (Letrozol), Gleevac (mesilato de imatinib), Lentaron (formestano), Citadren/Orimeten (aminoglutetimida), Temodar, Proscar (finasterido), Viadur (leuprolido), Nexavar (Sorafenib), Kitril (Granisetron), Taxotero (Docetaxel), Taxol (paclitaxel), Kitril (Granisetron), Vesanoide (tretinoína) (retina A), XELODA (Capecitabina), Arimidax (Anastrozol), Casodex/Cosudex (Bicalutamida), Faslodex (Fulvestrant), Iressa (Gefitinib), Nolvadex, Istubal, Valodex (citrato de tamoxifeno), Tomudex (Raltitrexed), Zoladex (acetato de goserelina), Leustatina (Cladribina), Velcade (bortezomib), Milotarg (ozogamicina de gemtuzumab), Alimta (pemetrexed), Gemzar (clorhidrato de gemcitabina), Rituxan (rituximab), Revlimid (lenalidomido), Thalomid (talidomido), Alkeran (melfalano), y derivados de los mismos.

45 *E. Químicas de entrecruzamiento*

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona micelas entrecruzadas que encapsulan eficazmente agentes terapéuticos iónicos o hidrofóbicos a pH 7,4 (sangre) pero que se disocian y liberan el fármaco a valores de pH ácidos, objetivo, que varían desde 5,0 (pH endosomal) hasta 6,8 (pH de tumor extracelular). En aún otras realizaciones, el valor de pH se puede ajustar entre 4,0 y 7,4. Estos nanovectores dirigidos por pH mejorarán drásticamente el suministro específico de cáncer de agentes quimioterapéuticos y minimizan los efectos secundarios nocivos comúnmente encontrados con fármacos de quimioterapia potentes. Además, la utilización de que se pueden ajustar para disociarse a través de un intervalo de valores de pH hacen estas micelas cargadas de fármaco aplicables en el tratamiento de tumores sólidos y neoplasias malignas que han llegado a ser resistentes al fármaco.

55 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco que comprende un copolímero tribloque, en donde tal micela tiene un núcleo interno cargado de fármaco, un núcleo externo entrecruzado, y una cubierta hidrofílica, en donde el copolímero tribloque es de la fórmula VI:



VI

en donde cada uno de Q, J, T, x, y, n, R^x, R^y y R² es como se define anteriormente y como se describe en las clases y subclases en el presente documento, tanto individualmente como en combinación;

5

M es un ión de metal;

Cada R^T se selecciona independientemente de bien -J-T o -Z(CH₂CH₂Y)_p(CH₂)_tR³, en donde:

10

Z es -O-, -S-, -C≡C-, o -CH₂-;

cada Y es independientemente -O- o -S-;

15

p es 0-10;

t es 0-10; y

20

R³ es -N₃, -CN, una amina monoprottegida, una amina diprottegida, un aldehído protegido, un hidroxilo protegido, un ácido carboxílico protegido, un tiol protegido, un éter corona de 9-30 elementos, o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-8 elementos, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 8-10 elementos que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o una fracción detectable;

25

Q es un enlace de valencia o una cadena de hidrocarburo C₁₋₁₂ lineal o ramificada, saturada o insaturada, bivalente, en donde 0-6 unidades de metileno de Q se sustituyen independientemente por -Cy-, -O-, -NH-, -S-, -OC(O)-, -C(O)O-, -C(O)-, -SO-, -SO₂-, -NHSO₂-, -SO₂NH-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, -OC(O)NH-, o -NHC(O)O-, en donde:

30

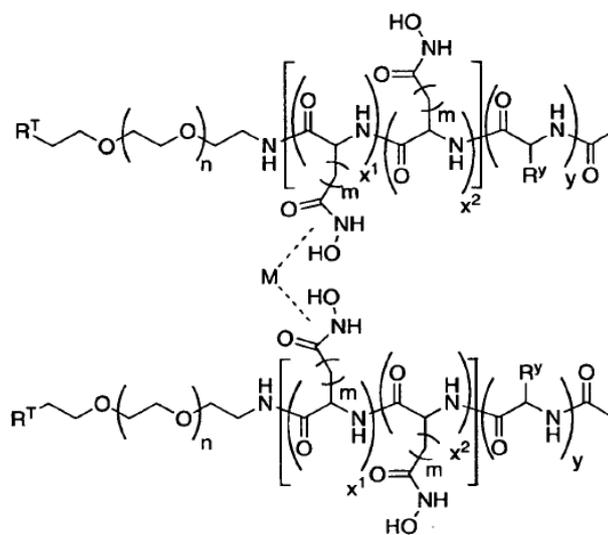
-Cy- es un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 5-8 elementos opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 8-10 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre;

35

En ciertas realizaciones, M es hierro. En otras realizaciones, M es zinc. En otra realización, M es níquel, cobalto, cobre, o platino. En otras realizaciones, M es calcio o aluminio. En aún otras realizaciones, M es estroncio, manganeso, platino, paladio, plata, oro, cadmio, cromo, indio, o plomo.

40

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco que comprende un copolímero tribloque, en donde tal micela tiene un núcleo interno cargado de fármaco, un núcleo externo entrecruzado, y una cubierta hidrofílica, en donde el copolímero tribloque es de la fórmula VII:



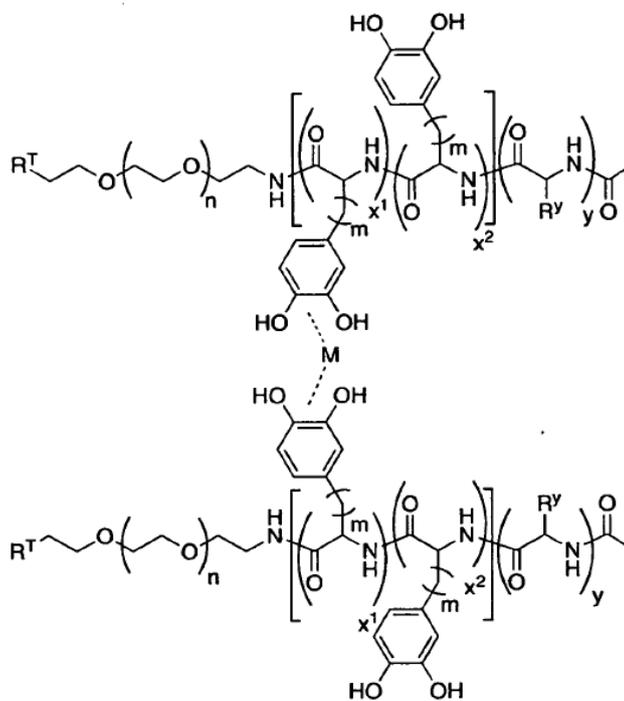
VII

en donde cada uno de Q, J, T, M, m, y, n, R^y y R^T es como se define anteriormente y como se describe en las clases y subclases en el presente documento, tanto individualmente como en combinación;

5 x¹ es 1-20; y

x² es 0-20.

10 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco que comprende un copolímero tribloque, en donde tal micela tiene un núcleo interno cargado de fármaco, un núcleo externo entrecruzado, y una cubierta hidrofílica, en donde el copolímero de tribloque es de la fórmula VIII:

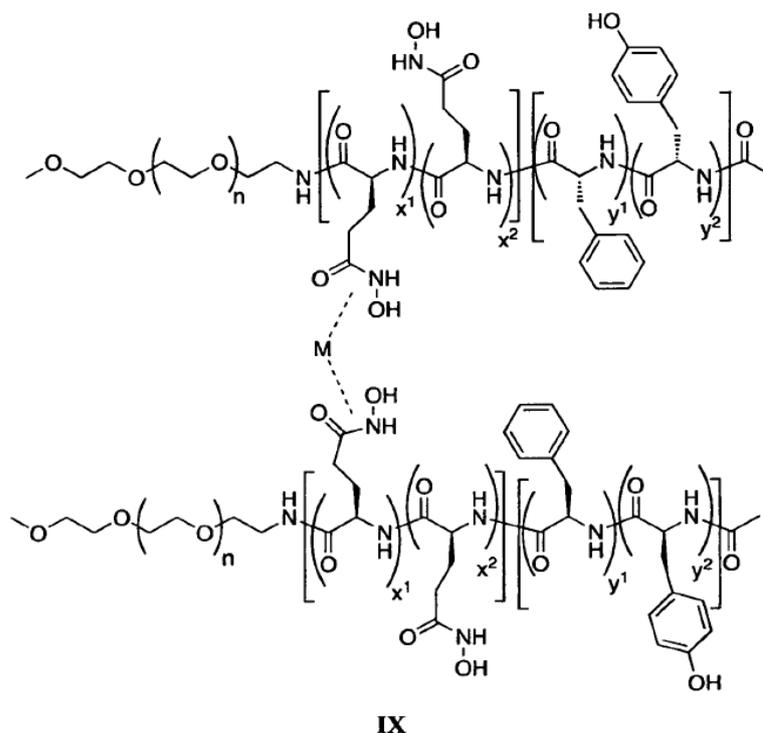


VIII

15 en donde cada uno de Q, J, T, M, m, y, x¹, x², n, R^y y R^T es como se define anteriormente y como se describe en las clases y subclases en el presente documento, tanto individualmente como en combinación.

20 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco que comprende un copolímero tribloque, en donde tal micela tiene un núcleo interno cargado de fármaco, un núcleo externo

entrecruzado, y una cubierta hidrofílica, en donde el copolímero tribloque es de la fórmula IX:



5 en donde cada uno de M, x^1 , x^2 , y n es como se define anteriormente y como se describe en las clases y subclases en el presente documento, tanto individualmente como en combinación;

y^1 es 5-30; y

10 y^2 es 10-40.

Será obvio para un experto en la materia que, la micela entrecruzada, cargada de fármaco de la presente invención está compuesta de decenas a cientos de cadenas poliméricas. Debido a que el hecho de que solamente dos cadenas poliméricas ligadas por un ión de metal están representadas en cualquiera de las fórmulas VI, VII, VIII, o IX, se entenderá que la micela de polímero está compuesta de muchas más cadenas poliméricas que no están representadas por facilidad de presentación.

En otras realizaciones, la presente invención proporciona un sistema que comprende un copolímero tribloque de fórmula I, un agente terapéutico hidrofóbico, y un ión de metal. En otra realización, la presente invención proporciona un sistema que comprende un copolímero tribloque de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV, ya sea individualmente o en combinación, un agente terapéutico hidrofóbico, y un ión de metal. En aún otra realización, la presente invención proporciona un sistema que comprende un copolímero tribloque de fórmula II, un agente terapéutico hidrofóbico, y un ión de metal.

En otras realizaciones, la presente invención proporciona un sistema que comprende un copolímero tribloque de fórmula VI y un agente terapéutico hidrofóbico. En otra realización, la presente invención proporciona un sistema que comprende un copolímero tribloque de cualquiera de las fórmulas VI, VII, VIII, y IX, ya sea individualmente o en combinación, y un agente terapéutico hidrofóbico. En aún otra realización, la presente invención proporciona un sistema que comprende un copolímero tribloque de fórmula VII y un agente terapéutico hidrofóbico. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un sistema que comprende un copolímero tribloque de fórmula XI y un agente terapéutico hidrofóbico.

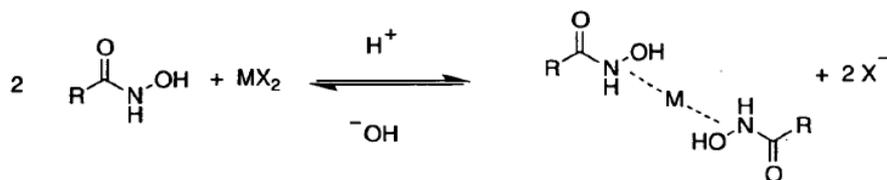
La meta final del entrecruzamiento mediada por el metal es asegurar la estabilidad de la micela cuando se diluya en la sangre (pH 7,4) seguido por disolución rápida y liberación del fármaco en respuesta a un cambio de pH finito tal como aquel encontrado en un ambiente tumoral.

En un aspecto de la invención, una micela cargada de fármaco se entrecruza mediante una fracción de ácido hidroxámico. Los ácidos hidroxámicos como se describe anteriormente quelan ciertos metales como se describe en Rosthauser et. al. *Macromolecules* 1981, 14, 538-543 y en Miller *Chemical Reviews* 1989, 89, 1563-1579

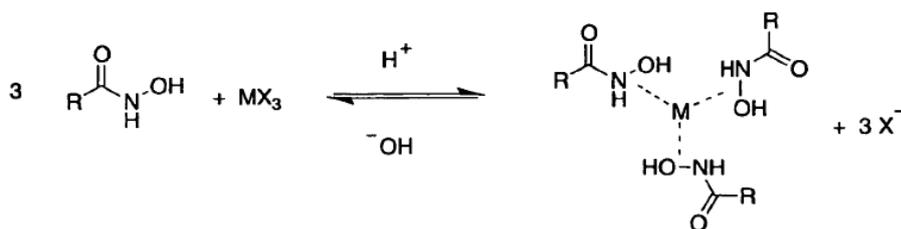
(posteriormente "Miller"). Esta química de quelación de muestra en el Esquema 1.

Esquema 1

5 **Metal divalente**



10 **Metal trivalente**



15 Por consiguiente, la adición de un ión de metal a una micela cargada de fármaco de la presente invención podría producir la quelación de los iones de metal por el ácido hidroxámico, proporcionando una micela cargada de fármaco, entrecruzada. Los iones de metal se seleccionan de, pero no limitado a: hierro, níquel, cobalto, zinc, calcio, cobre, estroncio, platino, paladio, vanadio, manganeso, y titanio.

20 Un experto en la técnica reconocerá que el grupo M de la fórmula VI, VII, o VIII puede ser bien un ión de metal divalente o trivalente. También se reconoce que las estructuras de fórmula VI, VII, o VIII, por claridad, se representan usando un ión de metal divalente. En el caso de un ión de metal trivalente como se describe en el Esquema 1, se entiende que pueden existir tres grupos de ácido hidroxámico o catecol unidos a un ión de metal único.

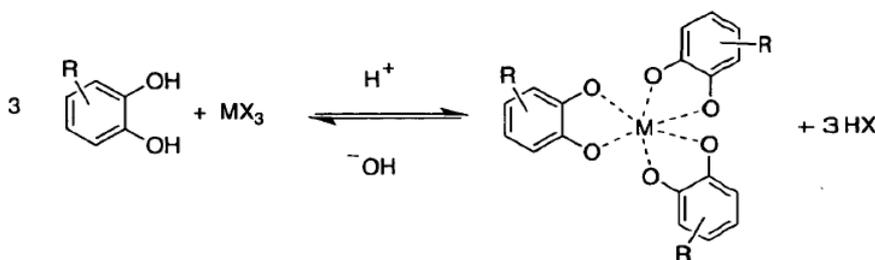
25 En un aspecto de la invención, una micela cargada de fármaco se entrecruza mediante una fracción de catecol. Los catecoles, como se describen anteriormente, forman complejos con iones de metal como se representa en el Esquema 2. La quelación de catecoles con iones de metal también se describe en Miller. Por consiguiente, la adición de un ión de metal a una micela cargada de fármaco de la presente invención produciría la quelación de los iones de metal por el ácido hidroxámico, proporcionando una micela cargada de fármaco, entrecruzada. Los iones de metal se seleccionan de, pero no limitados a: hierro, níquel, cobalto, zinc, calcio, cobre, estroncio, vanadio, manganeso, y titanio.

30 Esquema 2

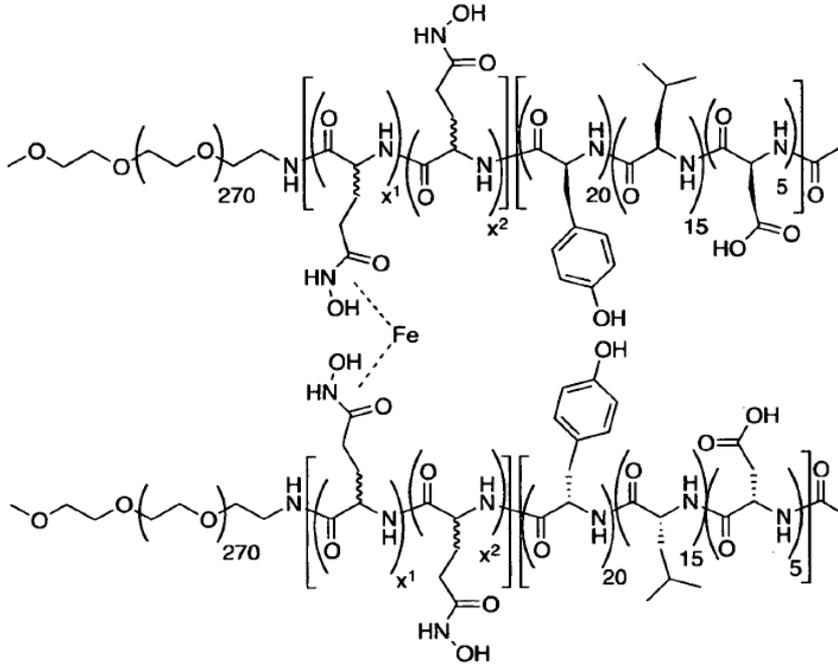
Metal divalente



35 **Metal trivalente**

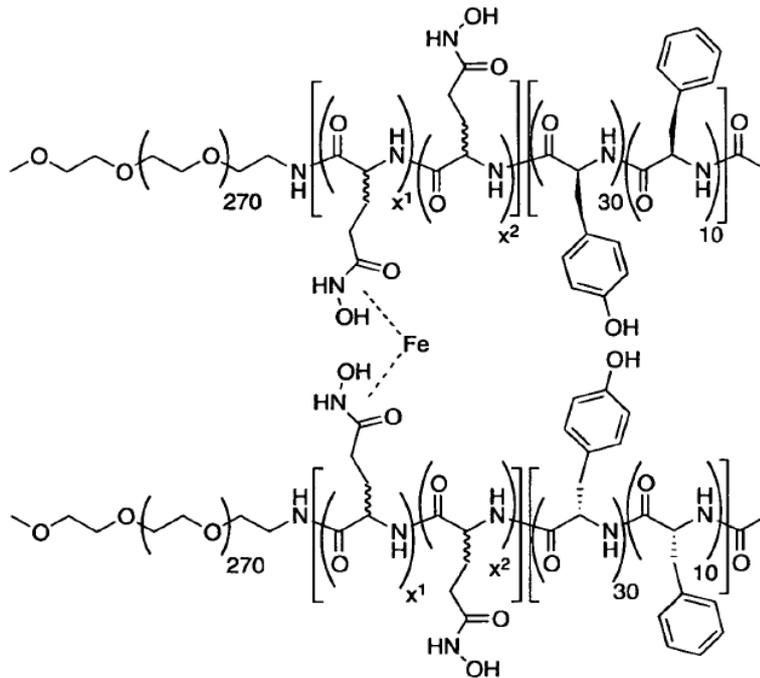


En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el polímero es



5

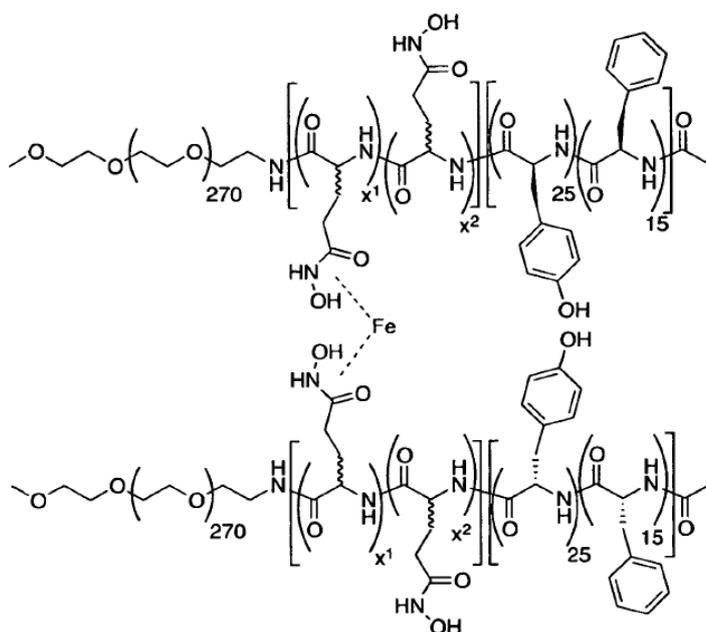
En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el polímero es



10

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el polímero es

15



En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es un taxano.

5 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es paclitaxel.

10 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es docetaxel.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en la presente, en donde el fármaco es cabazitaxel.

15 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es una epotilona.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es Epotilona B o Epotilona D.

20 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es Epotilona A o Epotilona C.

25 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es un alcaloide de la vinca.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es vinorelbina.

30 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es berberina.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es berberrubina.

35 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es una camptotecina.

40 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es SN-38.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es S39625.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es una antraciclina.

5 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es daunorubicina.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es doxorubicina.

10 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es aminopterina.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es picoplatino.

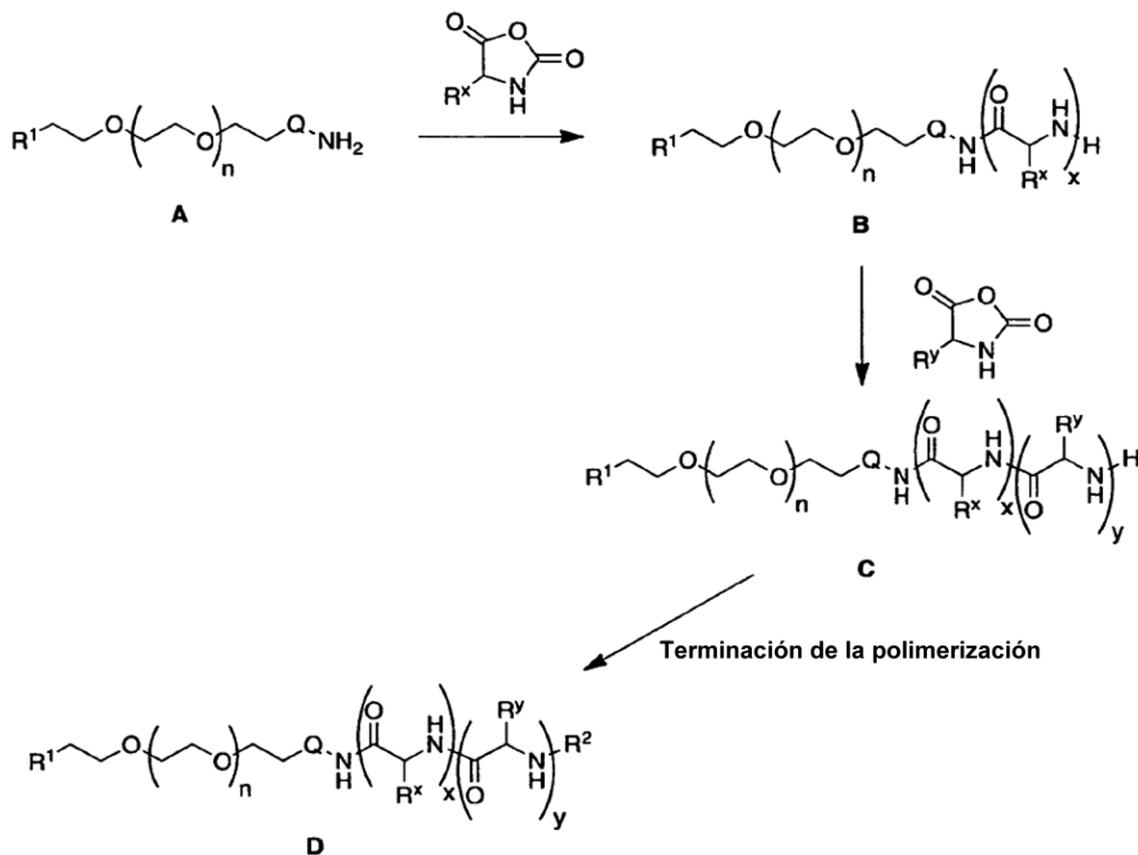
15 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, entrecruzada, como se describe en el presente documento, en donde el fármaco es un terapéutico de platino.

20 **4. Métodos Generales para Proporcionar Compuestos de la Presente Invención**

Los copolímeros multibloque de la presente invención se preparan por métodos conocidos por el experto en la materia. En general, tales copolímeros multibloque se preparan polymerizando secuencialmente uno o más monómeros de aminoácido cíclicos en un polímero hidrofílico que tiene una amina terminal en donde tal polymerización es iniciada por tal amina. En ciertas realizaciones, dicha polymerización ocurre por polymerización de apertura de anillo de los monómeros de aminoácido cíclicos. En otras realizaciones, el monómero de aminoácido cíclico es un aminoácido NCA, lactama o imida.

Esquema 3

30



El Esquema 3 anterior representa un método general para preparar polímeros multibloque de la presente invención. Un macroiniciador de fórmula A es tratado con un primer aminoácido NCA para formar un compuesto de fórmula B que tiene un primer bloque de aminoácido. El segundo aminoácido NCA, se agrega al polímero vivo de la fórmula B para dar un copolímero tribloque de fórmula C que tiene dos diferentes bloques de aminoácidos. Cada uno de los

35

grupos R^1 , R^2 , n, Q, R^x , R^y , x, e y representados en el Esquema 3 son como se definen y describen en las clases y subclases, individualmente y en combinación, en el presente documento.

Una etapa en la preparación de un compuesto de fórmula I comprende terminar el extremo de cadena de polímero vivo del compuesto de fórmula C con un terminador de polimerización para proporcionar un compuesto de fórmula I. Un experto en la materia reconocería que el terminador de polimerización proporciona el grupo R^2 de fórmula I. Por consiguiente, realizaciones dirigidas al grupo R^2 de fórmula I como se exponen anteriormente y en el presente documento, también se dirigen al terminador de polimerización mismo, y de manera similar, las realizaciones dirigidas al terminador de polimerización, como se exponen anteriormente y en el presente documento, también se dirigen al grupo R^2 de la fórmula I.

Como se describe anteriormente, compuestos de fórmula I se preparan a partir de compuestos de fórmula C por tratamiento con un agente de terminación. Un experto en la materia reconocería que compuestos de fórmula I son también fácilmente preparados directamente a partir de compuestos de fórmula C. Un experto en la materia también reconocería que el método anterior para preparar un compuesto de fórmula I se puede realizar como una síntesis de "un crisol" de compuestos de fórmula I que utilizan el extremo de cadena de polímero vivo para incorporar el grupo R^2 de fórmula I. Alternativamente, los compuestos de fórmula I también se pueden preparar en forma de etapas múltiples. Por ejemplo, el extremo de cadena de polímero vivo de un compuesto de fórmula C se puede extinguir para proporcionar un grupo amino que después puede derivarse también, según métodos conocidos, para proporcionar un compuesto de fórmula I.

Un experto en la materia reconocerá que una variedad de agentes de terminación de polimerización son para la presente invención. Tales agentes de terminación de polimerización incluyen cualquier grupo que contiene R^2 capaz de reaccionar con el extremo de cadena de polímero vivo de un compuesto de fórmula C, o el grupo amino de base libre de fórmula C, para proporcionar un compuesto de fórmula I. De este modo, los agentes de terminación de polimerización incluyen anhídridos, y otros agentes acilantes, y grupos que contienen un grupo saliente LG que se somete a desplazamiento nucleofílico.

Alternativamente, los compuestos de fórmula C pueden ser acoplados a grupos que contienen ácido carboxílico para formar una amida del mismo. De este modo, se contempla que el grupo amina de fórmula C se puede acoplar con una fracción de ácido carboxílico para proporcionar compuestos de fórmula I en donde R^2 es $-NHC(O)R^4$. Tales reacciones de acoplamiento son bien conocidas en la técnica. En ciertas realizaciones, el acoplamiento se logra con un reactivo de acoplamiento. Tales reactivos son bien conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, DCC y EDC, entre otros. En otras realizaciones, la fracción de ácido carboxílico se activa para uso en la reacción de acoplamiento. Tal activación incluye formación de un haluro de acilo, uso de un reactivo Mukaiyama, y similares. Estos métodos, y otros, los conoce el experto en la materia, por ejemplo, véase, "Advanced Organic Chemistry," Jerry March, 5ª Ed., pp. 351-357, John Wiley and Sons, N.Y.

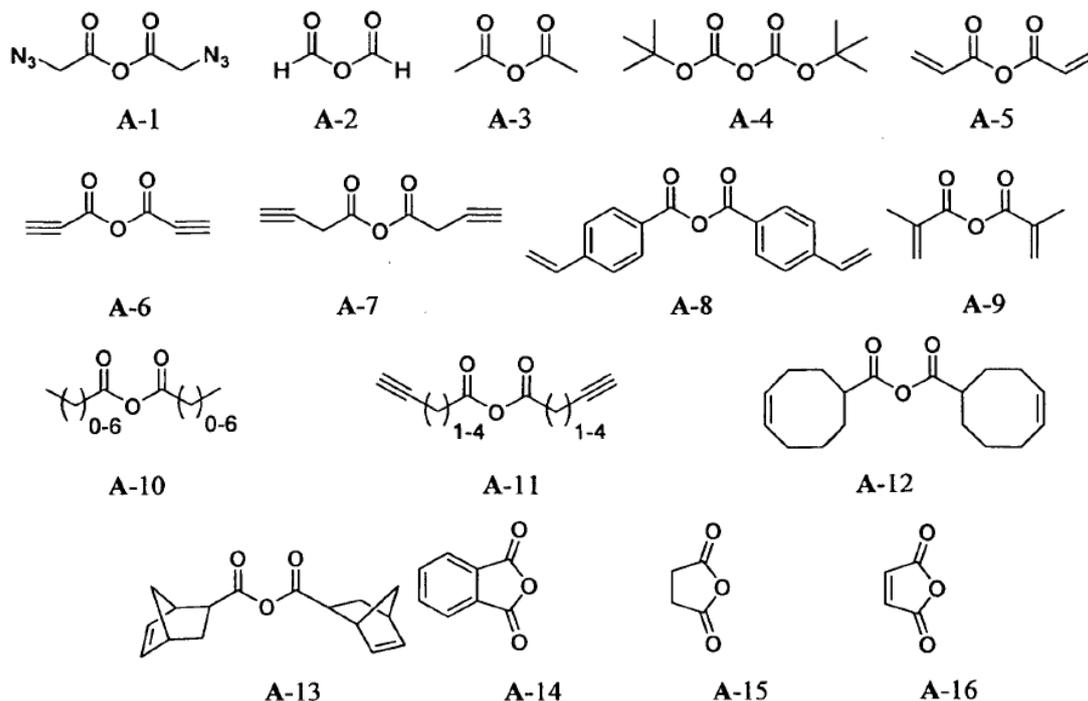
Un "grupo saliente adecuado que se somete a desplazamiento nucleofílico", es un grupo químico que es fácilmente desplazado por una fracción química entrante deseada. Los grupos salientes adecuados son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, véase, March. Tales grupos salientes incluyen, pero no se limitan a, halógeno, alcoxi, sulfoniloxi, alquilsulfoniloxi opcionalmente sustituido, alquenilsulfoniloxi opcionalmente sustituido, arilsulfoniloxi opcionalmente sustituido y fracciones diazonio. Ejemplos de grupos salientes adecuados incluyen cloro, yodo, bromo, fluoro, metansulfoniloxi (mesiloxi), tosiloxi, trifliloxi, nitrofenilsulfoniloxi (nosiloxi), y bromofenilsulfoniloxi (brosiloxi).

Según una realización alternativa, el grupo saliente puede ser generado *in situ* dentro del medio de reacción. Por ejemplo, un grupo saliente se puede generar *in situ* a partir de un precursor de tal compuesto en donde tal precursor contiene un grupo fácilmente sustituido por tal grupo saliente *in situ*.

Alternativamente, cuando el grupo R^2 de fórmula I es una amina mono- o diprotectada, el/los grupo(s) protector(es) se elimina(n) y ese grupo funcional se puede derivar o proteger con un grupo protector diferente. Se apreciará que la eliminación de cualquier grupo protector del grupo R^2 de fórmula I se realiza por métodos para ese grupo protector. Tales métodos se describen en detalle en Green.

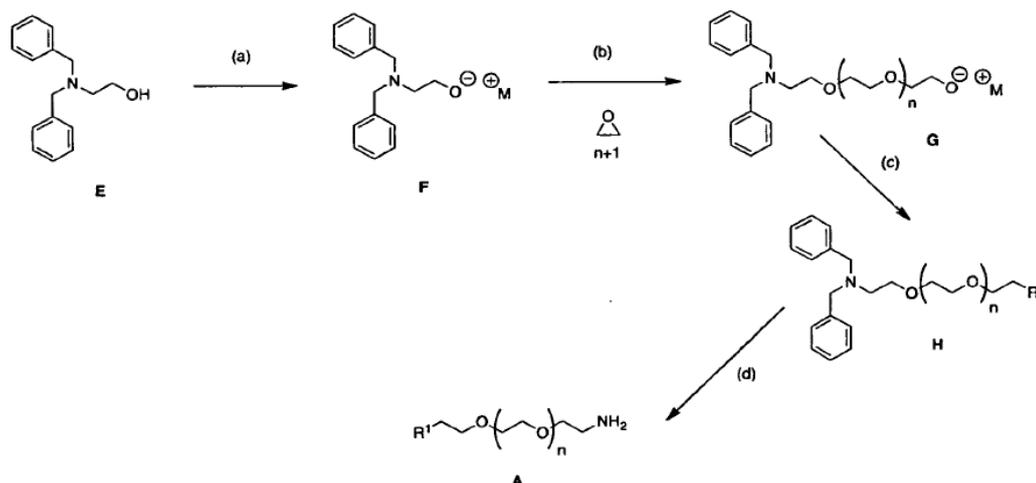
En otras realizaciones, el grupo R^2 de fórmula I es incorporado por derivación del grupo amino de fórmula C mediante acoplamiento anhídrido, opcionalmente en presencia de una base según sea apropiado. Un experto en la materia reconocería que los agentes de terminación de polimerización anhídridos que contienen una azida, un aldehído, un hidroxilo, un alquilo, y otros grupos, o formas protegidas de los mismos, pueden usarse para incorporar tal azida, tal aldehído, tal hidroxilo protegido, tal alquilo, y otros grupos en el grupo R^2 de compuestos de fórmula I. También se apreciará que tales agentes de terminación de polimerización anhídridos son también adecuados para terminar el extremo de la cadena de polímero vivo de un compuesto de fórmula C, o base libre del mismo. Tales agentes de terminación de polimerización anhídridos incluyen, pero no se limitan a, aquellos expuestos en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3. Agentes de Terminación de Polimerización Anhídridos Representativos



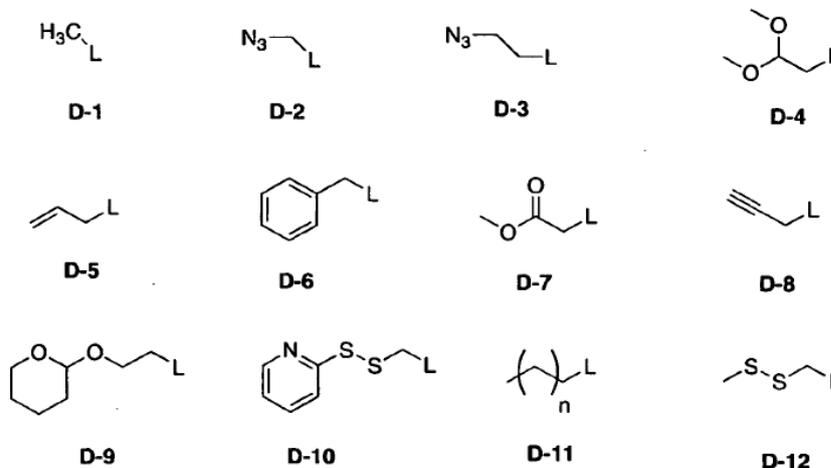
- 5 En ciertas realizaciones, el bloque de polímero hidrofílico es poli(etilenglicol) (PEG) que tiene una amina terminal (“macroiniciador PEG”). Este macroiniciador PEG inicia la polimerización de los NCA para proporcionar los copolímeros multibloque de la presente invención. Tales polímeros sintéticos que tienen un grupo amina terminal se conocen en la técnica e incluyen PEG-aminas. Las PEG-aminas se pueden obtener por la desprotección de una
- 10 PEG-amina adecuadamente protegida. La preparación de tales PEG-aminas adecuadamente protegidas y métodos para desproteger las mismas, se describen en detalle en la Solicitud de Patente Estadounidense serie número 11/256,735, presentada el 24 de octubre de 2005, y publicada como US 20060142506 el 29 de junio de 2006, cuya totalidad está de este modo incorporada en el presente documento por referencia.
- 15 Como se describe en el documento US 20060142506, se pueden formar PEG-aminas adecuadamente protegidas terminando el extremo de cadena de polímero viva de un PEG con un agente de terminación que contiene una amina adecuadamente protegida. Por consiguiente, en otras realizaciones, el agente de terminación tiene un grupo amino adecuadamente protegido en donde el grupo protector es lábil al ácido.
- 20 Alternativamente, se pueden preparar polímeros sintéticos que tienen una amina terminal a partir de polímeros sintéticos que contienen grupos funcionales terminales que pueden ser convertidos a aminas por rutas sintéticas conocidas. En ciertas realizaciones, la conversión de los grupos funcionales terminales a la amina se realiza en una etapa sintética única. En otras realizaciones, la conversión de los grupos funcionales terminales a la amina se logra por medio de una secuencia de etapas múltiples. En aún otra realización, se puede usar un iniciador de amina protegida para polimerizar el óxido de etileno después terminado con un grupo funcional apropiado para formar el grupo R¹ de fórmula I. El iniciador de amina protegida puede entonces desprotegerse para proporcionar la amina libre para polimerización subsecuente. Las transformaciones del grupo funcional que proporcionan aminas o aminas protegidas son bien conocidas en la técnica e incluyen aquellas descritas en Larock, R.C., “Comprehensive Organic
- 25 Transformations,” John Wiley & Sons, Nueva York, 1999.
- 30

Esquema 4



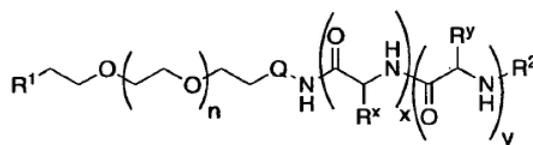
El Esquema 4 anterior muestra un método ejemplar para preparar los PEG bifuncionales usados para preparar los copolímeros multibloque de la presente invención. En la etapa (a), el iniciador de polimerización E se trata con una base para formar F. Una variedad de bases son adecuadas para la reacción en la etapa (a). Tales bases incluyen, pero no se limitan a, naftalénido de potasio, difenilmetilpotasio, trifenilmetil potasio, e hidruro de potasio. En la etapa (b), el anión resultante se trata con óxido de etileno para formar el polímero G. El polímero G se extingue después con un agente de terminación en la etapa (c) para formar el grupo R¹ del polímero H. Los agentes de terminación ejemplares para el polímero G se pueden encontrar en la Tabla 4. El polímero H puede ser transformado en la etapa (d) a un compuesto de fórmula A por desprotección del grupo dibencil amina por hidrogenación.

Tabla 4. Agentes de Terminación PEG Ejemplares



Según otra realización, la presente invención proporciona un método para preparar una micela que comprende un copolímero multibloque que comprende un bloque hidrofílico polimérico, opcionalmente un poli(bloque de aminoácido) entrecruzable o entrecruzado, y un bloque de poli(aminoácido) hidrofóbico, caracterizado porque tal micela tiene un núcleo interno, un núcleo externo opcionalmente entrecruzable o entrecruzado, y una cubierta hidrofílica, tal método comprende las etapas de:

(a) proporcionar un copolímero multibloque de fórmula I:



I

en donde cada uno de los grupos R¹, R², Q, R^x, R^y, n, x, e y de fórmula I, son como se describen en varias clases y

subclases, tanto individualmente como en combinación, en el presente documento,

(b) combinar tal compuesto de fórmula I con un agente terapéutico; y

5 (c) tratar la micela resultante con un reactivo de entrecruzamiento para entrecruzar R^x.

En una realización, los fármacos son cargados en el núcleo interno de la micela agregando una alícuota de una solución de copolímero en agua al fármaco que se va a incorporar. Por ejemplo, se elabora una solución madre del fármaco en un solvente orgánico polar y se deja evaporar, y después se agrega la solución de copolímero/agua. En otra realización, el fármaco es incorporado usando una técnica de emulsión de aceite en agua. En este caso, el fármaco se disuelve en un solvente orgánico y se añade por goteo a la solución de micela en agua, y el fármaco se incorpora en la micela durante la evaporación del solvente. En otra realización, el fármaco se disuelve con el copolímero en un solvente orgánico polar común y se dializa contra agua u otro medio acuoso. Véase Allen, C; Maysinger, D.; Eisenberg A. *Colloid Surface B* 1999, 16, 3-27.

15 5. Usos, Métodos y Composiciones

Como se describe en el presente documento, las micelas de la presente invención pueden encapsular una amplia variedad de agentes terapéuticos útiles para tratar una amplia variedad de enfermedades. En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona una micela cargada de fármaco, como se describe en el presente documento, en donde dicha micela es útil para tratar el trastorno por el que el fármaco es conocido tratar. Según una realización, la presente invención proporciona un método para tratar uno o más trastornos seleccionados de dolor, inflamación, arritmia, artritis (reumatoide o artrosis), aterosclerosis, restenosis, infección bacteriana, infección viral, depresión, diabetes, epilepsia, infección fúngica, gota, hipertensión, malaria, migraña, cáncer u otro trastorno proliferativo, disfunción eréctil, un trastorno del tiroides, trastornos neurológicos y enfermedades relacionadas con hormonas, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, un trastorno gastrointestinal, alergia, un trastorno autoinmunitario, tal como asma o psoriasis, osteoporosis, obesidad y comorbilidades, un trastorno cognitivo, apoplejía, demencia asociada con SIDA, esclerosis lateral amiotrófica (ELA, enfermedad de Lou Gehrig), esclerosis múltiple (EM), esquizofrenia, ansiedad, trastorno bipolar, tauopatía, una lesión del nervio periférico o médula espinal, infarto al miocardio, hipertrofia de cardiomiocitos, glaucoma, un trastorno por déficit de atención (ADD o ADHD), un trastorno del sueño, reperfusión/isquemia, un trastorno angiogénico, o incontinencia urinaria, que comprende administrar a un paciente una micela que comprende un copolímero multibloque que comprende un bloque hidrofílico polimérico, opcionalmente un poli(bloque de aminoácido) entrecruzable o entrecruzado, y un poli(bloque de aminoácido) D,L-mezclado, hidrofóbico, caracterizado porque tal micela tiene un núcleo interno cargado de fármaco, opcionalmente un núcleo externo entrecruzable o entrecruzado, y una cubierta hidrofílica, en donde tal micela encapsula un agente terapéutico adecuado para tratar dicho trastorno.

En otras realizaciones, la presente invención proporciona un método para tratar uno o más trastornos seleccionados de enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad inflamatoria, un trastorno metabólico, un trastorno psiquiátrico, diabetes, un trastorno angiogénico, tauopatía, un trastorno neurológico o neurodegenerativo, una lesión de la médula espinal, glaucoma, calvicie, o una enfermedad cardiovascular, que comprende administrar a un paciente un copolímero multibloque el cual comprende un bloque hidrofílico polimérico, opcionalmente un poli(bloque de aminoácido) entrecruzable o entrecruzado, y un poli(bloque de aminoácido) D,L-mezclado, hidrofóbico, caracterizado porque tal micela tiene un núcleo interno cargado de fármaco, opcionalmente un núcleo externo entrecruzable o entrecruzado, y una cubierta hidrofílica, en donde tal micela encapsula un agente terapéutico adecuado para tratar dicho trastorno.

En ciertas realizaciones, micelas cargadas de fármaco de la presente invención son útiles para tratar cáncer. Por consiguiente, otro aspecto de la presente invención proporciona un método para tratar cáncer en un paciente que comprende administrar a un paciente un copolímero multibloque el cual comprende un bloque hidrofílico polimérico, opcionalmente un poli(bloque de aminoácido) entrecruzable o entrecruzado, y un poli(bloque de aminoácido) D,L-mezclado, hidrofóbico, caracterizado porque tal micela tiene un núcleo interno cargado de fármaco, opcionalmente un núcleo externo entrecruzable o entrecruzado, y una cubierta hidrofílica, en donde tal micela encapsula un agente quimioterapéutico. Según otra realización, la presente invención se refiere a un método para tratar un cáncer seleccionado de mama, ovario, cuello uterino, próstata, testículos, aparato genitourinario, esófago, laringe, glioblastoma, neuroblastoma, estómago, piel, queratocantoma, pulmón, carcinoma pidermoide, carcinoma de células grandes, carcinoma microcítico, adenocarcinoma de pulmón, hueso, colon, adenoma, páncreas, adenocarcinoma, tiroides, carcinoma folicular, carcinoma no diferenciado, carcinoma papilar, seminoma, melanoma, sarcoma, carcinoma de vejiga, carcinoma de hígado, y conductos biliares, carcinoma de riñón, trastornos mieloides, trastornos linfoides, Hodgkin, células pilosas, cavidad bucal y faringe (oral), labios, lengua, boca, faringe, intestino delgado, colon-recto, intestino grueso, recto, sistema nervioso central y cerebral, y leucemia, que comprende administrar una micela según la presente invención en donde dicha micela encapsula un agente quimioterapéutico adecuado para tratar dicho cáncer.

65 La glicoproteína P (Pgp, también llamada proteína de resistencia a fármaco múltiple) se encuentra en la membrana plasmática de eucariotas superiores donde es responsable de la exportación accionada por hidrólisis de ATP de

moléculas hidrofóbicas. En animales, la Pgp desempeña un papel importante en la excreción de, y protección de toxinas ambientales, cuando se expresa en la membrana plasmática de células de cáncer, puede conducir a fallo de quimioterapia previniendo que los fármacos quimioterapéuticos hidrofóbicos alcancen sus objetivos dentro de las células. Sin embargo, se sabe que la Pgp transporta fármacos quimioterapéuticos fuera de las células tumorales.

5 Según un aspecto, la presente invención proporciona un método para suministrar un fármaco quimioterapéutico hidrofóbico a una célula de cáncer mientras previene, o disminuye, la excreción por Pgp de tal fármaco quimioterapéutico, que comprende administrar una micela cargada de fármaco que comprende un polímero multibloque de la presente invención cargada con un fármaco quimioterapéutico hidrofóbico. Tales fármacos quimioterapéuticos hidrofóbicos son bien conocidos en la técnica e incluyen aquellos descritos en el presente documento.

Composiciones

15 Según otra realización, la invención proporciona una composición que comprende una micela de esta invención o un derivado farmacéuticamente aceptable de la misma y un portador, adyuvante, o vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, la composición de esta invención es formulada para la administración a un paciente en necesidad de tal composición. En otras realizaciones, la composición de esta invención es formulada para la administración oral a un paciente.

20 El término "paciente", como se usa en el presente documento, significa un animal, preferiblemente un mamífero, y más preferiblemente un ser humano.

El término "portador, adyuvante, o vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un portador, adyuvante, o vehículo no tóxico que no destruye la actividad farmacológica del compuesto con que se formula. Portadores, adyuvantes o vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser usados en las composiciones de esta invención incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas del suero, tales como seroalbúmina humana, sustancias amortiguadoras tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrógenofosfato disódico, hidrógenofosfato potásico, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliacrilatos, ceras, polímeros en bloque de polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y lanolina.

35 Sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención incluyen aquellas derivadas de ácidos orgánicos e inorgánicos farmacéuticamente aceptables y bases. Ejemplos de sales de ácido incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencensulfonato, bisulfato, butirato, citrato, camforato, camforsulfonato, ciclopentanpropionato, digluconato, dodecilsulfato, etansulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Otros ácidos, tales como oxálico, mientras no son ellos mismos farmacéuticamente aceptables, pueden ser empleados en la preparación de sales útiles como intermediarios en la obtención de los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

45 Sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metal alcalino (por ejemplo, sodio y potasio), metal alcalinotérreo (por ejemplo, magnesio), amonio y $N+(alquilo\ C_{1-4})_4$. Esta invención también contempla la cuaternización de cualquiera de los grupos que contienen nitrógeno básico de los compuestos descritos en la presente. Se pueden obtener productos dispersables o solubles en aceite o agua por tal cuaternización.

50 Las composiciones de la presente invención pueden ser administradas por vía oral, parenteral, por atomización por inhalación, por vía tópica, rectal, nasal, yagal, vaginal, o mediante un depósito implantado. El término "parenteral" como se usa en el presente documento incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. Preferiblemente, las composiciones son administradas por vía oral, intraperitoneal o intravenosa. Las formas inyectables estériles de las composiciones de esta invención pueden ser suspensiones acuosas u oleaginosas. Estas suspensiones pueden ser formuladas según las técnicas conocidas en la materia usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una solución en 1,3-butandiol. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden ser empleados están agua, solución de Ringer, y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites no volátiles estériles, son convencionalmente empleados como un medio solvente o de suspensión.

65 Para este propósito, cualquier aceite no volátil blando puede ser empleado incluyendo mono- o diglicéridos. Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados glicéridos son útiles en la preparación de inyectables, ya que son aceites farmacéuticamente aceptables naturales, tales como aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxiethyladas. Estas soluciones o suspensiones oleaginosas también pueden contener un diluyente

o dispersante de alcohol de cadena larga, tal como carboximetilcelulosa o agentes dispersantes similares que se usan comúnmente en la formulación de formas posológicas farmacéuticamente aceptables que incluyen emulsiones y suspensiones. Otros tensioactivos comúnmente usados, tales como Tweens, Spans y otros agentes emulsionantes o potenciadores de la biodisponibilidad que se usan comúnmente en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas, líquidas u otras farmacéuticamente aceptables, también pueden ser usados para los fines de la formulación.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención se pueden administrar por vía oral en cualquier forma farmacéutica oralmente aceptable, que incluyen, pero no se limitan a, cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones acuosas. En el caso de comprimidos para uso oral, los portadores comúnmente usados incluyen lactosa y almidón de maíz. Los agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, también son típicamente agregados. Para la administración oral en una forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se requieren suspensiones acuosas para uso oral, el ingrediente activo es combinado con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, ciertos agentes edulcorantes, saborizantes, o colorantes también pueden ser agregados. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención están entéricamente recubiertas.

Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención pueden ser administradas en la forma de supositorios para la administración rectal. Estos se pueden preparar mezclando el agente con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperatura ambiente pero líquido a temperatura rectal y por lo tanto se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen manteca de cacao, cera de abeja y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención también pueden ser administradas por vía tópica, especialmente cuando el objetivo del tratamiento incluye áreas u órganos fácilmente accesibles por aplicación tópica, que incluyen, enfermedades del ojo, la piel, o el aparato intestinal inferior. Las formulaciones tópicas adecuadas son fácilmente preparadas para cada una de estas áreas u órganos.

La aplicación tópica para el aparato intestinal inferior puede ser efectuada en una formulación de supositorio rectal (véase anteriormente) o en una formulación de enema. Los parches tópicamente transdérmicos también pueden ser usados.

Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticamente aceptables pueden ser formuladas en una pomada que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más portadores. Los portadores para administración tópica de los compuestos de esta invención incluyen, pero no se limitan a, aceite de vaselina, vaselina líquida, vaselina filante, propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. Alternativamente, las composiciones farmacéuticamente aceptables pueden ser formuladas en una loción o crema que contiene los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, aceite de vaselina, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, ceras de cetilésteres, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico, y agua.

Para uso oftálmico, las composiciones farmacéuticamente aceptables pueden ser formuladas como suspensiones micronizadas en solución salina estéril de pH ajustado, isotónicas, o, preferiblemente, como soluciones en solución salina estéril de pH ajustado, isotónica, ya sea con o sin un conservante tal como cloruro de bencilalconio. Alternativamente, para usos oftálmicos, las composiciones farmacéuticamente aceptables pueden ser formuladas en una pomada tal como vaselina.

Las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención también pueden ser administradas por aerosol nasal o inhalación. Tales composiciones son preparadas según métodos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica y pueden ser preparadas como soluciones en solución salina, empleando alcohol bencílico u otros conservantes, promotores de absorción para mejorar la biodisponibilidad, fluorocarbonos, y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes convencionales.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticamente aceptables de esta invención son formuladas para administración oral.

La cantidad de los compuestos de la presente invención que puede ser combinada con los materiales portadores para producir una composición en una forma farmacéutica individual variará dependiendo del huésped tratado, el modo particular de administración. Preferiblemente, las composiciones deben ser formuladas de manera que una dosis de entre 0,01 - 100 mg/kg de peso corporal/día del fármaco, puede ser administrada a un paciente que recibe estas composiciones.

Se apreciará que las dosis típicamente empleadas para el fármaco encapsulado están contempladas por la presente invención. En ciertas realizaciones, a un paciente se le administra una micela cargada de fármaco de la presente invención en donde la dosis del fármaco es equivalente a la que típicamente se administra para tal fármaco. En otras realizaciones, a un paciente se le administra una micela cargada de fármaco de la presente invención en donde la dosis del fármaco es inferior que la que típicamente se administra para tal fármaco.

Se debe entender también que una pauta de tratamiento y dosis específica para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, y el juicio del especialista que atiende y la gravedad de la enfermedad particular que se trata. La cantidad de un compuesto de la presente invención en la composición también dependerá del compuesto particular en la composición.

Con el fin de que la invención descrita pueda ser más completamente entendida, se exponen los siguientes ejemplos. Se entenderá que estos ejemplos son para propósitos ilustrativos solamente y no se deben interpretar como limitantes de esta invención en cualquier manera.

Ejemplificación

Como se describe en general anteriormente, los copolímeros multibloque de la presente invención son preparados usando los PEG heterobifuncionales descritos en el presente documento y en la solicitud de patente Estadounidense con número de serie 11/256,735, presentada el 24 de octubre de 2005, publicada como WO2006/047419 el 4 de mayo de 2006, y publicada como US 20060142506 el 29 de junio de 2006, cuya totalidad está de este modo incorporada en el presente documento por referencia. La preparación de polímeros multibloque según la presente invención se realiza por métodos conocidos en la técnica, que incluyen aquellos descritos en detalle en la solicitud de patente Estadounidense con número de serie 11/325,020, presentada el 4 de enero de 2006, publicada como WO2006/74202 el 13 de julio de 2006 y publicada como US 20060172914 el 3 de agosto de 2006, cuya totalidad está de este modo incorporada en el presente documento por referencia.

En cada uno de los Ejemplos siguientes, donde un aminoácido, o NCA correspondiente es designado "D", entonces tal aminoácido, o NCA correspondiente, es de la configuración D. Donde no se menciona tal designación, entonces tal aminoácido, o NCA correspondiente, es de la configuración L.

Métodos Generales:

Análisis de Tamaño de Partícula. Se usó dispersión de luz dinámica con un lector de placa Wyatt Dynapro para determinar los tamaños de partículas de las formulaciones entrecruzadas y no entrecruzadas. Las soluciones de las formulaciones se hicieron a 1 mg/ml en NaCl 150 mM. Las muestras se centrifugaron a 2000 RPM durante 5 minutos, y después se agregaron 300 μ l, cada uno a una cavidad de una placa de 96 cavidades por triplicado para análisis. Se usaron 10 adquisiciones por cavidad con tiempos de adquisición de 30 segundos y la auto-atenuación láser para recolectar los datos.

Diálisis de Verificación de Encapsulación. La formulación no entrecruzada se disolvió en 3,5 ml de tampón fosfato 10 mM pH 8 a 20 mg/ml, y a 0,2 mg/ml. 3 ml de las muestras se agregaron a bolsas de diálisis de valor de corte de peso molecular 3500, y los restantes 0,5 ml se agregaron a viales de HPLC para las muestras de prediálisis. Las bolsas de diálisis se colocaron en 300 ml de PB 10 mM pH 8 y se agitaron durante 6 horas. Se tomaron alícuotas después del interior de las bolsas de diálisis y se usó análisis de HPLC para determinar las áreas pico del fármaco de las muestras de prediálisis y posdiálisis. Las áreas se usaron después para calcular el % de fármaco restante tras la diálisis.

Análisis y Entrecruzamiento Dependiente de Hierro. La formulación no entrecruzada se reconstituyó en agua a 20 mg/ml con 0,1, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2,5, 5, 7,5 o 10 mM de cloruro de hierro (III) y se dejó agitar durante la noche a temperatura ambiente. Las muestras entonces se diluyeron a 0,2 mg/ml en tampón fosfato 10 mM pH 8, con un volumen final de 5 ml. Alícuotas de 1,5 ml se tomaron como muestras de prediálisis para análisis de HPLC, después 3 ml de cada muestra se agregaron a una bolsa de diálisis de valor de corte 3500 MWC y se dializaron contra tampón fosfato 10 mM pH 8 durante 6 horas. Después de 6 horas las muestras se sacaron del interior de las bolsas de diálisis y se analizaron por HPLC. El área del pico posdiálisis para cada muestra se dividió por las áreas de pico de prediálisis y se multiplicó por 100 para convertirlas al porcentaje restante.

Análisis y Entrecruzamiento Dependiente del Tiempo. La formulación no entrecruzada se reconstituyó en agua a 20 mg/ml, y 50 μ l se diluyeron en 4,95 ml para la muestra no entrecruzada. Una solución base de cloruro de hierro (III) 500 mM se agregó después a la solución no entrecruzada para una concentración final de cloruro de hierro (III) 10 mM. Esta se usó como la solución base entrecruzada, donde se tomaron 50 alícuotas a 5 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas y 16 horas y se diluyeron a 0,2 mg/ml en tampón fosfato 10 mM pH 8, con un volumen final de 5 ml. Alícuotas de 1,5 ml se tomaron como muestras de prediálisis para análisis de HPLC, después 3 ml de cada muestra se agregaron a una bolsa de diálisis de valor de corte 3500 MWC y se dializaron contra tampón fosfato 10 mM pH 8 durante 6 horas. Después de 6 horas, las muestras se sacaron del interior de las bolsas de diálisis y se analizaron por HPLC. El área del pico de posdiálisis para cada muestra se dividió por las áreas del pico de prediálisis y se multiplicó por 100 para convertirlas al porcentaje restante.

- 5 **Análisis y Entrecruzamiento Dependiente del pH.** La formulación no entrecruzada se reconstituyó en agua a 20 mg/ml con cloruro de hierro (III) 10 mM a pH 3, 4, 5, 6, 7, 7,4 y 8. Las muestras se dejaron incubar durante 10 minutos después de la reconstitución y ajuste de pH, y después se diluyeron a 0,2 mg/ml en tampón fosfato 10 mM pH 8, con un volumen final de 5 ml. Alícuotas de 1,5 ml se tomaron como muestras de prediálisis para análisis de HPLC, después 3 ml de cada muestra se agregaron a una bolsa de diálisis de valor de corte 3500 MWC y se dializaron contra tampón fosfato 10 mM pH 8 durante 6 horas. Después de 6 horas las muestras se sacaron del interior de las bolsas de diálisis y se analizaron por HPLC. El área del pico posdiálisis para cada muestra se dividió por las áreas de pico de prediálisis y se multiplicó por 100 para convertirlas al porcentaje restante.
- 10 **Liberación Dependiente del pH de Formulaciones Entrecruzadas.** La formulación no entrecruzada se reconstituyó en agua a 20 mg/ml con cloruro de hierro (III) 10 mM, pH ajustado a 8,0 con NaOH y se dejó agitar durante la noche a temperatura ambiente. Al siguiente día la muestra se diluyó a 0,2 mg/ml en tampón fosfato 10 mM a pH 3, 4, 5, 6, 7, 7,4 y 8, con un volumen final de 5 ml por muestra. Alícuotas de 1,5 ml se tomaron como muestras de prediálisis para análisis de HPLC, después 3 ml de cada muestra se agregaron a una bolsa de diálisis de valor de corte 3500 MWC y se dializaron contra tampón fosfato 10 mM pH 8 durante 6 horas. Después de 6 horas las muestras se sacaron del interior de las bolsas de diálisis y se analizaron por HPLC. El área del pico de posdiálisis para cada muestra se dividió por las áreas de pico de prediálisis y se multiplicó por 100 para convertirlas al porcentaje restante.
- 15 **Liberación Dependiente del pH de Formulaciones No Entrecruzadas.** La formulación no entrecruzada se reconstituyó en agua a 20 mg/ml, el pH se ajustó a 8,0 con NaOH y se dejó agitar durante la noche a temperatura ambiente. Al siguiente día la muestra se diluyó a 0,2 mg/ml en tampón fosfato 10 mM a pH 3, 4, 5, 6, 7, 7,4 y 8, con un volumen final de 5 ml por muestra. Alícuotas de 1,5 ml se tomaron como muestras de prediálisis para análisis de HPLC, después 3 ml de cada muestra se agregaron a una bolsa de diálisis de valor de corte 3500 MWC y se dializaron contra tampón fosfato 10 mM pH 8 durante 6 horas. Después de 6 horas las muestras se sacaron del interior de las bolsas de diálisis y se analizaron por HPLC. El área del pico posdiálisis para cada muestra se dividió por las áreas de pico de prediálisis y se multiplicó por 100 para convertirlas al porcentaje restante.
- 20 **Liberación Dependiente de Sal de Formulaciones Entrecruzadas.** La formulación no entrecruzada se reconstituyó en agua a 20 mg/ml con cloruro de hierro (III) 10 mM, el pH se ajustó a 8,0 con NaOH y se dejó agitar durante 10 minutos. La muestra entonces se diluyó a 0,2 mg/ml en tampón fosfato 10 mM pH 8 con concentración crecientes de NaCl de 0 a 10, 50, 100, 200, 300, 400 y 500 mM con un volumen final de 5 ml por muestra. Alícuotas de 1,5 ml se tomaron como muestras de prediálisis para análisis de HPLC, después 3 ml de cada muestra se agregaron a una bolsa de diálisis de valor de corte 3500 MWC y se dializaron contra tampón fosfato 10 mM pH 8 con la concentración de sal correspondiente durante 6 horas. Después de 6 horas las muestras se secaron del interior de las bolsas de diálisis y se analizaron por HPLC. El área del pico posdiálisis para cada muestra se dividió por las áreas de pico de prediálisis y se multiplicó por 100 para convertirlas al porcentaje restante.
- 25 **Citotoxicidad *in vitro* de Formulaciones de Aminopterina.** Células originalmente adquiridas de la ATCC (A549, Panc-1, OVCAR3, y BXP-3) se sembraron en placas de cultivo de tejido de 96 cavidades para ser 50% confluentes a las 24 horas. Las células se incubaron a 37°C con CO₂ al 5,0%. Las células se trataron con dosis crecientes de aminopterina libre, formulación de aminopterina entrecruzada, formulación de aminopterina no entrecruzada, y formulaciones de micela no cargadas de fármaco 24 horas después del sembrado de la placa. La aminopterina libre se disolvió en DMSO y se administró a las células con un volumen total de DMSO igual a o menor del 0,0025 %. Las formulaciones de micelas se resuspendieron en agua de grado biológico. Las diluciones se hicieron en placas de cavidad profunda con medio celular y agua o DMSO (para aminopterina libre solamente) igualando el volumen desplazado. El medio de incubación se aspiró de las placas de 96 cavidades y 100 µl de cada dilución se agregaron a las cavidades por triplicado e incubaron durante 72 horas a 37°C con CO₂ al 5,0%. Las formulaciones de micela no cargadas de fármaco entrecruzadas y no entrecruzadas se administraron a las cuatro dosis más altas y se calcularon a concentraciones comparativas en mg/ml a concentraciones de micelas cargadas de fármaco del vehículo de suministro. Después de 72 horas de incubación, las placas se dejaron enfriar a temperatura ambiente y 25 µl del titulador celular-glo se agregaron a cada cavidad. Las placas se sacudieron brevemente para mezclar y se leyeron las lecturas de luminiscencia en un lector de placa. Se hace la media de las lecturas de luminiscencia para dosis triplicadas y se dividen por las lecturas de luminiscencia medias de células no tratadas en la misma placa para calcular el % de células viables por dosis.
- 30 **Método A de Formulación.** El polímero se disolvió en agua a una concentración de 5 mg/ml con agitación y calentamiento a 40°C durante aproximadamente 30 minutos. Después se agregó sacarosa a la solución de polímero a 5 mg/ml y se agitó a temperatura ambiente hasta que fue homogénea. La solución se dejó enfriar después a temperatura ambiente mientras se agita. El principio activo (API) se disolvió en solvente orgánico justo por debajo del límite de solubilidad. La API/solución orgánica entonces se agregó a la solución de polímero/sacarosa mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante aproximadamente 30 segundos, o hasta que se produjo una emulsión homogénea. La solución entonces se procesó con un paso único a través de un microfluidizador con una presión de operación de aproximadamente 23.000 PSI con la corriente de salida enfriada por un baño de agua fría. La solución se pasó entonces a través de un filtro en línea de 0,22 micrómetros, y después se procesó por ultrafiltración usando filtración de flujo tangencial hasta que se intercambió un total de 4 veces el volumen original del tampón de sacarosa
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

y la concentración final del polímero en solución fue aproximadamente 20 mg/ml. Cloruro de hierro (III) se agregó entonces a la formulación para una concentración final de 10 mM. El pH de la solución se ajustó después a 6,0 con NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se agregó después un volumen de tampón que contiene un agente crioconservante a 20 mg/ml a la solución, y después se concentró nuevamente hasta aproximadamente 20 mg/ml de concentración de polímero. La solución entonces se congeló a - 40°C y se liofilizó.

Método B de Formulación. El polímero se disolvió en agua a una concentración de 2 mg/ml con agitación y calentamiento a 40°C durante aproximadamente 30 minutos. La solución entonces se dejó enfriar a temperatura ambiente mientras se agita. El principio activo (API) se disolvió en solvente orgánico justo por debajo del límite de solubilidad. La API/solución orgánica entonces se agregó a la solución de polímero/sacarosa mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante aproximadamente 30 segundos, o hasta que se produjo una emulsión homogénea. La solución entonces se agitó durante la noche en una campana extractora para permitir que la solución orgánica se evaporase. Al día siguiente la solución entonces se pasó a través de un filtro en línea de 0,22 micras, y después se procesó por ultrafiltración usando filtración de flujo tangencial para concentrar la muestra de 2 mg/ml hasta aproximadamente 20 mg/ml. Se agregó después cloruro de hierro (III) a la formulación para una concentración final de 10 mM. El pH de la solución entonces se ajustó a 6,0 con NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución entonces se congeló a - 40°C y se liofilizó.

Análisis de Carga de Peso de la Formulación SN-38. La carga de peso se determinó comparando una curva estándar de SN38 a una concentración conocida de formulación por análisis de HPLC. Se disolvió SN38 en metanol en un intervalo desde 30 µg/ml hasta 150 µg/ml, y la formulación se disolvió a 5 mg/ml en metanol. La cantidad de SN-38 en la formulación se convierte después al % en base a la cantidad conocida de la formulación usada (es decir, 5 mg/ml).

Análisis de Carga de Peso de la Formulación de Daunorubicina. La carga de peso se determinó comparando una curva estándar de daunorubicina a una concentración conocida de formulación por análisis de HPLC. La daunorubicina se disolvió en metanol en un intervalo desde 40 µg/ml a 200 µg/ml, y la formulación se disolvió a 2 mg/ml en metanol. La cantidad de daunorubicina en la formulación desconvierte después al % en base a la cantidad conocida de formulación usada (es decir, 2 mg/ml).

Análisis de Carga de Peso de la Formulación de Aminopterina. La carga de peso se determinó comparando una curva estándar de aminopterina a una concentración conocida de formulación por el análisis de HPLC. La aminopterina se disolvió en la fase móvil de HPLC (acetónitrilo al 60%, tampón fosfato 10 mM pH 8 al 40 %) en un intervalo desde 40 µg/ml hasta 200 µg/ml, y la formulación se disolvió a 5 mg/ml en la fase móvil de HPLC. La cantidad de aminopterina en la formulación se convierte después al % en base a la cantidad conocida de formulación usada (es decir, 5 mg/ml).

Análisis de Carga de Peso de la Formulación de Berberina. La carga de peso se determinó comparando una curva estándar de berberina a una concentración conocida de formulación por análisis de HPLC. La berberina se disolvió en metanol en un intervalo desde de 40 µg/ml a 200 µg/ml, y la formulación se disolvió a 5 mg/ml en metanol. La cantidad de berberina en la formulación se convirtió después al % en base a la cantidad conocida de la formulación usada (es decir, 5 mg/ml).

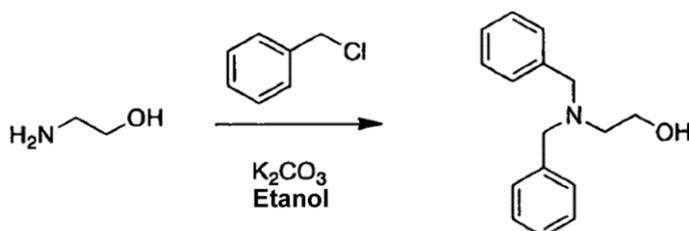
Análisis de Carga de Peso de la Formulación de Cabazitaxel. La carga de peso se determinó comparando una curva estándar de cabazitaxel a una concentración conocida de formulación por análisis de HPLC. El cabazitaxel se disolvió en metanol en un intervalo desde 40 µg/ml a 200 µg/ml, y la formulación se disolvió a 10 mg/ml en metanol. La cantidad de cabazitaxel en la formulación se convirtió después al % en base a la cantidad conocida de la formulación usada (es decir, 10 mg/ml).

Análisis de Carga de Peso de la Formulación de Epotilona D. La carga de peso se determinó comparando una curva estándar de epotilona D a una concentración conocida de formulación por análisis de HPLC. La Epotilona D se disolvió en metanol en un intervalo desde 40 µg/ml a 200 µg/ml, y la formulación se disolvió a 10 mg/ml en metanol. La cantidad de Epotilona D en la formulación se convirtió después al % en base a la cantidad conocida de la formulación usada (es decir, 10 mg/ml).

Experimentos Generales de Farmacocinética en Rata. Se adquirieron ratas Sprague-Dawley quirúrgicamente modificadas con catéteres en la vena yugular de Harlan Laboratories, Dublin, VA. Las formulaciones se disolvieron en agua con NaCl 150 mM para una concentración final de típicamente API 10 mg por kg de peso corporal del animal por 1 ml de inyección embolada mediante JVC durante aproximadamente 1 minuto, seguido por un lavado a chorro de aproximadamente 250 l de solución salina heparinizada. Los puntos de tiempo para la recogida de sangre después de la administración del artículo de ensayo fueron como sigue: 1, 5, 15 minutos, 1, 4, 8 y 24 horas. Aproximadamente se recolectaron 250 de sangre por punto de tiempo en tubos de recolección de sangre K3-EDTA seguido por un lavado a chorro de aproximadamente 250 µl de solución salina heparinizada. La sangre entonces se centrifugó a 2000 RPM durante 5 minutos para aislar el plasma. El plasma entonces se recolectó y se congeló instantáneamente hasta que se procesó para análisis de HPLC. Las muestras se prepararon para análisis descongelando primero las muestras de plasma a temperatura ambiente. 50 µl de plasma se agregaron a 150 µl de

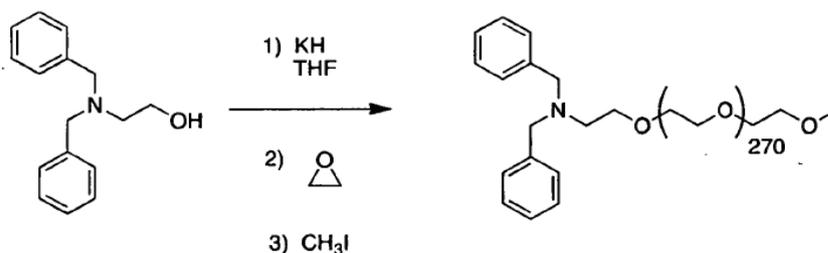
solución de extracción en un tubo eppendorf de 2 ml (ácido fosfórico al 0,1% en metanol, 5 µg/ml de estándar interno). Las muestras entonces se agitaron con vórtex durante 10 minutos y se centrifugaron durante 10 minutos a 13.000 RPM. El sobrenadante entonces se transfirió a viales de HPLC, después se analizó por HPLC. La cuantificación de API se determinó usando una curva estándar de la formulación de API en el plasma de rata comparado con muestras recolectadas de ratas en cada punto de tiempo.

Ejemplo 1



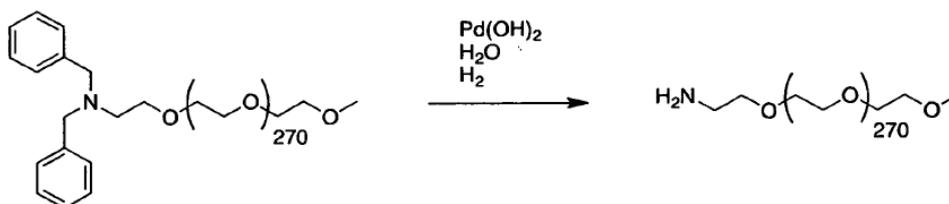
Dibencilamino Etanol. Cloruro de bencilo (278,5g, 2,2 mol), etanol amina (60 ml, 1 mol), carbonato de potasio (283,1 g, 2,05 mol) y etanol (2 L) se mezclaron en un matraz de 3 cuellos de 3 l, equipado con un agitador de cabeza, un condensador y un tapón de vidrio. El aparato se calentó hasta reflujo durante 36 hrs, después de lo cual el sólido insoluble se filtró a través de una frita mediana. El filtrado se recuperó y se eliminó etanol por evaporación rotatoria. El líquido viscoso se disolvió nuevamente en éter, la suspensión sólida se eliminó por filtración y se extrajo dos veces contra agua. La solución de éter se mantuvo y la capa acuosa se extrajo dos veces con diclorometano (2 x 400 ml). Las fracciones se recombinaron, se secaron sobre MgSO₄, se agitaron sobre negro de carbono durante 15 min y se filtraron a través de una almohadilla de celite. Se eliminó el diclorometano y el sólido se disolvió nuevamente en una cantidad mínima de éter (volumen combinado de 300 ml con la primera fracción de éter, 300 ml). Se agregaron hexanos (1700 ml) y la solución se calentó levemente hasta completar la disolución del producto. La solución después se enfrió levemente, se colocó en el refrigerador (+4°C) durante la noche y se obtuvieron cristales blancos. La recristalización se realizó una segunda vez. 166,63g, rendimiento del 69%. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 7,39-7,24 (10H), 4,42 (1H), 3,60 (4H), 3,52 (2H), 2,52 (2H).

Ejemplo 2



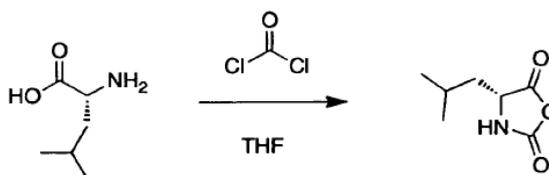
Dibencilamino-PEG-metoxi. Un aparato que consiste de un matraz de polimerización de 3 cuellos enchaquetado de 4 L equipado con una barra agitadora magnética de vidrio y embudo de adición enchaquetado térmicamente aislado se evacuó a 10 mTorr después se rellenoó con argón. El matraz de reacción se cargó con N,N-dibencilaminoetanol (4,28 g, 17,7 mmol) y KH sólido al 50% en cera de parafina (1,70 g, 21,2 mmol) en una corriente suave de gas argón. Se introdujo THF anhidro, aproximadamente 2L, en el matraz de reacción y la mezcla se agitó en argón a temperatura ambiente durante 16 h. La suspensión resultante se enfrió a 10 °C, y el embudo de adición a vacío se enfrió a -30 °C. Se condensó gas de óxido de etileno en el embudo evacuado enfriado hasta que se recogieron 225 ml (4,8 mol) de OE líquido. El óxido de etileno líquido en el embudo de condensación se agregó en una porción en la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó en un matraz cerrado a 10 °C durante 6 horas, después a 20 °C durante 16 horas. La polimerización se completó elevando la temperatura a 30 °C durante 16 horas, después a 40 °C durante 2 días. La mezcla de reacción se enfrió a 25 °C, después se agregó yoduro de metilo (1,6 ml) de una vez y la mezcla se agitó a 25 °C durante 10 horas. El exceso de hidruro de potasio sin reaccionar después se destruyó por adición de etanol (99%, 100 ml). Después de 30 min, la mezcla de reacción extinguida se transfirió en un vaso de precipitado grande y el producto polimérico se precipitó por adición de éter de etilo (8 L). El producto precipitado se recolectó por filtración en un embudo Buchner grande y después se secó al vacío. El rendimiento fue 215,1 g de un sólido blanco. GPC acuoso mostró M_n de 12,0kDa y un PDI de 1,01. ¹H-RMN (d₆-DMSO, 400MHz): 7,344 (m, 8H), 7,225 (m, 4H), 3,681 (m, 8H), 3,507 (m, aprox, 1000H), 3,320 (m, 6H + señal de agua), 3,237 (s, 3H), 2,551 (t, 6,0Hz, 2H).

Ejemplo 3



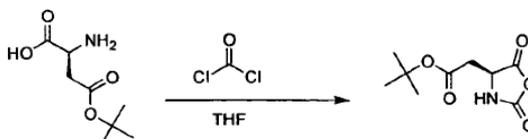
mPEG-amina. El producto mPEG-dibencilamina del Ejemplo 3 (214,0 g) se disolvió en agua desionizada (1 L). El catalizador de Pearlman 13,2 g (hidróxido de Pd al 20% en carbono, Aldrich) suspensión en agua desionizada (150 ml) se activó por agitación en globo de hidrógeno a temperatura ambiente. El hidrógeno en el matraz se substituyó con nitrógeno, la solución del material de partida mPEG dibencilamino se agregó a la suspensión catalizadora y el matraz se evacuó, después se rellenoó con hidrógeno (se repitió 3 veces). La hidrogenación después se continuó a temperatura ambiente en balón de hidrógeno durante 2 ½ días punto en el cual la ¹H-RMN indicó una desaparición completa de señales de bencilo. Se agregó cloruro de sodio (350 g) sólido a la mezcla de reacción y la mezcla se agitó durante medio día en nitrógeno, el catalizador consumido se eliminó por filtración y se enjuagó completamente con salmuera. Los filtrados combinados se hicieron alcalinos (a aprox. pH 11) por adición de un volumen pequeño de NaOH 1M y se extrajo con diclorometano (4 x 0,7 L). Los extractos combinados se secaron con carbonato de sodio anhidro, se filtró y se concentró en rotoevaporador hasta aproximadamente 0,75 L volumen total, después se precipitó sin retraso agregando exceso de éter (8L). El producto precipitado se recolectó por filtración y se secó al vacío para proporcionar 202,5 g de un sólido blanco nieve voluminoso. ¹H-RMN (*d*₆-DMSO, 400MHz): 3,681 (m, 8H), 3,507 (m, aprox, 1000H), 3,341 (m, 4H + señal de agua), 3,238 (s, 3H), 2,634 (t, 5,7Hz, 2H).

Ejemplo 4



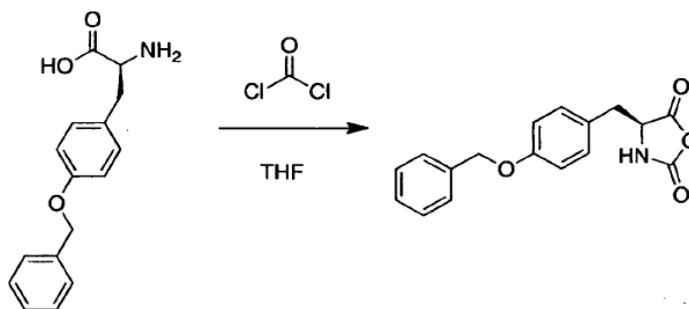
D-Leucina NCA. H-D-Leu-OH (100 g, 0,76 mol) se resuspendió en 1 L de THF anhidro y se calentó a 50 °C mientras se agita fuertemente. Se agregó fósgeno (20% en tolueno) (500 ml, 1 mol) a la suspensión de aminoácido. Después de 1h 20min, el aminoácido se disolvió, formando una solución transparente. La solución se concentró en el rotoevaporador, se transfirió a un vaso de precipitado, y se agregó hexano para precipitar el producto. El sólido blanco se aisló por filtración y se disolvió en tolueno (~ 700 ml) con una cantidad pequeña de THF (~ 60 ml). La solución se filtró sobre un lecho de Celite para eliminar cualquier material insoluble. Se agregó un exceso de hexano (~ 4 L) al filtrado para precipitar el producto. El NCA se aisló por filtración y se secó al vacío. (91g, rendimiento del 79%) Se aisló D-Leu NCA como un sólido cristalino, blanco. ¹H RMN (*d*₆-DMSO) δ 9,13 (1H), 4,44 (1H), 1,74 (1H), 1,55 (2H), 0,90 (6H) ppm.

Ejemplo 5



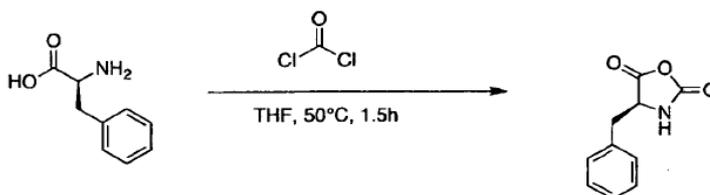
Aspartato de *tert*-Butilo NCA. H-Asp(OBu)-OH (120 g, 0,63mol) se suspendió en 1,2 L de THF anhidro y se calentó a 50°C mientras se agita fuertemente. Se agregó fósgeno (20% en tolueno) (500 ml, 1 mol) a la suspensión de aminoácido. Después de 1h 30min, el aminoácido se disolvió, formando una solución transparente. La solución se concentró en el rotoevaporador, se transfirió a un vaso de precipitado, y se agregó hexano para precipitar el producto. El sólido blanco se aisló por filtración y se disolvió en THF anhidro. La solución se filtró sobre un lecho de Celite para remover cualquier material insoluble. Se agregó un exceso de hexano para precipitar el producto. El NCA se aisló por filtración y se secó al vacío. 93g (68%) de Asp(OBu) NCA se aisló como un sólido cristalino, blanco. ¹H RMN (*d*₆-DMSO) δ 8,99 (1H), 4,61 (1H), 2,93 (1H), 2,69 (1H), 1,38 (9H) ppm.

Ejemplo 6



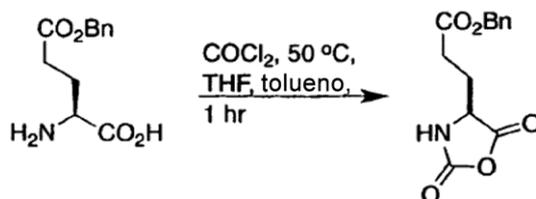
Bencil Tirosina NCA. H-Tyr(OBzl)-OH (140g, 0,52 mol) se suspendió en 1,5 L de THF anhidro y se calentó a 50°C mientras se agita fuertemente. Se agregó fósgeno (20% en tolueno) (500 ml, 1 mol) a la suspensión de aminoácido por medio de canulación. El aminoácido se disolvió durante el curso de aprox. 1h 30, formando una solución amarillo pálido. La solución primero se filtró a través de un Buchner equipado con un papel Whatman #1 para remover cualquiera de las partículas aún en suspensión. Después, la solución se concentró por evaporación rotatoria, se transfirió a un vaso de precipitado, y se agregó hexano para precipitar el producto. El sólido blancuzco se aisló por filtración y se disolvió en THF anhidro (~ 600 ml). La solución se filtró sobre un lecho de Celite para remover cualquier material insoluble. Se agregó un exceso de hexano (~6 L) al filtrado para precipitar el producto. El NCA se aisló por filtración y se secó al vacío. Se aislaron 114,05 g, 74,3% de Tyr(OBzl) NCA como un polvo blancuzco. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,07 (1H), 7,49-7,29 (5H), 7,12-7,07 (2H), 6,98-6,94 (2H), 5,06 (2H), 4,74 (1H), 3,05-2,88 (2H) ppm.

15 Ejemplo 7



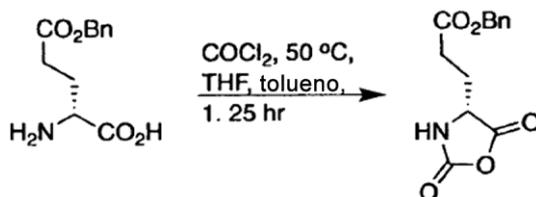
Fenilalanina NCA. H-L-Phe-OH (20,0 g, 132 mmol) se suspendió en 300 ml de THF anhidro y se calentó a 50°C. Se agregó fósgeno (20% en tolueno) (90 ml, 182 mmol) a la suspensión de aminoácido, y el aminoácido se disolvió durante el curso de aprox. 1 hr, formando una solución turbia. La solución se filtró a través de un filtro de papel (Whatman #1), se concentró por evaporación rotatoria, se transfirió a un vaso de precipitado, y se agregó hexano para precipitar el producto. El sólido blanco se aisló por filtración y se disolvió en THF anhidro. La solución se filtró sobre un lecho de Celite para remover cualquier material insoluble. Se agregó un exceso de hexanos al filtrado mientras se agita con una espátula. El NCA se aisló por filtración y se secó al vacío. Se aislaron 20,0 g (rendimiento del 86%) de D-Phe NCA como un sólido cristalino, blanco. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09 (1H), 7,40-7,08 (5H), 4,788 (1H), 3,036 (2H) ppm.

30 Ejemplo 8



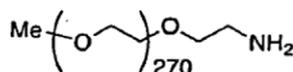
L-bencilglutamato NCA. H-Glu(OBn)-OH secado a vacío (71,2 g, 300,0 mmol) se suspendió en 900 ml de THF anhidro. Fósgeno (20% en tolueno) (210 ml, 420 mmol) se agregó a la suspensión de aminoácido a temperatura ambiente y después de diez minutos, la mezcla se calentó a 50°C. El aminoácido se disolvió durante el curso de aprox. 1 hr, formando una solución transparente. La solución se enfrió ligeramente y se concentró en el rotoevaporador. THF anhidro fresco (400 ml) se agregó al residuo y la solución se evaporó nuevamente en el rotoevaporador para dar un sólido incoloro, el cual se disolvió en 300 ml de THF anhidro, se transfirió a un vaso de precipitado de 4 L y precipitó por la adición lenta de 1,5 L de heptano anhidro. El NCA anhidro se aisló por filtración por succión y se secó al vacío. Se aislaron 75,31 g (rendimiento del 95,4%) de Glu(OBn) NCA como un sólido cristalino, incoloro. ¹H RMN (CDCl₃) δ 7,36 (5H), 6,40 (1H), 5,14 (2H), 4,40 (1H), 2,60 (2H), 2,22 (2H).

Ejemplo 9

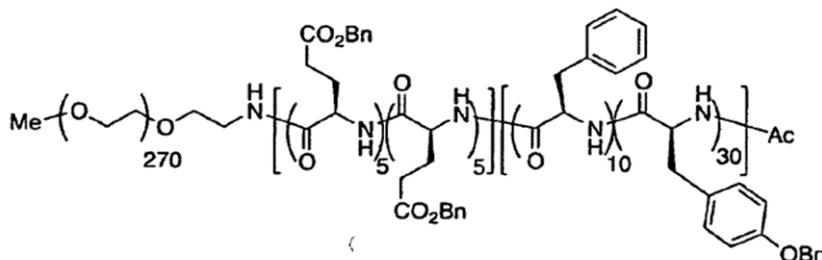


- 5 **D-bencilglutamato NCA.** Usando el mismo método y escala de reacción del Ejemplo 8 y sustituyendo H-d-Glu(OBn)-OH como material de partida, la reacción con fósgeno durante 1,25 horas a 50°C proporcionó 75,53 g (Rendimiento = 95,6%) de d-Glu(OBn) NCA como un sólido cristalino, incoloro. ¹H RMN (CDCl₃): idéntico al Ejemplo 8.

10 Ejemplo 10

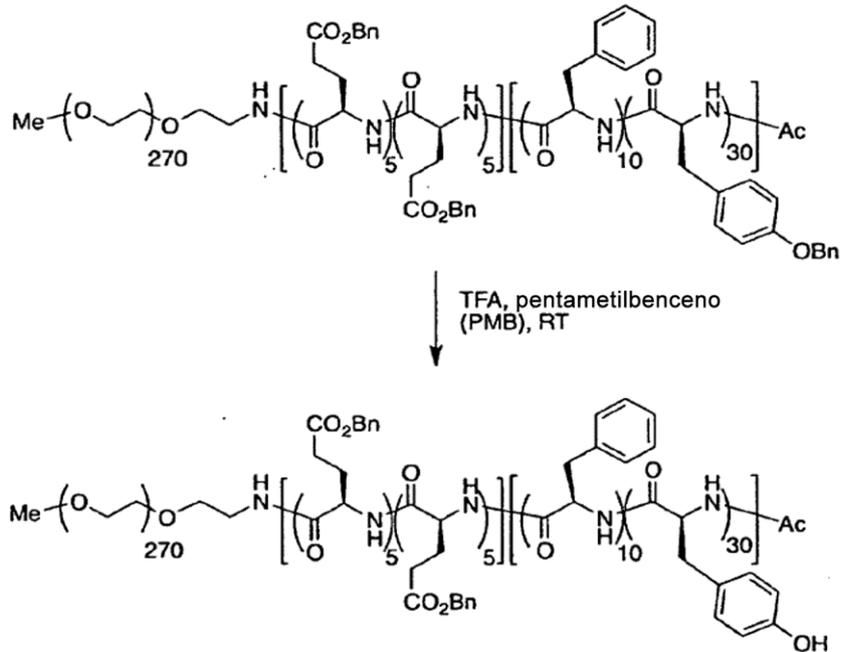


1. Tolueno, 60 °C, azeótropo al vacío
2. Glu(OBn)NCA, d-Glu(OBn)NCA, NMP, RT, 18 hr
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA, RT -> 35 °C, 48 hr
4. Ac₂O, NMM, DMAP, RT



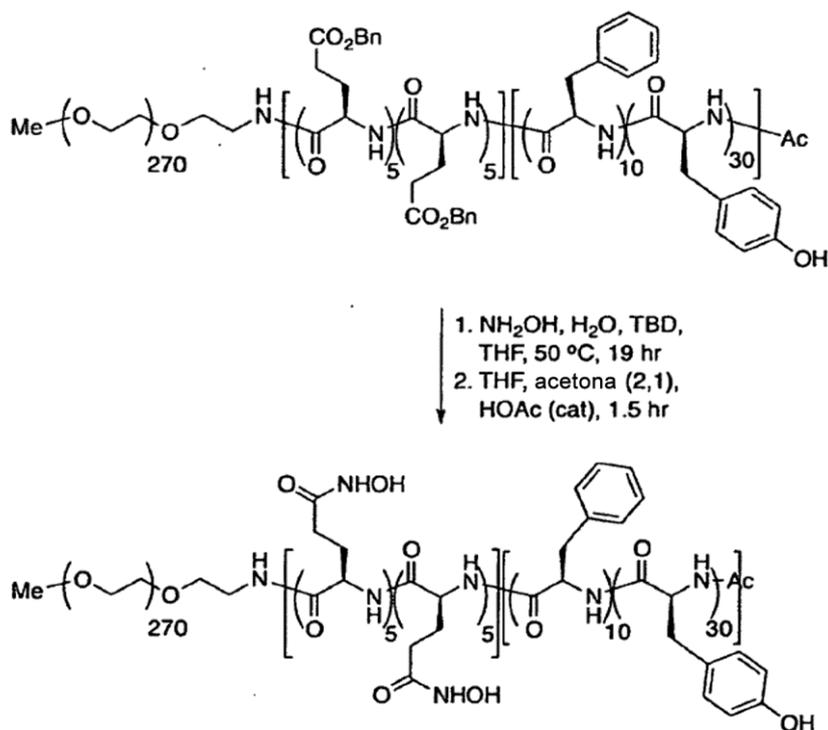
- 15 **mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OBn)₃₀-co-d-Phe₁₀)-Ac.** m-PEG12k-NH₂, (119,7 g, 10,0 mmol) se pesó en un matraz de fondo redondo de 2 L, secado en horno, se disolvió en tolueno (1 L), y se secó por destilación azeotrópica. Después de la destilación a sequedad, el polímero se dejó al vacío durante tres horas. El matraz subsecuentemente se relleno con N₂, se vació nuevamente a presión reducida, y N-metilpirrolidona seca (NMP) (1100 ml) se introdujo por cánula. La mezcla se calentó de forma breve a 40°C para facilitar la disolución y después se enfrió nuevamente a 25°C. Se agregaron Glu(OBn) NCA (13,16 g, 50,0 mmol) y d-Glu(OBn) NCA (13,16 g, 50,0 mmol) al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 16 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, se agregaron d-Phe NCA (19,12 g, 100 mmol) y Tyr NCA (OBn) (89,19 g, 300 mmol) y la solución se dejó agitar a 35°C durante 48 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%).
- 20 La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (10,21 g, 100 mmol, 9,45 ml), N-metilmorfolina (NMM) (11,13 g, 110 mmol, 12,1 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (1,22 g, 10,0 mmol). La agitación continuó durante 1 día a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico (14 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 500 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro, fino (214,7 g, Rendimiento = 92,3%). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,42-7,70 (teo. 50H, obs. 47H), 7,30 (teo. 250H, obs. 253H), 6,95 (teo. 120H, obs. 122H), 5,10-4,85 (teo. 80H, obs. 80H), 4,65-4,20 ((teo. 50H, obs. 56H), 3,72-3,25 (teo. 1087H, obs. 1593H), 3,05-2,45 (teo. 80H, obs. 83H), 2,44-1,60 (teo. 40H, obs. 42H).
- 30

Ejemplo 11



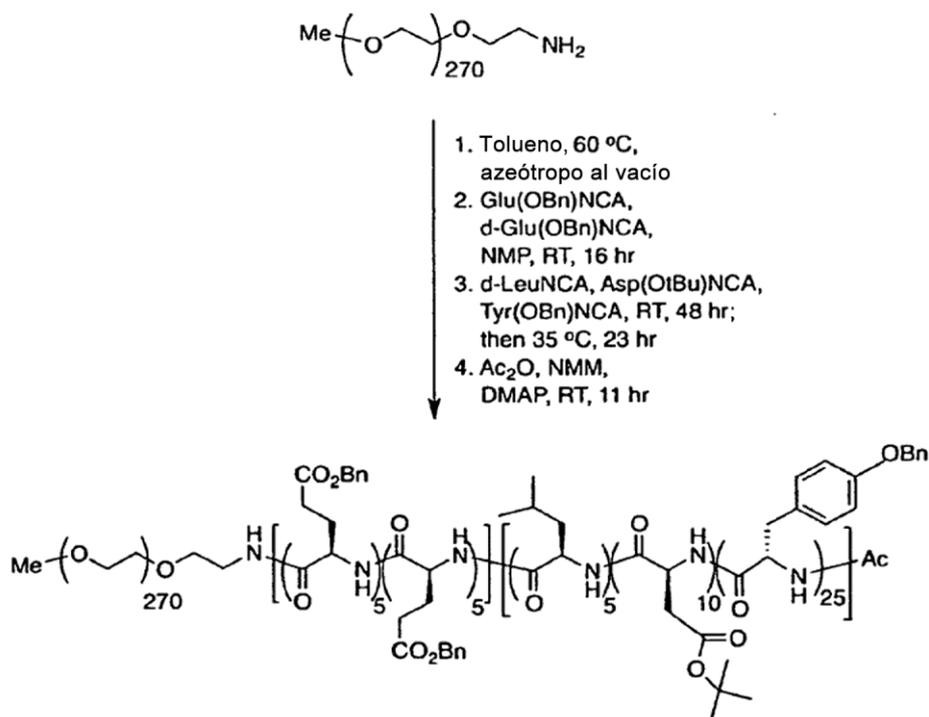
mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli(Tyr(OH)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac. mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OBn)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac del Ejemplo 10 (151,3 g, 6,5 mmol) y pentametilbenceno (86,1 g, 0,58 mol) se disolvieron en 1400 ml de ácido trifluoroacético (TFA). La reacción rápidamente se agitó durante seis horas a temperatura ambiente. El TFA se eliminó en un evaporador rotatorio con la temperatura del baño de agua sin superar 35 °C. La pasta dura resultante se disolvió en 800 ml de THF seco y el producto crudo se precipitó en 12 L de éter dietílico mientras se enfría a -30 °C. El sólido resultante se recolectó por filtración, se disolvió nuevamente en 500 ml de THF seco y reprecipitó en 3 L de éter dietílico. Un polímero esponjoso, inodoro, casi incoloro se obtuvo después del secado de producto durante la noche al vacío (126,0 g, Rendimiento = 94,2 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09 (teo. 30H, obs. 29,4H), 8,50-7,75 (teo. 50H, obs. 52,7H), 7,40-6,45 (teo. 220H, obs. 220H), 5,04 (teo. 20H, obs. 17,5H), 4,70-4,20 (teo. 50H, obs. 54,5H), 3,91-3,05 (teo. 1087H, obs. 1391H), 3,03-2,10 (teo. 80H, obs. 91H), 2,09-1,50 (teo. 40H, obs. 46H).

15 Ejemplo 12



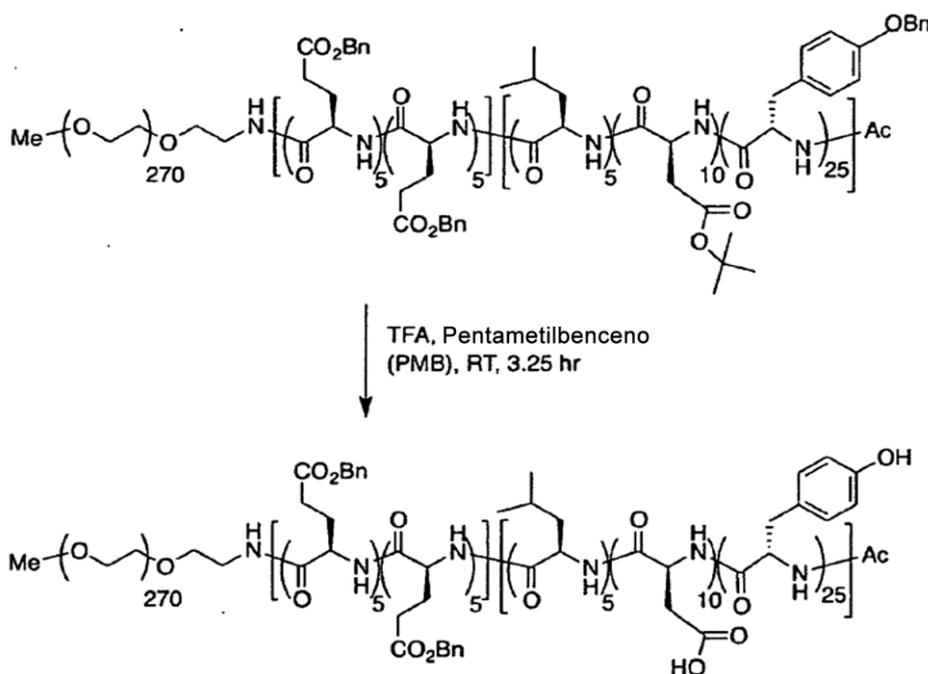
mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli(Tyr(OH)₃₀-co-d-Phe₁₀)-Ac. Se disolvió mPEG12K-*b*-Poli-
 [d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli(Tyr(OH)₃₀-co-d-Phe₁₀)-Ac (113,3 g, 5,5 mmol) en 1130 ml de THF seco y se trató
 5 con solución de hidroxilamina (50% acuoso, 2,20 mol, 146 ml) y 1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]dec-5-eno (TBD, 2,30 g,
 16,5 mmol). La solución ligeramente turbia resultante se agitó a 50°C durante 19 horas en N₂, se enfrió a
 temperatura ambiente y se diluyó con 1130 ml de MeOH. El producto crudo se precipitó de 8 L de éter dietílico
 mientras se enfría a -30 °C. Lo sólido resultante se recolectó por filtración, se disolvió nuevamente en una mezcla de
 10 250 ml de THF seco y 125 ml de acetona, se trató con ácido acético (4,72 g, 79 mmol, 4,5 ml), se calentó a reflujo
 durante cinco minutos, y después se dejó agitar a temperatura ambiente durante 1,5 horas. El producto se precipitó
 por adición de 2 L de éter dietílico, se recolectó por filtración por succión, se lavó con porciones de éter dietílico
 fresco, y se secó durante la noche al vacío para proporcionar 106,3 g (Rendimiento = 97,5 %) de polímero
 15 espumoso, casi incoloro. ¹H RMN (d₆-DMSO δ 9,12 (teo. 30H, obs. 30H), 8,80-7,75 (teo. 50H, obs. 38,4H), 7,15 (teo.
 50H, obs. 50H), 6,80 (teo. 120H, obs. 120H), 4,65-4,05 (teo. 50H, obs. 50,4H), 3,80-3,15 (teo. 1087H, obs. 1360H),
 3,00-2,20 (teo. 80H, obs. 79H), 2,15-1,60 (teo. 40H, obs. 40H).

Ejemplo 13



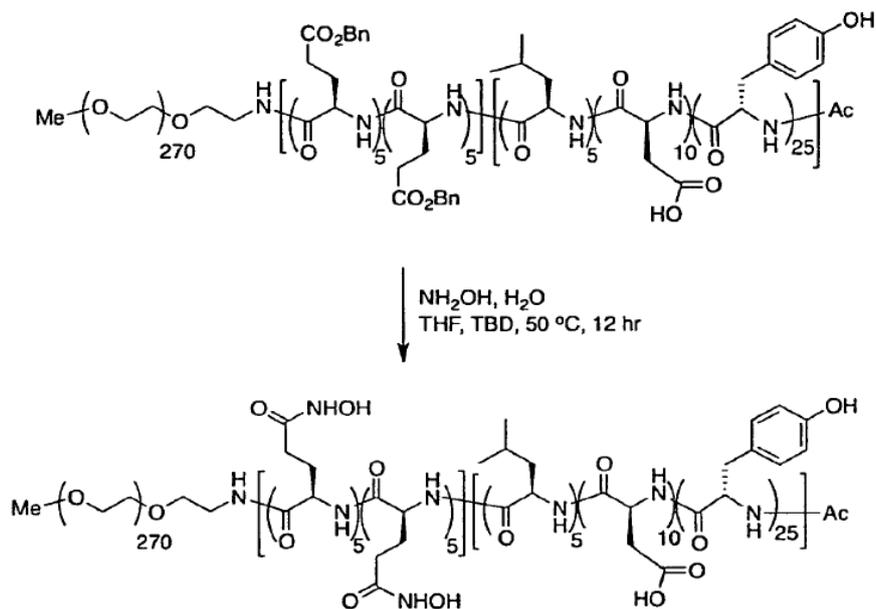
5 **mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₅-*co*-Asp(OtBu)₁₀-*co*-Tyr(OBn)₂₅)-Ac.** Usando el protocolo general detallado en el Ejemplo 10 y sustituyendo los materiales de partida de NCA apropiados se proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 12 volúmenes de éter dietílico, después se precipitó nuevamente el diclorometano/éter dietílico: 1,12. Después de la filtración y secado al vacío, se obtuvo el compuesto del título (Rendimiento = 93,9%) como un sólido inodoro, incoloro, fino.

10 **Ejemplo 14**



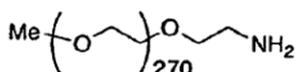
15 **mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₅-*co*-Asp(OH)₁₀-*co*-Tyr(OH)₂₅)-Ac.** Usando el método del Ejemplo 11 y sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₅-*co*-Asp(OtBu)₁₀-*co*-Tyr(OBn)₂₅)-Ac como material de partida, la reacción durante tres horas, 15 minutos a temperatura ambiente proporcionó el producto del título (Rendimiento = 97,0%) como un polímero esponjoso, incoloro, inodoro.

Ejemplo 15

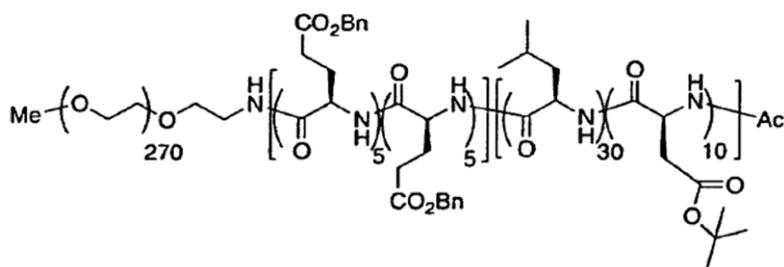


5 **mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅)-*b*-Poli(d-Leu₅-co-Asp(OH)₁₀-co-Tyr(OH)₂₅)-Ac.** Se disolvió mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₅-co-Asp(OH)₁₀-co-Tyr(OH)₂₅)-Ac (20,81 g, 1,0 mmol) en 210 ml de THF y se trató con solución de hidroxilamina (acuosa al 50%, 0,80 mol, 53,0 ml) y 1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]dec-5-eno (TBD, 0,84 g, 6,0 mmol). La solución ligeramente turbia resultante se agitó a 50°C durante 17 horas en N₂, se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con 210 ml de MeOH. El producto crudo se precipitó con 1 L de éter dietílico, se filtró, se lavó con porciones de éter dietílico fresco, y se secó durante la noche al vacío (Rendimiento = 93,3%, sal de hidroxilamina) como un polímero incoloro, fino.

Ejemplo 16



1. Tolueno, 60 °C, azeótropo al vacío
2. Glu(OBn)NCA, d-Glu(OBn)NCA, NMP, RT, 22 hr
3. d-LeuNCA, Asp(OtBu)NCA, 35 °C, 24 hr
4. Ac₂O, NMM, DMAP, RT

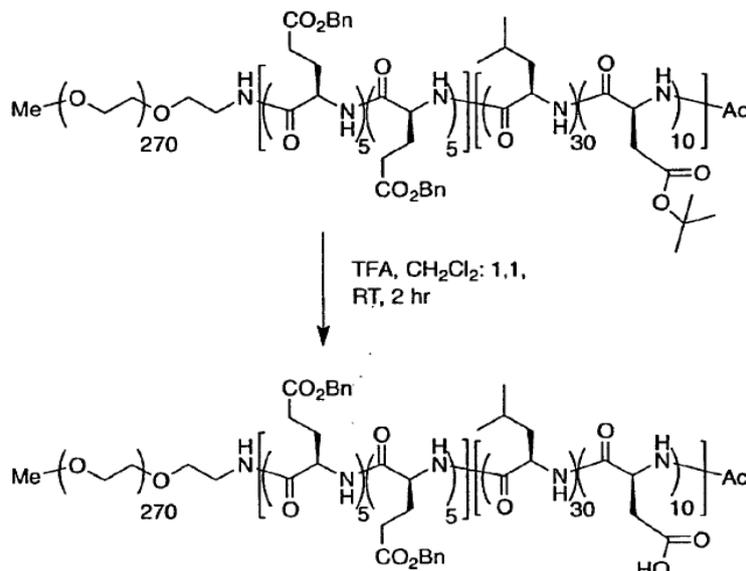


20 **mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₃₀-co-Asp(OtBu)₁₀)-Ac.** Usando el protocolo general detallado en el Ejemplo 10 y sustituyendo los materiales de partida de NCA apropiados se proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 30 volúmenes de éter dietílico/heptano: 6,1, después se precipitó nuevamente de

diclorometano/éter dietílico: 1,20. Después de la filtración y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 90,7%) se obtuvo como un sólido cremoso incoloro, inodoro.

Ejemplo 17

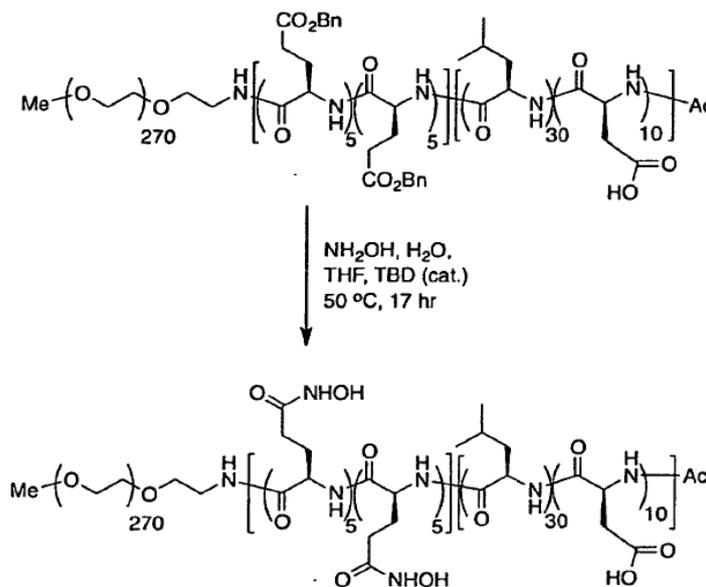
5



mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₃₀-co-Asp(OH)₁₀)-Ac. Usando el método del Ejemplo 11, sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₃₀-co-Asp(OtBu)₁₀)-Ac como material de partida y omitiendo PMB, la reacción durante dos horas a temperatura ambiente proporcionó el producto del título (Rendimiento = 97,4%) como un polímero esponjoso, incoloro.

10

Ejemplo 18

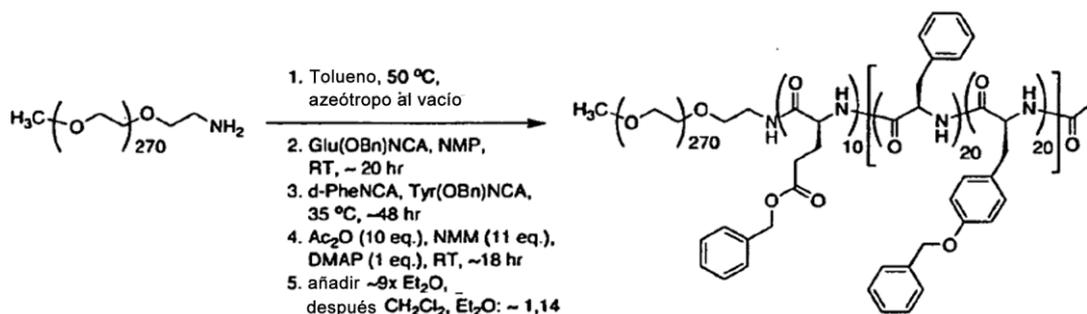


15

mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅)-*b*-Poli(d-Leu₃₀-co-Asp(OH)₁₀)-Ac. Usando el método del Ejemplo 12 y sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₃₀-co-Asp(OH)₁₀)-Ac como material de partida, la reacción durante 17 horas a 50°C proporcionó el producto del título (Rendimiento = 96,4%, sal de hidroxilamina) como un polímero incoloro, fino.

20

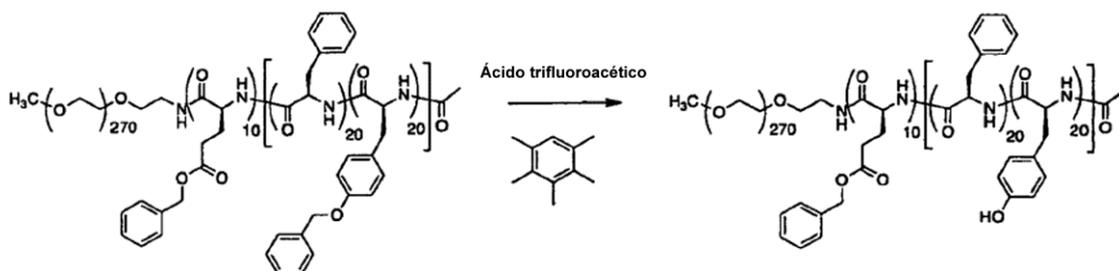
Ejemplo 19



5 **mPEG12K-*b*-Poli-(Glu(OBn)₁₀)-*b*-Poli(d-Phe₂₀-co-Tyr(OBn)₂₀)-Ac.** Usando el protocolo general detallado en el Ejemplo 10 y sustituyendo los materiales de partida de NCA apropiados se proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 9 volúmenes de éter dietílico, después se precipitó nuevamente de diclorometano/éter dietílico: 1,14. Después de la filtración y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 89%) se obtuvo como un sólido cremoso incoloro, inodoro.

Ejemplo 20

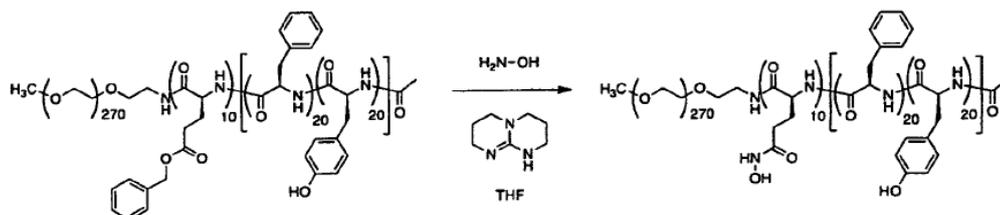
10



15 **mPEG12K-*b*-Poli-(Glu(OBn)₁₀)-*b*-Poli(d-Phe₂₀-co-Tyr₂₀)-Ac.** Usando el método del Ejemplo 11, sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-(Glu(OBn)₁₀)-*b*-Poli(d-Phe₂₀-co-Tyr(OBz)₂₀)-Ac como material de partida y haciéndolo reaccionar durante cuatro horas a temperatura ambiente se proporcionó el producto del título (Rendimiento = 87%) como un polímero esponjoso, incoloro.

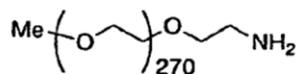
Ejemplo 21

20

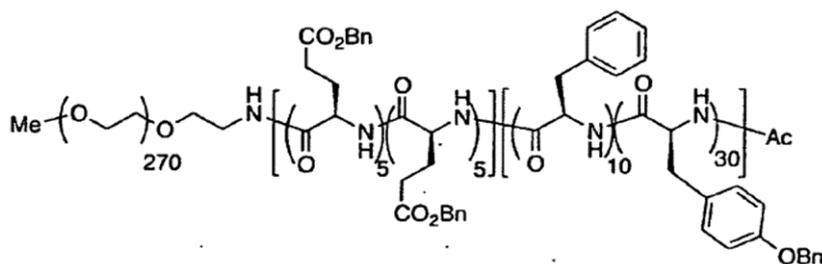


25 **mPEG12K-*b*-Poli-(Glu(NHOH)₁₀)-*b*-Poli(d-Phe₂₀-co-Tyr₂₀)-Ac.** Usando el método del Ejemplo 12 y sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-(Glu(OBn)₁₀)-*b*-Poli(d-Phe₂₀-co-Tyr₂₀)-Ac como material de partida, la reacción durante 17 horas a 50 °C proporcionó el producto del título (Rendimiento = 94%, sal de hidroxilamina) como un polímero incoloro, fino.

Ejemplo 22



1. Tolueno, 60 °C, azeótropo al vacío
2. Glu(OBn)NCA, d-Glu(OBn)NCA, NMP, RT, 18 hr
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA, RT -> 35 °C, 48 hr
4. Ac₂O, NMM, DMAP, RT

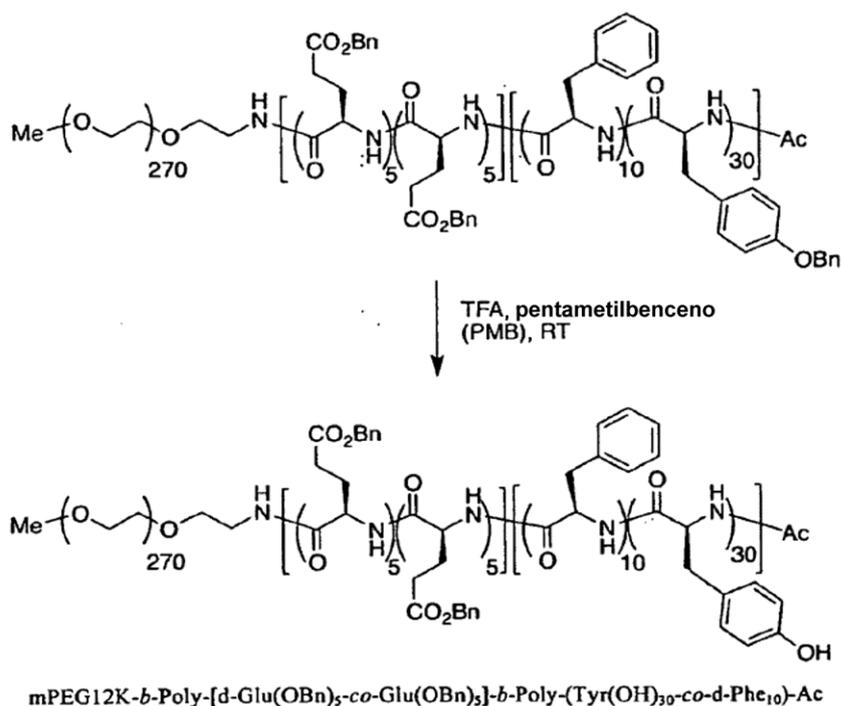


mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poly (Tyr(OBn)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OBn)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac.** m-PEG10k-NH₂ (119,7 g, 10,0 mmol, Ejemplo 3) se pesó en un matraz de fondo redondo de 2 L, secado en horno, se disolvió en tolueno (1 L), y se secó por destilación azeotrópica. Después de la destilación a sequedad, el polímero se dejó al vacío durante tres horas. El matraz subsecuentemente se rellenó con N₂, se vació nuevamente a presión reducida, y se introdujo N-metilpirrolidona seca (NMP) (1100 ml) por cánula. La mezcla se calentó de forma breve a 40°C para facilitar la disolución y después se enfrió nuevamente a 25°C. Se agregaron Glu(OBn) NCA (13,16 g, 50,0 mmol) y d-Glu(OBn) NCA (13,16 g, 50,0 mmol) al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 16 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, se agregaron d-Phe NCA (19,12 g, 100 mmol) y Tyr(OBn) NCA (89,19 g, 300 mmol) y la solución se dejó agitar a 35 °C por 48 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (10,21 g, 100 mmol, 9,45 ml), N-metilmorfolina (NMM) (11,13 g, 110 mmol, 12,1 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (1,22 g, 10,0 mmol). La agitación continuó durante 1 día a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico (14 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 500 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro, fino (214,7 g, Rendimiento = 92,3%). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,42-7,70 (teo. 50H, obs. 47H), 7,30 (teo. 250H, obs. 253H), 6,95 (teo. 120H, obs. 122H), 5,10-4,85 (teo. 80H, obs. 80H), 4,65-4,20 ((teo. 50H, obs. 56H), 3,72-3,25 (teo. 1087H, obs. 1593H), 3,05-2,45 (teo. 80H, obs. 83H), 2,44-1,60 (teo. 40H, obs. 42H).

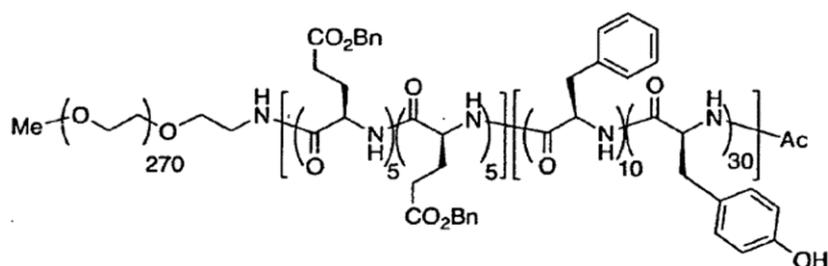
20

Ejemplo 23

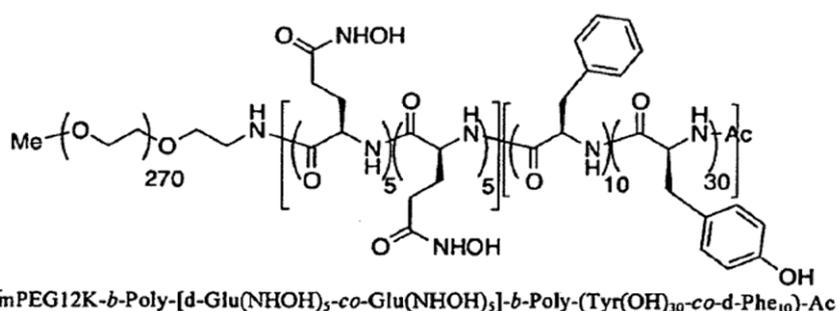


Síntesis de mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac. mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OBn)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac (151,3 g, 6,5 mmol) y pentametilbenceno (86,1 g, 0,58 mol) se disolvieron en 1400 ml de ácido trifluoroacético (TFA). La reacción rápidamente se agitó durante seis horas a temperatura ambiente. El TFA se removió en un evaporador rotatorio con la temperatura del baño de agua sin superar 35 °C. La pasta dura resultante se disolvió en 800 ml de THF seco y el producto crudo se precipitó en 12 L de éter dietílico mientras se enfría a -30 °C. El sólido resultante se recolectó por filtración, se disolvió nuevamente en 500 ml de THF seco y se precipitó nuevamente en 3 L de éter dietílico. Un polímero esponjoso, inodoro, casi incoloro se obtuvo después del secado de producto durante la noche al vacío (126,0 g, Rendimiento = 94,2 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09 (teo. 30H, obs. 29,4H), 8,50-7,75 (teo. 50H, obs. 52,7H), 7,40-6,45 (teo. 220H, obs. 220H), 5,04 (teo. 20H, obs. 17,5H), 4,70-4,20 (teo. 50H, obs. 54,5H), 3,91-3,05 (teo. 1087H, obs. 1391H), 3,03-2,10 (teo. 80H, obs. 91H), 2,09-1,50 (teo. 40H, obs. 46H).

15 Ejemplo 24

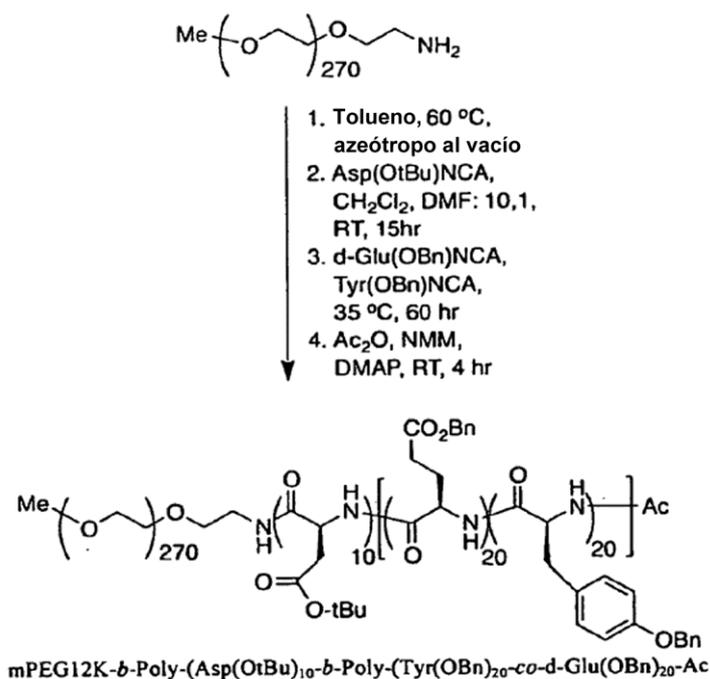


1. NH_2OH , H_2O , TBD,
THF, 50 °C, 19 hr
2. THF, acetona (2,1),
HOAc (cat), 1.5 hr



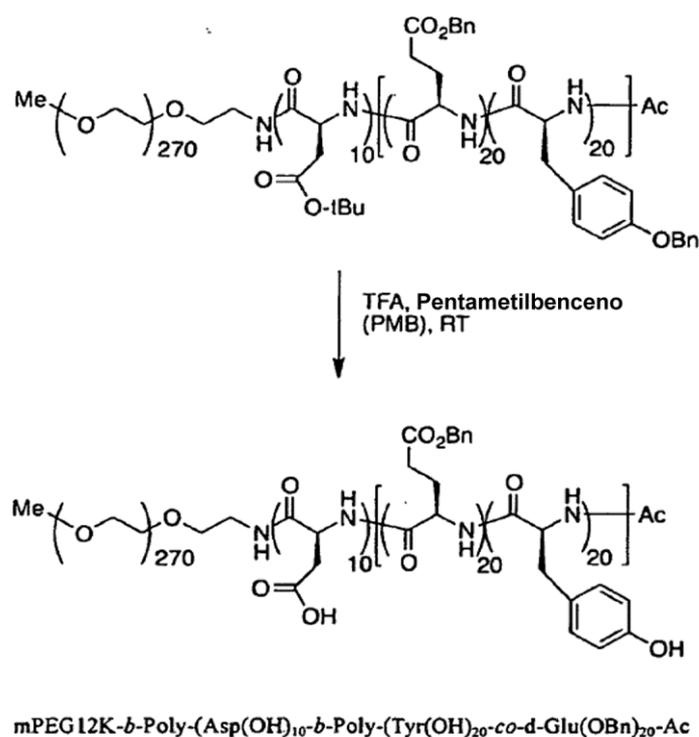
5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac.** mPEG12K-*b*-
Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac (113,3 g, 5,5 mmol) se disolvió en 1130 ml de THF
seco y se trató con solución de hidroxilamina (acuosa al 50%, 2,20 mol, 146 ml) y 1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]dec-5-eno
(TBD, 2,30 g, 16,5 mmol). La solución ligeramente turbia resultante se agitó a 50°C durante 19 horas en N_2 , se enfrió
a temperatura ambiente y se diluyó con 1130 ml de MeOH. El producto crudo se precipitó de 8 L de éter dietílico
mientras se enfría a -30 °C. El sólido resultante se recolectó por filtración, se disolvió nuevamente en una mezcla de
10 250 ml de THF seco y 125 ml de acetona, se trató con ácido acético (4,72 g, 79 mmol, 4,5 ml), se calentó a reflujo
durante cinco minutos, y después se dejó agitar a temperatura ambiente durante 1,5 horas. El producto se precipitó
por adición de 2 L de éter dietílico, se recolectó por filtración por succión, se lavó con porciones de éter dietílico
fresco, y se secó durante la noche al vacío para proporcionar 106,3 g (Rendimiento = 97,5 %) de polímero
15 espumoso, casi incoloro. ^1H RMN (d_6 -DMSO δ 9,12 (teo. 30H, obs. 30H), 8,80-7,75 (teo. 50H, obs. 38,4H), 7,15 (teo.
50H, obs. 50H), 6,80 (teo. 120H, obs. 120H), 4,65-4,05 (teo. 50H, obs. 50,4H), 3,80-3,15 (teo. 1087H, obs. 1360H),
3,00-2,20 (teo. 80H, obs. 79H), 2,15-1,60 (teo. 40H, obs. 40H).

Ejemplo 25



5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(Asp(OtBu)₁₀-*b*-Poli-(Tyr(OBn)₂₀-*co*-d-Glu(OBn)₂₀-Ac.** Usando el protocolo detallado en el Ejemplo 22, reemplazando el solvente NMP con diclorometano:DMF: 10, 1, y sustituyendo los materiales de partida de NCA apropiados, se preparó el compuesto del título (Rendimiento = 93,9%) como un sólido inodoro, incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,42-7,85 (teo. 50H, obs. 51H), 7,30 (teo. 200H, obs.198H), 6,98 (teo. 80H, obs. 72H), 5,15-4,85 (teo. 80H, obs. 80H), 4,68-4,20 (teo. 50H, obs. 46H), 3,72-3,25 (teo. 1087H, obs. 1415H), 3,05-1,50 (teo. 120H, obs. 114H), 1,35 (teo. 90H, obs. 76H).

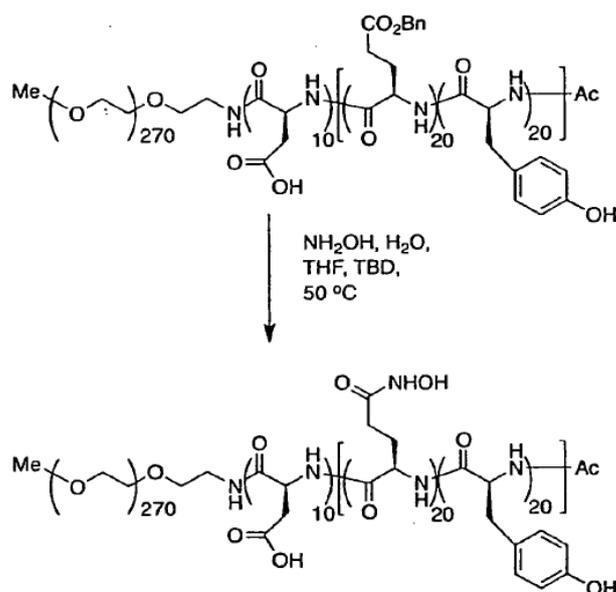
10 **Ejemplo 26**



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(Asp(OH)₁₀-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₀-*co*-d-Glu(OBn)₂₀-Ac. Usando el método del Ejemplo

23 y sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-(Asp(OtBu))₁₀-*b*-Poli-(Tyr(OBn))₂₀-*co*-d-Glu(OBn))₂₀-Ac como material de partida, la reacción durante tres horas, 15 minutos a temperatura ambiente y precipitación de una mezcla de diclorometano, éter dietílico: 1,8.5 proporcionó el producto del título (Rendimiento = 98,9%) como un polímero fino, incoloro, inodoro. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 12,38 (teo. 10H, obs. 9H), 9,13 (teo. 20H, obs. 17H), 8,40-7,80 (teo. 50H, obs. 43H), 7,32 (teo. 100H, obs. 82H), 6,80 (teo. 80H, obs. 83H), 5,04 (teo. 40H, obs. 34,2H), 4,60-4,20 (teo. 50H, obs. 55H), 3,80-3,20 (teo. 1087H, obs. 1100H), 2,95-1,45 (teo. 140H, obs. 154,6H)

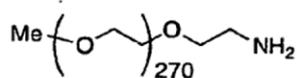
Ejemplo 27



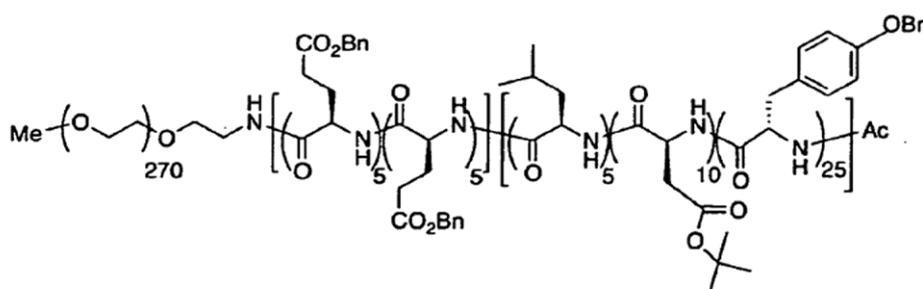
mPEG12K-*b*-Poly-(Asp(OH))₁₀-*b*-Poly-(Tyr(OH))₂₀-*co*-d-Glu(NHOH))₂₀-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(Asp(OH))₁₀-*b*-Poli-(Tyr(OH))₂₀-*co*-d-Glu(NHOH))₂₀-Ac. mPEG12K-*b*-Poli-(Asp(OH))₁₀-*b*-Poli-(Tyr(OH))₂₀-*co*-d-Glu(OBn))₂₀-Ac (20,81 g, 1,0 mmol) se disolvió en 210 ml de THF y se trató con solución de hidroxilamina (acuosa al 50%, 0,80 mol, 53,0 ml) y 1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]dec-5-eno (TBD, 0,84 g, 6,0 mmol). La solución ligeramente turbia resultante se agitó a 50°C durante 17 horas en N₂, se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con 210 ml de MeOH. El producto crudo se precipitó con 1 L de éter dietílico, se filtró, se lavó con porciones de éter dietílico fresco, y se secó durante la noche al vacío para proporcionar 19,68 g (Rendimiento = 98,5 %) de polímero incoloro, esponjoso como la sal de hidroxilamina. Una porción de la sal de hidroxilamina (10,0 g) se disolvió en 1 L de alcohol de tert-butílico al 30%/agua, se trató con carbonato de amonio (3,33 g), y se liofilizó para proporcionar la forma salina del ácido carboxílico nativo (rendimiento cuantitativo) como un sólido incoloro, inodoro, esponjoso. ¹H RMN (d₆-DMSO, sal de hidroxilamina) δ 9,08 (teo. 20H, obs. 10H), 6,80 (teo. 80H, obs. 80H), 4,60-4,02 (teo. 50H, obs. 54.7H), 3,80-3,15 (teo. 1087H, obs. 1211H), 2,90 (teo. 40 H, obs. 45H), 2,80-1,50 (teo. 100H, obs. 120H). El espectro mostró restos de solvente que afecta la integración la región campo arriba.

Ejemplo 28



1. Tolueno, 60 °C, azeótropo al vacío
2. Glu(OBn)NCA, d-Glu(OBn)NCA, NMP, RT, 16 hr
3. d-LeuNCA, Asp(OtBu)NCA, Tyr(OBn)NCA, RT, 48 hr; después 35 °C, 23 hr
4. Ac₂O, NMM, DMAP, RT, 11 hr

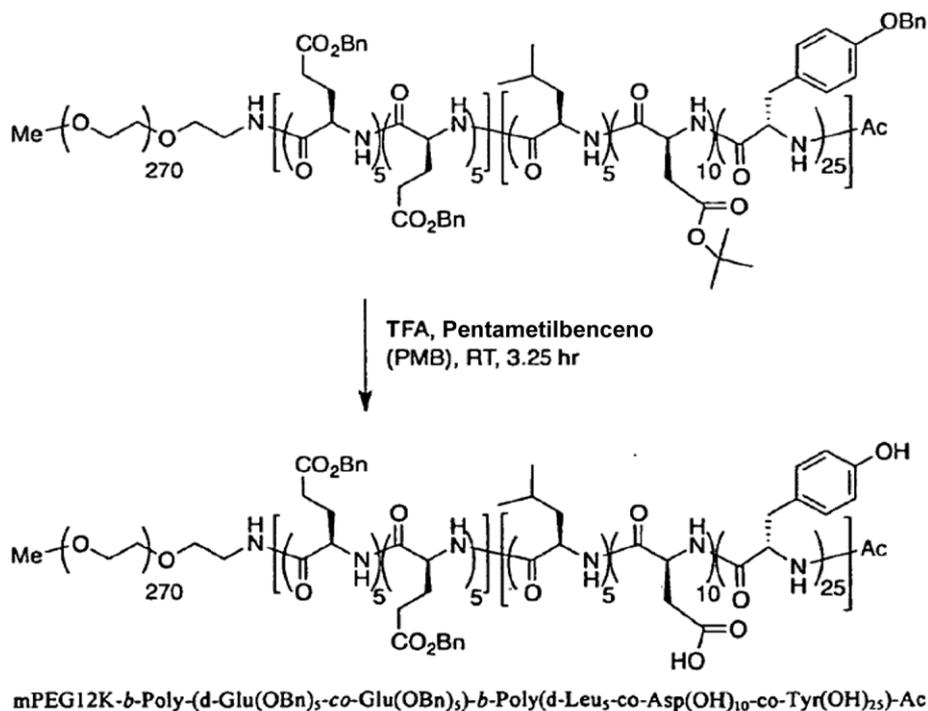


mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poly(d-Leu₅-*co*-Asp(OtBu)₁₀-*co*-Tyr(OBn)₂₅)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₅-*co*-Asp(OtBu)₁₀-*co*-Tyr(OBn)₂₅)-Ac.

Usando el protocolo general detallado en el Ejemplo 22 y sustituyendo los materiales de partida de NCA apropiados se proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 12 volúmenes de éter dietílico, después se precipitó nuevamente de diclorometano/éter dietílico: 1,12. Después de la filtración y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 89,2%) se obtuvo como un sólido inodoro, incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,52-7,75 (teo. 50H, obs. 49H), 7,35 (teo. 175H, obs. 198H), 7,11 (teo. 50 H, obs. 49H), 6,80 (teo. 50H, obs. 50H), 5,10-4,75 (teo. 70 H, obs. 75H), 4,70-4,15 (teo. 50H, obs. 56H), 3,72-3,25 (teo. 1087H, obs. 1580H), 3,05-1,65 (teo. 110H, obs. 144H), 1,58-0,55 (teo. 135H, obs. 155H).

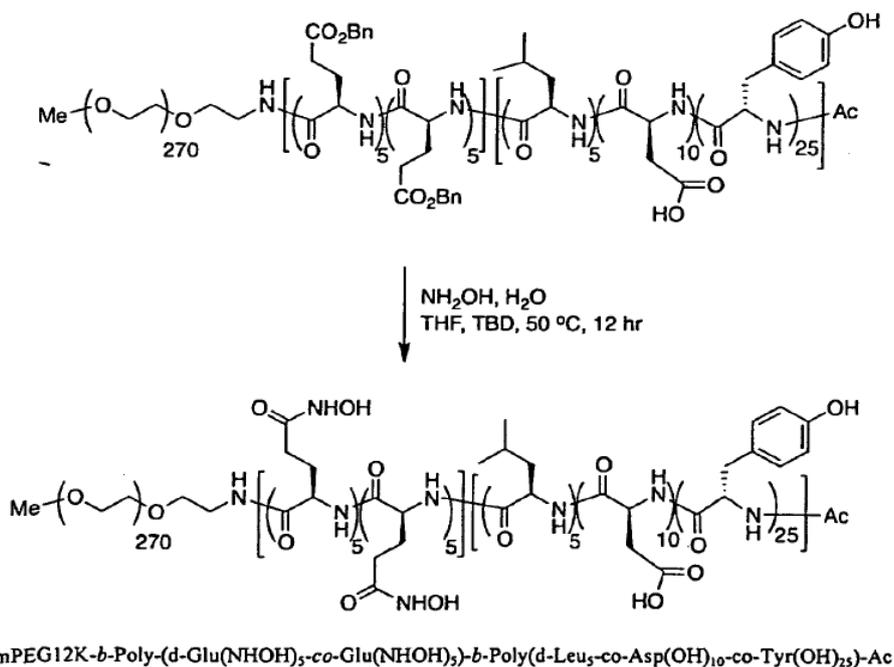
Ejemplo 29



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poly(d-Leu₅-*co*-Asp(OH)₁₀-*co*-Tyr(OH)₂₅)-Ac.

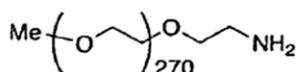
Usando el método del Ejemplo 23 y sustituyendo mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poly(d-Leu₅-*co*-Asp(OtBu)₁₀-*co*-Tyr(OBn)₂₅)-Ac como material de partida, la reacción durante tres horas, 15 minutos a temperatura ambiente y precipitaciones de una mezcla de diclorometano, éter dietílico: 1,24 seguido por diclorometano, éter dietílico: 1,12 proporcionó el producto del título (Rendimiento = 97,0%) como un polímero esponjoso, incoloro, inodoro. ¹H RMN (*d*₆-DMSO) δ 9,4-8,5 (teo. 35H, obs. 34H), 8,40-7,75 (teo. 50H, obs. 61H), 7,35-7,15 (teo. 50H, obs. 43H), 6,98 (teo. 50 H, obs. 49H), 6,60 (teo. 50H, obs. 50H), 5,04 (teo. 20H, obs. 18H), 4,65-4,10 (teo. 50H, obs. 58H), 3,80-3,20 (teo. 1087H, obs. 1367H, contiene pico de H₂O enmascarado), 3,00-2,15 (teo. 90H, obs. 95H), 2,05-1,70 (teo. 20H, obs. 26H), 1,63-0,57 (teo. 45 H, obs. 45H).

Ejemplo 30

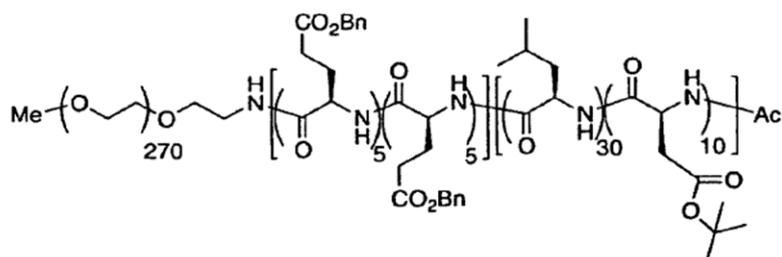


Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₅-*co*-Asp(OH)₁₀-*co*-Tyr(OH)₂₅)-Ac.

Usando el método del Ejemplo 27 y sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₅-*co*-Asp(OH)₁₀-*co*-Tyr(OH)₂₅)-Ac como material de partida, la reacción durante 12 horas a 50°C proporcionó el producto del título (Rendimiento = 93,3%, sal de hidroxilamina) como un polímero incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,4-8,5 (teo. 35H, obs. 34H), 8,60-7,75 (teo. 50H, obs. 43H), 7,2-6,85 (teo. 50H, obs. 55H), 6,60 (teo. 50 H, obs. 50H), 4,60-4,00 (teo. 50H, obs. 41H), 3,80-3,00 (teo. 1087H, obs. 1174H, contiene pico de H₂O enmascarado), 3,00-1,65 (teo. 110H, obs. 124H), 1,63-0,57 (teo. 45 H, obs. 40H).

Ejemplo 31

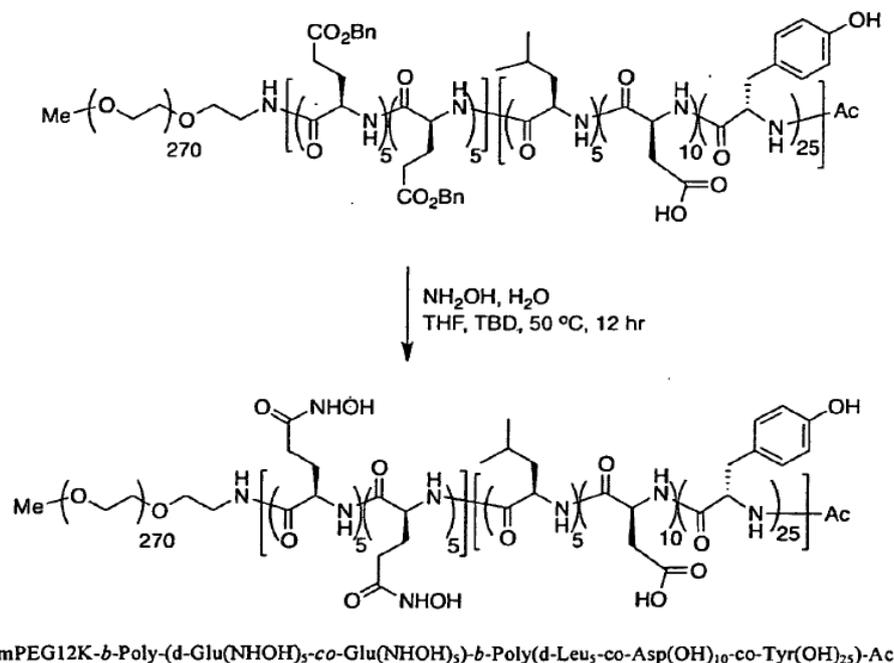
1. Tolueno, 60 °C, azeótropo al vacío
2. Glu(OBn)NCA, d-Glu(OBn)NCA, NMP, RT, 22 hr
3. d-LeuNCA, Asp(OtBu)NCA, 35 °C, 24 hr
4. Ac₂O, NMM, DMAP, RT



mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poly(d-Leu₃₀-*co*-Asp(OtBu)₁₀)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₃₀-*co*-Asp(OtBu)₁₀)-Ac. Usando el protocolo general detallado en el Ejemplo 22 y sustituyendo los materiales de partida de NCA apropiados se proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 30 volúmenes de éter dietílico/heptano: 6,1, después se precipitó nuevamente de diclorometano/éter dietílico: 1,20. Después de la filtración y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 90,7%) se obtuvo como un sólido de color crema, inodoro. ¹H RMN (d₄-MeOH) δ 7,31 (teo. 50H, obs. 66H), 5,04 (teo. 20H, obs. 20H), 4,45-3,97 (teo. 50H, obs. 37H), 3,95-3,25 (teo. 1087H, obs. 1876H), 3,05-0,80 (teo. 420H, obs. 313H).

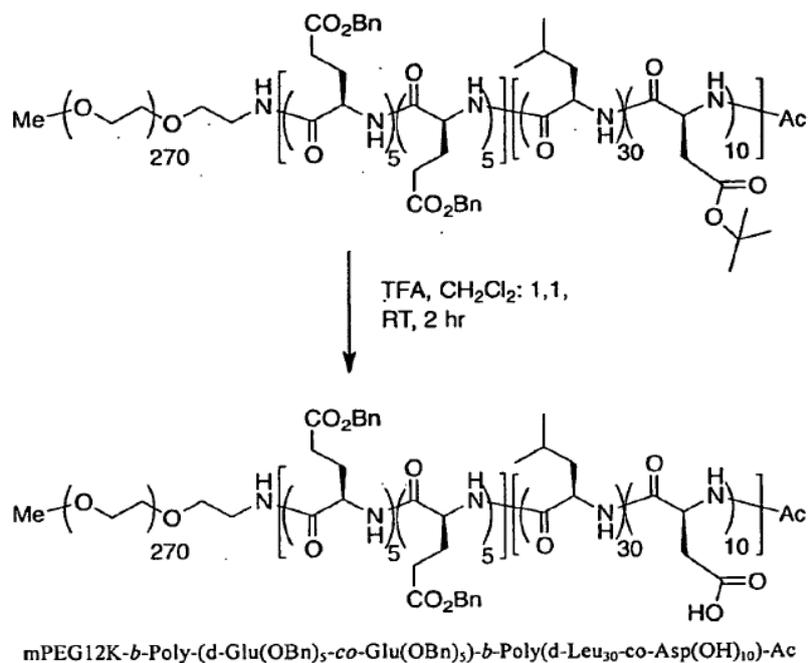
Ejemplo 32



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅)-*b*-Poli(d-Leu₅-co-Asp(OH)₁₀-co-Tyr(OH)₂₅)-Ac.

Usando el método del Ejemplo 27 y sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₅-co-Asp(OH)₁₀-co-Tyr(OH)₂₅)-Ac como material de partida, la reacción durante 12 horas a 50°C proporcionó el producto del título (Rendimiento = 93,3%, sal de hidroxilamina) como un polímero incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,4-8,5 (teo. 35H, obs. 34H), 8,60-7,75 (teo. 50H, obs. 43H), 7,2-6,85 (teo. 50H, obs. 55H), 6,60 (teo. 50 H, obs. 50H), 4,60-4,00 (teo. 50H, obs. 41H), 3,80-3,00 (teo. 1087H, obs. 1174H, contiene pico de H₂O enmascarado), 3,00-1,65 (teo. 110H, obs. 124H), 1,63-0,57 (teo. 45 H, obs. 40H).

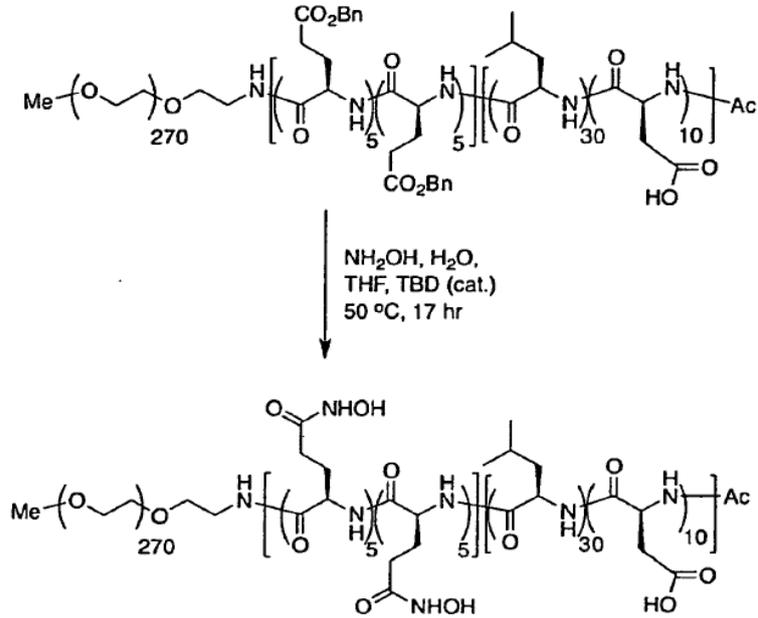
Ejemplo 33



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₃₀-co-Asp(OH)₁₀)-Ac. Usando el método del Ejemplo 23, sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₃₀-co-Asp(OtBu)₁₀)-Ac como material de partida y omitiendo PMB, la reacción durante dos horas a temperatura ambiente y precipitación de diclorometano, éter dietílico: 1, 13 proporcionó el producto del título (Rendimiento = 97,4%) como un polímero esponjoso, incoloro. ¹H RMN (d₄-MeOH) δ 7,31 (teo. 50H, obs. 61H), 5,04 (teo. 20H, obs. 20H), 4,45-3,97 (teo. 50H,

obs. 29H), 3,95-3,25 (teo. 1087H, obs. 1542H), 3,05-0,80 (teo. 330H, obs. 258H).

Ejemplo 34



mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅)-*b*-Poly(d-Leu₃₀-co-Asp(OH)₁₀)-Ac

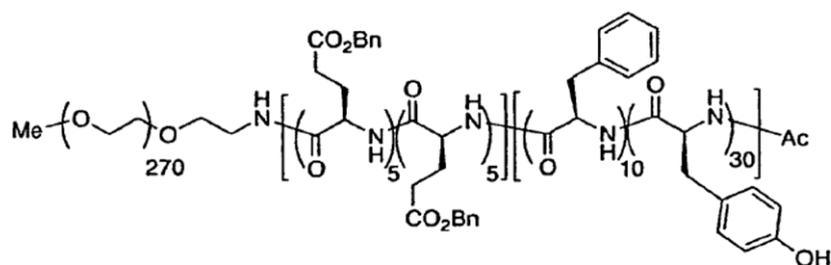
5

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅)-*b*-Poli(d-Leu₃₀-co-Asp(OH)₁₀)-Ac. Usando el método del Ejemplo 27 y sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Leu₃₀-co-Asp(OH)₁₀)-Ac como material de partida, la reacción durante 17 horas a 50°C proporcionó el producto del título (Rendimiento = 96,4%, sal de hidroxilamina) como un polímero incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,8-7,2 (teo. 70H, obs. 67H), 4,55-3,85 (teo. 50H, obs. 50H), 3,80-3,30 (teo. 1087H, obs. 1520H), 3,29-2,60 (teo. 60H, obs. 80 H), 2,42-0,70 (teo. 270H, obs. 278H).

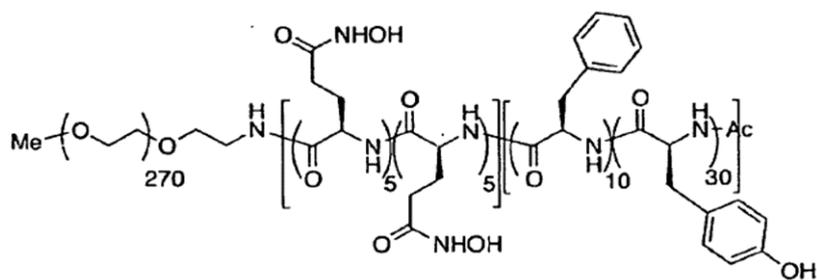
10

Ejemplo 35

15



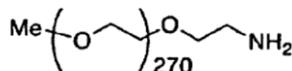
1. NH_2OH , H_2O , TBD,
THF, 50 °C, 19 hr
2. THF, acetona (2,1),
HOAc (cat), 1.5 hr



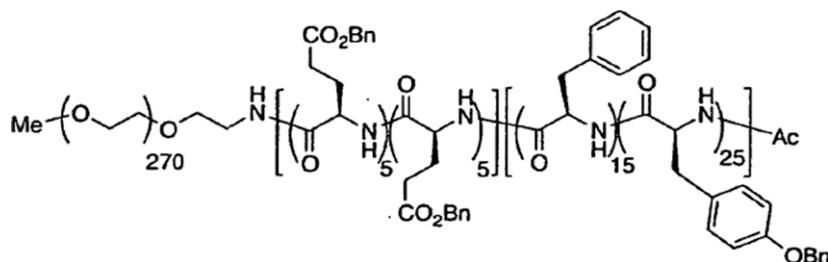
mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac.** mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₃₀-*co*-d-Phe₁₀)-Ac (30,86 g, 1,50 mmol) se disolvió en 310 ml de THF seco y se trató con solución de hidroxilamina (acuosa al 50%, 0,60 mol, 39,7 ml) y 1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]dec-5-eno (TBD, 626,4 mg, 4,5 mmol). La solución ligeramente turbia resultante se agitó a temperatura ambiente durante 69 horas en N_2 y se diluyó con 310 ml de MeOH. El producto crudo se precipitó de 3 L de éter dietílico mientras se enfriaba a -30 °C. Lo sólido resultante se recolectó por filtración, se disolvió nuevamente en una mezcla de 150 ml de THF seco y 100 ml de acetona, se trató con ácido acético (1,26 g, 21,0 mmol, 1,2 ml) y después se dejó agitar a temperatura ambiente durante 2 horas. El producto se precipitó por adición de 1,5 L de éter dietílico, se recolectó por filtración por succión, se lavó con porciones de éter dietílico fresco, y se secó durante la noche al vacío para proporcionar 29,41 g (Rendimiento = 98,9 %) de polímero espumoso, casi incoloro. ^1H RMN (d_6 -DMSO): idéntico al Ejemplo 24.

15 **Ejemplo 36**



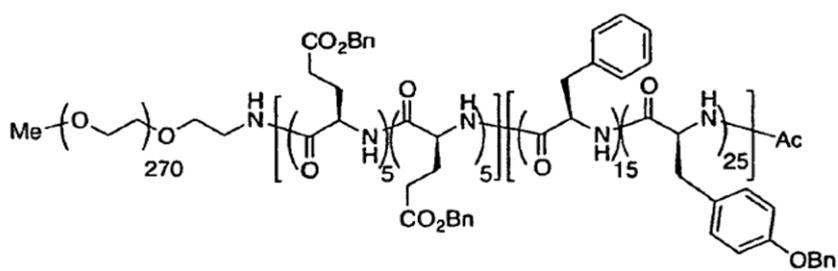
1. Tolueno, 60 °C, azeótropo al vacío
2. Glu(OBn)NCA, d-Glu(OBn)NCA, NMP, RT
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA, RT → 35 °C
4. Ac₂O, NMM, DMAP, RT



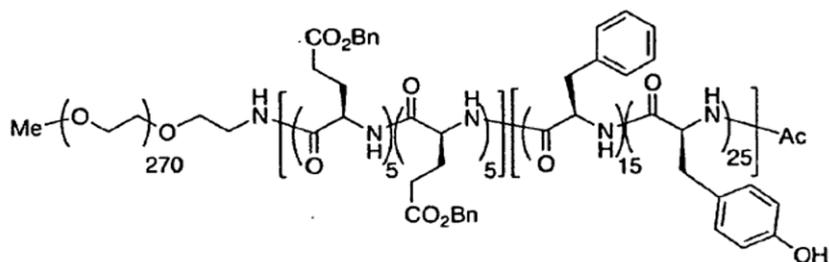
mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poly-(Tyr(OBn)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(Tyr(OBn)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac. Usando el protocolo detallado en el Ejemplo 24 y sustituyendo los materiales de partida de NCA apropiados se proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 10 volúmenes de éter dietílico. Después de la filtración y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 83,6%) se obtuvo como un sólido inodoro, incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,42-7,80 (teo. 50H, obs. 43H), 7,42-6,68 (teo. 350H, obs. 350H), 5,10-4,80 (teo. 70H, obs. 73H), 4,65-4,20 (teo. 50H, obs. 50H), 3,75-3,25 (teo. 1087H, obs. 1755H), 3,01-2,30 (teo. 80H, obs. 85H), 2,02-1,60 (teo. 40H, obs. 38H).

10 **Ejemplo 37**



TFA, pentametilbenceno (PMB), RT



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac

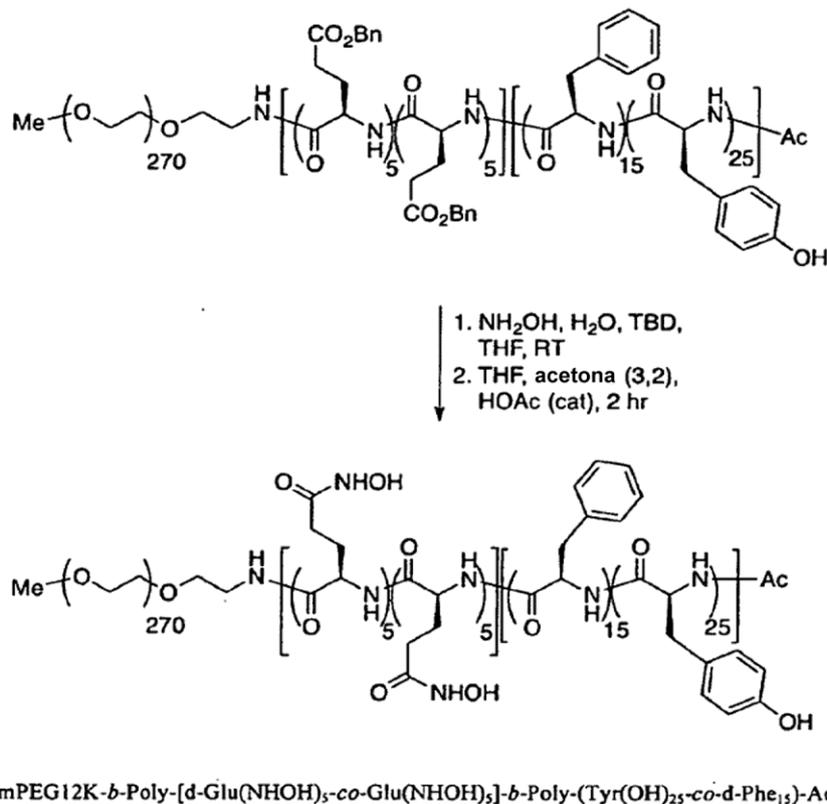
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac. Usando el método del Ejemplo 23 y sustituyendo mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OBn)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac como

15

material de partida, la reacción durante 5,25 horas a temperatura ambiente proporcionó el producto del título (Rendimiento = 99,3%) como un polímero fino, incoloro, inodoro. ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ 9,09 (teo. 25H, obs. 22H), 8,40-7,75 (teo. 50H, obs. 49H), 7,40-6,50 (teo. 225H, obs. 225H), 5,04 (teo. 20H, obs. 21H), 4,65-4,20 (teo. 50H, obs. 54H), 3,81-3,20 (teo. 1087H, obs. 1613H), 3,05-2,10 (teo. 80H, obs. 90H), 2,05-1,63 (teo. 40H, obs. 38H).

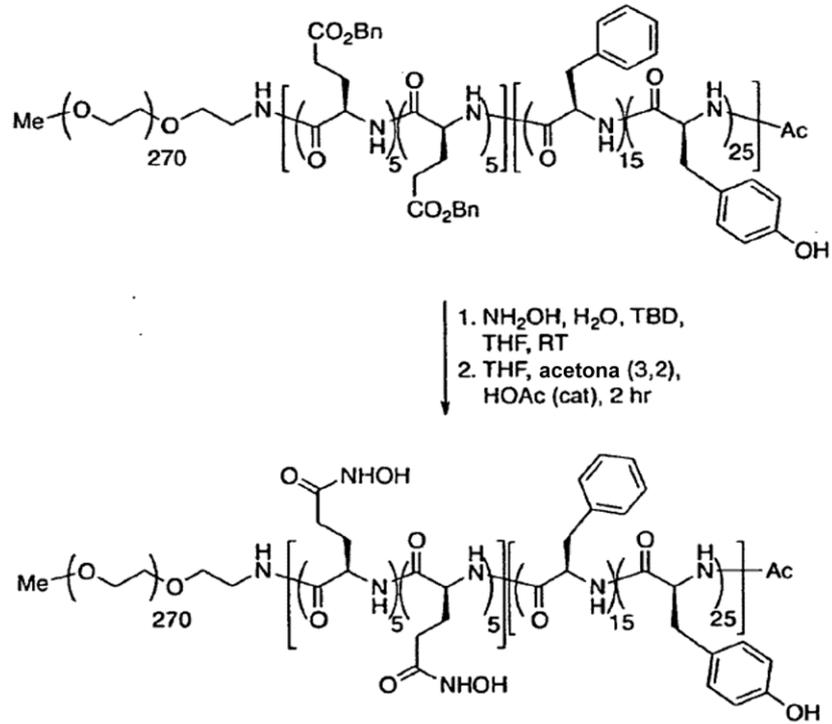
5

Ejemplo 38



10 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** mPEG12K-*b*-
Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac (51,23 g, 2,50 mmol) se disolvió en 515 ml de THF
seco y se trató con solución de hidroxilamina (acuosa al 50%, 1,00 mol, 66,3 ml, 40 equiv./fracción de éster Bn) y
15 1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]dec-5-eno (TBD, 1,044 g, 7,5 mmol, 0,3 equiv.). La solución ligeramente turbia resultante se
agitó a temperatura ambiente durante 108 horas en N_2 y se diluyó con 515 ml de IPA. El producto crudo se precipitó
de 6 L de éter dietílico. El sólido resultante se recolectó por filtración, se disolvió nuevamente en una mezcla de 300
ml de THF seco y 200 ml de acetona, se trató con ácido acético (2,25 g, 37,5 mmol, 2,15 ml), y después se dejó
20 agitar a temperatura ambiente durante 2,5 horas. El producto se precipitó por adición de 3 L de éter dietílico, se
recolectó por filtración por succión, se lavó con porciones de éter dietílico fresco, y se secó durante la noche al vacío
para proporcionar 45,16 g (Rendimiento = 91,5 %) del compuesto del título como un polímero espumoso, casi
inoloro con un ligero olor de ácido acético. ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ 9,35-8,85 (teo. 45H, obs. 28H), 8,42-7,75 (teo.
50H, obs. 37H), 7,37-6,46 (teo. 175H, obs. 164H), 4,65-4,00 (teo. 50H, obs. 50H), 3,82-3,07 (teo. 1087H, obs.
1708H, contiene pico de H_2O enmascarado), 3,05-2,20 (teo. 80H, obs. 84H), 2,18-1,63 (teo. 40H, obs. 68H, contiene
restos de HOAc).

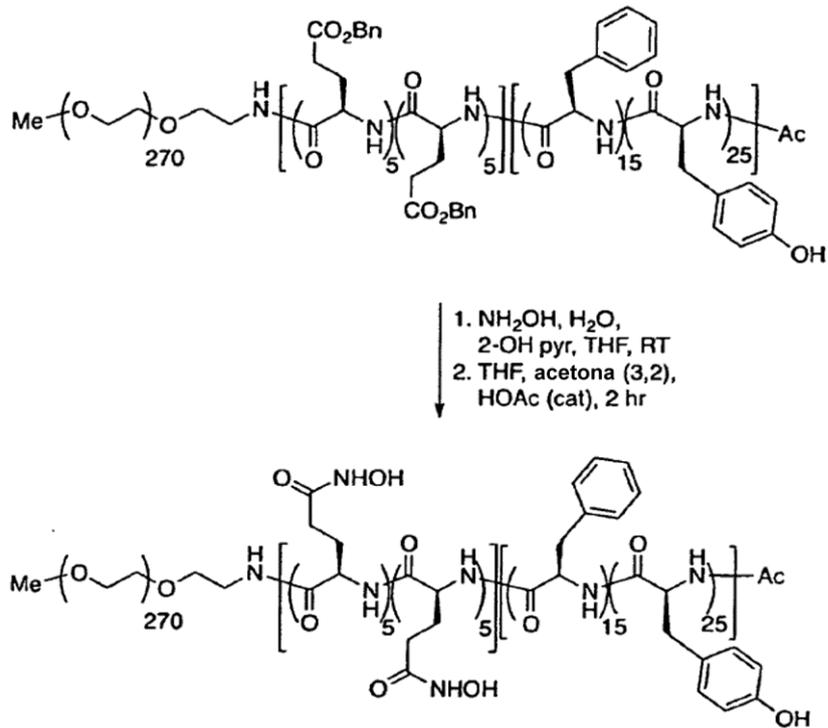
25 Ejemplo 39



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método del Ejemplo 38 e incrementando la concentración de hidroxilamina (80 equiv./éster Bn), la reacción durante 65 horas a temperatura ambiente y desarrollo como anteriormente, proporcionó el producto del título (Rendimiento = 87,8%) como un polímero incoloro, fino con un ligero olor a ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

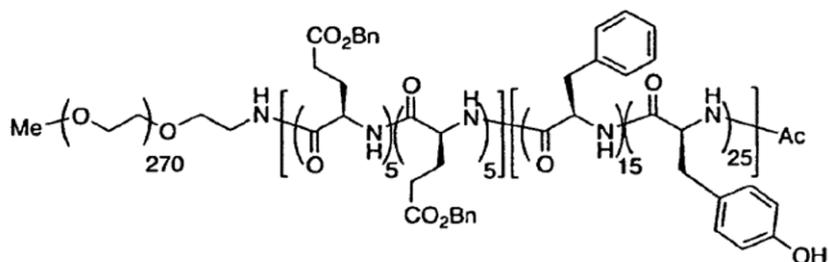
10 **Ejemplo 40**



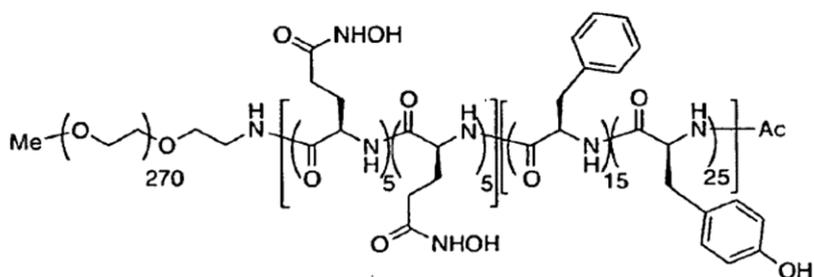
mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método del Ejemplo 39 y sustitución de TBD con 2-hidroxipiridina (0,3 equiv.), la reacción durante 137 horas a temperatura ambiente y desarrollo como anteriormente, proporcionó el producto del título (Rendimiento = 91,2%) como un polímero incoloro, fino con un ligero olor de ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

Ejemplo 41



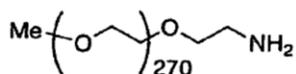
1. NH₂OH, H₂O,
2. OH pyr, THF, RT
2. THF, acetona (3,2),
- HOAc (cat), 2 hr



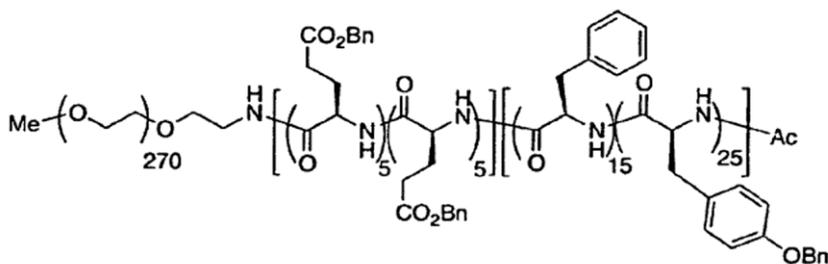
mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método del Ejemplo 38 y sustitución de TBD con 2-hidroxipiridina (0,3 equiv.), la reacción a 50°C durante 24,5 horas y desarrollo como anteriormente, proporcionó el producto del título (Rendimiento = 91,2%) como un polímero incoloro, fino con un ligero olor de ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

Ejemplo 42



1. Tolueno, 60 °C, azeótropo al vacío
2. Glu(OBn)NCA, d-Glu(OBn)NCA, NMP, RT
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA, RT -> 35 °C
4. Ac₂O, NMM, DMAP, RT



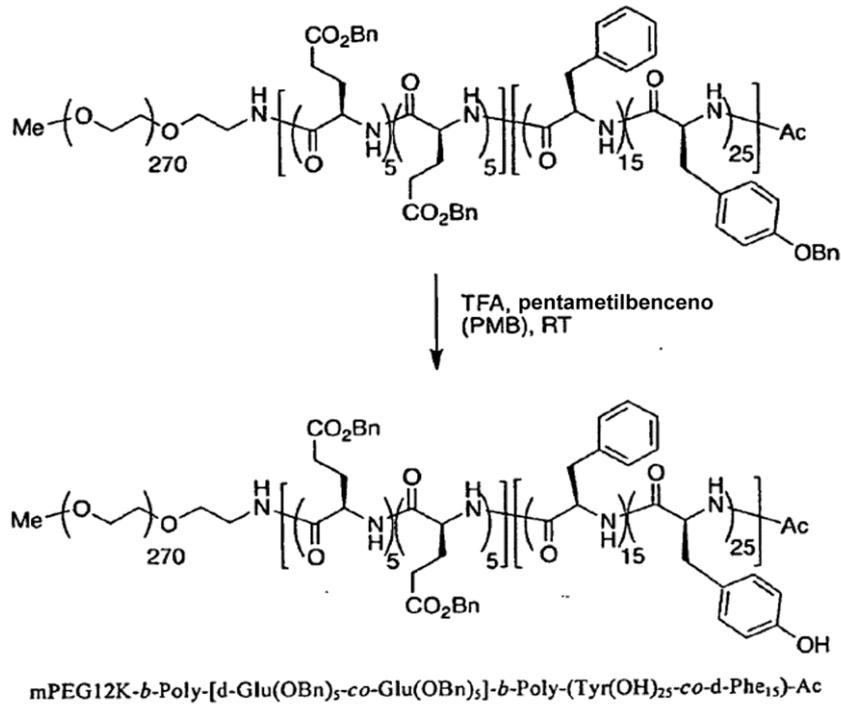
mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poly-(Tyr(OBn)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

10

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(Tyr(OBn)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac. Usando el

protocolo detallado en el Ejemplo 36 y sustituyendo los materiales de partida de NCA apropiados se proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 5 volúmenes de isopropanol. Después de la filtración y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 84,2%) se obtuvo como un sólido inodoro, incoloro, fino. ^1H RMN (d_6 -DMSO): idéntico al Ejemplo 36.

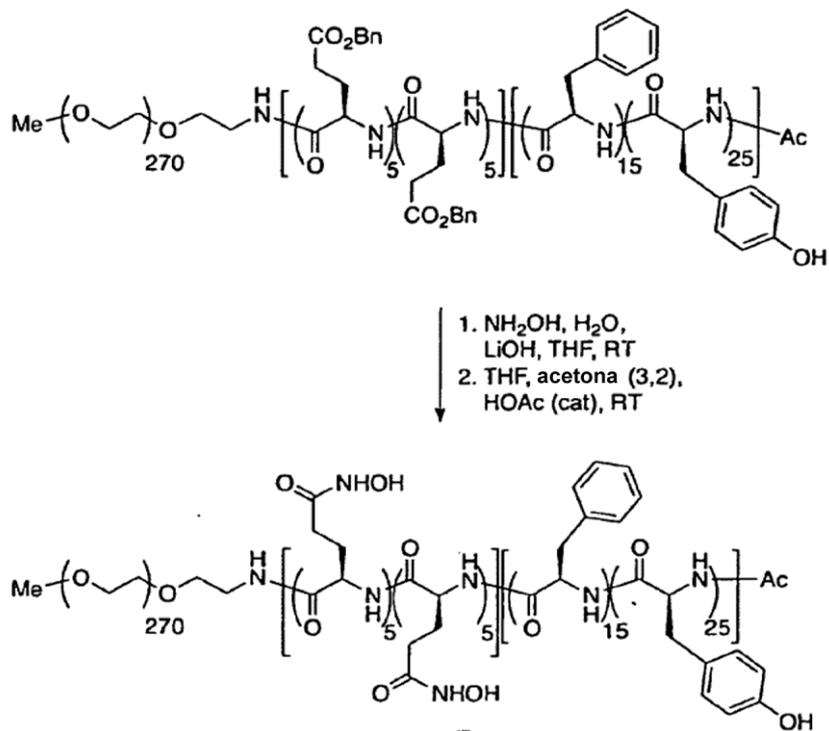
5

Ejemplo 43

10 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método del Ejemplo 37, la reacción de mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OBn)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac con PMB en TFA durante cuatro horas a temperatura ambiente y precipitación de una mezcla de clorobutano, TBME: 1,3 proporcionó el producto del título (Rendimiento = 93,1%) como un polímero fino, incoloro, inodoro. ^1H RMN (d_6 -DMSO): idéntico al Ejemplo 37.

15

Ejemplo 44

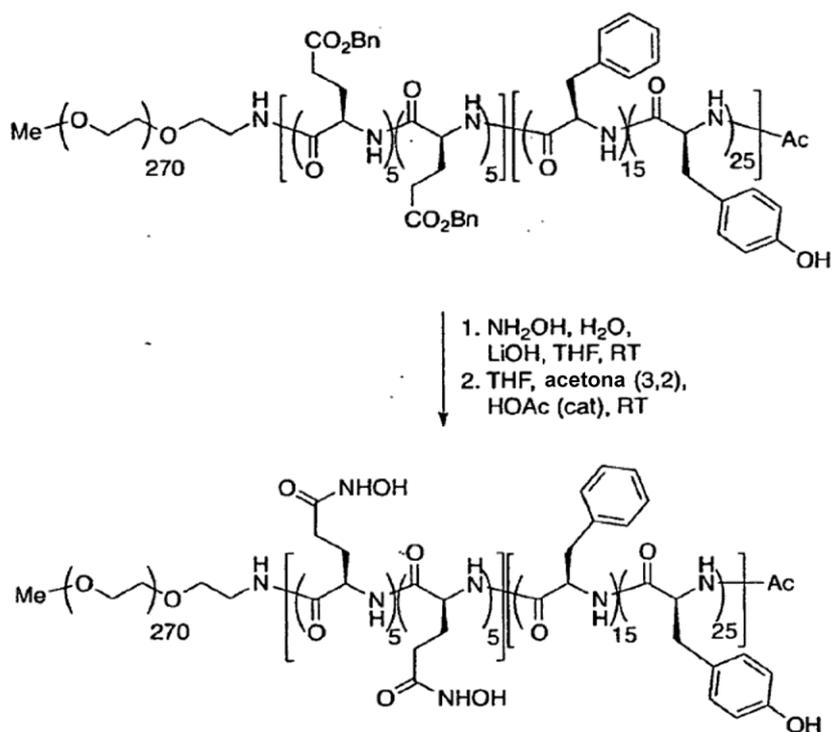


mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** mPEG12K-*b*-
 Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac (4,10 g, 0,20 mmol) se disolvió en 41 ml de THF
 seco y se trató con solución de hidroxilamina (acuosa al 50%, 40,0 mmol, 2,65 ml, 20 equiv./fracción de éster Bn) e
 hidróxido de litio monohidrato (84,0 mg, 2,0 mmol, 1,0 equiv./fracción de éster Bn). La solución amarillo pálido
 transparente resultante se agitó a temperatura ambiente durante 22 horas en N₂ y se diluyó con 41 ml de IPA. El
 producto crudo se precipitó de 160 ml de TBME con agitación rápida. El sólido resultante se recolectó por filtración,
 se secó al vacío, y se disolvió nuevamente en una mezcla de 24 ml de THF seco y 16 ml de acetona. La solución se
 trató con ácido acético (0,18 g, 3,00 mmol, 0,17 ml), brevemente se calentó a reflujo, y se dejó agitar a temperatura
 ambiente durante 15 horas. El producto se precipitó por adición de volúmenes de TBME, se recolectó por filtración
 por succión, se lavó con porciones nuevas de TBME, y se secó durante la noche al vacío para proporcionar 3,62 g
 (Rendimiento = 91,7%) del compuesto del título como un polímero espumoso, casi incoloro. ¹H RMN (d₆-DMSO):
 idéntico al Ejemplo 38.

15

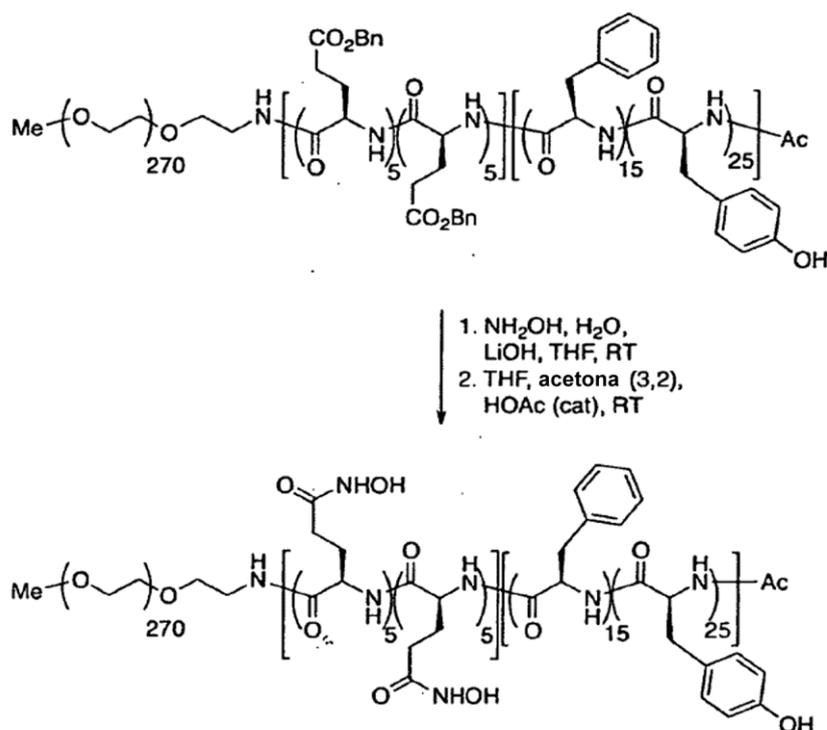
Ejemplo 45



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac. Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 44, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando hidróxido de litio monohidrato (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 18 horas. El producto crudo se precipitó de 16 volúmenes de IPA y el sólido resultante se trató con THF, acetona, y ácido acético como se detalla en el Ejemplo 44. Después de la precipitación de dos volúmenes de TBME, filtración, y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 96,2%) se obtuvo como un sólido fino, incoloro. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

Ejemplo 46

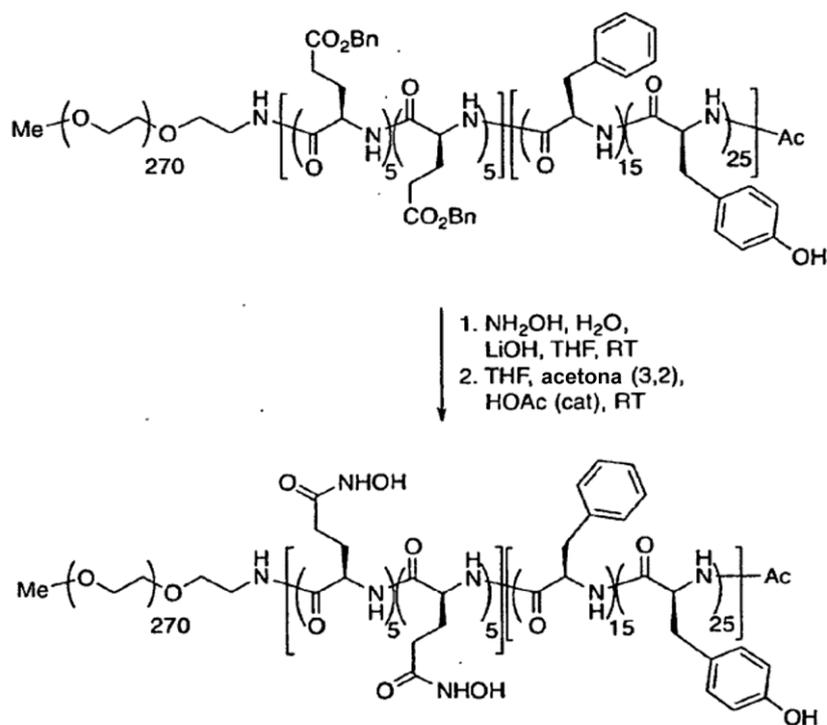


mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac. mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac (2,05 g, 0,10 mmol) se disolvió en 21 ml de metanol y se trató con solución de hidroxilamina (acuosa al 50%, 20,0 mmol, 1,32 ml, 20 equiv./fracción de éster Bn) y solución de hidróxido de litio 1M (1,0 ml, 1,0 mmol, 1,0 equiv./fracción de éster Bn). La solución amarilla pálida resultante se agitó a temperatura ambiente durante 22 horas en N_2 y después se agregó una porción adicional de solución de hidróxido de litio 1M (1,0 ml, 1,0 mmol, 1,0 equiv./fracción de éster Bn). Después de unas 24 horas adicionales, el producto crudo se precipitó de 160 ml de TBME. El sólido resultante se recolectó por filtración, se secó al vacío, y se disolvió nuevamente en una mezcla de 12 ml de THF seco y 8 ml de acetona. La solución se trató con ácido acético (0,21 g, 3,50 mmol, 0,20 ml), brevemente se calentó a reflujo, y se dejó agitar a temperatura ambiente durante 16 horas. El producto se precipitó por adición de 40 ml de TBME, se recolectó por filtración por succión, se lavó con porciones nuevas de TBME, y se secó durante la noche al vacío para proporcionar 1,87 g (Rendimiento = 94,9%) del compuesto del título como un polímero espumoso, casi incoloro. ^1H RMN (d_6 -DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

15

Ejemplo 47

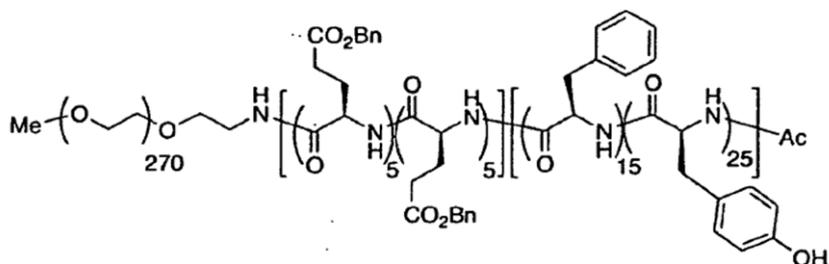


mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

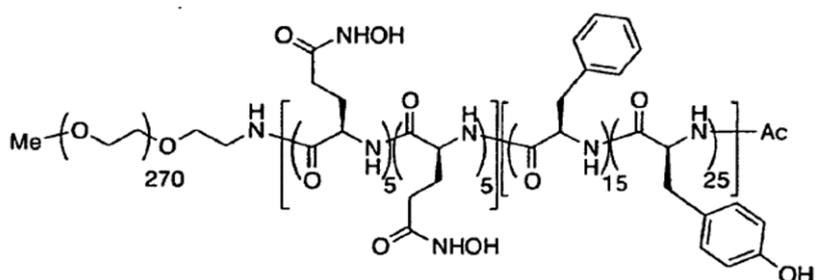
5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 44, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando solución de hidróxido de litio (0,5 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 72 horas. La solución se diluyó con un volumen de IPA, y el producto crudo se precipitó de dos volúmenes de TBME. El sólido resultante se trató con THF, acetona, y ácido acético como se detalla en el Ejemplo 44. Después de la precipitación de dos volúmenes de TBME, filtración, y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 91,1%) se obtuvo como un sólido fino, incoloro. RMN ¹H (d₆-DMSO): idéntico al

10 Ejemplo 38.

Ejemplo 48



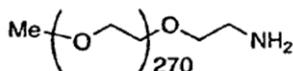
1. NH_2OH , H_2O ,
KOH, THF, RT
2. THF, acetona (3,2),
HOAc (cat), RT



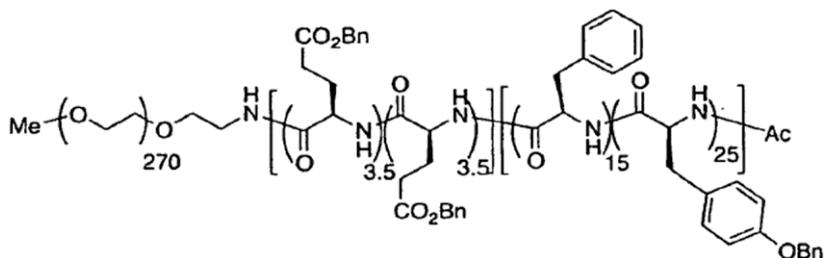
mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac. Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 47, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando solución de hidróxido de potasio 1M (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 6 horas. El desarrollo proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = 92,4%) como un sólido fino, incoloro. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

Ejemplo 49



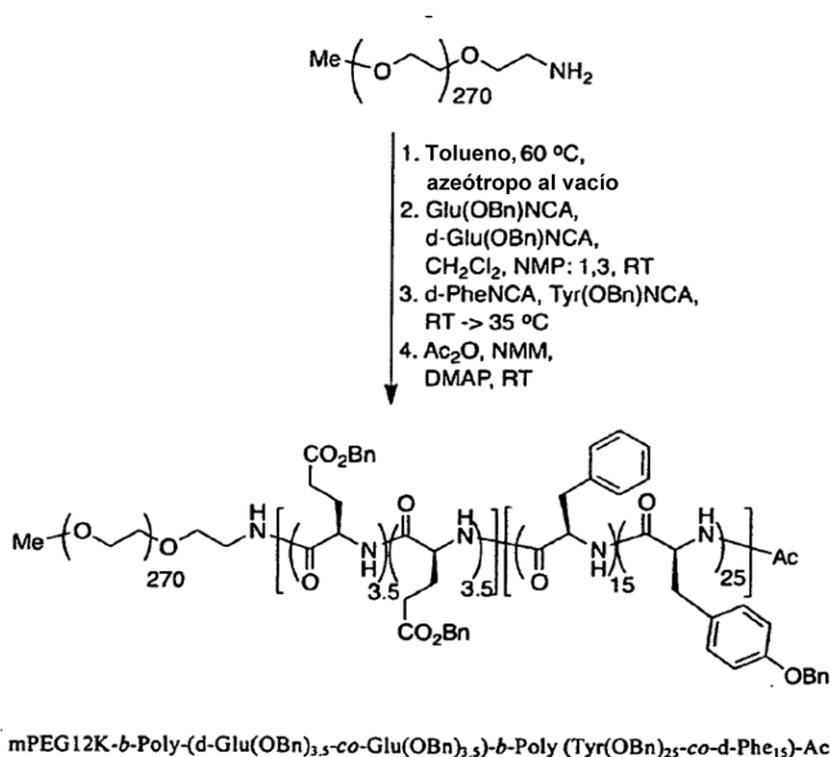
1. Tolueno, 60 °C,
azeótropo al vacío
2. Glu(OBn)NCA,
d-Glu(OBn)NCA,
CH₂Cl₂, NMP: 1,1, RT
3. d-PheNCA, Tyr(OBn)NCA,
RT → 35 °C
4. Ac₂O, NMM,
DMAP, RT



mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)_{3,5}-*co*-Glu(OBn)_{3,5})-*b*-Poly (Tyr(OBn)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

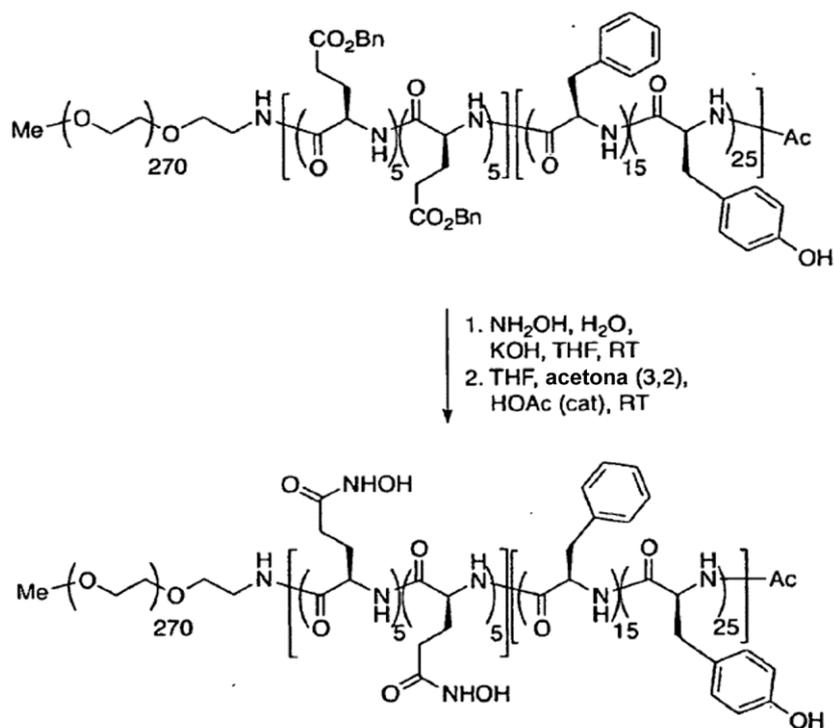
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{3,5}-*co*-Glu(OBn)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OBn)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac. m-PEG10k-NH₂, (59,86 g, 5,0 mmol) se pesó en un matraz de fondo redondo de 1 L, secado en horno, se disolvió en tolueno (450 ml), y se secó por destilación azeotrópica. Después de la destilación a sequedad, el polímero se dejó al vacío durante 16 horas. El matraz subsecuentemente se rellenó con N₂, se vació nuevamente a presión reducida, y se introdujeron N-metilpirrolidona seca (NMP, 250 ml) y después diclorometano (250 ml) por cánula. La mezcla se calentó de forma breve a 40°C para facilitar la disolución y después se enfrió nuevamente a 25°C. Se agregaron Glu(OBn) NCA (4,61 g, 17,5 mmol) y d-Glu(OBn) NCA (4,61 g, 17,5 mmol) al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 24 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, se agregaron d-Phe NCA (14,34 g, 75,0 mmol) y Tyr(OBn) NCA (37,16 g, 125,0 mmol) y la solución se dejó agitar a temperatura ambiente durante tres días y después se calentó a 35 °C durante 7 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (5,11 g, 50,0 mmol, 4,80 ml), N-metilmorfolina (NMM) (5,56 g, 55,0 mmol, 6,1 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,61 g, 5,0 mmol). La agitación continuó durante 18 horas a temperatura ambiente y el diclorometano se removió en el evaporador rotatorio. El polímero se precipitó en isopropanol (2,6 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 500 ml de isopropanol fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro, fino (102,40 g, Rendimiento = 92,6%). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,42-7,80 (teo. 47H, obs. 44H), 7,35 (teo. 75H, obs. 75H), 7,28-6,65 (teo. 125H, obs. 125H), 5,10-4,84 (teo. 64H, obs. 59H), 4,64-4,20 (teo. 47H, obs. 39H), 3,72-3,25 (teo. 1087H, obs. 16713H), 3,00-2,20 (teo. 80H, obs. 88H), 2,03-1,60 (teo. 28H, obs. 27H).

20 Ejemplo 50



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{3,5}-*co*-Glu(OBn)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OBn)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac. Usando el protocolo detallado en el Ejemplo 49 con N-metilpirrolidona seca (NMP, 125 ml) y diclorometano (375 ml) como solventes se proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 5 volúmenes de isopropanol. Después de la filtración y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 96,5%) se obtuvo como un sólido inodoro, incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 49.

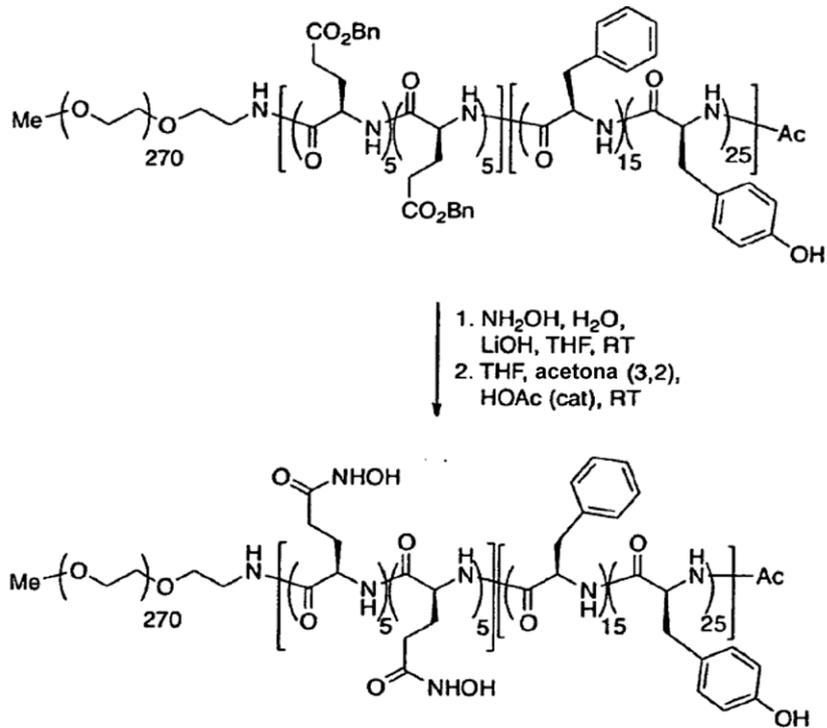
30 Ejemplo 51



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac (4,10 g, 0,20 mmol) se disolvió en 41 ml de THF y se trató con solución de hidroxilamina (2,65 ml, 40,0 mmol) y hidróxido de potasio 1 M (2,0 ml, 2,0 mmol, 1,0 equiv./fracción de éster Bn). La solución rosa ligeramente turbia resultante se agitó a temperatura ambiente durante 42 horas en N₂ y después se diluyó con acetona (58,1 g, 1,0 mol, 74 ml). Se agregó ácido acético (2,40 g, 40,0 mmol, 2,3 ml), la solución se calentó de forma breve a reflujo, y después se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos, filtración y secado al vacío dió el compuesto del título (Rendimiento = 92,9%) como un sólido fino, incoloro. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

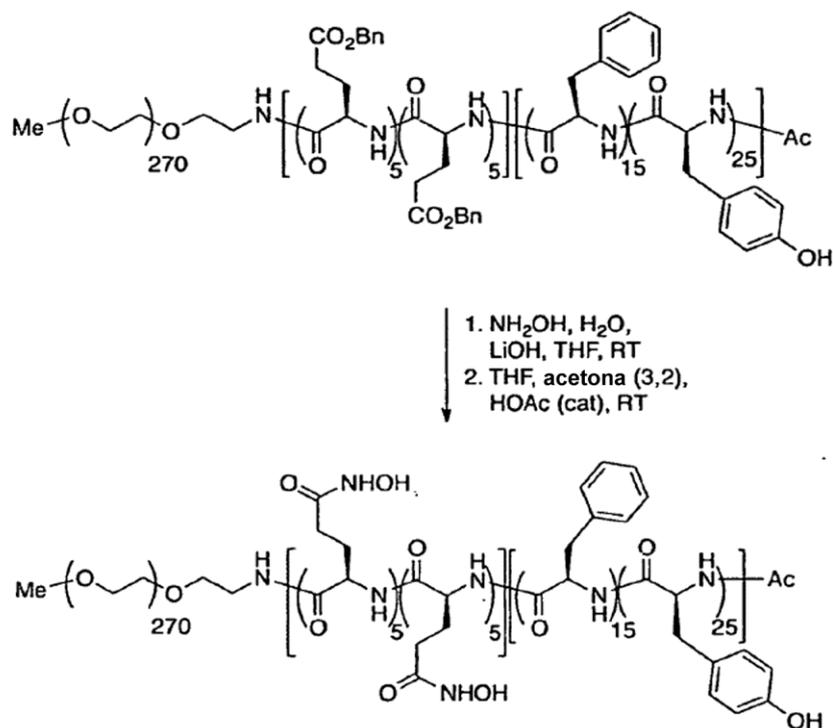
Ejemplo 52



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 51, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando solución de hidróxido de litio 1 M (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 6 horas. Desarrollo como anteriormente y dilución con IPA (1 volumen) seguido por precipitación con TBME (3 volúmenes) proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = 90,6%) como un sólido fino, incoloro. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

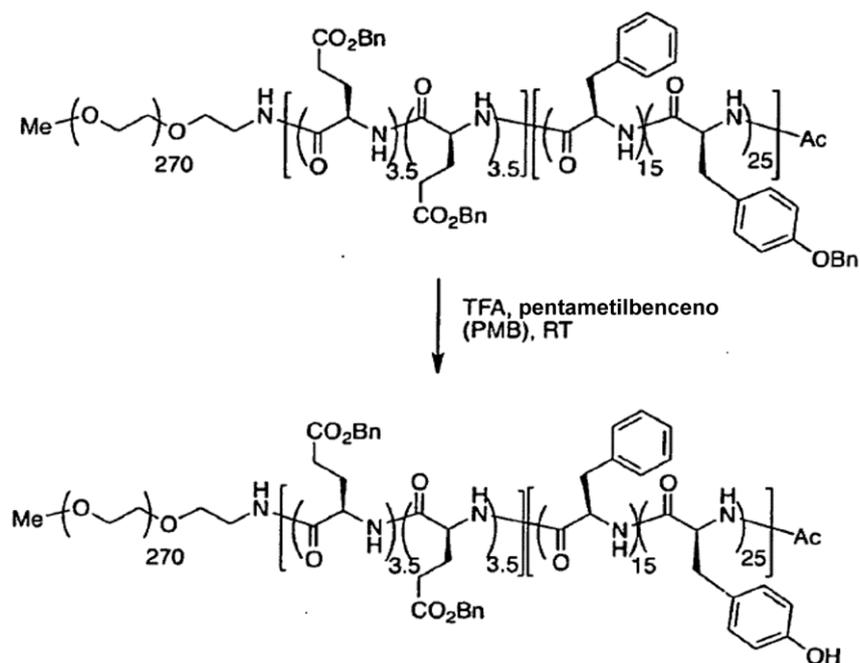
10 **Ejemplo 53**



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 52, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando hidróxido de litio monohidrato sólido (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 6 horas. El desarrollo proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = 99,2%) como un sólido fino, incoloro. ¹H RMN (d_6 -DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

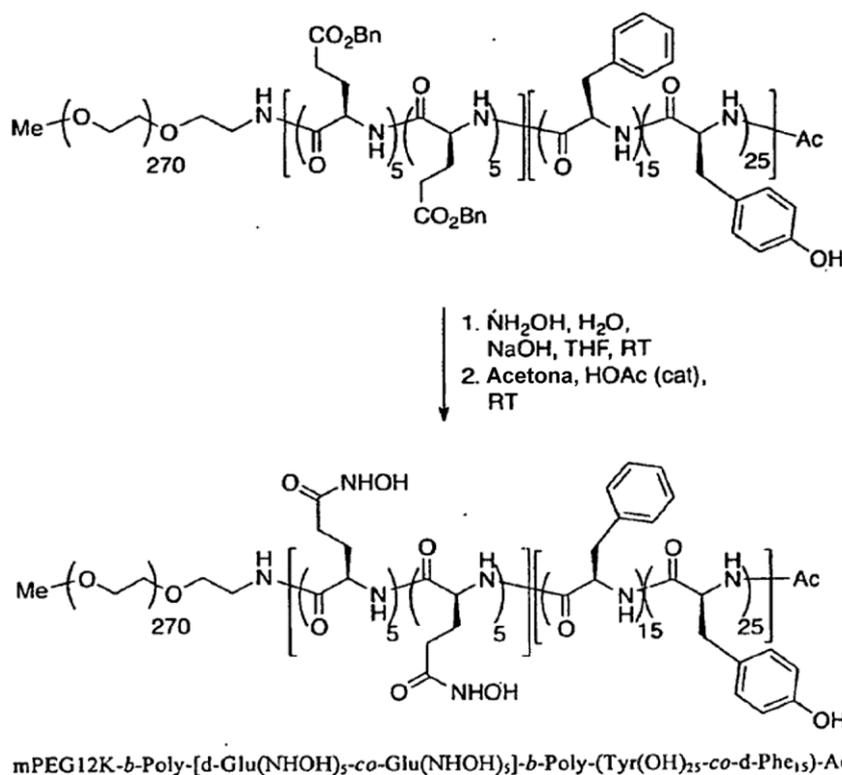
Ejemplo 54



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(OH)_{3.5}-*co*-Glu(OH)_{3.5}]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

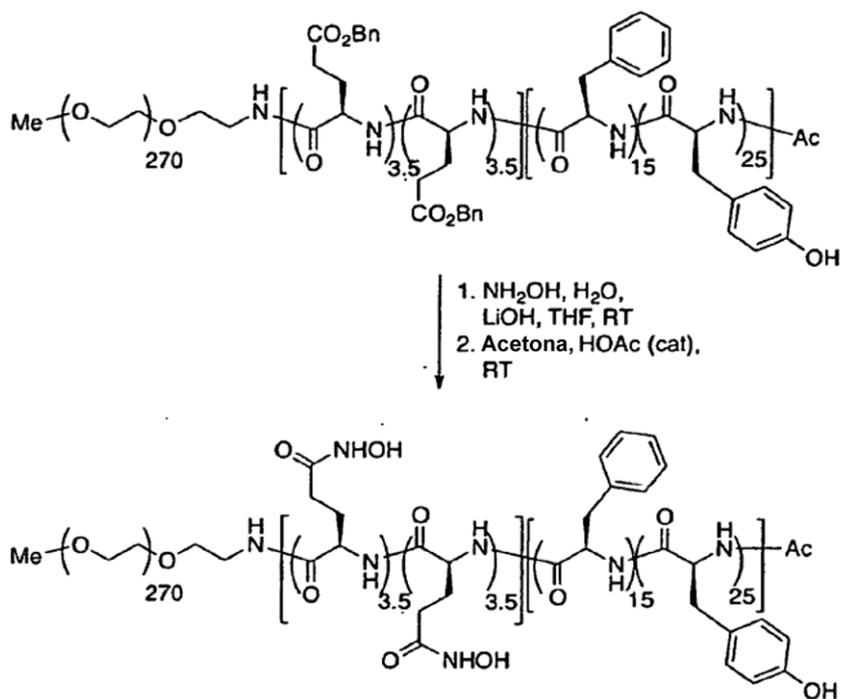
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)_{3,5}-co-Glu(OBn)_{3,5}]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac. Usando el método del Ejemplo 37, la reacción de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)_{3,5}-co-Glu(OBn)_{3,5}]-*b*-Poli-(Tyr(OBn)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac con PMB en TFA durante 3,5 horas a temperatura ambiente y precipitación de una mezcla de diclorometano, TBME: 1,7 proporcionó el producto del título (Rendimiento = 96,1%) como un polímero fino, incoloro, inodoro. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09 (teo. 25H, obs. 22H), 8,46-7,79 (teo. 47H, obs. 48H), 7,40-6,45 (teo. 210H, obs. 229H), 5,04 (teo. 14H, obs. 13H), 4,65-4,20 (teo. 47H, obs. 47H), 3,81-3,15 (teo. 1087H, obs. 1308H), 3,03-2,10 (teo. 80H, obs. 78H), 2,06-1,62 (teo. 40H, obs. 27H).

Ejemplo 55



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac. Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 51, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando solución de hidróxido de sodio 4 M (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 4 horas. La solución se diluyó con acetona (0,30 volúmenes en base al volumen de la mezcla de reacción total) y se agregó ácido acético (1,0 equiv./hidroxilamina). Después de 14 horas, el producto crudo se precipitó de tres volúmenes de TBME, se agitó durante tres días, y se filtró. La torta del filtro se lavó con TBME (50 ml), TBME, IPA: 20,1 (50 ml) y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título (Rendimiento = 93,5%) como un sólido fino, incoloro con un ligero olor de ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

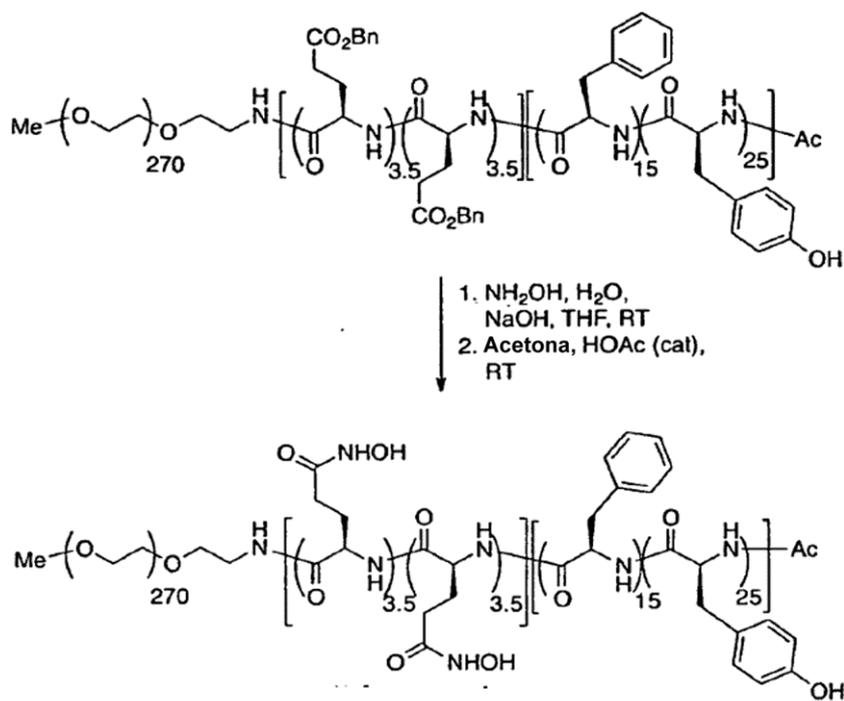
Ejemplo 56



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)_{3,5}-*co*-Glu(NHOH)_{3,5}]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)_{3,5}-*co*-Glu(NHOH)_{3,5}]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac. Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 52, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)_{3,5}-*co*-Glu(OBn)_{3,5}]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando hidróxido de litio monohidrato sólido (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 6 horas. El desarrollo proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = 94,9%) como un sólido fino, incoloro con un ligero olor de ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 10,2-9,2 (teo. 25H, obs. 19H), 8,52-7,90 (teo. 47H, obs. 38H), 7,40-6,49 (teo. 175H, obs. 175H), 4,63-4,00 (teo. 47H, obs. 42H), 3,84-3,11 (teo. 1087H, obs. 1496H, contiene pico de H₂O enmascarado), 3,00-2,20 (teo. 80H, obs. 78H), 2,16-1,60 (teo. 28H, obs. ~26H, contiene solapamiento de pico HOAc a δ 1,69).

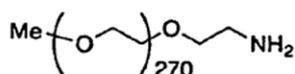
Ejemplo 57



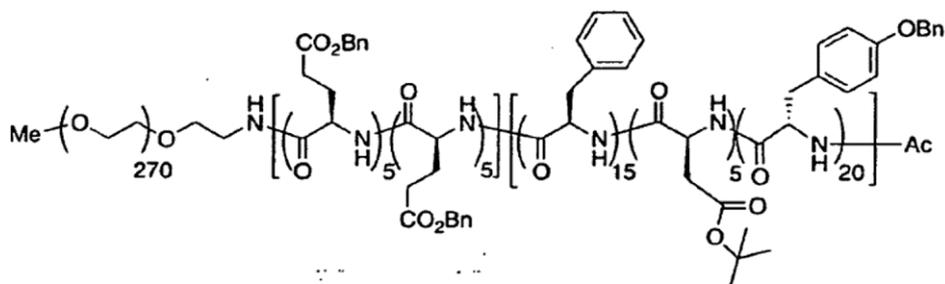
mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)_{3,5}-*co*-Glu(NHOH)_{3,5}]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)_{3,5}-*co*-Glu(NHOH)_{3,5}]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 52, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)_{3,5}-*co*-Glu(OBn)_{3,5}]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando solución de hidróxido de sodio 10 M (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 3 horas. El desarrollo proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = 85,8%) como un sólido fino, incoloro con un ligero olor de ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 56.

10 **Ejemplo 58**



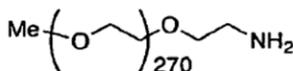
1. Tolueno, 60 °C, azeótropo al vacío
2. Glu(OBn)NCA, d-Glu(OBn)NCA, CH₂Cl₂, DMAC: 2,1, RT, 22 hr
3. d-PheNCA, Asp(OtBu)NCA, Tyr(OBn)NCA, RT -> 35 °C, 22 hr
4. Ac₂O, NMM, DMAP, RT



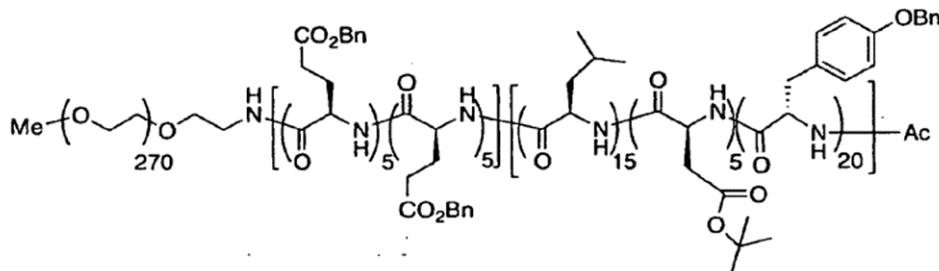
mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poly(d-Phe₁₅-*co*-Asp(OtBu)₅-*co*-Tyr(OBn)₂₀)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli(d-Phe₁₅-co-Asp(OtBu)₅-co-Tyr(OBn)₂₀)-Ac.

Usando el método detallado en el Ejemplo 49 con diclorometano anhidro (2 partes) y N,N-dimetilacetamida (DMAC, 1 parte) como solventes y sustituyendo los bloques de construcción de NCA apropiados se proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 5 volúmenes de isopropanol. Después de filtración y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 95,4%) se obtuvo como un sólido inodoro, incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,57-7,75 (teo. 50H, obs. 47H), 7,41-6,67 (teo. 305 H, obs. 305H), 5,10-4,85 (teo. 60 H, obs. 59H), 4,70-4,18 (teo. 50H, obs. 49H), 3,72-3,25 (teo. 1087H, obs. 1131H), 3,05-2,20 (teo. 80H, obs. 100H), 2,05-1,58 (teo. 40H, obs. 25H), 1,38-1,20 (teo. 45H, obs. 40H).

Ejemplo 59

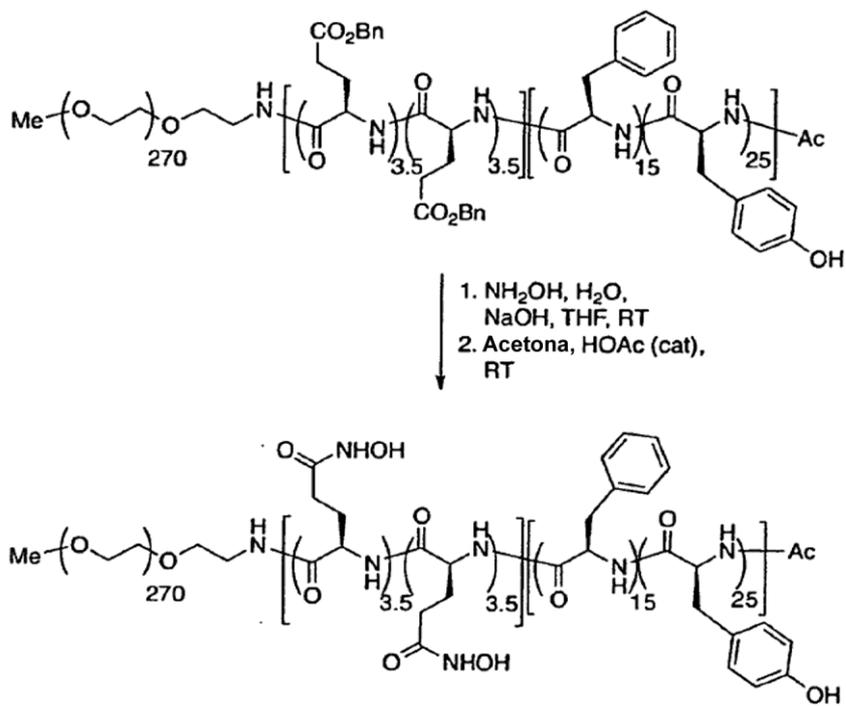
1. Tolueno, 60 °C, azeótropo al vacío
2. Glu(OBn)NCA, d-Glu(OBn)NCA, CH₂Cl₂, DMAC: 2,1, RT, 23 hr
3. d-LeuNCA, Asp(OtBu)NCA, Tyr(OBn)NCA, RT -> 35 °C, 21 hr
4. Ac₂O, NMM, DMAP, RT



mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poly(d-Leu₁₅-co-Asp(OtBu)₅-co-Tyr(OBn)₂₀)-Ac

mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(d-Leu₁₅-co-Asp(OtBu)₅-co-Tyr(OBn)₂₀)-Ac. Usando el método detallado en el Ejemplo 58 y sustituyendo los bloques de construcción de NCA apropiados proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 5 volúmenes de isopropanol. Después de filtración y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 95,5%) se obtuvo como un sólido inodoro, incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,45-7,78 (teo. 50H, obs. 47H), 7,45-6,67 (teo. 230H, obs. 230H), 5,10-4,80 (teo. 60 H, obs. 59H), 4,65-4,00 (teo. 50H, obs. 52H), 3,70-3,25 (teo. 1087H, obs. 1196H), 3,05-2,55 (teo. 40H, obs. 41H), 2,48-2,30 (teo. 40H, obs. 33H), 2,05-1,71 (teo. 40H, obs. 25H), 1,69-1,02 (teo. 60H, obs. 65H), 0,95-0,55 (teo. 90H, obs. 83H).

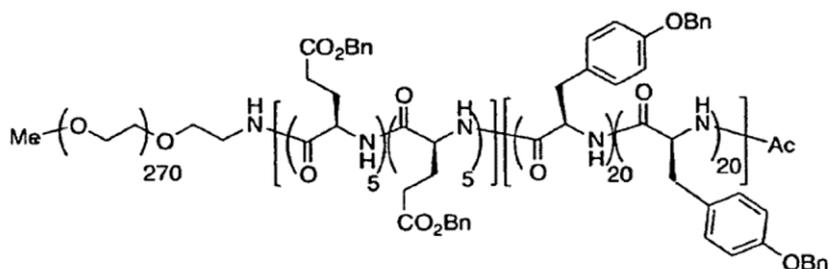
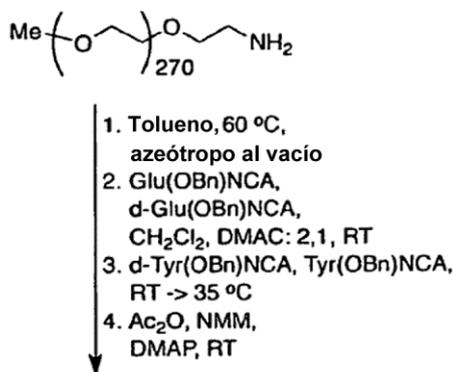
Ejemplo 60



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)_{3,5}-co-Glu(NHOH)_{3,5}]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)_{3,5}-co-Glu(NHOH)_{3,5}]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 57, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)_{3,5}-co-Glu(OBn)_{3,5}]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando solución de hidróxido de sodio 4 M (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 16 horas. El desarrollo con tres veces el volumen normal de IPA seguido por precipitación con TBME proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = 92,7%) como un sólido color crema pálido, fino con un ligero olor de ácido acético.

10 **Ejemplo 61**

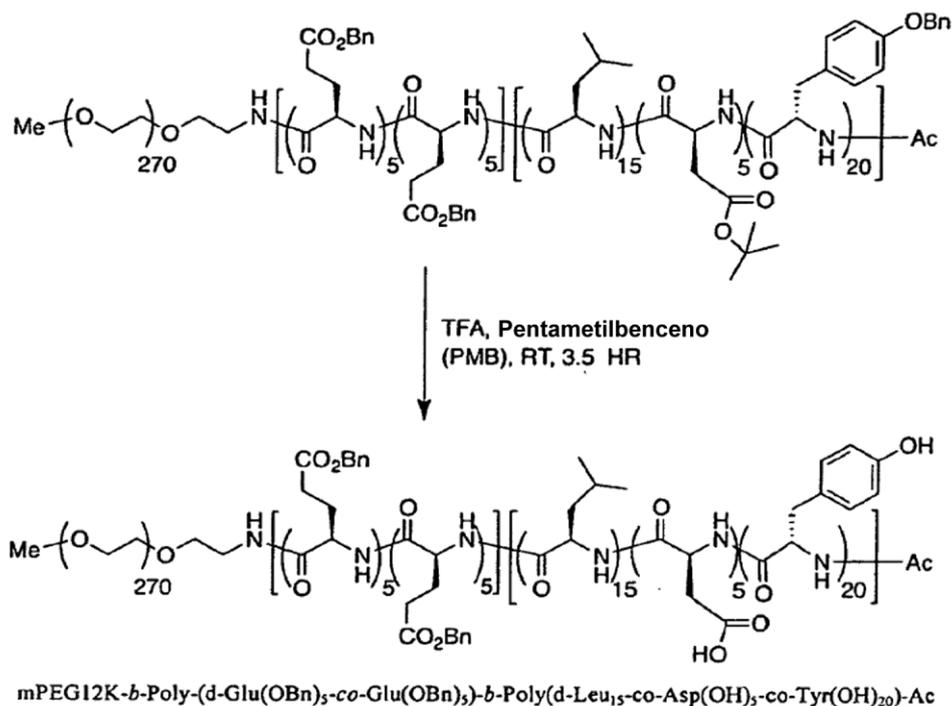


mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poly-(d-Tyr(OBn)₂₀-co-Tyr(OBn)₂₀)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(d-Tyr(OBn)₂₀-co-Tyr(OBn)₂₀)-Ac. Usando el

método de solvente de reacción mezclado detallado en el Ejemplo 58 y sustituyendo los bloques de construcción de NCA apropiados proporcionó un polímero crudo que se precipitó con 9 volúmenes de isopropanol. Después de la filtración y secado al vacío, el compuesto del título (Rendimiento = 96,6%) se obtuvo como un sólido inodoro, incoloro, fino. ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ 8,44-7,80 (teo. 50H, obs. 47H), 7,40-6,75 (teo. 410H, obs. 410H), 5,11-4,84 (teo. 100H, obs. 94H), 4,60-4,20 (teo. 50H, obs. 52H), 3,70-3,25 (teo. 1087H, obs. 1605H), 3,00-2,28 (teo. 80H, obs. 95H), 2,03-1,60 (teo. 40H, obs. 31H).

Ejemplo 62

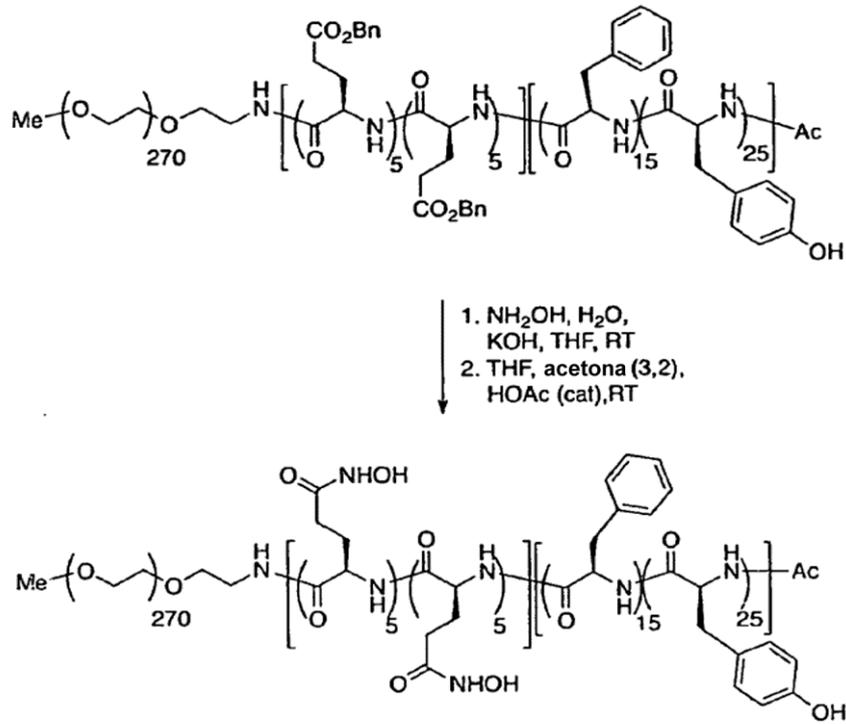


10

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(d-Leu₁₅-*co*-Asp(OH)₅-*co*-Tyr(OH)₂₀)-Ac.

Usando el método del Ejemplo 54, la reacción de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(d-Leu₁₅-*co*-Asp(OtBu)₅-*co*-Tyr(OBn)₂₀)-Ac con PMB en TFA durante 3,5 horas a temperatura ambiente y precipitación de una mezcla de diclorometano, TBME: 1,6 proporcionó el producto del título (Rendimiento = 95,5%) como un polímero fino, incoloro, inodoro. ^1H RMN (d_6 -DMSO) δ 9,15 (teo. 20H, obs. 18H), 8,43-7,60 (teo. 50H, obs. 47H), 7,40-6,45 (teo. 130H, obs. 130H), 5,04 (teo. 20H, obs. 13H), 4,65-4,00 (teo. 50H, obs. 48H), 3,85-3,15 (teo. 1087H, obs. 1334H), 3,01-2,10 (teo. 80H, obs. 80H), 2,05-1,65 (teo. 40H, obs. 42H), 1,63-0,55 (teo. 90H, obs. 75H).

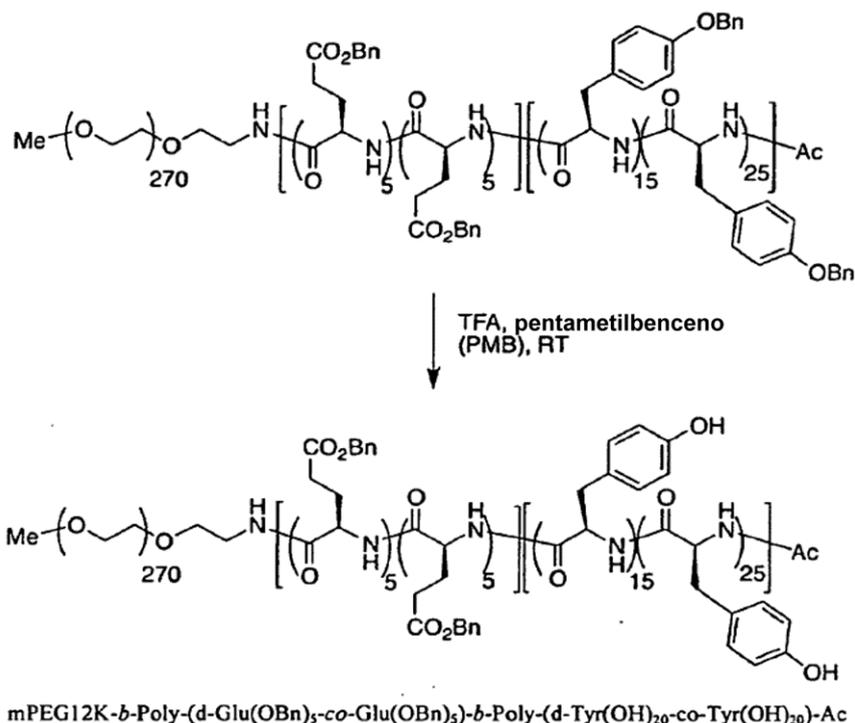
20 Ejemplo 63



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

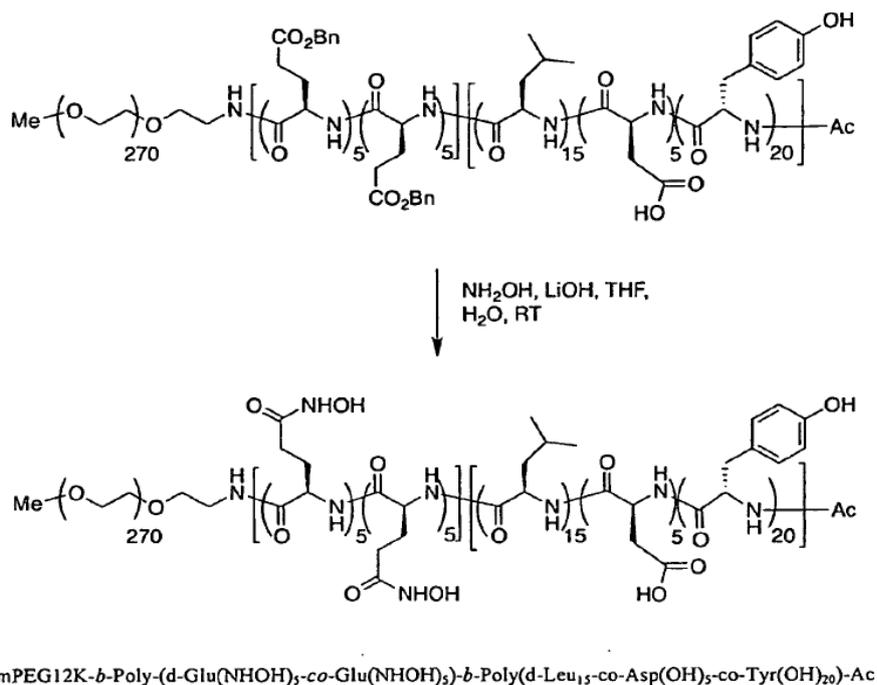
5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 47, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando hidróxido de potasio sólido (2,0 equiv./fracción de éster Bn) disuelto previamente en la solución de hidroxilamina. El tiempo de reacción fue 5,5 horas. El desarrollo proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = 74,0%) como un sólido fino, incoloro con un ligero olor de ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

10 **Ejemplo 64**



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(d-Tyr(OH)₂₀-co-Tyr(OH)₂₀)-Ac. Usando el método del Ejemplo 54, la reacción de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(d-Tyr(OBn)₂₀-co-Tyr(OBn)₂₀)-Ac con PMB en TFA durante 4,5 horas a temperatura ambiente y precipitación de una mezcla de diclorometano, TBME: 1,5 proporcionó el producto del título (Rendimiento = 97,7%) como un sólido inodoro, incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,1 (teo. 40H, obs. 33H), 8,36-7,77 (teo. 50H, obs. 52H), 7,40-6,45 (teo. 210H, obs. 234H), 5,04 (teo. 20H, obs. 17H), 4,60-4,20 (teo. 50H, obs. 50H), 4,02-3,15 (teo. 1087H, obs. 1384H, contiene pico de agua oscurecido), 3,00-2,10 (teo. 80H, obs. 78H), 2,06-1,62 (teo. 40H, obs. 39H).

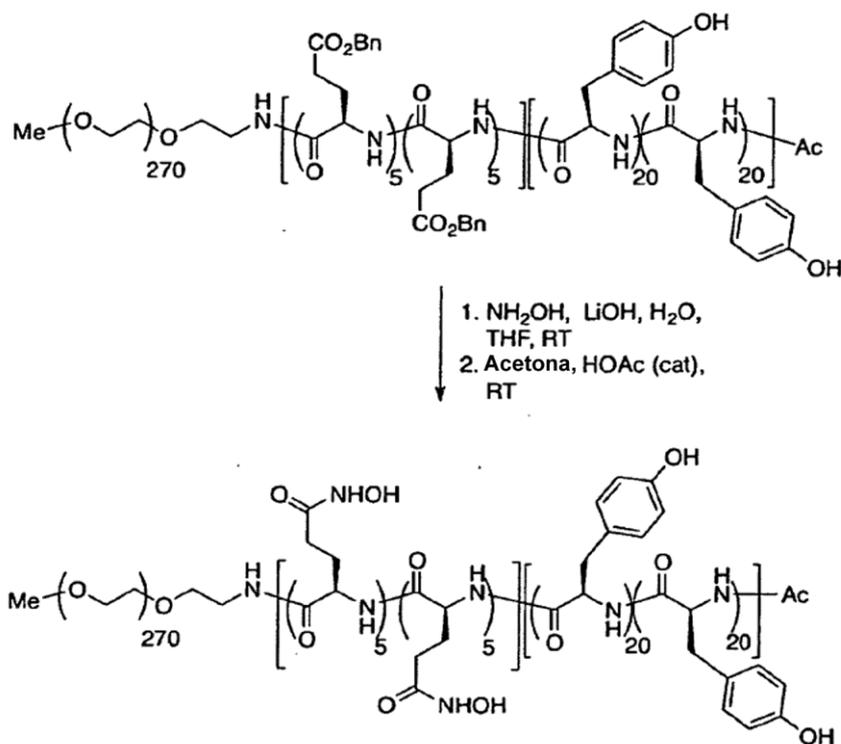
Ejemplo 65



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅)-*b*-Poli-(d-Leu₁₅-co-Asp(OH)₅-co-Tyr(OH)₂₀)-Ac. Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 52, mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(d-

Leu₁₅-co-Asp(OH)₅-co-Tyr(OH)₂₀-Ac se convirtió al compuesto del título usando hidróxido de litio monohidrato (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 15 horas. El desarrollo seguido por precipitación con IPA, TBME proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = cuantitativo) como un sólido fino, incoloro con un ligero olor de ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 10,2-9,0 (teo. 40H, obs. 31H), 8,65-7,75 (teo. 50H, obs. 37H), 7,27-6,50 (teo. 80H, obs. 80H), 4,61-4,00 (teo. 50H, obs. 58H), 3,90-3,15 (teo. 1087H, obs. 1356H), 3,02-2,20 (teo. 80H, obs. 100H), 2,40-1,70 (teo. 40H, obs. ~47H, contiene solapamiento de pico de HOAc a δ 1,69), 1,63-0,55 (teo. 105H, obs. 96H).

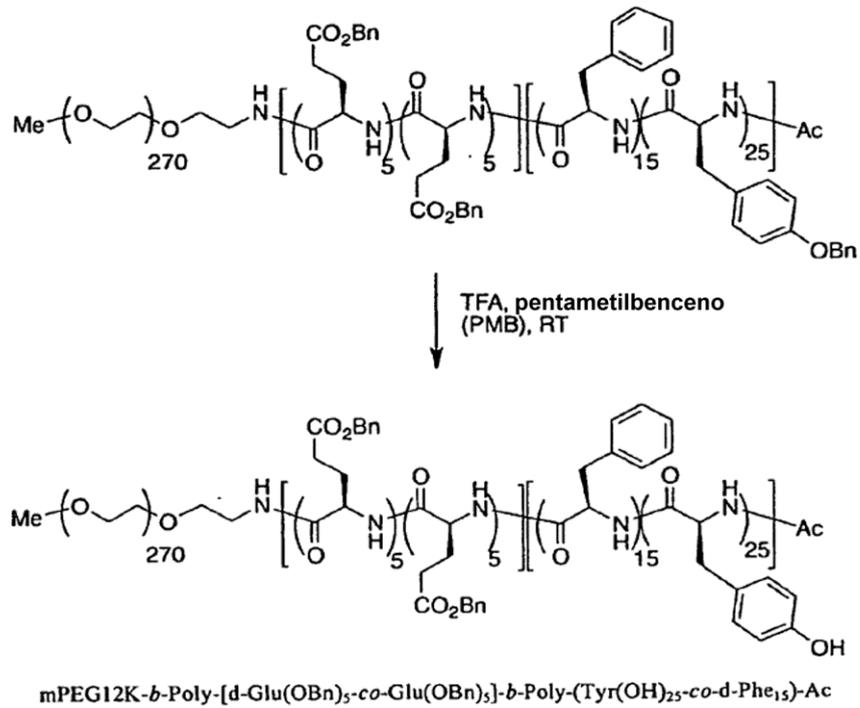
Ejemplo 66



mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅)-*b*-Poly-(d-Tyr(OH)₂₀-co-Tyr(OH)₂₀)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅)-*b*-Poli-(d-Tyr(OH)₂₀-co-Tyr(OH)₂₀)-Ac. Usando el método descrito anteriormente en el Ejemplo 52, mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(d-Tyr(OH)₂₀-co-Tyr(OH)₂₀)-Ac se convirtió al compuesto del título usando hidróxido de litio monohidrato (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 5,5 horas. El desarrollo seguido por precipitación con IPA, TBME proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = 93,2%) como un sólido fino, incoloro con un ligero olor de ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,55 (teo. 40H, obs. 26H), 8,45-7,90 (teo. 50H, obs. 34H), 7,37-6,51 (teo. 160H, obs. 166H), 4,55-4,10 (teo. 50H, obs. 50H), 3,80-3,20 (teo. 1087H, obs. 1269H, contiene pico de agua oscurecido), 3,00-2,20 (teo. 80H, obs. 108H), 2,18-1,60 (teo. 40H, obs. 39H, contiene solapamiento de pico de HOAc a δ 1,69).

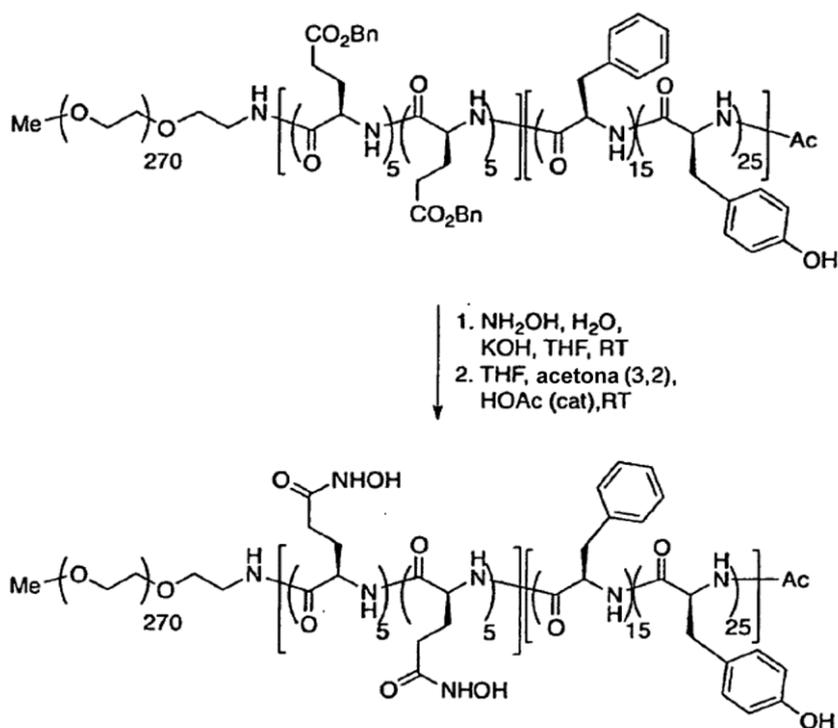
Ejemplo 67



5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método del Ejemplo 43, la reacción de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OBn)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac con PMB en TFA durante 3,5 horas a temperatura ambiente dio un producto crudo, el cual se disolvió en diclorometano (2 volúmenes) y después se precipitó de TBME (5 volúmenes). La filtración y secado proporcionó el producto del título (Rendimiento = 93,1%) como un sólido inodoro, incoloro, fino. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 37.

Ejemplo 68

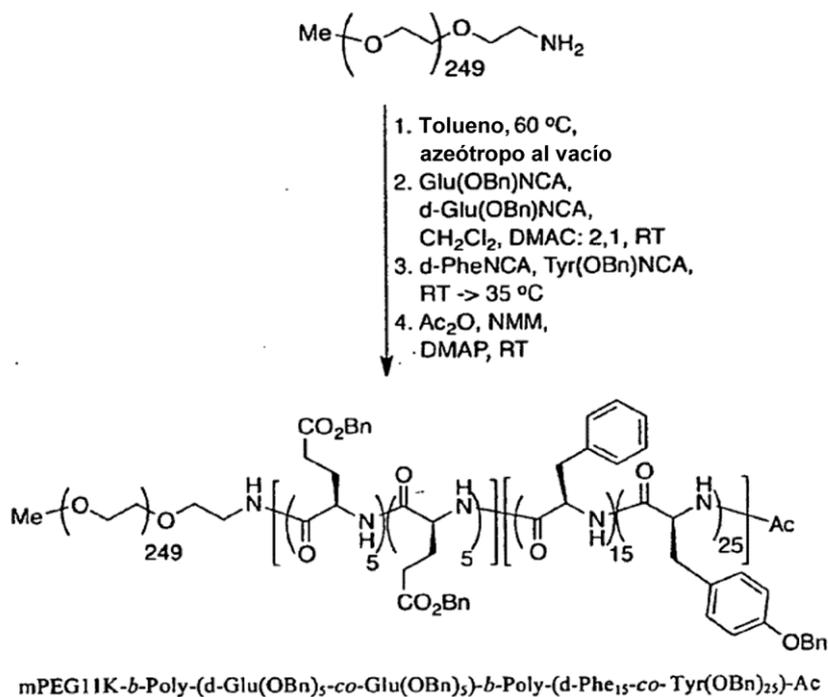
10



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** mPEG12K-*b*-
 Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac (38,94 g, 1,90 mmol) se disolvió en 390 ml de THF
 y se trató con solución de hidroxilamina (25,2 ml, 380,0 mmol) y solución de hidróxido de potasio 4 M (9,5 ml, 38,0
 mmol, 2,0 equiv./fracción de éster Bn). La solución amarilla pálido ligeramente turbia resultante se agitó a
 temperatura ambiente durante 5,5 horas en N_2 y después se diluyó con acetona (220,7 g, 3,8 mol, 280 ml). Se
 10 agregó ácido acético (22,82 g, 380,0 mmol, 21,7 ml), la solución se calentó de forma breve a reflujo, y después se
 agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La solución se diluyó con 280 ml de acetona y el producto se
 precipitó por adición de TBME (5 L) y éter dietílico (1L) usando agitación mecánica vigorosa. Después de enfriar a -
 25°C y agitación durante 30 minutos adicionales, filtración y secado al vacío proporcionó el compuesto del título
 (35,98 g, Rendimiento = 87,3%) como un sólido fino, incoloro con un ligero olor de ácido acético. ^1H RMN (d_6 -
 DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

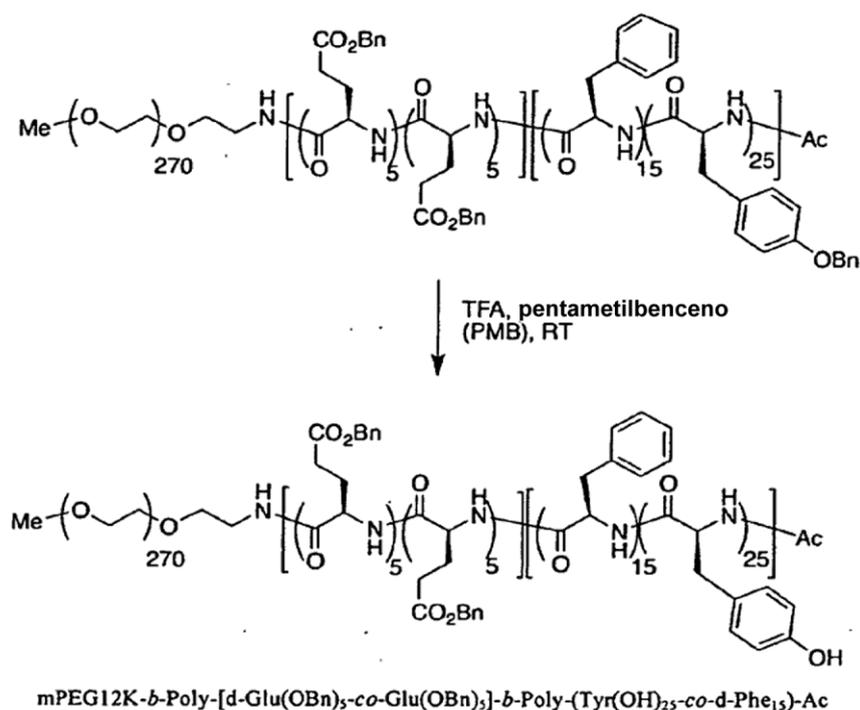
15 **Ejemplo 69**



5 **Síntesis de mPEG11K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli-(d-Phe₁₅-*co*-Tyr(OBn)₂₅)-Ac.** Utilizando el método del cosolvente de diclorometano, DMAC detallado en el Ejemplo 58 con m-PEG11k-NH₂ (1,10 kg, 100,0 mmol) y los bloques de construcción de NCA apropiados proporcionó una solución de polímero crudo en DMAC que se precipitó con 8 volúmenes de isopropanol. Después de la filtración, el producto crudo se sometió a suspensión en 5 volúmenes de isopropanol durante dos horas. El sólido resultante se filtró, se lavó con IPA/Et₂O, Et₂O fresco y después se secó en un horno de vacío durante la noche para proporcionar 2130 g (rendimiento del 97,8%) de producto como un sólido casi incoloro, inodoro. ¹H-RMN (d₆-DMSO) δ 8,45-7,85 (teo. 50H, obs. 50H), 7,45-6,60 (teo. 350H, obs. 350H), 5,10-4,84 (teo. 70H, obs. 68H), 4,65-4,20 (teo. 50H, obs. 48H), 3,72-3,25 (teo. 1000H, obs. 1120H), 3,05-2,55 (teo. 50H, obs. 49H), 2,44-1,60 (teo. 70H, obs. 68H).

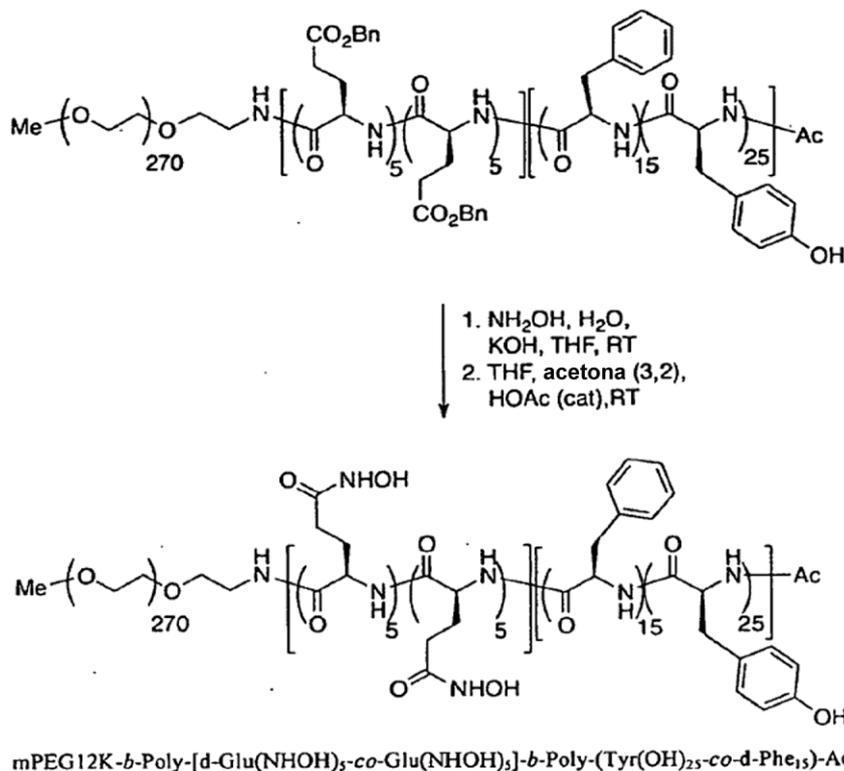
10

Ejemplo 70



5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método del Ejemplo 37, la reacción de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OBn)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac con PMB en TFA durante tres horas a temperatura ambiente y precipitación de una mezcla de diclorometano, TBME: 1, 5 proporcionó el producto del título (Rendimiento = 92,7%) como un polímero fino, incoloro, inodoro. ¹H RMN (d₆-DMSO) idéntico al Ejemplo 37.

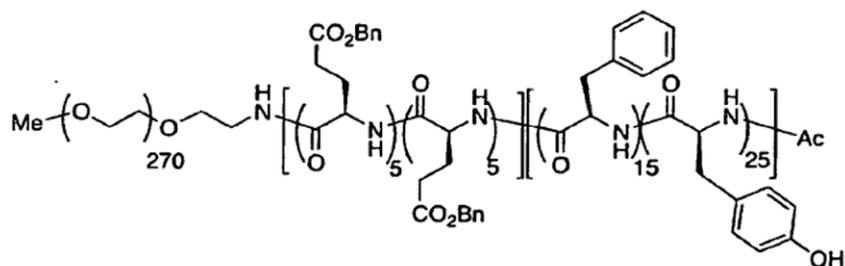
Ejemplo 71



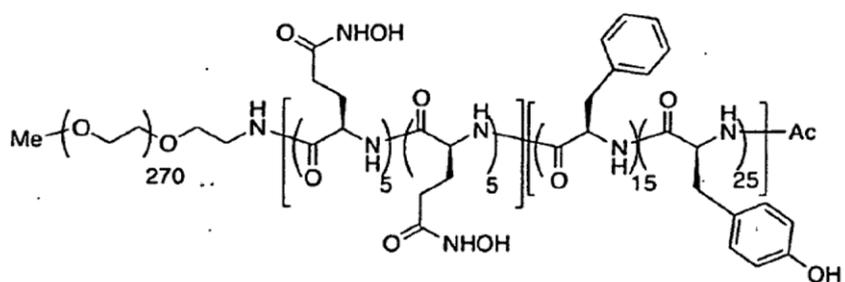
10

15 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método descrito en el Ejemplo 52, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando solución de hidroxilamina (5 equiv./fracción de éster) y solución de hidróxido de potasio 4 M (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 5,25 horas. El desarrollo en acetona/ácido acético, precipitación con IPA, TBME: 1, 2 y trituración adicional de la torta del filtro con IPA, TBME: 1, 2 y secado al vacío proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = 89,9%) como un sólido color crema con un ligero olor de ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

20 **Ejemplo 72**



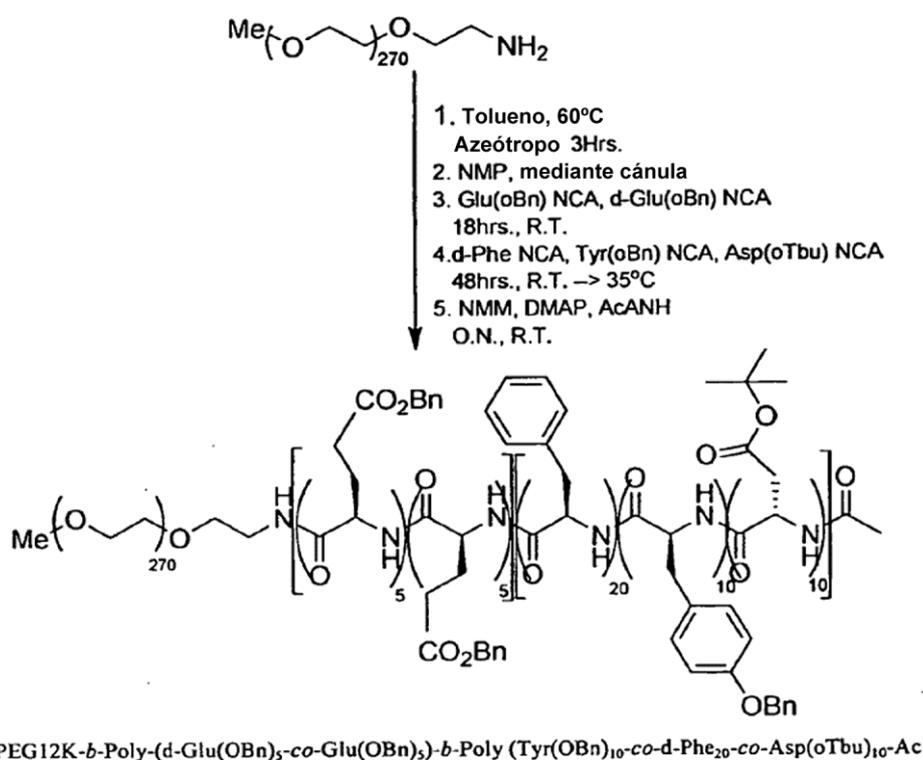
1. NH_2OH , H_2O ,
 KOH , THF, RT
 2. THF, acetona (3,2),
 HOAc (cat), RT



mPEG12K-*b*-Poly-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poly-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac. Usando el método descrito en el Ejemplo 71, mPEG12K-*b*-Poli-[d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅]-*b*-Poli-(Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac se convirtió al compuesto del título usando solución de hidroxilamina (10 equiv./fracción de éster) y solución de hidróxido de potasio 4 M (2,0 equiv./fracción de éster Bn). El tiempo de reacción fue 5,5 horas. El desarrollo en acetona/ácido acético, precipitación con IPA, TBME: 1, 4 y secado al vacío proporcionó el compuesto del título (Rendimiento = 82,9%) como un sólido fino, incoloro con un ligero olor de ácido acético. ¹H RMN (d₆-DMSO): idéntico al Ejemplo 38.

Ejemplo 73

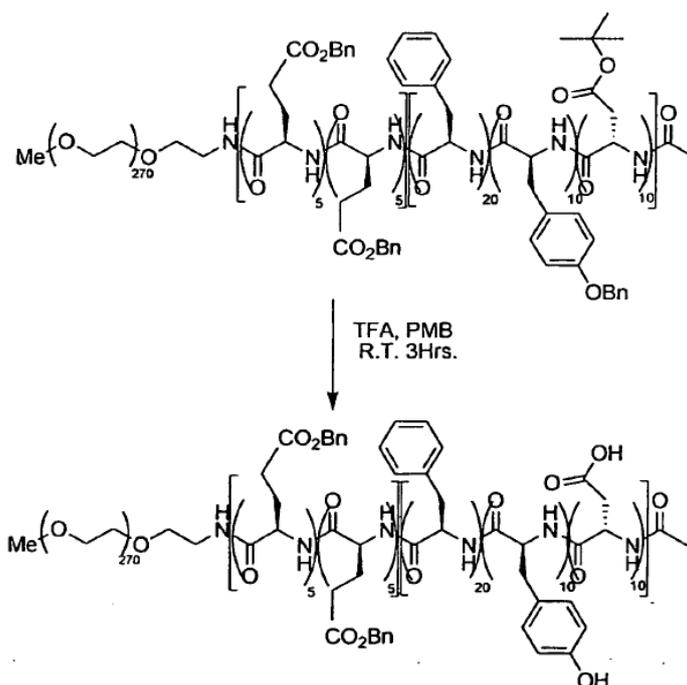


Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OBn)₁₀-*co*-d-Phe₂₀-*co*-Asp(oTbu)₁₀-Ac.

mPEG12K-NH₂ preparado de la misma manera que en el Ejemplo 3, se pesó (30g, 2,5mmol) en un matraz de fondo redondo de 500 ml limpio y se disolvió completamente en tolueno y se secó por destilación azeotrópica. Se recolectó tolueno en un segundo matraz de fondo redondo de 500 ml enfriado con nitrógeno, por medio de un puente de cristal sencillo. El sólido resultante se dejó secar completamente durante tres horas. Al sólido seco recién destilado se agregó N-metilpirrolidina por medio de cánula y se transfirió al vacío. Esta mezcla se dejó disolver completamente antes de la adición de NCA. El NCA preparado del Ejemplo 8 y ejemplo 9 por lo tanto, se pesó en un matraz de fondo redondo de dos cuellos limpio Glu(oBn) NCA (2,87g) d-Glu(oBn) NCA (2,87g) y se vació durante una hora antes de que este sólido se disolviera completamente en NMP, y después se canuló al matraz que contiene el PEG. Esta polimerización se agitó a temperatura ambiente y se siguió por GPC (DMF, LiBr al 0,1%) para asegurar la terminación (aproximadamente 16 hrs). Al término de la polimerización de este primer bloque de NCA, la segunda adición de NCA se realizó de la misma manera que la primera, y consistía en d-Phe (9,5 g) del Ejemplo 7, Tyr(oBn) (7,4g) del Ejemplo 6, y Asp(oTbu) (5,38g) del Ejemplo 5. Esto se dejó polimerizar a temperatura ambiente durante dos horas y después se calentó a 35°C hasta el término (aproximadamente 24 hrs). Una vez confirmado por GPC, se agregó N-Metil-Morfolina (2,5 g, 2,7 ml, 25 mmol), DMAP (0,3 g, 2,5 mmol), y anhídrido acético (2,5 g, 2,36 ml, 25 mmol), a la solución de reacción se agitó durante la noche. Esta mezcla de reacción se vertió en un vaso de precipitado de dos litros con una barra agitadora magnética, y se agregó lentamente éter dietílico hasta que se observó un precipitado blanco. Este sólido se filtró y se lavó en una frita de cristal sinterizado de porosidad media. Este sólido se secó al vacío, se caracterizó con ¹H RMN y GPC. (rendimiento = 74,8%, 40 gramos). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,42-7,70, 7,30, 6,95, 5,10-4,9, 4,65-4,20, 3,77-3,25, 3,05-2,45, 2,44-1,60, 1,38-1,22.

Ejemplo 74

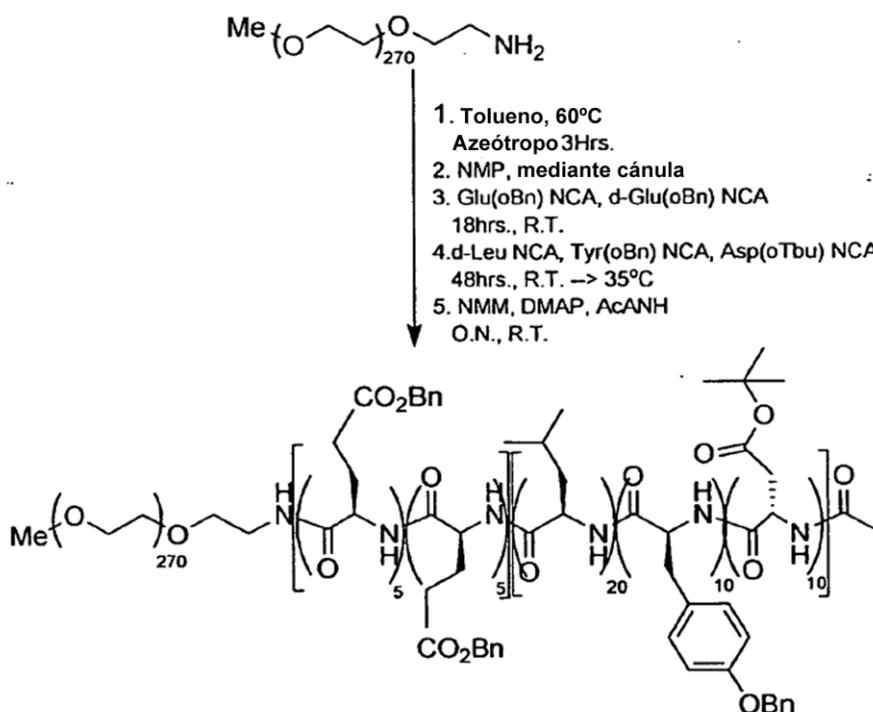
25



5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli (Tyr₁₀-co-d-Phe₂₀-co-Asp₁₀-Ac.** El copolímero tribloque protegido (Ejemplo 73) se pesó (30 g, 1,4 mmol) en un vaso de precipitado de 500 ml limpio y se disolvió en ácido trifluoroacético. Se agregó pentametilbenceno (4 g, 26,98 mmol) y se agitó con una barra agitadora magnética. La mezcla de reacción se agitó durante dos horas y se siguió por RMN para eliminación completa de los grupos protectores bencílicos en tirosina y grupo t-butilo en aspartato. Después del término de esta desprotección la solución se precipitó en éter dietílico frío. Este sólido se filtró después en una frita de cristal sinterizado mediano y se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y nuevamente precipitó en éter frío y se filtró. Este sólido (24,7g, Rendimiento= 88,4%) se secó al vacío y se caracterizó. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09, 8,50-7,75, 7,40-6,45, 5,03, 4,70-4,20, 3,91-3,05, 3,03-2,10, 2,09-1,50.

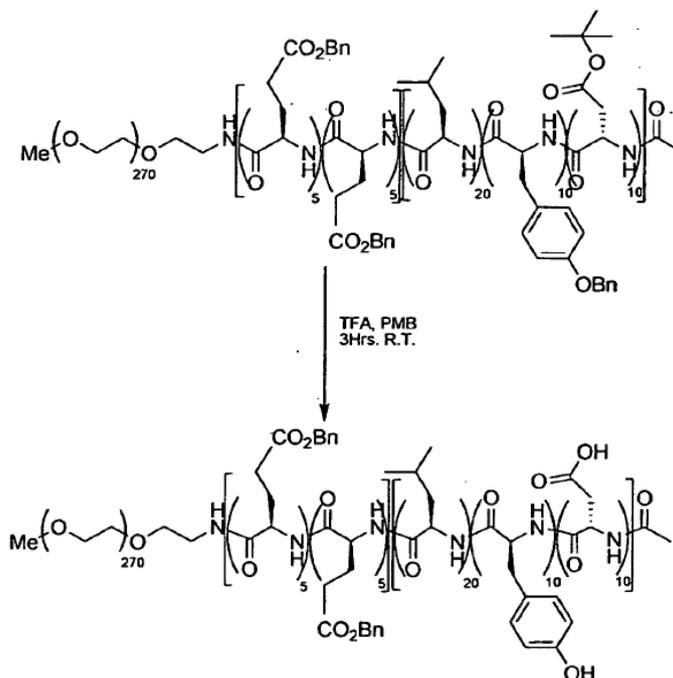
Ejemplo 75

15



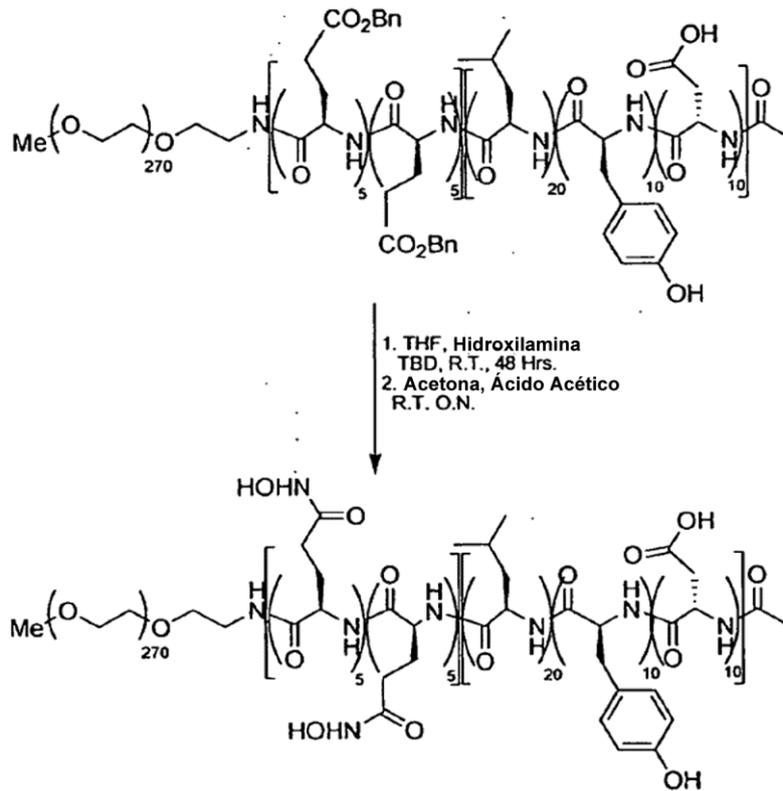
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(oBn)₅-co-Glu(oBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OBn)₁₀-co-d-Leu₂₀-co-Asp(oTbu)₁₀)-Ac.

Usando el protocolo general del Ejemplo 73 y sustituyendo los materiales de partida NCA apropiados, produjo el polímero crudo, este se precipitó con éter dietílico aproximadamente 10 volúmenes. Después de la filtración y secado el compuesto del título (Rendimiento = 80,2%) se recolectó como un sólido incoloro. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,50-7,75, 7,40-6,6, 5,03, 4,70-4,20, 3,69-3,09, 3,03-2,10, 2,09-1,50, 1,43-1,25, 0,85-0,62.

Ejemplo 76**Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(oBn)₅-co-Glu(oBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OH)₁₀-co-d-Leu₂₀-co-Asp(OH)₁₀)-Ac.**

Treinta y cuatro gramos del polímero tribloque protegido (Ejemplo 75) se pesaron en un vaso de precipitado de 500 ml limpio y se disolvió en ácido trifluoroacético (500 ml). A ésta solución (4 g, 27 mmol) se agregó pentametilbenceno y se agitó con una barra agitadora magnética. A los treinta minutos después de la adición de pentametilbenceno se observó un precipitado en solución. La mezcla de reacción se agitó durante 2,5 horas y se siguió por RMN para eliminación completa de los grupos protectores bencílicos en tirosina y grupo t-butilo en aspartato. Después del término de esta desprotección, la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa, se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y después se precipitó en éter dietílico frío. Este sólido se filtró después en una frita de cristal sinterizado mediano y se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y nuevamente precipitó en éter frío y se filtró. Este sólido se secó al vacío y se caracterizó. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09, 8,50-7,75, 7,45-6,55, 5,03, 4,65-4,00, 3,69-3,09, 3,03-2,10, 2,09-1,50, 0,85-0,55.

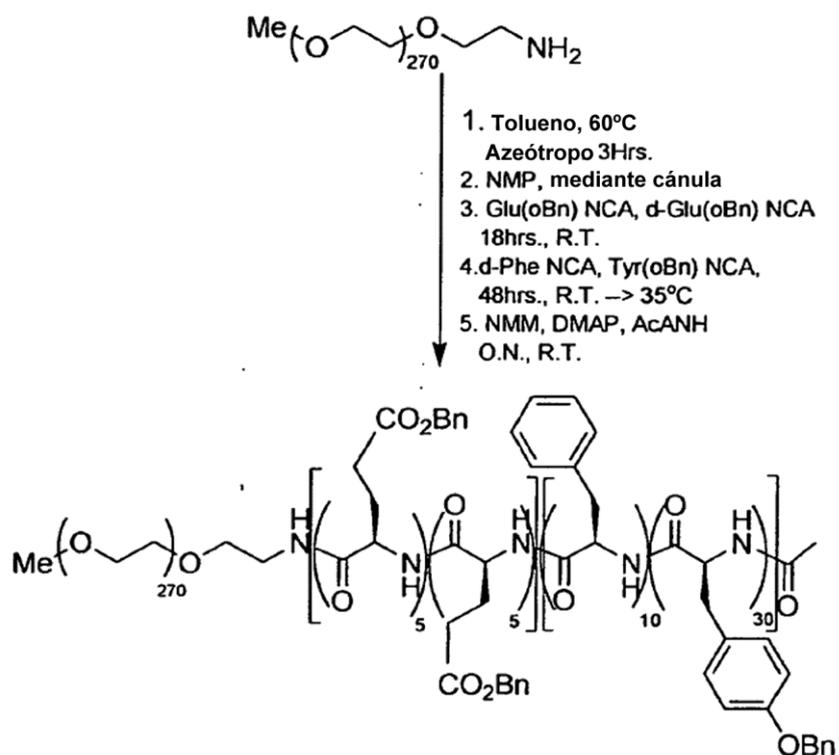
Ejemplo 77



5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-(d-Glu(NHOH))₅-*co*-Glu(NHOH)-*b*-Poli (Tyr(OH))₁₀-*co*-d-Leu₂₀-*co*-Asp₁₀-Ac.** Se pesó el éster tribloque (Ejemplo 76) (20 g, 0,96 mmol) en un en un matraz de fondo redondo de 500 ml limpio y se agregaron 200 ml de tetrahidrofurano y se disolvió completamente. A esta solución treinta equivalentes de hidroxilamina (1,9 ml, 28 mmol) y 0,5 g de catalizador TBD se agitaron en nitrógeno a 50°C durante la noche. El término se verificó por ¹H RMN. Esta solución se mezcló con 100 ml metanol y se precipitó con éter dietílico (aproximadamente 7 volúmenes). Este sólido blanco se recolectó por filtración y se lavó con éter dietílico fresco. El sólido recolectado se disolvió después en acetona y una cantidad catalítica de ácido acético se dejó agitar durante la noche. La solución se vertió en un vaso de precipitado limpio de dos litros y se agregó éter dietílico lentamente a la solución con agitación. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,4-8,6, 8,51-7,77, 7,44-7,57, 6,96, 6,56, 4,52-4,00, 3,75-3,29, 3,03-2,45, 2,08-1,21, 0,95-0,57.

10 **Ejemplo 78**

15



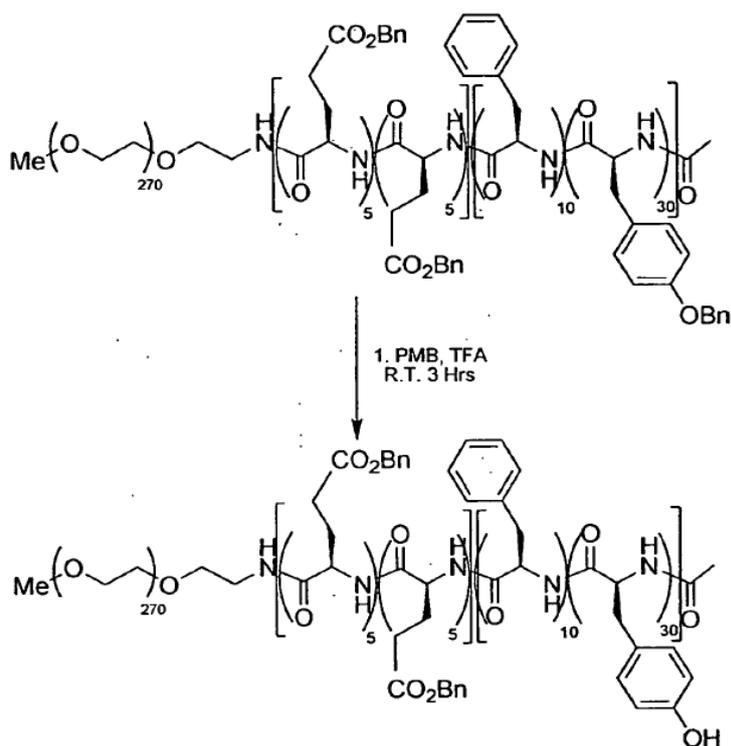
5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OBn)₃₀-co-d-Phe₁₀)-Ac.** El primer bloque del copolímero se preparó usando la misma escala y procedimiento que en el Ejemplo 73. Al término de este primer

10 bloque de NCA una segunda adición de NCA de d-Phe NCA (4,78 g, 25 mmol) preparado de la misma manera que en el Ejemplo 7, y de Tyr(OBn) NCA (22,29 g, 75 mmol) del procedimiento en el Ejemplo 6. Esta solución se dejó polimerizar a temperatura ambiente durante dos horas y después se calentó a 35°C hasta el término (aproximadamente 48 hrs). Una vez confirmado por GPC, se agregaron N-Metil-Morfolina (2,5 g, 2,7 ml, 25 mmol), DMAP (0,3 g, 2,5 mmol), y anhídrido acético (2,5 g, 2,36 ml, 25 mmol), a la solución de reacción se agitó durante la

15 noche. Este polímero protegido se desarrolló de la misma manera que en el Ejemplo 73. (rendimiento= 79,6%) aproximadamente 40 gramos. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,46-7,72, 7,44-6,57, 5,10-4,80, 4,62-4,13, 3,74-3,23, 3,03-2,77, 2,62-2,21, 2,02-1,56 (impurezas del solvente).

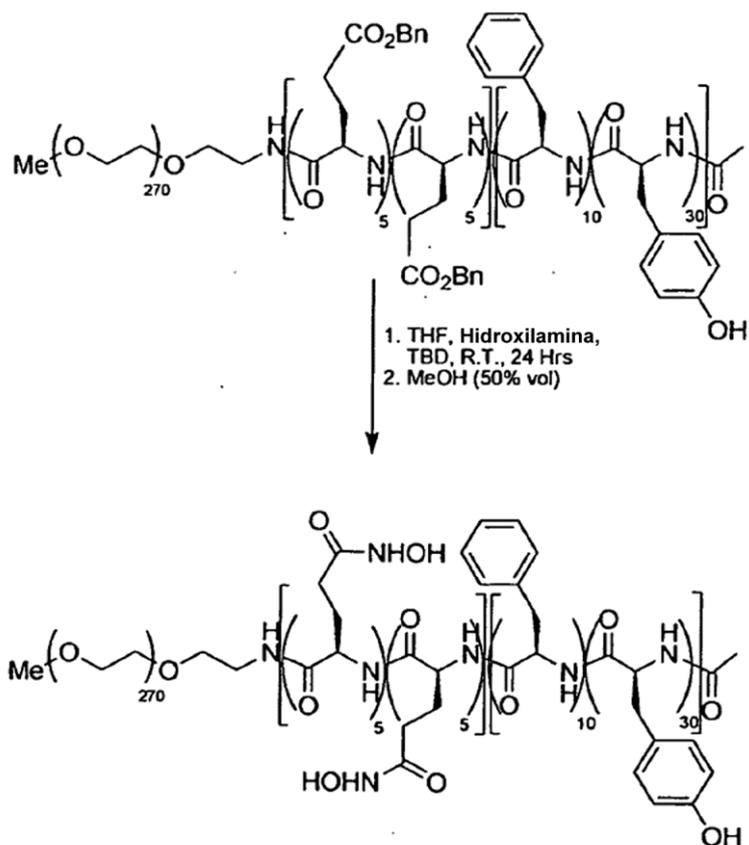
Ejemplo 79

15



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(oBn))₅-co-Glu(oBn)₅-*b*-Poli (Tyr(OH))₃₀-co-d-Phe₁₀-Ac. El copolímero tribloque protegido (del Ejemplo 78) se pesó (34 g, 1,46 mmol) en un vaso de precipitado de 500 ml limpio y se disolvió en ácido trifluoroacético (500 ml). A esta solución (4 g, 27 mmol) se agregó pentametil-benceno y se agitó con una barra agitadora magnética. A los treinta minutos después de la adición de pentametil-benceno, se observó un precipitado en solución. La mezcla de reacción se agitó durante 2,5 horas y se siguió por RMN para eliminación completa de los grupos protectores bencílicos en tirosina. Después del término de esta desprotección (3 hrs) la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa, se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y después se precipitó en éter dietílico frío. Este sólido se filtró después en una frita de cristal sinterizado mediano y se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y nuevamente precipitó en éter frío y se filtró. Este sólido se secó al vacío y se caracterizó. ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,10, 8,38-7,77, 7,39-6,73, 6,59, 5,03, 4,64-3,79, 3,71-3,30, 2,98-2,56, 2,02-1,62.

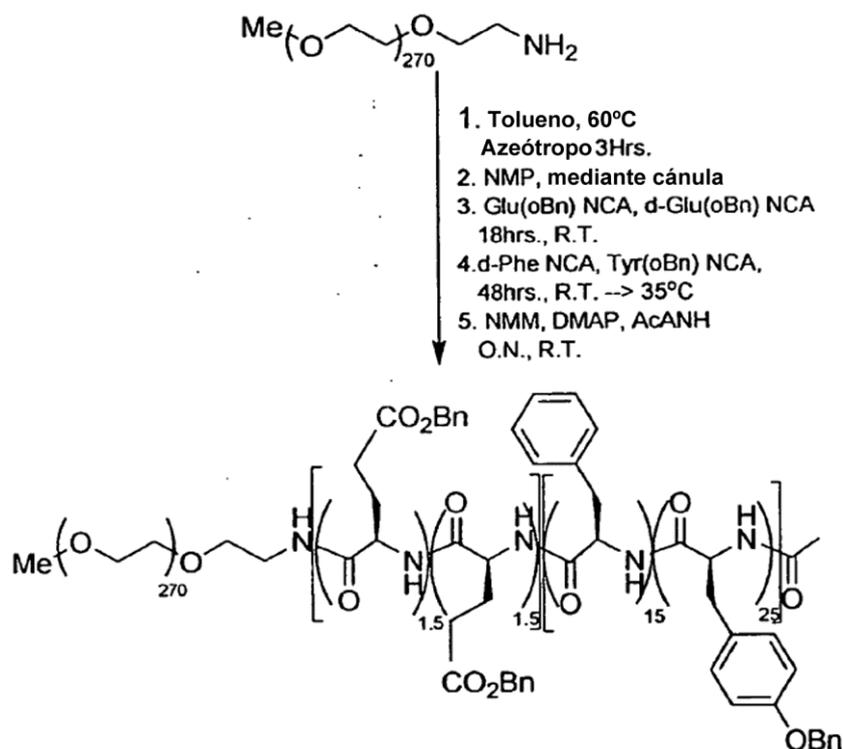
15 **Ejemplo 80**



5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅)-*b*-Poli (Tyr(OH)₃₀-co-d-Phe₁₀)-Ac.** 20g del éster tribloque (del Ejemplo 79) se pesaron en un matraz de fondo redondo de 500 ml limpio y se agregaron 200 ml de tetrahydrofurano y se disolvió completamente. A esta solución diez equivalentes de hidroxilamina, y 1,5,7-triazabicio [4.4.0]dec-5-eno (TBD, 0,5g, 3,5 mmol) se agitó en nitrógeno a temperatura ambiente. El término se verificó por ¹H RMN (48 Hrs). Esta solución se mezcló con 100 ml metanol y esta solución se vertió en un vaso de precipitado limpio de dos litros. Se agregó lentamente éter de metiltertbutilo (aproximadamente 5 volúmenes) a la solución con agitación. El sólido blanco resultante se recolectó después en una frita mediana y se secó al vacío. (17,34 g,

10 Rendimiento = 90%). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,10-8,65, 8,39-7,78, 7,28-6,75, 6,80, 6,59, 4,59-4,31, 3,75-3,13, 3,00-2,57, 2,16-1,57.

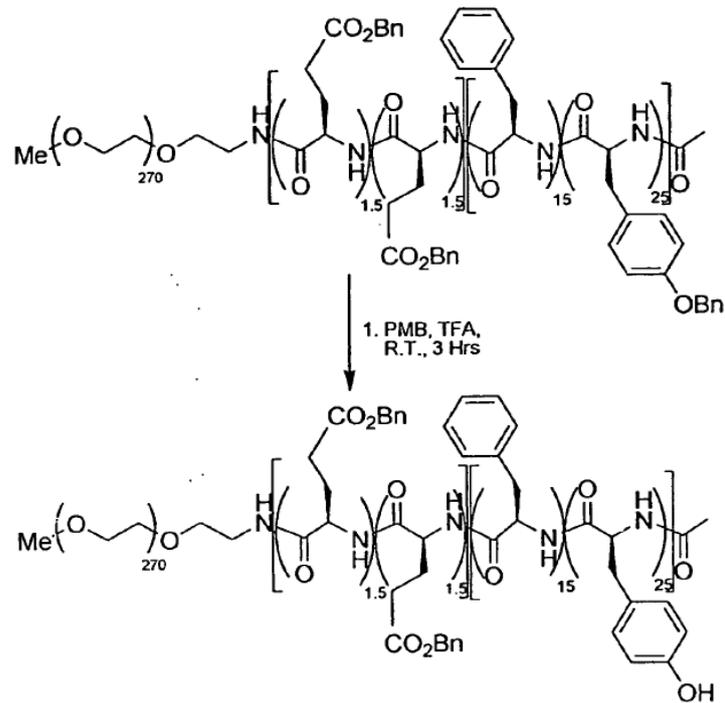
Ejemplo 81



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{1,5}-co-Glu(OBn)_{1,5})-*b*-Poli (Tyr(OBn)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac.

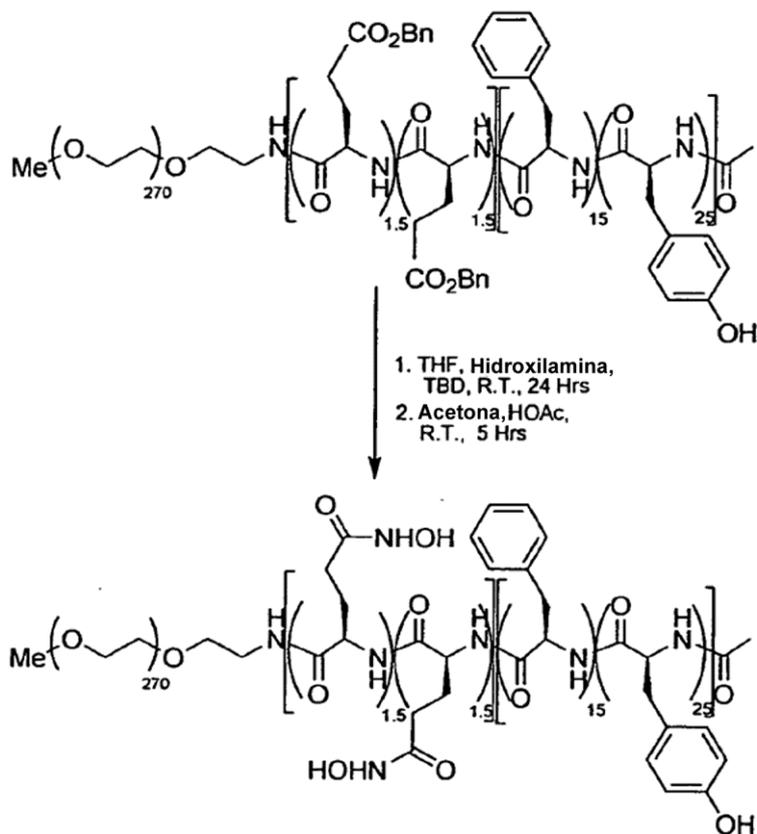
mPEG12KNH₂ preparado de la misma manera que en el Ejemplo 3 (25 g, 2,08 mm) se pesó en un matraz de fondo redondo, de dos cuellos de 1000 ml, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (300 ml) con calentamiento y se secó por destilación azeotrópica. Después de la destilación a sequedad, el polímero se dejó al vacío durante tres horas. El matraz subsecuentemente se rellena con N₂, se vació nuevamente a presión reducida, y se introdujo N-metilpirrolidona seca (NMP) (250 ml) por cánula. La mezcla se calentó de forma breve a 40°C para facilitar la disolución y después se enfrió a 25°C. Glu(OBn) NCA (0,82 g, 3,1 mmol) hecho de la misma manera que en el Ejemplo 8, y d-Glu(OBn) NCA (0,82 g, 3,1 mmol) del Ejemplo 9, se agregaron al matraz directamente, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 18 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, d-Phe NCA (5,97 g, 31,25 mmol) del Ejemplo 7, y Tyr(OBn) NCA (15,49 g, 52,08 mmol) preparado del Ejemplo 6, y después se agregaron a la solución y se agitó durante 2 horas, después se calentó a 35 °C durante 48 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (2,04 g, 20 mmol, 1,88 ml), N-metilmorfolina (NMM) (2,23 g, 22 mmol, 2,47 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,24 g, 2,0 mmol). La agitación continuó durante 1 día a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico:heptano 10:1 (2,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 100 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo blancuzco, fino (39,81 g, Rendimiento = 90,3%). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,26-9,04, 8,36-7,75, 7,41-7,25, 6,97, 6,60, 5,04, 4,59-4,13, 3,81-3,13, 2,96-2,76, 2,75-2,57, 2,43-2,12, 2,00-1,45.

Ejemplo 82



5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn))_{1,5}-*co*-Glu(OBn)_{1,5}-*b*-Poli (Tyr(OH))₂₅-*co*-d-Phe₁₅-Ac.** El polímero del Ejemplo 81 se desprotegió usando el método general del Ejemplo 74 solamente ajustando de estequiometría. Una vez completa (3 hrs) la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa y después se disolvió nuevamente en diclorometano y precipitó en éter dietílico frío, se recolectó por filtración y se secó al vacío. Esta reacción proporcionó 22 g de material seco (Rendimiento = 76,92 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09, 8,50-7,75, 7,35-6,45, 5,04, 4,70-4,20, 3,91-3,05, 3,03-2,10, 2,09-1,50.

10 **Ejemplo 83**

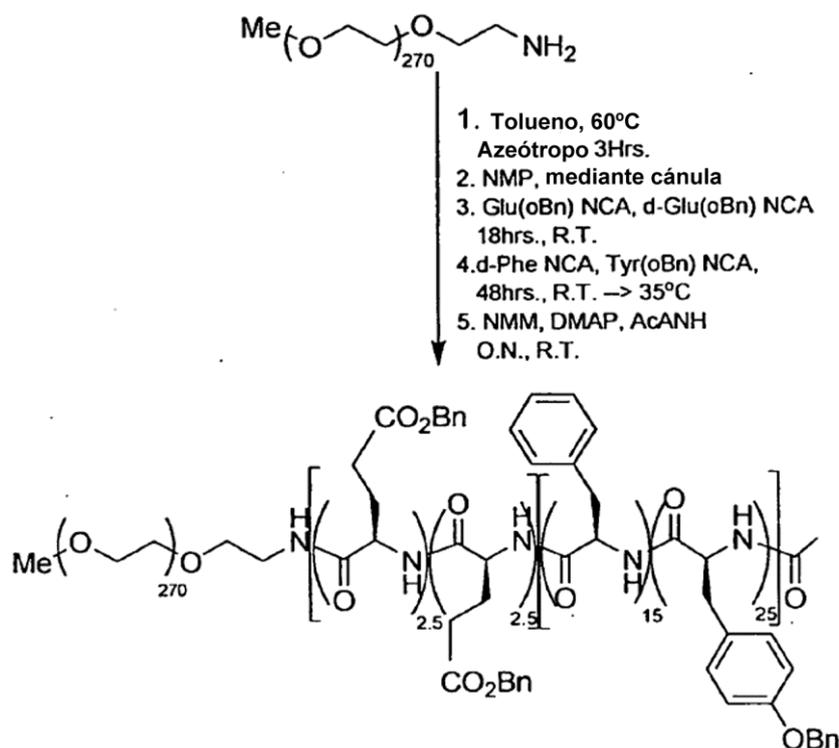


mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(NHOH)_{1,5}-*co*-Glu(NHOH)_{1,5})-*b*-Poly (Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)_{1,5}-*co*-Glu(NHOH)_{1,5})-*b*-Poli (Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** El polímero del Ejemplo 82 (13,2g, 0,705 mmol) se disolvió completamente en 160 ml de THF con calentamiento, esta solución se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de agregar 1,5,7-triazabiciclo [4.4.0]dec-5-eno (TBD, 0,3 g, 2,2 mmol) seguido por hidroxilamina (solución acuosa al 50%, 25 ml, 378 mmol) esta solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se agregó metanol (80 ml) y después se precipitó con éter de metiltertbutilo, se recolectó por filtración, y se disolvió en acetona. Se agregó ácido acético a esta solución en acetona y se agitó durante 5 horas. La solución se evaporó hasta casi secarse, se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y precipitó en MTBE, se recolectó por filtración y se secó al vacío (12,1 g, Rendimiento= 92,8%). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,11, 8,34-7,75, 7,37-7,05, 6,92, 6,58 4,60-4,32, 3,81-3,12, 2,99-2,57, 2,49-2,32, 2,10-1,73.

10

Ejemplo 84



mPEG12K-*b*-Poly-(d-Glu(OBn)_{2.5}-*co*-Glu(OBn)_{2.5})-*b*-Poly (Tyr(OBn)₁₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{2.5}-*co*-Glu(OBn)_{2.5})-*b*-Poli (Tyr(OBn)₁₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.

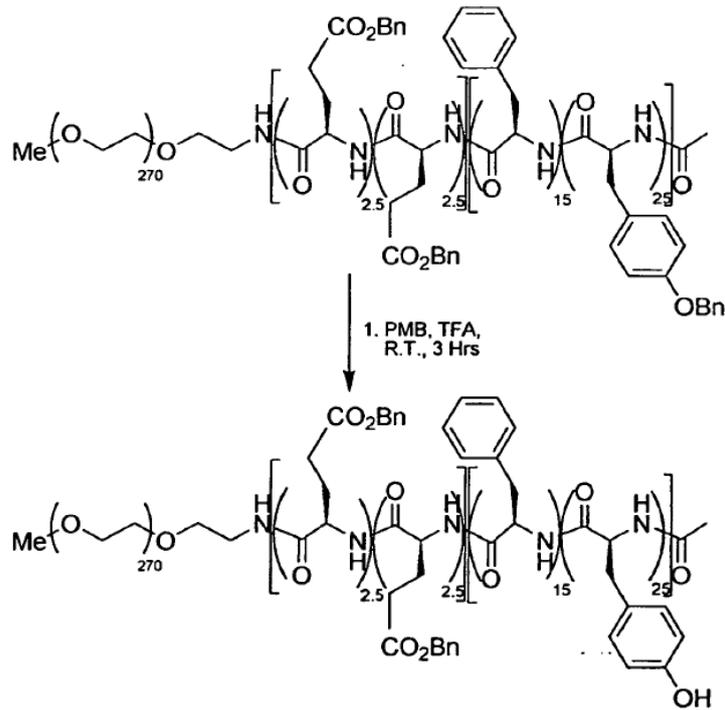
5 mPEG12KNH₂ preparado por el mismo método que en el Ejemplo 3, (25 g, 2,08 mm) se pesó en un matraz de fondo redondo, de dos cuellos de 1000 ml, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (300 ml) con calentamiento y se secó por destilación azeotrópica. Después de la destilación a sequedad, el polímero se dejó al vacío durante tres horas. El matraz subsecuentemente se rellenó con N₂, se vació nuevamente a presión reducida, y N-metilpirrolidona seca (NMP) (250 ml) se introdujo por cánula. La mezcla se calentó de forma breve a 40°C para facilitar la disolución y después se enfrió a 25°C. Glu(OBn) NCA (1,37 g, 5,2 mmol) y d-Glu(OBn) NCA (1,37 g, 5,2 mmol) se agregaron al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 18 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después del término del primer bloque de NCA, d-Phe NCA (5,97 g, 31,25 mmol) preparado de la misma manera que en el Ejemplo 79, y Tyr(OBn) NCA (15,49 g, 52,08 mmol) del Ejemplo 6, se agregaron y la solución se dejó agitar a temperatura ambiente durante dos horas a 35 °C durante 48 horas, punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (2,04 g, 20 mmol, 1,88 ml), N-metilmorfolina (NMM) (2,23 g, 22 mmol, 2,47 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,24 g, 2,0 mmol). La agitación continuó durante 1 día a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico:heptano 10:1 (2,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 100 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo blancuzco, fino (36 g, Rendimiento = 80 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,10 8,37-7,83, 7,39-7,21, 6,95, 6,56, 5,02, 4,61-4,34, 4,32-4,20, 3,71-3,25, 2,94-2,59, 2,40-2,10, 1,96-1,45.

10

15

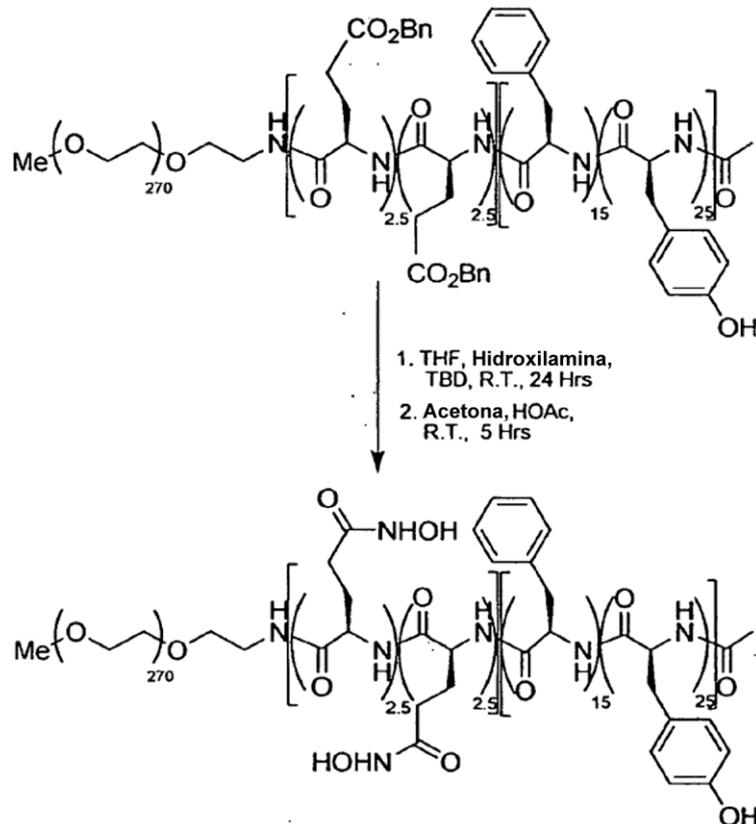
20

Ejemplo 85



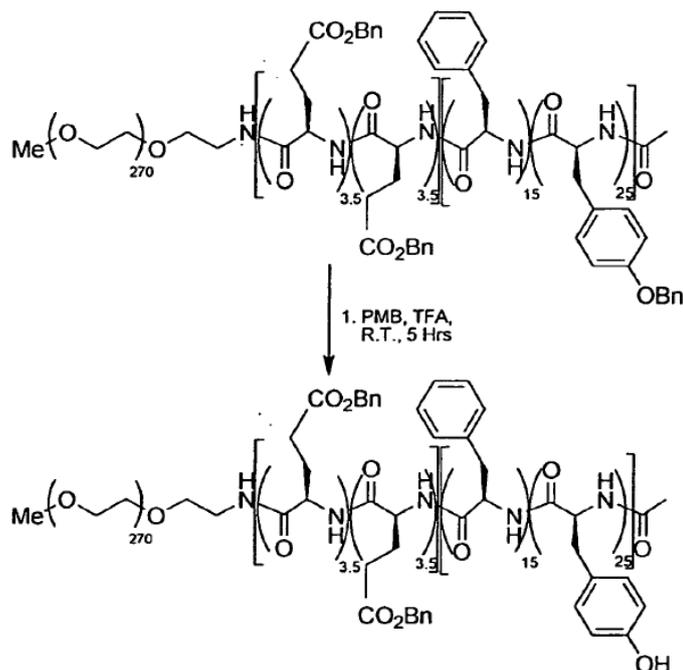
5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{2,5}-*co*-Glu(OBn)_{2,5})-*b*-Poli (Tyr(OH)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac.** Usando el método general del Ejemplo 74 y ajustando la estequiometría, el polímero del Ejemplo 84 se desprotegió (32 g, 1,65 mmol). Una vez completa (3 Hrs.) la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa y después se disolvió nuevamente en DCM y precipitó en éter dietílico frío, se recolectó por filtración y se secó al vacío. Esta reacción proporcionó 27 g de material seco (94,2 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09, 8,50-7,75, 7,35-6,45, 5,04, 4,70-4,20, 3,91-3,05, 3,03-2,10, 2,09-1,50.

10 **Ejemplo 86**



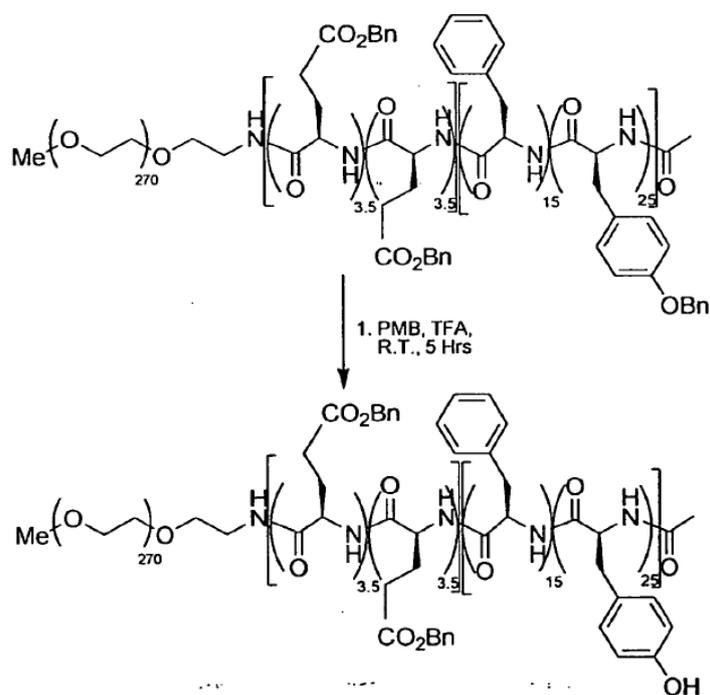
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)_{2,5}-*co*-Glu(NHOH)_{2,5})-*b*-Poli (Tyr(OH)_{2,5}-*co*-d-Phe₁₅)-Ac. El polímero del Ejemplo 85 (20 g, 1 mmol) se disolvió completamente en 160 ml de THF con calentamiento, esta solución se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de agregar 1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]dec-5-eno (TBD, 0,5 g, 3,6 mmol), seguido por hidroxilamina (solución acuosa al 50%, 30ml, 545 mmol) esta solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se agregó metanol (80 ml) y después se precipitó con éter de metiltertbutilo, se recolectó por filtración, y se disolvió en acetona. Se agregó ácido acético a esta solución de acetona y se agitó durante 5 horas, después esta solución se sometió a rotoevaporador hasta casi secarse, se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y precipitó en MTBE, se recolectó por filtración y se secó al vacío (18 g, Rendimiento= 91,7%). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,11, 8,34-7,75, 7,15, 6,80, 4,60-4,32, 3,81-3,12, 2,99-2,32, 1,93-1,83).

Ejemplo 87



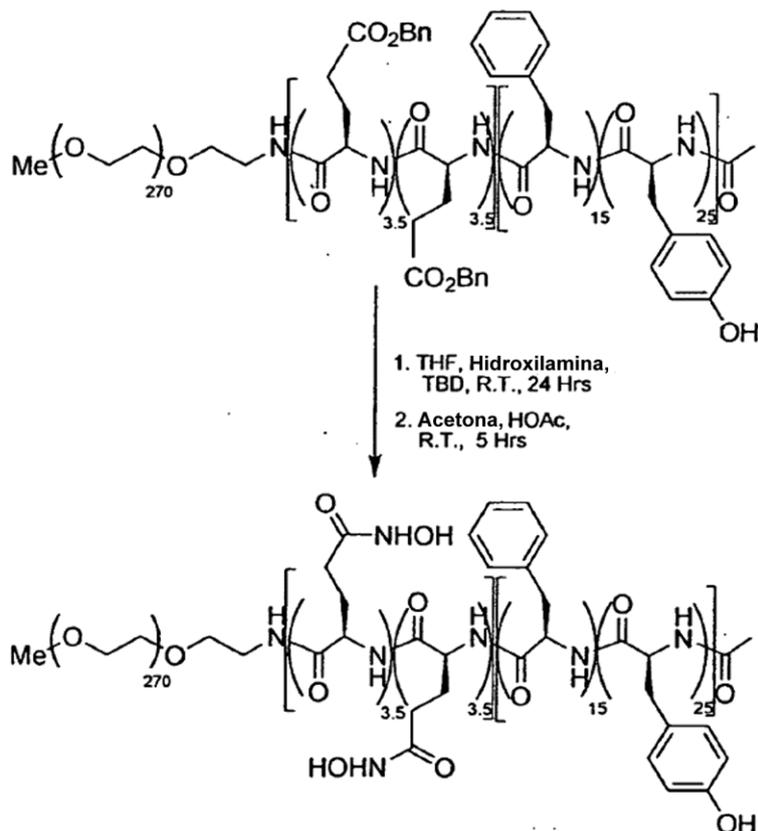
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{3,5}-*co*-Glu(OBn)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OBn)_{2,5}-*co*-d-Phe₁₅)-Ac. mPEG12KNH₂ preparado de la misma manera que en el Ejemplo 3 (25 g, 2,08 mmol) se pesó en un matraz de fondo redondo, de dos cuellos de 1000 ml, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (300 ml). Este polímero se preparó de la misma manera que en el Ejemplo 1. Glu(OBn) NCA (1,92 g, 7,3 mmol) del Ejemplo 8 y d-Glu(OBn) NCA (1,92 g, 7,3 mmol) del Ejemplo 9, se agregaron al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 18 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, se agregaron d-Phe NCA (5,97 g, 31,25 mmol) del Ejemplo 7 y Tyr(OBn) NCA (15,49 g, 52,08 mmol) preparado en la misma forma que en el Ejemplo 6, y la solución se dejó agitar a temperatura ambiente durante 2 horas y después se calentó a 35 °C durante 48 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (2,04 g, 20 mmol, 1,88 ml), N-metilmorfolina (NMM) (2,23 g, 22 mmol, 2,47 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,24 g, 2,0 mmol). La agitación continuó durante 1 día a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico:heptano 10:1 (2,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 100 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro, fino (37,0 g, Rendimiento = 80,6 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,08 8,42-7,70, 7,29, 6,96, 6,58, 5,10-4,85, 4,65-4,20, 3,71-3,25, 2,94-2,59, 2,40-2,10, 1,97-1,50.

Ejemplo 88



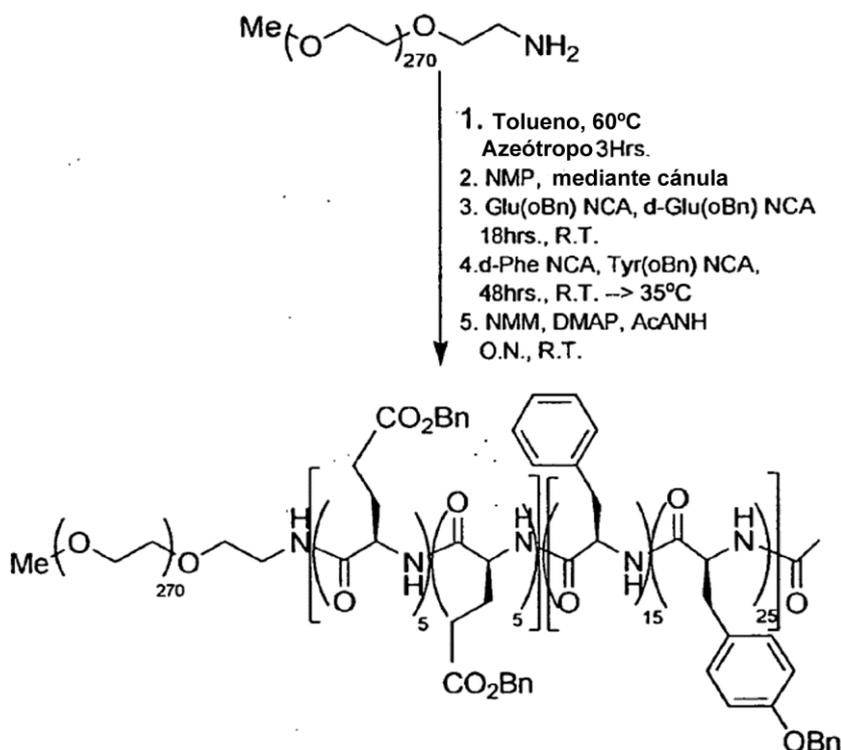
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{3.5}-co-Glu(OBn)_{3.5})-*b*-Poli (Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac. El polímero del Ejemplo 87 se desprotegió usando el método general del Ejemplo 74 solo ajustando la estequiometría (32 g, 1,61 mmol). Una vez completa (3 Hrs.) la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa y después se disolvió nuevamente en DCM y precipitó en éter dietílico frío, se recolectó por filtración y se secó al vacío. Esta reacción proporcionó 23 g de material seco (80 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09, 8,50-7,75, 7,35-6,45, 5,04, 4,70-4,20, 3,91-3,05, 3,03-2,10, 2,09-1,50.

10 **Ejemplo 89**



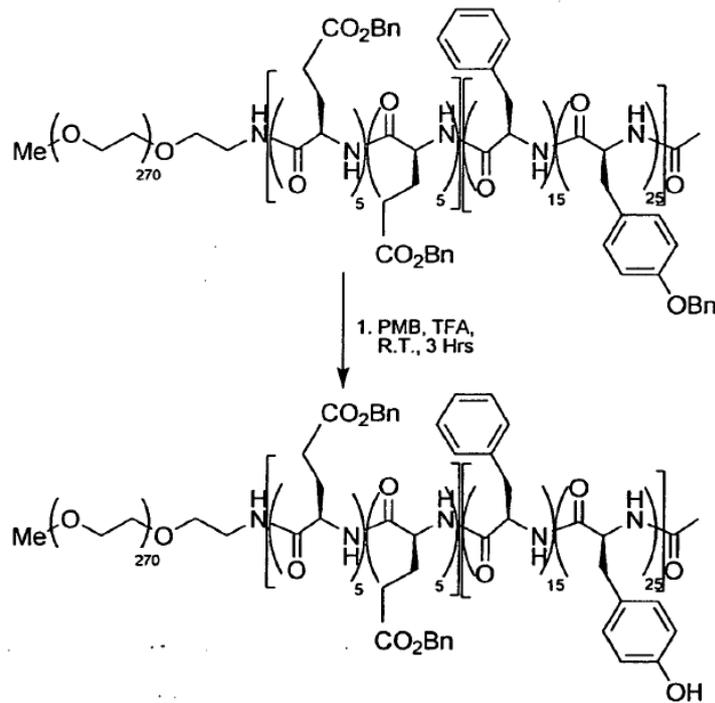
5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)_{3,5}-co-Glu(NHOH)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac.** El polímero (20 g, 1 mmol) del Ejemplo 88 se disolvió completamente en 160 ml de THF con calentamiento, esta solución se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de agregar 1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]dec-5-eno (TBD, 0,5 g, 3,6 mmol), seguido por hidroxilamina (solución acuosa al 50%, 30 ml, 545 mmol) esta solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se agregó metanol (80 ml) y después se precipitó con éter de metiltertbutilo, se recolectó por filtración, y se disolvió en acetona. Se agregó ácido acético a esta solución de acetona y se agitó durante la noche. La solución se sometió a rotoevaporador hasta casi secarse, se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y precipitó en MTBE, se recolectó por filtración y se secó al vacío (18,1 g, Rendimiento= 92,9%). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,11, 8,34-7,75, 7,15, 6,80, 4,60-4,32, 3,81-3,12, 2,99-2,32, 1,93-1,83.

Ejemplo 90



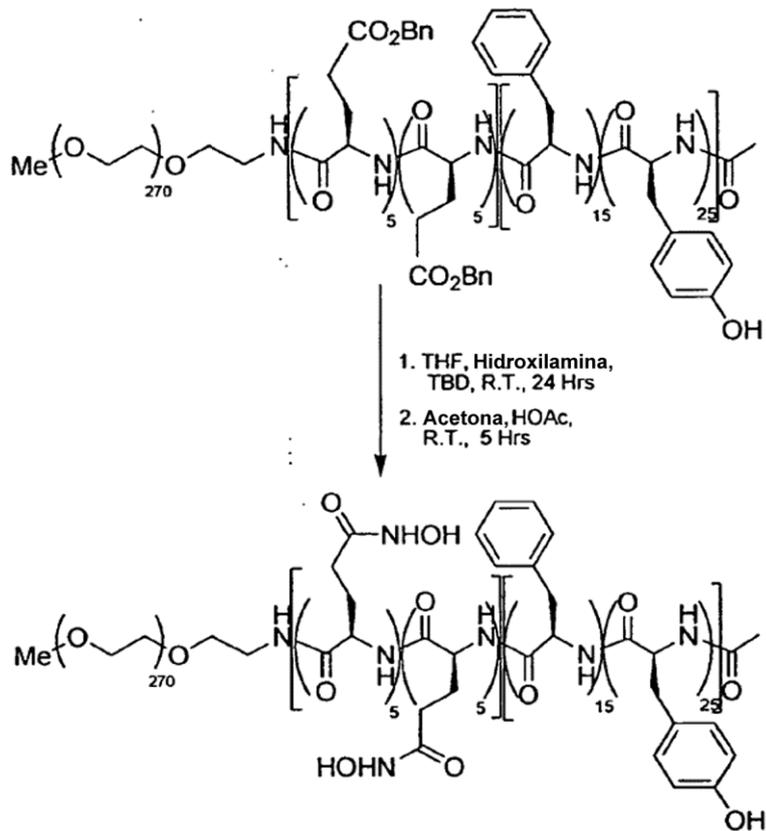
15 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OBn)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac.** mPEG12KNH₂ preparado por el mismo método que en el Ejemplo 3, se pesó (25 g, 2,08 mmol) en un matraz de fondo redondo de dos cuellos de 1000 ml secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (300 ml). Este polímero se preparó de la misma manera que en el Ejemplo 73. Después se agregaron Glu(OBn) NCA (2,74 g, 10,4 mmol) preparado de la misma manera que en el Ejemplo 8, y d-Glu(OBn) NCA (2,74 g, 10,4 mmol) preparado de la misma manera que en el Ejemplo 9, al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 18 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, d-Phe NCA (5,97 g, 31,25 mmol) del Ejemplo 7 y Tyr(OBn) NCA (15,49 g, 52,08 mmol) preparado del método en el Ejemplo 6, se agregaron y la solución se dejó agitar a temperatura ambiente durante 2 horas y después se calentó a 35 °C durante 48 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (2,04 g, 20 mmol, 1,88 ml), N-metilmorfolina (NMM) (2,23 g, 22 mmol, 2,47 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,24 g, 2,0 mmol). La agitación continuó durante 1 día a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico:heptano 10:1 (2,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 100 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro, fino (38,48 g, Rendimiento = 81,4 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,08 8,42-7,70, 7,29, 6,97, 5,11-4,84, 4,65-4,20, 3,72-3,25, 3,05-2,45, 2,44-1,59.

Ejemplo 91



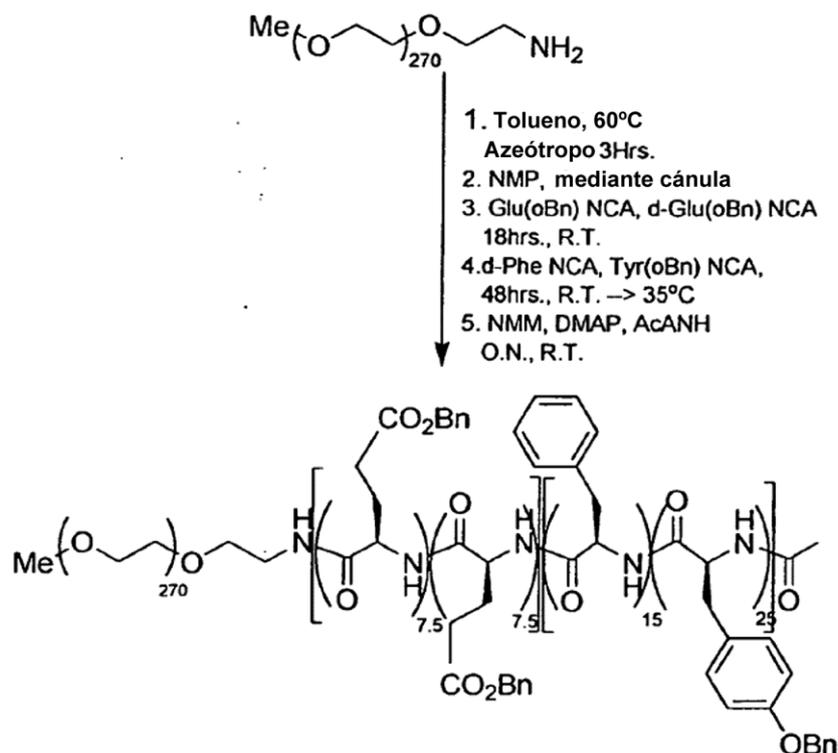
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-co-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OH)₂₅-CO-d-Phe₁₅)-Ac Usando el método general del Ejemplo 74 solamente ajustando la estequiometría este polímero se desprotegió (32 g, 1,56 mmol). Una vez completa (3 Hrs.) la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa y después se disolvió nuevamente en DCM y precipitó en éter dietílico frío, se recolectó por filtración y se secó al vacío. Esta reacción proporcionó 27 g de material seco (93,6 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09, 8,50-7,75, 7,35-6,45, 5,04, 4,70-4,20, 3,91-3,05, 3,03-2,10, 2,09-1,50.

10 **Ejemplo 92**



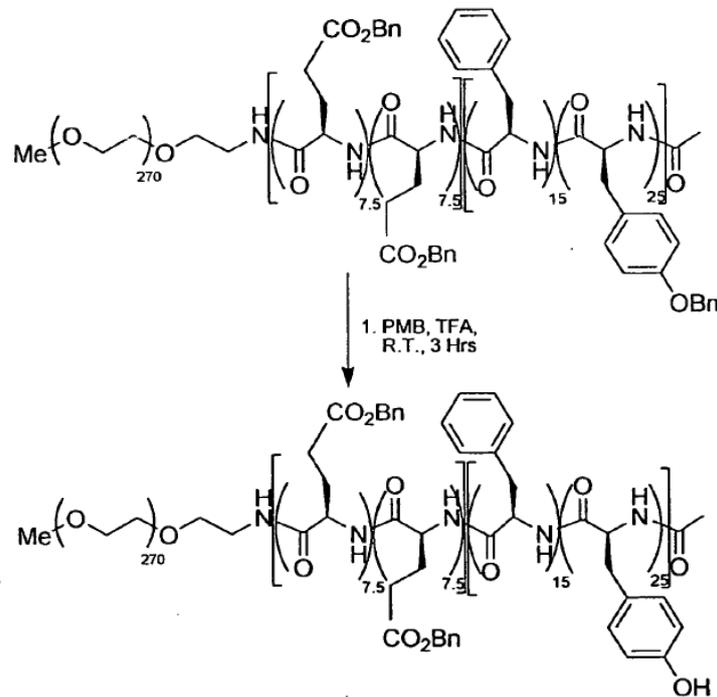
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)_{3,5}-co-Glu(NHOH)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac El polímero (18 g, 0,88 mmol) del Ejemplo 91 se disolvió completamente en 160 ml de THF con calentamiento, esta solución se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de añadir 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno (TBD, 0,5 g, 3,6 mmol), seguido por hidroxilamina (solución acuosa al 50%, 30 ml, 545 mmol) esta solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se agregó metanol (80 ml) y después se precipitó con éter de metiltertbutilo, se recolectó por filtración, y se disolvió en acetona. Se agregó ácido acético a esta solución en acetona y se agitó durante 5 horas y después se desarrolló. La solución se sometió a rotoevaporador hasta casi secarse, se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y precipitó en MTBE, se recolectó por filtración y se secó al vacío (16,7 g, Rendimiento= 96,3%).

10 Ejemplo 93



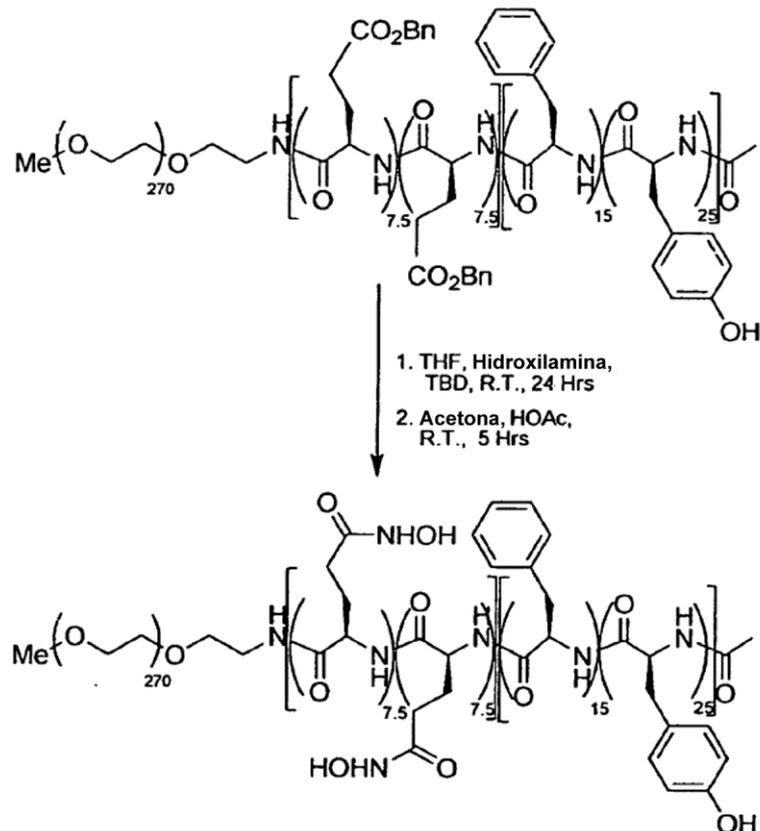
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{7,5}-co-Glu(OBn)_{7,5})-*b*-Poli (Tyr(OBn)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac mPEG12KNH₂ (25 g, 2,08 mmol) preparado de la misma manera que en el Ejemplo 3, se pesó en un matraz de fondo redondo, de dos cuellos de 1000 ml, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (300 ml). Este polímero se preparó de la misma manera que en el Ejemplo 1. Glu(OBn) NCA (2,74 g, 10,4 mmol) preparado en la misma forma que en el Ejemplo 8 y d-Glu(OBn) NCA (2,74 g, 10,4 mmol) del Ejemplo 9, se agregaron al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 18 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, d-Phe NCA (5,97 g, 31,25 mmol) del Ejemplo 7 y Tyr(OBn) NCA (15,49 g, 52,08 mmol) del Ejemplo 6, se agregaron y la solución se dejó agitar a temperatura ambiente durante 2 horas y después se calentó a 35 °C durante 48 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (2,04 g, 20 mmol, 1,88 ml), N-metilmorfolina (NMM) (2,23 g, 22 mmol, 2,47 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,24 g, 2,0 mmol). La agitación continuó durante la noche a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico:heptano 10:1 (2,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 100 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro (37,0 g, Rendimiento = 74,66 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,10 8,42-7,71, 7,27, 6,97, 5,11-4,85, 4,65-4,20, 3,72-3,25, 3,05-2,45, 2,45-1,60.

30 Ejemplo 94



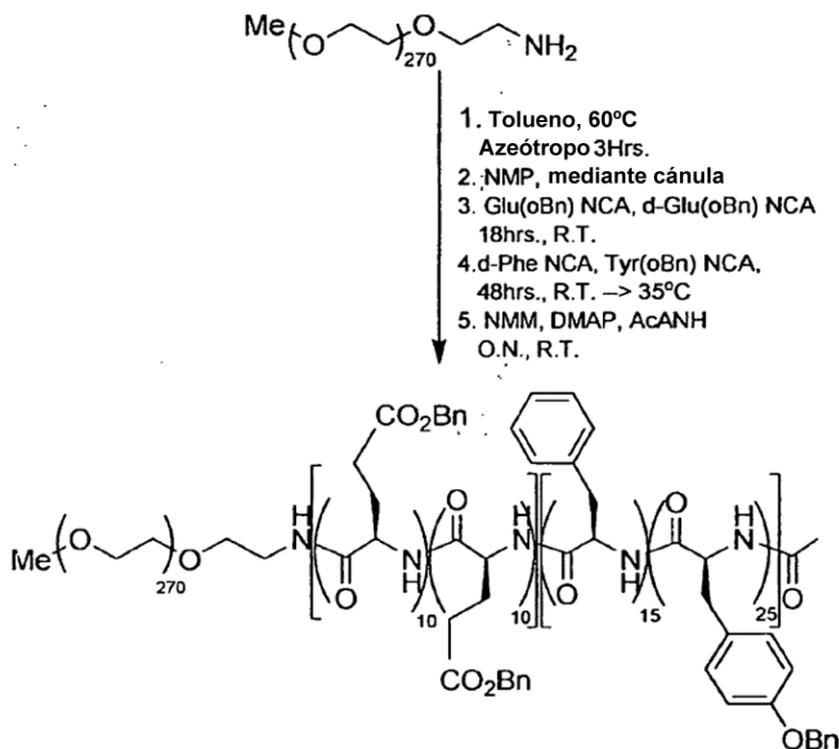
Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{7.5}-co-Glu(OBn)_{7.5})-*b*-Poli (Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac Usando el método general del Ejemplo 74 solamente ajustando la estequiometría este polímero se desprotegió (32 g, 1,48 mmol). Una vez completa (3 Hrs.) la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa y después se disolvió nuevamente en DCM y precipitó en éter dietílico frío, se recolectó por filtración y se secó al vacío. Esta reacción proporcionó 24 g de material seco (82,8 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,09, 8,50-7,75, 7,35-6,45, 5,04, 4,70-4,20, 3,91-3,05, 3,03-2,10, 2,09-1,50.

10 **Ejemplo 95**



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)_{3,5}-co-Glu(NHOH)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OH)₂₅-CO-d-Phe₁₅)-Ac. El polímero (19 g, 0,88 mmol) preparado en el Ejemplo 94 se disolvió completamente en 160ml de THF con calentamiento, esta solución se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de agregar 1,5,7-triazabicyclo [4.4.0]dec-5-eno (TBD, 0,5 g, 3,6 mmol), seguido por hidroxilamina (solución acuosa al 50%, 30 ml, 545 mmol) esta solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se agregó metanol (80 ml) y después se precipitó con éter de metil-*tert*-butilo, se recolectó por filtración, y se disolvió en acetona. Se agregó ácido acético a esta solución de acetona y se agitó durante 5 horas. La solución se sometió a rotoevaporador hasta casi secarse, se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y precipitó en MTBE, se recolectó por filtración y se secó al vacío (16,4 g, Rendimiento= 91,1%). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,11, 8,34-7,75, 7,15, 6,80, 4,60-4,32, 3,81-3,12, 2,99-2,32, 1,93-1,83.

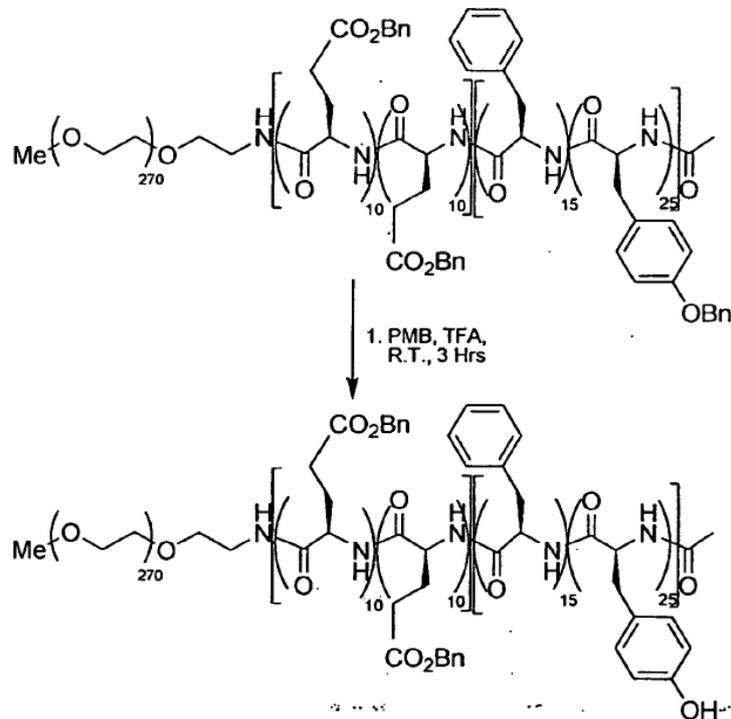
Ejemplo 96



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₁₀-co-Glu(OBn)₁₀)-*b*-Poli (Tyr(OBn)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac

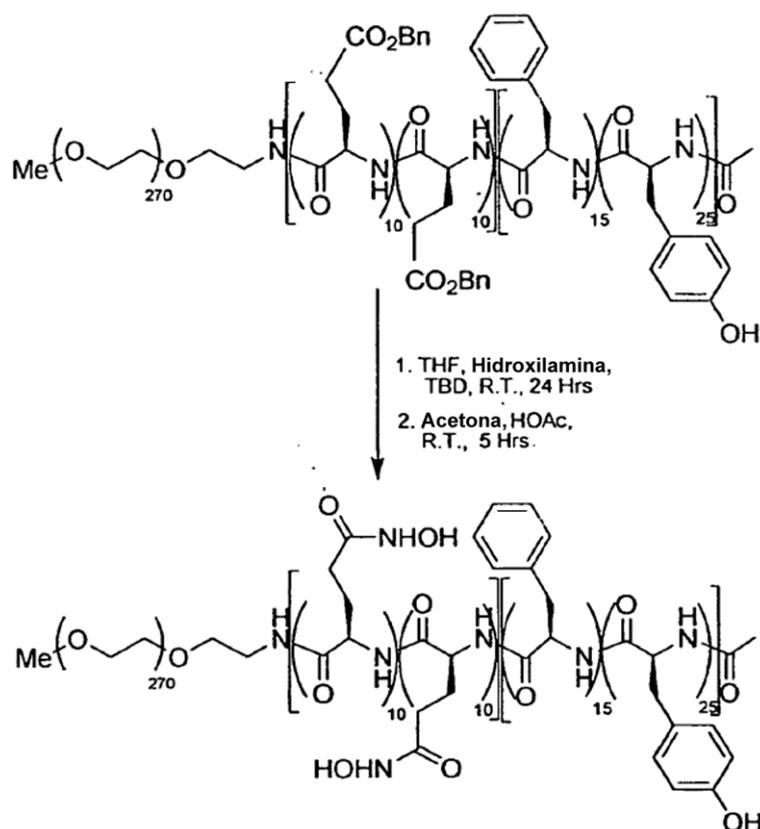
mPEG12KNH₂ (25 g, 2,08 mmol) preparado en la misma manera que en el Ejemplo 3, se pesó en un matraz de fondo redondo de dos cuellos, de 1 L, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (300 ml). Este polímero se preparó de la misma manera que en el Ejemplo 1. Glu(OBn) NCA (5,48 g, 20,8 mmol) preparado de la misma manera que en el Ejemplo 8, y d-Glu(OBn) NCA (5,48 g, 20,8 mmol) preparado por el método en el Ejemplo 9, se agregaron al matraz directamente, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 16 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, d-Phe NCA (5,97 g, 31,25 mmol) del Ejemplo 7 y Tyr(OBn) NCA (15,49 g, 52,08 mmol) del Ejemplo 6, se agregaron y la solución se dejó agitar a temperatura ambiente durante 2 horas y después se calentó a 35°C durante 48 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (2,04 g, 20 mmol, 1,88 ml), N-metilmorfolina (NMM) (2,23 g, 22 mmol, 2,47 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,24 g, 2,0 mmol). La agitación continuó durante 1 día a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico:heptano 10:1 (2,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 100 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro, fino (38,9 g, Rendimiento = 75,23 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,08, 8,40-7,65, 7,35-7,25, 6,99, 6,76, 5,10-4,85, 4,65-4,20, 3,72-3,25, 3,06-2,45, 2,34-1,59.

Ejemplo 97



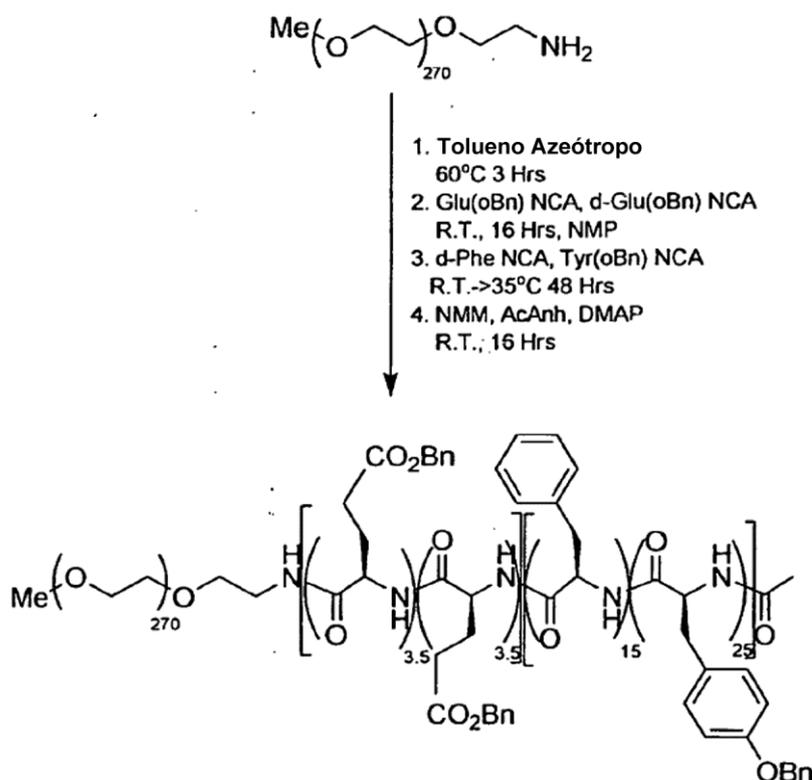
5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₁₀-co-Glu(OBn)₁₀)-*b*-Poli (Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac** Usando el método general del Ejemplo 74 solamente ajustand la estequiometría este polímero se desprotegió (32 g, 1,41 mmol). Una vez completa (3 Hrs.) la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa y después se disolvió nuevamente en DCM y precipitó en éter dietílico frío, se recolectó por filtración y se secó al vacío. Esta reacción proporcionó 27 g de material seco (92,8 %). ¹H RMN (d6-DMSO) δ 9,09, 8,50-7,75, 7,35-6,45, 5,04, 4,70-4,20, 3,91-3,05, 3,03- 2,10, 2,09-1,50.

10 **Ejemplo 98**



5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH))₁₀-co-Glu(NHOH)₁₀-*b*-Poli (Tyr(OH))₂₅-co-d-Phe₁₅-Ac** El polímero (20 g, 0,88 mmol) del Ejemplo 98 se disolvió completamente en 160ml de THF con calentamiento, esta solución se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de que se agregara 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno (TBD, 0,5 g, 3,6 mmol), seguido por hidroxilamina (solución acuosa al 50%, 30 ml, 545 mmol) esta solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se agregó metanol (80 ml) y después se precipitó con éter de metiltertbutilo, se recolectó por filtración, y se disolvió en acetona. Se agregó ácido acético a esta solución en acetona y se agitó durante 5 horas y después se desarrolló. La solución se sometió a rotoevaporador hasta casi secarse, se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y precipitó en MTBE, se recolectó por filtración y se secó al vacío (17,2 g, Rendimiento= 92,1%).
10 ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,11, 8,33-7,69, 7,15, 6,98, 6,79, 5,06-4,85, 4,60-4,32, 3,81-3,19, 2,99-2,32, 2,03-1,59.

Ejemplo 99

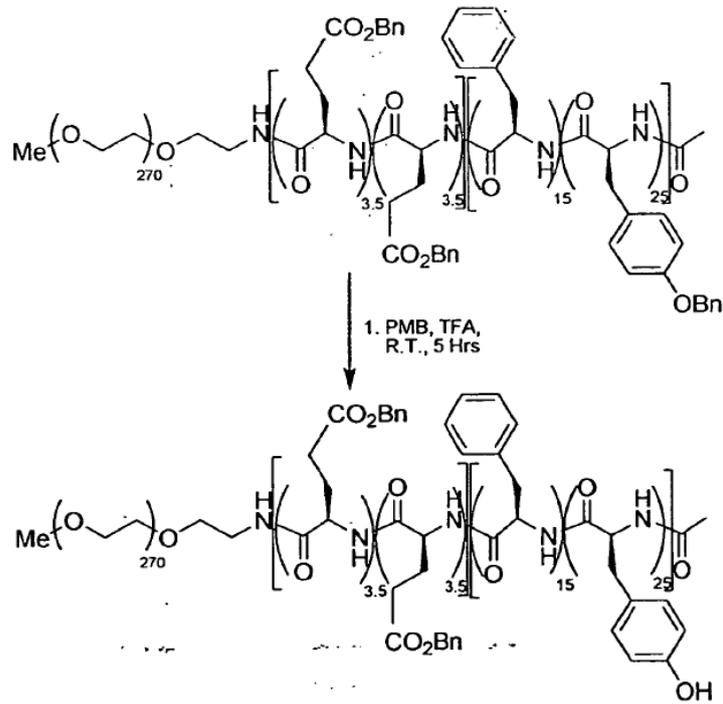


Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{3,5}-*co*-Glu(OBn)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OBn)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 mPEG12KNH₂ (45,34 g, 3,78 mmol) preparado por el mismo método detallado en el Ejemplo 3, se pesó en un
matraz de fondo redondo, de dos cuellos de 1000 ml, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (300 ml). Este
polímero se preparó de la misma manera que en el Ejemplo 73. Glu(OBn) NCA (3,5 g, 13,29 mmol) del método
10 detallado en el Ejemplo 8, y d-Glu(OBn) NCA (3,5 g, 13,29 mmol) del método detallado en el Ejemplo 9, se
agregaron al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 16 horas a temperatura ambiente en gas
nitrógeno. Después, d-Phe NCA (10,89 g, 56,9 mmol) del método detallado en el Ejemplo 7, y Tyr(OBn) NCA (28,24
15 g, 94,98 mmol) del método detallado en el Ejemplo 6, se agregaron y la solución se dejó agitar a 35 °C durante 48
horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura
ambiente y se agregaron anhídrido acético (3,88 g, 37,8 mmol, 3,58 ml), N-metilmorfolina (NMM) (3,76 g, 37,8 mmol,
4,16 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,47 g, 3,8 mmol). La agitación continuó durante 1 día a temperatura
ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico:heptano 10:1 (2,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones
de 100 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro,
fino (68,22 g, Rendimiento = 82,2 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,43-7,84, 7,30, 6,98, 6,97-6,65, 5,04, 4,98- 4,80, 4,66-
4,16, 3,72-3,21, 3,01-2,76, 2,74-2,56, 2,41-2,26, 2,23-2,10, 2,01-1,58.

Ejemplo 100

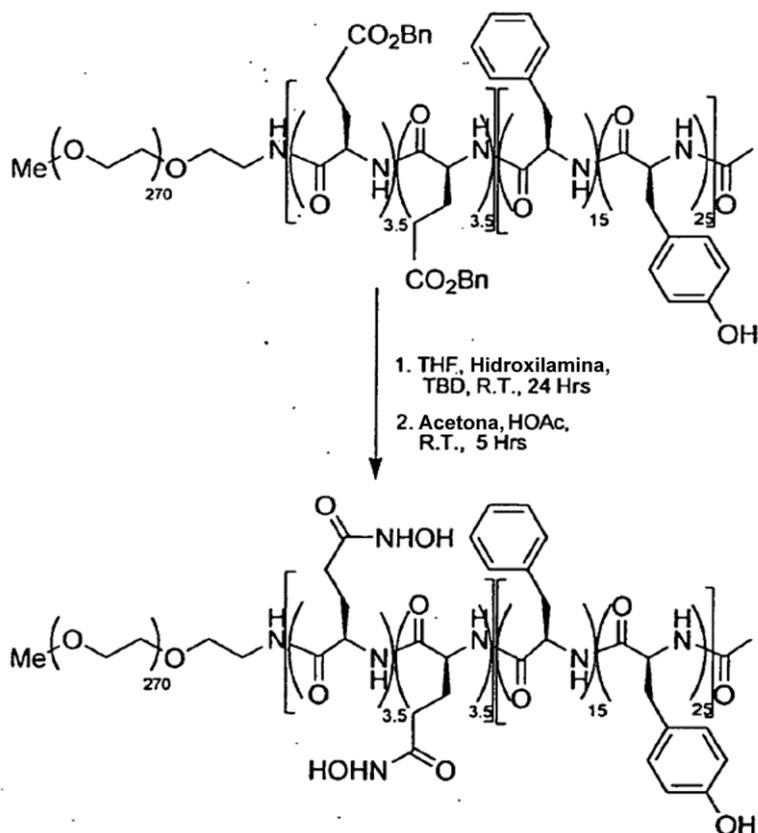
20



5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{3,5}-co-Glu(OBn)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OH)₂₅-co-d-Phe₁₅)-Ac** Usando el método general del Ejemplo 74 solamente ajustando la estequiometría este polímero se desprotegió (60 g, 2,73 mmol). Una vez completa (5 Hrs.) la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa y después se disolvió nuevamente en DCM y precipitó en éter dietílico frío, se recolectó por filtración, se lavó varias veces con porciones frescas de 200 ml de éter dietílico frío y se secó al vacío. Esta reacción proporcionó 43,8 g de material seco (81,4 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,04, 8,38-7,73, 7,38-6,73, 5,04, 4,62-4,19, 3,82-3,27, 3,02-2,76, 2,75-2,56, 2,42- 2,26, 2,20-1,61, 1,08 (solvente, éter).

10

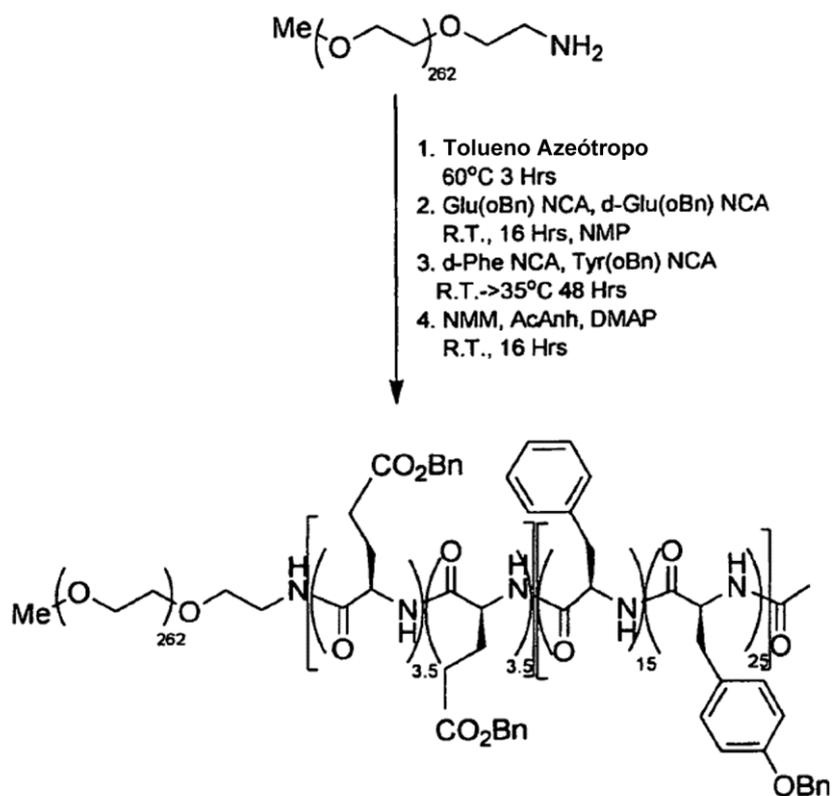
Ejemplo 101



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH))_{3,5}-co-Glu(NHOH)_{3,5}-*b*-Poli (Tyr(OH))₂₅-co-d-Phe₁₅-Ac El polímero (40 g, 1 mmol) del Ejemplo 100, se disolvió completamente en 700 ml de THF con calentamiento, esta solución se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de que se agregara 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-eno (TBD, 1,5 g, 10,8 mmol), seguido por hidroxilamina (solución acuosa al 50%, 45 ml, 817,5 mmol) esta solución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se agregó isopropanol (200 ml) y después se precipitó con éter de metiltertbutilo, se recolectó por filtración, y se disolvió en acetona (500 ml). Se agregó ácido acético (5 ml) a esta solución en acetona y se agitó durante la noche. La solución se sometió a rotoevaporador hasta casi secarse, se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y precipitó en MTBE, se recolectó por filtración y se secó al vacío (33,5 g, Rendimiento= 86 %).
¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,03, 8,37-7,70, 7,36-6,72, 6,68-6,42, 4,64-4,14, 3,73-3,10, 3,00-2,76, 2,71-2,56, 2,42-2,27, 2,21-1,61.

Ejemplo 102

15

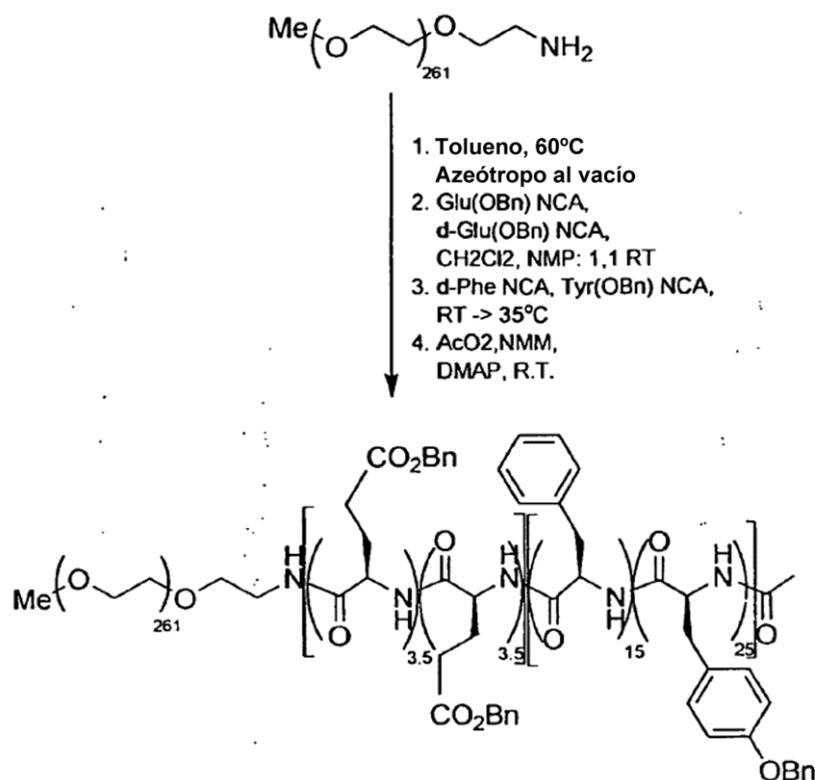


Síntesis de mPEG11,5K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{3,5}-*co*-Glu(OBn)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OBn)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 mPEG11,5KNH₂ (15 g, 1,3 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 3 con la excepción del peso molecular, se pesó en un matraz de fondo redondo, de dos cuellos de 1000 ml, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (300 ml). Este polímero se preparó de la misma manera que en el Ejemplo 73. Glu(OBn) NCA (1,2 g, 4,56 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 8, y d-Glu(OBn) NCA (1,2 g, 4,56 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 9, se agregaron al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 16 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, d-Phe NCA (2,88 g, 19,56 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 7, y Tyr(OBn) NCA (8,26 g, 32,60 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 6, se agregaron y la solución directamente, se dejó agitar a temperatura ambiente durante 2 horas y después se calentó a 35 °C durante 48 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (1,34 g, 13 mmol, 1,23 ml), N-metilmorfolina (NMM) (1,3 g, 13 mmol, 1,43 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,16 g, 1,3 mmol). La agitación continuó durante 16 horas a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico:heptano 10:1 (2,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 100 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro, fino (26 g, Rendimiento = 82,2 %). ¹H RMN (d6-DMSO) δ 8,40-7,83, 7,27, 7,16-6,98, 6,83-6,64, 5,06-4,79, 4,62-4,18, 3,71-3,21, 2,98- 2,78, 2,75-2,58, 2,42-2,25, 2,22-2,13, 1,99-1,70.

20

Ejemplo 103



Síntesis de mPEG11,5K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{3,5}-*co*-Glu(OBn)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OBn)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

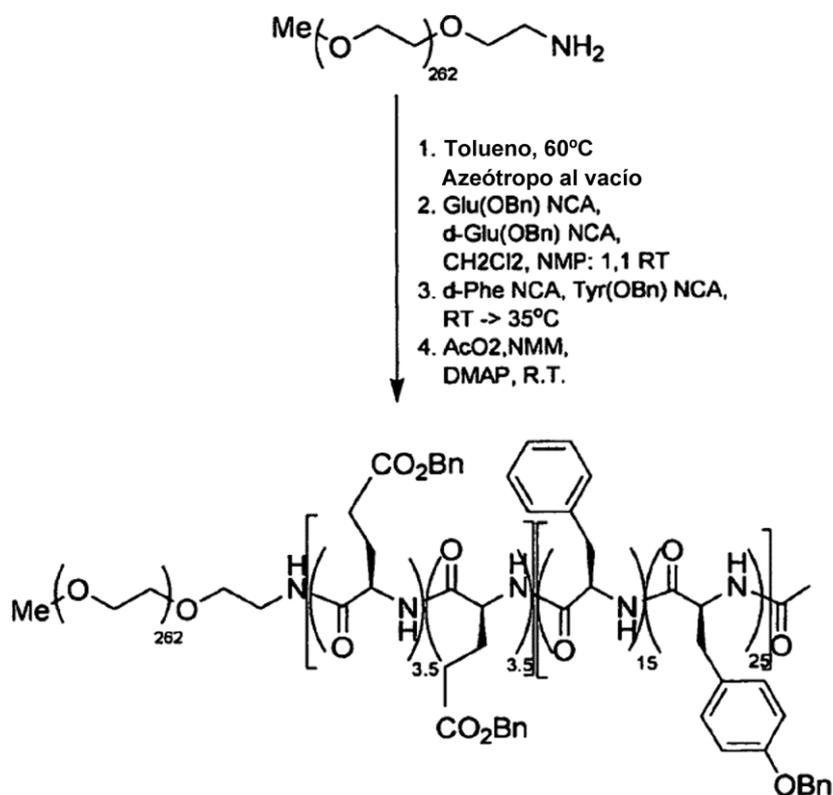
5 mPEG11,5KNH₂ (15 g, 1,3 mmol) preparado con el mismo método en el Ejemplo 3 con la excepción del peso molecular, se pesó en un matraz de fondo redondo, de dos cuellos de 1000 ml, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (300 ml) con calentamiento y se secó por destilación azeotrópica. Después de la destilación a sequedad, el polímero se dejó al vacío durante tres horas. El matraz subsecuentemente se rellenó con N₂, se vació nuevamente a presión reducida, y se introdujo NMP:DCM (1:1) (450 ml) seco por cánula. Glu(OBn) NCA (1,2 g, 4,56 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 8, y d-Glu(OBn) NCA (1,2 g, 4,56 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 9, se agregaron al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 48 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, d-Phe NCA (2,88 g, 19,56 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 7 y Tyr(OBn) NCA (8,26 g, 32,60 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 6, se agregaron y la solución se dejó agitar a temperatura ambiente durante dos horas y después se calentó a 35 °C durante 48 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (1,34 g, 13 mmol, 1,23 ml), N-metilmorfolina (NMM) (1,3 g, 13 mmol, 1,43 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,16 g, 1,3 mmol). La agitación continuó durante 16 horas a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico:heptano 10:1 (2,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 100 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro, fino (25 g, Rendimiento = 82,2 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,38-7,80, 7,42-7,18, 6,75, 5,02, 4,97- 4,80, 4,66-4,16, 3,75-3,20, 3,02-2,80, 2,76-2,56, 2,44-2,25, 2,00-1,59.

10

15

20

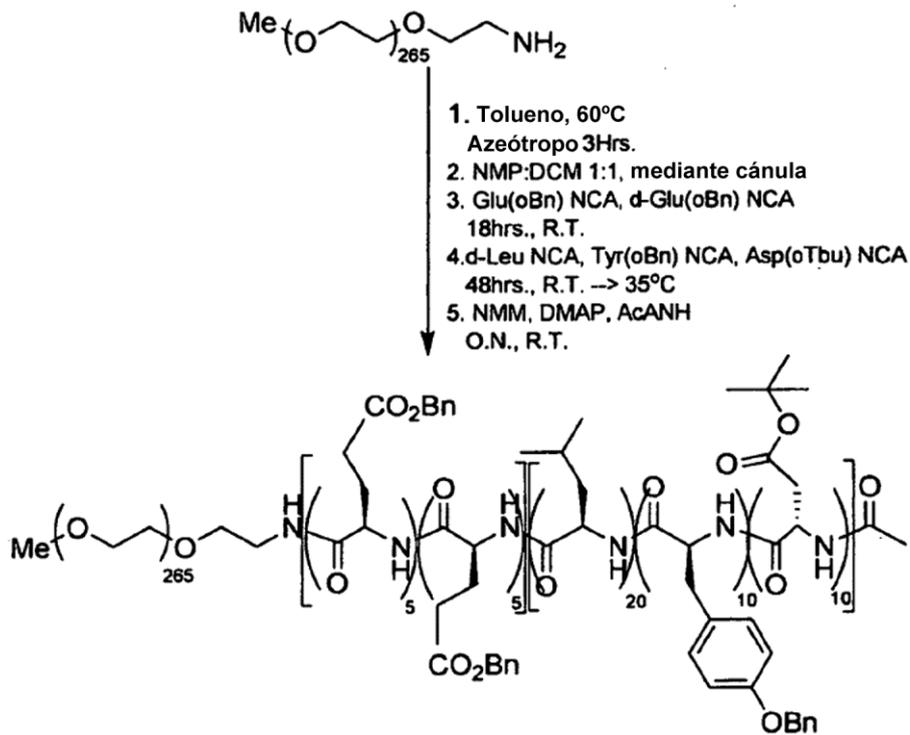
Ejemplo 104



Síntesis de mPEG11,5K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)_{3,5}-*co*-Glu(OBn)_{3,5})-*b*-Poli (Tyr(OBn)₂₅-*co*-d-Phe₁₅)-Ac

5 mPEG11,5KNH₂ (15 g, 1,3 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 3 con la excepción del peso molecular, se pesó en un matraz de fondo redondo, de dos cuellos de 1000 ml, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (300 ml) con calentamiento y se secó por destilación azeotrópica. Después de la destilación a sequedad, el polímero se dejó al vacío durante tres horas. El matraz subsecuentemente se rellenó con N₂, se vació nuevamente a presión reducida, y se introdujo (NMP) y DCM (relación 1:3) (450 ml) seco por cánula. Glu(OBn) NCA (1,2 g, 4,56 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 8, y d-Glu(OBn) NCA (1,2 g, 4,56 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 9, se agregaron al matraz, y la mezcla de reacción se dejó agitar durante 48 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, d-Phe NCA (2,88 g, 19,56 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 7, y Tyr(OBn) NCA (8,26 g, 32,60 mmol) preparado con el mismo método que en el Ejemplo 6, se agregaron y la solución directamente se dejó agitar a temperatura ambiente durante 2 horas y después se calentó a 35°C durante 48 horas, punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (1,34 g, 13 mmol, 1,23 ml), N-metilmorfolina (NMM) (1,3 g, 13 mmol, 1,43 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,16 g, 1,3 mmol). La agitación continuó durante 16 horas a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en éter dietílico:heptano 10:1 (2,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones de 100 ml de éter dietílico fresco, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro, fino (26 g, Rendimiento = 82,2 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,46-7,85, 7,48-6,95, 6,84-6,61, 5,02, 4,97-4,79, 4,66-4,16, 3,75-3,21, 3,00-2,79, 2,76-2,56, 2,43-2,25, 2,00-1,57.

Ejemplo 105

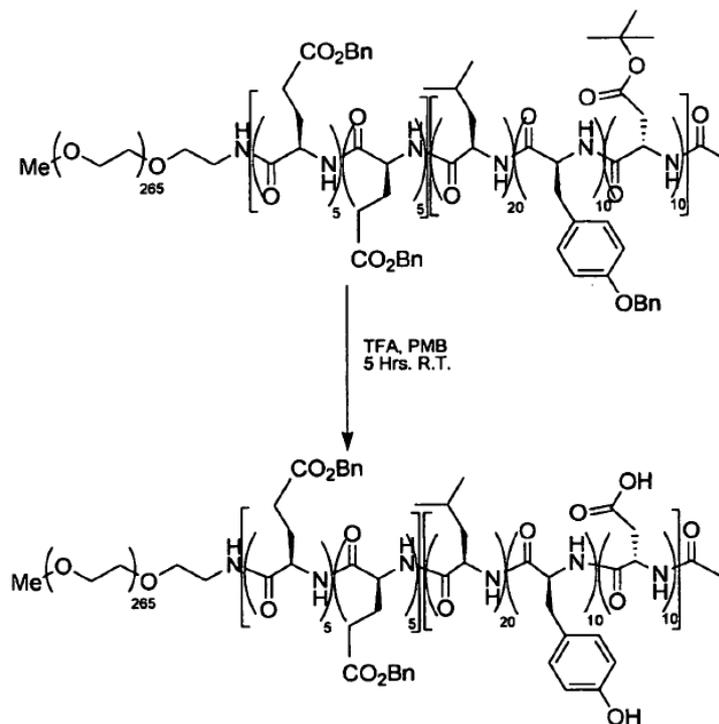


Síntesis de mPEG11,6K-*b*-Poli-(d-Glu(oBn)₅-co-Glu(oBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OBn)₁₀-co-d-Leu₂₀-co-Asp(oTbu)₁₀-Ac

5 Usando el protocolo general del Ejemplo 73 y sustituyendo materiales de partida NCA apropiados y usando una relación 1:1 de NMP:DCM se produjo el polímero crudo, este se precipitó con éter dietílico aproximadamente 10 volúmenes. Después de la filtración y secado, el compuesto del título se recolectó como un sólido incoloro (30,5 g, Rendimiento = 87,1%). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,39-7,94, 7,41-7,17, 7,15-7,02, 6,82, 5,01, 4,60-4,16, 3,72-3,30, 2,70, 2,42-2,26 2,02-1,71, 1,33, 0,9-0,55.

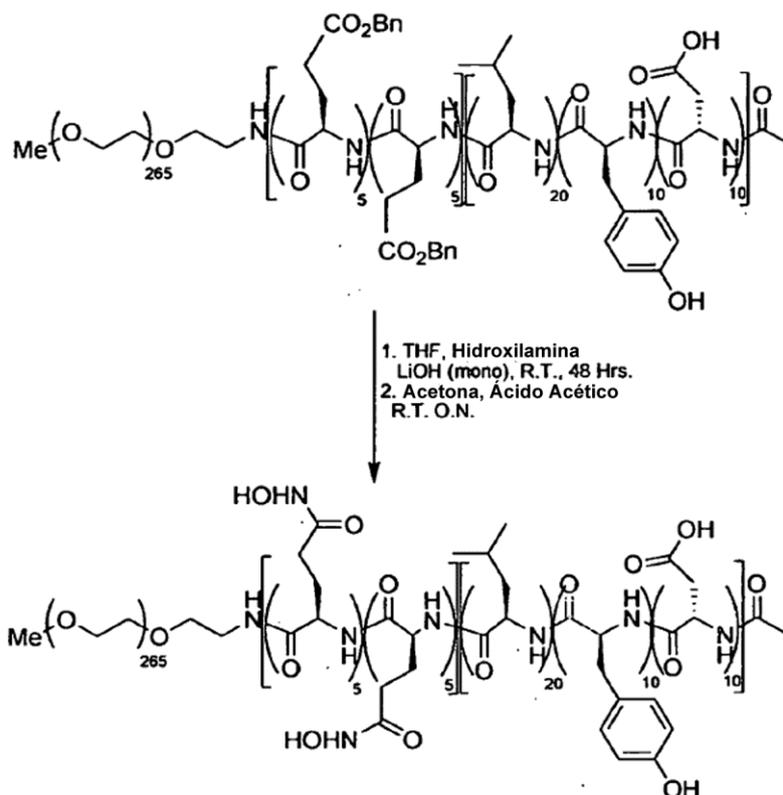
10

Ejemplo 106



5 **Síntesis de mPEG11,6K-b-Poli-(d-Glu(oBn)₅-co-Glu(oBn)₅-b-Poli (Tyr(OH)₁₀-co-d-Leu₂₀-co-Asp₁₀)-Ac** El copolímero tribloque del Ejemplo 104 se pesó (29 g, 1,38 mmol) en un vaso de precipitado de 500 ml limpio y se disolvió en ácido trifluoroacético. A esta solución se agregó pentametil-benceno (6,14 g, 41,4 mmol) y se agitó con una barra agitadora magnética. A los treinta minutos después de la adición de pentametil-benceno se observó un precipitado en solución. La mezcla de reacción se agitó durante dos horas y se siguió por RMN para eliminación completa de los grupos protectores bencílicos en tirosina y grupo t-butilo en aspartato. Después del término de esta desprotección (5 Hrs) la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa, se disolvió nuevamente en cloruro de metileno y después se precipitó en éter dietílico frío y se recolectó por filtración. Este sólido se lavó tres veces con porciones de 100 ml de éter frío y se secó al vacío y se caracterizó. (26 g, Rendimiento = 96,6 %) ¹H RMN (d6-DMSO) δ 9,09, 8,44-7,58, 7,35-6,89, 6,96, 6,58, 5,03, 4,62- 4,16, 3,71-3,22, 2,75-2,64, 2,40-2,26, 2,23-2,04, 0,92-0,54.

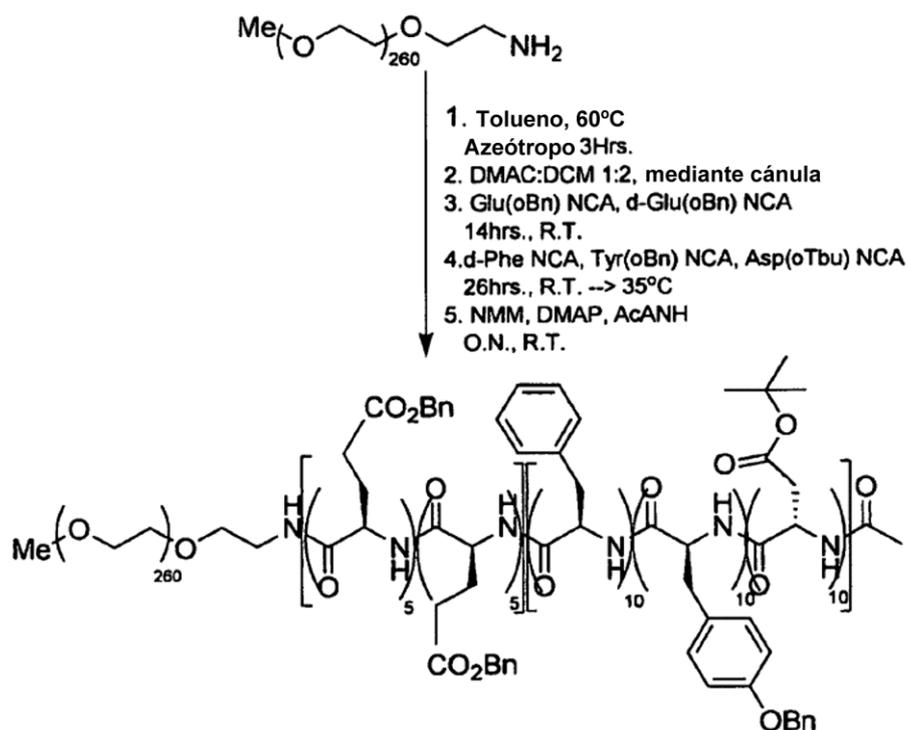
Ejemplo 107



15 **Síntesis de mPEG11,6K-b-Poli-(d-Glu(NHOH)₅-co-Glu(NHOH)₅-b-Poli (Tyr(OH)₁₀-co-d-Leu₂₀-co-Asp₁₀)-Ac** El éster tribloque del Ejemplo 105 se pesó (25 g, 1,38 mmol) en un matraz de fondo redondo de 500 ml limpio y el polímero se disolvió completamente en 200 ml de tetrahidrofurano. A esta solución treinta equivalentes de hidroxilamina (1,9 ml, 0,028 mmol) e hidróxido de litio monohidrato (1,16 g, 27,6 mmol) se agitaron en nitrógeno a temperatura ambiente durante la noche. El término de la reacción se verificó por ¹H RMN. Esta solución se mezcló con 100 ml de metanol y se precipitó con éter dietílico (aproximadamente 7 volúmenes). Este sólido blanco se recolectó por filtración y se lavó con éter dietílico fresco. El sólido recolectado después se disolvió en acetona y una cantidad catalítica de ácido acético se dejó agitar durante la noche, la solución se vertió en un vaso de precipitado limpio de dos litros y se agregó éter dietílico lentamente a la solución con agitación. Este sólido blanco se recolectó por filtración y después se secó al vacío, Proporcionó 22 g (92%), ¹H RMN (d6-DMSO) δ 9,4-8,5, 8,40-7,71, 7,40-7,11, 6,93, 6,57, 5,10, 4,53-3,99, 3,86-3,02, 2,99-2,87, 2,09-1,19, 1,6-1,2, 1,01-0,5.

Ejemplo 108

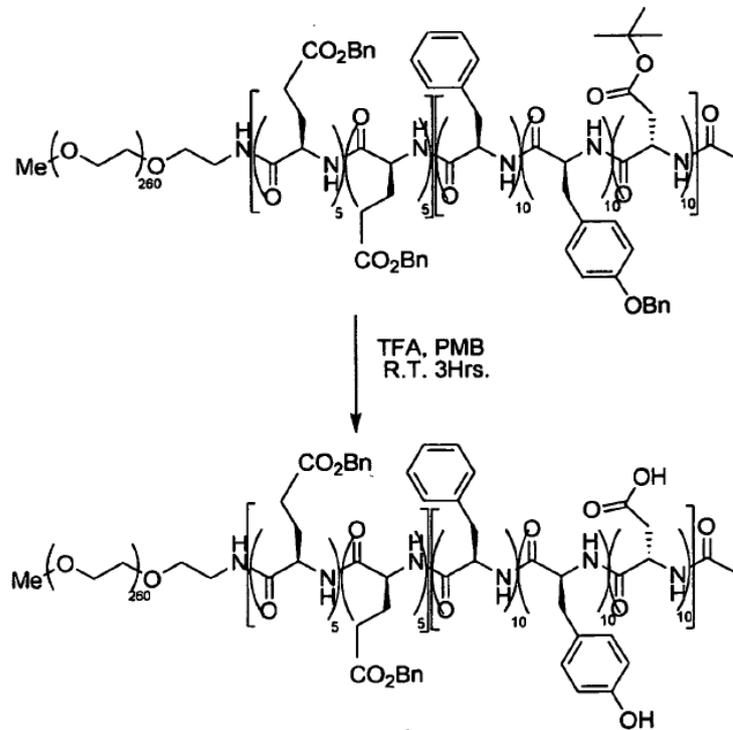
30



Síntesis de mPEG11,5K-*b*-Poli-(d-Glu(OBn)₅-*co*-Glu(OBn)₅)-*b*-Poli (Tyr(OBn)₁₀-*co*-d-Phe₁₀-*co*-Asp(OtBu)₁₀)-Ac

5 mPEG11,5KNH₂ (31 g, 2,7 mmol) preparado por el mismo método que en el Ejemplo 3 excepto por el peso molecular, se pesó en un matraz de fondo redondo, de dos cuellos de 1000 ml, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (400 ml) con calentamiento y se secó por destilación azeotrópica. Después de la destilación a sequedad, el polímero se dejó al vacío durante tres horas. El matraz subsecuentemente se rellenó con N₂, se vació nuevamente a presión reducida, y se introdujo una relación 1:2 de dimetilacetamida:cloruro de metileno por cánula y se disolvió completamente. Glu(OBn) NCA (3,4 g, 12,9 mmol) preparado por el mismo método que en el Ejemplo 8, y d-Glu(OBn) NCA (3,4 g, 12,9 mmol) preparado por el mismo método que en el Ejemplo 9, se pesaron en un matraz de fondo redondo de 500 ml limpio y se vació durante 2 horas, se rellenó con N₂ y después se disolvieron en DMAC y se canularon al matraz que contiene PEG. Esta mezcla de reacción se dejó agitar durante 14 horas a temperatura ambiente en gas nitrógeno. Después, d-Phe NCA (5,15 g, 26,9 mmol) preparado por el mismo método que en el Ejemplo 7 y Tyr(OBn) NCA (7,99 g, 26,9 mmol) preparado por el mismo método que en el Ejemplo 6, se agregaron a la misma manera como se menciona anteriormente y la solución se dejó agitar a temperatura ambiente durante dos horas y después se calentó a 35 °C durante 26 horas punto en el cual la reacción se completó (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (2,77 g, 269 mmol, 2,46 ml), N-metilmorfolina (NMM) (2,69 g, 269 mmol, 1,43 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,33 g, 2,7 mmol). La agitación continuó durante 1 día a temperatura ambiente. La solución de reacción se sometió a rotoevaporador para remover el cloruro de metileno y después el polímero se precipitó en isopropanol (3,5 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones frescas de 100 ml de isopropanol, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo casi incoloro (44,5 g, Rendimiento = 83,1 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,59- 7,86, 7,45-7,25, 7,10, 6,79, 5,12-4,79, 4,69-4,17, 3,84-3,23, 3,02-2,58, 2,40-2,23, 2,04-1,71, 1,33.

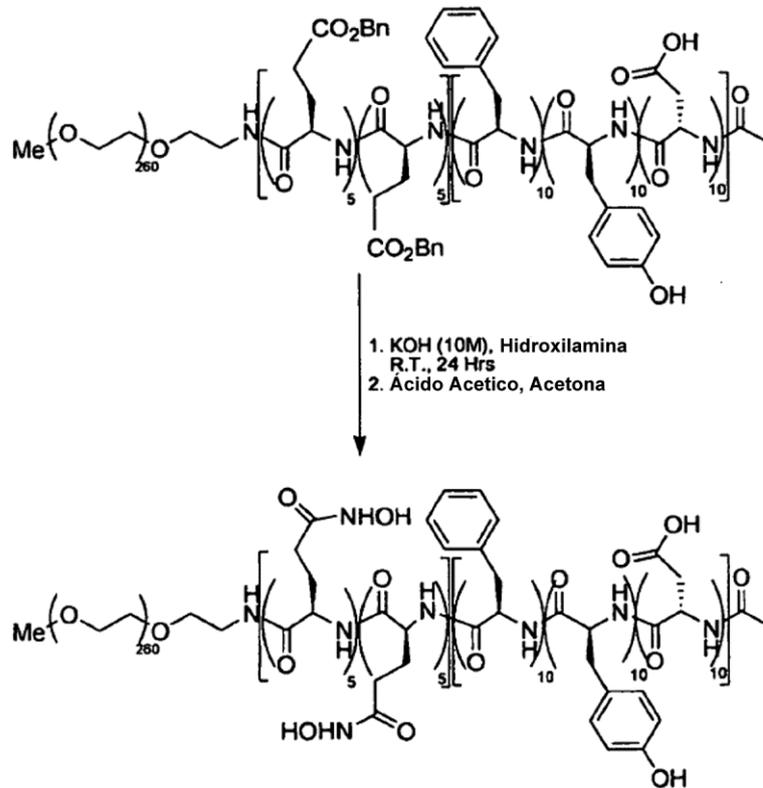
25 Ejemplo 109



Síntesis de mPEG11,5K-*b*-Poli-(d-Glu(oBn)₅-co-Glu(oBn)₅)-*b*-Poli-(Tyr(OH)₁₀-co-d-Phe₁₀-co-Asp(OH)₁₀)-Ac

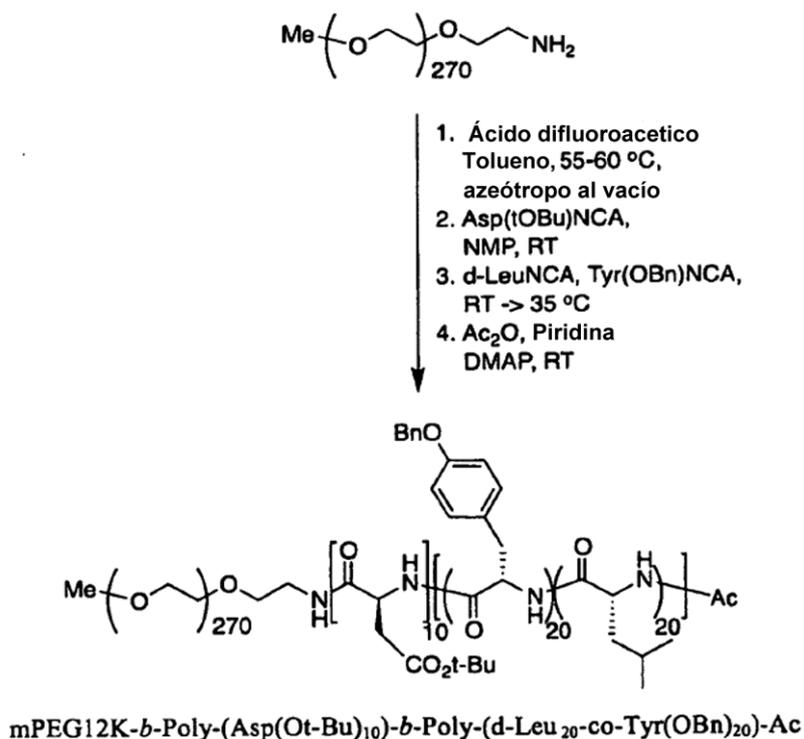
Usando el método general del Ejemplo 74 solamente ajustando la escala, este polímero se desprotegió (30 g, 1,54 mmol). Una vez completa (3 Hrs.) la solución se sometió a rotoevaporador hasta obtener una pasta espesa y después se disolvió nuevamente en DCM y precipitó en MTBE, se recolectó por filtración, se lavó varias veces con porciones frescas de 100 ml de MTBE y se secó al vacío. Esta reacción proporcionó 24 g de material seco (86,9 %).
¹H RMN (d₆-DMSO) δ 9,07, 8,50-7,80, 7,40- 7,28, 6,98, 6,62, 5,04, 4,69-4,17, 3,72-3,23, 3,02-2,76, 2,73-2,57, 2,42-2,27, 2,23-1,59.

Ejemplo 110



Síntesis de mPEG11,5K-*b*-Poli-(d-Glu(NHOH)₅-*co*-Glu(NHOH)₅-*b*-Poli (Tyr(OH)₁₀-*co*-d-Phe₁₀-*co*-Asp(OH)₁₀)-Ac
 El polímero del Ejemplo 108 (22 g, 1,2 mmol) se disolvió completamente en 200 ml de THF con calentamiento. Esta
 5 solución se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de que se agregara solución de KOH 10 M (2 ml, 1,5 g, 10,8
 mmol), seguido por hidroxilamina (solución acuosa al 50%, 6 ml, 3,6 g, 108 mmol) esta solución se agitó a
 temperatura ambiente durante 24 horas. Se agregó acetona 20 ml y ácido acético (2 ml) a esta solución de reacción
 y se agitó 4 horas. La solución se sometió a rotoevaporador hasta casi secarse, se disolvió nuevamente en cloruro
 10 de metileno y precipitó en MTBE, se recolectó por filtración y se secó al vacío (20 g, Rendimiento= 94,9 %). ¹H RMN
 (d₆-DMSO) δ 8,61-7,90, 7,50-6,29, 5,38-5,01, 4,63-4,12, 3,78-3,22, 2,17, 2,11, 1,81-1,63.

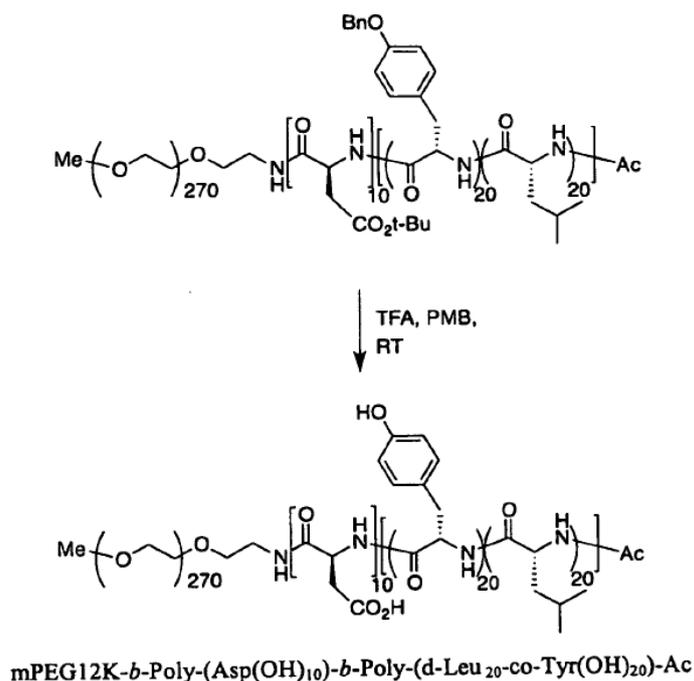
Ejemplo 111



Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(Asp(Ot-Bu)₁₀)-*b*-Poli-(d-Leu₂₀-co-Tyr(OBn)₂₀)-Ac mPEG12KNH₂ del Ejemplo 3 (360 g, 30,0 mmol) se pesó en un matraz encaquetado de fondo redondo, de tres cuellos, de 5000 ml, secado en horno, limpio y se disolvió en tolueno (3000 ml) con calentamiento en un baño de aceite a 55-60°C y se secó por destilación al vacío azeotrópica. Después que aproximadamente el 30% del tolueno se removió la destilación se detuvo y se agregó ácido difluoroacético (DFA) por jeringa (2,26 ml, 0,036 mmol) para formar la sal de DFA. La solución se agitó durante 30 minutos y después el azeotropo se inició de nuevo y se secó completamente. La sal de polímero se dejó al vacío durante la noche. El matraz subsecuentemente se relleno con N₂, se vació nuevamente a presión reducida, y se introdujo N-metilpirrolidona seca (NMP) (3500 ml) por cánula. La mezcla se calentó de forma breve a 40°C para facilitar disolución y después se enfrió a 25°C. Asp(OtBu) NCA (64,56 g, 300 mmol) se pesó en un RBF de 2 cuellos, de 1 L limpio, y se vació durante una hora antes de que la NMP recién destilada se canulara al matraz y se disolviera completamente el NCA. Esta solución después se canuló al matraz de PEG y se dejó agitar a temperatura ambiente durante 48 horas en gas nitrógeno. Después, se agregaron d-Leu NCA (94,30 g, 600 mmol) y Tyr(OBn) NCA (178,39 g, 600 mmol) a la solución por el mismo método que se describe anteriormente y la solución resultante se dejó agitar a 35 °C durante 48 horas punto en el cual la reacción se consideró completa (GPC, DMF/LiBr al 0,1%). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregaron anhídrido acético (45,9 g, 0,45 mol, 42,5 ml), piridina (59,3 g, 0,75 mol, 60,7 ml) y dimetilaminopiridina (DMAP) (0,37 g, 3,0 mmol). La agitación continuó durante 1 día a temperatura ambiente. El polímero se precipitó en 5 volúmenes de éter dietílico (15 L) y se aisló por filtración, se lavó con porciones frescas de 300 ml de éter dietílico, y se secó al vacío para dar el copolímero en bloque como un polvo blancuzco, fino (434,9 g, Rendimiento = 69,0 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 8,50-7,90, 7,60-7,30, 7,25-6,77, 5,10-4,85, 4,65-4,10, 3,72-3,25, 3,05-2,45, 2,44-1,60, 1,40-1,25, 0,90-0,50.

Ejemplo 112

25



5 **Síntesis de mPEG12K-*b*-Poli-(Asp(OH)₁₀)-*b*-Poli-(d-Leu₂₀-co-Tyr(OH)₂₀)-Ac** mPEG12K-*b*-Poli-(Asp(Ot-Bu)₁₀)-*b*-
 10 Poli-(d-Leu₂₀-co-Tyr(OBn)₂₀)-Ac del Ejemplo 110 (314,5 g, 14,9 mmol) y pentametilbenzeno (141,4 g, 0,954 mol) se
 disolvieron en 2,2 L de ácido trifluoroacético (TFA). La reacción rápidamente se agitó durante 14 horas a
 temperatura ambiente. El TFA se removió en un evaporador rotatorio con la temperatura del baño de agua que no
 15 supera 35 °C. El sólido como masilla resultante se disolvió en 1,4 L de diclorometano, se transfirió a un cubo de 12
 L, y se precipitó por adición lenta de 5,6 L de éter dietílico usando agitación mecánica rápida. La suspensión
 resultante se agitó durante 30 minutos, los sólidos se recolectaron por filtración, se lavaron con porciones 2x1L de
 éter dietílico fresco, y se secaron al vacío. El sólido se disolvió nuevamente en 900 ml de diclorometano y precipitó
 por adición de 10 L de éter dietílico. La filtración y secado al vacío proporcionó el producto como un sólido
 esponjoso, incoloro (254,4 g, Rendimiento = 91,3 %). ¹H RMN (d₆-DMSO) δ 12,4, 9,09, 8,50-7,80, 7,05-6,45, 4,65-
 4,0, 3,85-3,1, 3,03-2,45, 2,44-1,63, 1,58-0,95, 0,90-0,50.

Ejemplo 113

Formulación de Daunorubicina. El copolímero tribloque del Ejemplo 18 (330 mg) se disolvió en agua a 1,65 mg/ml
 por agitación a ~ 50 °C durante 10 minutos. La solución se dejó enfriar y el pH se ajustó a 7,0 con NaOH 0,1 N. La
 20 tasa de alimentación de daunorubicina para la formulación fue el 10 % del peso del polímero. Una solución orgánica
 (metanol al 20%, diclorometano al 80%) se usó para disolver 33 mg de daunorubicina a 8,25 mg/ml colocando la
 solución en un baño de agua de sonicación seguido por calentamiento y agitación en vórtex, y repitiendo hasta que
 persiste una solución roja, transparente. La solución orgánica se dejó enfriar a temperatura ambiente después se
 25 agregaron 17 µl de trietilamina. La solución orgánica se agregó después a la solución del polímero mientras se
 mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante, que era una solución roja, turbia, se
 dejó agitar en una campana extractora durante la noche. Conforme el solvente orgánico se evaporó la solución llegó
 a ser menos turbia y más roja en color. Al día siguiente la solución se filtró a través de un filtro en línea, de 0,22
 micrómetros. Un aparato de filtración de flujo tangencial equipado con un filtro de valor de corte 10 kD se usó para
 30 concentrar la muestra desde 200 ml hasta aproximadamente 50 ml. La formulación se congeló después a -70 °C y
 se liofilizó. La formulación de daunorubicina produjo un rendimiento del 88 %. Se determinó la carga de peso
 comparando una curva estándar de daunorubicina con una concentración conocida de la formulación por análisis de
 HPLC. Se disolvió daunorubicina en metanol en un intervalo desde 40 µg/ml hasta 200 µg/ml, y la formulación se
 disolvió a 2 mg/ml en metanol. La cantidad de daunorubicina en la formulación después se convirtió al % en base a
 35 la cantidad conocida de la formulación usada (es decir, 2 mg/ml). Esta formulación demostró una carga de peso del
 7,8 % de una alimentación al 10%; representando un proceso eficaz al 69%. El análisis del tamaño de partícula de la
 formulación no entrecruzada por dispersión de luz dinámica produjo un diámetro medio de 75 nm. La encapsulación
 de daunorubicina se verificó por diálisis de la formulación no entrecruzada por encima de la concentración micelar
 crítica (CMC) a 20 mg/ml, y por debajo de la CMC a 0,2 mg/ml. Como se muestra en la Figura 5, la formulación
 dializada por encima de la CMC produjo aproximadamente el 88% de retención de daunorubicina mientras la diálisis
 40 por debajo de la CMC produjo aproximadamente el 15% de retención de daunorubicina. Estos resultados
 demuestran que la daunorubicina se encapsula eficazmente en la micela a altas concentraciones (por encima de la

CMC) y que la micela se rompe cuando se diluye por debajo de la CMC.

Ejemplo 114

5 **Entrecruzamiento de Micelas Cargadas de Daunorubicina.** Las micelas cargadas de daunorubicina del Ejemplo 113 estuvieron en agua a 20 mg/ml con cloruro de hierro (III) 0,1, 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2,5, 5, 7,5 o 10 mM durante aproximadamente 16 horas. Cada una de las nueve muestras separadas se diluyó a 0,2 mg/ml y se dializó durante 6 horas contra tampón fosfato pH 8 para determinar la extensión del entrecruzamiento. El resultado de este experimento se muestra en la Figura 6. Este resultado demuestra que las micelas cargadas de daunorubicina son estables para dilución (entrecruzadas) cuando se tratan con cloruro de hierro (III), con los mejores resultados obtenidos con concentraciones por encima de cloruro de hierro (III) 5 mM.

Ejemplo 115

15 **Optimización del Tiempo de Entrecruzamiento.** Las micelas cargadas de daunorubicina del Ejemplo 113 estuvieron en cloruro de hierro (III) 10 mM a 20 mg/ml. Se tomaron alícuotas de la muestra a 5 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas y 16 horas, junto con una muestra no entrecruzada sin hierro a 5 minutos, se diluyó a 0,2 mg/ml y se dializó contra tampón fosfato 10 mM pH 8 durante 6 horas. El % de daunorubicina restante post-diálisis para el entrecruzamiento dependiente del tiempo se muestra en la Figura 7. Basado en la figura 3 el entrecruzamiento de la muestra ocurre rápidamente, con casi el 70% de retención de la daunorubicina restante después de solo 5 minutos de incubación de la muestra con la solución de cloruro de hierro (III) antes de la dilución por debajo de la CMC.

Ejemplo 116

25 **Optimización de pH de Entrecruzamiento.** Las micelas cargadas de daunorubicina del Ejemplo 113 estuvieron en cloruro de hierro (III) 10 mM a 20 mg/ml después alícuotas de esta solución se ajustaron a pH 3, 4, 5, 6, 7, 7,4 y 8 con hidróxido de sodio diluido y se agitó durante 10 minutos. Cada muestra después se diluyó a 0,2 mg/ml y se dializó contra tampón fosfato 10 mM pH 8 durante 6 horas. El % de daunorubicina restante post-diálisis contra tampón fosfato 10 mM pH 8 se muestra en la Figura 8. Este resultado demuestra que el pH óptimo para el entrecruzamiento es 7,4.

Ejemplo 117

35 **Liberación Dependiente del pH de Daunorubicina a partir de Micelas Entrecruzadas.** Las micelas cargadas de daunorubicina del Ejemplo 113 estuvieron en cloruro de hierro (III) 10 mM a 20 mg/ml después se ajustó a pH 7,4 con hidróxido de sodio diluido y se agitó durante 10 minutos. Esta muestra después se diluyó a 0,2 mg/ml y se dializó contra tampón fosfato 10 mM a pH 3, 4, 5, 6, 7, 7,4 y 8 durante 6 horas. El % de daunorubicina restante post-diálisis contra tampón fosfato 10 mM como una función de pH se muestra en la Figura 9. Este resultado demuestra una liberación dependiente del pH del fármaco a partir de una micela entrecruzada.

Ejemplo 118

45 **Liberación Dependiente de Sal de Daunorubicina a partir de Micelas Entrecruzadas.** Las micelas cargadas de daunorubicina del Ejemplo 113 estuvieron en cloruro de hierro (III) 10 mM a 20 mg/ml después se ajustó a pH 7,4 con hidróxido de sodio diluido y se agitó durante 10 minutos. Cada muestra se diluyó después a 0,2 mg/ml y se dializó contra tampón fosfato 10 mM pH 8 con concentraciones que varían desde 0 hasta 500 mM de NaCl durante 6 horas. El % de daunorubicina restante post-diálisis contra tampón fosfato 10 mM como una función de la concentración de sal se muestra en la Figura 10. Este resultado demuestra una liberación dependiente de sal del fármaco a partir de una micela entrecruzada.

Ejemplo 119

55 **Encapsulación de Aminopterina.** - El copolímero tribloque del Ejemplo 18 (800 mg) se disolvió en agua a 2 mg/ml por agitación a ~ 50 °C durante 30 minutos. La solución se dejó enfriar y el pH se ajustó a 7,0 con NaOH 0,1 N. La aminopterina alimentada para la formulación fue el 4% del peso del polímero. Una solución orgánica (metanol al 20%, diclorometano al 80%, ácido para-toluenosulfónico 15 mg/ml) se usó para disolver 32 mg de aminopterina a 3,2 mg/ml colocando la solución en un baño de agua de sonicación seguido por calentamiento y agitación con vórtex, y repitiendo hasta que persiste una solución amarilla transparente. Una vez que la solución orgánica se enfría, se agrega a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante, la cual es una solución amarilla turbia, se dejó agitar en una campana extractora durante la noche. Conforme el solvente orgánico se evaporó la solución llegó a ser menos turbia y más amarilla en color. Al siguiente día la solución se ajustó de pH a 7,0 con NaOH y se filtró a través de un filtro en serie, de 0,22 micrómetros. Un aparato de filtración de flujo tangencial equipado con un filtro de valor de corte 10 kD se usó por diafiltración con un intercambio de tampón tres veces para remover la aminopterina no encapsulada y solventes traza. La formulación se congeló después a -70 °C y se liofilizó. La formulación de aminopterina con el copolímero tribloque produjo un 85%

de rendimiento de producto. Se determinó la carga de peso comparando una curva estándar de aminopterina a una concentración conocida de la formulación por análisis de HPLC. La aminopterina se disolvió en fase móvil de HPLC (acetonitrilo al 60%, tampón fosfato 10 mM pH 8 al 40%) en un intervalo desde 40 µg/ml a 200 µg/ml, y la formulación se disolvió a 5 mg/ml en fase móvil de HPLC. La cantidad de aminopterina en la formulación después se convirtió a % en base a la cantidad conocida de la formulación usada (es decir, 5 mg/ml). Se encontró que la micela cargada de aminopterina tenía una carga del 2,5% de carga en peso de una alimentación al 4%, lo que produce un proceso eficaz al 53%. El tamaño de partícula de la formulación no entrecruzada demostró un tamaño de partícula medio de distribución única de aproximadamente 70 nm, como se muestra en la Figura 11.

10 Ejemplo 120

Verificación de Encapsulación de Aminopterina. Las micelas cargadas de aminopterina del Ejemplo 119 se disolvieron a 20 mg/ml en tampón fosfato 10 mM pH 8. La formulación no entrecruzada también se diluyó por debajo de la CMC (0,2 mg/ml) y se dializó contra tampón fosfato 10 mM pH 8 durante seis horas. El histograma mostrado en la Figura 12 demuestra la estabilidad de la formulación no entrecruzada a 20 mg/ml, con más del 75% de la aminopterina restante dentro de la bolsa de diálisis durante 6 horas. Sin embargo, cuando se diluyó a 0,2 mg/ml, menos del 10% de la aminopterina se dejó en la bolsa de diálisis después de 6 horas. Este resultado muestra que la aminopterina se encapsula eficazmente en la micela a altas concentraciones (por encima de la CMC) y que la micela se rompe cuando se diluye por debajo de la CMC.

20 Ejemplo 121

Liberación Dependiente del pH de Aminopterina a partir de Micelas Entrecruzadas. Las micelas cargadas de aminopterina del Ejemplo 119 se disolvieron a 20 mg/ml en cloruro de hierro (III) 10 mM y se agitó durante 10 minutos. Esta muestra después se diluyó a 0,2 mg/ml y se dializó contra tampón fosfato 10 mM a pH 3, 4, 5, 6, 7, 7,4 y 8 durante 6 horas. El % de aminopterina restante post-diálisis contra tampón fosfato 10 mM como una función de pH se muestra en la Figura 13. Este resultado demuestra una liberación dependiente del pH de aminopterina a partir de una micela entrecruzada.

30 Ejemplo 122

Citotoxicidad Micelas Entrecruzadas Cargadas de Aminopterina. Las micelas cargadas de aminopterina del Ejemplo 119 y Ejemplo 121 se probaron para citotoxicidad comparada a aminopterina libre y las formulaciones de micela no cargadas de fármaco entrecruzadas y no entrecruzadas (a partir del polímero del Ejemplo 18) contra líneas de células de cáncer de pulmón A549, ovario OVCAR3, pancreático PANC-1 (receptor folato +) y BxPC3 (receptor folato -). Los perfiles de citotoxicidad para cada tratamiento para cada línea de células en la Figura 14 (Pulmón A549), Figura 15 (Ovario OVCAR3), Figura 16 (Pancreático PANC-1), y Figura 17 (pancreático BxPC3). La aminopterina inhibió la viabilidad celular en el 50% (CI_{50}) en el intervalo nanomolar bajo (~ 7 - 25 nM) en células A549 y PANC-1, sin embargo no se obtuvo CI_{50} para células OVCAR3 o BxPC3. Del mismo modo, las formulaciones entrecruzadas y no entrecruzadas demostraron valores de CI_{50} en el intervalo nanomolar bajo (~ 20 - 70 nM) para células A549 y PANC-1 sin alcanzar el 50% de inhibición en células OVCAR3 o BxPC3. El tratamiento con micelas no cargadas de fármaco entrecruzadas y no entrecruzadas fue bien tolerado, con más del 80% de viabilidad para todas las células probadas.

45 Ejemplo 123

Encapsulación de Berberina - El copolímero tribloque del Ejemplo 18 (300 mg) se disolvió en agua a 2 mg/ml por agitación a ~ 50 °C durante 10 minutos. La solución se dejó enfriar y el pH se ajustó a 7,0 con NaOH 0,1 N. La tasa de alimentación de berberina para la formulación fue el 5% del peso del polímero. Una solución orgánica (metanol al 20%, diclorometano al 80%) se usó para disolver 15 mg de berberina a 6 mg/ml agitando con el vórtex hasta que persiste una solución amarilla transparente. La solución orgánica después se agregó a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante, la cual es una solución amarilla turbia, se dejó agitar en una campana extractora durante la noche. Conforme el solvente orgánico se evaporó la solución llegó a ser menos turbia y más amarilla en color. Al siguiente día la solución se filtró a través de un filtro en serie, de 0,22 micrómetros. Un aparato de filtración de flujo tangencial equipado con un filtro de valor de corte 10 kD se usó para concentrar la muestra desde 200 ml hasta aproximadamente 50 ml. La formulación después se congeló a -70 °C y se liofilizó. Se determinó la carga de peso comparando una curva estándar de berberina a una concentración conocida de la formulación por análisis de HPLC. La berberina se disolvió en metanol en un intervalo desde 40 µg/ml hasta 200 µg/ml, y la formulación se disolvió a 5 mg/ml en metanol. La cantidad de berberina en la formulación después se convirtió a % en base a la cantidad conocida de la formulación usada (es decir, 5 mg/ml). La carga de peso de la formulación de berberina fue el 4% a partir de una alimentación al 5%, como se determina por análisis de HPLC de la formulación comparada con una curva estándar del fármaco libre. La eficiencia de encapsulación de la formulación fue el 72%. El análisis del tamaño de partícula por dispersión de luz dinámica produjo un tamaño de partícula medio de 72,5 nm para la muestra no entrecruzada. La diálisis de encapsulación produjo el 53% de retención, demostrando que la berberina se encapsula eficazmente en la micela.

Ejemplo 124

Entrecruzamiento de la micela cargada de berberina - El polvo no entrecruzado liofilizado del Ejemplo 123 fue reconstituido en agua a 20 mg/ml. Se agregó cloruro de hierro (III) a la solución para una concentración final de 5 mM, y se agitó durante ~ 30 minutos. La formulación después se congeló a -70 °C y se liofilizó. Para verificar el entrecruzamiento, las muestras entrecruzadas y no entrecruzadas se diluyeron a 0,2 mg/ml y se dializaron durante 6 horas. La micela no entrecruzada mostró el 5% de la berberina retenida, la muestra entrecruzada mostró el 43% de berberina restante. Este resultado demuestra que la micela de berberina se estabiliza por la adición de hierro.

Ejemplo 125

Encapsulación de Paclitaxel - El copolímero tribloque del Ejemplo 18 (300 mg) se disolvió en agua a 2 mg/ml por agitación a ~ 50 °C durante 10 minutos. La solución se dejó enfriar y el pH se ajustó a 7,0 con NaOH 0,1 N. La tasa de alimentación de paclitaxel para la formulación fue el 1% del peso del polímero. Una solución orgánica (metanol al 20%, diclorometano al 80%) se usó para disolver 3 mg de paclitaxel a 3 mg/ml agitación en el vórtex hasta que persiste una solución incolora, transparente. La solución orgánica después se agregó a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante se dejó agitar en una campana extractora durante la noche. Al siguiente día la solución se filtró a través de un filtro en serie, de 0,22 micrómetros. La formulación después se congeló a -70 °C y se liofilizó. La carga de peso de la formulación de paclitaxel fue el 0,78% a partir de una alimentación al 1%, como se determina por análisis de HPLC de la formulación comparada con una curva estándar del fármaco libre. El análisis del tamaño de partícula por dispersión de luz dinámica produjo un tamaño de partícula medio de 45,7 nm para la muestra no entrecruzada. La diálisis de verificación de encapsulación por encima de la concentración micelar crítica (20 mg/ml) produjo el 52% de retención del paclitaxel post-diálisis.

Ejemplo 126

Encapsulación de SN-38 - El copolímero tribloque del Ejemplo 18 (1 g) se disolvió a 5 mg/ml en agua por agitación a ~ 50 °C durante 10 minutos. Se agregó sacarosa (1 g) a la solución del polímero y se agitó hasta que se disolvió completamente. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se ajustó el pH a 6,0 con NaOH 0,1 N. La alimentación de SN-38 para la formulación fue el 3% del peso del polímero. Se usó DMSO para disolver 30 mg de SN-38 a 80 mg/ml por calentamiento, agitación con el vórtex y colocación de la solución en un baño de agua de sonicación hasta que persiste una solución amarilla transparente. La solución orgánica se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se agregó a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante, la cual fue una solución amarilla clara, turbia, se transfirió después a la cámara de alimentación de un microfluidizador. La solución fue procesada con un paso único a través de un microfluidizador Micro fluidics M110Y. La corriente de salida del microfluidizador se enfrió con un baño de agua helada. La solución después se filtró a través de un filtro en serie de 0,22 micrómetros, y la solución resultante entonces se sometió a ultrafiltración con un sistema de filtración de flujo tangencial Espectro Labs KrosFlo y una membrana de diafiltración de 10 kDa. La solución se concentró de 200 ml a ~ 50 ml, después se agregaron 150 ml de agua con 3 mg/ml de sacarosa y se concentró nuevamente hasta ~ 50 ml. La ultrafiltración se repitió hasta un total de 4 veces el volumen original del tampón se intercambié (800 ml). La solución resultante se congeló después a -70 °C y se liofilizó.

Ejemplo 1276

Entrecruzamiento de Micela de SN-38 - Micelas de SN-38 del Ejemplo 125 se disolvieron a 20 mg/ml en FeCl₃ acuoso 10 mM. El pH entonces se ajustó a 6,8 con NaOH diluido. La solución se agitó durante 1 h a temperatura ambiente después se liofilizó. Esta micela cargada de SN-38, entrecruzada, se aisló como un polvo parduzco con una carga de peso del 1,75%, representando un proceso eficiente al 81,4%. El análisis del tamaño de partícula por dispersión de luz dinámica produjo un diámetro medio de 70 nm.

Ejemplo 128

Preparación y Entrecruzamiento de Micelas de SN-38 - Se hicieron formulaciones con los siguientes polímeros: 128A = mPEG12k-*b*-p[Glu(NHOH)₂]-*b*-p[Phe₁₅-co-Tyr₂₅]-Ac, del Ejemplo 81; 128B = mPEG12k-*b*-p[Glu(NHOH)₇]-*b*-p[Phe₁₅-co-Tyr₂₅]-Ac del Ejemplo 56; 128C = mPEG12k-*b*-p[Glu(NHOH)₁₀]-*b*-p[Phe₁₅-co-Tyr₂₅]-Ac, del Ejemplo 38; 128D = mPEG12k-*b*-p[Glu(NHOH)₂₀]-*b*-p[Phe₁₅-co-Tyr₂₅]-Ac, del Ejemplo 98; y 128E = mPEG12k-*b*-p[Asp₁₀]-*b*-p[Leu₂₀-co-Tyr₂₀]-Ac del Ejemplo 111. El copolímero tribloque (1 g) se disolvió a 5 mg/ml en agua por agitación a ~ 40 °C durante 30 minutos. 1 g de sacarosa se agregó después a la solución del polímero y se agitó hasta que se disolvió completamente. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se ajustó el pH a 6,0 con NaOH. La tasa de alimentación de SN38 para la formulación fue el 5% del peso del polímero. Se usó DMSO para disolver 50 mg de SN-38 a 80 mg/ml por calentamiento, agitación con vórtex y colocación de la solución en un baño de agua de sonicación hasta que persiste una solución amarilla transparente. La solución orgánica se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se agregó a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante, la cual fue una solución amarilla clara, turbia, se transfirió después a la cámara de alimentación de un microfluidizador. La solución fue procesada con un paso único a través del microfluidizador. La

corriente de salida del microfluidizador se enfrió con un baño de agua helada. La solución después se filtró a través de un filtro en serie de 0,22 micrómetros, y la solución resultante entonces se sometió a ultrafiltración con un sistema de filtración de flujo tangencial Espectro Labs KrosFlo y una membrana de diafiltración de 10 kDa. La solución se concentró de 200 ml a ~ 50 ml, después se agregaron 150 ml de agua con 5 mg/ml de sacarosa y se concentró nuevamente hasta ~ 50 ml. La ultrafiltración se repitió hasta que se intercambió un total de 4 veces el volumen original del tampón (800 ml). Se agregó entonces cloruro de hierro (III) a la formulación para una concentración final de 10 mM. El pH de la solución entonces se ajustó a 6,0 con NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Un volumen de tampón que contiene sacarosa a 20 mg/ml se agregó entonces a la solución, y después se concentró nuevamente hasta aproximadamente 20 mg/ml de concentración del polímero. La solución entonces se congeló a - 40°C y se liofilizó. Las formulaciones de SN-38 con los copolímeros tribloque produjeron un rendimiento medio del 85% de producto con una carga de peso del 3,5%. Cargas de peso reales: A=3,4%, B=3,2%, C=3,6%, D=3,6%, E=3,2%. El análisis del tamaño de partícula por dispersión de luz dinámica produjo un diámetro medio de 90 nm. Tamaños reales de partículas: A=84 nm B=88 nm, C=89 nm, D=110 nm, E=91 nm.

15 Ejemplo 129

Farmacocinética de Micelas de SN-38 Entrecruzadas - Ratas Sprague-Dawley quirúrgicamente modificadas con catéteres en la vena yugular, se adquirieron de Harlan Laboratories, Dublin, VA. Formulaciones entrecruzadas de SN-38 (del Ejemplo 128C y 128E) se disolvieron en agua con NaCl 150 mM para una concentración final de 10 mg de SN-38 por kg del peso corporal del animal por inyección embolada de 2 ml mediante JVC durante aproximadamente 1 minuto, seguido por un lavado a chorro de aproximadamente 250 µl de solución salina heparinizada. Los puntos de tiempo para la recolección de sangre después de la administración del artículo de ensayo fueron como sigue: 1, 5, 15 minutos, 1, 4, y 24 horas. Aproximadamente 250 µl de sangre por punto de tiempo se recolectaron por JVC en tubos de recolección de sangre K3-EDTA se seguido por un lavado a chorro de aproximadamente 200 µl de solución salina heparinizada. La sangre entonces se centrifugó a 2000 RPM durante 5 minutos para aislar el plasma. El plasma después se recolectó y se congeló instantáneamente hasta ser procesado para análisis de HPLC. Las muestras se prepararon para análisis descongelando primero las muestras de plasma a temperatura ambiente. Se agregaron 50 µl de plasma a 150 µl, de la solución de extracción (ácido fosfórico en metanol al 0,1%, estándar interno de camptotecina 5 µg/ml) en un tubo eppendorf de 2 ml. Las muestras entonces se agitaron con el vórtex durante 10 minutos y se centrifugaron durante 10 minutos a 13.000 RPM. El sobrenadante entonces se transfirió a viales de HPLC, después se analizó por HPLC. La cuantificación de SN-38 se determinó usando una curva estándar de la formulación de SN-38 en el plasma de rata comparado con las muestras recolectadas de ratas en cada punto de tiempo. Los resultados de este experimento se muestran en la Figura 18. La CMax de SN-38 en el plasma de IT-141 (NHOH; 128C) fue 304,5 µg/ml, determinado 1 minuto tras la administración. La exposición de SN-38 al compartimiento de plasma suministrada por la formulación de ácido hidroxámico fue 111,5 µg*h/ml. La exposición de SN-38 al compartimiento de plasma de IT-141 (Asp; 127E) fue 31,6 µg*h/ml, con una CMax de 156,0 µg/ml.

40 Ejemplo 130

Determinación de longitud de bloque de entrecruzamiento óptimo determinada por farmacocinética de rata. Usando el procedimiento del Ejemplo 129, las formulaciones de los Ejemplos 128A, 128B, y 128D se administraron a ratas a 10 mg/kg. La CMax de SN-38 en el plasma del Ejemplo 128D (NHOH-20) fue 292,9 µg/ml, determinada 1 minuto tras la administración. La exposición de SN-38 al compartimiento de plasma como se determina por el área bajo la curva de concentración frente al tiempo suministrada por la formulación fue 85,7 µg*h/ml. La exposición de SN-38 al compartimiento de plasma del Ejemplo 128B (NHOH-7) fue 71,3 µg*h/ml, con una CMax de 256,9 µg/ml determinada a 1 minuto tras la administración. La CMax de SN-38 en el plasma del Ejemplo 128A (NHOH-2) fue 267,7 µg/ml, determinada 1 minuto tras la administración. La exposición de SN38 al compartimiento de plasma como se determina por el área bajo la curva de concentración frente al tiempo suministrada por la formulación fue 41,8 µg*h/ml. Los resultados se muestran en la Figura 19. Se determinó que el Ejemplo 128C demuestra los resultados de entrecruzamiento óptimos.

Ejemplo 131

Preparación de Micelas Cargadas de Daunorubicina. El copolímero tribloque del Ejemplo 112 (Bloque de núcleo de ácido aspártico) y agua (2 L) se agregó a un vaso de precipitado de 4L y se agitó hasta que una solución homogénea estuvo presente. Se resuspendió clorhidrato de daunorubicina (301 mg) en diclorometano:metanol 4:1 (60 ml), seguido por la adición de trietilamina (82 ul). La suspensión de daunorubicina resultante se agregó por goteo a la solución acuosa en agitación rápida. La solución resultante fue cubierta con papel aluminio y se dejó agitar durante unas ocho horas adicionales. La solución se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y después se liofilizó para dar 2,95 g (89% de rendimiento) como un polvo rojo. Una porción de este material se disolvió a 25 mg/ml de concentración del polímero en Tris 20 mM, pH 7,5 suplementado con FeCl₃ 5mM. Una vez que una solución homogénea estuvo presente, el pH se ajustó a 8,0 con NaOH 1 N, después se agitó durante la noche. La solución fue congelada y se liofilizó para dar un polvo rojo oscuro.

Ejemplo 132

Preparación de Micelas de Aminopterina. El copolímero tribloque del Ejemplo 30 mPEG12k-*b*-p[Glu(NHOH)₁₀]-*b*-p[Asp5-co-Leu15-co-Tyr20]-Ac (800 mg) se disolvió en agua a 2 mg/ml por agitación a ~ 40 °C durante 30 minutos. La solución se dejó enfriar y el pH se ajustó a 7,0 con NaOH. La tasa de alimentación de aminopterina para la formulación fue el 4% del peso del polímero. Una solución orgánica (metanol al 20%, diclorometano al 80%, ácido para-toluenosulfónico 25 mg/ml) se usó para disolver 32 mg de aminopterina a 3,2 mg/ml colocando la solución en un baño de agua de sonicación seguido por calentamiento y agitación en vórtex, y repitiendo hasta que persiste una solución amarilla transparente. Una vez que la solución orgánica se enfría, se agrega a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante, la cual es una solución amarilla turbia, se dejó agitar en una campana extractora durante la noche. Conforme el solvente orgánico se evaporó la solución llegó a ser menos turbia y más amarilla en color. Al siguiente día se ajustó el pH de la solución a 7,0 con NaOH y se filtró a través de un filtro en serie de 0,22 micrómetros, y la solución resultante entonces se sometió a ultrafiltración con un sistema de filtración de flujo tangencial Espectro Labs KrosFlo y una membrana de diafiltración de 10 kDa. La solución se concentró de 2 mg/ml de concentración de polímero hasta aproximadamente 20 mg/ml de concentración del polímero, y se agregó cloruro de hierro (III) a la formulación para una concentración final de 10 mM. El pH de la solución se ajustó entonces a 7,0 con NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución entonces se ajustó a 5 mg/ml de concentración de polímero con agua, y se concentró hasta aproximadamente 20 mg/ml por ultrafiltración. La solución entonces se congeló a - 40°C y se liofilizó. La formulación de aminopterina con el copolímero tribloque produjo un 85% de rendimiento de producto con un 2,5% de carga en peso de una alimentación al 4%, produciendo un proceso eficiente al 53%. El tamaño de partícula de las formulaciones entrecruzadas y no entrecruzadas demostró un tamaño de partícula medio de distribución única de aproximadamente 70 nm.

Ejemplo 133

Preparación de Micelas de Cabazitaxel. El copolímero tribloque del Ejemplo 38 mPEG12k-*b*-p[Glu(NHOH)₁₀]-*b*-p[Phel5-co-Tyr25]-Ac (300 mg) se disolvió en agua a 2 mg/ml por agitación a ~ 40°C durante 30 minutos. La solución se dejó enfriar y el pH se ajustó a 7,0 con NaOH. La tasa de alimentación de cabazitaxel para la formulación fue el 1,5% del peso del polímero. Una solución orgánica (metanol al 20%, diclorometano al 80%) se usó para disolver 4,5 mg de cabazitaxel a 2 mg/ml agitando con el vórtex hasta que persiste una solución incolora, transparente. La solución orgánica después se agregó a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante se dejó agitar en una campana extractora durante la noche. Al siguiente día la solución se filtró a través de un filtro en serie de 0,22 micrómetros, y la solución resultante entonces se sometió a ultrafiltración con un sistema de filtración de flujo tangencial Espectro Labs KrosFlo y una membrana de diafiltración de 10 kDa. La solución se concentró de 2 mg/ml de concentración de polímero hasta aproximadamente 20 mg/ml de concentración de polímero, y se agregó cloruro de hierro (III) a la formulación para una concentración final de 10 mM. El pH de la solución entonces se ajustó a 7,0 con NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución entonces se ajustó a 5 mg/ml de concentración de polímero con agua, y se concentró hasta aproximadamente 20 mg/ml por ultrafiltración. La solución entonces se congeló a - 40°C y se liofilizó. La carga de peso para la formulación de cabazitaxel fue el 1% a partir de una alimentación al 1,5%. El tamaño de partícula de la formulación fue 62 nm de diámetro. La diálisis de encapsulación de la formulación no entrecruzada produjo el 68% de retención por encima de la CMC a 20 mg/ml, y el 72% de retención cuando la formulación entrecruzada se diluyó a 0,2 mg/ml. La figura 20 muestra los resultados de la diálisis de entrecruzamiento dependiente del pH para micelas de cabazitaxel entrecruzadas.

Ejemplo 134

Preparación de Micelas de Epotilona D. El copolímero tribloque del Ejemplo 98 mPEG12k-*b*-p[Glu(NHOH)₂₀]-*b*-p[Phel5-co-Tyr25]-Ac (300 mg) se disolvió en agua a 2 mg/ml por agitación a ~ 40°C durante 30 minutos. La solución se dejó enfriar y el pH se ajustó a 7,0 con NaOH. La tasa de alimentación de epotilona D para la formulación fue el 2% del peso del polímero. Una solución orgánica (metanol al 20%, diclorometano al 80%) se usó para disolver 6 mg de epotilona D a 2 mg/ml agitando con el vórtex hasta que persiste una solución incolora, transparente. La solución orgánica después se agregó a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante se dejó agitar en una campana extractora durante la noche. Al siguiente día la solución se filtró a través de un filtro en serie de 0,22 micrómetros, y la solución resultante entonces se sometió a ultrafiltración con un sistema de filtración de flujo tangencial Espectro Labs KrosFlo y una membrana de diafiltración de 10 kDa. La solución se concentró de 2 mg/ml de concentración de polímero hasta aproximadamente 20 mg/ml de concentración de polímero, y se agregó cloruro de hierro (III) a la formulación para una concentración final de 10 mM. El pH de la solución entonces se ajustó a 6,0 con NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución entonces se ajustó a 5 mg/ml de concentración de polímero con agua, y se concentró hasta aproximadamente 20 mg/ml por ultrafiltración. La solución entonces se congeló a - 40°C y se liofilizó. Este proceso produjo un proceso eficaz al 71% con una carga de peso del 1,5% a partir de una alimentación del 2% y un rendimiento total del 94%. El tamaño de partícula de la formulación fue 82 nm de diámetro. La diálisis de encapsulación de la formulación no entrecruzada produjo el 88% de retención de epotilona D durante 6 horas a 20 mg/ml, mientras la dilución a 0,2 mg/ml produjo el 10% de retención del fármaco durante 6 horas.

Ejemplo 135

Preparación de Micelas de Berberina. El copolímero tribloque del Ejemplo 98 mPEG12k-*b*-p[Glu(NHOH)10]-*b*-p[Asp5-co-Leu15-co-Tyr20]-Ac (300 mg) se disolvió en agua a 2 mg/ml por agitación a ~ 40°C durante 30 minutos. La solución se dejó enfriar y el pH se ajustó a 7,0 con NaOH 0,1 N. La tasa de alimentación de berberina para la formulación fue el 5% del peso del polímero. Una solución orgánica (metanol al 20%, diclorometano al 80%) se usó para disolver 15 mg de berberina a 6 mg/ml agitando con el vórtex hasta que persiste una solución amarilla transparente. La solución orgánica después se agregó a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante, la cual es una solución amarilla turbia, se dejó agitar en una campana extractora durante la noche. Conforme el solvente orgánico se evaporó la solución llegó a ser menos turbia y más amarilla en color. Al siguiente día la solución se filtró a través de un filtro en serie de 0,22 micrómetros, y la solución resultante entonces se sometió a ultrafiltración con un sistema de filtración de flujo tangencial Espectro Labs KrosFlo y una membrana de diafiltración de 10 kDa. La solución se concentró de 2 mg/ml de concentración de polímero hasta aproximadamente 20 mg/ml de concentración de polímero, y se agregó cloruro de hierro (III) a la formulación para una concentración final de 10 mM. El pH de la solución entonces se ajustó a 7,0 con NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución entonces se ajustó a 5 mg/ml de concentración de polímero con agua, y se concentró hasta aproximadamente 20 mg/ml por ultrafiltración. La solución entonces se congeló a - 40°C y se liofilizó. La carga de peso de la formulación de berberina fue el 4% a partir de una alimentación al 5%, como se determina por análisis de HPLC de la formulación comparada con una curva estándar del fármaco libre. La eficiencia de encapsulación de la formulación fue el 72%. El análisis del tamaño de partícula por dispersión de luz dinámica produjo un tamaño de partícula medio de 66,7 nm de diámetro para la muestra entrecruzada, y 72,5 nm para la muestra no entrecruzada.

Ejemplo 136

Preparación de Micelas de Vinorelbina. El copolímero tribloque del Ejemplo 38 (300 mg) se disolvió en agua a 2 mg/ml por agitación a ~ 40°C durante 30 minutos. La solución se dejó enfriar y el pH se ajustó a 7,0 con NaOH 0,1 N. La tasa de alimentación de vinorelbina para la formulación fue el 5% del peso del polímero. Una solución orgánica (metanol al 20%, diclorometano al 80%) se usó para disolver 15 mg de vinorelbina a 6 mg/ml agitando con el vórtex hasta que persiste una solución incolora, transparente. La solución orgánica después se agregó a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante, la cual fue una solución turbia, se dejó agitar en una campana extractora durante la noche. Conforme el solvente orgánico se evaporó la solución llegó a ser menos turbia e incolora. Al siguiente día la solución se filtró a través de un filtro en serie de 0,22 micrómetros, y la solución resultante entonces se sometió a ultrafiltración con un sistema de filtración de flujo tangencial Espectro Labs KrosFlo y una membrana de diafiltración de 10 kDa. La solución se concentró de 2 mg/ml de concentración de polímero hasta aproximadamente 20 mg/ml de concentración de polímero, y se agregó cloruro de hierro (III) a la formulación para una concentración final de 10 mM. El pH de la solución entonces se ajustó a 7,0 con NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución entonces se ajustó a 5 mg/ml de concentración de polímero con agua, y se concentró hasta aproximadamente 20 mg/ml por ultrafiltración. La solución entonces se congeló a - 40°C y se liofilizó.

Ejemplo 137

Preparación de Micelas de Everolimus. El copolímero tribloque del Ejemplo 38 (300 mg) se disolvió en agua a 2 mg/ml por agitación a ~ 40°C durante 30 minutos. La solución se dejó enfriar y el pH se ajustó a 7,0 con NaOH 0,1 N. La tasa de alimentación de everolimus para la formulación fue el 5% del peso del polímero. Una solución orgánica (metanol al 20%, diclorometano al 80%) se usó para disolver 15 mg de everolimus a 6 mg/ml agitando con el vórtex hasta que persiste una solución incolora, transparente. La solución orgánica después se agregó a la solución del polímero mientras se mezcla con cizalla a 10.000 RPM durante ~ 1 minuto. La emulsión resultante, la cual fue una solución turbia, se dejó agitar en una campana extractora durante la noche. Conforme el solvente orgánico se evaporó la solución llegó a ser menos turbia e incolora. Al siguiente día la solución se filtró a través de un filtro en serie de 0,22 micrómetros, y la solución resultante entonces se sometió a ultrafiltración con un sistema de filtración de flujo tangencial Espectro Labs KrosFlo y una membrana de diafiltración de 10 kDa. La solución se concentró de 2 mg/ml de concentración de polímero hasta aproximadamente 20 mg/ml de concentración de polímero, y se agregó cloruro de hierro (III) a la formulación para una concentración final de 10 mM. El pH de la solución entonces se ajustó a 7,0 con NaOH y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución entonces se ajustó a 5 mg/ml de concentración de polímero con agua, y se concentró hasta aproximadamente 20 mg/ml por ultrafiltración. La solución entonces se congeló a - 40°C y se liofilizó.

Ejemplo 138

Farmacocinética en rata de micelas de daunorubicina comparadas con daunorubicina libre. Ratas Fisher que poseían un catéter en la vena yugular se inyectaron con 10 mg/kg de micelas de daunorubicina entrecruzadas (ácido hidroxámico), daunomicina libre (preparadas según el Ejemplo 113), y micelas cargadas de daunorubicina entrecruzadas con ácido carboxílico (preparadas según el Ejemplo 130) por inyección embolada rápida IV con un volumen de inyección de 2 ml. El vehículo de suministro para la administración del fármaco fue solución salina

isotónica. La sangre de rata se recolectó del catéter en tubos de K₂-EDTA por punción cardiaca en puntos de tiempo de 1, minuto, 5 minutos, 15 minutos, 1 hora, 4 horas, 8 horas y 24 horas. El plasma se aisló por centrifugación a 1000 RPM durante 5 minutos, y 150 ul de solución de extracción (metanol enfriado en hielo/estándar interno de daunorubicina 100 ng/ml) se agregaron a 50 ul de cada muestra de plasma. Las muestras entonces se agitaron en el vórtex durante 10 minutos, se centrifugaron a 13.000 RPM durante 10 minutos, y 150 ul del sobrenadante se transfirieron a viales de HPLC para análisis. Las muestras se analizaron en un Waters Alliance 2695 equipado con un detector de fluorescencia 2475 (Ex = 470 nm; Em = 580). Una inyección de muestra de 5 µl se hizo sobre un Waters 4 µm Nova Pak C18 (3,9 x 150 mm) a 30 °C con una velocidad de flujo de 0,750 ml por minuto de tampón fosfato 10 mM (pH=1,4), metanol y acetonitrilo (el gradiente desde 70/10/20 hasta 40/10/50 para tampón/metanol/acetonitrilo se hizo durante ocho minutos). El analito eluido a 5,9 minutos en estas condiciones, se normalizó al estándar interno, y se cuantificó usando una curva estándar compuesta de siete estándares. Los parámetros farmacocinéticos se resumen en la tabla siguiente y las curvas se muestran en la Figura 21. La exposición de daunorubicina al compartimento de plasma como se determina por el área bajo la curva de concentración frente al tiempo (AUC) suministrada por la formulación de ácido hidroxámico fue 383,6 µg*h/ml. La semivida terminal (eliminación) de daunorubicina suministrada al plasma por la formulación fue 3,9 horas. Esto se comparó con el fármaco libre que mostró una AUC de 1,3 µg*h/ml y una semivida de 3,4 horas así como también la formulación de ácido carboxílico que mostró una AUC de 51,8 µg*h/ml y una semivida de 2,4 horas. Por lo tanto, las formulaciones entrecruzadas de ácido carboxílico tienen una exposición 40 veces superior que el fármaco libre, y la formulación de ácido hidroxámico tiene una exposición 295 veces mejor que el fármaco libre.

Muestra	AUC (µg*h/ml)	CMax (µg/ml)	Semivida (h)
Formulación de ácido hidroxámico del ejemplo 113	383,6	144,0	3,9
Formulación de ácido carboxílico del ejemplo 130	51,8	143,5	2,4
Daunorubicina libre	1,3	3,3	3,3

Ejemplo 139

Farmacocinética en rata de micelas de cabazitaxel entrecruzadas. Ratas Fisher que poseían un catéter en la vena yugular se inyectaron con 5 mg/kg de micela de cabazitaxel entrecruzada o cabazitaxel libre (preparado según el Ejemplo 132) por una inyección embolada rápida IV con un volumen de inyección de 2 ml. El vehículo de suministro para la administración del fármaco fue solución salina isotónica. La sangre de la rata se recolectó del catéter en tubos de K₂-EDTA por punción cardiaca en puntos de tiempo de 1 minuto, 5 minutos, y 15 minutos. El plasma se aisló por centrifugación a 1000 RPM durante 5 minutos, y 150 ul de solución de extracción se agregaron a 50 ul de cada muestra de plasma. Las muestras entonces se agitaron en el vórtex durante 10 minutos, se centrifugaron a 13.000 RPM durante 10 minutos, y 150 ul del sobrenadante se transfirieron a viales de HPLC para análisis. La figura 22 demuestra la concentración de cabazitaxel en el plasma de rata para los primeros 15 minutos después de la administración del artículo de prueba. La exposición de cabazitaxel al compartimento de plasma durante 15 minutos fue 10 µg*h/ml con una CMax de 44,5 µg/ml, comparado con 0,2 µg*h/ml de exposición para el fármaco libre con una CMax de 1,2 µg/ml.

Ejemplo 140

Eficacia anti-tumoral de micelas de SN-38. Células de cáncer de colon HCT-116 se cultivaron según las directrices de la ATCC, se recolectaron por incubación con tripsina, y se resuspendieron a una concentración de 2 millones de células por 0,1 ml en solución salina para inyección. Los ratones se inocularon inyectando 0,1 ml (es decir, 2 millones de células) por vía subcutánea en los flancos derechos de los ratones. Cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 100 mm³ los ratones se aleatorizaron en grupos de tratamiento. Cada grupo consistía en 8 ratones por grupo. Los grupos de tratamiento incluían control de solución salina; control de polímero; irinotecano libre a 35 mg/kg; y formulación SN-38 del Ejemplo 127C a 20, 35, y 50 mg/kg. Los ratones se dosificaron por inyección embolada rápida IV en la vena de la cola; el volumen de inyección fue 0,2 ml. Los tumores se midieron por calibración digital, y el volumen (mm³) se calculó usando la fórmula $V=(W^2 \times L)/2$, donde la anchura (W) es la medida del diámetro más grande y la longitud (L) es la medida del diámetro perpendicular a la anchura. El programa de dosificación fue una vez a la semana durante tres semanas (3xCS). El vehículo para el suministro del polímero fue solución salina isotónica. Las observaciones clínicas durante el estudio incluyeron cambios en el peso corporal del ratón, observaciones morfológicas del síndrome del ratón enfermo (deshidratación, curvatura espinal, e infecciones oportunistas de los ojos, genitales, o erupciones en la piel), y cambios patológicos macroscópicos determinados por necropsias después de la terminación del experimento. La gráfica de la velocidad de crecimiento se muestra en la Figura 23. Los datos mostraron un incremento de 6 veces en el volumen del tumor para el grupo control de solución salina, con una velocidad de crecimiento media de 46,8 mm³ al día. El grupo control de polímero no mostró diferencia estadística en el crecimiento del tumor comparado con el grupo control de solución salina, con un incremento de 5,5 veces en volumen y una velocidad de crecimiento media de 43,7mm³ al día. El irinotecano a 50 mg/kg del grupo control de fármaco libre mostró una reducción del 40% en el volumen del tumor comparado con solución salina, con un incremento de 2,7 veces en volumen y una velocidad de crecimiento media de 18,9 mm³ al día. El grupo de formulación SN-38 de 20 mg/kg mostró una inhibición del 71% en el volumen del tumor comparado

con el control de solución salina y una velocidad de crecimiento media de 13,6 mm³ al día. El grupo de formulación SN-38 de 35 mg/kg mostró una regresión del 30% en el volumen del tumor con una disminución de 1,5 veces en el tamaño y una velocidad de regresión del tumor media de -2,4 mm³ al día. El grupo de formulación SN-38 de 50 mg/kg SN-38 mostró una regresión del 47,6% en el volumen del tumor con una disminución de 2,1 veces en tamaño y una velocidad de regresión del tumor media de -3.8 mm³ al día.

Ejemplo 141

Farmacocinética y Biodistribución de micelas de aminopterina entrecruzadas. Ratones sin pelo atímicos hembra se suministraron por Harlan (Indianápolis, IN). Los ratones se recibieron con 4-5 semanas de edad, 12-15 g en peso. Los ratones se alojaron en un microaislador y se mantuvieron en condiciones libres de patógeno específicas. Los ratones hembra del estudio se inocularon por vía subcutánea en el flanco derecho con 0,1 ml de una mezcla de RPMI al 50%/Matrigel™ (BD Biosciences, Bedford, MA) al 50% que contiene una suspensión de células tumorales OVCAR-3 (aproximadamente 5,0 x 10⁶ células/ratón). Los tumores se midieron usando calibradores y el peso del tumor se calculó usando la fórmula $V=(W^2 \times L)/2$, donde la anchura (W) es la medida del diámetro más largo y la longitud (L) es la medida del diámetro perpendicular a la anchura. Los días de inicio del estudio fueron escalonados por grupo debido a los patrones de crecimiento variable en los tumores. A los animales se les administró el material de prueba, micelas de aminopterina del Ejemplo 131 a 20 mg/kg, una vez que el volumen del tumor alcanzó 150-250 mm³. Después de la eutanasia de cada ratón a 5 y 15 minutos, 1, 4, 12, 24, y 48 horas después del tratamiento (4 ratones por punto de tiempo), se recolectaron muestras de plasma, tumor, bazo, hígado y pulmón. Se analizaron muestras de plasma heparinizado y tejido de ratón (hígado, pulmón, bazo y tumor) usando un ensayo de cromatografía líquida de alta presión con detección espectral de masa en serie (LC- MS/MS). Se prepararon muestras calibradoras y de control de calidad (QC) enriqueciendo aminopterina en plasma humano heparinizado con sodio. Las muestras de tejido se homogenizaron en metanol al 50% y se almacenaron congeladas a -80°C hasta que se analizaron. Cada tipo de matriz de estudio se analizó en un lote analítico separado junto con muestras duplicadas de calibración y QC. Una alícuota de 100 µl del calibrador, QC, blanco, o muestra de estudio (homogenado de plasma o tejido) se mezcló con 50,0 µl de tampón de dilución (formiato de amonio 1,0 mM que contiene ácido fórmico al 0,1%) seguido por 400 µl de acetonitrilo que contiene el estándar interno (IS; metotrexato 50,0 ng/ml) en un tubo de microcentrifuga para precipitar las proteínas. Los tubos se taparon, agitaron en el vórtex, se dejaron digerir durante 5 minutos, y se centrifugaron a 14.000 rpm y 4 °C durante 5 minutos. Una alícuota de 100 µl del sobrenadante se diluyó con 1,5 ml de tampón de dilución, se mezcló en el vórtex, y se inyectaron 20 µl en el sistema de LC-MS/MS. La concentración de cada muestra se determina por comparación con una curva estándar. Se construyeron curvas de concentración-tiempo para cada compartimento y los datos de farmacocinética se calcularon para cada compartimento. Los perfiles de PK de tejido y plasma medios se pueden ver en la Figura 24. El NCA de plasma determinó que la semivida media de aminopterina era 37,65 horas. El AUC_{0-48hrs} medio en plasma se encontró que era 12571 ng*hr/ml. La semivida media de aminopterina en el tumor, pulmones y bazo se determinó que era 9,65, 11153 y 51,87 horas, respectivamente. La pendiente terminal de las concentraciones en hígado no permitieron un cálculo de la semivida puesto que a las 48 horas la concentración fue superior que a 12 y 24 horas. El AUC_{0-48hrs} medio del tumor, pulmones, bazo e hígado se encontró que era 9559, 4276, 4586, y 9909 ng*hr/g, respectivamente.

Ejemplo 143

Eficacia anti-tumoral de micelas de aminopterina entrecruzadas. La línea de células de tumor endometrial humano MFE-296 se recibió de y cultivó según la ATCC. Ratones sin pelo NCR atímicos hembra (CrTac:NCR-Fox1nu) se suministraron por Taconic. Ratones sin pelo atímicos hembra se inocularon por vía subcutánea en el flanco derecho con 0,1 ml de una mezcla de RPMI 1640 al 50%/Matrigel™ (BD Biosciences, Bedford, MA) al 50% que contiene una suspensión de células de tumor MFE-296 (aproximadamente 1 x 10⁷ células/ratón). Veinte días después de la inoculación, los tumores se midieron usando calibradores y el peso del tumor se calculó usando la fórmula $V=(W^2 \times L)/2$, donde la anchura (W) es la medida de diámetro más largo y longitud (L) es la medida del diámetro perpendicular a la anchura. Cincuenta ratones con tamaños de tumor de 80-257 mm³ se aleatorizaron en cinco grupos de diez ratones cada uno con una media de aproximadamente 143 mm³ por equilibrio aleatorio. Los pesos corporales se registraron cuando los ratones se aleatorizaron y se tomaron dos veces por semana posteriormente junto con las mediciones del tumor. Los grupos de tratamiento incluyen control de polímero, aminopterina libre a 1,5 mg/kg, micelas de aminopterina del Ejemplo 132 a 1,5 mg/kg y 7,5 mg/kg. Los tratamientos se realizaron en el Día 1, 8, y 15, o una vez a la semana durante tres semanas (3xCS) por administración intravenosa en la vena de la cola. Las inyecciones fueron de 0,2 ml y el vehículo fue solución salina isotónica. La gráfica del crecimiento del tumor para cada grupo se muestra en la Figura 25. El grupo control de polímero alcanzó un peso de tumor medio de 973,9 mg el Día 28. Este grupo no experimentó pérdida de peso corporal apreciable durante el estudio. No se observaron reacciones adversas de dosificación. El tratamiento con la formulación de aminopterina a 1,5 mg/kg resultó en un peso de tumor medio de 1330,4 mg el Día 28. Este grupo no produjo inhibición notificable cuando se compara con el control de vehículo el Día 28. Este grupo no experimentó pérdida de peso corporal apreciable durante el estudio. No se observaron reacciones adversas de dosificación. El tratamiento con la formulación de aminopterina a 7,5 mg/kg resultó en un peso de tumor medio de 599,7 mg el Día 28. Este grupo produjo una inhibición del 44,8% cuando se compara con el control de vehículo el Día 28. Este grupo experimentó leve pérdida de peso corporal con un máximo del 4,3% el Día 4. Los pesos corporales se recuperaron

completamente el Día 15. No se observaron reacciones adversas de dosificación. El tratamiento con aminopterina libre a 1,5 mg/kg resultó en un peso de tumor medio de 1115,1 mg el Día 28. Este grupo no produce inhibición notificable cuando se compara con el control de vehículo el Día 28. No se observó diferencia significativa en el peso del tumor cuando se compara con el control de vehículo el Día 28. Este grupo no experimentó pérdida de peso apreciable durante el estudio.

5

REIVINDICACIONES

1. Micela que comprende al menos un copolímero multibloque, dicho copolímero multibloque comprende:

- 5
- un bloque polimérico,
 - un bloque de poli(aminoácido) entrecruzable o entrecruzado,
 - un bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado,

10 en donde dicha micela tiene un núcleo interno, un núcleo externo entrecruzable o entrecruzado, y una cubierta, en donde el bloque polimérico corresponde a la cubierta, el poli(bloque de aminoácido) entrecruzable o entrecruzado corresponde al núcleo externo, y el bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado corresponde al núcleo interno, de la micela, respectivamente; **caracterizada en que**

15 dicho bloque de poli(aminoácido) entrecruzable o entrecruzado comprende una funcionalidad química que se une fuertemente o coordina con iones de metal, en donde dicha funcionalidad química es o comprende ácido hidroxámico, hidroxamato, o un derivado del mismo, o es o comprende un grupo dihidroxibenceno orto-sustituido, es decir, un catechol, o un derivado del mismo.

20 2. Micela según la reivindicación 1, en donde el bloque polimérico es hidrofílico y el bloque de poli(aminoácido) D,L-mezclado es hidrofóbico.

3. Micela según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el bloque de poli(aminoácido) es una cadena de aminoácidos covalentemente unida, en donde cada monómero es un aminoácido natural o no natural.

25 4. Micela según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde al menos un copolímero multibloque posee una conformación de espiral aleatoria, preferiblemente en donde esencialmente todos los copolímeros multibloque en la micela poseen una conformación espiral aleatoria.

30 5. Micela según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el ión de metal es o comprende hierro.

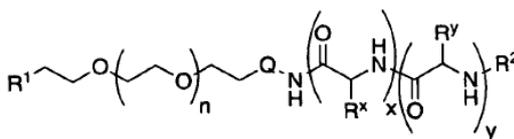
6. Micela según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde al menos un agente terapéutico está situado dentro del núcleo de dicha micela, preferiblemente en donde tal agente terapéutico es hidrofóbico.

35 7. Micela según la reivindicación 6, en donde dicho agente terapéutico se selecciona del grupo que comprende: taxano, paclitaxel, docetaxel, cabazitaxel, epotilona, en particular Epotilona B, Epotilona D, Epotilona A, Epotilona C, un alcaloide vinca, vinorelbina, berberina, berberrubina, una camptotecina, SN-38, S39625, antraciclina, daunorubicina, doxorubicina, aminopterina, picoplatino, o un terapéutico de platino, o combinaciones de los mismos.

40 8. Micela según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde un polímero en el bloque polimérico, preferiblemente el bloque polimérico hidrofílico, se selecciona del grupo que comprende óxido de polietileno, también denominado polietilenglicol o PEG, y derivados del mismo, poli(N-vinil-2-pirolidona), y derivados de la misma, poli(N-isopropilacrilamida), y derivados de la misma, poli(acrilato de hidroxietilo), y derivados del mismo, poli(metacrilato de hidroxietilo), y derivados del mismo, y polímeros de N-(2-hidroxipropil)metacrilamida (HMPA) y derivados de los mismos.

45 9. Micela según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el hidroxamato comprende una fracción que contiene o bien ácido hidroxámico o un ácido hidroxámico N-sustituido.

50 10. Micela según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende (A): al menos un copolímero tribloque de fórmula I:



I

en donde:
n es 20-500;

5

x es de 3 a 50;

y es de 5 a 100;

10

R^x es una fracción que contiene hidroxamato o catecol;

R^y se selecciona de uno o más grupos de cadena lateral de aminoácido natural o no natural de manera que el bloque total es hidrofóbico;

15

R¹ es -Z(CH₂CH₂Y)_p(CH₂)_tR³, en donde:

Z es -O-, -NH-, -S-, -C≡C-, o -CH₂-;

cada Y es independientemente -O- o -S-;

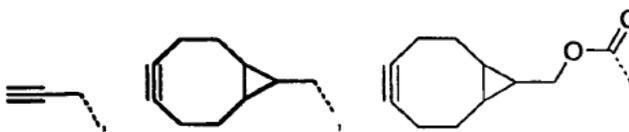
20

p es 0-10;

t es 0-10; y

25

R³ es hidrógeno, -N₃, -CN, -NH₂, -CH₃,



una fracción ciclooctino estirado, una amina monoprottegida, una amina diprottegida, un aldehído opcionalmente protegido, un hidroxilo opcionalmente protegido, un ácido carboxílico opcionalmente protegido, un tiol opcionalmente protegido, o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-8 elementos, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 8-10 elementos que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre;

30

Q es un enlace de valencia o una cadena de hidrocarburo C₁₋₁₂ lineal o ramificada, saturada o insaturada, bivalente, en donde 0-6 unidades de metileno de Q se sustituyen independientemente por -Cy-, -O-, -NH-, -S-, -OC(O)-, -C(O)O-, -C(O)-, -SO-, -SO₂-, -NHSO₂-, -SO₂NH-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, -OC(O)NH-, o -NHC(O)O-, en donde:

35

-Cy- es un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 5-8 elementos opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 8-10 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre;

40

R² es una amina monoprottegida, una amina diprottegida, N(R⁴)₂, -NR⁴C(O)R⁴, -NR⁴C(O)N(R⁴)₂, -NR⁴C(O)OR⁴, o -NR⁴SO₂R⁴; y

45

cada R⁴ es independientemente hidrógeno o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-8 elementos, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 8-10 elementos que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o dos R⁴ en el mismo átomo de nitrógeno se toman junto con dicho átomo de nitrógeno para formar un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 4-7 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente a partir de nitrógeno, oxígeno, o azufre; o:

50

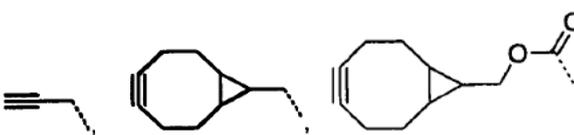
que comprende (B): al menos un copolímero de tribloque de fórmula II:

55

cada Y es independientemente -O- o -S-;

p es 0-10;

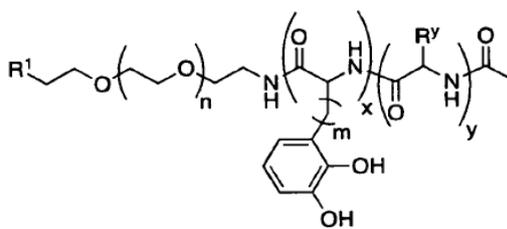
5 t es 0-10; y



 R^3 es hidrógeno, $-N_3$, $-CN$, $-NH_2$, $-CH_3$, una fracción ciclooctino estirado, una amina monoprottegida, una amina diprottegida, un aldehído opcionalmente protegido, un hidroxilo opcionalmente protegido, un ácido carboxílico opcionalmente protegido, un tiol opcionalmente protegido, o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-8 elementos, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 8-10 elementos que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre; o:

10

15 que comprende (D): al menos un copolímero tribloque de fórmula IV:



IV

en donde:

20 n es 20-500;

m es 0, 1, o 2;

25 x es de 3 a 50;

y es de 5 a 100;

30 R^y se selecciona a partir de uno o más grupos de cadena lateral de aminoácido natural o no natural de manera que el bloque total es hidrofóbico;

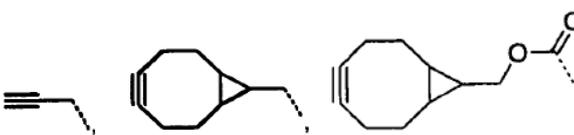
R^1 es $-Z(CH_2CH_2Y)_p(CH_2)_tR^3$, en donde:

35 Z es -O-, -NH-, -S-, $-C\equiv C-$, o $-CH_2-$;

cada Y es independientemente -O- o -S-;

p es 0-10;

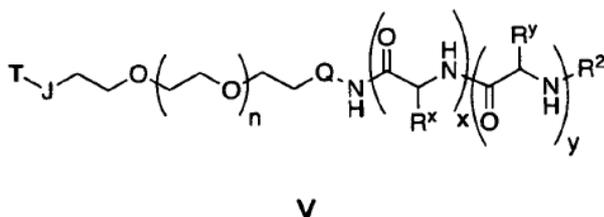
40 t es 0-10; y



 R^3 es hidrógeno, $-N_3$, $-CN$, $-NH_2$, $-CH_3$, una fracción ciclooctino estirado, una amina monoprottegida, una amina diprottegida, un aldehído opcionalmente protegido, un hidroxilo opcionalmente protegido, un ácido carboxílico opcionalmente protegido, un tiol opcionalmente protegido, o un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de alifático, un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 5-8 elementos, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo de 8-10 elementos que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre.

45

11. Micela según la reivindicación 10, en donde la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es un alquino o un derivado alquino terminal que es preferiblemente capaz de experimentar reacciones de cicloadición [3+2] con moléculas y biomoléculas que portan azida complementaria, o en donde la fracción R¹ de cualquiera de las fórmulas I, II, III, y IV es una azida o un derivado de azida, que es preferiblemente capaz de experimentar reacciones de cicloadición [3+2] con moléculas y biomoléculas que portan alquino complementarias.
12. Micela según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que comprende al menos un copolímero tribloque de fórmula V:



en donde

cada uno de Q, x, y, n, R^x, R^y y R² es como se define en la reivindicación 10,

J es independientemente un enlace de valencia o una cadena de hidrocarburo C₁₋₁₂ lineal o ramificada, saturada o insaturada, bivalente, en donde 0-6 unidades de metileno de Q se sustituyen independientemente por -Cy-, -O-, -NH-, -S-, -OC(O)-, -C(O)O-, -C(O)-, -SO-, -SO₂-, -NHSO₂-, -SO₂NH-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, -OC(O)NH-, o -NHC(O)O-, en donde:

-Cy- es un anillo saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 5-8 elementos opcionalmente sustituido que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o un anillo bicíclico saturado, parcialmente insaturado, o arilo bivalente, de 8-10 elementos opcionalmente sustituido, que tiene 0-5 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno, o azufre;

cada T es independientemente un grupo de direccionamiento.

13. Micela según la reivindicación 12, que tiene un agente terapéutico encapsulado en la misma,

que comprende (A) un copolímero multibloque de fórmula I y un copolímero multibloque de fórmula V, en donde cada una de la fórmula I y fórmula V son como se definen en las reivindicaciones 10 y 12, respectivamente, en donde preferiblemente la proporción de la fórmula I respecto a la fórmula V está entre 1000:1 y 1:1, preferiblemente 1000:1, 100:1, 50:1, 33:1, 25:1, 20:1, 10:1, 5:1, o 4:1; o:

que comprende (B) un copolímero multibloque de fórmula II y un copolímero multibloque múltiple de fórmula V, en donde cada una de la fórmula II y fórmula V son como se definen en las reivindicaciones 10 y 12, respectivamente, en donde la proporción de la fórmula II respecto a la fórmula V está preferiblemente entre 1000:1 y 1:1, preferiblemente además es 1000:1, 100:1, 50:1, 33:1, 25:1, 20:1, 10:1, 5:1, o 4:1.

Figura 1a. Copolímero tribloque



Figura 1b. Micela polimérica

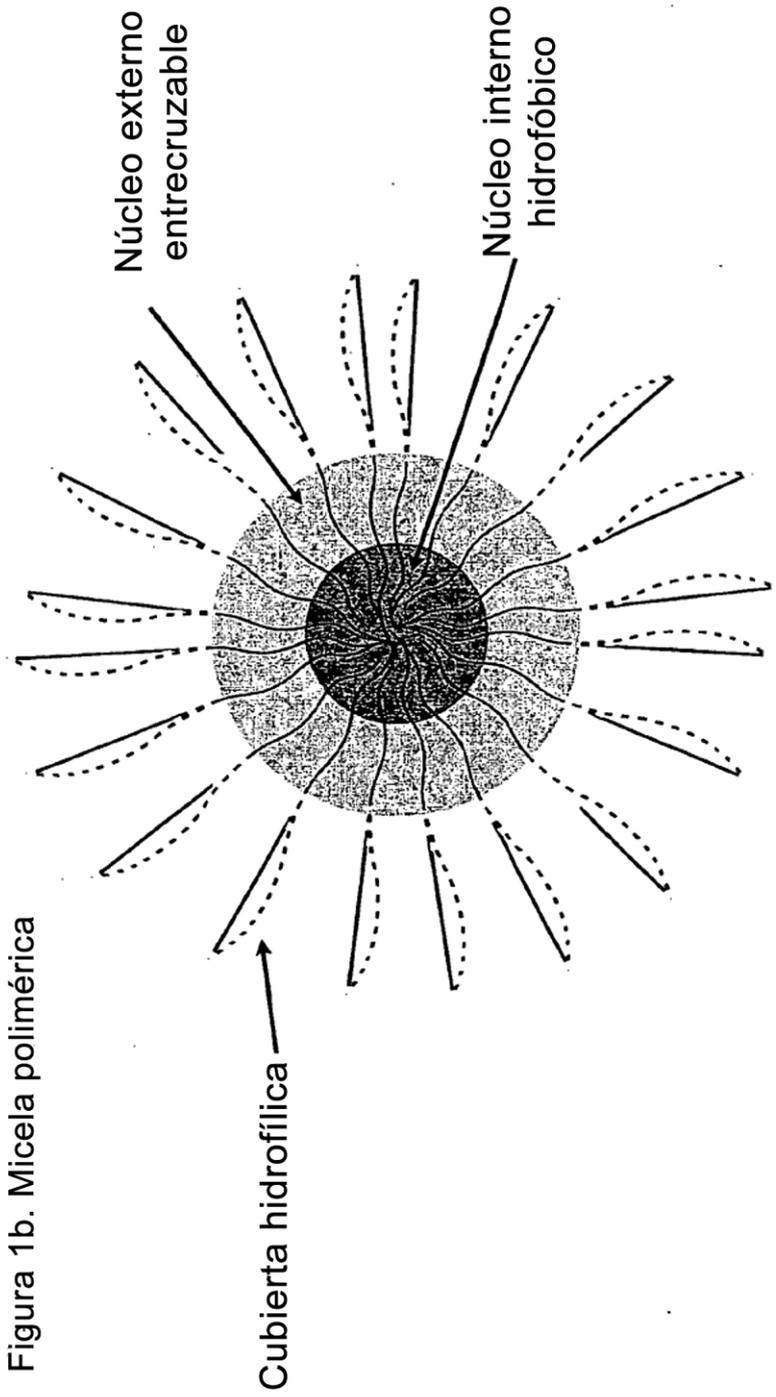
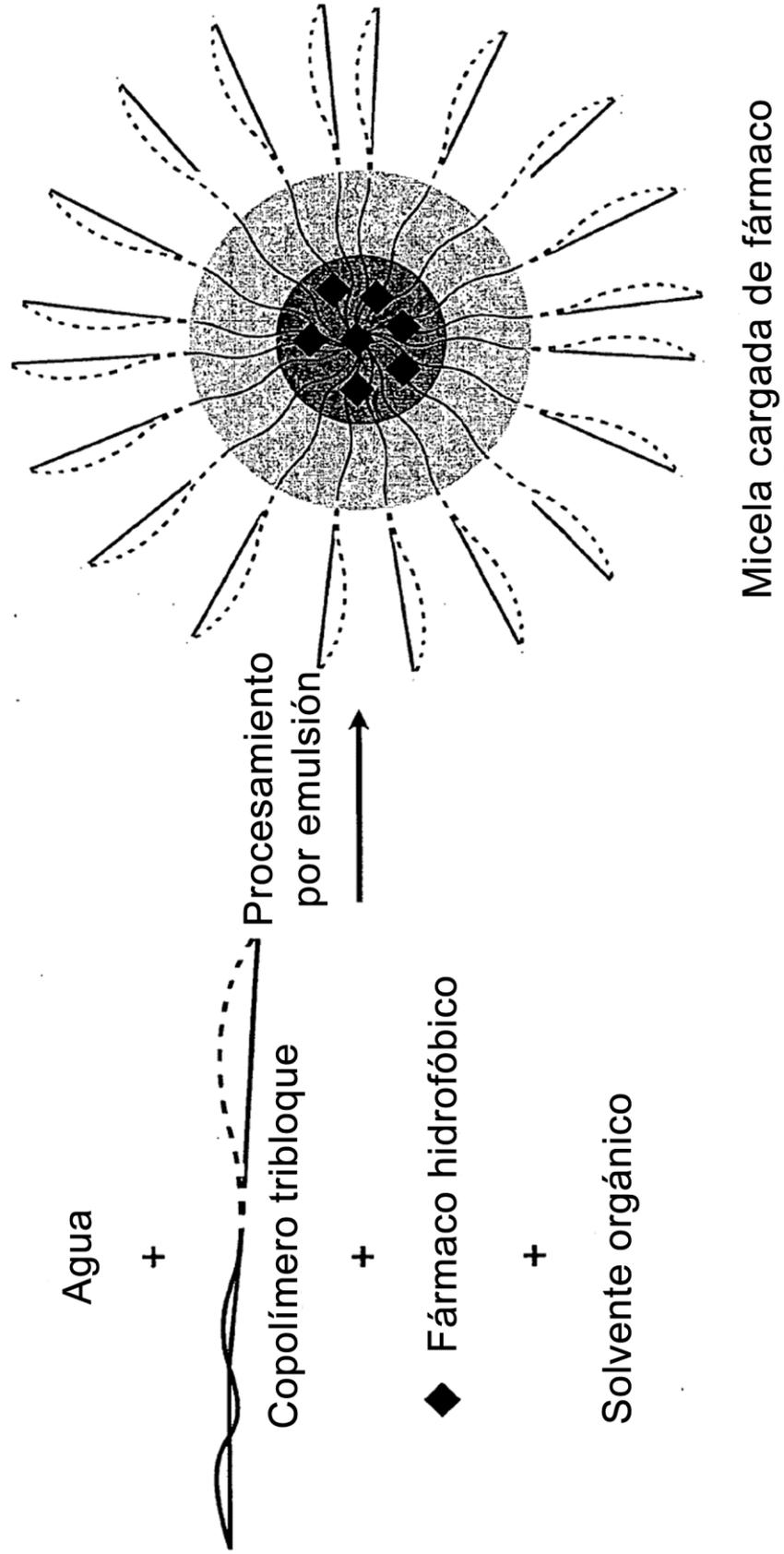


Figura 2. Preparación de micela cargada de fármaco



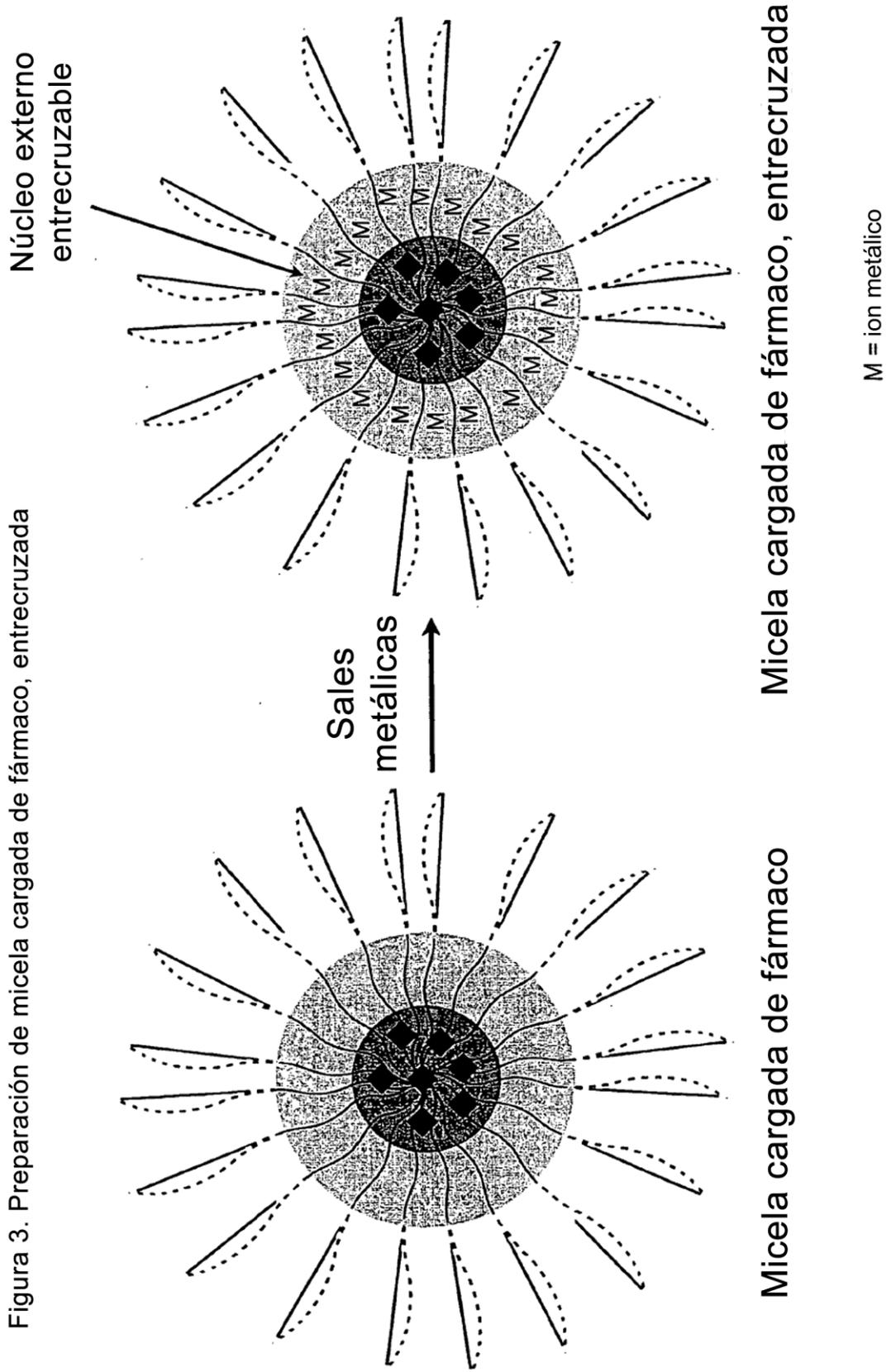
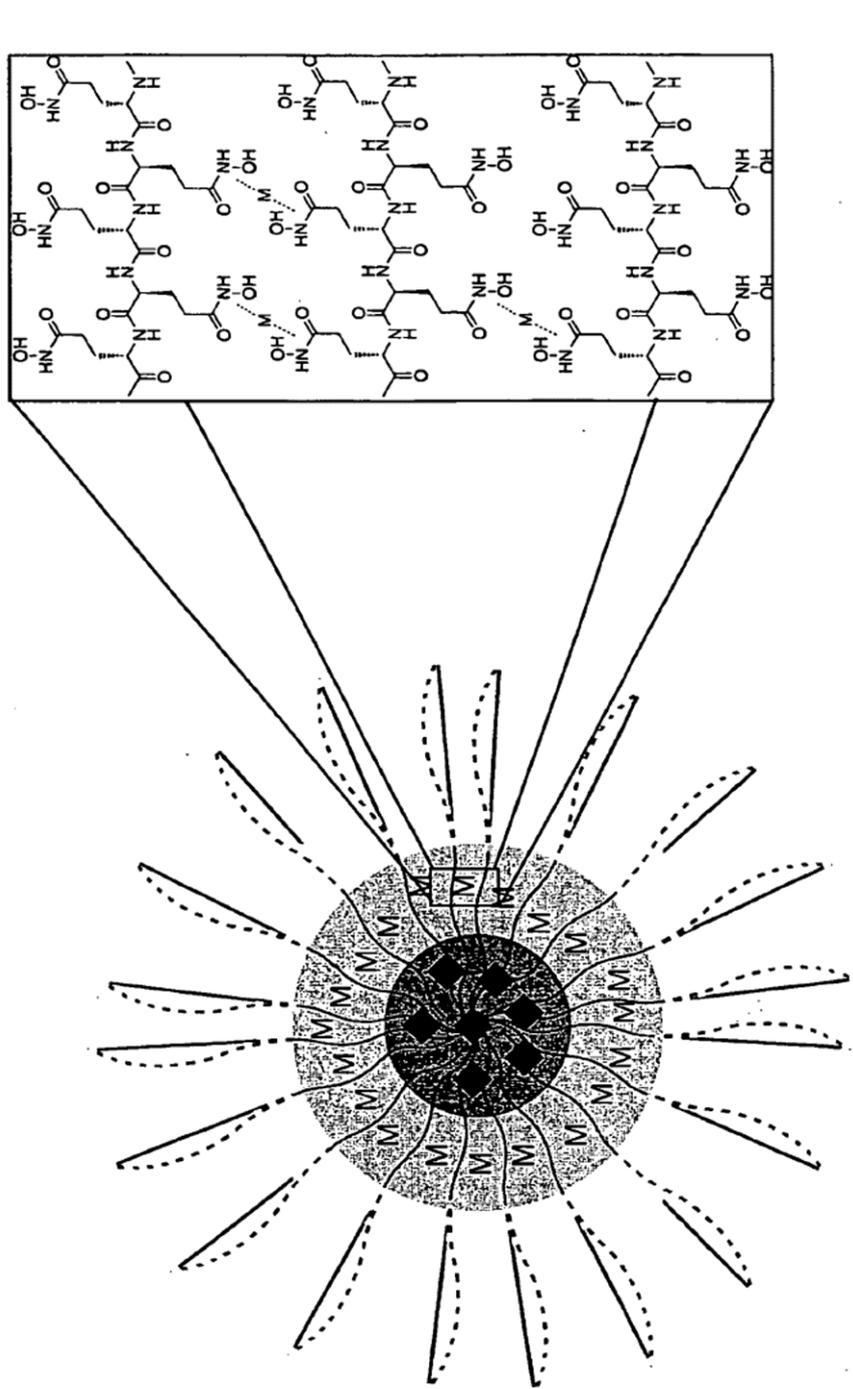


Figura 4. Micela cargada de fármaco, entrecruzada



Micela cargada de fármaco, entrecruzada

Figura 5

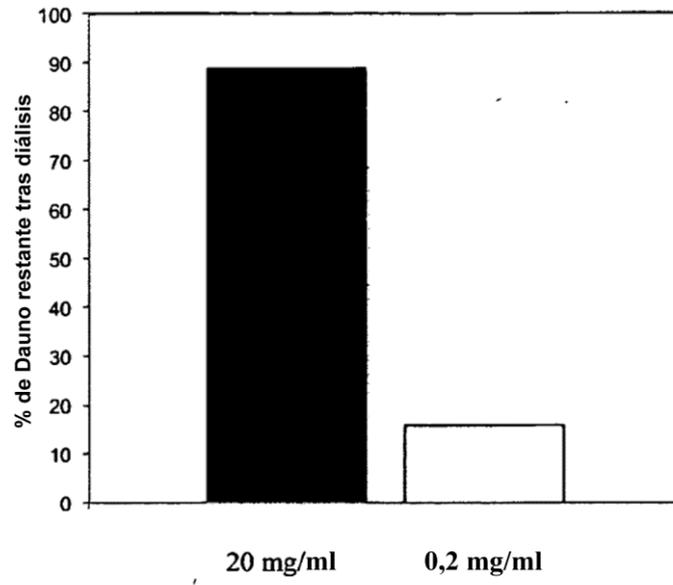


Figura 6

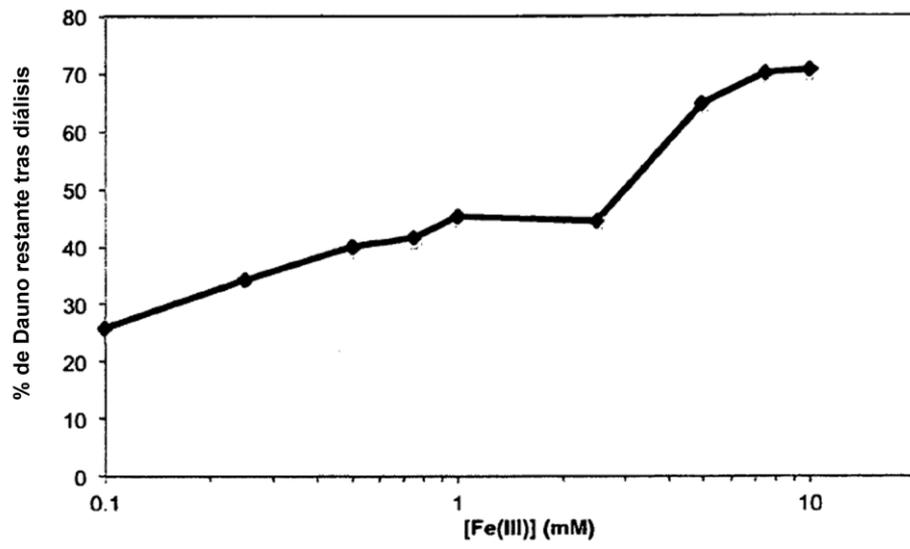


Figura 7

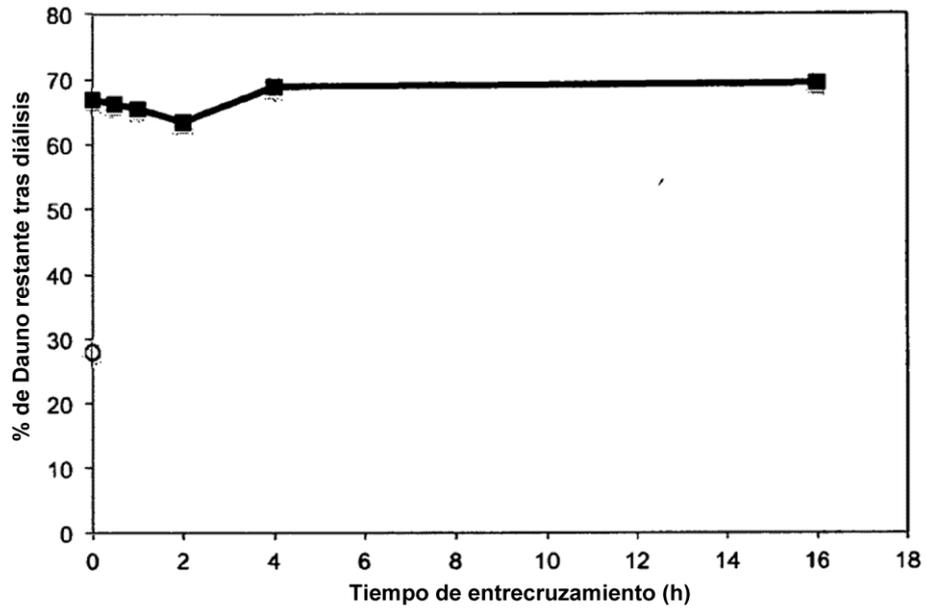


Figura 8

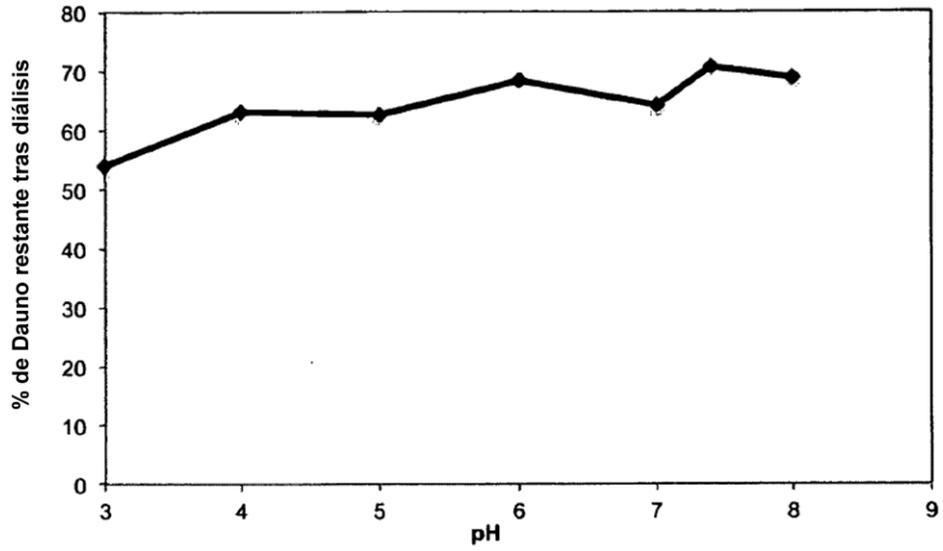


Figura 9

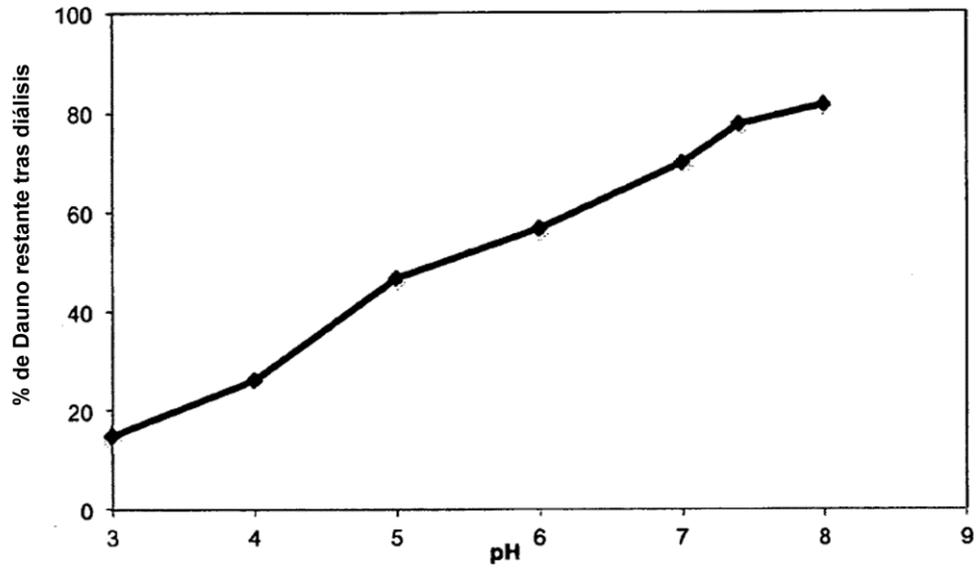


Figura 10

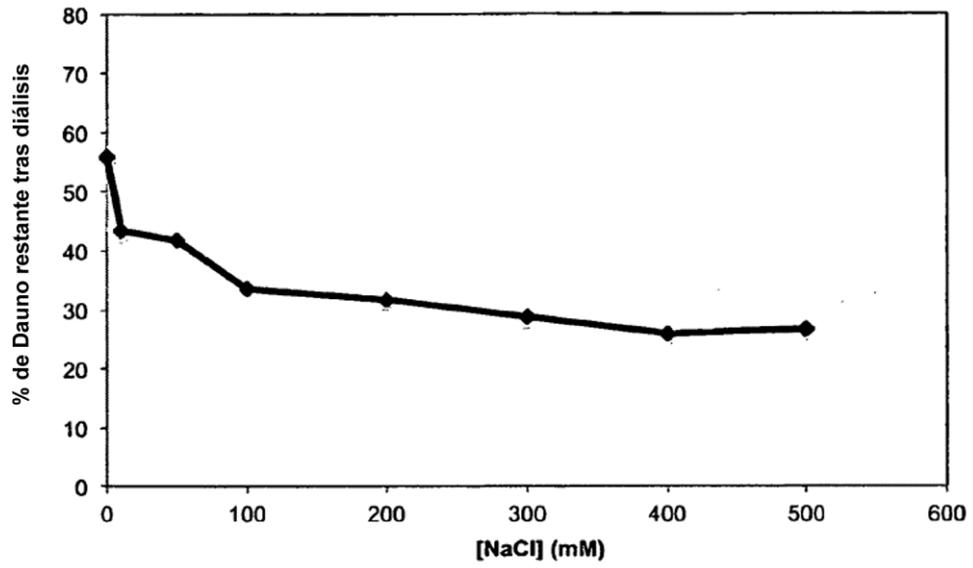


Figura 11

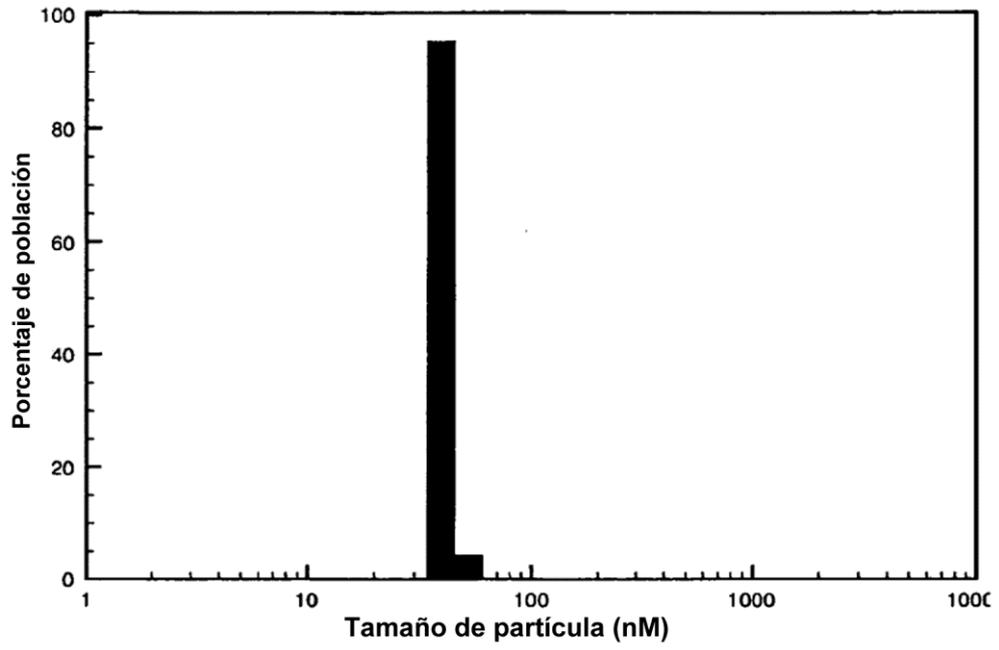


Figura 12

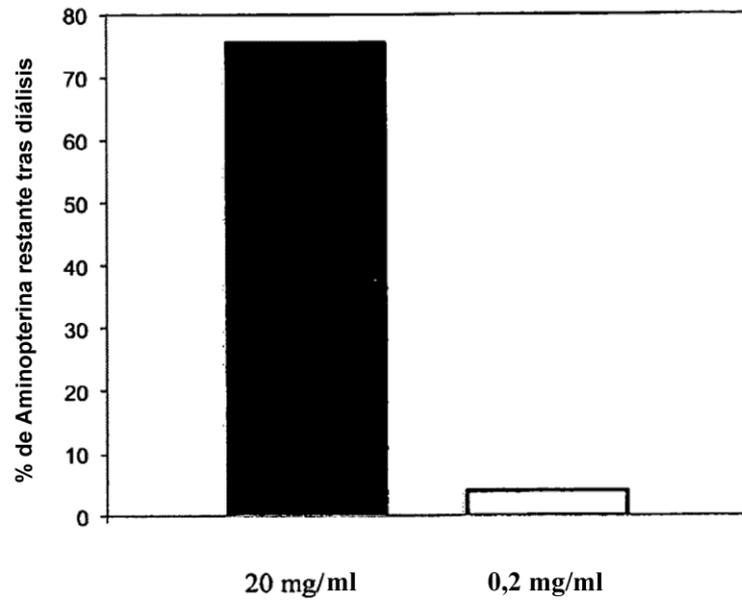


Figura 13

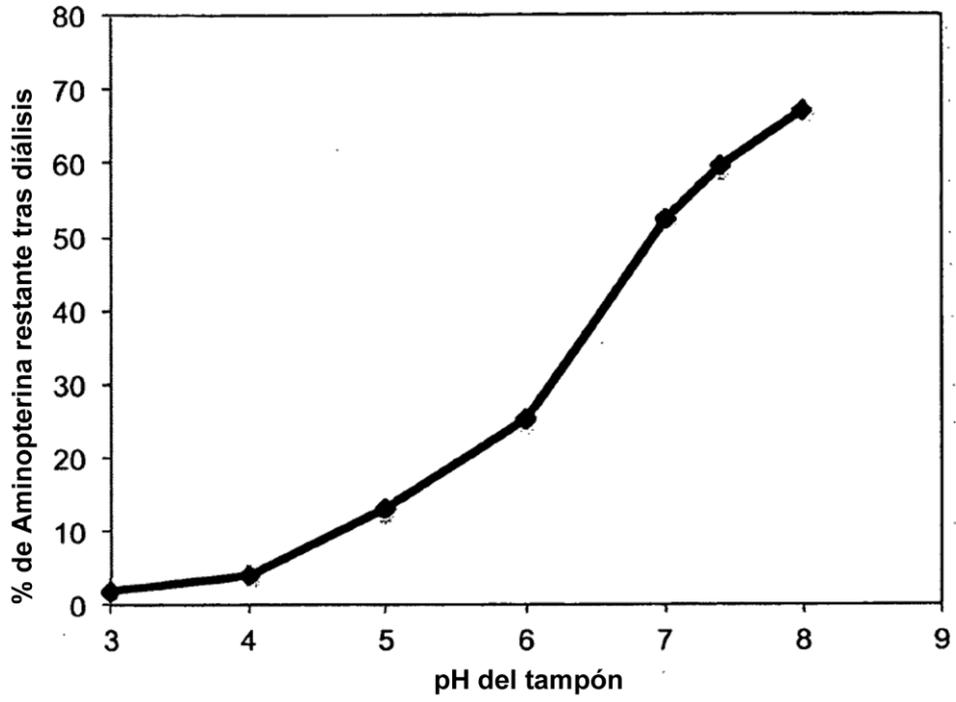


Figura 14

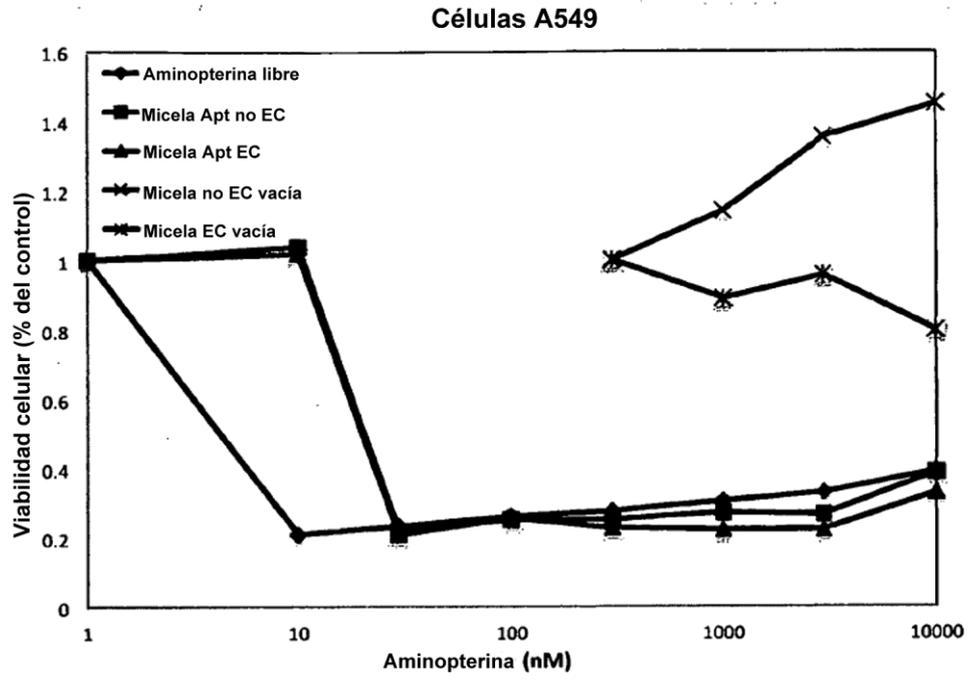


Figura 15

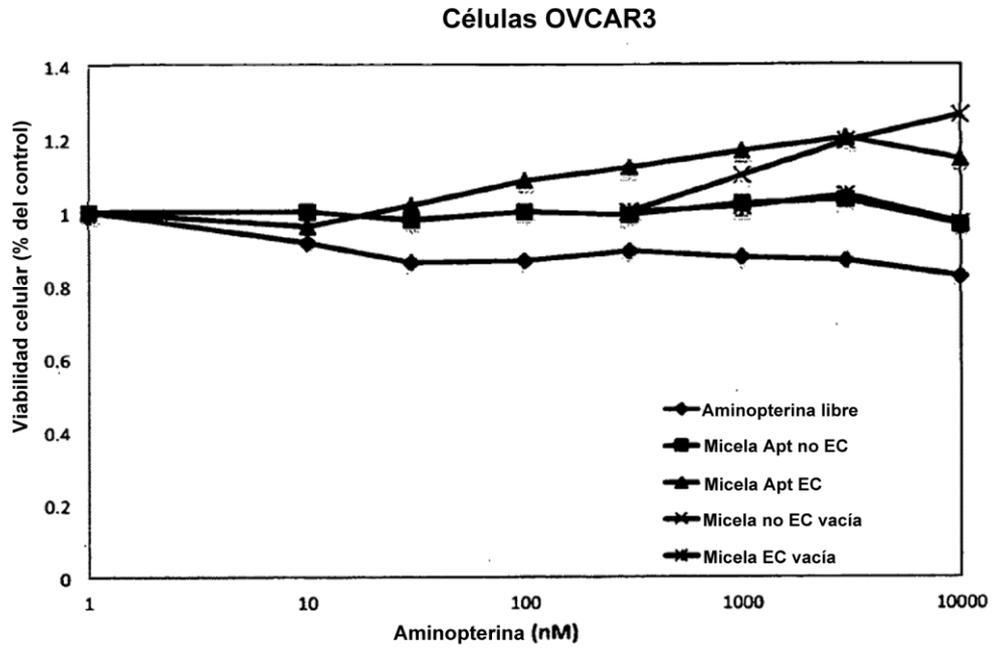


Figura 16

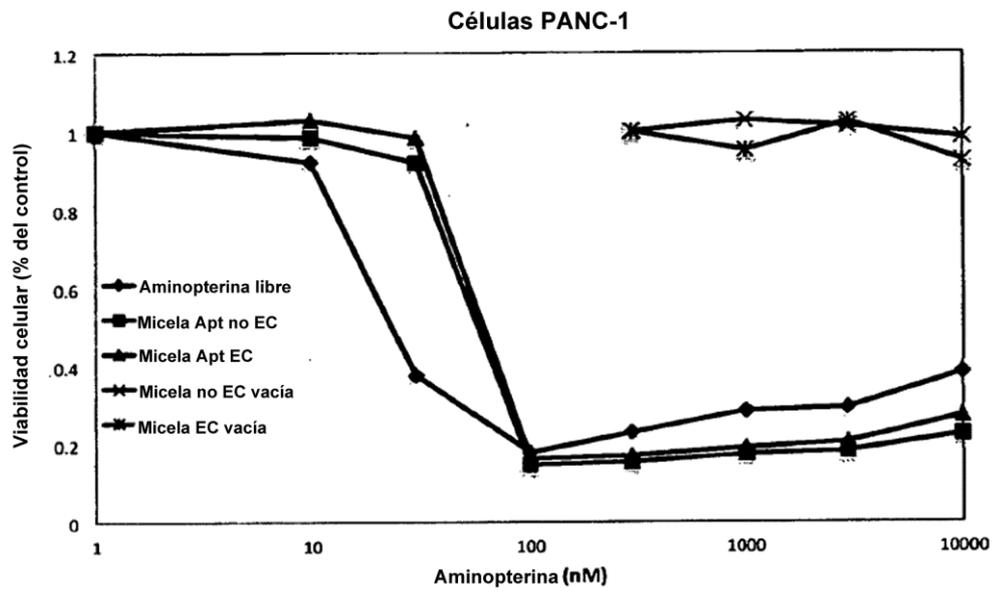


Figura 17

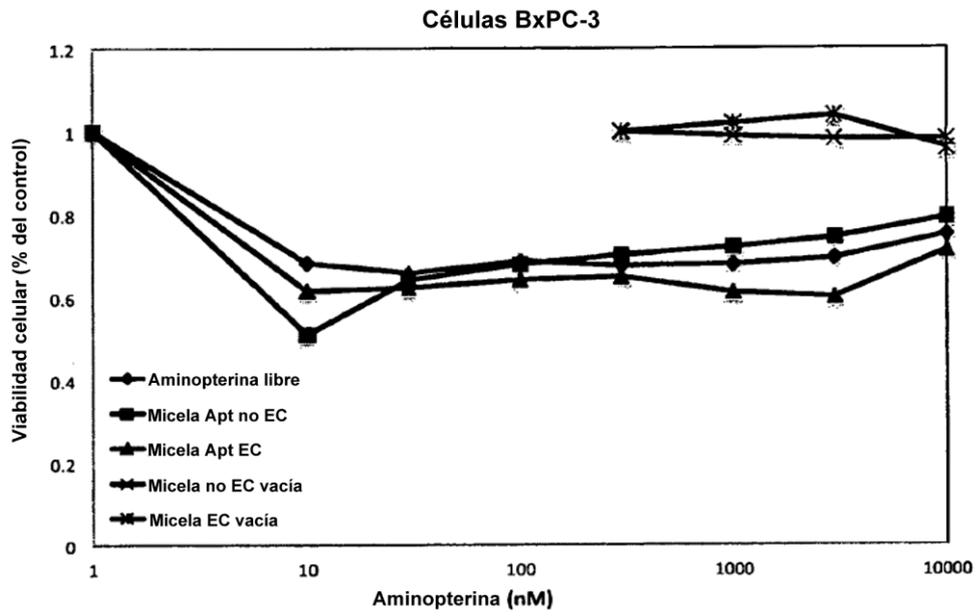


Figura 18

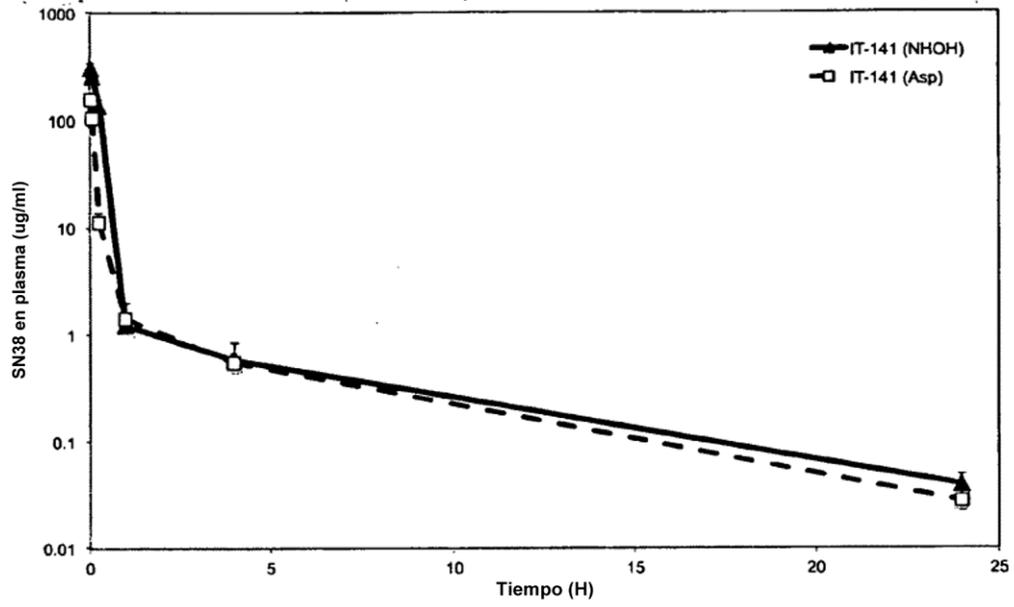


Figura 19

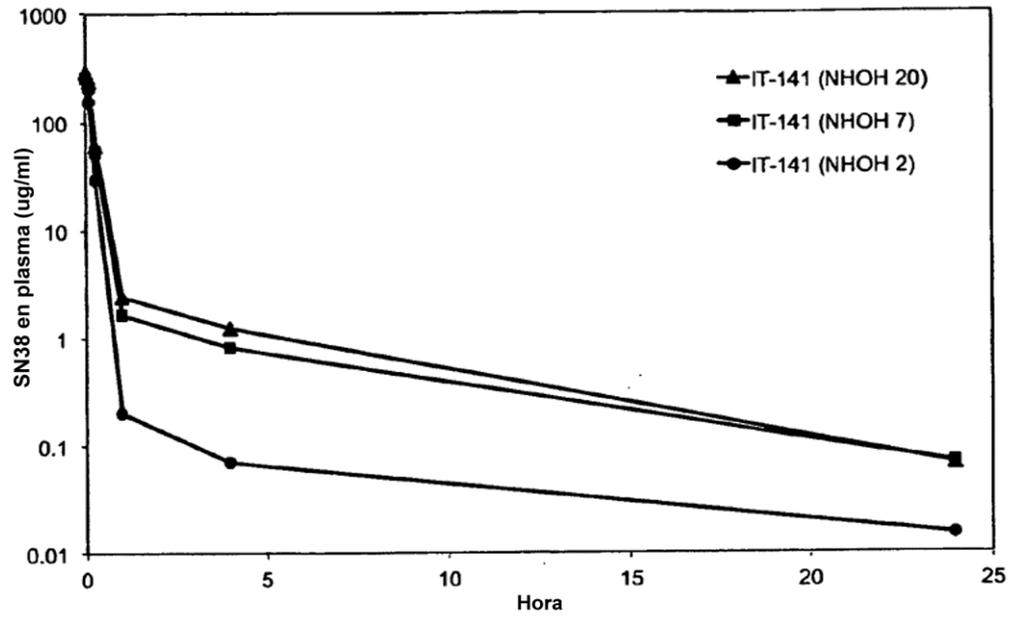


Figura 20

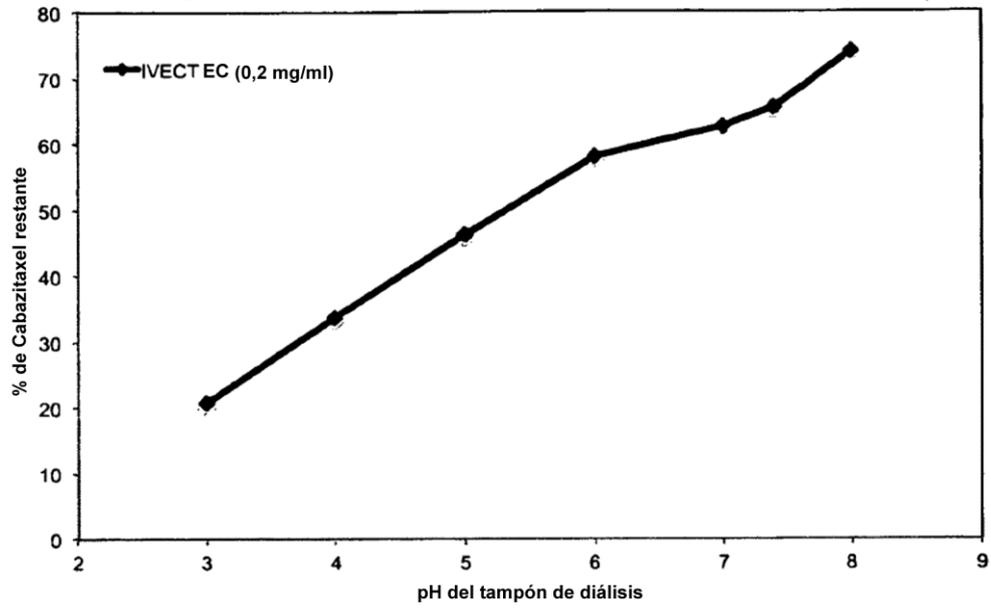


Figura 21

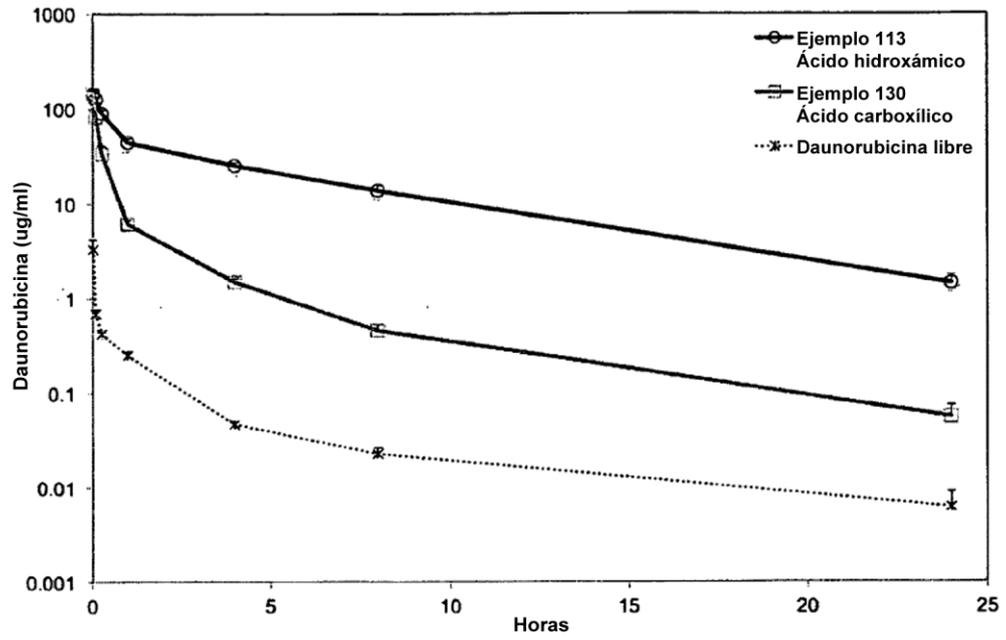


Figura 22

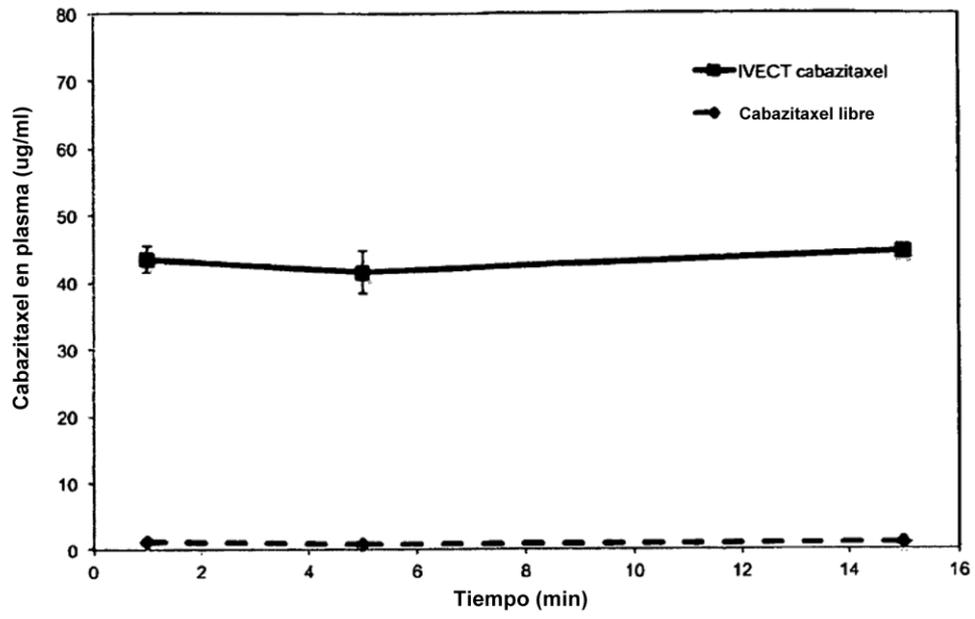


Figura 23

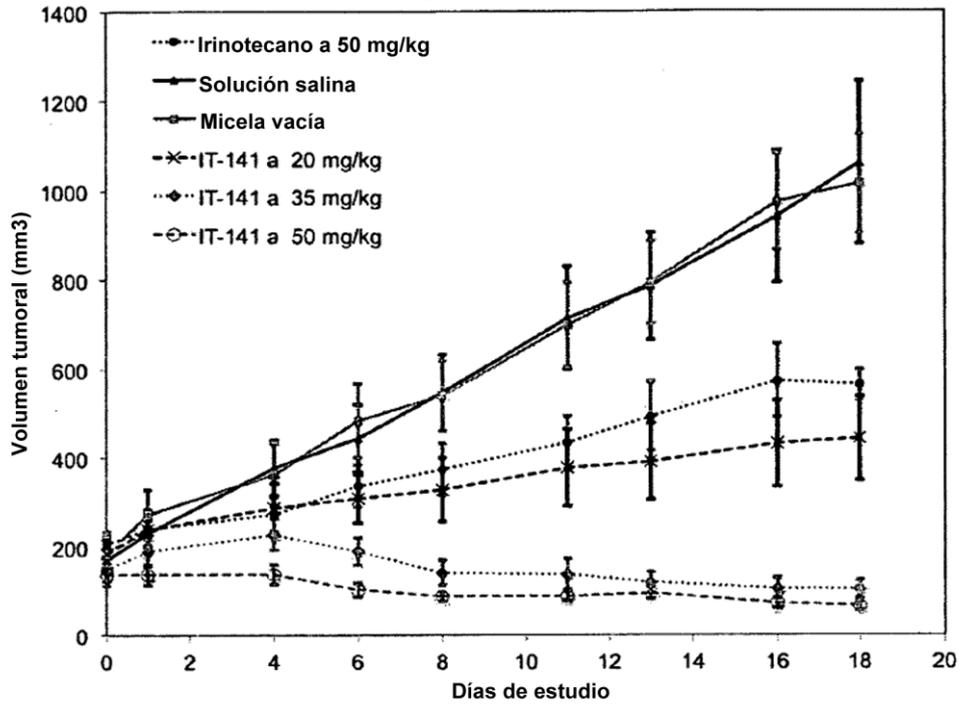


Figura 24

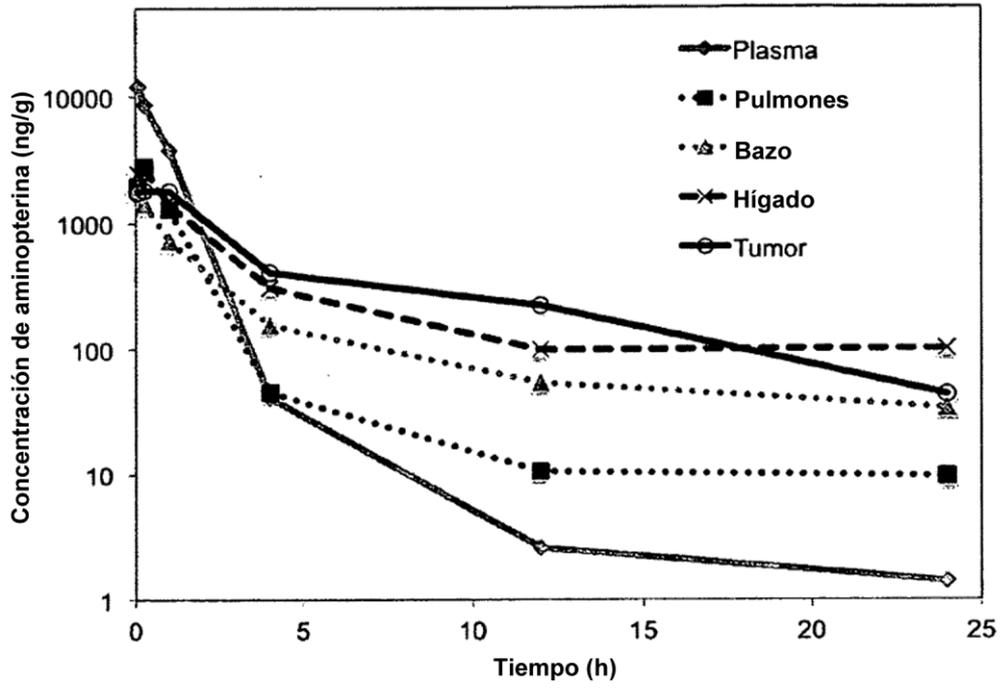


Figura 25

