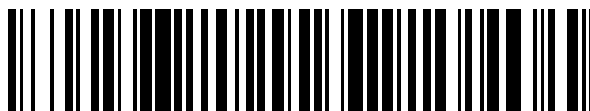


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 622 578**

51 Int. Cl.:

A61K 47/59 (2007.01)
C07K 5/02 (2006.01)
C07K 7/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.06.2012 PCT/US2012/041931**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.12.2012 WO12171020**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.06.2012 E 12728014 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.03.2017 EP 2717916**

54 Título: **Conjugados de proteína-polímero-fármaco**

30 Prioridad:

10.06.2011 US 201161495771 P
24.06.2011 US 201161501000 P
29.07.2011 US 201161513234 P
05.12.2011 US 201161566935 P
01.03.2012 US 201261605618 P
30.03.2012 US 201261618499 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.07.2017

73 Titular/es:

MERSANA THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
840 Memorial Drive
Cambridge, MA 02139, US

72 Inventor/es:

YURKOVETSKIY, ALEKSANDR;
YIN, MAO;
LOWINGER, TIMOTHY, B.;
THOMAS, JOSHUA, D.;
HAMMOND, CHARLES, E.;
STEVENSON, CHERI, A.;
BODYAK, NATALYA, D.;
CONLON, PATRICK, R. y
GUMEROV, DMITRY, R.

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 622 578 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

Conjugados de proteína-polímero-fármaco

Antecedentes de la invención

5 Tradicionalmente, los productos farmacéuticos han consistido principalmente en moléculas pequeñas que se dispensan oralmente (tal como en pastillas sólidas y líquidos) o como inyectables. En las últimas tres décadas, las formulaciones (es decir, las composiciones que controlan la ruta y/o la velocidad de administración del fármaco y que permiten la administración del agente terapéutico en el sitio donde se necesita) se han vuelto cada vez más comunes y complejas. No obstante, aún quedan por resolver muchas cuestiones y desafíos relacionados con el desarrollo de nuevos tratamientos, así como los mecanismos con los que se administran. Por ejemplo, muchos fármacos exhiben potencias y efectos terapéuticos limitados o bien reducidos porque están generalmente sujetos a degradación parcial antes de alcanzar un objetivo deseado en el cuerpo, o pueden acumularse en tejidos distintos del objetivo, o ambos.

Un objetivo en el campo de los sistemas de suministro de fármacos, por lo tanto, es suministrar medicamentos intactos a áreas específicamente dirigidas del cuerpo a través de un sistema que pueda estabilizar el fármaco y controlar la transferencia *in vivo* del agente terapéutico utilizando ya sea mecanismos fisiológicos o químicos, o ambos.

15 Los conjugados de anticuerpo-fármaco han sido desarrollados como agentes terapéuticos específicos para un objetivo. Se han conjugado anticuerpos contra diversos antígenos de superficie celular cancerosa con diferentes agentes citotóxicos que inhiben diversos objetivos celulares esenciales tales como microtúbulos (maitansinoides, auristatinas, taxanos: patentes estadounidenses Nos. 5.208.020, 5.416.064, 6.333.410, 6.441.163, 6.340.701, 6.372.738, 6.436.931, 6.596.757 y 7.276.497); ADN(calicheamicina, doxorubicina, análogos de CC-1065; patentes estadounidenses Nos. 20 5.475.092, 5.585.499, 5.846.545, 6.534.660, 6.756.397 y 6.630.579). Los conjugados de anticuerpos con algunos de estos fármacos citotóxicos están siendo investigados activamente en clínica para la terapia del cáncer (Ricart, AD, y Tolcher, AW, 2007, Nature Clinical Practice, 4, 245-255; Krop et al., 2010; J. Clin. Oncol., 28, 2698-2704). Sin embargo, los conjugados de anticuerpo-fármaco existentes han mostrado algunas limitaciones. Una limitación importante es su incapacidad para suministrar una concentración suficiente de fármaco al sitio objetivo debido al número limitado de antígenos seleccionados y a la citotoxicidad relativamente moderada de fármacos contra el cáncer tales como metotrexato, daunorubicina, maitansinoides, taxanos y vincristina. Un enfoque para conseguir una citotoxicidad significativa es mediante el enlace de un gran número de moléculas de fármacos, directa o indirectamente, al anticuerpo. Sin embargo, tales anticuerpos fuertemente modificados presentan a menudo una alteración de la unión al antígeno objetivo y una rápida eliminación *in vivo* de la corriente sanguínea. Por lo tanto, existe la necesidad de mejorar la capacidad para suministrar una concentración suficiente de un fármaco al objetivo de tal manera que se consiga la máxima citotoxicidad para el fármaco. La patente estadounidense 7.790.150 (B2) describe un conjugado polimérico que contiene uno o más modificadores unidos covalentemente al polímero a través de enlaces que contienen succinamida opcionalmente sustituida. El documento US2011/020343 (A1) describe conjugados de a base de auristatina.

Sumario de la invención

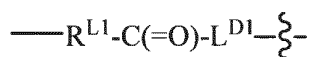
35 La presente invención se refiere a un conjugado de proteína-polímero-fármaco que es biodegradable, biocompatible y exhibe una alta carga de fármaco, así como una unión fuerte al antígeno objetivo. La presente invención se refiere también a una estructura polimérica útil para conjugar con una molécula de reconocimiento a base de proteína (PBRM) para obtener el conjugado de proteína-polímero-fármaco.

40 La invención se define de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas y presenta una estructura polimérica útil para conjugar con una PBRM. La estructura comprende un soporte polimérico, uno o más $-L^D-D$ conectados al soporte polimérico, y uno o más L^P conectados al soporte polimérico que es adecuado para conectar una PBRM al soporte polimérico, en el que:

cada aparición de D es independientemente un agente terapéutico que tiene un peso molecular ≤ 5 kDa;

el soporte polimérico es un poliacetal o policetal,

45 L^D es un enlazador que tiene la estructura:



con R^{L1} conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico y L^{D1} conectado a D, y



denota la unión directa o indirecta de D a L^{D1} y L^D contiene un enlace biodegradable de manera que cuando el enlace se rompe, D se libera del soporte polimérico en una forma activa para el efecto terapéutico deseado;

L^{D1} es una fracción que contiene carbonilo;

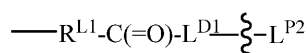
- 5 L^P es un enlazador diferente de L^D y que tiene la estructura: -R^{L2}-C(=O)-L^{P1} con R^{L2} conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico y L^{P1} es adecuado para conectar directa o indirectamente a una PBRM;

cada uno de R^{L1} y R^{L2} está independientemente ausente, es alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, o heterocicloalquilo; y

L^{P1} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de una PBRM.

- 10 La estructura polimérica puede incluir una o más de las siguientes características.

L^P es un enlazador que tiene la estructura:



en la que L^{P2} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de una PBRM, y



15

denota la unión directa o indirecta de L^{P2} a L^{D1}.

El grupo funcional de L^{P1} o L^{P2} se selecciona de -SR^p, -S-S-LG, maleimido y halo, en donde LG es un grupo saliente y R^p es H o un grupo protector de azufre.

- 20 L^{D1} comprende -X-(CH₂)_v-C(=O)- con X directamente conectado al grupo carbonilo de R^{L1}-C(=O), en donde X es CH₂, O, o NH, y v es un número entero de 1 a 6.

L^{P1} o L^{P2} contiene un enlace biodegradable.

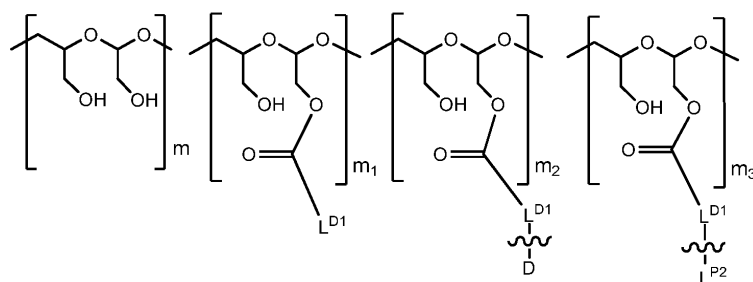
Cada uno de R^{L1} y R^{L2} está ausente.

El soporte polimérico de la estructura de la invención es un poliacetal, por ejemplo, un PHF que tiene un peso molecular (es decir, PM del PHF no modificado) que varía de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 300 kDa.

- 25 Para la conjugación de una PBRM que tiene un peso molecular de 40 kDa o mayor (por ejemplo, 80 kDa o mayor), el soporte polimérico de la estructura de la invención es un poliacetal, por ejemplo, un PHF que tiene un peso molecular (es decir, PM del PHF no modificado) que oscila entre aproximadamente 2 kDa y aproximadamente 40 kDa (por ejemplo, aproximadamente 6-20 kDa o aproximadamente 8-15 kDa).

- 30 Para la conjugación, una PBRM que tiene un peso molecular de 200 kDa o menos (por ejemplo, 80 kDa o menos), el soporte polimérico de la estructura de la invención es un poliacetal, por ejemplo, un PHF que tiene un peso molecular (es decir, PM del PHF no modificado) que oscila entre aproximadamente 20 kDa y aproximadamente 300 kDa (por ejemplo, aproximadamente 40-150 kDa o aproximadamente 50-100 kDa).

La estructura es de Fórmula (Ia):



(Ia),

en donde:

m es un número entero de 1 a aproximadamente 2.200,

m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 660,

5 m_2 es un número entero de 1 a aproximadamente 300,

m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 110, y

la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 que varía de aproximadamente 15 y aproximadamente 2.200.

10 Cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 40 kDa (es decir, la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 que varía de aproximadamente 15 a aproximadamente 300), m_2 es un número entero de 1 a aproximadamente 40, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 18 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 140 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 1-90).

15 Cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 6 kDa a aproximadamente 20 kDa (es decir, la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 que varía de aproximadamente 45 a aproximadamente 150), m_2 es un número entero de 2 a aproximadamente 20, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 9, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 75 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 4-45).

Cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 8 kDa a aproximadamente 15 kDa (es decir, la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 que varía de aproximadamente 60 a aproximadamente 110), m_2 es un número entero de 2 a aproximadamente 15, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 7, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 55 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 4-30).

20 Cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de 20 kDa a 300 kDa (es decir, la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 que varía de aproximadamente 150 a aproximadamente 2.200), m_2 es un número entero de 3 a aproximadamente 300, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 110 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 660 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 10 - 250).

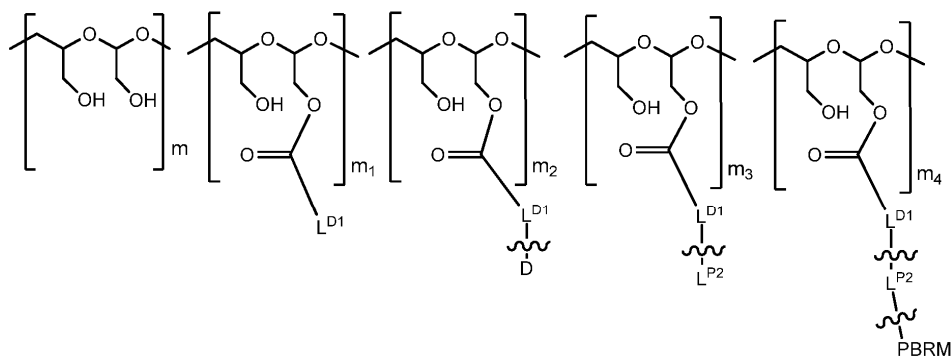
25 Cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de 40 kDa a 150 kDa (es decir, la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 que varía de aproximadamente 300 a aproximadamente 1100), m_2 es un número entero de 4 a aproximadamente 150, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 75, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 330 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 15-100).

30 Cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 50 kDa a aproximadamente 100 kDa (es decir, la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 que varía de aproximadamente 370 a aproximadamente 740), m_2 es un número entero de 5 a aproximadamente 100, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 40, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 220 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 15-80).

La estructura comprende además una PBRM conectada al soporte polimérico a través de L^P .

Una o más PBRM están conectadas a un soporte polimérico portador del fármaco.

La estructura (por ejemplo, un conjugado de PBRM-polímero-fármaco) es de Fórmula (Ib):



(Ib),

en donde



entre L^{P2} y PBRM indica la unión directa o indirecta de PBRM a L^{P2} ,

5 cada aparición de PBRM tiene independientemente un peso molecular de menos de 200 kDa,

m es un número entero de 1 a aproximadamente 2.200,

m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 660,

m_2 es un número entero de 3 a aproximadamente 300,

m_3 es un número entero de 0 a aproximadamente 110,

10 m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 60; y

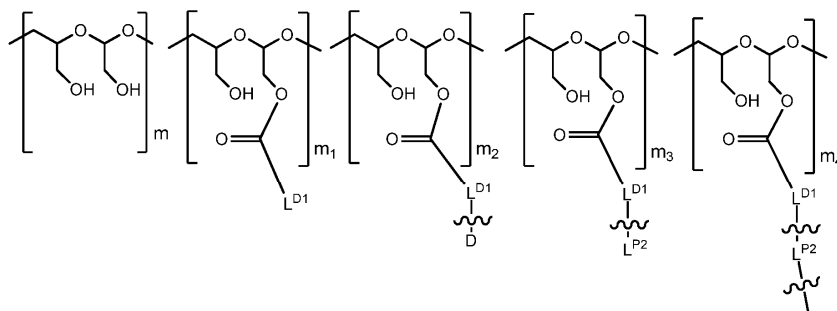
la suma de m , m_1 , m_2 , m_3 y m_4 oscila entre aproximadamente 150 y aproximadamente 2.200.

En la Fórmula (Ib), m_1 es un número entero de aproximadamente 10 a aproximadamente 660 (por ejemplo, aproximadamente 10-250).

15 Cuando el PHF en la Fórmula (Ib) tiene un peso molecular que varía de 40 kDa a 150 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_2 , m_3 y m_4 que varía de aproximadamente 300 a aproximadamente 1.100), m_2 es un número entero de 4 a aproximadamente 150, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 75, m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 30, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 330 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 10-330 o aproximadamente 15-100).

20 Cuando el PHF en la Fórmula (Ib) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 50 kDa a aproximadamente 100 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_2 , m_3 y m_4 que varía de aproximadamente 370 a aproximadamente 740), m_2 es un número entero de 5 a aproximadamente 100, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 40, m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 20 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 220 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 15-80).

25 Alternativa o adicionalmente, uno o más soportes poliméricos portadores de fármacos están conectados a una PBRM. La estructura (por ejemplo, un conjugado de PBRM-polímero-fármaco) comprende una PBRM con un peso molecular superior a 40 kDa y uno o más soportes poliméricos portadores de D conectados a la PBRM, en la que cada uno de los soportes poliméricos que portan D independientemente es de Fórmula (Ic):



(Ic),

en donde:

el terminal



- 5 unido a L^{P2} denota la unión directa o indirecta de L^{P2} a PBRM de manera que el soporte polimérico que porta D está conectado a la PBRM,

m es un número entero de 1 a 300,

m_1 es un número entero de 1 a 140,

m_2 es un número entero de 1 a 40,

- 10 m_3 es un número entero de 0 a 18,

m_4 es un número entero de 1 a 10; y

la suma de m, m_1 , m_2 , m_3 y m_4 oscila entre 15 y 300; siempre que el número total de L^{P2} unido a la PBRM sea 10 o menos.

- 15 En la Fórmula (Ic), m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 120 (por ejemplo, aproximadamente 1-90) y/o m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 10 (por ejemplo, aproximadamente 1-8).

Cuando el PHF en la Fórmula (Ic) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 6 kDa a aproximadamente 20 kDa (es decir, la suma de m, m_1 , m_2 , m_3 y m_4 que varía de aproximadamente 45 a aproximadamente 150), m_2 es un número entero de 2 a aproximadamente 20, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 9 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 75 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 4-45).

- 20 Cuando el PHF en la Fórmula (Ic) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 8 kDa a aproximadamente 15 kDa (es decir, la suma de m, m_1 , m_2 , m_3 y m_4 que varía de aproximadamente 60 a aproximadamente 110), m_2 es un número entero de 2 a aproximadamente 15, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 7, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 55 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 4-30).

- 25 Cada aparición de D independientemente se selecciona de alcaloides de vinca, auristatinas, tubulisin, duocarmicinas, inhibidores de quinasa, inhibidores de MEK, inhibidores de KSP, y análogos de los mismos.

L^D es $R^{L1}-C(=O)-X^D-M^{D1}-Y^D-M^{D2}-Z^D-M^{D3}-Q^D-M^{D4}$ con M^{D4} directamente conectado a D, en donde

X^D es $-O-$, $-S-$, $-N(R^1)-$ o ausente, en donde R^1 es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo, $-C(=O)R^{1B}$, $-C(=O)OR^{1B}$ o $-SO_2R^{1B}$, o $-N(R^1)-$ es una fracción heterocicloalquilo, en donde R^{1B} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo;

- 30 cada uno de Y^D , Z^D y Q^D , independientemente, está ausente o es una fracción enlazadora biodegradable seleccionada del grupo que consiste en $-S-S-$, $-C(=O)O-$, $-C(=O)NR^2-$, $-OC(=O)-$, $-NR^2C(=O)-$, $-OC(=O)O-$, $-OC(=O)NR^2-$, $-NR^2C(=O)O-$, $-NR^2C(=O)NR^3-$, $-C(OR^2)O-$, $-C(OR^2)S-$, $-C(OR^2)NR^3-$, $-C(SR^2)O-$, $-C(SR^2)S-$, $C(SR^2)NR^3-$, $-C(NR^2R^3)O-$, $-C(NR^2R^3)S-$, $-C(NR^2R^3)NR^4-$, $-C(=O)S-$, $-SC(=O)-$, $-SC(=O)S-$, $-OC(=O)S-$, $-SC(=O)O-$, $-C(=S)S-$, $-SC(=S)-$, $-OC(=S)-$, $-$

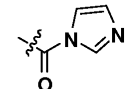
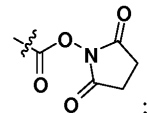
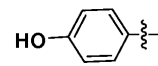
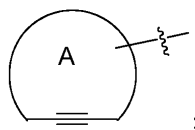
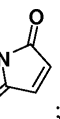
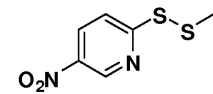
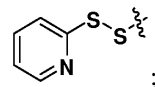
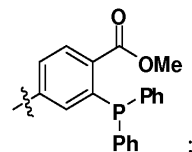
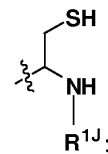
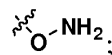
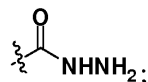
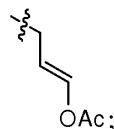
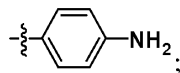
5

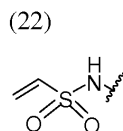
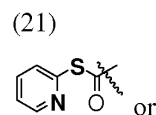
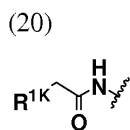
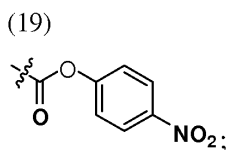
10

Cada



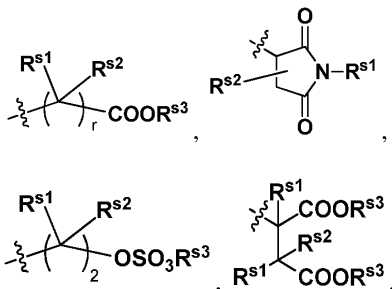
cuando no está conectado a PBRM, comprende independientemente un grupo terminal W^P , en donde cada W^P es independientemente:





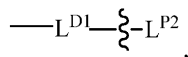
5 en donde R^{1K} es un grupo saliente (por ejemplo, haluro o $RC(O)O-$ en donde R es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo), R^{1A} es un grupo protector de azufre y el anillo A es cicloalquilo o heterocicloalquilo, y R^{1J} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo.

Cada R^{1A} es independientemente



10 en donde r es 1 o 2 y cada uno de R^{s1} , R^{s2} y R^{s3} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo.

Cada



cuando se conecta a PBRM, es independientemente $-X^P-M^{P1}-Y^P-M^{P2}-Z^P-M^{P3}-Q^P-M^{P4}-$, con X^P conectado directamente al grupo carbonilo de $R^{L1}-C(=O)$ y M^{P4} conectado directamente a PBRM, en la que

15 X^P es $-O-$, $-S-$, $-N(R^1)-$, o ausente, en donde R^1 es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo, $-C(=O)R^{1B}$, $-C(=O)OR^{1B}$, o $-SO_2R^{1B}$, o $-N(R^1)-$ es una fracción heterocicloalquilo, en donde R^{1B} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo;

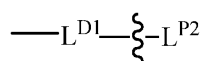
20 cada uno de Y^P , Z^P y Q^P , independientemente, está ausente o es una fracción enlazadora biodegradable seleccionada del grupo que consiste en $-S-S-$, $-C(=O)O-$, $-C(=O)NR^2-$, $-OC(=O)-$, $-NR^2C(=O)-$, $-OC(=O)O-$, $-OC(=O)NR^2-$, $-NR^2C(=O)O-$, $-NR^2C(=O)NR^3-$, $-C(OR^2)O-$, $-C(OR^2)S-$, $-C(OR^2)NR^3-$, $-C(SR^2)O-$, $-C(SR^2)S-$, $C(SR^2)NR^3-$, $-C(NR^2R^3)O-$, $-C(NR^2R^3)S-$, $-C(NR^2R^3)NR^4-$, $-C(=O)S-$, $-SC(=O)-$, $-SC(=O)S-$, $-OC(=O)S-$, $-SC(=O)O-$, $-C(=S)S-$, $-SC(=S)-$, $-OC(=S)-$, $-C(=S)O-$, $-SC(=S)O-$, $-OC(=S)S-$, $-OC(=S)O-$, $-SC(=S)S-$, $-C(=NR^2)O-$, $-C(=NR^2)S-$, $-C(=NR^2)NR^3-$, $-OC(=NR^2)-$, $-SC(=NR^2)-$, $-NR^3C(=NR^2)-$, $-NR^2SO_2-$, $-NR^2NR^3-$, $-C(=O)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=O)-$, $-OC(=O)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=O)O-$, $-C(=S)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=S)-$, $-C(=NR^4)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=NR^4)-$, $-O(N=CR^3)-$, $-(CR^3=N)O-$, $-C(=O)NR^2-$, $-(N=CR^3)-$, $-(CR^3=N)-NR^2C(=O)-$, $-SO_3-$, $-NR^2SO_2NR^3-$, $-SO_2NR^2-$, y poliamida, en donde cada aparición de R^2 , R^3 y R^4 es independientemente hidrógeno o una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocíclica, o cada aparición de $-NR^2-$ o $-NR^2NR^3-$ es una fracción heterocicloalquilo; y

30 cada uno de M^{P1} , M^{P2} , M^{P3} , y M^{P4} independientemente, está ausente o es una fracción enlazadora no biodegradable seleccionada del grupo que consiste en alquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, una fracción carbocíclica, una fracción heterocíclica, y una combinación de los mismos, y cada uno de M^{P1} , M^{P2} y M^{P3} contiene opcionalmente uno o más $-C(=O)-$ pero no contiene ninguna de dichas fracciones enlazadoras biodegradables;

siempre que, para cada

5

En cada



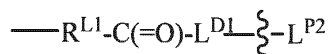
Chemical structures 1-10 illustrating various polymer architectures and functional groups:

- Structure 1: A polymer chain with a maleimide ring and a thiol-terminated side chain: $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---O---}(\text{CH}_2)_q\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---SH}$.
- Structure 2: A polymer chain with a maleimide ring and a thiol-terminated side chain: $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---O---}(\text{CH}_2)_q\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---SH}$.
- Structure 3: A polymer chain with a maleimide ring and a thiol-terminated side chain: $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---O---}(\text{CH}_2)_q\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---SH}$.
- Structure 4: A polymer chain with a maleimide ring and a thiol-terminated side chain: $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---O---}(\text{CH}_2)_q\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---SH}$.
- Structure 5: A polymer chain with a maleimide ring and a thiol-terminated side chain: $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---O---}(\text{CH}_2)_q\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---SH}$.
- Structure 6: A polymer chain with a maleimide ring and a thiol-terminated side chain: $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---O---}(\text{CH}_2)_q\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---SH}$.
- Structure 7: A polymer chain with a maleimide ring and a thiol-terminated side chain: $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---O---}(\text{CH}_2)_q\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---SH}$.
- Structure 8: A polymer chain with a maleimide ring and a thiol-terminated side chain: $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---O---}(\text{CH}_2)_q\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---SH}$.
- Structure 9: A polymer chain with a maleimide ring and a thiol-terminated side chain: $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---O---}(\text{CH}_2)_q\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---SH}$.
- Structure 10: A polymer chain with a maleimide ring and a thiol-terminated side chain: $\text{---}(\text{CH}_2)_p\text{---S---CH}_2\text{---CH}_2\text{---O---}(\text{CH}_2)_q\text{---}(\text{CH}_2)_t\text{---SH}$.

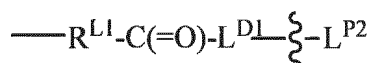
15

$$\text{---R}^{\text{L1}}\text{-C(=O)-L}^{\text{D1}}\text{---}\{\text{---L}^{\text{P2}}\}$$

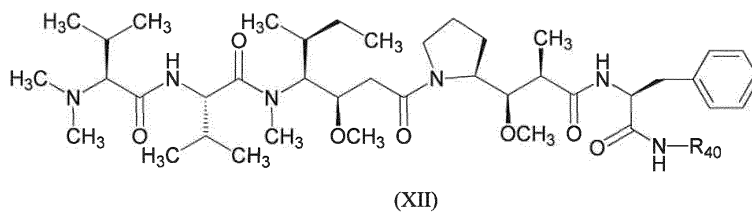
Alternativamente, el método comprende proporcionar un soporte polimérico que está sustituido con uno o más



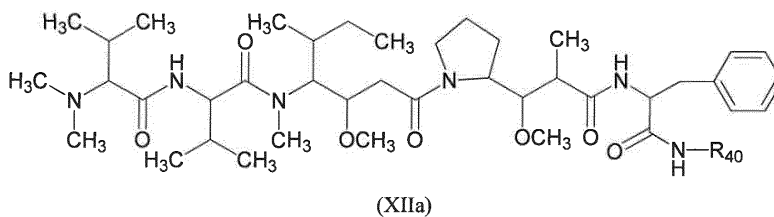
y uno o más $\text{-R}^{L1}\text{-C(=O)-L}^{D1}$, y hacer reaccionar el soporte polimérico con D que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con $\text{-R}^{L1}\text{-C(=O)-L}^{D1}$ para producir la estructura de La reivindicación 2 que comprende un soporte polimérico sustituido con uno o más $\text{-L}^{D1}\text{-D}$ y con uno o más



También se describe un compuesto de Fórmula (XII) o (XIIa):



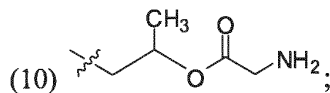
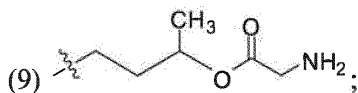
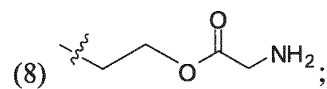
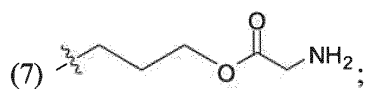
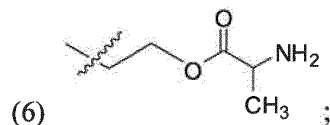
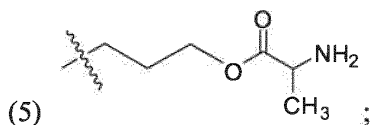
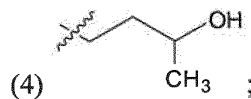
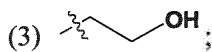
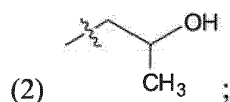
o

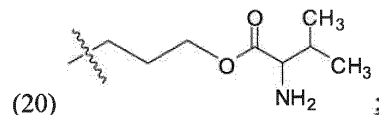
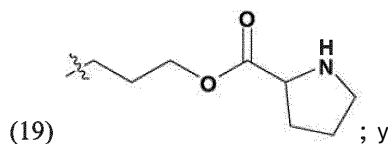
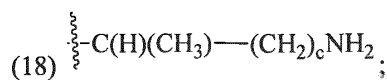
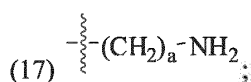
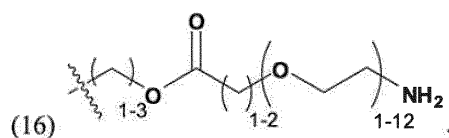
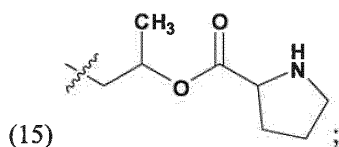
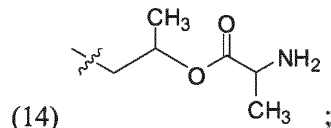
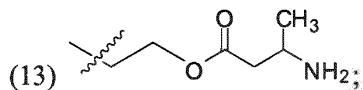
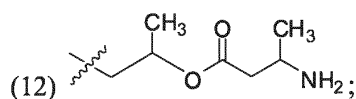
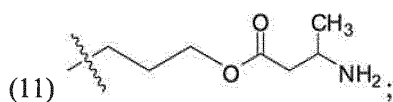


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

donde

R_{40} se selecciona del grupo que consiste en



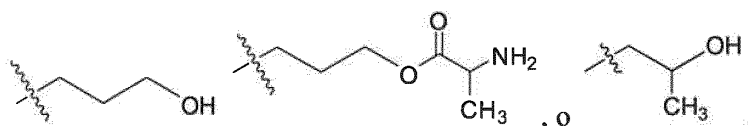


5

a es un número entero de 1 a 6; y

c es un número entero de 0 a 3.

R₄₀ puede ser



10

También se describe una estructura polimérica útil para conjugar tanto con una molécula de reconocimiento a base de proteína (PBRM) como un agente terapéutico (D). La estructura (es decir, la que está libre de cualquier D) comprende un soporte polimérico, uno o más L^P conectados al soporte polimérico que es adecuado para conectar una PBRM al soporte polimérico, y uno o más -R^{L1}-C(=O)-L^{D1} conectados al soporte polimérico a través de R^{L1}, en donde:

el soporte polimérico es un poliacetal o policetal,

15

R^{L1} está conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico,

L^{D1} es un enlazador adecuado para conectar una molécula D al soporte polimérico, en donde cada aparición de D es independientemente un agente terapéutico que tiene un peso molecular ≤ 5 kDa;

L^P es un enlazador diferente de -R^{L1}-C(=O)-L^{D1}, y que tiene la estructura: -R^{L2}-C(=O)-L^{P1} con R^{L2} conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico y L^{P1} adecuado para conectarse a una PBRM;

20

cada uno de R^{L1} y R^{L2} está independientemente ausente, es alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, o heterocicloalquilo;

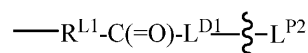
L^{D1} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de D, y

L^{P1} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de una PBRM.

25

La estructura libre de D útil para conjugar con una PBRM y un D puede tener una o más de las siguientes características.

L^P es un enlazador que tiene la estructura:



en la que L^{P2} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de una PBRM, y



5

denota la unión directa o indirecta de L^{P2} a L^{D1} .

El grupo funcional de L^{P1} o L^{P2} se selecciona entre -SR^p , -S-S-LG , maleimido y halo, en donde LG es un grupo saliente y R^p es H o un grupo protector de azufre.

10

L^{D1} comprende $\text{-X-(CH}_2\text{)}_v\text{-C(=O)-}$ con X directamente conectado al grupo carbonilo de $R^{L1}\text{-C(=O)-}$, en donde X es CH_2 , O o NH, y v es un número entero de 1 a 6.

L^{P1} o L^{P2} contiene un enlace biodegradable.

Cada uno de R^{L1} y R^{L2} está ausente.

El soporte polimérico de la estructura libre de D es un poliacetal, por ejemplo, un PHF que tiene un peso molecular (es decir, un PM del PHF no modificado) que varía de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 300 kDa.

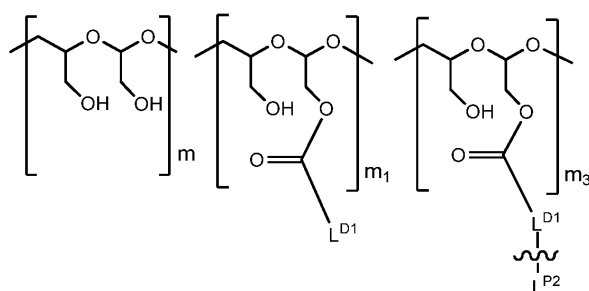
15

Para la conjugación de una PBRM que tiene un peso molecular de 40 kDa o mayor (por ejemplo, 80 kDa o mayor), el soporte polimérico de la estructura libre de D es un poliacetal, por ejemplo, un PHF que tiene un peso molecular (es decir, un PM del PHF no modificado) que varía de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 40 kDa (por ejemplo, aproximadamente 6-20 kDa o aproximadamente 8 - 15 kDa).

20

Para la conjugación de una PBRM que tiene un peso molecular de 200 kDa o menos (por ejemplo, 80 kDa o menos), el soporte polimérico de la estructura libre de D de la invención es un poliacetal, por ejemplo, un PHF que tiene un peso molecular (es decir, un PM del PHF no modificado) que oscila entre aproximadamente 20 kDa y aproximadamente 300 kDa (por ejemplo, aproximadamente 40-150 kDa o aproximadamente 50-100 kDa).

La estructura libre de D es de Fórmula (Id):



(Id),

25

en donde:

m es un número entero de 1 a aproximadamente 2.200,

m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 660,

m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 110, y

la suma de m, m_1 y m_3 que varía de aproximadamente 15 y aproximadamente 2.200.

Cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 40 kDa (es decir, la suma de m , m_1 y m_3 que varía de aproximadamente 15 a aproximadamente 300), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 18 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 140 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 2-120).

5 Cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 6 kDa a aproximadamente 20 kDa (es decir, la suma de m , m_1 y m_3 que varía de aproximadamente 45 a aproximadamente 150), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 9, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 75 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 6-60).

10 Cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 8 kDa a aproximadamente 15 kDa (es decir, la suma de m , m_1 y m_3 que varía de aproximadamente 60 a aproximadamente 110), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 7, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 55 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 6-45).

15 Cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de 20 kDa a 300 kDa (es decir, la suma de m , m_1 y m_3 que varía de aproximadamente 150 a aproximadamente 2.200), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 110, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 660 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 13 - 550).

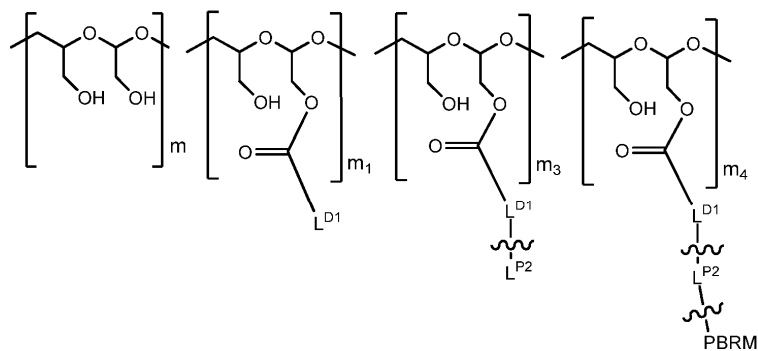
Cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de 40 kDa a 150 kDa (es decir, la suma de m , m_1 y m_3 que varía de aproximadamente 300 a aproximadamente 1100), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 75, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 330 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 20 - 250).

20 Cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 50 kDa a aproximadamente 100 kDa (es decir, la suma de m , m_1 y m_3 que varía de aproximadamente 370 a aproximadamente 740), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 40 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 220 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 20 - 180).

La estructura libre de D comprende además una PBRM conectada al soporte polimérico a través de L^P .

Una o más PBRM están conectadas a un soporte polimérico libre de D.

25 La estructura libre de D es de Fórmula (Ie):



(Ie),

en donde:



entre L^{P2} y PBRM indica la unión directa o indirecta de PBRM a L^{P2} ,

30 PBRM tiene un peso molecular de menos de 200 kDa,

m es un número entero de 1 a 2.200,

m_1 es un número entero de 1 a 660,

m_3 es un número entero de 0 a 110,

m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 60; y

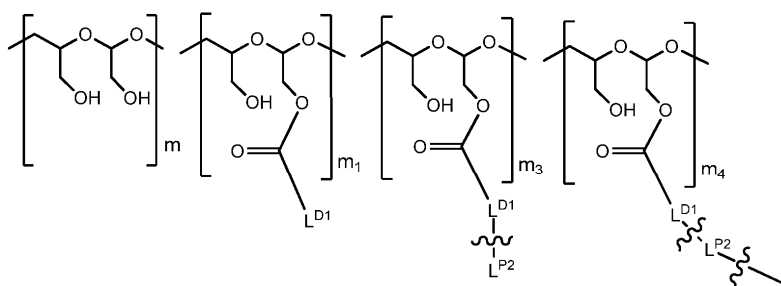
la suma de m , m_1 , m_2 , m_3 y m_4 oscila entre aproximadamente 150 y aproximadamente 2.200.

5 En la Fórmula (Ie), m_1 es un número entero de aproximadamente 10 a aproximadamente 660 (por ejemplo, aproximadamente 14-550).

Cuando el PHF en la Fórmula (Ie) tiene un peso molecular que varía de 40 kDa a 150 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_3 y m_4 que varía de aproximadamente 300 a aproximadamente 1100), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 75, m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 30 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 330 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 20-250).

10 Cuando el PHF en la Fórmula (Ie) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 50 kDa a aproximadamente 100 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_3 y m_4 que varía de aproximadamente 370 a aproximadamente 740), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 40, m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 20, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 220 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 20 - 180).

15 Alternativa o adicionalmente, uno o más soportes poliméricos libres de D están conectados a una PBRM. La estructura comprende una PBRM con un peso molecular mayor que 40 kDa y uno o más soportes poliméricos conectados a la PBRM, en donde cada uno de los soportes poliméricos es independientemente de Fórmula (Ih):



(Ih),

en donde:

el terminal



20

unido a L^{P2} denota la unión directa o indirecta de L^{P2} a PBRM de tal manera que el soporte polimérico portador de D está conectado a la PBRM,

m es un número entero de 1 a 300,

m_1 es un número entero de 1 a 140,

25 m_3 es un número entero de 0 a 18,

m_4 es un número entero de 1 a 10; y

la suma de m , m_1 , m_3 y m_4 oscila entre 15 y 300; siempre que el número total de L^{P2} unidos a la PBRM sea 10 o menos.

En la Fórmula (Ih), m_1 es un número entero de 2 a aproximadamente 130 (por ejemplo, aproximadamente 3-120) y/o m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 10 (por ejemplo, aproximadamente 1-8).

30 Cuando el PHF en la Fórmula (Ih) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 6 kDa a aproximadamente 20 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_3 y m_4 que varía de aproximadamente 45 a aproximadamente 150), m_3 es un número

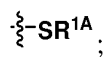
- entero de 1 a aproximadamente 9 y/o m_1 es un número entero de 6 a aproximadamente 75 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 7-60).
- 5 Cuando el PHF en la Fórmula (Ih) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 8 kDa a aproximadamente 15 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_3 y m_4 que varía de aproximadamente 60 a aproximadamente 110), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 7, y/o m_1 es un número entero de 6 a aproximadamente 55 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 7-45).
- Como se usa en la presente memoria, los términos "estructura polimérica" o simplemente "estructura" y "conjugado" se usan indistintamente cuando la estructura comprende una o más PBRM y una o más moléculas D.
- 10 También se describe un conjugado que comprende un soporte polimérico, uno o más $-L^D-D$ conectados al soporte polimérico, y una molécula de reconocimiento a base de proteína (PBRM) conectada al soporte polimérico a través de L^P , en donde:
- Cada aparición de D es independientemente un agente terapéutico (por ejemplo, un fármaco) que tiene un peso molecular ≤ 5 kDa;
- el soporte polimérico es un poliacetal o policetal,
- 15 L^D es un enlazador que tiene la estructura: $-R^{L1}-C(=O)-X^D-M^{D1}-Y^D-M^{D2}-Z^D-M^{D3}-Q^D-M^{D4}-$, con R^{L1} conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico y M^{D4} conectado a D;
- L^P es un enlazador que tiene la estructura: $-R^{L2}-C(=O)-X^P-M^{P1}-Y^P-M^{P2}-Z^P-M^{P3}-Q^P-M^{P4}-$ con R^{L2} conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico y M^{P4} conectado a la molécula de reconocimiento a base de proteína;
- cada uno de R^{L1} y R^{L2} está independientemente ausente, es alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, o heterocicloalquilo;
- 20 cada uno de X^D y X^P , independientemente es $-O-$, $-S-$, $-N(R^1)-$, o ausente, en donde R^1 es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo, $-C(=O)R^{1B}$, $-C(=O)OR^{1B}$, $-SO_2R^{1B}$ o $-N(R^1)-$ es una fracción heterocicloalquilo,
- en donde R^{1B} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo;
- 25 cada uno de Y^D , Y^P , Z^D , Z^P , Q^D y Q^P , independientemente, está ausente o es una fracción enlazadora biodegradable seleccionada del grupo que consiste en $-S-S-$, $-C(=O)O-$, $-C(=O)NR^2-$, $-OC(=O)-$, $-NR^2C(=O)-$, $-OC(=O)O-$, $-OC(=O)NR^2-$, $-NR^2C(=O)O-$, $-NR^2C(=O)NR^3-$, $-C(OR^2)O-$, $-C(OR^2)S-$, $-C(OR^2)NR^3-$, $-C(SR^2)O-$, $-C(SR^2)S-$, $-C(SR^2)NR^3-$, $-C(NR^2R^3)O-$, $-C(NR^2R^3)S-$, $-C(NR^2R^3)NR^4-$, $-C(=O)S-$, $-SC(=O)-$, $-SC(=O)S-$, $-OC(=O)S-$, $-SC(=O)O-$, $-C(=S)S-$, $-SC(=S)-$, $-OC(=S)-$, $-SC(=S)O-$, $-OC(=S)O-$, $-SC(=S)S-$, $-C(=NR^2)O-$, $-C(=NR^2)S-$, $-C(=NR^2)NR^3-$, $-OC(=NR^2)-$, $-SC(=NR^2)-$, $-NR^3C(=NR^2)-$, $-NR^2SO_2-$, $-NR^2NR^3-$, $-C(=O)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=O)-$, $-OC(=O)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=O)O-$, $-C(=S)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=S)-$, $-C(=NR^4)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=NR^4)-$, $-O(N=CR^3)-$, $-(CR^3=N)O-$, $-C(=O)NR^2(N=CR^3)-$, $-(CR^3=N)-NR^2C(=O)-$, $-SO_3-$, $-NR^2SO_2NR^3-$, $-SO_2NR^2-$, y poliamida, en donde cada aparición de R^2 , R^3 y R^4 es independientemente hidrógeno o una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocíclica, o cada aparición de $-NR^2-$ o $-NR^2NR^3-$ es una fracción heterocicloalquilo; y
- 30 cada uno de M^{D1} , M^{D2} , M^{D3} , M^{D4} , M^{P1} , M^{P2} , M^{P3} y M^{P4} , independientemente, está ausente o es una fracción enlazadora no biodegradable seleccionada de entre el grupo constituido por una fracción alquilo, alquenilo, alquinilo, heteroalquilo, heteroalquenilo, heteroalquinilo, una fracción carbocíclica, una fracción heterocíclica y una combinación de las mismas, y cada uno de M^{D1} , M^{D2} , M^{D3} , M^{P1} , M^{P2} y M^{P3} contiene opcionalmente uno o más $-C(=O)-$ pero no contiene ninguna de dichas fracciones enlazadoras biodegradables;
- 35 siempre que para cada L^D no esté ausente al menos uno de X^D , Y^D , Z^D y Q^D , y para cada L^P , al menos uno de X^P , Y^P , Z^P y Q^P no está ausente.
- 40 El conjugado puede incluir una o más de las siguientes características.
- El soporte polimérico puede ser un poliacetal, por ejemplo, PHF.
- Para cada L^D , M^{D1} no está ausente cuando X^D está ausente.
- Para cada L^P , M^{P1} no está ausente cuando X^P está ausente.

El soporte polimérico puede estar además sustituido con uno o más $-R^{L1}-C(=O)-X^D-M^{D1}-Y^D-M^{D2}-W^D$, en donde cada W^D es independientemente:

(1)



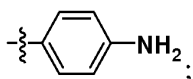
(2)



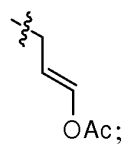
(3)



(4)



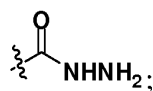
(5)



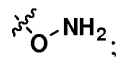
(6)



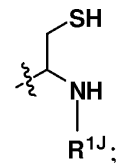
(7)



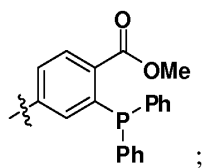
(8)



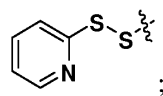
(9)



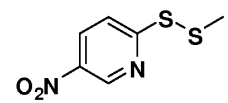
(10)



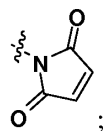
(11)



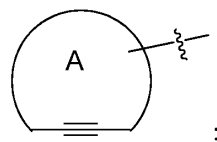
(12)



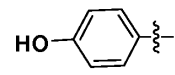
(13)



(14)



(15)



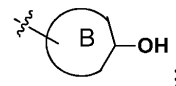
(16)



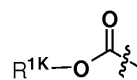
(17)



(18)



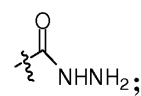
(19)



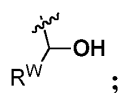
(20)



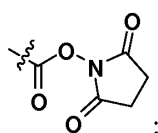
(21)



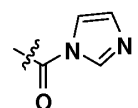
(22)



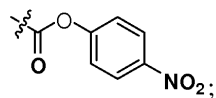
(23)



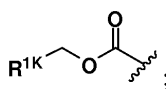
(24)



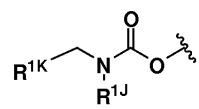
(25)



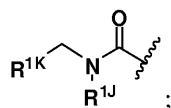
(26)



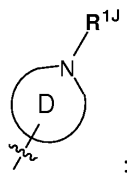
(27)



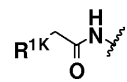
(28)



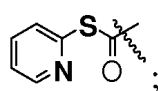
(29)



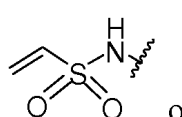
(30)



(31)



(32)



(33)



5

en donde R^{1A} es un grupo protector de azufre, cada uno de los anillos A y B, independientemente, es cicloalquilo o heterocicloalquilo, R^W es una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo; el anillo D es heterocicloalquilo; R^{1J} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo; y R^{1K} es un grupo saliente (por ejemplo, haluro o $RC(O)O$ en donde R es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo).

10

El soporte polimérico puede estar además sustituido con uno o más $-R^{L2}-C(=O)-X^P-M^{P1}-Y^P-M^{P2}-W^P$, en donde cada W^P es independientemente:

(1)



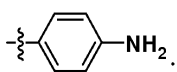
(2)



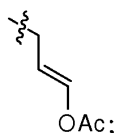
(3)



(4)



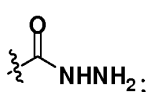
(5)



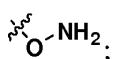
(6)



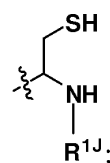
(7)



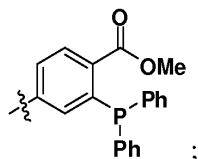
(8)



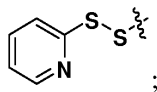
(9)



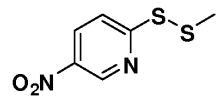
(10)



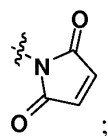
(11)



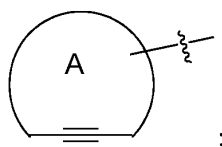
(12)



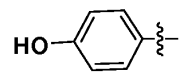
(13)



(14)



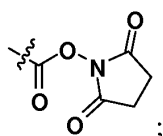
(15)



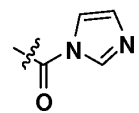
(16)



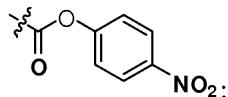
(17)



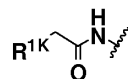
(18)



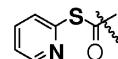
(19)



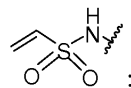
(20)



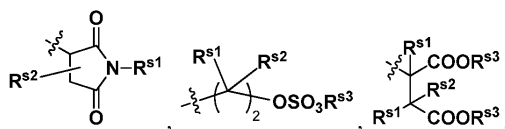
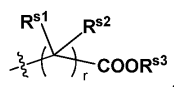
(21)



(22)



en donde R^{1K} es un grupo saliente (por ejemplo, haluro o $RC(O)O-$ en donde R es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo), R^{1A} es un grupo protector de azufre y el anillo A es cicloalquilo o heterocicloalquilo, y R^{1J} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo. Por ejemplo, R^{1A} es



en donde r es 1 o 2 y cada uno de R^{s1} , R^{s2} y R^3 es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo.

15 El anillo A puede ser cicloalquilo C_{3-8} o heterocicloalquilo de 5-19 miembros.

El anillo A puede ser

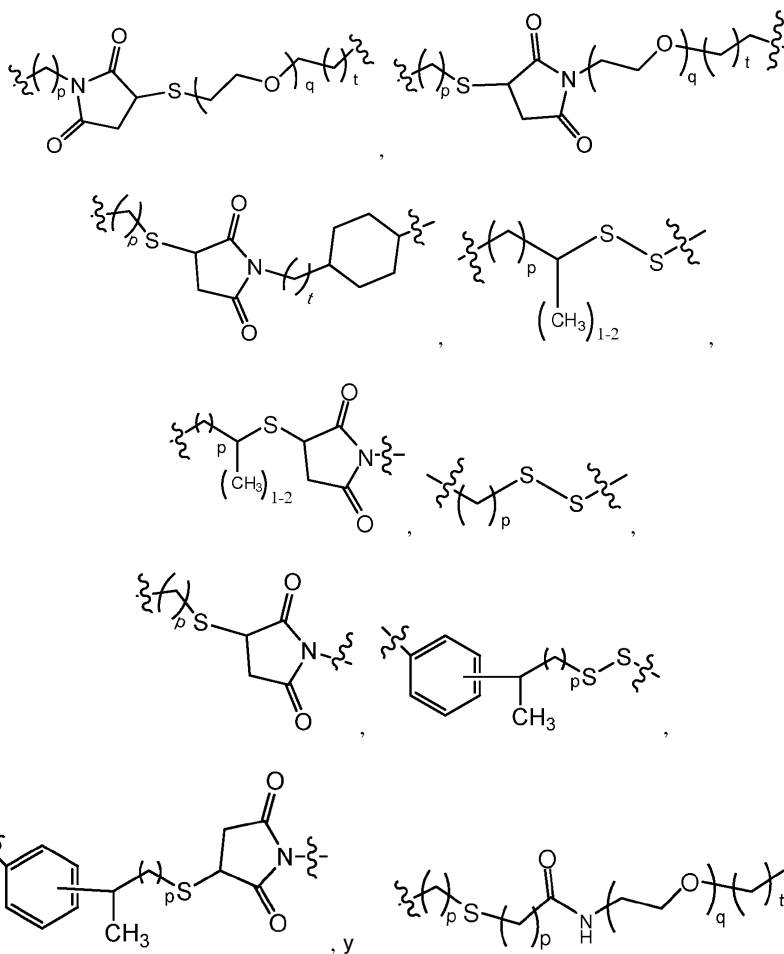
El anillo D puede ser piperazinilo o piperidinilo.

5 Cada PBRM independientemente puede ser un péptido, un péptido mimético, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo.

Cada uno de M^{D2} , M^{D3} , M^{D4} , M^{P2} , M^{P3} y M^{P4} puede estar independientemente ausente, ser alquilo C_{1-6} , cicloalquilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, o una combinación de los mismos.

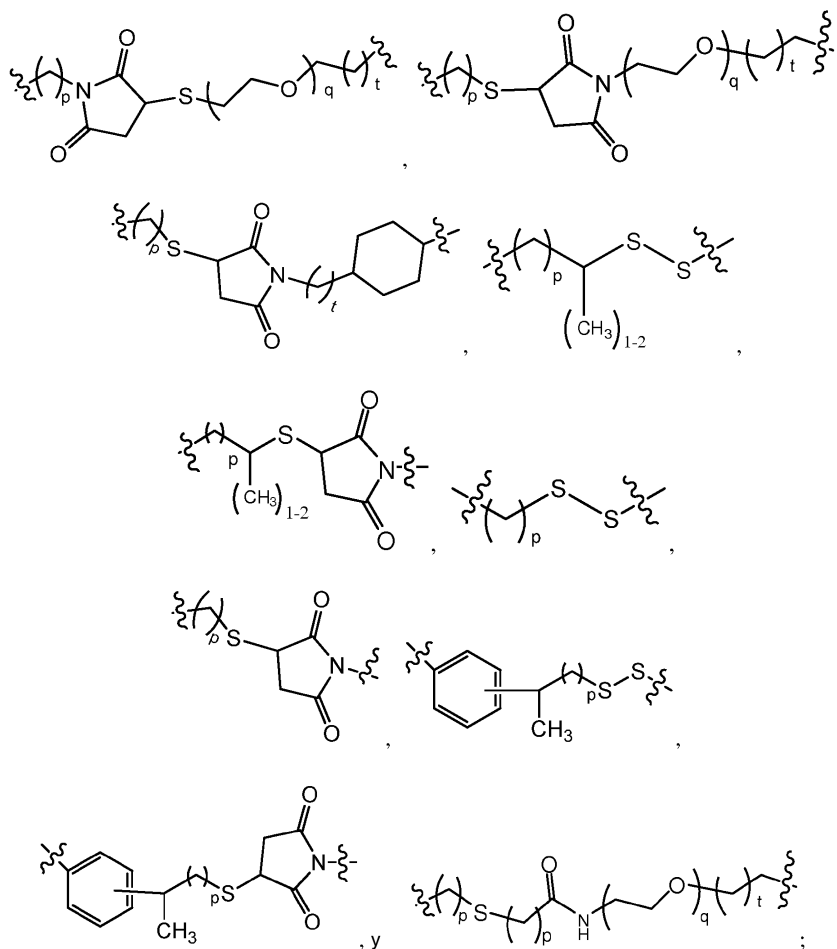
Para cada L^P , pueden estar ausentes como máximo dos de M^{P^2} , M^{P^3} y M^{P^4} .

Para cada L^D , como máximo uno de M^{D2} y M^{D3} puede tener una de las siguientes estructuras:



en donde q es un número entero de 0 a 12 y cada uno de p y t es independientemente un número entero de 0 a 3.

Para cada L^p , como máximo uno de M^{p^2} y M^{p^3} puede tener una de las siguientes estructuras:

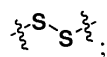


5

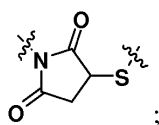
en donde q es un número entero de 0 a 12 y cada uno de p y t es independientemente un número entero de 0 a 3.

Para cada L^D , cada uno de $-M^{D2}-Z^D-$, $-Z^D-M^{D3}-$, $-Z^D-M^{D2}-$ y $-M^{D3}-Z^D-$, independientemente pueden tener una de las siguientes estructuras:

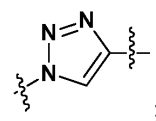
(1)



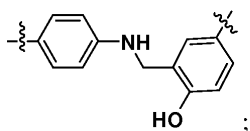
(2)



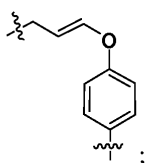
(3)



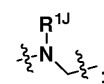
(4)



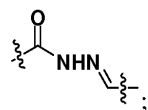
(5)



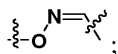
(6)



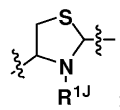
(7)



(8)

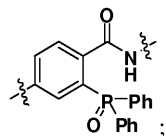


(9)

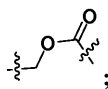


10

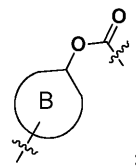
(10)



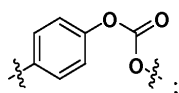
(11)



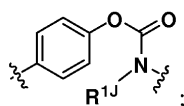
(12)



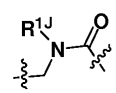
(13)



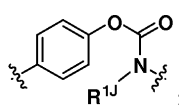
(14)



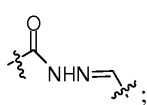
(15)



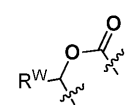
(16)



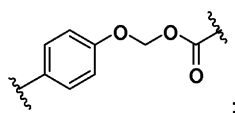
(17)



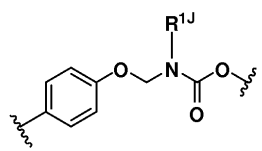
(18)



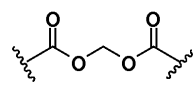
(19)



(20)

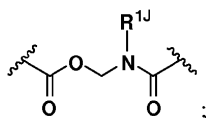


(21)

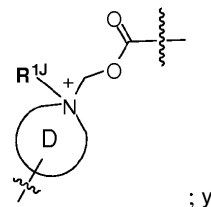


5

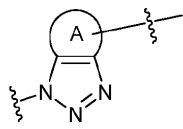
(22)



(23)



(24)

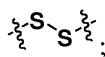


; y

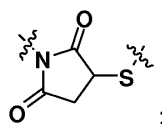
en donde el anillo A o B es independientemente cicloalquilo o heterocicloalquilo; R^W es una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo; R^1 es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo; y el anillo D es heterocicloalquilo.

10 Para cada L^P , cada uno de $-MP^2-Z^P$, $-Z^P-MP^3$, $-Z^P-MP^2$ y $-MP^3-Z^P$, independientemente, puede tener una de las siguientes estructuras:

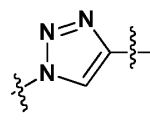
(1)



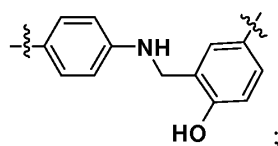
(2)



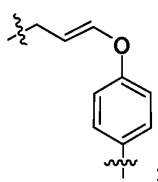
(3)



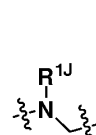
(4)

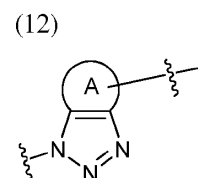
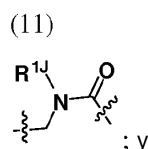
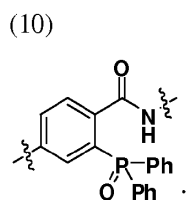
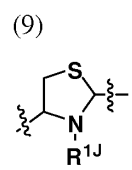
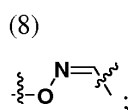
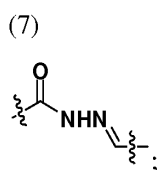


(5)



(6)



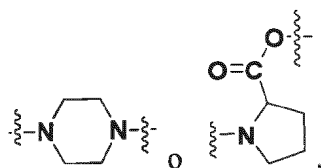


5

Cada uno de X^D y X^P , independientemente, puede estar ausente.

Cada uno de X^D y X^P , independientemente, puede ser O o NH.

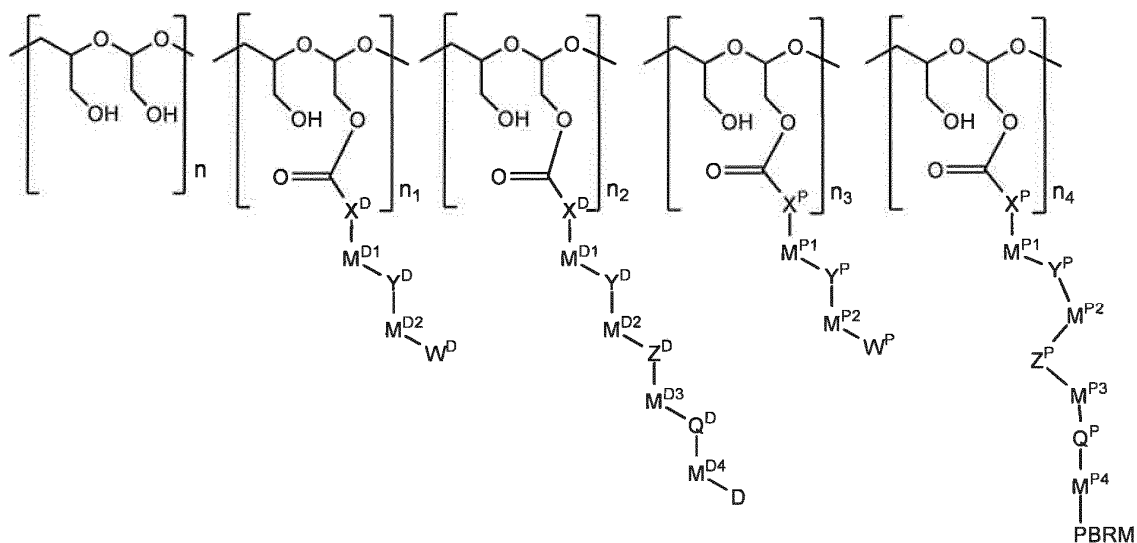
Cada uno de X^D y X^P , independientemente, puede ser



10

Cada uno de Q^D y Q^P independientemente puede estar ausente, -S-S-, -OCO-, -COO-, -CONH-, -NHCO-, -OCONHNH- o NNNHCOO-.

En particular, se describe un conjugado de Fórmula (I):



(I),

en donde cada uno de n , n_1 , n_2 , n_3 y n_4 es la fracción molar de la unidad polimérica correspondiente que oscila entre 0 y 1; $n + n_1 + n_2 + n_3 + n_4 = 1$; siempre que ninguno de n , n_2 y n_4 sea 0.

En la Fórmula (I) anterior, la desconexión o separación entre las unidades poliacetales indica que las unidades pueden estar conectadas entre sí en cualquier orden. En otras palabras, los grupos anexos que contienen D, PBRM, W^D y W^P , pueden distribuirse aleatoriamente a lo largo de la cadena principal del polímero.

En el conjugado de proteína-polímero-fármaco de Fórmula (I), cada D puede ser la misma o diferente fracción y cada PBRM puede ser la misma o diferente fracción.

La relación entre 112 y n_4 puede ser mayor que 1:1, y hasta 200:1 (por ejemplo, hasta 100:1), por ejemplo, entre 2:1 y 40:1; entre 5:1 y 20:1; entre 10:1 y 50:1, entre 25:1 y 50:1, o entre 30:1 y 50:1.

La relación entre n_2 y n_4 puede ser de aproximadamente 50:1, 40:1, 25:1, 20:1, 10:1, 5:1 o 2:1.

También se describen composiciones que comprenden los conjugados, métodos para su preparación, y métodos de uso de los mismos en el tratamiento de diversos trastornos, incluyendo, pero sin limitarse a, cáncer.

También se describe un conjugado fármaco-polímero (por ejemplo, conjugado de agente terapéutico-polímero) que es similar al conjugado de proteína-polímero-fármaco descrito anteriormente excepto que el conjugado fármaco-polímero no contiene una PBRM. El conjugado de polímero-fármaco puede comprender una pluralidad de fracciones de fármaco en las que cada D puede ser igual o diferente. En este ejemplo, n_4 es 0 en el conjugado de Fórmula (I). Los métodos para producir los conjugados de fármaco-polímero y los métodos de tratamiento de diversos trastornos (por ejemplo, cáncer) también se contemplan y describen en la presente memoria.

También se describe un conjugado proteína-polímero (por ejemplo, un conjugado PBRM-polímero) que es similar al conjugado de proteína-polímero-fármaco descrito anteriormente excepto que el conjugado proteína-polímero no contiene un fármaco. El conjugado proteína-polímero puede comprender una pluralidad de fracciones de proteína en las que cada PBRM puede ser igual o diferente. En este ejemplo, n_2 es 0 en el conjugado de Fórmula (I). Los métodos de producción de los conjugados de fármaco-polímero o estructuras poliméricas y métodos de tratamiento de diversos trastornos (por ejemplo, cáncer) también se contemplan y describen en la presente memoria. El cáncer objetivo puede ser anal, astrocitoma, leucemia, linfoma, cabeza y cuello, hígado, testicular, cervical, sarcoma, hemangioma, esófago, ojo, laringe, boca, mesotelioma, piel, mieloma, oral, rectal, garganta, vejiga, mama, útero, ovario, próstata, pulmón, colon, páncreas, renal o cáncer gástrico.

También se describe una composición farmacéutica que comprende una estructura o conjugado polimérico descrito en la presente memoria y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

También se describe un método para diagnosticar un trastorno en un sujeto sospechoso de tener el trastorno. El método comprende administrar una cantidad eficaz del conjugado descrito en el presente documento al sujeto sospechoso de tener el trastorno o realizar un ensayo para detectar un antígeno/receptor objetivo en una muestra del sujeto a fin de determinar si el sujeto expresa el antígeno o receptor objetivo.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica al que pertenece esta invención. En la especificación, las formas singulares también incluyen el plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Aunque se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos aquí en la práctica o ensayo de la presente invención, se describen a continuación métodos y materiales adecuados.

Una de las ventajas de la presente invención es que los conjugados de proteína-polímero-fármaco o las estructuras poliméricas descritas en la presente memoria aumentan en gran medida la biodisponibilidad de los fármacos que se van a administrar y/o potencian la biodisponibilidad de la proteína unida al soporte polimérico. Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y reivindicaciones.

Breve descripción de las figuras

La Fig. 1 es un gráfico que muestra la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con células NCI-N87 ($n = 10$ para cada grupo) después de la administración intravenosa de vehículo, conjugado PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) (Ejemplo 8, HPV: trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) a razón de 15,6 mg/kg, 5,2 mg/kg, 1,6 mg/kg y 0,5 mg/kg, respectivamente, y el conjugado de fármaco-polímero PHF-GA -(HPV-Alanina)-SH (Ejemplo 6) (dosificada con una dosis de la Vinca que era equivalente a la presente en el Ejemplo 8 a razón de 15,6 mg/kg) dosificada una vez por semana durante 3 semanas en el día 1, día 8 y día 15 respectivamente.

La Fig. 2 es un gráfico que muestra la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con tumores BT474 (n = 12 para cada grupo) después de la administración intravenosa del vehículo; PBRM (trastuzumab) a razón de 15 mg/kg; los conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(trastuzumab-MCC) (Ejemplo 7, HPV: trastuzumab aproximadamente 19:1 a 22:1) a razón de 7,5 mg/kg y PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Rituximab-MCC) (Ejemplo 54, HPV: Rituximab aproximadamente 12:1 a 15:1) a razón de 20 mg/kg; conjugado fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH (Ejemplo 6) (dosificado con una dosis de la Vinca que era equivalente a la presente en el Ejemplo 7 a razón de 15 mg/kg) en combinación con trastuzumab a razón de 15 mg/kg dosificado una vez cada semana durante 3 semanas en el día 1, el día 8 y el día 15 respectivamente.

La Fig. 3 es un gráfico que muestra la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con tumores BT474 (n = 12 para cada grupo) después de la administración intravenosa del vehículo; PBRM (trastuzumab) a razón de 15 mg/kg; los conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(Auristatina F-hidroxiopropilamida-L-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 52, Auristatina F: Trastuzumab aproximadamente 20:1 a 22:1) a razón de 7,5 mg/kg; conjugado fármaco-polímero PHF-GA-SH-(Auristatina F-propilamida-L-Alanina) (Ejemplo 51) (dosificado con una dosis de auristatina equivalente a la presente en el Ejemplo 52 a razón de 15 mg/kg) en combinación con trastuzumab a razón de 15 mg/kg dosificados una vez por semana durante 3 semanas en el día 1, día 8 y día 15 respectivamente.

La Figura 4 es un gráfico que muestra la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con tumores BT474 (n = 10 para cada grupo) después de la administración intravenosa del vehículo; conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 7, HPV: trastuzumab aproximadamente 19:1 a 22:1) a razón de 3,5 mg/kg dosificados una vez por semana durante 3 semanas en el día 1, día 8 y día 15 respectivamente; conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 7, HPV: trastuzumab aproximadamente 19:1 a 22:1) a razón de 10 mg/kg dosificados con una dosis única el día 1; conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 7, HPV: trastuzumab aproximadamente 19:1 a 22:1) a razón de 10 mg/kg dosificado una vez por semana durante 3 semanas en el día 17, día 24 y día 31, respectivamente.

La Figura 5 es un gráfico que muestra la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con tumores BT474 (n = 10 para cada grupo) después de la administración intravenosa del vehículo o PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-Fab) de 30 kDa (Ejemplo 60, HPV: trastuzumab-Fab aproximadamente 10:1 a 14:1) a razón de 7 mg/kg dosificados una vez por semana durante 3 semanas en el día 1, día 8 y día 15 respectivamente.

La Figura 6 es un gráfico que muestra la PK en plasma para el HPV conjugado y el trastuzumab después de la administración intravenosa en bolo del conjugado PBRM-fármaco PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) como en el Ejemplo 8 (HPV: trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) a razón de 15 mg/kg (con base en trastuzumab).

La Figura 7 es un gráfico que muestra la acumulación de HPV en diversos órganos de los ratones después de la administración de un bolo IV de conjugado PBRM-fármaco PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) como en el Ejemplo 8 (HPV: trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) a razón de 15 mg/kg (con base en trastuzumab).

La Figura 8 es un gráfico que muestra la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con tumores BT474 (n = 10 para cada grupo) después de la administración intravenosa del vehículo; conjugado PBRM-fármaco PHF-GA-(Auristatina F-hidroxiopropilamida-L-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 52, Auristatina F: Trastuzumab aproximadamente 24:1 a 28:1) y conjugado de polímero-fármaco PHF-GA-SS-Dimetil-NO₂-(Auristatina F - hidroxiopropilamida-L-Alanina)-(S-S-Trastuzumab) (Ejemplo 70, Auristatina F: Trastuzumab aproximadamente 9:1 a 13:1) a razón de 2 mg/kg y dosis de 4 mg/kg dosificado una vez cada semana durante 3 semanas en el día 1, día 8 y día 15 respectivamente.

Descripción detallada de ciertas realizaciones preferidas de la invención

La presente invención proporciona nuevos conjugados de proteína-polímero-fármaco, estructuras poliméricas para preparar los conjugados, métodos sintéticos para preparar los conjugados de o estructuras poliméricas, composiciones farmacéuticas que los contienen y diversos usos de los conjugados.

La presente invención también proporciona nuevos conjugados de polímero-fármaco, métodos sintéticos para fabricar los conjugados, composiciones farmacéuticas que los contienen y diversos usos de los conjugados.

La presente invención proporciona además nuevos derivados de fármacos, métodos sintéticos para preparar los derivados, composiciones farmacéuticas que los contienen y diversos usos de los derivados de fármacos.

Definición / Terminología

5 Ciertos compuestos de la presente invención y definiciones de grupos funcionales específicos también se describen con más detalle en la presente memoria. Para los propósitos de esta invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75ª Ed., cubierta interior, y los grupos funcionales específicos se definen generalmente como se describe en el mismo. Además, los principios generales de la química orgánica, así como las fracciones funcionales específicas y la reactividad, se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999.

Además, un experto en la técnica apreciará que los métodos sintéticos, como se describen aquí, utilizan una variedad de grupos protectores.

10 El uso de los artículos "un", "uno, una" y "el, la" tanto en la descripción como en las reivindicaciones siguientes debe ser interpretados para abarcar tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en la presente memoria o sea claramente contradicho por el contexto. Los términos "que comprende", "que tiene", "que incluye" y "que contiene" se deben interpretar como términos abiertos (es decir, que incluyen "pero no se limitan a") a menos que se indique lo contrario. Además, cuando se utiliza "que comprende" u otro término abierto en una realización, debe entenderse que la misma realización puede ser reivindicada más estrechamente usando el término intermedio "que consiste esencialmente en" o el término cerrado "que consiste en".

15 La mención de intervalos de valores pretende meramente servir como un método abreviado de referirse individualmente a cada valor separado que cae dentro del intervalo, a menos que se indique lo contrario aquí, y cada valor separado se incorpora en la especificación como si estuviera mencionando individualmente en la presente memoria. Un intervalo utilizado en este documento, a menos que se especifique lo contrario, incluye los dos límites del intervalo. Por ejemplo, las expresiones "siendo x un entero entre 1 y 6" y "siendo x un entero de 1 a 6" significan ambos "siendo x 1, 2, 3, 4, 5 o 6".

25 "Grupo protector": como se usa en el presente documento, el término grupo protector significa que una fracción funcional particular, por ejemplo, O, S, o N, se bloquea temporalmente de manera que una reacción puede llevarse a cabo selectivamente en otro sitio reactivo en un compuesto multifuncional. En realizaciones preferidas, un grupo protector reacciona selectivamente con un buen rendimiento para producir un sustrato protegido que es estable a las reacciones proyectadas; el grupo protector debe eliminarse selectivamente con un buen rendimiento mediante reactivos fácilmente disponibles, preferiblemente reactivos no tóxicos que no atacan a los otros grupos funcionales; el grupo protector forma un derivado fácilmente separable (más preferiblemente sin la generación de nuevos centros estereogénicos); y el grupo protector tiene un mínimo de funcionalidad adicional para evitar nuevos sitios de reacción. Como se detalla en esta memoria, pueden utilizarse grupos protectores de oxígeno, azufre, nitrógeno y carbono. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, pueden utilizarse ciertos ejemplos de grupos de protección de oxígeno. Estos grupos protectores de oxígeno incluyen, pero no se limitan a éteres metílicos, metil éteres sustituidos (por ejemplo, MOM (metoximetil éter), MTM (metiltiometil éter), BOM (benciloximetil éter) y PMBM (p-metoxibenciloximetil éter), etil éteres sustituidos, éteres de bencilo sustituidos, éteres de sililo (por ejemplo, TMS (trimetilsilil éter), TES (trietsilil éter), TIPS (triisopropilsilil éter), TBDMS (t-butildimetilsilil éter), tribencilsilil éter y TBDPS (t-butildifenilsilil éter), ésteres (por ejemplo, formiato, acetato, benzoato (Bz), trifluoroacetato y dicloroacetato), carbonatos, acetales y cetales cíclicos. En ciertos otros ejemplos de realizaciones, se utilizan grupos protectores de nitrógeno. Se conocen en la técnica grupos protectores de nitrógeno, así como los métodos de protección y desprotección. Los grupos protectores de nitrógeno incluyen, pero no se limitan a, carbamatos (incluyendo carbamatos de metilo, etilo y de etilo sustituidos (por ejemplo, Troc), amidas, derivados de imida cíclica, N-alquil y N-aril aminas, derivados de imina y derivados de enamina. En aún otras realizaciones, se pueden utilizar ciertos ejemplos de grupos protectores de azufre. Los grupos protectores de azufre incluyen, pero no se limitan a aquellos grupos protectores de oxígeno descritos anteriormente, así como al ácido carboxílico alifático (por ejemplo, ácido acrílico), maleimida, vinilsulfonilo y ácido maleico opcionalmente sustituido. Ciertos otros ejemplos de grupos protectores se detallan en el presente documento, sin embargo, se apreciará que la presente invención no pretende limitarse a estos grupos protectores; por el contrario, se pueden identificar fácilmente una variedad de grupos protectores equivalentes adicionales usando los criterios anteriores y se utilizan en la presente invención. Además, se describe una variedad de grupos protectores en "Protective Groups in Organic Synthesis" tercera Ed. Greene, T.W. Y Wuts, P.G., Eds., John Wiley & Sons, Nueva York: 1999.

50 "Grupo saliente" se refiere a un fragmento molecular que se separa con un par de electrones en la escisión del enlace heterolítico. Los grupos salientes pueden ser aniones o moléculas neutras. Los grupos salientes incluyen, pero no se limitan a haluros tales como Cl⁻, Br⁻ y I⁻, ésteres de sulfonato, tales como para-toluensulfonato ("tosilato", TsO⁻), y RC(O)O⁻ en donde R es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo.

55 Todos los métodos descritos en la presente memoria descriptiva se pueden llevar a cabo en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en la presente memoria o bien se contradiga claramente con el contexto. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o el término ejemplo (por ejemplo, "tal como") proporcionado en la presente memoria, sólo tiene por objeto ilustrar mejor la invención y no debe interpretarse como una limitación del alcance de las reivindicaciones a menos que explícitamente se reivindique de otro modo. Ninguna expresión en la especificación debe interpretarse como indicando que cualquier elemento no reivindicado es esencial para lo que se reivindica.

"Anticuerpo" se refiere a una molécula de inmunoglobulina de la clase IgG que incluye, pero no se limita a las subclases de IgG (IgG1, 2, 3 y 4) y la clase IgM que es capaz de unirse específicamente a un epítipo específico sobre un antígeno. Los anticuerpos pueden ser inmunoglobulinas intactas derivadas de fuentes naturales o de fuentes recombinantes y pueden ser porciones inmunorreactivas de inmunoglobulinas intactas. Los anticuerpos pueden existir en una variedad de formas incluyendo, por ejemplo, anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, anticuerpos camélidos de un solo dominio, anticuerpos intracelulares ("intracuerpos"), anticuerpos recombinantes, anticuerpos anti-idiotípicos, anticuerpos de dominio, anticuerpo lineal, anticuerpo multiespecífico, fragmentos de anticuerpo, tales como Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, anticuerpos de fragmento variable de cadena sencilla (scFv), Fc, pFc', scFvFc, Fv disulfuro (dsfv), anticuerpos biespecíficos (bc-scFv) tales como anticuerpos BiTE; anticuerpos camélidos, anticuerpos que vuelven a resurgir, anticuerpos humanizados, anticuerpos totalmente humanos, anticuerpo un solo dominio (sdAb, también conocido como NANOBODY®), anticuerpos quiméricos, anticuerpos quiméricos que comprenden al menos una región constante humana, anticuerpos de doble afinidad tales como, proteínas redireccionantes de doble afinidad (DART^{MR}), fragmentos variables divalentes de cadena sencilla (o bivalentes) (di-scFvs, bi-scFvs) que incluyen pero no se limitan a minicuerpos, diacuerpos, triacuerpos o tricuerpos, tetracuerpos y similares, y anticuerpos multivalentes. "Fragmento de anticuerpo" se refiere a al menos una porción de la región variable de la molécula de inmunoglobulina que se une a su objetivo, es decir, a la región de unión al antígeno. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "anticuerpo" se refiere tanto al anticuerpo de longitud completa como a los fragmentos de anticuerpo, a menos que se especifique lo contrario.

"Molécula de reconocimiento a base de proteína" o "PBRM" se refiere a una molécula que reconoce y se une a un marcador o receptor de superficie celular tal como, una proteína transmembrana, proteína inmovilizada en superficie o proteoglicano. Ejemplos de PBRM incluyen, pero sin limitarse a, anticuerpos (por ejemplo, Trastuzumab, Cetuximab, Rituximab, Bevacizumab, Epratuzumab, Veltuzumab, Labetuzumab) o péptidos (péptidos dirigidos al receptor LHRH, péptido EC-1), lipocalinas, proteínas tales como, por ejemplo, anticalinas, proteínas tales como, por ejemplo, interferones, linfoquinas, factores de crecimiento, factores estimuladores de colonias, y similares, péptidos o péptido miméticos, y similares. La molécula de reconocimiento a base de proteína, además de dirigir al conjugado de polímero modificado a una célula, tejido o localización específica, también puede tener cierto efecto terapéutico tal como actividad antiproliferativa (citostática y/o citotóxica) contra una célula o ruta objetivo. La molécula de reconocimiento base de proteína comprende o puede ser modificada genéticamente para comprender al menos un grupo químicamente reactivo tal como, -COOH, amina primaria, amina secundaria -NHR, -SH, o una fracción de aminoácido químicamente reactiva o cadenas laterales tales como, por ejemplo, tirosina, histidina, cisteína o lisina.

"Biocompatible", tal como se utiliza en la presente memoria, pretende describir compuestos que ejercen efectos de respuesta destructivos o del huésped mínimos mientras están en contacto con fluidos corporales o células o tejidos vivos. Por lo tanto, un *grupo biocompatible*, tal como se usa en este documento, se refiere a una fracción alifática, cicloalquilo, heteroalifática, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo, que cae dentro de la definición del término *biocompatible*, como se define aquí y anteriormente. El término "biocompatibilidad", tal como se utiliza en la presente memoria, también se entiende que significa que los compuestos muestran interacciones mínimas con proteínas de reconocimiento, por ejemplo, anticuerpos de origen natural, proteínas celulares, células y otros componentes de sistemas biológicos, a menos que tales interacciones sean específicamente deseables. Por lo tanto, las sustancias y grupos funcionales específicamente destinados a causar las interacciones mínimas anteriores, por ejemplo, fármacos y profármacos, se considera que son biocompatibles. Preferiblemente (con excepción de compuestos destinados a ser citotóxicos, tales como, por ejemplo, agentes antineoplásicos), los compuestos son "biocompatibles" si su adición a células normales *in vitro*, en concentraciones similares a las concentraciones sistémicas pretendidas *in vivo*, da como resultado menos de o igual al 1% de muerte celular durante el tiempo equivalente a la semivida del compuesto *in vivo* (por ejemplo, el período de tiempo requerido para que el 50% del compuesto administrado *in vivo* sea eliminado/expulsado) y su administración *in vivo* induce inflamación mínima y médicamente aceptable, reacción de cuerpo extraño, inmunotoxicidad, toxicidad química y/u otros efectos adversos similares. En la frase anterior, el término "células normales" se refiere a células que no están destinadas a ser destruidas o afectadas significativamente por el compuesto que se está probando.

"Biodegradable": Tal como se usa en la presente memoria, los polímeros "biodegradables" son polímeros que son susceptibles al proceso biológico *in vivo*. Como se utilizan en la presente memoria, los compuestos o fracciones "biodegradables" son aquellas que, cuando son absorbidos por las células, pueden ser descompuestos por la maquinaria lisosómica u otra maquinaria química o por hidrólisis en componentes que las células pueden reutilizar o eliminar sin efecto tóxico significativo sobre las células. El término "bioescindible" tal como se utiliza en la presente memoria tiene el mismo significado de "biodegradable". Los fragmentos de degradación preferiblemente inducen poco o ninguna sobrecarga de órganos o células o procesos patológicos causados por dicha sobrecarga u otros efectos adversos *in vivo*. Los ejemplos de procesos de biodegradación incluyen hidrólisis enzimática y no enzimática, oxidación y reducción. Las condiciones adecuadas para la hidrólisis no enzimática de los conjugados de biodegradables proteína-polímero-fármaco (o sus componentes, por ejemplo, el soporte polimérico biodegradable y los enlazadores entre el soporte y el anticuerpo o la molécula del fármaco) descritos aquí, por ejemplo, incluyen la exposición de los conjugados de biodegradables al agua a una temperatura y un pH del compartimiento intracelular lisosómico. La biodegradación de algunos conjugados de proteína-polímero-fármaco (o sus componentes, por ejemplo, el soporte polimérico biodegradable y los enlazadores entre el portador el anticuerpo o la molécula del fármaco), también se puede mejorar

extracelularmente, por ejemplo, en regiones de pH bajo del cuerpo del animal, por ejemplo, un área inflamada, en la en cercanías de macrófagos activados u otras células que liberan factores que facilitan la degradación. En ciertas realizaciones preferidas, el tamaño efectivo del soporte polimérico a pH $\sim 7,5$ no cambia en forma detectable durante 1 a 7 días, y permanece dentro del 50% del tamaño del polímero original durante al menos varias semanas. A pH ~ 5 , por otra parte, el soporte polimérico se degrada preferiblemente en forma detectable durante 1 a 5 días, y se transforma completamente en fragmentos de bajo peso molecular dentro de un intervalo de tiempo de dos semanas a varios meses. La integridad del polímero en tales ensayos se puede medir, por ejemplo, por HPLC de exclusión por tamaño. Aunque en algunos casos se puede preferir una degradación más rápida, en general puede ser más deseable que el polímero se degrade en las células con una velocidad que no supere la velocidad de metabolización o excreción de los fragmentos poliméricos por las células. En realizaciones preferidas, los polímeros y subproductos de biodegradación del polímero son biocompatibles.

"Biodisponibilidad": El término "biodisponibilidad" se refiere a la disponibilidad sistémica (es decir, los niveles en sangre/plasma) de una cantidad dada de fármaco o compuesto administrado a un sujeto. La biodisponibilidad es un término absoluto que indica la medición tanto del tiempo (tasa) como de la cantidad total (grado) de fármaco o compuesto que alcanza la circulación general desde a partir de una forma de dosis administrada.

"Hidrofílico": El término "hidrofílico", en lo que se refiere a sustituyentes en las unidades monoméricas poliméricas, no difiere esencialmente del significado común de este término en la técnica, y denota fracciones químicas que contienen átomos ionizables, polares o polarizables, o bien, que pueden solvatarse por moléculas de agua. Por lo tanto, un *grupo hidrofílico*, tal como se utiliza aquí, se refiere a una fracción alifática, cicloalquilo, heteroalifática, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo, que cae dentro de la definición del término *hidrofílico*, como se definió anteriormente. Los ejemplos de fracciones orgánicas hidrofílicas particulares que son adecuadas incluyen, sin limitación, grupos alifáticos o heteroalifáticos que comprenden una cadena de átomos en un intervalo entre aproximadamente uno y doce átomos, hidroxilo, hidroxialquilo, amina, carboxilo, amida, éster carboxílico, tioéster, aldehído, nitrilo, isonitrilo, nitroso, hidroxilamina, mercaptoalquilo, heterociclo, carbamatos, ácidos carboxílicos y sus sales, ácidos sulfónicos y sus sales, ésteres de ácido sulfónico, ácidos fosfóricos y sus sales, ésteres de fosfato, éteres de poliglicol, poliaminas, policarboxilatos, poliésteres y poliotiósteres. En realizaciones preferidas de la presente invención, al menos una de las unidades monoméricas poliméricas incluye un grupo carboxilo (COOH), un grupo aldehído (CHO), un metilol (CH₂OH) o un glicol (por ejemplo, CHOH-CH₂OH o CH(CH₂OH)₂).

El término "hidrofílico" en lo que se refiere a los polímeros de la invención generalmente no difiere del uso de este término en la técnica, y denota polímeros que comprenden grupos funcionales hidrofílicos como se ha definido anteriormente. En una realización preferida, el polímero hidrofílico es un polímero soluble en agua. La hidrofiliidad del polímero se puede medir directamente mediante la determinación de la energía de hidratación, o se determina mediante la investigación entre dos fases líquidas, o mediante cromatografía en fases sólidas con hidrofobicidad conocida, como por ejemplo C4 o C18.

"Soporte polimérico": El término *soporte polimérico*, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un polímero o un polímero modificado, que es adecuado para unirse covalentemente a, o puede unirse covalentemente a una o más moléculas de fármaco con un enlazador designado y/o una o más PBRM con un enlazador designado.

"Condiciones fisiológicas": La expresión "condiciones fisiológicas", tal como se usa en la presente memoria, se refiere al intervalo de condiciones químicas (por ejemplo, pH, fuerza iónica) y bioquímicas (por ejemplo, concentraciones enzimáticas) que pueden encontrarse en los fluidos extracelulares de los tejidos vivos. Para la mayoría de los tejidos normales, el pH fisiológico oscila entre aproximadamente 7,0 y 7,4. El plasma sanguíneo circulante y el líquido intersticial normal representan ejemplos típicos de condiciones fisiológicas normales.

"Polisacárido", "carbohidrato" u "oligosacárido": Los términos "polisacárido", "carbohidrato" u "oligosacárido" son conocidos en la técnica y se refieren, en general, a sustancias que tienen fórmula química (CH₂O)_n, donde generalmente n₂, y sus derivados. Los carbohidratos son polihidroxialdehídos o polihidroxicetonas, o cambian a tales sustancias en simples transformaciones químicas, tales como hidrólisis, oxidación o reducción. Típicamente, los carbohidratos están presentes en forma de acetales o cetales cíclicos (tales como, glucosa o fructosa). Estas unidades cíclicas (monosacáridos) pueden estar conectadas entre sí para formar moléculas con pocas unidades de monosacáridos (oligosacáridos) o varias (polisacáridos). A menudo, los hidratos de carbono con números, tipos y posicionamiento bien definido, de unidades de monosacáridos se llaman oligosacáridos, mientras que los carbohidratos que consisten en mezclas de moléculas de cantidades y/o posicionamientos variables de unidades de monosacáridos se llaman polisacáridos. Los términos "polisacárido", "carbohidrato", y "oligosacárido", se usan aquí indistintamente. Un polisacárido puede incluir azúcares naturales (por ejemplo, glucosa, fructosa, galactosa, manosa, arabinosa, ribosa y xilosa) y/o derivados de azúcares naturales (por ejemplo, 2'-fluororribosa, 2'-desoxirribosa y hexosa).

"Molécula pequeña": Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "molécula pequeña" se refiere a moléculas, ya sean naturales o artificialmente creadas (por ejemplo, mediante síntesis química) que tienen un peso molecular relativamente bajo. Las moléculas pequeñas preferidas son biológicamente activas porque producen un efecto local o sistémico en animales, preferiblemente mamíferos, más preferiblemente seres humanos. En ciertas realizaciones

5 preferidas, la molécula pequeña es un fármaco y la molécula pequeña se denomina "molécula de fármaco" o "fármaco" o "agente terapéutico". En ciertas realizaciones, la molécula de fármaco tiene un PM menor o igual que aproximadamente 5 kDa. En otras realizaciones, la molécula de fármaco tiene un PM menor o igual que aproximadamente 1,5 kDa. En realizaciones, la molécula de fármaco se selecciona entre los alcaloides de la vinca, auristatinas, tubulisin, duocarmicinas, inhibidores de quinasa, inhibidores de MEK, inhibidores de KSP y análogos de los mismos. Preferiblemente, aunque no necesariamente, el fármaco es uno que ya ha sido considerado seguro y eficaz para su uso por una agencia u organismo gubernamental apropiado, por ejemplo, la FDA. Por ejemplo, los fármacos para uso humano enumerados por la FDA bajo 21 C.F.R. §§ 330.5, 331 a 361 y 440 a 460; Los fármacos para uso veterinario enumerados por la FDA bajo 21 C.F.R. §§ 500 a 589, se consideran todos adecuados para su uso con los presentes polímeros hidrofílicos.

10 Las clases de moléculas de fármacos que pueden usarse en la práctica de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, sustancias anticancerígenas, radionucleidos, vitaminas, sustancias contra el SIDA, antibióticos, inmunosupresores, sustancias antivirales, inhibidores enzimáticos, neurotoxinas, opioides, hipnóticos, antihistamínicos, lubricantes, tranquilizantes, anticonvulsivantes, relajantes musculares y sustancias contra el Parkinson, anti-espasmódicos y contrayentes musculares, incluyendo bloqueadores de canales, mióticos y anticolinérgicos, compuestos anti-glaucoma, compuestos antiparasitarios y/o antiprotozoarios, moduladores de las interacciones célula-matriz extracelular, incluyendo inhibidores del crecimiento celular y moléculas anti-adhesión, agentes vasodilatadores, inhibidores de la síntesis de ADN, ARN o proteínas, antihipertensivos, analgésicos, antipiréticos, agentes antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, factores angiogénicos, factores antiseoretos, agentes anticoagulantes y/o antitrombóticos, anestésicos locales, oftálmicos, prostaglandinas, antidepresivos, sustancias antipsicóticas, antieméticos, agentes formadores de imagen. Muchas moléculas grandes son también fármacos.

20 Una lista más completa, aunque no exhaustiva, de clases y fármacos específicos adecuados para uso en la presente invención se puede encontrar en "Pharmaceutical Substances: Syntheses, Patents, Applications" por Axel Kleemann y Jurgen Engel, Thieme Medical Publishing, 1999 y el "Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals", editado por Susan Budavari et al., CRC Press, 1996. En realizaciones preferidas, el fármaco utilizado en esta invención es un agente terapéutico que tiene actividad antiproliferativa (citostática y/o citotóxica) contra una célula o ruta objetivo. El fármaco puede tener un grupo químicamente reactivo tal como, por ejemplo, -COOH, amina primaria, amina secundaria -NHR, -OH, -SH, -C(O)H, -C(O)R, -C(O)NHR^{2b}, C(S)OH, -S(O)₂OR^{2b}, -P(O)₂OR^{2b}, -CN, -NC o -ONO, en donde R es una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo y R^{2b} es un hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocíclica.

25 "Derivado de fármaco" o "fármaco modificado" o similares, tal como se usa en la presente memoria, se refiere a un compuesto que comprende la molécula de fármaco destinada a ser suministrada por el conjugado de la invención y un grupo funcional capaz de unir la molécula de fármaco al soporte polimérico.

30 "Forma activa" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a una forma de un compuesto que exhibe una eficacia farmacéutica pretendida *in vivo* o *in vitro*. En particular, cuando una molécula de fármaco destinada a ser suministrada por el conjugado de la invención se libera del conjugado, la forma activa puede ser el propio fármaco o sus derivados, que exhiben las propiedades terapéuticas deseadas. La liberación del fármaco a partir del conjugado se puede lograr por escisión de un enlace biodegradable del enlazador que une al fármaco con el soporte polimérico. Los derivados del fármaco activo pueden comprender, por lo tanto, una porción del enlazador.

40 "Etiqueta diagnóstica": Tal como se utiliza en la presente memoria, el término etiqueta de diagnóstico se refiere a un átomo, grupo de átomos, fracción o grupo funcional, un nanocristal u otro elemento discreto de una composición de materia que puede detectarse *in vivo* o *ex vivo* usando métodos analíticos conocidos en la técnica. Cuando se asocia con un conjugado de la presente invención, tales etiquetas de diagnóstico permiten el control del conjugado *in vivo*. Alternativa o adicionalmente, las construcciones y composiciones que incluyen etiquetas de diagnóstico se pueden usar para controlar las funciones o estructuras biológicas. Ejemplos de etiquetas de diagnóstico incluyen, sin limitación, etiquetas que pueden usarse en procedimientos de diagnóstico médico, tales como isótopos radiactivos (radionúclidos) para gammagrafía y tomografía de emisión de positrones (PET), agentes de contraste para formación de imágenes de resonancia magnética (MRI) (por ejemplo, átomos paramagnéticos y nanocristales superparamagnéticos), agentes de contraste para tomografía computarizada y otros métodos de formación de imagen basados en rayos X, agentes para métodos de diagnóstico basados en ultrasonido (ecografía), agentes para activación de neutrones (por ejemplo, boro, gadolinio), fluoróforos para diversos procedimientos ópticos, y, en general fracciones que pueden emitir, reflejar, absorber, dispersar o bien afectar campos u ondas electromagnéticas (por ejemplo, rayos gamma, rayos X, ondas de radio, microondas, luz), partículas (por ejemplo, partículas alfa, electrones, positrones, neutrones, protones), u otras formas de radiación, por ejemplo ultrasonido.

55 "Alifático": En general, el término *alifático*, tal como se utiliza en la presente memoria, incluye tanto hidrocarburo alifático saturados e insaturados, de cadena lineal (es decir, no ramificados) o ramificados, que están opcionalmente sustituidos con uno o más grupos funcionales. Como se apreciará por un experto en la técnica, se pretende que aquí se incluya "alifático", pero no se limita a, fracciones alquilo, alqueno, alquino. Por lo tanto, tal como se usa en la presente memoria, el término "alquilo" incluye grupos alquilo lineales y ramificados. Una convención análoga se aplica a otros

términos genéricos tales como "alquenilo", "alquinilo" y similares. Además, tal como se usa en la presente memoria, los términos "alquilo", "alquenilo", "alquinilo" y similares abarcan tanto grupos sustituidos como no sustituidos. En ciertas realizaciones, tal como se usa en la presente memoria, se utiliza "alquilo inferior" para indicar aquellos grupos alquilo (sustituidos, no sustituidos, ramificados o no ramificados) que tienen aproximadamente 1-6 átomos de carbono.

5 "Alquenilo": el término alquenilo denota un grupo monovalente derivado de una fracción hidrocarbonada que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono mediante la eliminación de un único átomo de hidrógeno. Los grupos "alquenilo sustituido" están sustituidos con uno o más grupos funcionales. Los sustituyentes incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los sustituyentes mencionados a continuación, es decir, los sustituyentes citados a continuación dando como resultado la formación de un compuesto estable. Los grupos alquenilo incluyen, por ejemplo, etenilo, propenilo, butenilo, 1-metil-2-buten-1-ilo y similares.

10 "Alquinilo": el término *alquinilo* tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un grupo monovalente derivado de un hidrocarburo que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono mediante la eliminación de un único átomo de hidrógeno. Los grupos "alquenilo sustituido" están sustituidos con uno o más grupos funcionales. Los sustituyentes incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los sustituyentes mencionados a continuación, es decir, los sustituyentes citados a continuación dando como resultado la formación de un compuesto estable. Los grupos alquinilo representativos incluyen etinilo, 2-propinilo (propargilo), 1-propinilo y similares.

15 En ciertas realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo empleados en la invención contienen aproximadamente 1-20 átomos de carbono alifáticos. En algunas otras realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo empleados en la invención contienen aproximadamente 1-10 átomos de carbono alifáticos. En aún otras realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo empleados en la invención contienen aproximadamente 1-8 átomos de carbono alifáticos. En aún otras realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo empleados en la invención contienen aproximadamente 1-6 átomos de carbono alifáticos. En aún otras realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo empleados en la invención contienen aproximadamente 1-4 átomos de carbono. Por ejemplo, los grupos alifáticos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, alilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo, sec-pentilo, isopentilo, terc-pentilo, n-hexilo, sec-hexilo, fracciones y similares, que, de nuevo, pueden contar con uno o más sustituyentes. Los grupos alquenilo incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, etenilo, propenilo, butenilo, 1-metil-2-buten-1-ilo y similares. Los grupos alquinilo representativos incluyen, pero no se limitan a, etinilo, 2-propinilo (propargilo), 1-propinilo y similares.

20 "Alquilenilo", tal como se usa en el presente documento, el término *alquilenilo* por sí mismo o como parte de otro término se refiere a una cadena saturada, ramificada o lineal que tiene dos centros de radicales monovalentes derivados por la eliminación de dos átomos de hidrógeno del mismo o dos átomos de carbono diferentes de un alcano parental. Los radicales alquilenilo incluyen, pero no se limitan a, metileno, 1,2-etileno, 1,3-propilo y similares. Los alquilenilos adecuados incluyen, pero no se limitan a, metileno, etileno, propileno, butileno, pentileno, hexileno, heptileno, octileno, nonileno, decaleno y similares. El término "cicloalquilenilo" se refiere igualmente a cicloalquilo bivalente. Los radicales cicloalquilenilo incluyen, pero no se limitan a, 1,1-ciclopentileno, 1,2-ciclopentileno, 1,1-ciclobutileno, 1,3-ciclobutileno, etc.

25 "Heteroalifático": como se usa en la presente memoria, el término *heteroalifático* se refiere a fracciones alifáticas en las que uno o más átomos de carbono en la cadena principal han sido sustituidos con un heteroátomo. De este modo, un grupo heteroalifático se refiere a una cadena alifática que contiene uno o más átomos de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio, por ejemplo, en lugar de átomos de carbono. Las fracciones heteroalifáticas pueden ser ramificadas o lineales sin ramificar. En ciertas realizaciones, las fracciones heteroalifáticas están sustituidas ("heteroalifáticas sustituidas") mediante el reemplazo independiente de uno o más de los átomos de hidrógeno de las mismas con una o más fracciones incluyendo, pero sin limitarse a, alifática; heteroalifática; cicloalquilo; heterocicloalquilo; arilo; heteroarilo; alquilarilo; alquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; - o -GR^{G1} en donde G es -O-, -S-, -NR^{G2}-, -C(=O)-, -S(=O)-, -SO₂-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^{G2}-, -OC(=O)-, -NR^{G2}C(=O)-, -OC(=O)O-, -OC(=O)NR^{G2}-, -NR^{G2}C(=O)O-, -NR^{G2}C(=O)NR^{G2}-, -C(=S)-, -C(=S)S-, -SC(=S)-, -SC(=S)S-, -C(=NR^{G2})-, -C(=NR^{G2})O-, -C(=NR^{G2})NR^{G3}-, -OC(=NR^{G2})-, -NR^{G2}C(=NR^{G3})-, -NR^{G2}SO₂-, -NR^{G2}SO₂NR^{G3}-, o -SO₂NR^{G2}-, donde cada aparición de R^{G1}, R^{G2} y R^{G3} incluye independientemente, pero no se limita a, hidrógeno, halógeno, o una fracción alifática, heteroalifática, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo opcionalmente sustituida. Ejemplos adicionales de sustituyentes generalmente aplicables se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en la presente memoria.

30 "Cicloalquilo": tal como se utiliza en la presente memoria, el término *cicloalquilo* se refiere a un sistema de un solo anillo o de múltiples anillos de hidrocarburo no aromático saturado o insaturado que tiene de 3 a 30 átomos de carbono (por ejemplo, C₃-C₁₀). Los cicloalquilos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo, cicloheptinilo, adamantilo y similares.

"Heterocicloalquilo", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a un sistema de anillo monocíclico de 3-8 miembros, bicíclico de 8-12 miembros o tricíclico de 11-19 miembros, no aromático, saturado o insaturado que tiene uno

o más heteroátomos (tales como O, N, S, O Se), a menos que se especifique lo contrario. En ciertas realizaciones, el término "heterocicloalquilo" se refiere a un anillo no aromático de 5, 6, 7 u 8 miembros o un grupo policíclico, incluyendo, pero sin limitarse a, un grupo bicíclico o tricíclico que comprende anillos de seis miembros fusionados que tienen entre uno y tres heteroátomos seleccionados independientemente de oxígeno, azufre y nitrógeno, en donde (i) cada anillo de 5 miembros tiene 0 a 2 enlaces dobles y cada anillo de 6 miembros tiene 0 a 2 enlaces dobles, (ii) los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, (iii) el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado, y (iv) cualquiera de los anillos heterocicloalquilo anteriores pueden fusionarse a un anillo arilo o heteroarilo. Ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen, pero sin limitación, piperidinilo, piperazinilo, pirrolidinilo, dioxanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, isoindolinilo, indolinilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, triazolidinilo, tetrahidrofuranilo, oxiranilo, azetidinilo, oxetanilo, tietanilo, 2,3,6-tetrahidropiridinilo, tetrahidro-2H-piranilo, 3,6-dihidro-2H-piranilo, morfolinilo y similares.

"Arilo": como se usa en la presente memoria, se refiere a grupos con aromaticidad, que incluyen sistemas "conjugados" o multicíclicos con al menos un anillo aromático y que no contienen ningún heteroátomo en la estructura del anillo. Los ejemplos incluyen fenilo, bencilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftalenilo, etc.

"Heteroarilo": como se usa en la presente memoria, se refiere a grupos arilo, como se definen más arriba, excepto que tienen de uno a cuatro heteroátomos en la estructura del anillo, y también pueden denominarse "heterociclos de arilo" o "heteroaromáticos". Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "heteroarilo" pretende incluir un anillo heterocíclico aromático monocíclico estable de 5, 6 o 7 miembros, o bicíclico de 7, 8, 9, 10, 11 o 12 miembros que consiste en átomos de carbono y uno o más heteroátomos, por ejemplo, 1 o 1-2 o 1-3 o 1-4 o 1-5 o 1-6 heteroátomos, o, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 heteroátomos, independientemente seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. El átomo de nitrógeno puede estar sustituido o no sustituido (es decir, N o NR en donde R es H u otros sustituyentes, como se definió). Los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados (es decir, $N \rightarrow O$ y $S(O)_p$, donde $p = 1$ o 2). Debe tenerse en cuenta que el número total de átomos de S y O en el heterociclo aromático no es mayor que 1. Ejemplos de heteroarilo incluyen piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, quinolinilo, isoquinolinilo, tetrazolilo, piridazinilo, quinazolinilo, dihidroquinazolilo y tetrahidroquinazolilo y similares.

Además, los términos "arilo" y "heteroarilo" incluyen grupos arilo y heteroarilo multicíclicos, por ejemplo, tricíclicos, bicíclicos, por ejemplo, naftaleno, benzoxazol, benzodioxazol, benzotiazol, benzoimidazol, benzotiofeno, metilenodioxifenilo, quinolina, isoquinolina, naftiridina, indol, benzofurano, purina, benzofurano, desazapurina, indolizina.

En el caso de anillos aromáticos multicíclicos, sólo uno de los anillos necesita ser aromático (por ejemplo, 2,3-dihidroindol), aunque todos los anillos pueden ser aromáticos (por ejemplo, quinolina). El segundo anillo también puede estar fusionado o puentado.

Se entiende que "carbociclo" o "fracción carbocíclica" tal como se usa en la presente memoria incluye cualquier anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico estable que tenga el número especificado de carbonos, cualquiera de los cuales puede ser saturado, insaturado o aromático. El carbociclo incluye cicloalquilo y arilo. Por ejemplo, un carbociclo C_3 - C_{14} pretende incluir un anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico que tiene 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 átomos de carbono. Ejemplos de carbociclos incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclobutenilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, cicloheptenilo, cicloheptilo, cicloheptenilo, ciclooctilo, ciclooctenilo, ciclooctadienilo, fluorenilo, fenilo, naftilo, indanilo, adamantilo y tetrahidronaftilo. Los anillos puentados también se incluyen en la definición de carbociclo, incluyendo, por ejemplo, [3.3.0]bicyclooctano, [4.3.0]bicyclononano, [4.4.0]bicyclodecano y [2.2.2]bicyclooctano. Un anillo puentado se produce cuando uno o más átomos de carbono unen dos átomos de carbono no adyacentes. En una realización, los anillos de puente son uno o dos átomos de carbono. Se observa que un puente convierte siempre un anillo monocíclico en un anillo tricíclico. Cuando un anillo está puentado, los sustituyentes mencionados para el anillo también pueden estar presentes en el puente. También se incluyen anillos fusionados (por ejemplo, naftilo, tetrahidronaftilo) y espiro.

"Heterociclo" o "fracción heterocíclica" tal como se utiliza en la presente memoria, incluye cualquier estructura de anillo (saturada, insaturada o aromática) que contiene al menos un heteroátomo de anillo (por ejemplo, N, O o S). Heterociclo incluye heterocicloalquilo y heteroarilo. Ejemplos de heterociclos incluyen, pero no se limitan a, morfolina, pirrolidina, tetrahidrotiofeno, piperidina, piperazina y tetrahidrofurano.

Ejemplos de grupos heterocíclicos incluyen, pero no se limitan a, acridinilo, azocinilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotiofuranilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, benzoxazolinilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, benzotetrazolilo, benzisoxazolilo, benzisotiazolilo, bencimidazolinilo, carbazolilo, 4aH-carbazolilo, carbolinilo, cromanilo, cromenilo, cinolinilo, decahidroquinolinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, dihidrofuro[2,3-b]tetrahidrofurano, furanilo, furazanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, imidazolilo, 1H-indazolilo, indolenilo, indolinilo, indolizininilo, indolilo, isoindolilo, isoindolinilo, isoindolilo, isoquinolinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, metilenodioxifenilo, morfolinilo, naftiridinilo, octahidroisoquinolinilo, oxadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazol-5-(4H)-ona, oxazolidinilo, oxazolilo, oxindolilo, pirimidinilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxatinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, piperazinilo, piperidinilo, piperodinilo, 4-piperidonilo, piperonilo, pteridinilo, purinilo, piranilo,

5 pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridooxazol, piridoimidazol, piridotiazol, piridinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, 2H-pirrolilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, 4H-quinolizínilo, quinoxalinilo, quinuclidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrazolilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,2,5-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, tiantrenilo, tiazolilo, tienilo, tienoazolilo, tienooxazolilo, tienoimidazolilo, tiofenilo, triazinilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,5-triazolilo, 1,3,4-triazolilo y xantenilo. El heterociclo de múltiples anillos puede incluir anillos fusionados, puenteados o espiro.

10 El anillo de cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo (o el grupo carbocíclico o heterocíclico) puede estar sustituido en una o más posiciones del anillo (por ejemplo, el carbono que forma el anillo o un heteroátomo tal como N) con los sustituyentes descritos anteriormente, por ejemplo, alifático; heteroalifático; cicloalquilo; heterocicloalquilo; arilo; heteroarilo; alquilarilo; alquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; ariltio; heteroalquiltio; heteroariltio; F; Cl; Br; I; -NO₂; -CN; -CF₃; -CH₂CF₃; -CHCl₂; -CH₂OH; -CH₂CH₂OH; -CH₂NH₂; -CH₂SO₂CH₃; - o -GR^{G1} en donde G es -O-, -S-, -NR^{G2}-, -C(=O)-, -S(=O)-, -SO₂-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^{G2}-, -OC(=O)-, -NR^{G2}C(=O)-, -OC(=O)O-, -OC(=O)NR^{G2}-, -NR^{G2}C(=O)O-, -NR^{G2}C(=O)NR^{G2}-, -C(=S)-, -C(=S)S-, -SC(=S)-, -SC(=S)S-, -C(=NR^{G2})-, -C(=NR^{G2})O-, -C(=NR^{G2})NR^{G3}-, -OC(=NR^{G2})-, -NR^{G2}C(=NR^{G3})-, -NR^{G2}SO₂-, -NR^{G2}SO₂NR^{G3}-, o -SO₂NR^{G2}-, donde cada aparición de R^{G1}, R^{G2} y R^{G3} incluye independientemente, pero no se limita a, hidrógeno, halógeno, o una fracción alifática, heteroalifática, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo opcionalmente sustituida. Los grupos arilo y heteroarilo, pueden estar también fusionados o puenteados con anillos cicloalquilo o heterocíclicos, que no son aromáticos para formar un sistema multicíclico (por ejemplo, tetralina, metilendioxfenilo).

20 "Alcoxi" (o "alquilo"): como se usa en la presente memoria, el término *alcoxi* (o *alquilo*) se refiere a un grupo alquilo, como se definió anteriormente, unido a la fracción molecular principal a través de un átomo de oxígeno ("alcoxi"). En ciertas realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertas otras realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-10 átomos de carbono alifáticos. En aún otras realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-8 átomos de carbono alifáticos. En aún otras realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-6 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-4 átomos de carbono alifáticos. Ejemplos de grupos alcoxi incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, terc-butoxi, neopentoxi y n-hexoxi.

25 "Arliloxi": como se usa en la presente memoria, el término *ariloxi* se refiere a un grupo arilo, como se define aquí, unido a la fracción molecular principal a través de un átomo de oxígeno. Ejemplos de grupos ariloxi incluyen, pero no se limitan a, fenoxi y naftiloxi.

30 "Heteroariloxi": como se usa en la presente memoria, el término *heteroariloxi* se refiere a un grupo heteroarilo, como se define aquí, unido a la fracción molecular principal a través de un átomo de oxígeno. Ejemplos de grupos heteroariloxi incluyen, pero no se limitan a, quinoliloxi e isoquinolizíniloxi.

35 "Amina": el término *amina* se refiere a un grupo que tiene la estructura -N(R)₂ en la que cada aparición de R es independientemente hidrógeno, o una fracción alifática o heteroalifática, o los grupos R, tomados juntos, pueden formar un heterocíclico. En ciertos casos, un grupo amina puede estar cargado (protonado) o cuaternizado, por ejemplo, -HN⁺(R)₂ o -N⁺(R)₃.

40 "Alquilamino": como se usa en la presente memoria, el término *alquilamino* se refiere a un grupo que tiene la estructura -NHR' en la que R' es alquilo, como se define aquí. El término "aminoalquilo" se refiere a un grupo que tiene la estructura NH₂R'-, en la que R' es alquilo, como se define aquí. En ciertas realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-20 átomos de carbono alifáticos. En ciertas otras realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-10 átomos de carbono alifáticos. En aún otras realizaciones, los grupos alquilo, alquenilo y alquilnilo empleados en la invención contienen aproximadamente 1-8 átomos de carbono alifáticos. En aún otras realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-6 átomos de carbono alifáticos. En otras realizaciones, el grupo alquilo contiene aproximadamente 1-4 átomos de carbono alifáticos. Ejemplos de alquilamino incluyen, pero no se limitan a, metilamino, etilamino, iso-propilamino y similares.

45 "Alquiltio" (o "tioalquilo") significa un grupo alquilo como se define aquí con el número indicado de átomos de carbono unidos a través de un átomo de azufre. Alquiltio C₁₋₆, pretende incluir grupos alquiltio C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ y C₆. Alquiltio C₁₋₈, pretende incluir grupos alquiltio C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇ y C₈. Los grupos tioalquilo pueden estar sustituidos con grupos tales como alquilo, alquenilo, alquilnilo, halógeno, hidroxilo, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alcocarboniloxi, ariloxycarboniloxi, carboxilato, carboxiácido, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcocarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcóxilo, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino, arilamino, diarilamino y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrido, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfínilo, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, alquilamino, ciano, azido, heterocicliil alquilarilo, o fracciones arilo o heteroarilo.

55 "Tiocarbonilo" o "tiocarboxilo" incluye compuestos y fracciones que contienen un carbono unido con un doble enlace a un átomo de azufre.

- "Tioéter" incluye fracciones que contienen un átomo de azufre unido a dos átomos de carbono o heteroátomos. Ejemplos de tioéteres incluyen, pero no se limitan a alquiltioalquilos, alquiltioalquenilos y alquiltioalquinilos. El término "alquiltioalquilos" incluye fracciones con un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo unido a un átomo de azufre que está unido a un grupo alquilo. De forma similar, el término "alquiltioalquenilos" se refiere a fracciones en las que un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo está unido a un átomo de azufre que está unido covalentemente a un grupo alquenilo; y "alquiltioalquinilos" se refiere a fracciones en las que un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo está unido a un átomo de azufre que está unido covalentemente a un grupo alquinilo.
- "Arlitio" (o "tioarilo") significa un grupo arilo como se define aquí con el número indicado de átomos de carbono unidos a través de un átomo de azufre.
- "Ácido carboxílico" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un compuesto que comprende un grupo de fórmula $\text{-CO}_2\text{H}$.
- "Ácido dicarboxílico" se refiere a un compuesto que comprende dos grupos de fórmula $\text{-CO}_2\text{H}$.
- "Halo, haluro y halógeno": Los términos halo, haluro y halógeno, tal como se usan en la presente memoria, se refieren a un átomo seleccionado entre flúor, cloro, bromo y yodo.
- "Metilol": El término *metilol*, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo alcohol de la estructura $\text{-CH}_2\text{OH}$.
- "Hidroxialquilo": Como se usa en el presente documento, el término *hidroxialquilo* se refiere a un grupo alquilo, como se definió anteriormente, que porta al menos un grupo OH.
- "Mercaptoalquilo": El término *mercaptoalquilo* como se usa aquí se refiere a un grupo alquilo, como se definió anteriormente, que porta al menos un grupo SH.
- "Acilo" incluye fracciones que contienen el radical acilo (-C(O)-) o un grupo carbonilo. "Acilo sustituido" incluye grupos acilo en los que uno o más de los átomos de hidrógeno están sustituidos por, por ejemplo, grupos alquilo, grupos alquinilo, halógeno, hidroxilo, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alcocicarboniloxi, ariloxicarboniloxi, carboxilato, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcocicarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, alquiltiocarbonilo, alcóxilo, fosfato, fosfonato, fosfinato, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino, arilamino, diarilamino y alquilarilamino), acilamino (incluyendo alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoilo y ureido), amidino, imino, sulfhidrido, alquiltio, arilitio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfino, sulfonato, sulfamoilo, sulfonamido, nitro, trifluorometilo, ciano, azido, heterocíclico, alquilarilo o una fracción arilo o heteroarilo.
- "Hidrocarburo": El término *hidrocarburo*, como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier grupo químico que comprende hidrógeno y carbono. El hidrocarburo puede estar sustituido o no sustituido. El hidrocarburo puede ser insaturado, saturado, ramificado, no ramificado, cíclico, policíclico o heterocíclico. Los hidrocarburos ilustrativos incluyen, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, ciclopropilo, alilo, vinilo, n-butilo, terc-butilo, etinilo, ciclohexilo, metoxi, dietilamino, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, tioalquilo y similares. Como sería conocido por un experto en esta técnica, todas las valencias deben ser satisfechas al realizar cualquier sustitución.
- "Alquilarilo" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un grupo arilo sustituido con uno o más grupos alquilo (por ejemplo, metilfenilo).
- "Alquilarilamino", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a $\text{-NR}^{\text{G4}}\text{R}^{\text{G5}}$, en donde R^{G4} es alquilo, como se define aquí, y R^{G5} es un arilo, como se define aquí, o al menos uno de R^{G4} y R^{G5} es un alquilarilo como se define aquí.
- "Sustituido": El término *sustituido*, ya sea precedido por el término "opcionalmente" o no, y *sustituyente*, como se usa aquí, se refiere a la sustitución de radicales hidrógeno en una estructura dada con el radical de un sustituyente especificado. 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 igual o diferente en cada posición. Como se usa aquí, el término "sustituido" se contempla para incluir todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descritos aquí que satisfagan las valencias de los heteroátomos. Ejemplos de sustituyentes incluyen, pero no se limitan a, alifático; heteroalifático; cicloalquilo; heterocicloalquilo; arilo; heteroarilo; alquilarilo; alquilheteroarilo; alcoxi; ariloxi; heteroalcoxi; heteroariloxi; alquiltio; arilitio; heteroalquiltio; heteroarilitio; F; Cl; Br; I; -NO_2 ; -CN ; -CF_3 ; $\text{-CH}_2\text{CF}_3$; -CHCl_2 ; $\text{-CH}_2\text{OH}$; $\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$; $\text{-CH}_2\text{NH}_2$; $\text{-CH}_2\text{SO}_2\text{CH}_3$; - o -GR^{G1} en donde G es -O-, -S-, $\text{-NR}^{\text{G2-}}$, -C(=O)- , -S(=O)- , $\text{-SO}_2\text{-}$, -C(=O)O- , $\text{-C(=O)NR}^{\text{G2-}}$, -OC(=O)- , $\text{-NR}^{\text{G2}}\text{C(=O)-}$, -OC(=O)O- , $\text{-OC(=O)NR}^{\text{G2-}}$, $\text{-NR}^{\text{G2}}\text{C(=O)O-}$, $\text{-NR}^{\text{G2}}\text{C(=O)NR}^{\text{G2-}}$, -C(=S)- , -C(=S)S- , -SC(=S)- , -SC(=S)S- , $\text{-C(=NR}^{\text{G2-}}\text{)-}$, $\text{-C(=NR}^{\text{G2}}\text{)O-}$, $\text{-C(=NR}^{\text{G2}}\text{)NR}^{\text{G3-}}$, $\text{-OC(=NR}^{\text{G2-}}\text{)-}$, $\text{-NR}^{\text{G2}}\text{C(=NR}^{\text{G3-}}\text{)-}$, -

$\text{NR}^{\text{G}2}\text{SO}_2^-$, $-\text{NR}^{\text{G}2}\text{SO}_2\text{NR}^{\text{G}3}-$, o $-\text{SO}_2\text{NR}^{\text{G}2}-$, donde cada aparición de $\text{R}^{\text{G}1}$, $\text{R}^{\text{G}2}$ y $\text{R}^{\text{G}3}$ incluye independientemente, pero no se limita a, hidrógeno, halógeno, o una fracción alifática, heteroalifática, cicloalquilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, alquilarilo o alquilheteroarilo opcionalmente sustituida. Ejemplos adicionales de sustituyentes generalmente aplicables se ilustran mediante las realizaciones específicas mostradas en los Ejemplos que se describen en la presente memoria.

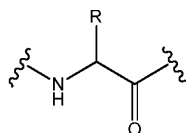
5 Los siguientes son términos más generales utilizados a lo largo de la presente solicitud:

10 "Animal": El término *animal*, como se usa en la presente memoria, se refiere a seres humanos, así como a animales no humanos, en cualquier etapa de desarrollo, incluyendo, por ejemplo, mamíferos, aves, reptiles, anfibios, peces, gusanos y células individuales. Los cultivos celulares y las muestras de tejidos vivos se consideran como pluralidad de animales. Preferiblemente, el animal no humano es un mamífero (por ejemplo, un roedor, un ratón, una rata, un conejo, un mono, un perro, un gato, un primate o un cerdo). Un animal puede ser un animal transgénico o un clon humano. El término "sujeto" abarca animales.

15 "Cantidad eficaz": En general, como se refiere a un agente activo o dispositivo de administración de fármaco, el término "*cantidad eficaz*" se refiere a la cantidad necesaria para obtener la respuesta biológica deseada. Como apreciarán los expertos en la técnica, la cantidad eficaz de un agente o dispositivo puede variar dependiendo de factores tales como el punto final biológico deseado, el agente que se va a suministrar, la composición de la matriz de encapsulación, el tejido objetivo, etc. Por ejemplo, la cantidad eficaz de micropartículas que contienen un antígeno que se va a administrar para inmunizar a un individuo es la cantidad que da como resultado una respuesta inmune suficiente para prevenir la infección con un organismo que tiene el antígeno administrado.

20 "Aminoácido natural", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a cualquiera de los L-aminoácidos comunes presentes de forma natural en proteínas naturales: glicina (Gly), alanina (Ala), valina (Val), leucina (Leu), Isoleucina (Ile), lisina (Lys), arginina (Arg), histidina (His), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr), triptófano (Trp), Ácido aspártico (Asp), ácido glutámico (Glu), asparagina (Asn), glutamina (Gln), cisteína (Cys) y metionina (Met).

25 "Aminoácido no natural", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a cualquier aminoácido que no sea un aminoácido natural. Esto incluye, por ejemplo, aminoácidos que comprenden residuos α -, β -, ω -, D-, L-amino-acilo. Más generalmente, el aminoácido no natural comprende un residuo de la fórmula general



30 en donde la cadena lateral R es distinta de las cadenas laterales de aminoácidos que se encuentran en la naturaleza. Ejemplos de aminoácidos no naturales incluyen, pero sin limitación, sarcosina (N-metilglicina), citrulina (cit), homocitrulina, β -ureidoalanina, tiocitrulina, hidroxiprolina, alotreonina, ácido piperídico (homoprolina), ácido α -aminoisobutírico, terc-butilglicina, terc-butilalanina, alo-isoleucina, norleucina, α -metil-leucina, ciclohexilglicina, β -ciclohexilalanina, β -ciclopentilalanina, α -metilprolina, fenilglicina, α -metilfenilalanina y homofenilalanina.

"Amino acilo": Más generalmente, el término *amino acilo*, tal como se utiliza en la presente memoria, abarca aminoácidos naturales y aminoácidos no naturales.

35 "Poliamida": se refiere a homopolímeros o heteropolímeros de aminoácidos naturales y aminoácidos no naturales. Los homopolímeros ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, polilisina, poliarginina, ácido poli- γ -glutámico y similares. Los heteropolímeros ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, polímeros que comprenden fragmentos de péptidos seleccionados entre peptidasas, lisozimas, metaloproteinasas y similares.

"PHF" se refiere a poli-(1-hidroximetiletileno hidroximetil-formal).

40 Tal como se usa en la presente memoria, los términos "unidad polimérica", "unidad monomérica", "monómero", "unidad de monómero", "unidad" se refieren todos a una unidad estructural repetible en un polímero.

45 La presente invención pretende incluir todos los isótopos de átomos presentes en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números de masa. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio. Los isótopos de carbono incluyen C-13 y C-14.

La presente invención pretende incluir todos los isómeros del compuesto, que se refiere a, e incluye, isómeros ópticos e isómeros tautómeros, donde los isómeros ópticos incluyen enantiómeros y diastereómeros, isómeros quirales e

isómeros no quirales, y los isómeros ópticos incluyen isómeros ópticos aislados, así como mezclas de isómeros ópticos incluyendo mezclas racémicas y no racémicas; donde un isómero puede estar en forma aislada o en una mezcla con uno o más isómeros.

Soportes poliméricos

5 En ciertos ejemplos de realizaciones, los conjugados de la invención encuentran uso en aplicaciones biomédicas, tales como suministro de fármacos e ingeniería de tejidos, y el soporte es biocompatible y biodegradable. En ciertas realizaciones, el soporte es un polímero soluble, nanopartícula, gel, liposoma, micela, sutura, implante, et. En ciertas realizaciones, el término "polímero soluble" abarca un polímero biocompatible biodegradable tal como un polial (por ejemplo, poliacetal o policetal hidrofílico). En ciertas otras realizaciones, el soporte es un polímero totalmente sintético, semisintético o de origen natural. En ciertas otras realizaciones, el soporte es hidrofílico.

10 En ciertos ejemplos de realizaciones, los soportes usados en la presente invención son polialos biocompatibles biodegradables que comprenden al menos un enlace hidrolizable en cada unidad de monómero colocada dentro de la cadena principal. Esto asegura que el proceso de degradación (mediante hidrólisis/escisión de las unidades de monómero) dará como resultado la fragmentación del conjugado de polímero hasta los componentes monoméricos (es decir, degradación) y confiere a los conjugados de poliméricos de la invención sus propiedades biodegradables. Las propiedades (por ejemplo, solubilidad, bioadhesividad e hidrofiliidad) de conjugados de polímero biocompatibles biodegradables pueden modificarse mediante la subsiguiente sustitución de grupos hidrofílicos o hidrófobos adicionales. Ejemplos de polímeros biocompatibles biodegradables adecuados para la práctica de la invención pueden encontrarse, entre otros, en las patentes estadounidenses Nos. 5.811.510; 5.863.990; 5.958.398; 7.838.619 y 7.790.150; y la publicación estadounidense No. 2006/0058512; se puede encontrar orientación sobre la importancia, preparación y aplicaciones de este tipo de polímeros en los documentos citados anteriormente. En ciertas realizaciones, se anticipa que la presente invención será particularmente útil en combinación con los documentos de patente mencionados anteriormente, así como con las patentes estadounidenses Nos. 5.582.172 y 6.822.086.

25 Los conjugados de esta invención son hidrofílicos, hidrolizables y comprenden moléculas de fármaco (por ejemplo, alcaloides o derivados de la vinca, compuestos o derivados de camptotecina no naturales, auristatinas, tubulisin, duocarmicinas, quinasas PI3, inhibidores de MEK, inhibidores de KSP y análogos de los mismos) y anticuerpos (por ejemplo, Trastuzumab, Cetuximab, Rituximab, Bevacizumab, Epratuzumab, Veltuzumab, Labetuzumab) o péptidos (péptidos dirigidos al receptor LHRH, péptido EC-1) unidos covalentemente al soporte polimérico por medio de enlaces que contienen uno o más enlaces biodegradables. Por lo tanto, en ciertos ejemplos de realizaciones, los soportes adecuados para poner en práctica la presente invención son polialos que tienen al menos un átomo de oxígeno acetal/cetal en cada unidad monomérica situada dentro de la cadena principal. Como se discutió anteriormente, esto asegura que el proceso de degradación (a través de hidrólisis/escisión de los grupos acetal/cetal del polímero) dará como resultado la fragmentación del conjugado polial hasta componentes de bajo peso molecular (es decir, degradación).

35 En ciertas realizaciones, los soportes poliméricos biocompatibles biodegradables, utilizados para la preparación de conjugados de poliméricos de la invención, son polisacáridos, glicopolisacáridos y polímeros sintéticos de origen en un poliglicósido, poliacetal, poliamida, poliéter y poliéster y productos de su oxidación, fabricación, modificación, entrecruzamiento y conjugación.

En ciertas otras realizaciones, el soporte es un polímero hidrofílico biodegradable seleccionado del grupo que consiste en carbohidratos, glicopolisacáridos, glicolípidos, glicoconjugados, poliacetales, policetales y derivados de los mismos.

40 En ciertos ejemplos de realizaciones, el soporte es un homopolisacárido biocompatible biodegradable lineal y/o ramificado de origen natural seleccionado del grupo que consiste en celulosa, amilosa, dextrano, levano, fucoidano, carragenano, inulina, pectina, amilopectina, glicógeno y lichenano.

45 En ciertas otras formas de realización ejemplares, el soporte es un heteropolisacárido biocompatible biodegradable, lineal y ramificado, de origen naturalmente, seleccionado del grupo que consiste en agarosa, hialuronano, condroitinsulfato, sulfato de dermatano, sulfato de queratano, ácido alginico y heparina.

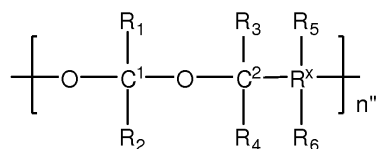
Aún en otros ejemplos de realizaciones, el soporte polimérico comprende un copolímero de un poliacetal/policetal y un polímero hidrofílico seleccionado del grupo que consiste en poliacrilatos, polímeros de polivinilo, poliésteres, poliortoésteres, poliamidas, polipéptidos y derivados de los mismos.

50 En otra realización más, el soporte polimérico es dextrina que se produce por hidrólisis de un almidón obtenido a partir de diversos productos naturales tales como, por ejemplo, trigo, arroz, maíz y tapioca. Dependiendo de la estructura del material de partida de almidón, cada dextrina comprende una distribución única de enlaces α -1,4 y enlaces α -1,6. Dado que la tasa de biodegradabilidad de los enlaces α -1,6 es típicamente menor que la de los enlaces α -1,4, preferiblemente el porcentaje de enlaces α -1,6 es menor al 10% y más preferiblemente menor al 5%. En una realización, el peso molecular de la dextrina está en el intervalo de aproximadamente 1 kDa a aproximadamente 200 kDa, más

preferiblemente de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 55 kDa.

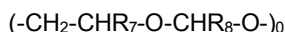
En ciertas realizaciones, el soporte comprende polisacáridos activados por oxidación selectiva de dioles vecinos cíclicos de 1,2-, 1,4-, 1,6- y 2,6-piranósidos y 1,2-, 1, 5-, 1,6-furanósidos, o por oxidación de 6-hidroxi y 5,6-diol laterales que contienen polisacáridos antes de la conjugación con moléculas de fármaco o PBRM.

- 5 En aún otras realizaciones, el soporte polimérico comprende un poliacetal biocompatible biodegradable en donde al menos un subconjunto de las unidades estructurales de repetición de poliacetal tienen la siguiente estructura química:



- 10 en la que para cada aparición de la estructura entre paréntesis n, uno de R₁ y R₂ es hidrógeno y el otro es un grupo biocompatible e incluye un átomo de carbono unido covalentemente a C¹; R^x es un átomo de carbono unido covalentemente a C²; n'' es un número entero; cada aparición de R₃, R₄, R₅ y R₆ es un grupo biocompatible y es independientemente hidrógeno o una fracción orgánica; y para cada aparición de la estructura entre paréntesis n, al menos uno de R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ y R₆ comprende un grupo funcional adecuado para el acoplamiento. En ciertas realizaciones, el grupo funcional es una fracción hidroxilo.

- 15 En una realización, el soporte polimérico comprende polímeros biocompatibles hidrofílicos biodegradables activados que comprenden entre 0,1% y 100% de fracciones de poliacetales cuya estructura principal está representada por la siguiente estructura química:

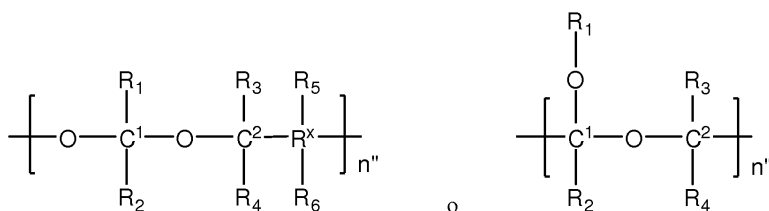


en donde:

- 20 R₇ y R₈ son independientemente hidrógeno, hidroxilo, hidroxialquilo (por ejemplo, -CH₂OH, -CH(OH)-CH₂OH), -CHO, -CH(OH)-CHO o -carbonilo; y

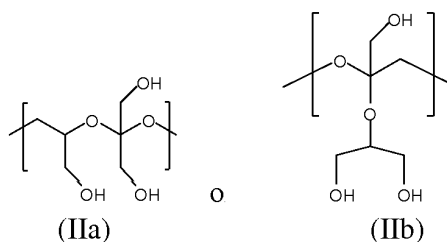
o es un número entero de 20 a 2.000.

En aún otras realizaciones, el soporte polimérico comprende un policetal biocompatible biodegradable en donde al menos un subconjunto de las unidades estructurales repetibles policetales tiene la siguiente estructura química:



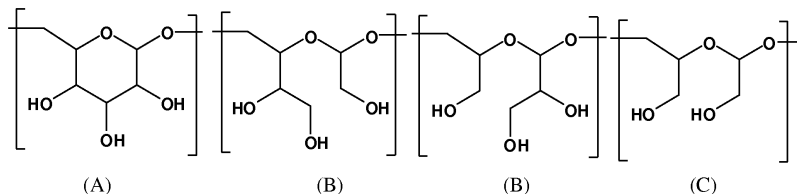
- 25 en la que cada aparición de R₁ y R₂ es un grupo biocompatible y R^x, R₃, R₄, R₅, R₆ y son como se definen aquí.

En ciertas realizaciones, las unidades de cetal son monómeros de Fórmula (IIa) o (IIb):



Los polímeros policetales biodegradables y biocompatibles y sus métodos de fabricación han sido descrito en las patentes estadounidenses Nos. 5.811.510, 7.790.150 y 7.838.619.

En una realización, el soporte polimérico puede obtenerse a partir de dextrano parcialmente oxidado ($\beta 1 \rightarrow 6$)-D-glucosa) seguido de reducción. En esta realización, el polímero comprende una mezcla aleatoria de dextrano no modificado (A), de unidades de dextrano acetal parcialmente oxidadas (B) y unidades de dextrano acetal (C) exhaustivamente oxidadas de las estructuras siguientes:

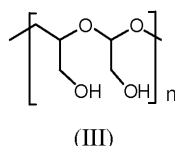


En otra realización, el soporte polimérico comprende unidades acetales no modificadas, es decir, segmentos de poliacetales. En algunas realizaciones, los poliacetales pueden derivarse de dextrano oxidado exhaustivamente seguido de reducción. Estos polímeros han sido descritos en la patente estadounidense No. 5.811.510 en la columna 2, línea 65 hasta la columna 8, línea 55 y su síntesis en la columna 10, línea 45 hasta la columna 11, línea 14. En una realización, el polímero poliacetal no modificado es un polímero poli(hidroximetil-etileno hidroximetil formal) (PHF).

Además de los polímeros poli(hidroximetil-etileno hidroximetil formal), la cadena principal del soporte polimérico también puede comprender copolímeros de bloques de poli(hidroximetil-etileno hidroximetil formal) y otros monómeros o polímeros de acetal o no acetal. Por ejemplo, los polímeros de polietilenglicol son útiles como un agente oculto en la cadena principal del polímero porque pueden disminuir las interacciones entre las cadenas laterales del polímero de los grupos funcionales añadidos. Tales grupos también pueden ser útiles para limitar interacciones tales como entre factores de suero y el polímero modificado. Otros monómeros del agente oculto para su inclusión en la cadena principal del polímero incluyen, por ejemplo, etilenimina, ácido metacrílico, acrilamida, ácido glutámico y combinaciones de los mismos.

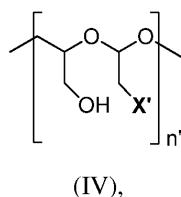
Las unidades de acetal o cetal están presentes en el polímero modificado en una cantidad eficaz para promover la biocompatibilidad. La unidad acetal o cetal no modificada se puede describir como un "agente oculto" que proporciona biocompatibilidad y solubilidad a los polímeros modificados. Además, la conjugación con un polímero de poliacetal o policetal puede modificar la susceptibilidad al metabolismo y la degradación de las fracciones unidas a él e influir en la biodistribución, eliminación y degradación.

Las unidades acetales no modificadas son monómeros de Fórmula (III):



La fracción molar, n, de unidades de poliacetal no modificadas es la fracción molar disponible para promover la biocompatibilidad, solubilidad y el aumento de la semivida, con base en el número total de unidades de polímero en el polímero modificado. La fracción molar n puede ser la fracción mínima de unidades acetal monoméricas no modificadas necesarias para proporcionar biocompatibilidad, solubilidad, estabilidad, o una semivida particular, o puede ser una fracción más grande. El grado más deseable de citotoxicidad es sustancialmente ninguno, es decir, el polímero modificado es sustancialmente inerte para el sujeto. Sin embargo, tal como se entiende por los expertos en la técnica, puede tolerarse cierto grado de citotoxicidad dependiendo de la gravedad de la enfermedad o síntoma que se esté tratando, de la eficacia del tratamiento, del tipo y grado de respuesta inmunitaria, y consideraciones similares.

En una realización, la cadena principal polimérica modificada comprende unidades de Fórmula (IV):



en la que X' indica el sustituyente para el grupo hidroxilo de la cadena principal del polímero. Como se muestra en la Fórmula (IV) y en las otras fórmulas descritas en la presente memoria, cada unidad poliacetal tiene un único grupo hidroxilo unido a la fracción de glicerol de la unidad y un grupo X' (u otro sustituyente tal como -L^D-D) unido a la fracción

5 de glicolaldehído de la unidad. Esto es sólo por conveniencia y debe entenderse que el polímero que tiene unidades de Fórmula (IV) y otras fórmulas descritas en la presente memoria puede contener una distribución aleatoria de unidades que tienen un grupo X' (u otro sustituyente tal como -L^D-D) unido a la fracción de glicolaldehído de las unidades y las que tienen un único grupo X' (u otro sustituyente tal como -L^D-D) unido a la fracción de glicerol de las unidades así como unidades que tienen dos grupos X' (u otros sustituyentes tales como -L^D-D) con uno unido a la fracción de glicolaldehído y el otro unido a la fracción de glicerol de las unidades.

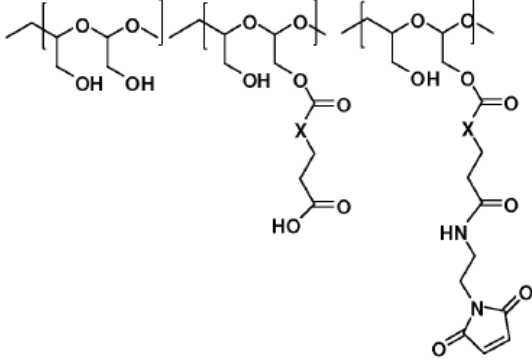
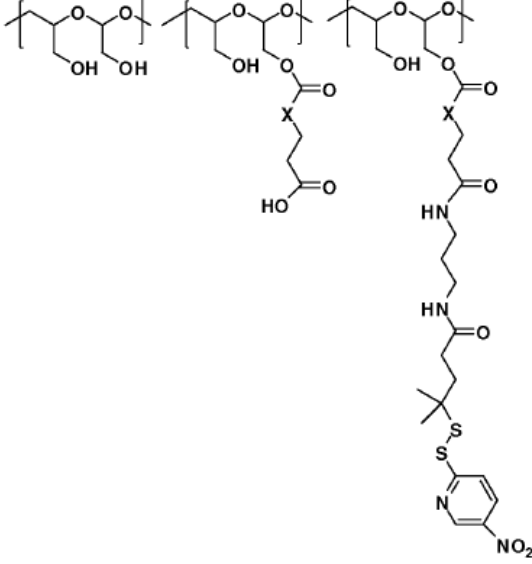
10 En una realización, los polials biocompatibles biodegradables adecuados para poner en práctica la presente invención tienen un peso molecular de entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 300 kDa. En una realización preferida de la presente invención, los polials biocompatibles biodegradables tienen un peso molecular entre aproximadamente 1 y aproximadamente 300 kDa (por ejemplo, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 200 kDa, entre aproximadamente 2 y aproximadamente 300 kDa, entre aproximadamente 2 y aproximadamente 200, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 100 kDa, entre aproximadamente 10 y aproximadamente 70 kDa, entre aproximadamente 20 y aproximadamente 50 kDa, entre aproximadamente 20 y aproximadamente 300 kDa, entre aproximadamente 40 y aproximadamente 150 kDa, entre aproximadamente 50 y aproximadamente 100 kDa, entre aproximadamente 2 y aproximadamente 40 kDa, entre aproximadamente 6 y aproximadamente 20 kDa, o entre aproximadamente 8 y aproximadamente 15 kDa).

20 En una realización, los polials biocompatibles biodegradables adecuados para practicar la presente invención se modifican antes de la conjugación con un fármaco o una PBRM. Por ejemplo, los polials pueden contener subunidades de enlazadores L^D o L^P, tales como -C(=O)-X-(CH₂)_v-C(=O)- siendo X CH₂, O o NH, y siendo v un número entero de 1 a 6. La Tabla A, a continuación, proporciona algunos ejemplos de los polials modificados adecuados para la conjugación con un fármaco o PBRM o derivados del mismo. A menos que se especifique lo contrario, los números de referencia en las Tablas A a E a continuación corresponden a los números del Ejemplo descrito en este documento; el término "ND" significa no determinado; y X es CH₂, O, o NH.

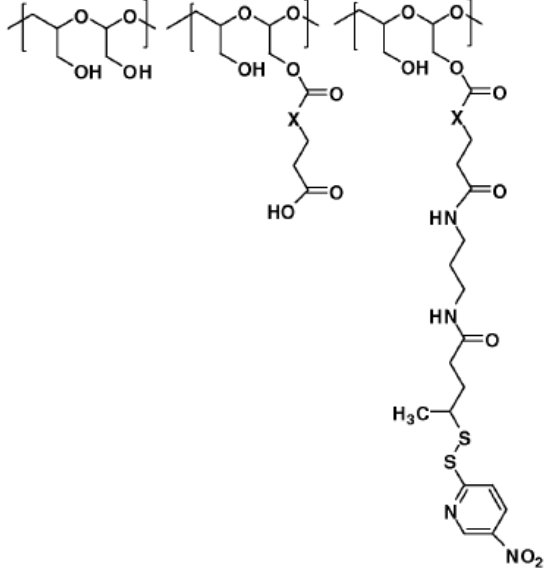
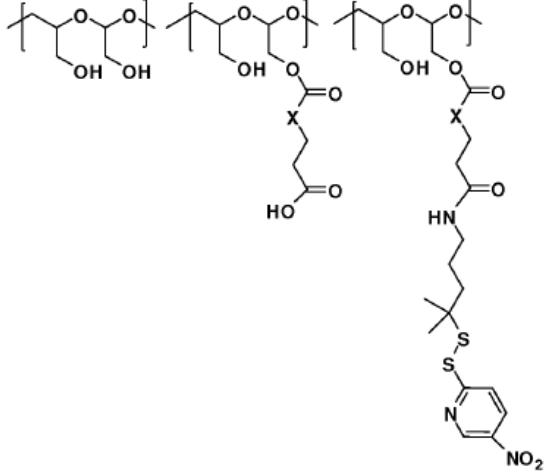
Tabla A

Ref #	Estructura del polímero
Ej. 2	
Ej. 1	
X=CH ₂ Ej. 5	

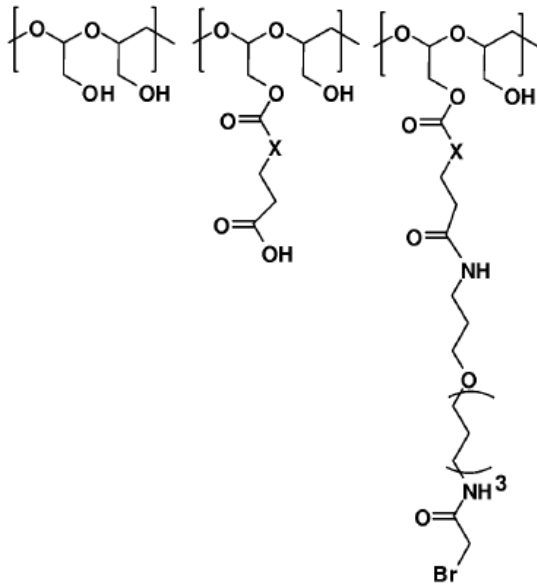
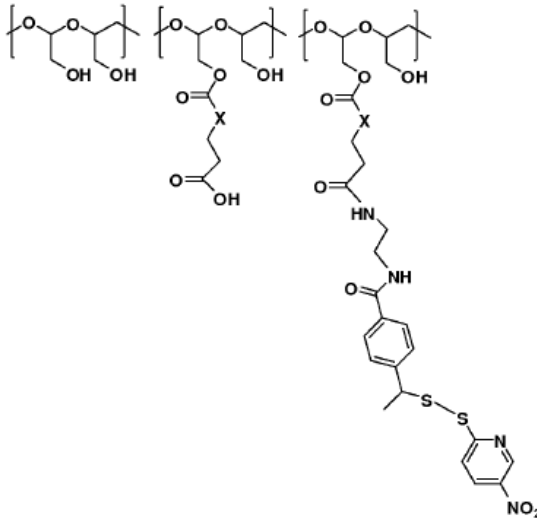
(continuación)

Ref #	Estructura del polímero
X = CH ₂ , Ej. 12	
X = CH ₂ Ej. 71	

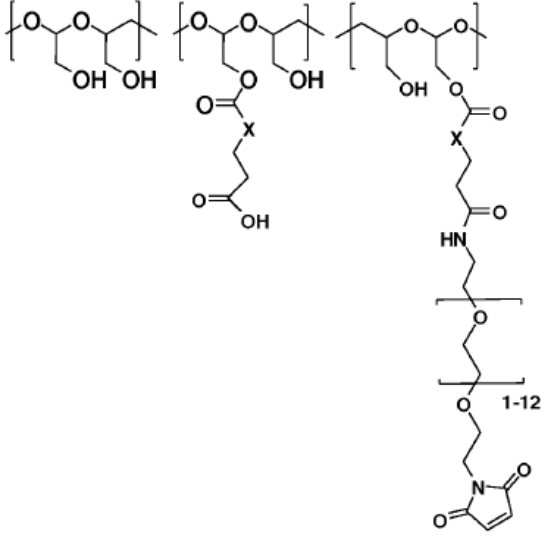
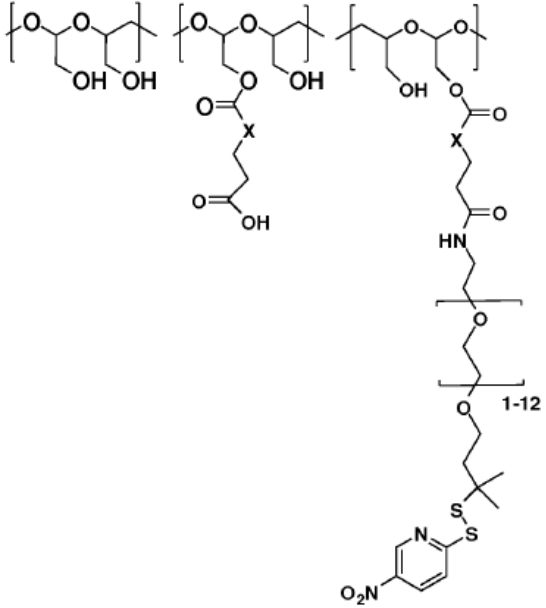
(continuación)

Ref #	Estructura del polímero
	
X = CH ₂ Ej. 68	

(continuación)

Ref #	Estructura del polímero
	
	

(continuación)

Ref #	Estructura del polímero
	
	

(continuación)

Ref #	Estructura del polímero

Agentes terapéuticos

10 En ciertas realizaciones, el agente terapéutico es una molécula pequeña que tiene un peso molecular preferiblemente \leq aproximadamente a 5 kDa, más preferiblemente \leq aproximadamente a 4 kDa, más preferiblemente \leq aproximadamente a 3 kDa, lo más preferiblemente \leq aproximadamente a 1,5 kDa o \leq aproximadamente a 1 kDa.

15 En ciertas realizaciones, aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25% de monómeros comprenden un agente terapéutico, más preferiblemente aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20%, más preferiblemente aproximadamente 1 a aproximadamente 15%, e incluso más preferiblemente aproximadamente 2 a aproximadamente 10%.

Los agentes terapéuticos de molécula pequeña utilizados en esta invención (por ejemplo, agentes antiproliferativos (citotóxicos y citostáticos) capaces de unirse a un soporte polimérico) incluyen compuestos citotóxicos (por ejemplo, de

amplio espectro), inhibidores de la angiogénesis, inhibidores de la progresión del ciclo celular, inhibidores de la ruta de señalización de PI3K/m-TOR/AKT, inhibidores de la ruta de señalización de MAPK, inhibidores de quinasa, inhibidores de chaperones proteicos, inhibidores de HDAC, inhibidores de PARP, inhibidores de la ruta de señalización Wnt/Hedgehog e inhibidores de ARN polimerasa.

- 5 Las citotoxinas de amplio espectro incluyen, pero no se limitan a, fármacos de unión o alquilación de ADN, agentes estabilizadores y desestabilizadores de microtúbulos, compuestos de platino e inhibidores de topoisomerasa I.

Ejemplos de fármacos de unión o alquilación de ADN incluyen, CC-1065 y sus análogos, antraciclinas (doxorrubicina, epirubicina, idarrubicina, daunorrubicina) y sus análogos, agentes de alquilación, tales como caliqueamicinas, dactinomicinas, mitromicinas, pirrolobenzodiazepinas y similares.

- 10 Ejemplos de análogos de CC-1065 incluyen duocarmicina SA, duocarmicina C1, duocarmicina C2, duocarmicina B2, DU-86, KW-2189, bizelesina, seco-adozelesina, y los descritos en las patentes estadounidenses Nos. 5.475.092; 5.595.499; 5.846.545; 6.534.660; 6.586.618; 6.756.397 y 7.049.316. La doxorrubicina y sus análogos incluyen los descritos en la patente estadounidense No. 6.630.579. Las caliqueamicinas incluyen las descritas en las patentes estadounidenses Nos. 5.714.586 y 5.739.116. Las duocarmicinas incluyen las descritas en las patentes estadounidenses Nos. 5.070.092; 5.101.038; 5.187.186; 6.548.530; 6.660.742; y 7.553.816 B2; y Li et al., Tet Letts., 50: 2932 - 2935 (2009). Las pirrolobenzodiazepinas incluyen las descritas en Denny, Exp. Opin. Ther. Patents., 10 (4): 459 - 474 (2000).

- 15 Los ejemplos de agentes estabilizadores y desestabilizadores de microtúbulos incluyen compuestos de taxano, tales como paclitaxel, docetaxel; maitansinoides, auristatinas y análogos de los mismos, derivados de tubulisina A y B, derivados de alcaloides de vinca, epotilonas y criptoficinas.

- 20 Los ejemplos de maitansinoides o análogos de maitansinoides incluyen maitansinol y análogos de maitansinol, maitansina o DM-1 y DM-4 son los descritos en las patentes estadounidenses Nos. 5.208.020; 5.416.064; 6.333.410; 6.441.163; 6.716.821; RE39.151 y 7.276.497. En ciertas realizaciones, el agente citotóxico es un *maitansinoide*, otro grupo de agentes antitubulina (ImmunoGen, Inc., véase también Chari et al., 1992, Cancer Res. 52: 127-131), maitansinoides o análogos de *maitansinoides*. Ejemplos de maitansinoides adecuados incluyen maitansinol y análogos de maitansinol. Los maitansinoides adecuados se describen en las patentes estadounidenses Nos. 4.424.219; 4.256.746; 4.294.757; 4.307.016; 4.313.946; 4.315.929; 4.331.598; 4.361.650; 4.362.663; 4.364.866; 4.450.254; 4.322.348; 4.371.533; 6.333.410; 5.475.092; 5.585.499; y 5.846.545.

- 25 Ejemplos de auristatinas incluyen auristatina E (también conocida como derivada de dolastatina-10), auristatina EB (AEB), auristatina EFP (AEFP), monometil auristatina E (MMAE), monometil auristatina F (MMAF), auristatina F y dolastatina. Las auristatinas adecuadas se describen también en las publicaciones estadounidenses Nos. 2003/0083263, 2011/0020343 y 2011/0070248; publicaciones de las solicitudes PCT Nos. WO 09/117531, WO 2005/081711, WO 04/010957; WO 02/088172 y WO 01/24763, y las patentes estadounidenses Nos. 7.498.298; 6.884.869; 6.323.315; 6.239.104; 6.124.431; 6.034.065; 5.780.588; 5.767.237; 5.665.860; 5.663.149; 5.635.483; 5.599.902; 5.554.725; 5.530.097; 5.521.284; 5.504.191; 5.410.024; 5.138.036; 5.076.973; 4.986.988; 4.978.744; 4.879.278; 4.816.444; y 4.486.414.

- 30 Ejemplos de compuestos de tubulisina incluyen los compuestos descritos en las patentes estadounidenses Nos. 7.816.377; 7.776.814; 7.754.885; las publicaciones estadounidenses Nos. 2011/0021568; 2010/004784; 2010/0048490; 2010/00240701; 2008/0176958; y las solicitudes PCT Nos. WO 98/13375; WO 2004/005269; WO 2008/138561; WO 2009/002993; WO 2009/055562; WO 2009/012958; WO 2009/026177; WO 2009/134279; WO 2010/033733; WO 2010/034724; WO 2011/017249; WO 2011/057805.

Los ejemplos de alcaloides de la vinca incluyen vincristina, vinblastina, vindesina y navelbina (vinorelbina). Los alcaloides de la Vinca adecuados que se pueden usar en la presente invención también se describen en las publicaciones estadounidenses Nos. 2002/0103136 y 2010/0305149 y en la patente estadounidense No. 7.303.749 B1.

- 35 Ejemplos de compuestos de epotilona incluyen epotilona A, B, C, D, E y F, y derivados de los mismos. Compuestos de epotilona adecuados y derivados de los mismos se describen, por ejemplo, en las patentes estadounidenses Nos. 6.956.036; 6.989.450; 6.121.029; 6.117.659; 6.096.757; 6.043.372; 5.969.145; y 5.886.026; y WO 97/19086; WO 98/08849; WO 98/22461; WO 98/25929; WO 98/38192; WO 99/01124; WO 99/02514; WO 99/03848; WO 99/07692; WO 99/27890; y WO 99/28324;

- 40 Los ejemplos de compuestos de criptoficina se describen en las patentes estadounidenses Nos. 6,680,311 y 6,747,021.

Ejemplos de compuestos de platino incluyen cisplatino (PLATINOL®), carboplatino (PARAPLATIN®), oxaliplatino (ELOXATINE®), iproplatino, ormaplatino y tetraplatino.

- Los ejemplos de inhibidores de topoisomerasa I incluyen camptotecina, derivados de camptotecina, análogos de camptotecina y camptotecinas no naturales, tales como, por ejemplo, CPT-11 (irinotecano), SN-38, topotecano, 9-aminocamptotecina, rubitecano, gimatecano, karenitecina, silatecano, lurtotecano, exatecano, diflomotecano, belotecano, lurtotecano y S39625. Otros compuestos de camptotecina que se pueden usar en la presente invención incluyen los descritos, por ejemplo, en J. Med. Chem., 29: 2358 - 2363 (1986); J. Med. Chem., 23: 554 (1980); J. Med. Chem., 30: 1774 (1987).
- Los inhibidores de la angiogénesis incluyen, pero no se limitan, inhibidores de MetAP2. Los ejemplos de inhibidores de MetAP2 incluyen análogos de fumagillol, es decir cualquier compuesto que incluye la estructura del núcleo de fumagilina, incluyendo fumagilamina, que inhibe la capacidad de MetAP-2 para eliminar metioninas del extremo terminal NH₂ de proteínas como se describe en Rodeschini et al., J. Org. Chem., 69, 357 - 373, 2004 y Liu et al., Science 282, 1324 - 1327, 1998. Ejemplos no limitativos de "análogos de fumagillol" se describen en J. Org. Chem., 69, 357, 2004; J. Org. Chem., 70, 6870, 2005; la solicitud de patente europea No. 0 354 787; J. Med. Chem., 49, 5645, 2006; Bioorg. Med. Chem., 11, 5051, 2003; Bioorg. Med. Chem., 14, 91, 2004; Tet. Lett. 40, 4797, 1999; WO 99/61432; las patentes estadounidenses Nos. 6.603.812; 5.789.405; 5.767.293; 6.566.541 y 6.207.704.
- Ejemplos de inhibidores de la progresión del ciclo celular incluyen inhibidores de CDK tales como, por ejemplo, BMS-387032 y PD0332991; inhibidores de Rho-quinasa tales como, por ejemplo, GSK429286; inhibidores de quinasa de punto de control tales como, por ejemplo, AZD7762; inhibidores de aurora quinasa tales como, por ejemplo, AZD1152, MLN8054 y MLN8237; inhibidores de PLK tales como, por ejemplo, BI 2536, BI6727 (Volasertib), GSK461364, ON-01910 (Estybon); e inhibidores de KSP tales como, por ejemplo, SB 743921, SB 715992 (ispinesib), MK-0731, AZD8477, AZ3146 y ARRY-520.
- Los ejemplos de inhibidores de la ruta de señalización PI3K/m-TOR/AKT incluyen inhibidores de fosfoinositido 3-quinasa (PI3K), inhibidores de GSK-3, inhibidores de ATM, inhibidores de ADN-PK e inhibidores de PDK-1.
- Los ejemplos de PI3 quinastas se describen en la patente estadounidenses No. 6.608.053 e incluyen BEZ235, BGT226, BKM120, CA^L101, CA^L263, demetoxiviridina, GDC-0941, GSK615, IC87114, LY294002, Palomid 529, perifosina, PF-04691502, PX- 866, SAR245408, SAR245409, SF1126, Wortmannina, X^L147 y XL765.
- Los ejemplos de inhibidores de AKT incluyen, pero no se limitan a, AT7867.
- Los ejemplos de inhibidores de la ruta de señalización de MAPK incluyen inhibidores de MEK, Ras, JNK, B-Raf y p38 MAPK.
- Los ejemplos de inhibidores de MEK se describen en la patente estadounidense No. 7.517.994 e incluyen GDC-0973, GSK1120212, MSC1936369B, AS703026, RO5126766 y RO4987655, PD0325901, AZD6244, AZD 8330 y GDC-0973.
- Los ejemplos de inhibidores de B-raf incluyen CDC-0879, PLX-4032 y SB590885.
- Los ejemplos de inhibidores de B p38 de MAPK incluyen BIRB 796, LY2228820 y SB 202190
- Las tirosina quinastas receptoras (RTK) son receptores de superficie celular que a menudo se asocian con rutas de señalización que estimulan la proliferación incontrolada de células cancerosas y neoangiogénesis. Se han identificado muchas RTK, que sobreexpresan o tienen mutaciones que conducen a la activación constitutiva del receptor, incluyendo, pero sin limitarse a, receptores de la familia de receptores VEGFR, EGFR, FGFR, PDGFR, EphR y RET. Ejemplos de objetivos específicos de RTK incluyen ErbB2, FLT-3, c-Kit, c-Met, HIF.
- Los ejemplos de inhibidores del receptor ErbB2 (familia EGFR) incluyen, pero no se limitan a AEE788 (NVP-AEE 788), BIBW2992, (Afatinib), Lapatinib, Erlotinib (Tarceva) y Gefitinib (Iressa).
- Los ejemplos de inhibidores de RTK dirigidos a más de una ruta de señalización (inhibidores de quinasa multiobjetivo) incluyen AP24534 (Ponatinib) que se dirigen a receptores FGFR, FLT-3, VEGFR-PDGFR y Bcr-Abl; ABT-869 (Linifanib) que se dirige a receptores FLT-3 y VEGFR-PDGFR; AZD2171 que se dirige a receptores VEGFR-PDGFR, Flt-1 y VEGF; CHR-258 (Dovitinib) que se dirige a los receptores VEGFR-PDGFR, FGFR, Flt-3 y c-Kit.
- Los ejemplos de inhibidores de chaperones proteicos incluyen inhibidores de HSP90. Los ejemplos de inhibidores de HSP90 incluyen derivados de 17AAG, BIIB021, BIIB028, SNX-5422, NVP-AUY-922 y KW-2478.
- Los ejemplos de inhibidores de HDAC incluyen Belinostat (PXD101), CUDC-101, Droxinostat, ITF2357 (Givinostat, Givinostat), JNJ-26481585, LAQ824 (NVP-LAQ824, Dacinostat), LBH-589 (Panobinostat), MC1568, MGCD0103 (Mocetinostat), MS-275 (Entinostat), PCI-24781, Piroxamida (NSC 696085), SB939, Tricostatina A y Vorinostat (SAHA).

Los ejemplos de inhibidores de PARP incluyen iniparib (BSI 201), olaparib (AZD-2281), ABT-888 (Veliparib), AG014699, CEP 9722, MK 4827, KU-0059436 (AZD2281), LT-673, 3-aminobenzamida, A-966492, y AZD2461

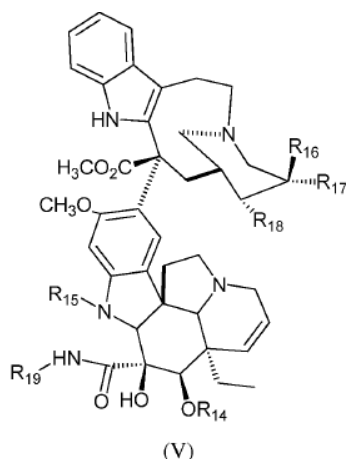
Los ejemplos de inhibidores de la ruta de señalización Wnt/Hedgehog incluyen vismodegib (RG3616/GDC-0449), ciclopamina (11-deoxojervina) (inhibidores de la ruta Hedgehog) y XAV-939 (inhibidor de la ruta Wnt)

5 Los ejemplos de inhibidores de la ARN polimerasa incluyen amatoxinas. Ejemplos de amatoxinas incluyen α -amanitinas, β -amanitinas, γ -amanitinas, ε -amanitinas, amanulina, ácido amanúlico, amaninamida, amanina y proamanulina.

10 En una realización, el fármaco de la invención es un compuesto de camptotecina no natural, un alcaloide la vinca, un inhibidor de quinasa (por ejemplo, un inhibidor de PI3 quinasa (GDC-0941 y PI-103)), un inhibidor de MEK, un inhibidor de KSP, un inhibidor de ARN polimerasa, un inhibidor de PARP, docetaxel, paclitaxel, doxorubicina, duocarmicina, tubulisina, auristatina o un compuesto de platino. En realizaciones específicas, el fármaco es un derivado de SN-38, vindesina, vinblastina, PI-103, AZD 8330, auristatina E, auristatina F, un compuesto de duocarmicina, un compuesto de tubulisina o ARRY-520.

15 En otra realización, el fármaco utilizado en la invención es una combinación de dos o más fármacos, tales como, por ejemplo, PI3 quinasa e inhibidores de MEK; compuestos citotóxicos de amplio espectro y compuestos de platino; inhibidores de PARP y compuestos de platino; compuestos citotóxicos de amplio espectro e inhibidores de PARP.

En una realización, el alcaloide la Vinca es un compuesto de Fórmula (V):



en donde:

R_{14} es hidrógeno, $-C(O)$ -alquilo C_{1-3} o $-C(O)$ -alquilo C_{1-3} sustituido con cloro;

20 R_{15} es hidrógeno, $-CH_3$ o $-CHO$;

cuando R_{17} y R_{18} se toman independientemente, R_{18} es hidrógeno y R_{16} o R_{17} es etilo y el otro es hidroxilo;

cuando R_{17} y R_{18} se toman junto con el carbono al que están unidos para formar un anillo de oxirano, R_{16} es etilo;

R_{19} es hidrógeno, OH, grupo amino, alquilamino o $-[C(R_{20}R_{21})]_a-R_{22}$;

25 cada uno de R_{20} y R_{21} es independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-10} , arilo C_{6-10} hidroxilado, arilo C_{6-10} polihidroxilado, heterociclo de 5 a 12 miembros, cicloalquilo C_{3-8} , cicloalquilo C_{3-8} hidroxilado, cicloalquilo C_{3-8} polihidroxilado, o una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R_{22} es $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_c-C(H)(R_{23})-N(H)(R_{23})$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_d-(OCH_2-CH_2)_f-N(H)(R_{23})$ o $-R_{82}-C(O)-CH(X^2)-NH)_d-R_{77}$;

cada R_{23} es independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-10} , cicloalquilo C_{3-8} , $-COOH$ o $-COO$ -alquilo C_{1-6} ;

30 X^2 es una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R_{77} es hidrógeno o X^2 y NR_{77} forman una fracción heterocíclica que contiene nitrógeno;

R₈₂ es -NH u oxígeno;

a es un número entero de 1 a 6;

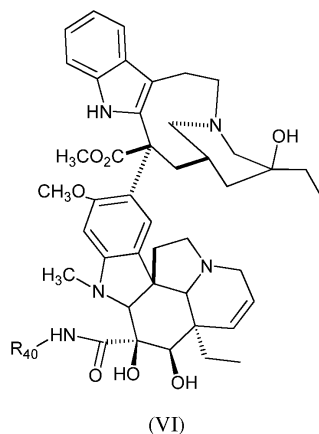
c es un número entero de 0 a 3;

d es un número entero de 1 a 3; y

5 f es un número entero de 1 a 12.

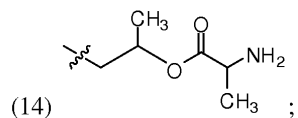
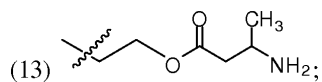
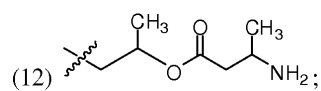
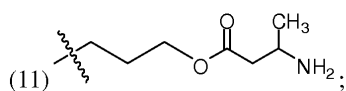
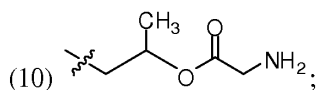
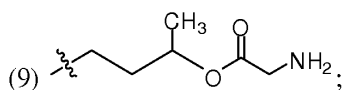
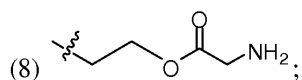
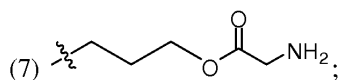
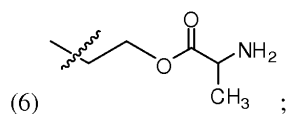
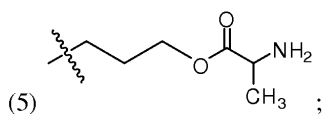
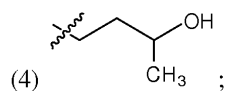
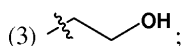
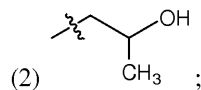
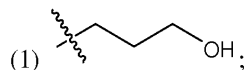
Otros ejemplos de alcaloides de la Vinca se describen en los documentos US 2010/0305149 y US 2002/0103136.

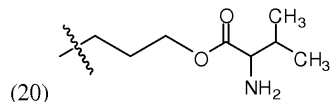
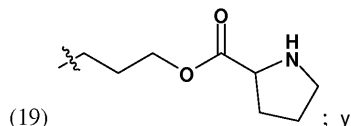
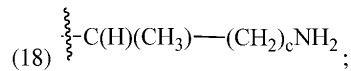
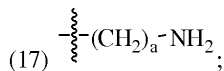
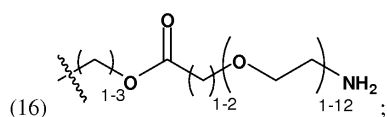
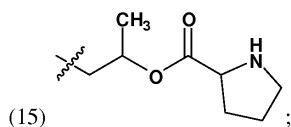
En una realización, el alcaloide la Vinca de Fórmula (V) es un compuesto de Fórmula (VI):



en donde:

10 R₄₀ es hidrógeno, -OH, -NH₂, o cualquiera de las siguientes estructuras:



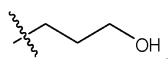


en donde:

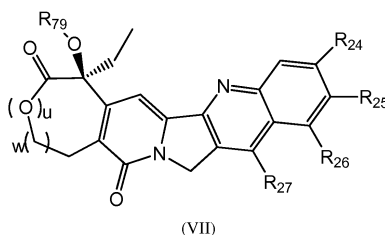
5 a es un número entero de 1 a 6; y

c es un número entero de 0 a 3.

En una realización, R₄₀ es



En otra realización, la camptotecina no natural es un compuesto de Fórmula (VII):



10

en donde:

R₂₄ es -H, -Cl, -F, -OH o alquilo; o R₂₄ y R₂₅, se pueden tomar juntos para formar un anillo de cinco o seis miembros;

R₂₅ es -H, -F, -OH, -CH₃, -CH=N-O-t-Butilo, -CH₂CH₂Si(CH₃)₃, -Si((CH₃)₂)-t-butilo, -O-C(O)-₂₉;

15

R₂₉ es -NH₂, -R₂₈-alquilo C₁₋₆-R₂₂, heterocicloalquilo de 5 a 12 miembros, R₂₈-heterocicloalquilo-C₅₋₁₂-alquilo-C₁₋₆-R₂₂ o -R₂₈-alquilo C₁₋₆-arilo-C₆₋₁₂-alquilo-C₁₋₆-R₂₂

R₂₆ es -H, -CH₂-N(CH₃)₂, NH₂, o NO₂;

R₂₇ es etilo, N-metil-piperidina, cicloalquilo, -CH₂CH₂NHCH(CH₃)₂, o -N-4-metilciclohexilamina;

R₇₉ es -H o -C(O)-R₂₈-[C(R₂₀R₂₁)]_a-R₂₂;

20

cada uno de R₂₀ y R₂₁ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo C₆₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ hidroxilado, arilo C₆₋₁₀ polihidroxilado, heterociclo de 5 a 12 miembros, cicloalquilo C₃₋₈, cicloalquilo C₃₋₈ hidroxilado, cicloalquilo C₃₋₈ polihidroxilado o una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R₂₂ es -OH, -NH₂, -COOH, -R₈₂-C(O)(CH₂)_c-C(H)(R₂₃)-N(H)(R₂₃), -R₈₂-C(O)(CH₂)_d-(OCH₂-CH₂)_f-N(H)(R₂₃) o -R₈₂-(C(O)-CH(X²)-NH)_d-R₇₇;

cada R₂₃ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo C₆₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₈, -COOH o -COO-alquilo C₁₋₆;

25

X² es una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R_{77} es hidrógeno o X^2 y NR_{77} forman un compuesto cíclico que contiene nitrógeno;

R_{82} es -NH u oxígeno;

o R_{26} y R_{27} cuando se toman junto con los dos átomos de carbono a los que se unen y el tercer átomo de carbono que conecta los dos átomos de carbono forman un anillo de seis miembros opcionalmente sustituido;

5 R_{28} está ausente, NH u oxígeno;

a es un número entero de 1 a 6;

c es un número entero de 0 a 3;

d es un número entero de 1 a 3;

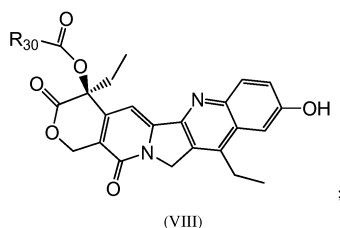
f es un número entero de 1 a 12;

10 u es un número entero 0 o 1;

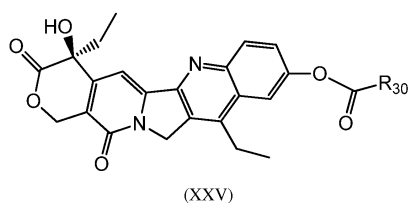
w es un número entero 0 o 1; y

con la condición de que el compuesto de Fórmula (VII) debe contener al menos uno de R_{29} y R_{79}

En una realización, el compuesto de camptotecina no natural de Fórmula (VII) es un compuesto de Fórmula (VIII) o de Fórmula (XXV):



15



en las que R_{30} es -NH₂, -R₂₈-alquilo C₁₋₆-R₂₂, heterocicloalquilo de 5 a 12 miembros, R₂₈-heterocicloalquilo C₅₋₁₂-alquilo C₁₋₆-R₂₂ o -R₂₈-alquilo C₁₋₆-arilo C₆₋₁₂-alquilo C₁₋₆-R₂₂;

R_{28} está ausente, es NH u oxígeno;

20 R_{22} es -OH, -NH₂, -COOH, -R₈₂-C(O)(CH₂)_c-C(H)(R₂₃)-N(H)(R₂₃), -R₈₂-C(O)(CH₂)_d-(OCH₂-CH₂)_f-N(H)(R₂₃) o -R₈₂-(C(O)-CH(X²)-NH)_d-R₇₇;

cada R_{23} es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo C₆₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₈, -COOH o -COO-alquilo C₁₋₆;

X^2 es una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R_{77} es un hidrógeno o X^2 y NR_{77} forman un compuesto cíclico que contiene nitrógeno;

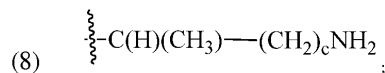
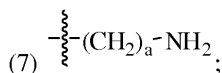
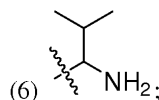
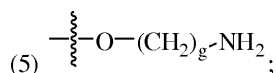
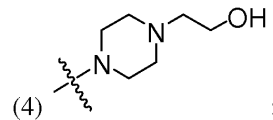
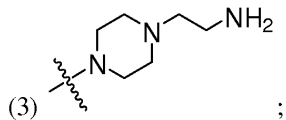
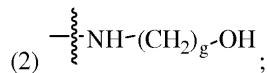
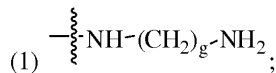
25 R_{82} es -NH u oxígeno;

c es un número entero de 0 a 3;

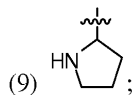
d es un número entero de 1 a 3; y

f es un número entero de 1 a 12.

En algunas realizaciones R₃₀ es cualquiera de las siguientes estructuras:



y



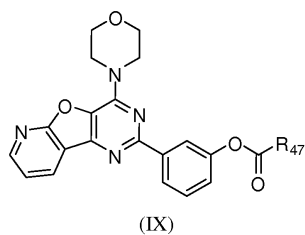
en donde:

a es un número entero de 1 a 6;

c es un número entero de 0 a 3; y

g es un número entero de 2 a 6.

En otra realización, la PI3 quinasa es un compuesto de Fórmula (IX):



en donde

R₄₇ es un grupo amino, -R₉-[C(R₂₀R₂₁)]_a-R₁₀, -R₉-heterocicloalquilo C₅₋₁₂-alquilo-R₁₀ o heterocicloalquilo de 5 a 12 miembros;

cada uno de R₂₀ y R₂₁ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo C₆₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ hidroxilado, arilo C₆₋₁₀ polihidroxilado, heterociclo de 5 a 12 miembros, cicloalquilo C₃₋₈, cicloalquilo C₃₋₈ hidroxilado, cicloalquilo C₃₋₈ polihidroxilado o una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R₁₀ es -OH, -NHR₈₃, -N-(R₈₃)R₁₁, -COOH, -R₈₂-C(O)(CH₂), -C(H)(R₂₃)-N(H)(R₂₃)-R₈₂-C(O)(CH₂)_d-(OCH₂-CH₂)_f-N(H)(R₂₃), -R₈₂-(C(O)-CH(X²)-NH)_d-R₇₇ o -R₈₂-C(O)-[C(R₂₀R₂₁)]_a-R₈₂-R₈₃;

cada R₂₃ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo C₆₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₈, -COOH o -COO-alquilo C₁₋₆;

X² es una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

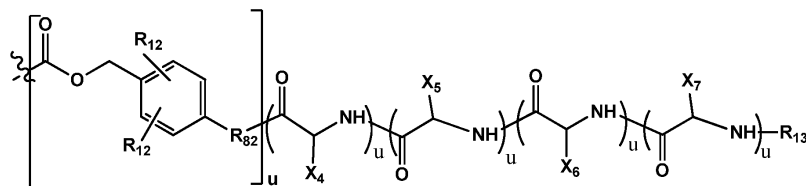
R₇₇ es hidrógeno o X² y NR₇₇ forman un compuesto cíclico que contiene nitrógeno;

R₈₂ es -NH u oxígeno;

R₉ está ausente, es N-(R₈₃) u oxígeno;

R₈₃ es hidrógeno o CH₃;

R₁₁ es:



cada R₁₂ es independientemente hidrógeno, cloruro, -CH₃ o -OCH₃;

R₁₃ es hidrógeno o -C(O)-(CH₂)_d-(O-CH₂-CH₂)_f-NH₂;

X⁴ es la cadena lateral de lisina, arginina, citrulina, alanina o glicina;

X^5 es la cadena lateral de fenilalanina, valina, leucina, isoleucina o triptófano;

10 cada uno de X^6 y X^7 es independientemente la cadena lateral de glicina, alanina, serina, valina o prolina;

a es un número entero de 1 a 6;

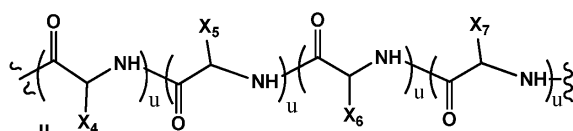
c es un número entero de 0 a 3;

d es un número entero de 1 a 3;

f es un número entero de 1 a 12; y

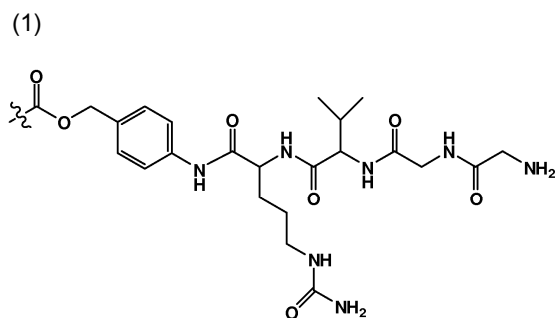
15 cada u independientemente es un número entero 0 o 1.

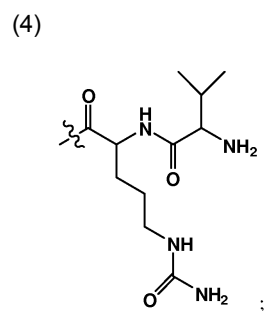
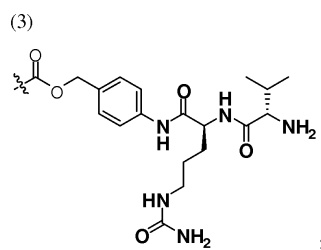
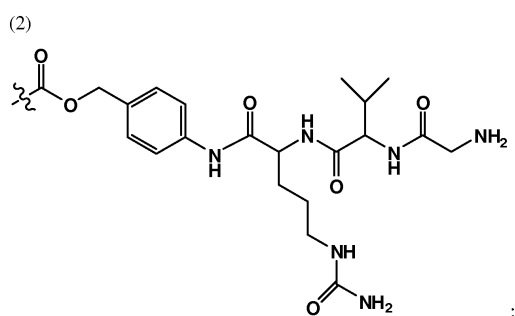
En algunas realizaciones



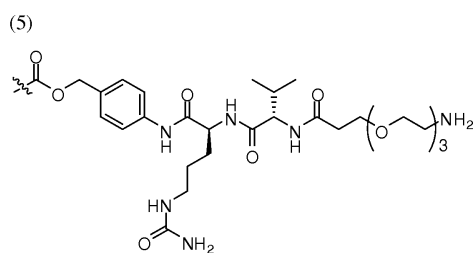
es citrulina-valina; lisina-fenilalanina; citrulina-fenilalanina; citrulina-leucina; citrulina-valina-glicina-glicina; glicina-fenilalanina-glicina-glicina; valina; prolina; leucina o isoleucina.

20 En otra realización, R₁₁ es cualquiera de las siguientes estructuras:

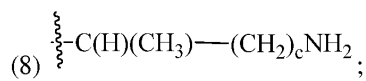
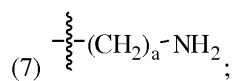
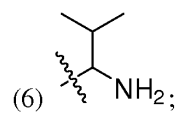
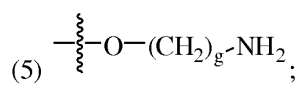
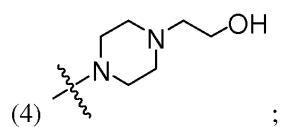
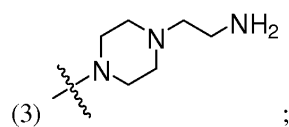
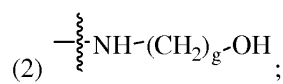
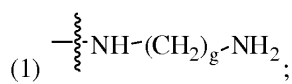


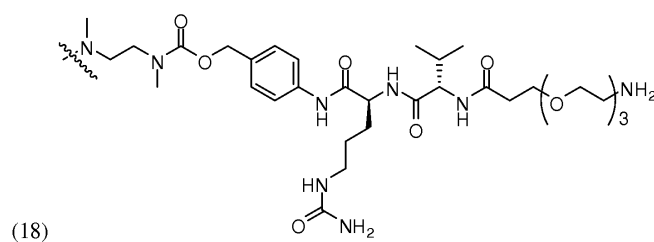
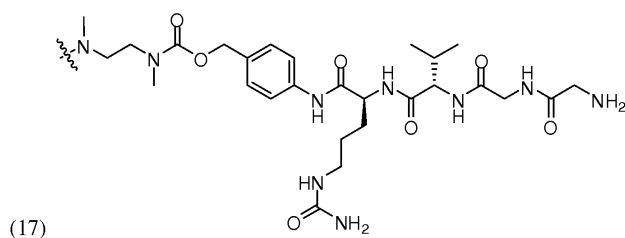
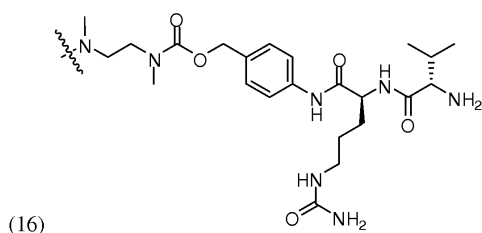
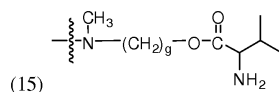
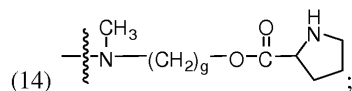
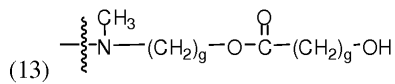
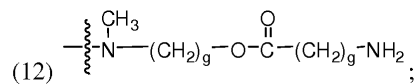
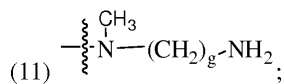
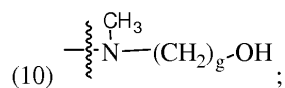
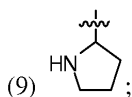


5 y



En algunas realizaciones R₄₇ es cualquiera de las siguientes estructuras:





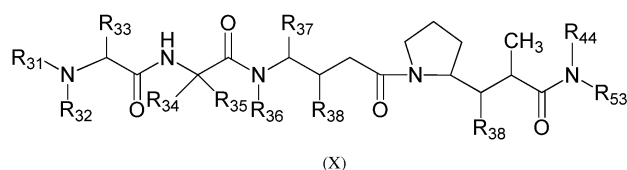
en donde:

10 a es un número entero de 1 a 6;

c es un número entero de 0 a 3; y

g es un número entero de 2 a 6.

En otra realización, la auristatina es un compuesto de fórmula (X):



15 en donde:

cada uno de R_{31} y R_{32} es independientemente hidrógeno o alquilo C_{1-8} y a lo sumo uno de R_{31} y R_{32} es hidrógeno;

R_{33} es hidrógeno, alquilo C_{1-8} , carbociclo C_{3-8} , arilo C_{6-10} , alquilo C_{1-8} -arilo C_{6-10} , X^1 -(carbociclo C_{3-8}), heterociclo C_{3-8} o X^1 -(heterociclo C_{3-8});

5 R_{34} es hidrógeno, alquilo C_{1-8} , carbociclo C_{3-8} , arilo C_{6-10} , X^1 -arilo C_{6-10} , X^1 -(carbociclo C_{3-8}), heterociclo C_{3-8} o X^1 -(heterociclo C_{3-8});

R_{35} es hidrógeno o metilo;

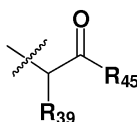
o R_{34} y R_{35} , junto con el átomo de carbono al que se unen, forman un anillo carbocíclico que tiene la fórmula $-(CR_{55}R_{41})_b-$ en la que cada uno de R_{55} y R_{41} es independientemente hidrógeno o alquilo C_{1-8} y b es un número entero de 3 a 7;

10 R_{36} es hidrógeno o alquilo C_{1-8} ;

R_{37} es hidrógeno, alquilo C_{1-8} , carbociclo C_{3-8} , arilo C_{6-10} , X^1 -(carbociclo C_{3-8}), heterociclo C_{3-8} o X^1 -(heterociclo C_{3-8});

cada R_{38} es independientemente hidrógeno, OH, alquilo C_{1-8} , carbociclo C_{3-8} o O-(alquilo C_{1-8});

R_{53} es:



15 o R_{54}

R_{39} es H, alquilo C_{1-8} , arilo C_{6-10} , X^1 -arilo C_{6-10} , carbociclo C_{3-8} , heterociclo C_{3-8} , X^1 -heterociclo C_{3-8} , alquilenos C_{1-8} - NH_2 , o $(CH_2)_2SCH_3$

cada X^1 es independientemente alquilenos C_{1-10} o cicloalquilenos C_{3-10} ;

R_{44} es hidrógeno o alquilo C_{1-8} ;

20 R_{45} es X^3 - R_{42} o NH - R_{19} ;

X^3 es O o S;

R_{19} es hidrógeno, OH, grupo amino, alquilamino o $-[C(R_{20}R_{21})]_a-R_{22}$;

R_{42} es un grupo amino, alquilamino C_{1-6} o $-[C(R_{20}R_{21})]_a-R_{22}$;

25 cada uno de R_{20} y R_{21} es independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-10} , arilo C_{6-10} hidroxilado, arilo C_{6-10} polihidroxilado, heterociclo de 5 a 12 miembros, cicloalquilo C_{3-8} , cicloalquilo C_{3-8} hidroxilado, cicloalquilo C_{3-8} polihidroxilado o una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R_{22} es $-OH$, $-NHR_{23}$, $-COOH$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_c-C(H)(R_{23})-N(H)(R_{23})$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_d-(OCH_2-CH_2)_f-N(H)(R_{23})$ o $-R_{82}-C(O)-CH(X^2)-NH)_d-R_{77}$;

cada R_{23} es independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-10} , cicloalquilo C_{3-8} , $-COOH$ o $-COO$ -alquilo C_{1-6} ;

30 X^2 es una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R_{77} es hidrógeno o X^2 y NR_{77} forman un compuesto cíclico que contiene nitrógeno;

R_{82} es $-NH$ u oxígeno;

R_{54} es $-C(R_{56})_2-C(R_{56})_2$ -arilo C_{6-10} , $-C(R_{56})_2-C(R_{56})_2$ -heterociclo C_{3-8} o $-C(R_{56})_2-C(R_{56})_2$ -carbociclo C_{3-8} ;

R_{56} se selecciona independientemente entre H, OH, alquilo C_{1-8} , carbociclo C_{3-8} , -O-alquilo C_{1-8} , -O-C(O)- R_{29} y -O- R_{23} -O-alquilo C_{1-6} -NH₂;

R_{29} es un grupo amino, heterocicloalquilo de 5 a 12 miembros, - R_{28} -alquilo C_{1-6} - R_{22} , R_{28} -heterocicloalquilo C_{5-12} -alquilo C_{1-6} - R_{22} , -[C(R_{20} R_{21})]_a- R_{22} , o - R_{28} -alquilo C_{1-6} -arilo C_{6-12} -alquilo C_{1-6} - R_{22} ;

5 R_{28} está ausente, es NH u oxígeno;

a es un número entero de 1 a 6;

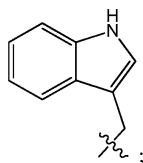
c es un número entero de 0 a 3;

d es un número entero de 1 a 3; y

f es un número entero de 1 a 12.

10 En algunas realizaciones, en el compuesto de auristatina de Fórmula (X):

R_{39} es bencilo o

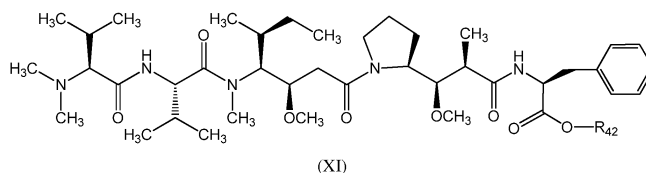


y

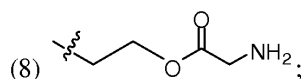
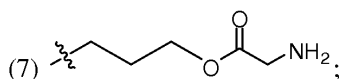
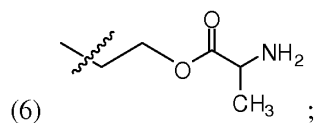
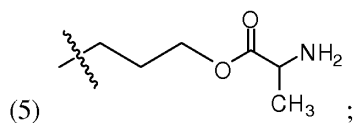
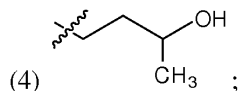
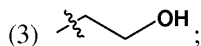
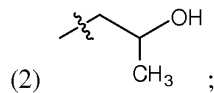
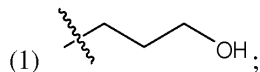
R_{44} es hidrógeno;

15 En una realización la auristatina de Fórmula (X) es un compuesto de Fórmula (XI), Fórmula (XII) o Fórmula (XIII):

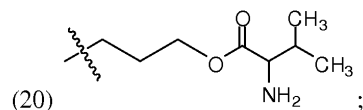
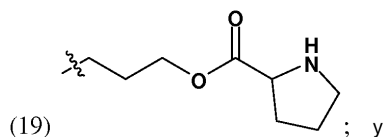
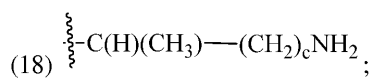
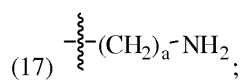
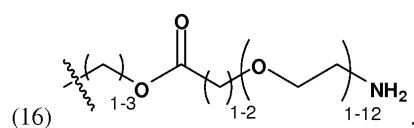
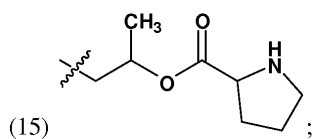
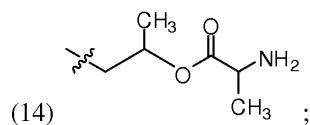
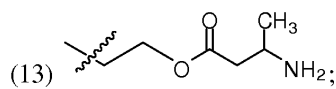
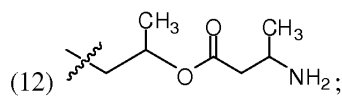
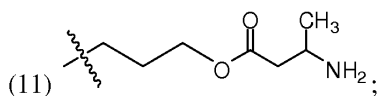
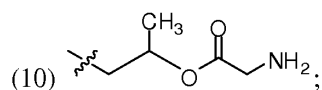
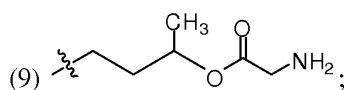
en donde el compuesto de Fórmula (XI) es:



en donde R_{42} es -CH₃ o cualquiera de las siguientes estructuras:



20



5

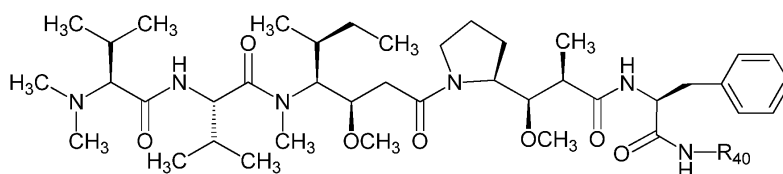
en donde:

a es un número entero de 1 a 6; y

c es un número entero de 0 a 3;

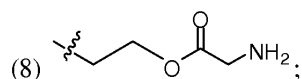
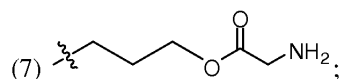
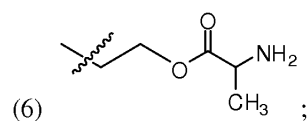
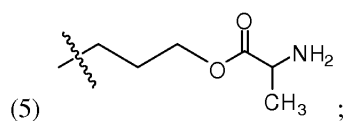
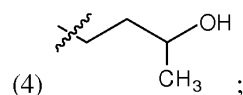
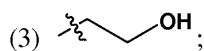
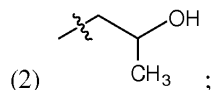
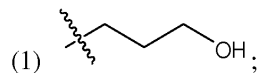
10

en donde el compuesto de Fórmula (XII) es:

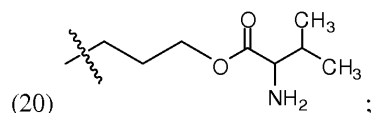
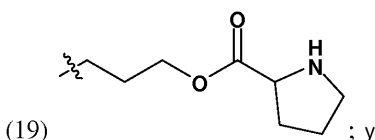
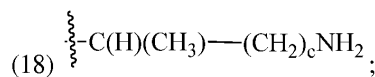
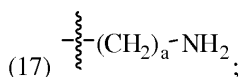
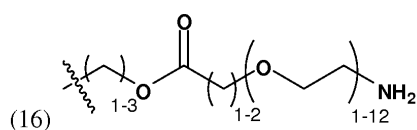
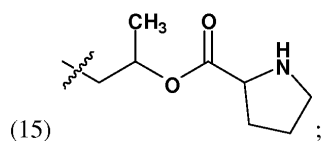
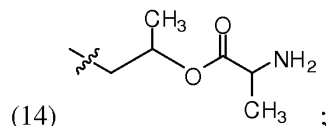
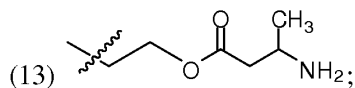
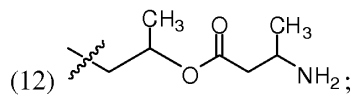
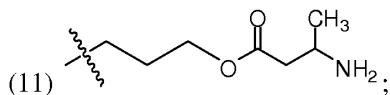
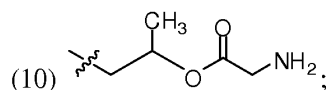
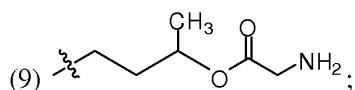


(XII)

en donde R₄₀ es hidrógeno, -OH, -NH₂, o cualquiera de las siguientes estructuras:



15

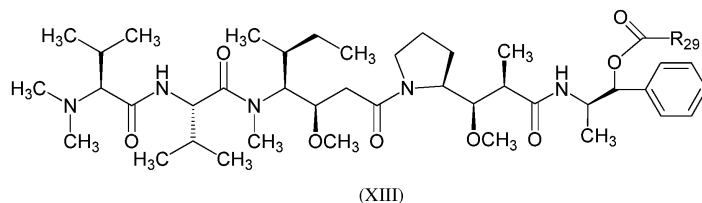


en donde:

a es un número entero de 1 a 6; y

c es un número entero de 0 a 3.

10 en donde el compuesto de Fórmula (XIII) es:



en donde R_{29} es un grupo amino, heterocicloalquilo de 5 a 12 miembros, $-R_{28}$ -alquilo C_{1-6} - R_{22} , R_{28} - heterocicloalquilo C_{5-12} -alquilo C_{1-6} - R_{22} , $-R_{28}$ -[C(R_{20} R_{21})] $_a$ - R_{22} , o $-R_{28}$ -alquilo C_{1-6} -arilo C_{6-12} -alquilo C_{1-6} - R_{22} ;

15 cada uno de R_{20} y R_{21} es independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-10} , arilo C_{6-10} hidroxilado, arilo C_{6-10} polihidroxilado, heterociclo de 5 a 12 miembros, cicloalquilo C_{3-8} , cicloalquilo C_{3-8} hidroxilado, cicloalquilo C_{3-8} polihidroxilado o una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R_{22} es $-OH$, $-NHR_{23}$, $-COOH$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_c-C(H)(R_{23})-N(H)(R_{23})$, $-R_{82}-C(O)(CH_2)_d-(OCH_2-CH_2)_f-N(H)(R_{23})$ o $-R_{82}-C(O)-CH(X^2)-NH)_d-R_{77}$;

cada R_{23} es independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-10} , cicloalquilo C_{3-8} , $-COOH$ o $-COO$ -alquilo C_{1-6} ;

20 X^2 es una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R_{77} es hidrógeno o X^2 y NR_{77} forman un compuesto cíclico que contiene nitrógeno;

R_{82} es $-NH$ u oxígeno;

R₂₈ está ausente, es NH u oxígeno;

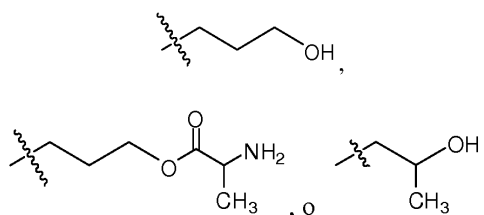
a es un número entero de 1 a 6;

c es un número entero de 0 a 3;

d es un número entero de 1 a 3; y

5 f es un número entero de 1 a 12.

En una realización, en la Fórmula (XII), R₄₀ es



10 En una realización en el compuesto de Fórmula (XIII), R₂₉ es -NH₂, heterocicloalquilo de 5 miembros, -R₂₈-alquilo C₁₋₆-R₂₂, R₂₈-heterocicloalquilo C₅₋₁₂-alquilo C₁₋₆-R₂₂ o -R₂₈-alquilo C₁₋₆-arilo C₆₋₁₂-alquilo C₁₋₆-R₂₂;

R₂₈ está ausente, es NH u oxígeno;

R₂₂ es -OH, -NHR₂₃, -COOH, -R₈₂-C(O)(CH₂)_c-C(H)(R₂₃)-N(H)(R₂₃), -R₈₂-C(O)(CH₂)_d-(OCH₂-CH₂)_f-N(H)(R₂₃) o -R₈₂-C(O)-CH(X²)-NH)_d-R₇₇;

cada R₂₃ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo C₆₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₈, -COOH o -COO-alquilo C₁₋₆;

15 X² es una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R₇₇ es hidrógeno o X² y NR₇₇ forman un compuesto cíclico que contiene nitrógeno;

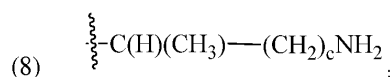
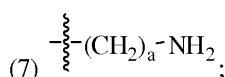
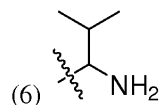
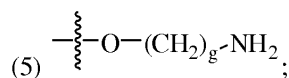
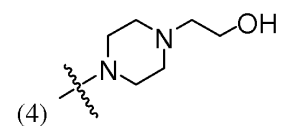
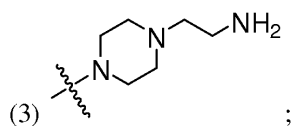
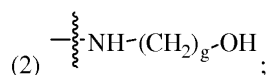
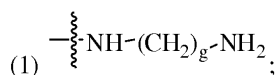
R₈₂ es -NH u oxígeno;

c es un número entero de 0 a 3;

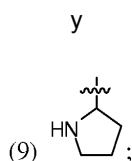
d es un número entero de 1 a 3; y

20 f es un número entero de 1 a 12.

En otra realización más, R₂₉ es cualquiera de las siguientes estructuras:



25



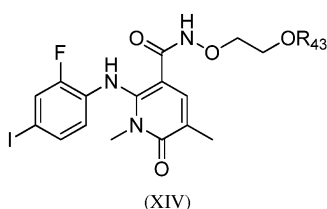
en donde:

a es un número entero de 1 a 6;

5 c es un número entero de 0 a 3; y

g es un número entero de 2 a 6.

En una realización, el inhibidor de MEK es un compuesto de Fórmula (XIV):



en la que R₄₃ es H o -R₄₆-R₄₇;

10 cada uno de R₂₀ y R₂₁ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo C₆₋₁₀, arilo C₆₋₁₀ hidroxilado, arilo C₆₋₁₀ polihidroxilado, heterociclo de 5 a 12 miembros, cicloalquilo C₃₋₈, cicloalquilo C₃₋₈ hidroxilado, cicloalquilo C₃₋₈ polihidroxilado o una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R₂₂ es -OH, -NH₂, -COOH, -R₈₂-C(O)(CH₂)_c-C(H)(R₂₃)-N(H)(R₂₃), -R₈₂-C(O)(CH₂)_d-(OCH₂-CH₂)_f-N(H)(R₂₃) o -R₈₂-C(O)-CH(X²)-NH)_d-R₇₇;

15 cada R₂₃ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo C₆₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₈, -COOH o -COO-alquilo C₁₋₆;

X² es una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R₇₇ es hidrógeno o X² y NR₇₇ forman un compuesto cíclico que contiene nitrógeno;

R₈₂ es -NH u oxígeno;

R₄₆ es -C(O)-; -C(O)-O-, -C(O)-NH-, o ausente;

20 R₄₇ es como se define aquí;

a es un número entero de 1 a 6;

c es un número entero de 0 a 3;

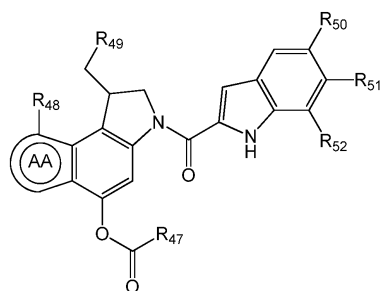
d es un número entero de 1 a 3; y

f es un número entero de 1 a 12.

25 Otros ejemplos del inhibidor de MEK se describen en la patente estadounidense No. 7.517.994 B2.

En algunas realizaciones R₄₃ es -C(O)-(CH₂)_a-NH₂, o -C(O)-C(H)(CH₃)-(CH₂)_c-NH₂; en la que a es un número entero de 1 a 6; y c es un número entero de 0 a 3.

En otra realización, el compuesto de duocarmicina es un compuesto de Fórmula (XV):



(XV)

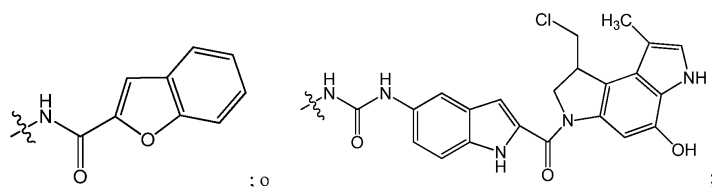
en donde:

R₄₇ es como se define aquí;

R₄₈ es hidrógeno, -COO-alquilo C₁₋₆, -COOH, -NH₂ o -CH₃;

5 R₄₉ es Cl, Br o -OH;

R₅₀ es hidrógeno, -OCH₃,

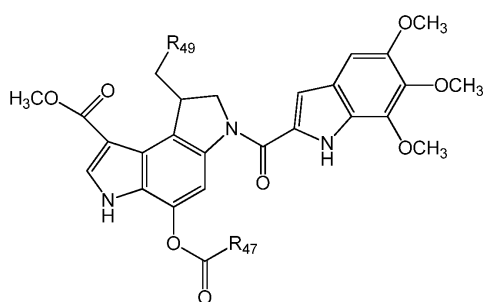


cada uno de R₅₁ y R₅₂ es independientemente hidrógeno o -OCH₃; y

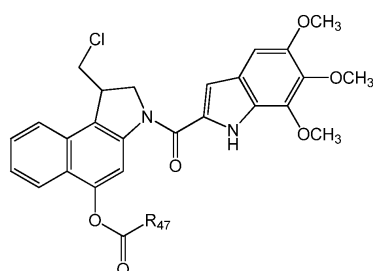
el anillo AA es o bien un anillo de fenilo o pirrolilo.

10 Otros ejemplos de compuestos de duocarmicina se describen en la patente estadounidense No. 7.553.816.

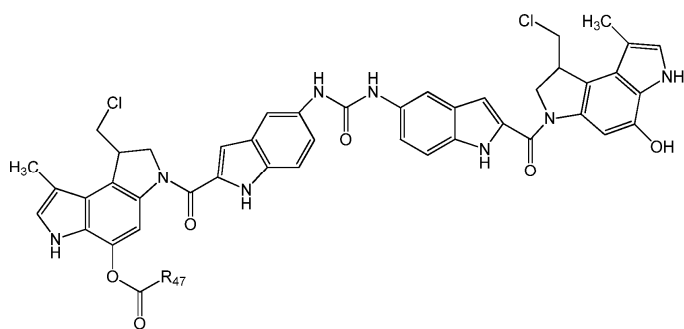
En una realización, el compuesto de duocarmicina de Fórmula (XV) es un compuesto de Fórmula (XVI), (XVII), (XVIII) o (XIX):



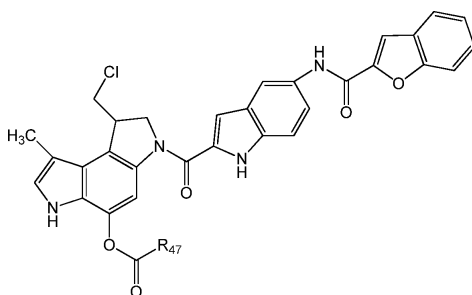
(XVI)



(XVII)



(XVIII)



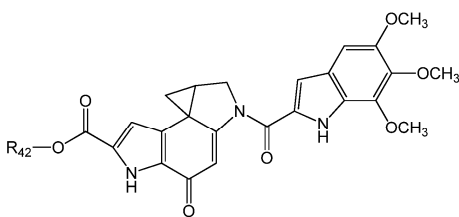
(XIX);

en donde:

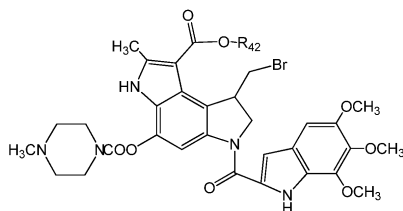
5 R_{49} es Cl, Br o -OH; y

R_{47} es como se define aquí.

En otra realización, el compuesto de duocarmicina es un compuesto de duocarmicina SA de Fórmula (XX): patente estadounidense No. 5.101.038; o (XXI):



(XX)



(XXI)

10

en donde:

R_{42} es alquilo C_{1-6} amino o $-[C(R_{20}R_{21})]_a-R_{22}$;

15 cada uno de R_{20} y R_{21} es independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-10} , arilo C_{6-10} hidroxilado, arilo C_{6-10} polihidroxilado, heterociclo de 5 a 12 miembros, cicloalquilo C_{3-8} , cicloalquilo C_{3-8} hidroxilado, cicloalquilo C_{3-8} polihidroxilado o una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

R_{22} es -OH, -NH₂, -COOH, -R₈₂-C(O)(CH₂)_c-C(H)(R₂₃)-N(H)(R₂₃), -R₈₂-C(O)(CH₂)_d-(OCH₂-CH₂)_f-N(H)(R₂₃) o -R₈₂-C(O)-CH(X²)-NH)_d-R₇₇;

cada R₂₃ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆, arilo C₆₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₈, -COOH o -COO-alquilo C₁₋₆;

X² es una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;

5 R_{77} es hidrógeno o X² y NR₇₇ forman un compuesto cíclico que contiene nitrógeno;

R₈₂ es -NH u oxígeno;

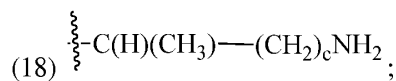
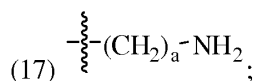
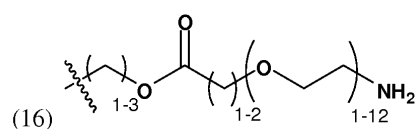
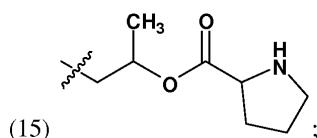
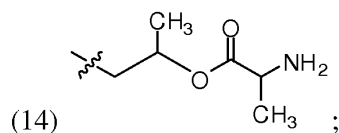
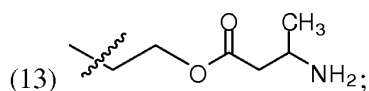
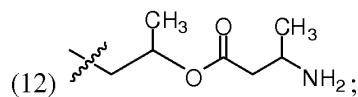
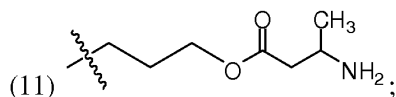
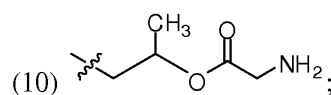
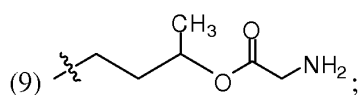
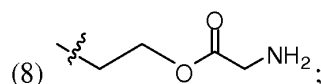
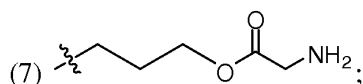
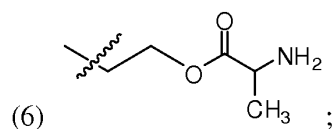
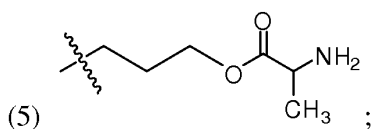
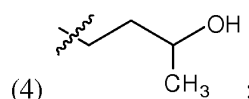
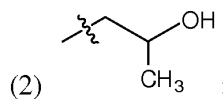
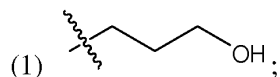
a es un número entero de 1 a 6;

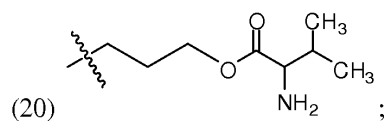
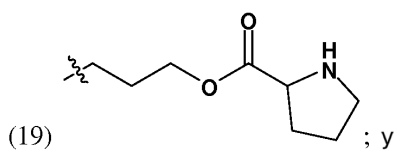
c es un número entero de 0 a 3;

d es un número entero de 1 a 3; y

10 f es un número entero de 1 a 12.

En algunas realizaciones, R₄₂ es cualquiera de las siguientes estructuras:



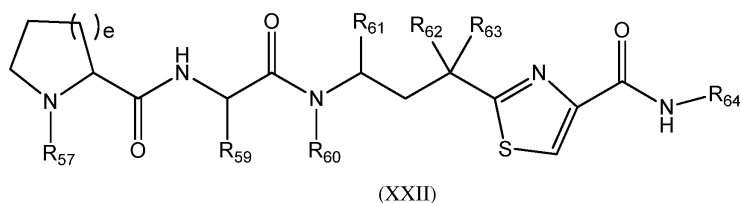


en donde:

a es un número entero de 1 a 6; y

c es un número entero de 0 a 3.

5 En otra realización, la tubulisina es un compuesto de Fórmula (XXII):



en donde:

R₅₇ es alquilo C₁₋₄ o -C(O)R₅₈;

R₅₈ es alquilo C₁₋₆, CF₃ o arilo C₆₋₁₀;

10 R₅₉ es alquilo C₁₋₆;

R₆₀ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₇, -CH₂-fenilo, CH₂OR₆₅ o CH₂OCOR₆₆;

R₆₅ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₇, arilo C₆₋₁₀ o C(O)R₆₇;

R₆₇ es alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, arilo C₆₋₁₀ o heteroarilo;

R₆₆ es alquilo C₁₋₆, -C₆H₅ o -CH₂-fenilo;

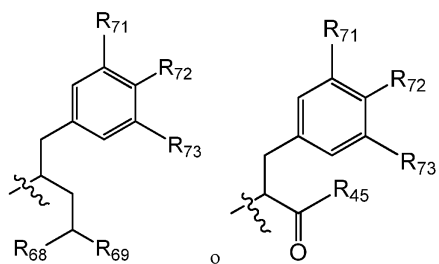
15 R₆₁ es alquilo C₁₋₆;

R₆₂ es hidrógeno, OH, O-alquilo C₁₋₄ o O-C(O)-alquilo C₁₋₄;

R₆₃ es hidrógeno, OH, O-alquilo C₁₋₄, O-C(O)-alquilo C₁₋₄, halógeno o alquilo C₁₋₆;

e es un número entero entre 1 y 3 inclusive;

R₆₄ es:



20

en donde:

R₆₈ es hidrógeno o alquilo C_{1-C6};

- R_{69} es CO_2R_{70} , $\text{C(O)}-R_{78}$, CONHNH_2 , OH , NH_2 , SH o alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo o heterocicloalquilo opcionalmente sustituido;
- R_{70} es un grupo alquilo opcionalmente sustituido (es decir, alquilamina C_{1-6}), heteroalquilo o heterocicloalquilo;
- 5 cada uno de R_{71} y R_{73} es independientemente hidrógeno, halo, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NHR}_{74}$, alquilo C_{1-6} , haloalquilo, alcoxi y haloalcoxi;
- R_{72} es hidrógeno, OR_{43} , alcoxi, halógeno, $-\text{NHR}_{74}$, $-\text{O-C(O)}-R_{47}$, NO_2 , $-\text{CN}$, arilo C_{6-10} , alquilo C_{1-6} , amino o dialquilamino;
- R_{74} es hidrógeno, $-\text{CHO}$, $-\text{C(O)}-\text{alquilo } \text{C}_{1-4}$, OH , grupo amino, alquilamino o $-\text{[C(R}_{20}\text{R}_{21})]_a\text{-R}_{22}$;
- R_{43} es H o $-\text{R}_{46}-\text{R}_{47}$;
- R_{46} es $-\text{C(O)}-$; $-\text{C(O)}-\text{O}-$, $-\text{C(O)}-\text{NH}-$, o ausente;
- 10 R_{47} es como se define aquí;
- R_{78} es X^3-R_{75} o $\text{NH}-\text{R}_{19}$;
- X^3 es O o S ;
- R_{19} es hidrógeno, OH , grupo amino, alquilamino o $-\text{[C(R}_{20}\text{R}_{21})]_a\text{-R}_{22}$;
- R_{75} es un hidrógeno, un grupo amino, alquilamino C_{1-6} o $-\text{[C(R}_{20}\text{R}_{21})]_a\text{-R}_{22}$;
- 15 cada uno de R_{20} y R_{21} es independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-10} , arilo C_{6-10} hidroxilado, arilo C_{6-10} polihidroxilado, heterociclo de 5 a 12 miembros, cicloalquilo C_{3-8} , cicloalquilo C_{3-8} hidroxilado, cicloalquilo C_{3-8} polihidroxilado o una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;
- R_{22} es $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{R}_{82}-\text{C(O)}(\text{CH}_2)_c-\text{C(H)}(\text{R}_{23})-\text{N(H)}(\text{R}_{23})$, $-\text{R}_{82}-\text{C(O)}(\text{CH}_2)_d-(\text{OCH}_2-\text{CH}_2)_f-\text{N(H)}(\text{R}_{23})$ o $-\text{R}_{82}-\text{C(O)}-\text{CH(X}^2\text{)}-\text{NH)}_d-\text{R}_{77}$;
- 20 cada R_{23} es independientemente hidrógeno, alquilo C_{1-6} , arilo C_{6-10} , cicloalquilo C_{3-8} , $-\text{COOH}$ o $-\text{COO}-\text{alquilo } \text{C}_{1-6}$;
- X^2 es una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural;
- R_{77} es hidrógeno o X^2 y NR_{77} forman un compuesto cíclico que contiene nitrógeno;
- R_{82} es $-\text{NH}$ u oxígeno;
- R_{47} es como se define aquí;
- 25 a es un número entero de 1 a 6;
- c es un número entero de 0 a 3;
- d es un número entero de 1 a 3;
- f es un número entero de 1 a 12; y
- 30 con la condición de que cuando R_{69} es $\text{C(O)}-\text{X}^3-\text{R}_{75}$ o $\text{C(O)}-\text{NH}-\text{R}_{19}$, uno o ambos de R_{71} y R_{73} son $-\text{NHR}_{74}$, y R_{72} es OR_{43} , $-\text{NHR}_{74}$ o $-\text{OC(O)}-\text{R}_{47}$, al menos uno de R_{19} , R_{43} , R_{74} y R_{75} no puede ser hidrógeno.
- En algunas realizaciones en el compuesto de Fórmula (XXII):
- R_{57} es $-\text{CH}_3$;
- R_{59} es sec-butilo;
- R_{60} es hidrógeno, metilo, etilo, propilo, isopropilo o isobutilo;

R₆₁ es isopropilo,

R₆₂ es hidrógeno;

R₆₃ es hidrógeno, OH, -O-C₃H₇, O-C(O)-CH₃;

R₆₈ es hidrógeno o -CH₃;

5 R₆₉ es CO₂H, CO₂R₇₀ o C(O)-R₇₈;

R₇₀ es alquilo C₁₋₆ amina;

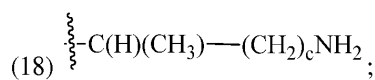
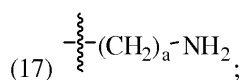
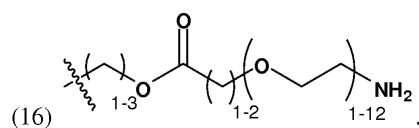
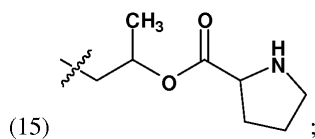
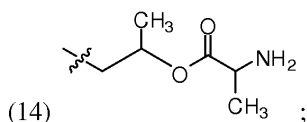
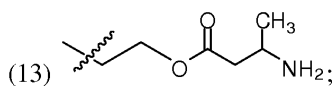
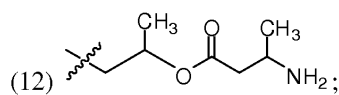
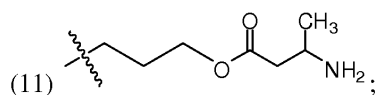
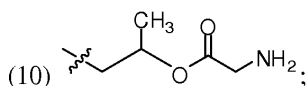
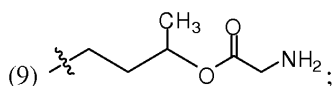
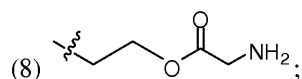
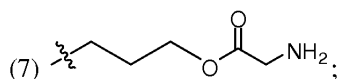
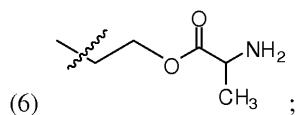
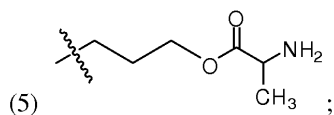
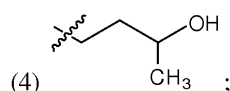
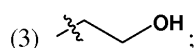
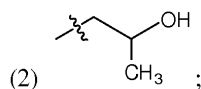
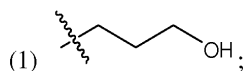
cada uno de R₇₁ y R₇₃ es independientemente hidrógeno;

R₇₂ es hidrógeno, -OR₄₃, OH, F, -CH₃ o -OCH₃;

R₇₈ es OH, -OR₇₅ o -NHR₄₀;

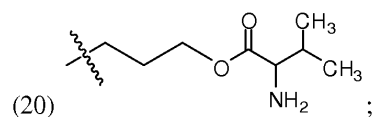
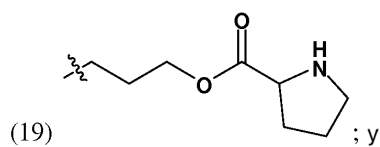
10 e es el número entero 2;

R₄₀ es hidrógeno, -OH, -NH₂, o cualquiera de las siguientes estructuras:



15

20

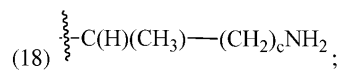
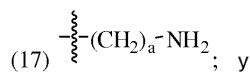
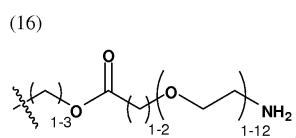
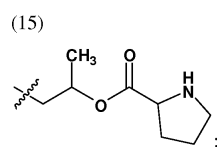
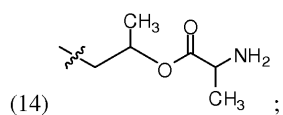
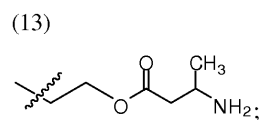
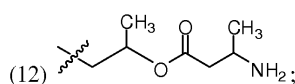
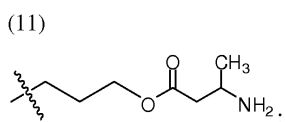
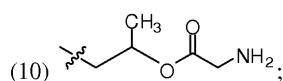
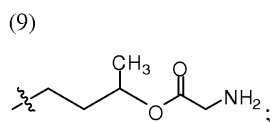
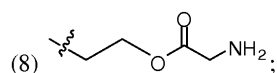
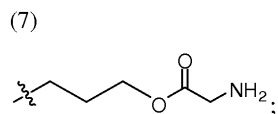
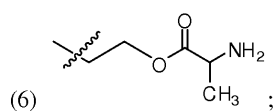
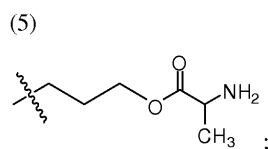
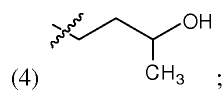
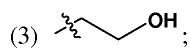
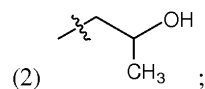
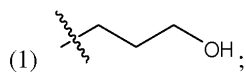


en donde:

a es un número entero de 1 a 6;

c es un número entero de 0 a 3;

5 R_{75} es cualquiera de las siguientes estructuras:



10

15

en donde:

a es un número entero de 1 a 6; y

c es un número entero de 0 a 3;

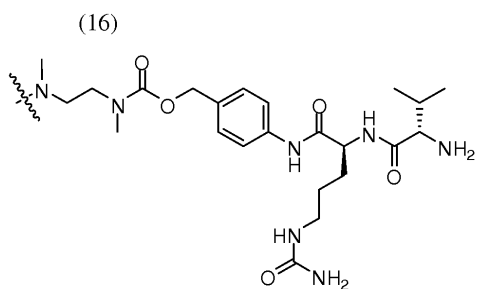
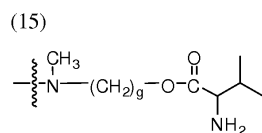
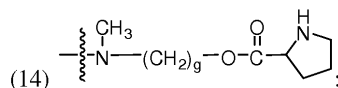
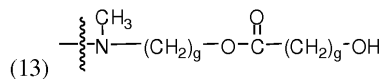
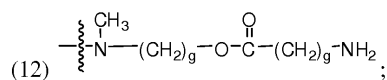
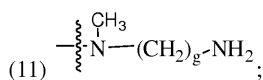
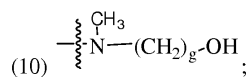
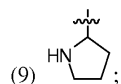
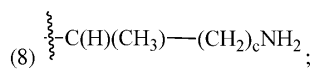
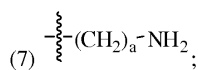
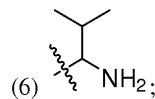
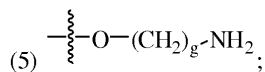
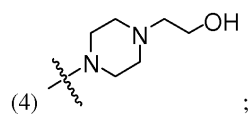
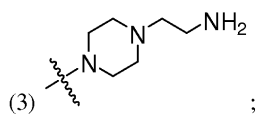
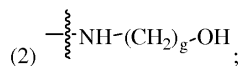
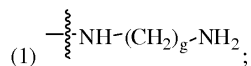
R₄₃ es hidrógeno, -C(O)-(CH₂)_a-NH₂, o -C(O)-C(H)(CH₃)-(CH₂)_c-NH₂;

en donde:

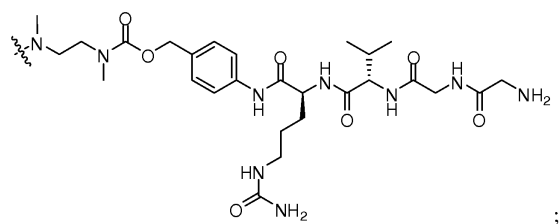
a es un número entero de 1 a 6;

c es un número entero de 0 a 3; y

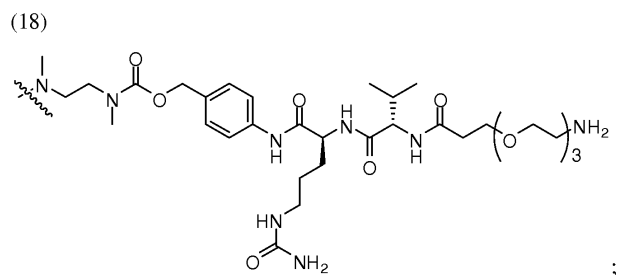
5 R₄₇ es cualquiera de las siguientes estructuras:



(17)



o



en donde:

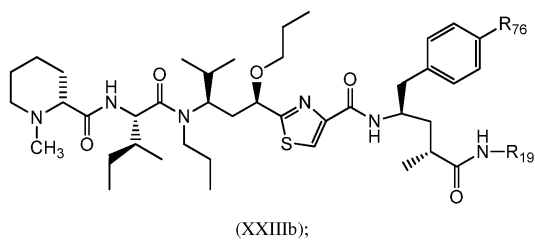
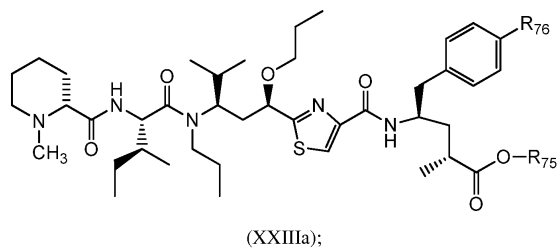
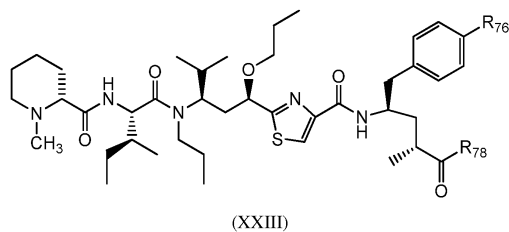
5 a es un número entero de 1 a 6;

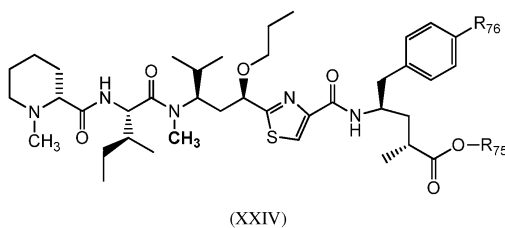
c es un número entero de 0 a 3; y

g es un número entero de 2 a 6;

con la condición de que si R_{72} es -OH, entonces R_{75} no puede ser hidrógeno; si R_{69} es COOH entonces R_{72} debe ser -OR₄₃ o -O-C(O)-R₄₇.

10 En algunas realizaciones, la tubulisina de Fórmula (XXII) es un compuesto de Fórmula (XXIII) o (XXIV):





en donde:

R_{76} es hidrógeno, OH, OCH_3 , F, $-OR_{43}$ o $-O-C(O)-R_{47}$;

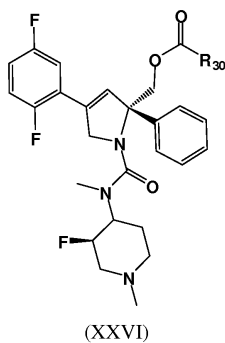
en la que R_{78} , R_{75} , R_{19} , R_{47} y R_{43} son como se definen en la presente memoria; y

5 con la condición de que si R_{76} es -OH, OCH_3 o F, entonces R_{75} y R_{19} no pueden ser hidrógeno.

En una realización, R_{47} es

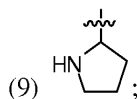
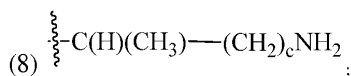
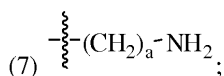
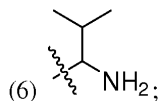
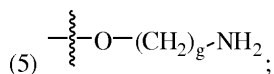
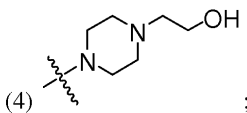
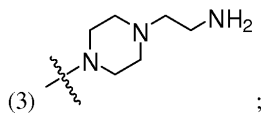
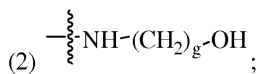
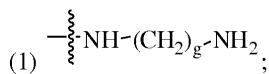


En otra realización, el compuesto inhibidor de KSP es un compuesto de Fórmula (XXVI):



10 en la que R_{30} es como se define aquí.

En algunas realizaciones R_{30} es:



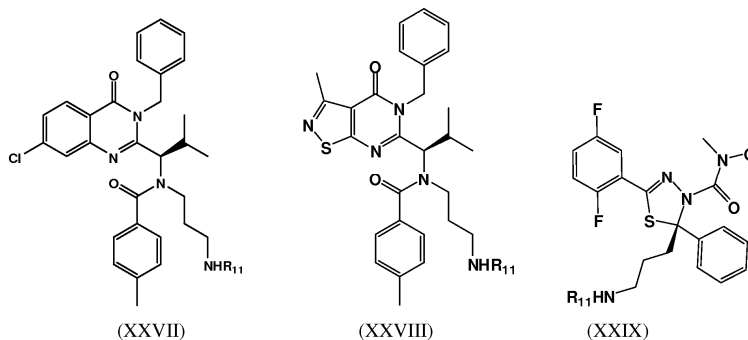
en donde:

a es un número entero de 1 a 6;

c es un número entero de 0 a 3; y

g es un número entero de 2 a 6.

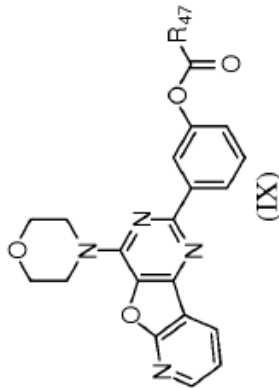
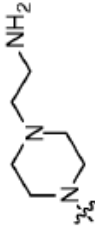
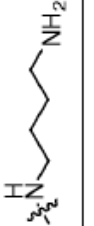
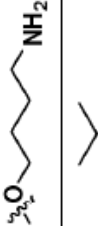
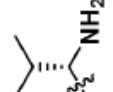
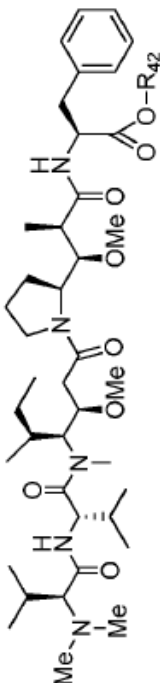
- 5 En otra realización, el compuesto inhibidor de KSP es un compuesto de Fórmula (XXVII), (XXVIII) o (XXIX):



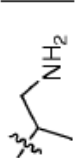
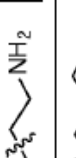

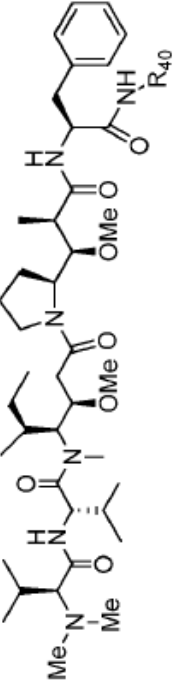


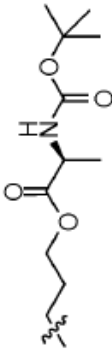
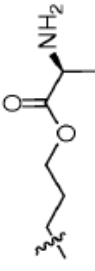
en donde:

R₁₁ es como se define aquí.



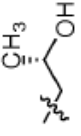
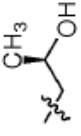
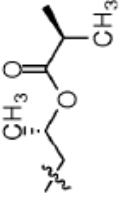
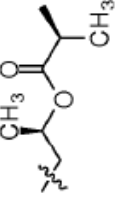
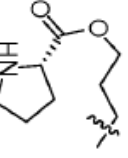
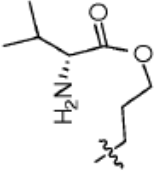
- 10 Un experto en la técnica de agentes terapéuticos comprenderá fácilmente que cada uno de los agentes terapéuticos descritos en la presente memoria puede ser modificado de tal manera que el compuesto resultante conserva todavía la especificidad y/o la actividad del compuesto original. El experto en la técnica comprenderá también que muchos de estos compuestos pueden usarse en lugar de los agentes terapéuticos descritos en la presente memoria. Por lo tanto, los agentes terapéuticos de la presente invención incluyen análogos y derivados de los compuestos descritos en la presente memoria.
- 15 La Tabla B a continuación proporciona más ejemplos de los agentes terapéuticos y derivados de los mismos adecuados para la conjugación para formar los conjugados de polímero-fármaco-proteína o las estructuras de fármaco-polímero de la invención. También se proporcionan datos espectrales de ciertos compuestos (ND en la tabla significa "no determinado"). Estos ejemplos también pueden ser la forma activa del fármaco cuando se libera de los conjugados de *in vitro* o *in vivo*.

Ref #		R ₄₀		(continuación)
				(IX)
		R ₄₇		
Ej. 24				ND
Ej. 25				ND
Ej. 30				ND
Ej. 33				ND
				(XI)
Ref #		R ₄₂		m/z
		H		

(continuación)

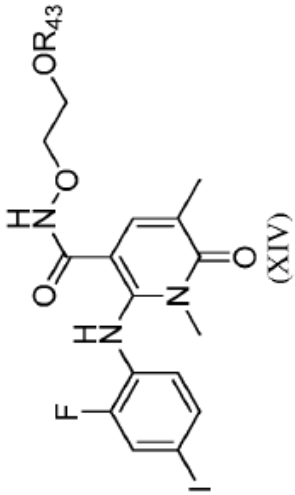
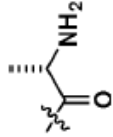
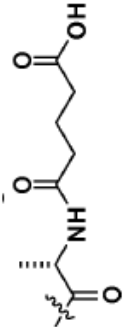
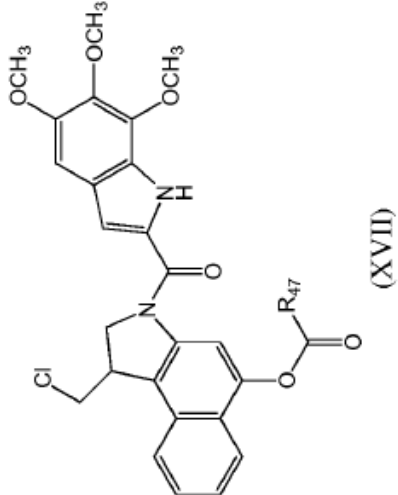
Ref #	R ₄₂	m/z
	-CH ₃	760
Ej. 39		802,6
		790
Ej. 64		804
 (XII)		
Ref #	R ₄₀	m/z
	-H	
Ej. 48		803,5
		789,1
Ej. 49		974,2
Ej. 50		874,5

(continuación)




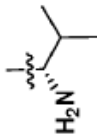
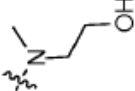
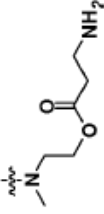
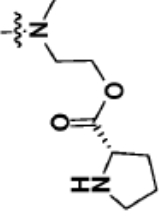
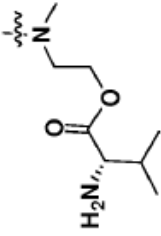
Ref #	R ₄₀	m/z
		
		
	-OH	788
Ej. 61		803,4
Ej. 62		803,4
		874,4
		874,4
		900,5
		900,5

(continuación)

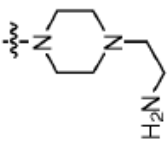
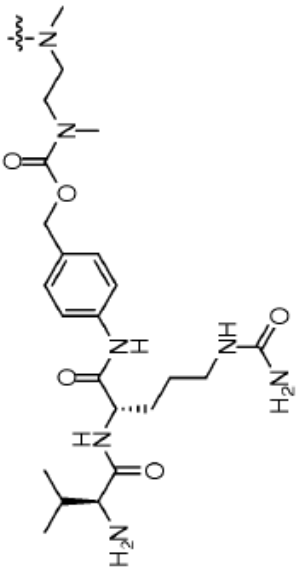
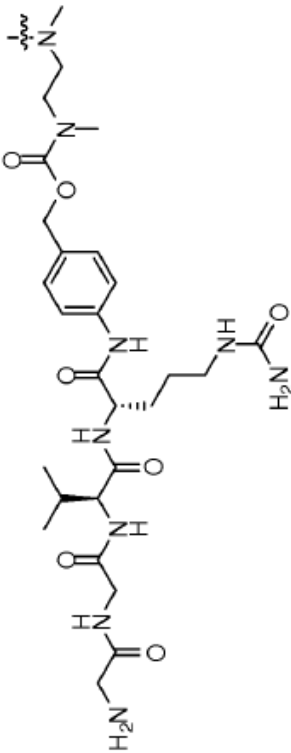
Ref #	R ₄₀	m/z
	<p>(XIII)</p>	
	-C(O)-R_{29}	903,2
		803,1
		790
		ND
		829,1
		802

(continuación)			
-C(O)-R ₂₉		m/z	
 (XIV)			
Ref #	R ₄₃	m/z	
Ej. 36		ND	
		644,9	
 (XVII)			

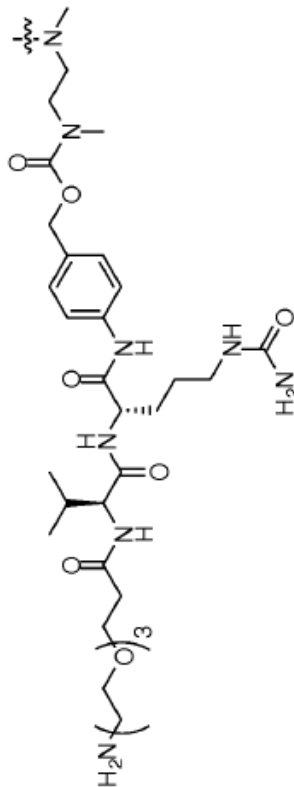
(continuación)

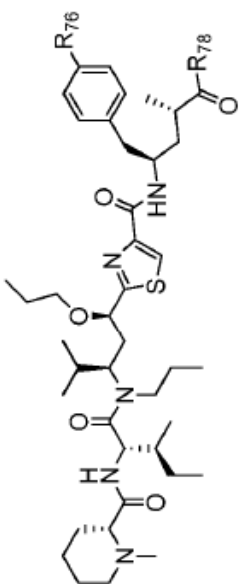


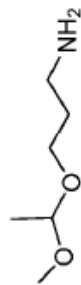
R_{47}	m/z
	553,1
	538,1
	564,1
	566,1
	568,1
	ND
	ND
	667,2

(continuación)

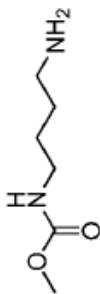


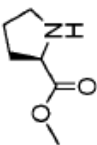
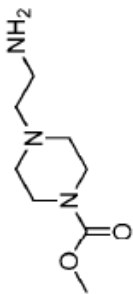
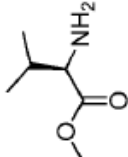
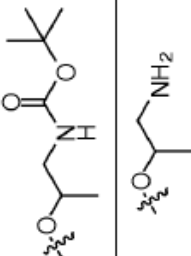
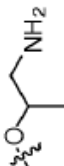
R_{47}	m/z
	622,2
	ND
	ND

(continuación)

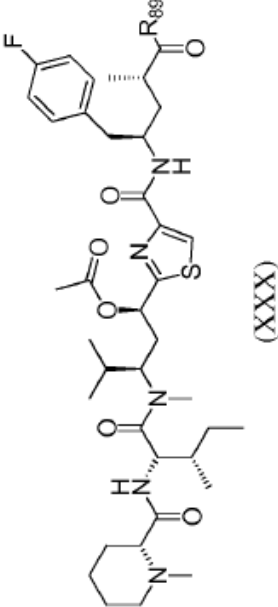

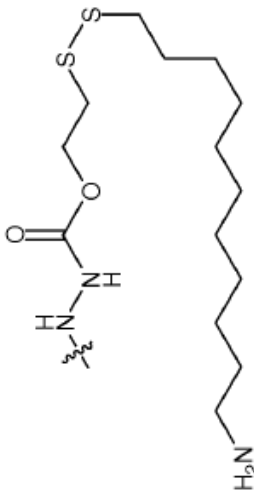
R ₄₇		m/z
		ND

 (XXIII)			
Ref #	R ₇₆	-R ₇₈	m/z
	OH	-OCH ₃	786,4
	OH	-NH ₂	771,4
	OH		829,4
	OH		ND
		OH	ND

(continuación)

Ref #	R ₇₆	-R ₇₈	m/z
		-OCH ₃	900,4
		-OH	ND
		-OCH ₃	1.000,5
Ej. 63		-OH	869,4
		-OH	ND
		-OH	871,4
Ej. 42	F		ND
Ej. 43	F		ND

(continuación)

Ref #	R ₇₆	-R ₇₈	m/z
	 (XXX)		
Ref #	-R ₈₉		
Ej. 45			
Ej. 46			

Moléculas de reconocimiento basadas en proteínas (PBRM)

Las moléculas de reconocimiento basadas en proteínas dirigen los conjugados de soporte polimérico-fármaco a tejidos, células o ubicaciones específicos en una célula. Las moléculas de reconocimiento basada en proteínas pueden dirigir el polímero modificado en cultivo o en un organismo completo, o ambos. En cada caso, la molécula de reconocimiento basada en proteínas tiene un ligando que está presente en la superficie celular de la célula o células diana a la que se une con una especificidad, afinidad y avidez efectivas. En algunas realizaciones, la molécula de reconocimiento basada en proteínas se dirige al polímero modificado a otros tejidos distintos del hígado. En otras realizaciones, las moléculas de reconocimiento basadas en proteínas dirigen al polímero modificado a un tejido específico tal como el hígado, el riñón, el pulmón o el páncreas. Las moléculas de reconocimiento basadas en proteínas pueden dirigir al polímero modificado a una célula diana tal como una célula cancerosa, tal como un receptor expresado en una célula tal como una célula cancerosa, un tejido matriz o una proteína asociada con cáncer, tal como un antígeno tumoral. Alternativamente, las células que comprenden la vasculatura tumoral pueden ser dirigidas. Las moléculas de reconocimiento basadas en proteínas pueden dirigir el polímero a tipos específicos de células tales como el direccionamiento específico a hepatocitos en el hígado en oposición a las células de Kupffer. En otros casos, las moléculas de reconocimiento basadas en proteínas pueden dirigir el polímero a las células del sistema endotelial o linfático reticular, o a células fagocíticas profesionales tales como macrófagos o eosinófilos. (En tales casos, el propio polímero podría ser también un sistema de administración eficaz, sin necesidad de un direccionamiento específico).

En aún otras realizaciones, la molécula de reconocimiento basada en proteínas puede dirigir el polímero modificado a una ubicación dentro de la célula, tal como el núcleo, el citoplasma o el endosoma, por ejemplo. En realizaciones específicas, la molécula de reconocimiento basada en proteínas puede aumentar la unión celular a receptores, o el transporte citoplasmático al núcleo y la entrada o liberación nuclear de endosomas u otras vesículas intracelulares.

En realizaciones específicas, las moléculas de reconocimiento basadas en proteínas incluyen anticuerpos, proteínas y péptidos o péptido miméticos.

Los ejemplos de anticuerpos o anticuerpos derivados de fragmentos de cadena pesada de anticuerpos Fab, Fab2, scFv o de camello específicos para los marcadores de superficie celular incluyen, pero no se limitan a, 5T4, AOC3, C242, CA-125, CC^{L1}, CCR5, CD2, CD3, CD4, CD5, CD15, CD18, CD19, CD20, CD22, CD23, CD25, CD28, CD30, CD31, CD33, CD37, CD38, CD40, CD41, CD44, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD74, CD80, CD125, CD138, CD141, CD147, CD152, CD154, CD326, CEA, factor de aglutinación, CTLA-4, EGFR, ErbB2, ErbB3, EpCAM, receptor de folato, FAP, GD2, GD3, GPNMB, HGF, HER2, ICAM, receptor de IGF-1, VEGFR1, EphA2, TRPV1, CFTR, gpNMB, CA9, Cripto, ACE, APP, receptor adrenérgico beta2, Claudina 3, Mesotelina, receptor de IL-2, receptor de IL-4, receptor de IL-13, integrinas (incluyendo integrinas α_4 , $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_1\beta_4$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_4\beta_7$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_4$, $\alpha_{IIb}\beta_3$), IFN- α , IFN- γ , IgE, IgE, receptor de IGF-1, IL-1, IL-12, IL-23, IL-13, IL-22, IL-4, IL-5, IL-6, receptor de interferón, ITGB2 (CD18), LFA-1 (CD11a), L-selectina (CD62L), mucina, MUC1, miostatina, NCA-90, NGF, PDGFR α , fosfatidilserina, células de carcinoma prostático, *Pseudomonas aeruginosa*, rabia, RANKL, virus sincitial respiratorio, factor Rhesus, SLAMF7, esfingosina 1 fosfato, TAG 72, receptor de células T, tenascina C, TGF-1, TGF- β 2, TGF- β , TNF- α , TRAIL-R1, TRAIL-R2, antígeno tumoral CTAA16.88, VEGF-A, VEGFR2, vimentina y similares.

En una realización, los anticuerpos o anticuerpos derivados de fragmentos de cadenas pesadas de anticuerpos Fab, Fab2, scFv o de camello específicos para los marcadores de superficie celular incluyen CA-125, C242, CD3, CD19, CD22, CD25, CD30, CD31, CD33, CD37, CD40, CD44, CD51, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD138, CD141, CD326, CEA, CTLA-4, EGFR, ErbB2, ErbB3, FAP, receptor de folato, receptor de IGF-1, GD3, GPNMB, HGF, HER2, VEGF-A, VEGFR2, VEGFR1, EphA2, EpCAM, 5T4, TAG-72, tenascina C, TRPV1, CFTR, gpNMB, CA9, Cripto, ACE, APP, PDGFR α , fosfatidilserina, células de carcinoma prostático, receptor adrenérgico beta2, Claudina 3, mucina, MUC1, Mesotelina, receptor de IL-2, receptor de IL-4, receptor de IL-13 e integrinas (incluyendo integrinas $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_1\beta_4$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_4$), tenascina C, TRAIL-R2 y vimentina.

Ejemplos de anticuerpos incluyen 3F8, abagovomab, abciximab (REOPRO), adalimumab (HUMIRA), adecatumumab, afelimomab, afutuzumab, alacizumab, ALD518, alemtuzumab (CAMPATH), altumomab, amatuximab, anatomomab, anrukizumab, apolizumab, arcitumomab (CEA-SCAN), aselizumab, atlizumab (tocilizumab, Actemra, RoActemra), atorolimumab, bapineuzumab, basiliximab (Simulect), bavituximab, bectumomab (LYMPHOSCAN), belimumab (BENLYSTA), benralizumab, bertilimumab, besilesomab (SCINITIMUN), bevacizumab (AVASTIN), biciromab (FIBRISCINT), bivatuzumab, blinatumomab, brentuximab, briakinumab, canakinumab (ILARIS), cantuzumab, capromab, catumaxomab (REMOVAB), CC49, cedelizumab, certolizumab, cetuximab (ERBITUX), citatuzumab, cixutumumab, clenoliximab, clivatuzumab, conatumumab, CR6261, dacetuzumab, daclizumab (ZENAPAX), daratumumab, denosumab (PROLIA), detumomab, dorlimomab, dorlixizumab, ecromeximab, eculizumab (SOLIRIS), edobacomab, edrecolomab (PANOREX), efalizumab (RAPTIVA), efungumab (MYCOGRAB), elotuzumab, elsilimumab, enlimomab, epitumomab, epratuzumab, erlizumab, ertumaxomab (REXOMUN), etaracizumab (ABEGRIN), exbivirumab, fanolesomab (NEUTROSPEC), faralimumab, farletuzumab, felvizumab, fezakinumab, figitumumab, fontolizumab (HuZAF), foravirumab, fresolimumab, galiximab, gantenerumab, gavilimumab, girentuximab, gemtuzumab, glembatumumab, golimumab (SIMPONI), gomiliximab, ibalizumab, ibritumomab, igovomab (INDIMACIS-125), imciromab (MYOSCINT), infliximab (REMICADE), intetumumab, inolimumab, inotuzumab, ipilimumab, iratumumab, keliximab,

5 labetuzumab (CEA-CIDE), lebrikizumab, lemalesomab, lerdelumab, lexatumumab, libivirumab, lintuzumab, lucatumumab, lumiliximab, mapatumumab, maslimomab, matuzumab, mepolizumab (BOSATRIA), metelimumab, milatuzumab, minretumomab, mitumomab, morolimomab, motavizumab (NUMAX), muromonab-CD3 (ORTHOCLONE OKT3), nacolomab, naptumomab, natalizumab (TYSABRI), nebacumab, necitumumab, nerelimomab, nimotuzumab (THERACIM), nofetumomab, ocrelizumab, odulimomab, ofatumumab (ARZERRA), olaratumab, omalizumab (XOLAIR), ontecizumab, oportuzumab, oregovomab (OVAREX), otelixizumab, pagibaximab, palivizumab (SYNAGIS), panitumumab (VECTIBIX), panobacumab, pascolizumab, pemtumomab (THERAGYN), pertuzumab (OMNITARG), pexelizumab, pintumomab, priliximab, pritumumab, PRO 140, rafivirumab, ramucirumab, ranibizumab (LUCENTIS), raxibacumab, regavirumab, reslizumab, rilotumumab, rituximab (RITUXAN), robatumumab, rontalizumab, rovelizumab (LEUKARREST), ruplizumab (ANTOVA), pendetida satumomab, sevirumab, sibrotuzumab, sifalimumab, siltuximab, siplizumab, solanezumab, sonepcizumab, sontuzumab, stamulumab, sulesomab (LEUKOSCAN), tacatuzumab (AFP-CIDE), tetraxetano, tadocizumab, talizumab, tanezumab, taplitumomab paptox, tefibazumab (AUREXIS), telimomab, tenatumomab, teneliximab, teplizumab, TGN1412, ticilimumab (tremelimumab), tigatuzumab, TNX-650, tocilizumab (atlizumab, ACTEMRA), toralizumab, tositumomab (BEXXAR), trastuzumab (HERCEPTIN), tremelimumab, 10 tucotuzumab, tuvirumab, urtoxazumab, ustekinumab (STELERA), vapaliximab, vedolizumab, veltuzumab, vepalimomab, visilizumab (NUVION), volociximab (HUMASPECT), votumumab, zalutumumab (HuMEX-EGFr), zanolimumab (HuMax-CD4), ziralimumab y zolimomab.

20 En algunas realizaciones los anticuerpos se dirigen a marcadores de superficie celular para 5T4, CA-125, CEA, CD3, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD40, CD44, CD51, CTLA-4, EpCAM, HER2, EGFR, FAP, receptor de folato, HGF, integrina $\alpha\beta_3$, integrina $\alpha_5\beta_1$, receptor de IGF-1, GD3, GPNMB, mucina, MUC1, fosfatidilserina, células de carcinoma prostático, PDGFR α , TAG-72, tenascina C, TRAIL-R2, VEGF-A Y VEGFR2. En esta realización los anticuerpos son abagovomab, adecatumumab, alacizumab, altumomab, anatumomab, arcitumomab, baviximab, bevacizumab (AVASTIN), bivatuzumab, blinatumomab, brentuximab, cantuzumab, catumaxomab, capromab, cetuximab, citatuzumab, 25 clivatuzumab, conatumumab, dacetuzumab, edrecolomab, epratuzumab, ertumaxomab, etaracizumab, farletuzumab, figitumumab, gemtuzumab, glembatumumab, ibritumomab, igovomab, intetumumab, inotuzumab, labetuzumab, lexatumumab, lintuzumab, lucatumumab, matuzumab, mitumomab, naptumomab estafenatox, necitumumab, oportuzumab, oregovomab, panitumumab, pemtumomab, pertuzumab, pritumumab, rituximab (RITUXAN), rilotumumab, robatumumab, satumomab, sibrotuzumab, taplitumomab, tenatumomab, tenatumomab, ticilimumab (tremelimumab), tigatuzumab, trastuzumab (HERCEPTIN), tositumomab, tremelimumab, tucotuzumab celmoleukin, volociximab y 30 zalutumumab.

En realizaciones específicas, los anticuerpos dirigidos a marcadores de superficie celular para HER2 son pertuzumab o trastuzumab y para EGFR el anticuerpo es cetuximab y para CD20 el anticuerpo es rituximab y para VEGF-A es bevacizumab y para CD-22 el anticuerpo es epratuzumab o veltuzumab y para CEA el anticuerpo es labetuzumab.

35 Los ejemplos de péptidos o péptido miméticos incluyen péptidos dirigidos a integrinas (péptidos RGD), péptidos dirigidos al receptor LHRH, péptidos dirigidos al receptor de ErbB2 (HER2), péptidos dirigidos al antígeno unido a la membrana específica de próstata (PSMA), direccionamiento del receptor LRP1 de lipoproteína, péptidos derivados de proteína ApoE, péptidos de proteína ApoA, péptidos dirigidos al receptor de somatostatina, péptidos derivados de clorotoxina y bombesina.

40 En realizaciones específicas, los péptidos o péptido miméticos son péptidos dirigidos al receptor de LHRH y péptidos dirigidos al receptor de ErbB2 (HER2).

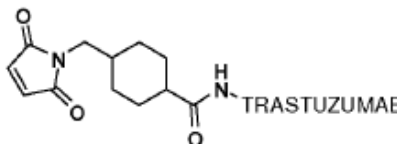
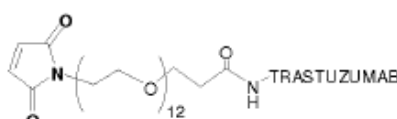
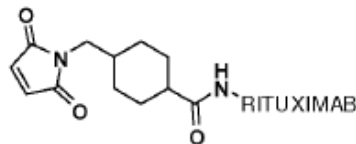
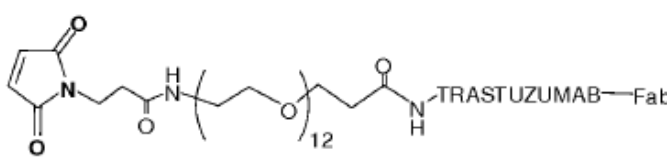
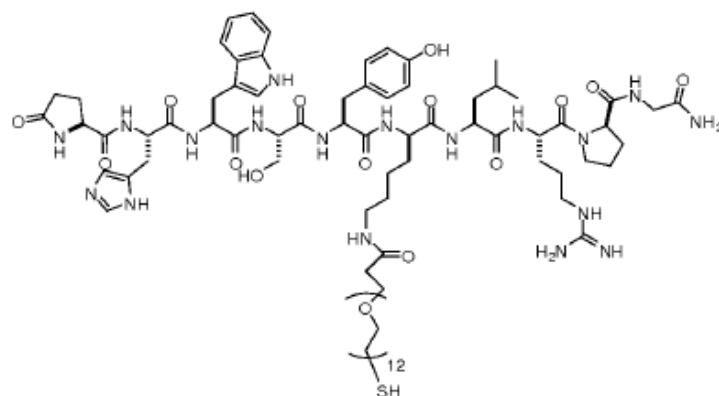
Los ejemplos de proteínas comprenden insulina, transferrina, fragmento de fibrinógeno-gamma, trombospondina, claudina, apolipoproteína E, moléculas Afficuerpo tales como, por ejemplo, ABY-025, proteínas de repetición Ankirina, proteínas de repetición de tipo ankirina y péptidos sintéticos.

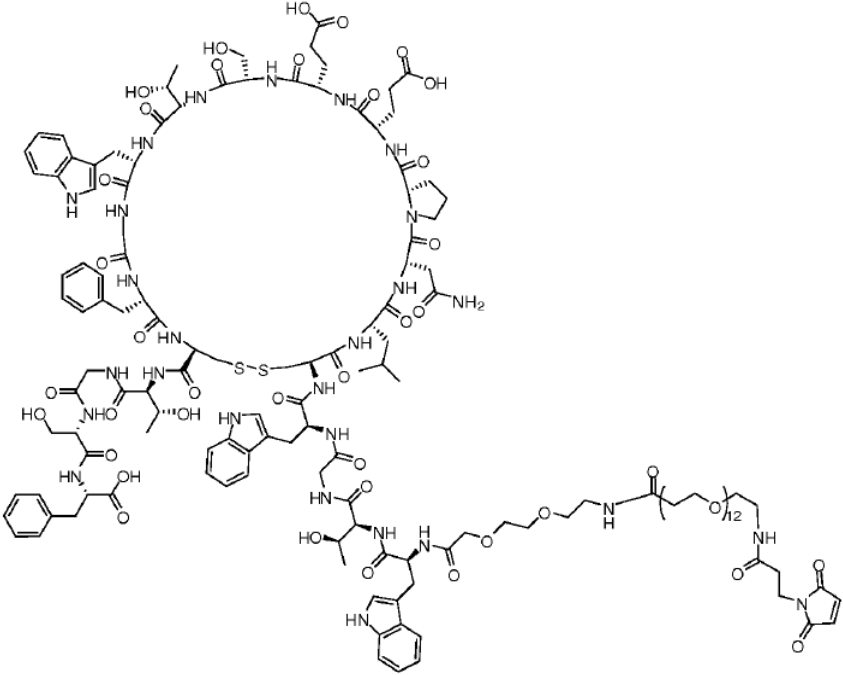
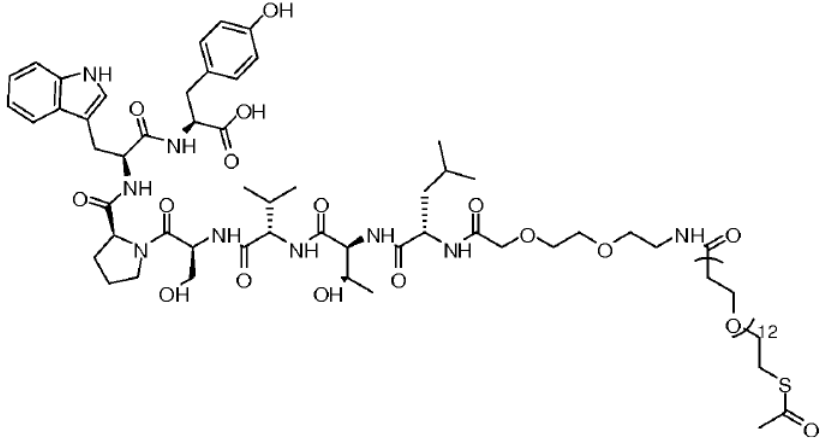
45 En algunas realizaciones de la invención, los conjugados de proteína-fármaco-polímero comprenden citotoxinas de amplio espectro en combinación con marcadores de superficie celular para HER2 tales como pertuzumab o trastuzumab; para EGFR tal como cetuximab; para CEA tal como labetuzumab; para CD20 tal como rituximab; para VEGF-A tal como bevacizumab; o para CD-22 tal como epratuzumab o veltuzumab.

50 En otras realizaciones de la invención, los conjugados de proteína-fármaco-polímero o conjugados de proteína-polímero usados en la invención comprenden combinaciones de dos o más moléculas de reconocimiento basadas en proteínas, tales como, por ejemplo, combinación de anticuerpos biespecíficos dirigidos al receptor de EGF (EGFR) en células tumorales y a CD3 y CD28 en células T; combinación de anticuerpos o anticuerpos derivados de fragmentos de cadenas pesadas de anticuerpos de Fab, Fab2, scFv o de camello y péptidos o péptido miméticos; combinación de anticuerpos o anticuerpos derivados de fragmentos de cadena pesada de anticuerpos de Fab, Fab2, scFv o de camello y proteínas; combinación de dos anticuerpos biespecíficos tales como anticuerpos biespecíficos CD3 x CD19 más CD28 55 x CD22.

La Tabla C a continuación proporciona más ejemplos de la PBRM descritos en el presente documento, que son adecuados para la conjugación para formar los conjugados de polímero-fármaco-proteína o las estructuras de polímero-PBRM de la invención.

Tabla C

Ref #	PBRM
Ej. 3	
Ej. 4	
Ej. 53	
Ej. 60	TRASTUZUMAB-Fab-SH
	
Ej. 10	

Ref #	PBRM
Ej. 14	
Ej. 16	

Enlazadores (L^D y L^P)

Como se ha descrito anteriormente, el fármaco o PBRM está conectado al soporte polimérico por medio de un enlazador L^D o L^P . En algunas realizaciones, el enlazador es bioescindible/biodegradable en condiciones intracelulares, de tal manera que la escisión del enlazador libera el fármaco o PBRM de la unidad de polímero en el entorno intracelular.

Un enlazador es cualquier fracción química que es capaz de enlazar un fármaco o una PBRM a una cadena principal de polímero a través de enlaces químicos de manera que el fármaco o PBRM y el polímero se acoplan químicamente (por ejemplo, unidos covalentemente) entre sí. En algunas realizaciones, el enlazador comprende una fracción enlazadora biodegradable (por ejemplo, un enlace biodegradable tal como un enlace éster o amida).

En otras realizaciones, el enlazador L^D o L^P es biodegradable bajo condiciones suaves, es decir, las condiciones dentro de una célula bajo las cuales la actividad del fármaco no se ve afectada. Ejemplos de fracciones de enlazadores biodegradables adecuados incluyen enlazadores disulfuro, enlazadores lábiles a ácidos, enlazadores fotolábiles, enlazadores lábiles a peptidasa y enlazadores lábiles a esterasa.

En algunas realizaciones, el enlazador L^D o L^P es bioescindible bajo condiciones reductoras (por ejemplo, un enlazador disulfuro). En esta realización, el fármaco o fracción de PBRM está unido al polímero a través de un enlace disulfuro. La

- molécula enlazadora comprende un grupo químico reactivo que puede reaccionar con el fármaco. Los grupos químicos reactivos preferidos para la reacción con el fármaco o la fracción de PBRM son ésteres de N-succinimidilo y ésteres de N-sulfosuccinimidilo. Adicionalmente, la molécula enlazadora comprende un grupo químico reactivo, preferiblemente un grupo ditiopiridilo que puede reaccionar con el fármaco para formar un enlace disulfuro. En algunas realizaciones las moléculas enlazadoras incluyen, por ejemplo, 3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo (SPDP), 4-(2-piridilditio)butanoato de N-succinimidilo (SPDB), 4-(2-piridilditio)pentanoato de N-succinimidilo (SPP), N-succinimidil-S-acetilacetato (SATA) y N-succinimidil-oxicarbonil-alfa-metil-alfa-(2-piridil-ditio)tolueno o 4-1-(piridin-2-ildisulfanil)etil benzoato de 2,5-dioxipirrolidin-1-ilo (SMPT).
- En otras realizaciones, el enlazador bioescindible L^D o L^P es sensible al pH, es decir, sensible a la hidrólisis a determinados valores de pH. Típicamente, el enlazador sensible al pH es hidrolizable en condiciones ácidas. Por ejemplo, puede usarse un enlazador sensible al ácido que es hidrolizable en el lisosoma o endosoma (por ejemplo, una hidrazona, semicarbazona, tiosemicarbazona, amida cis-aconítica, ortoéster, acetal, cetel, o similares). Dichos enlazadores son relativamente estables en condiciones de pH neutro, tales como los de la sangre, pero son inestables por debajo de pH 5,5 o 5,0, el pH aproximado del lisosoma. En ciertas realizaciones, el enlazador hidrolizable es un enlazador tioéter (tal como, por ejemplo, un tioéter unido al agente terapéutico a través de un enlace acilhidrazona).
- En otras realizaciones, el enlazador L^D o L^P es sensible a la luz y es útil en la superficie del cuerpo y en muchas cavidades corporales que son accesibles a la luz. Además, L^D o L^P es bioescindible por la luz infrarroja que puede penetrar el tejido. Por consiguiente, L^D o L^P es útil para ambas aplicaciones en la superficie corporal y en el tejido.
- En algunas realizaciones, el enlazador L^D o L^P es bioescindible por un agente de escisión que está presente en el entorno intracelular (por ejemplo, dentro de un lisosoma o endosoma o caveolas). El enlazador puede ser, por ejemplo, un enlazador peptídico que se escinde por una peptidasa intracelular o una enzima proteasa, incluyendo, pero sin limitarse a, una proteasa lisosomal o endosómica.
- En algunas realizaciones, el enlazador L^D o L^P se escinde por esterasas. Solamente ciertos ésteres pueden ser escindidos por las esterasas presentes dentro o fuera de las células. Los ésteres se forman por la condensación de un ácido carboxílico y un alcohol. Los ésteres simples son ésteres producidos con alcoholes simples, tales como alcoholes alifáticos y alcoholes aromáticos pequeños y cíclicos pequeños.
- En aún otras realizaciones, el enlazador L^D o L^P no es bioescindible y el fármaco es liberado por degradación del anticuerpo. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense No. 7.498.298,
- Típicamente, el enlazador L^D o L^P no es sustancialmente sensible al medio extracelular. Tal como se usa en el presente documento, "no sustancialmente sensible al entorno extracelular", en el contexto de un enlazador, significa que no más de aproximadamente 20%, típicamente no más de aproximadamente 15%, más típicamente no más de aproximadamente 10%, e incluso más típicamente no más de aproximadamente 5%, no más de aproximadamente 3%, o no más de aproximadamente 1% de los enlazadores, en una muestra de conjugado de polímero-fármaco, se escinden cuando el conjugado de polímero-fármaco se presenta en un ambiente extracelular (por ejemplo, en plasma) durante 24 horas. Puede determinarse si un enlazador no es sustancialmente sensible al medio extracelular, por ejemplo, incubando el conjugado de polímero-fármaco con plasma durante un periodo de tiempo predeterminado (por ejemplo, 2, 4, 8, 16 o 24 horas) y luego cuantificando la cantidad de fármaco libre presente en el plasma.
- En las realizaciones, el enlazador L^D tiene la estructura:
- $-R^{L1}-C(=O)-X^D-M^{D1}-Y^D-M^{D2}-Z^D-M^{D3}-Q^D-M^{D4}-$, con R^{L1} conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico y M^{D4} conectado a la molécula del fármaco que se va a administrar.
- En las realizaciones, el enlazador L^P tiene la estructura:
- L^P es un enlazador que tiene la estructura: $-R^{L2}-C(=O)-X^P-M^{P1}-Y^P-M^{P2}-Z^P-M^{P3}-Q^P-M^{P4}-$, con R^{L2} conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico y M^{P4} conectado a la PBRM.
- Por ejemplo, cada uno de R^{L1} y R^{L2} está independientemente ausente, es alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroalquilo, heteroalquenilo, heteroalquinilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo.
- Por ejemplo, cada uno de R^{L1} y R^{L2} está independientemente ausente, alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, o heterocicloalquilo.
- Por ejemplo, R^{L1} está ausente.
- Por ejemplo, R^{L2} está ausente.

Por ejemplo, cada uno de X^D y X^P , independientemente es $-O-$, $-S-$, $-N(R^1)-$ o ausente, en donde R^1 es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo, $-C(=O)R^{1B}$, $-C(=O)OR^{1B}$, $-SO_2R^{1B}$ o $-N(R^1)-$ es una fracción heterocicloalquilo, en la que R^{1B} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo.

- 5 Por ejemplo, está ausente cada uno de Y^D , Y^P , Z^D , Z^P , Q^D , and Q^P , independientemente, está ausente o es una fracción enlazadora biodegradable seleccionada de entre el grupo que consiste en $-S-S-$, $-C(=O)O-$, $-C(=O)NR^2-$, $-OC(=O)-$, $-NR^2C(=O)-$, $-OC(=O)NR^2-$, $-NR^2C(=O)O-$, $-NR^2C(=O)NR^3-$, $-C(OR^2)O-$, $-C(OR^2)S-$, $-C(OR^2)NR^3-$, $-C(SR^2)O-$, $-C(SR^2)S-$, $-C(SR^2)NR^3-$, $-C(NR^2R^3)O-$, $-C(NR^2R^3)S-$, $-C(NR^2R^3)NR^4-$, $-C(=O)S-$, $-SC(=O)-$, $-SC(=O)S-$, $-OC(=O)S-$, $-SC(=O)O-$, $-C(=S)S-$, $-SC(=S)-$, $-OC(=S)-$, $-C(=S)O-$, $-SC(=S)O-$, $-OC(=S)S-$, $-OC(=S)O-$, $-SC(=S)S-$, $-C(=NR^2)O-$, $-C(=NR^2)S-$, $-C(=NR^2)NR^3-$, $-OC(=NR^2)-$, $-SC(=NR^2)-$, $-NR^3C(=NR^2)-$, $-NR^2SO_2-$, $-NR^2NR^3-$, $-C(=O)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=O)-$, $-OC(=O)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=O)O-$, $-C(=S)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=S)-$, $-C(=NR^4)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=NR^4)-$, $-O(N=CR^3)-$, $-(CR^3=N)O-$, $-C(=O)NR^2-(N=CR^3)-$, $-(CR^3=N)-NR^2C(=O)-$, $-SO_3-$, $-NR^2SO_2NR^3-$, $-SO_2NR^2-$, y poliamida, en donde cada aparición de R^2 , R^3 , a R^4 es independientemente hidrógeno o una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocíclica, o cada aparición de $-NR^2-$ o $-NR^2NR^3-$ es una fracción heterocicloalquilo.

- 10 Por ejemplo, cada uno de M^{D1} , M^{D2} , M^{D3} , M^{D4} , M^{P1} , M^{P2} , M^{P3} y M^{P4} , independientemente, está ausente o es una fracción enlazadora no biodegradable seleccionada del grupo que consiste en alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, heteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, y una combinación de los mismos y cada uno de M^{D1} , M^{D2} , M^{P3} , M^{P2} , y M^{P3} contiene opcionalmente uno o más $-(C=O)-$ pero no contiene ninguna de las fracciones enlazadoras biodegradables mencionadas anteriormente.

Por ejemplo, cada uno de M^{D1} , M^{D2} , M^{D3} , M^{D4} , M^{P1} , M^{P2} , M^{P3} y M^{P4} , independientemente es alquilo C_{1-6} , alquilo $C_{1-6}-C(O)-$ alquilo C_{0-6} , alquilo $C_{1-6}-NH-$ alquilo C_{0-6} , alquilo $C_{1-6}-O-$ alquilo C_{0-6} , alquilo $C_{1-6}-S-$ alquilo C_{0-6} , alquilo $C_{1-6}-C(O)-$ alquilo $C_{1-6}-NH$, alquilo $C_{1-6}-C(O)-$ alquilo $C_{1-6}-O$, alquilo $C_{1-6}-C(O)-$ alquilo $C_{1-6}-S$, cicloalquilo $C_{3-10}-C(O)-$ alquilo C_{0-6} , heterocicloalquilo de 3-19 miembros- $C(O)-$ alquilo C_{0-6} , aril- $C(O)-$ alquilo C_{0-6} , $(CH_2CH_2O)_{1-12}$, y similares.

- 25 Por ejemplo, para cada L^D , M^{D1} no está ausente cuando X^D está ausente.

Por ejemplo, para cada L^P , M^{P1} no está ausente cuando X^P está ausente.

Por ejemplo, para cada L^D , al menos uno de X^D , Y^D , Z^D , y Q^D no está ausente.

Por ejemplo, para cada L^P , al menos uno de X^P , Y^P , Z^P , y Q^P no está ausente.

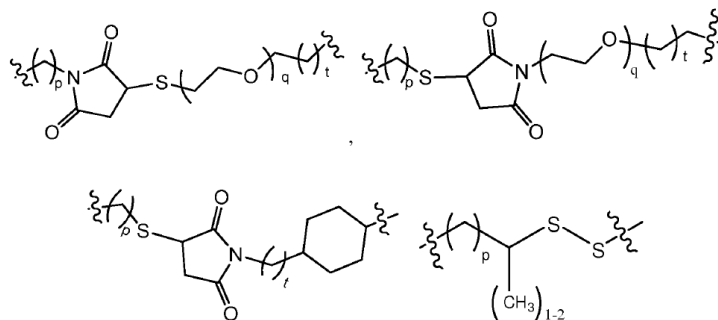
Por ejemplo, cada uno de M^{D1} y M^{P1} es independientemente alquilo C_{1-6} o haloalquilo C_{1-6} .

- 30 Por ejemplo, cada uno de M^{D2} , M^{D3} , M^{D4} , M^{P2} , M^{P3} y M^{P4} , está independientemente ausente, es alquilo C_{1-6} , cicloalquilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, o una combinación de los mismos.

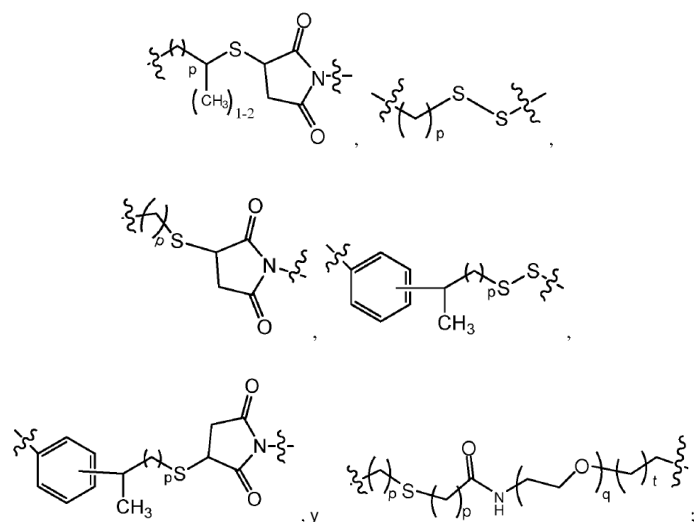
Por ejemplo, para cada L^D , están ausentes a lo sumo dos de M^{D2} , M^{D3} y M^{D4} .

Por ejemplo, para cada L^P , están ausentes a lo sumo dos de M^{P2} , M^{P3} y M^{P4} .

Por ejemplo, para cada L^D , uno de M^{D2} y M^{D3} tiene una de las estructuras siguientes:

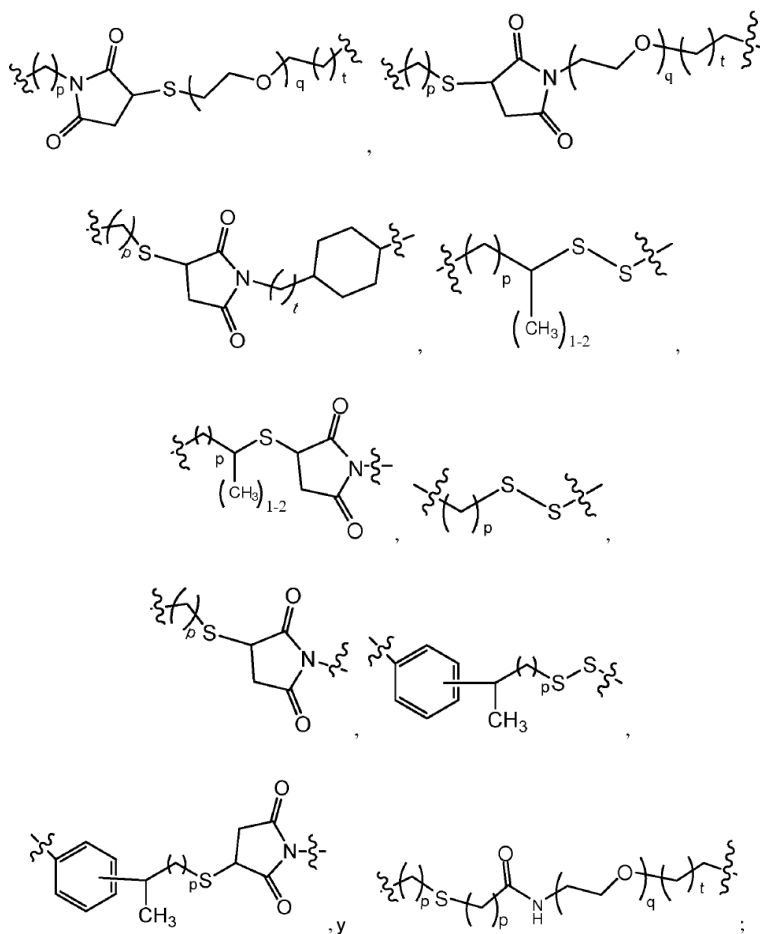


35



5 en donde q es un número entero de 0 a 12 y cada uno de p y t es independientemente un número entero de 0 a 3, y el otro de M^{D2} o M^{D3} está ausente o es una fracción diferente de la anterior, tal como alquilo C_{1-6} .

Por ejemplo, para cada L^P , uno de M^{P2} y M^{P3} tiene una de las siguientes estructuras:



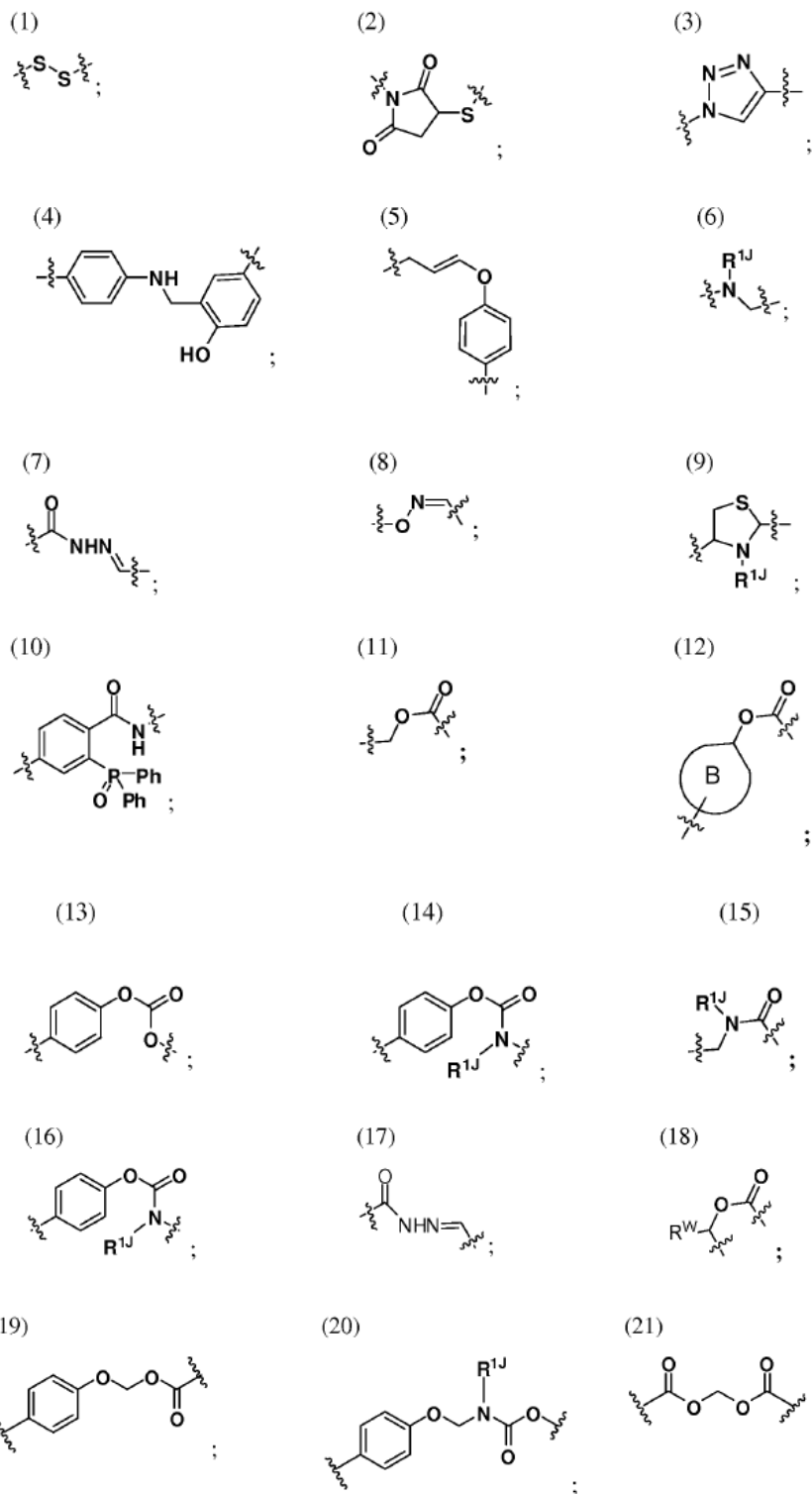
10 en donde q es un número entero de 0 a 12 y cada uno de p y t es independientemente un número entero de 0 a 3, y el otro de M^{P2} o M^{P3} está ausente o es una fracción diferente de la anterior, tal como alquilo C_{1-6} .

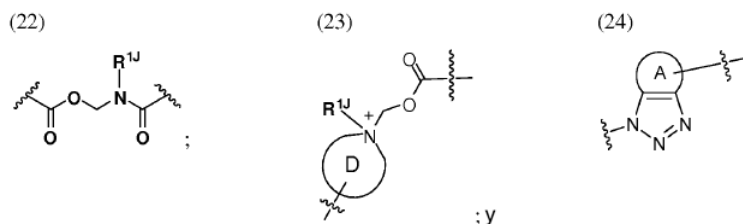
Por ejemplo, p es 2.

Por ejemplo, q es 0 o 12.

Por ejemplo, t es 0 o 1.

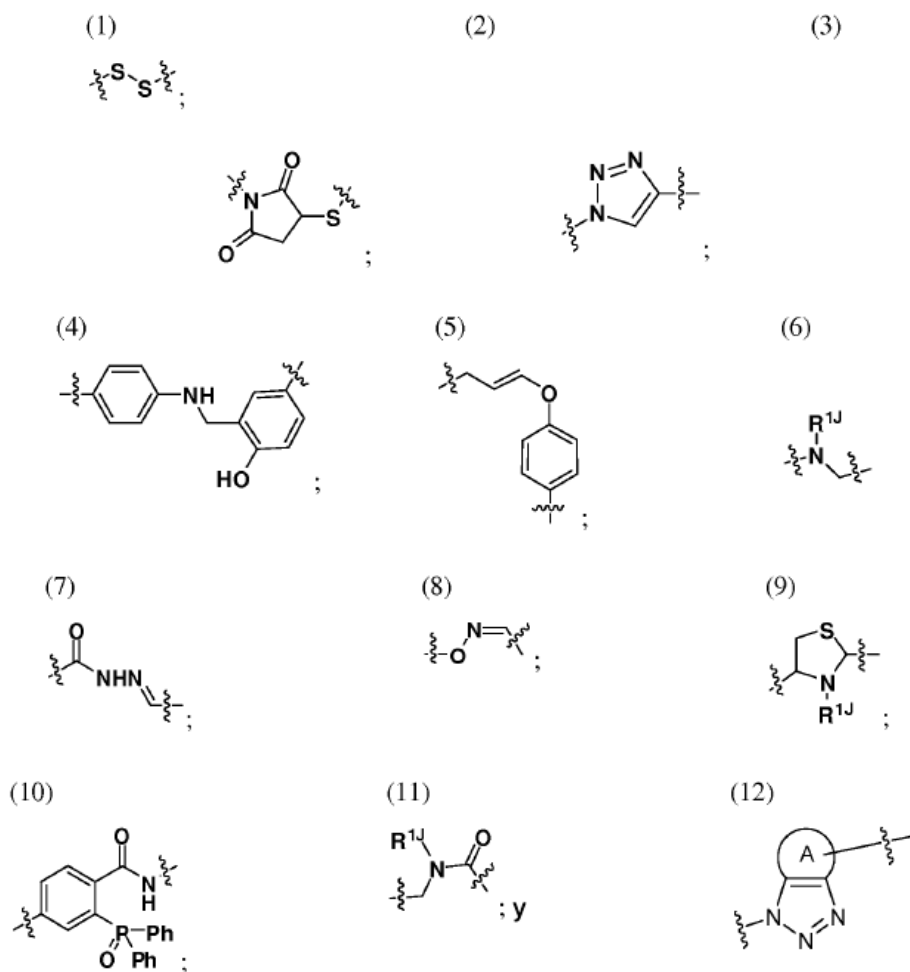
Por ejemplo, cada uno de $-M^{D2}-Z^D-$, $-Z^D-M^{D3}-$, $-Z^D-M^{D2}-$ o $-M^{D3}-Z^D-$, tiene independientemente una de las siguientes estructuras:





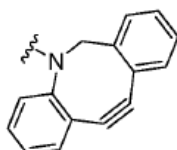
en donde el anillo A o B es independientemente cicloalquilo o heterocicloalquilo; R^W es una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo; R^{1J} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo; y el anillo D es heterocicloalquilo.

5 Por ejemplo, cada uno de $-M^{P2}-Z^P-$, $-Z^P-M^{P3}-$, $-Z^P-M^{P2}-$ y $-M^{P3}-Z^P-$ independientemente, tiene una de las siguientes estructuras:



10 en donde el anillo A es cicloalquilo o heterocicloalquilo y R^{1J} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo.

Por ejemplo, el anillo A es heterocicloalquilo de 5-19 miembros, por ejemplo,



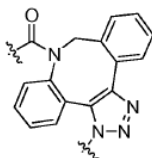
Por ejemplo, el anillo A es cicloalquilo C_{3-8} .

Por ejemplo, el anillo D es piperazinilo o piperidinilo.

Por ejemplo, R^W es alquilo C_{1-6} .

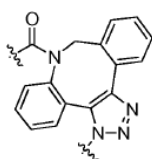
Por ejemplo, R^{1J} es hidrógeno o alquilo C_{1-6} .

Por ejemplo, Z^D es



5

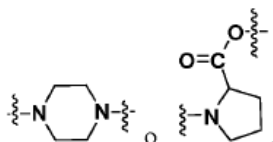
Por ejemplo, Z^P es



Por ejemplo, X^D está ausente, O o NH.

Por ejemplo, X^P está ausente, O o NH.

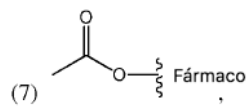
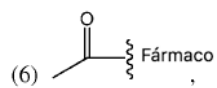
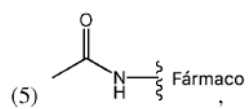
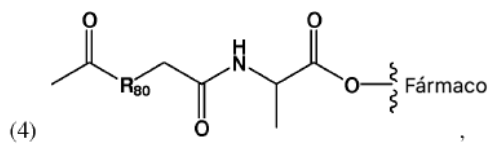
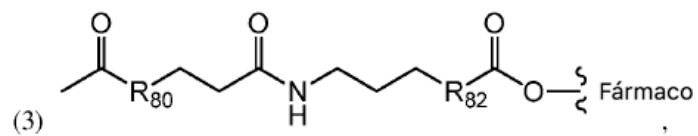
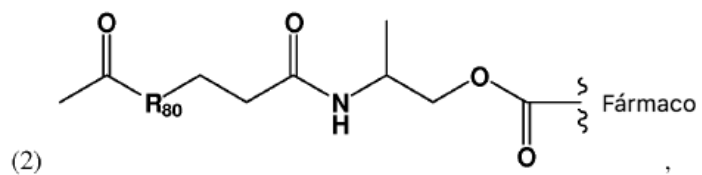
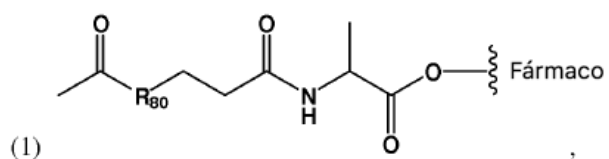
10 Por ejemplo, cada uno de X^D y X^P , independientemente es

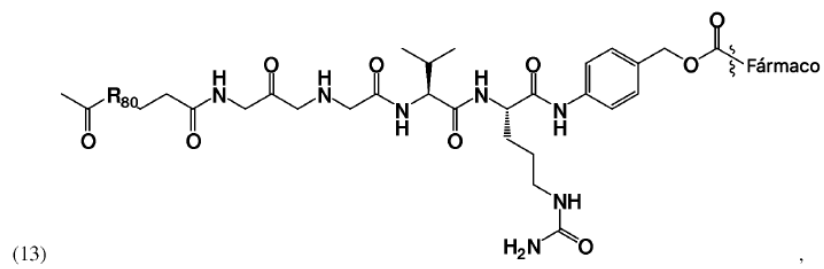
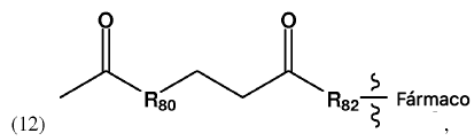
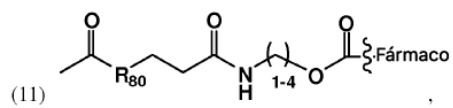
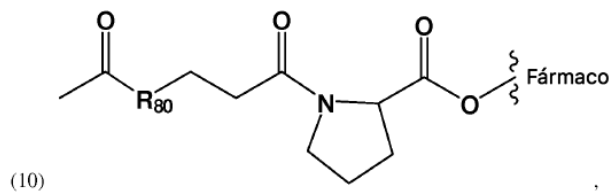
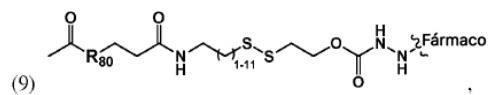
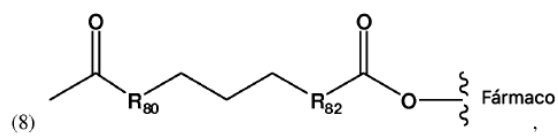


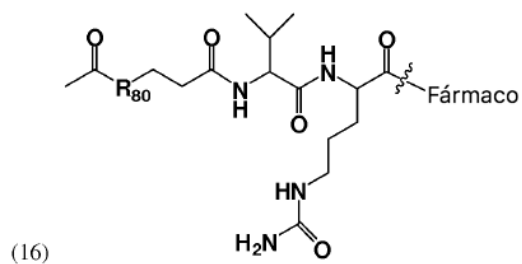
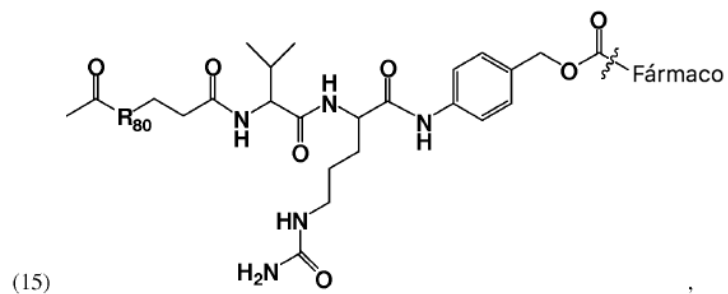
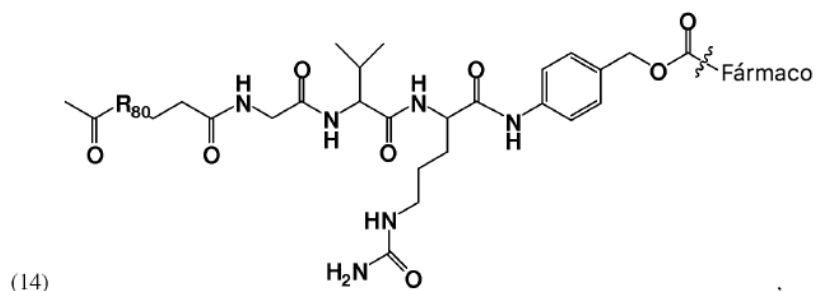
Por ejemplo, cada uno de Y^D y Y^P independientemente es -S-S-, -OCO-, -COO-, -CONH- o -NHCO-.

Por ejemplo, cada uno de Q^D y Q^P está independientemente ausente, es -S-S-, -OCO-, -COO-, -CONH-, -NHCO-, -OCONHNH- o -NHNHCOO-.

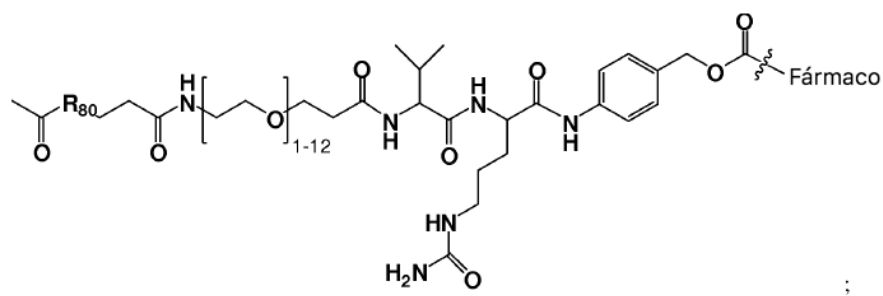
15 Por ejemplo, $-L^D-D$ puede tener una de las siguientes estructuras que se presentan a continuación, en las que el enlace ondulado indica que D (es decir, el fármaco) está conectado al enlazador funcional directamente o a través de otra fracción:







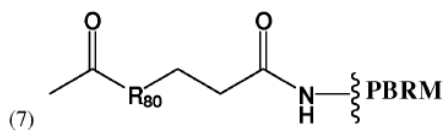
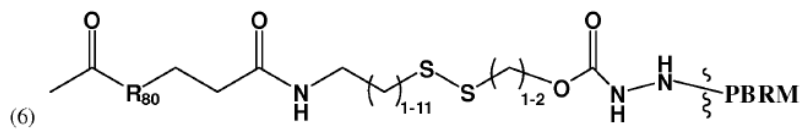
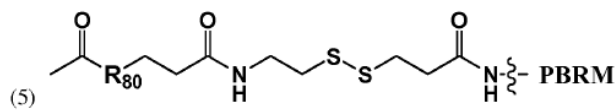
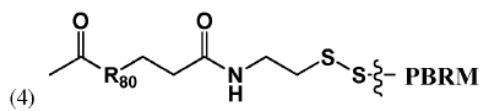
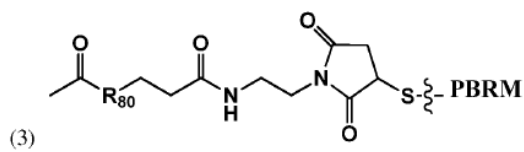
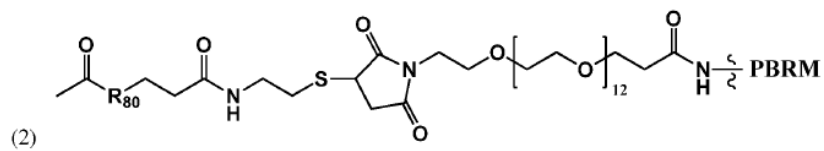
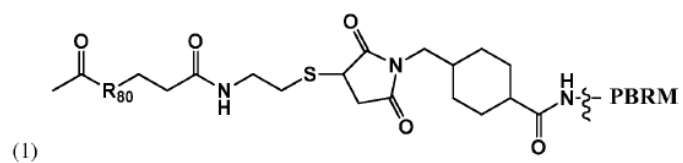
y

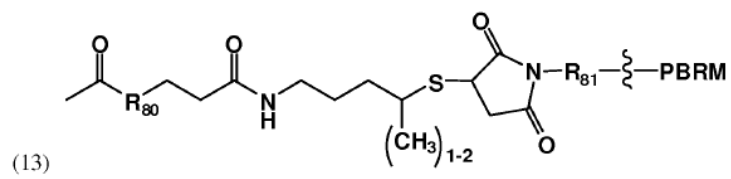
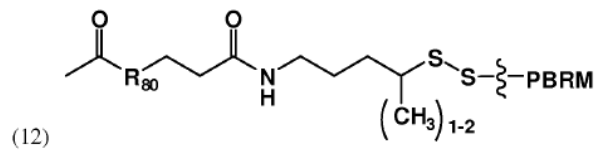
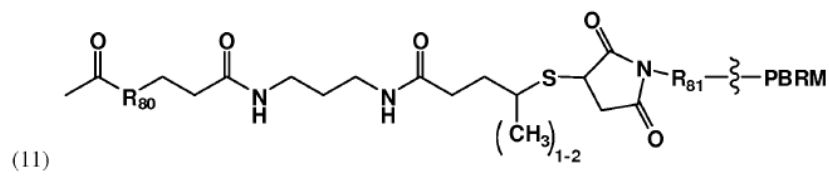
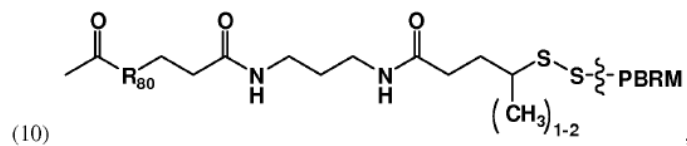
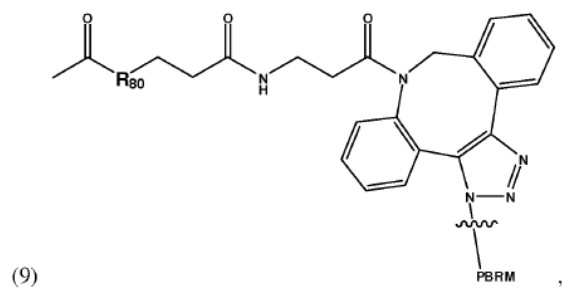
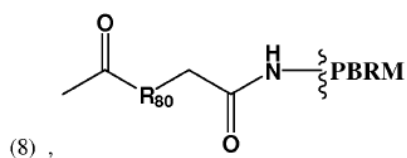


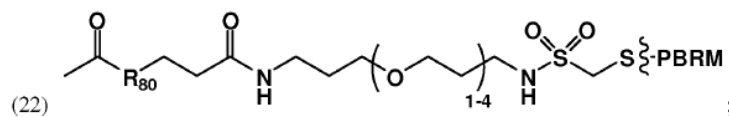
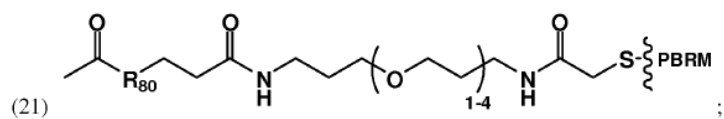
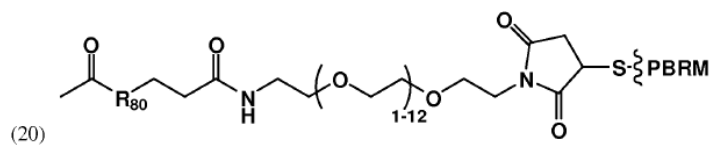
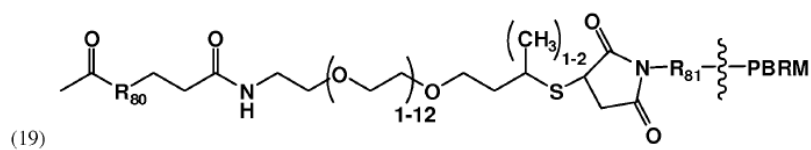
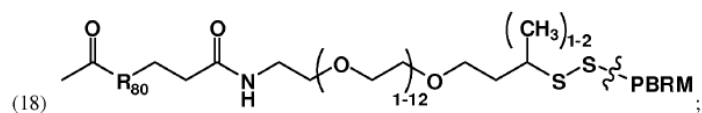
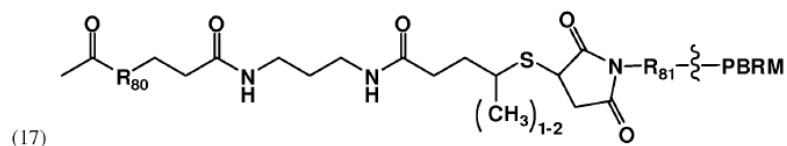
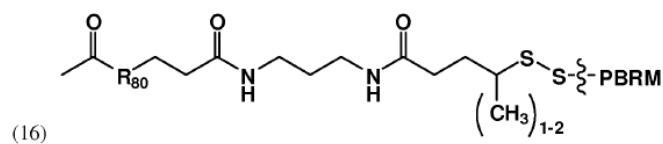
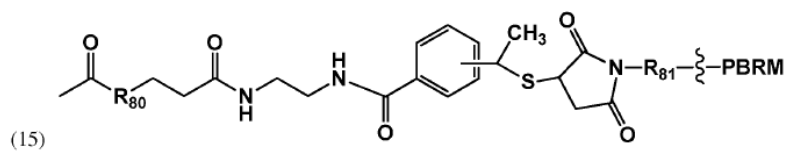
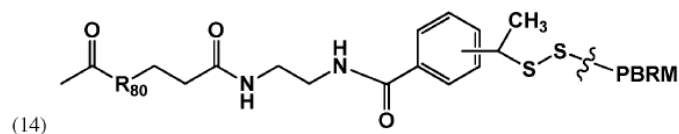
en donde R_{80} es CH_2 , $-NH$, u oxígeno; y

R_{82} es $-NH$ u oxígeno.

Por ejemplo, el soporte polimérico L^P -PBRM puede tener una de las siguientes estructuras a continuación:



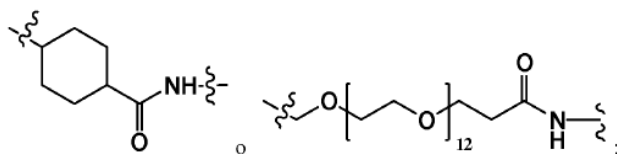




en donde:

R₈₀ es CH₂, NH u oxígeno;

5 R₈₁ es



5 Aunque se usan preferiblemente enlazadores bioescindibles en la invención, también se puede usar un enlazador no bioescindible para generar el conjugado descrito anteriormente. Un enlazador no bioescindible es cualquier fracción química que es capaz de enlazar un fármaco o PBRM, a un polímero de una manera covalente estable. Por lo tanto, los enlazadores no bioescindibles son sustancialmente resistentes a la escisión inducida por ácido, a la escisión inducida por luz, a la escisión inducida por peptidasa, a la escisión inducida por esterasa y/o a la escisión del enlace disulfuro, en condiciones bajo las cuales el fármaco o polímero permanece activo.

10 En una realización, una cantidad sustancial de la fracción de fármaco no se escinde del conjugado hasta que el conjugado de proteína-polímero-fármaco entre en una célula con un receptor de superficie celular específico para la PBRM del conjugado de proteína-polímero-fármaco, y la fracción del fármaco se escinde del conjugado de proteína-polímero-fármaco cuando el conjugado de proteína-polímero-fármaco entra en la célula.

En otra realización, la biodisponibilidad del conjugado de proteína-polímero-fármaco o un metabolito intracelular del conjugado de proteína-polímero-fármaco en un sujeto se mejora cuando se compara con un compuesto de fármaco o conjugado que comprende la fracción de fármaco del conjugado de proteína-polímero-fármaco, o cuando se compara con un análogo del compuesto que no tiene la fracción de fármaco.

15 En otra realización, la fracción de fármaco se escinde intracelularmente en un sujeto a partir del conjugado de proteína-polímero-fármaco, o un metabolito intracelular del conjugado de proteína-polímero-fármaco.

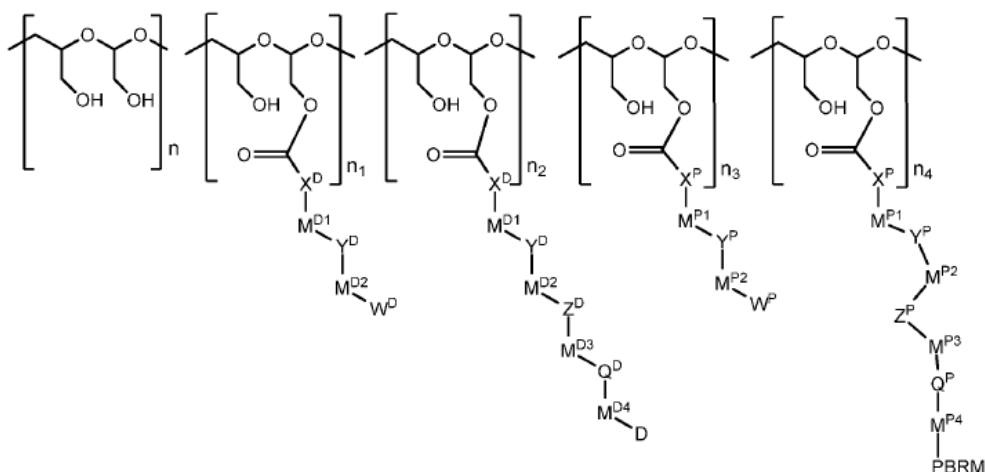
Conjugados o estructuras poliméricas

Los conjugados de la invención comprenden una o más apariciones de D, en donde D es un agente terapéutico, por ejemplo, un fármaco, en donde una o más apariciones de D pueden ser iguales o diferentes.

20 En ciertas otras realizaciones, una o más apariciones de PBRM están unidas al soporte polimérico, en donde una o más apariciones de PBRM pueden ser iguales o diferentes. En ciertas otras realizaciones, uno o más soportes poliméricos que contienen una o más apariciones de D están conectados a una PBRM (por ejemplo, un anticuerpo).

25 Como se ha discutido más en forma general anteriormente, en ciertas realizaciones, cada soporte polimérico independientemente, tiene aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25% de monómeros que comprenden D, más preferiblemente aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20%, más preferiblemente aproximadamente 1 a aproximadamente 15%, e incluso más preferiblemente aproximadamente 2 a aproximadamente 10%.

En ciertas realizaciones, el conjugado de esta invención es de Fórmula (I):



(I),

en donde:

30 cada uno de n , n_1 , n_2 , n_3 y n_4 , es la fracción molar de la unidad polimérica correspondiente que oscila entre 0 y 1; $n + n_1 + n_2 + n_3 + n_4 = 1$; siempre que ninguno de n , n_2 y n_4 sea 0.

Por ejemplo, la relación entre n_2 y n_4 es mayor que 1:1 y $\leq 200:1$.

Por ejemplo, la relación entre n_2 y n_4 está entre 10:1 y 50:1.

Por ejemplo, la relación entre n_2 y n_4 está entre 30:1 y 50:1.

Por ejemplo, la relación entre n_2 y n_4 es de aproximadamente 50:1, 25:1, 10:1, 5:1 o 2:1.

En ciertas realizaciones, los conjugados se forman en varias etapas. Estas etapas incluyen (1) modificar un polímero para que contenga un grupo funcional que pueda reaccionar con un grupo funcional del fármaco o su derivado; (2) hacer reaccionar el polímero modificado con el fármaco o su derivado para que el fármaco se enlace al polímero; (3) modificar el conjugado de polímero-fármaco de manera que el polímero contiene un grupo funcional que puede reaccionar con un grupo funcional de la PBRM o su derivado; y (4) hacer reaccionar el conjugado de polímero-fármaco modificado con la PBRM o su derivado para formar el conjugado de esta invención. La etapa (3) puede omitirse si el polímero modificado producido por la etapa (1) contiene un grupo funcional que puede reaccionar con un grupo funcional de la PBRM o su derivado.

En otra realización, los conjugados se forman en varias etapas: (1) modificar un polímero para que contenga un grupo funcional que pueda reaccionar con un grupo funcional de un primer fármaco o su derivado; (2) hacer reaccionar el polímero modificado con el primer fármaco o su derivado de manera que el primer fármaco se une al polímero; (3) modificar el conjugado de polímero-fármaco de manera que contenga un grupo funcional diferente que pueda reaccionar con un grupo funcional de un segundo fármaco o su derivado (4) que reacciona con el conjugado de polímero-fármaco modificado con el segundo fármaco o su derivado de modo que el segundo fármaco está unido al conjugado de polímero-fármaco; (5) modificar el conjugado de polímero-fármaco que contiene 2 fármacos diferentes de modo que el polímero contiene un grupo funcional que puede reaccionar con un grupo funcional de la PBRM o su derivado; y (6) hacer reaccionar el conjugado de polímero-fármaco modificado de la etapa (5) con la PBRM o su derivado para formar el conjugado de esta invención. Las etapas (5) y (6) pueden repetirse si dos PBRM diferentes o sus derivados se conjugan para formar un conjugado de polímero-fármaco que comprende dos fármacos diferentes y dos PBRM diferentes.

En otra realización más, los conjugados se forman en varias etapas. Estas etapas incluyen (1) modificar un polímero para que contenga un grupo funcional que pueda reaccionar con un grupo funcional del fármaco o su derivado; (2) modificar adicionalmente el polímero de modo que también contenga un grupo funcional que pueda reaccionar con un grupo funcional de la PBRM o su derivado; (3) hacer reaccionar el polímero modificado con el fármaco o su derivado de manera que el fármaco se una al polímero; y (4) hacer reaccionar el conjugado de polímero-fármaco modificado con la PBRM o su derivado para formar el conjugado de esta invención. La secuencia de etapas (1) y (2) o de las etapas (3) y (4) puede ser invertida. Además, se puede omitir la etapa (1) o (2) si el polímero modificado contiene un grupo funcional que puede reaccionar tanto con un grupo funcional del fármaco o sus derivados como con un grupo funcional de la PBRM o su derivado.

En otra realización, los conjugados se forman en varias etapas: (1) modificar un polímero de modo que contenga un grupo funcional que pueda reaccionar con un grupo funcional de un primer fármaco o su derivado; (2) modificar adicionalmente un polímero de manera que contenga un grupo funcional que pueda reaccionar con un grupo funcional de la PBRM o su derivado; (3) hacer reaccionar el polímero modificado con el primer fármaco o su derivado de manera que el primer fármaco se una al polímero; (4) modificar el conjugado de polímero-fármaco de manera que contenga un grupo funcional diferente que pueda reaccionar con un grupo funcional de un segundo fármaco o su derivado (5) que reaccione con el conjugado de polímero-fármaco modificado con el segundo fármaco o su derivado de modo que el segundo fármaco se una al conjugado de polímero-fármaco; (6) hacer reaccionar el conjugado de polímero-fármaco modificado que contiene 2 fármacos diferentes de modo que el polímero con la PBRM o su derivado para formar el conjugado de esta invención. La etapa (6) puede repetirse si dos PBRM diferentes o sus derivados se conjugan para formar un conjugado de polímero-fármaco que comprende dos fármacos diferentes y dos PBRM diferentes. La etapa (4) se puede llevar a cabo después de la etapa (1) de manera que el polímero modificado contenga dos grupos funcionales diferentes que pueden reaccionar con dos fármacos diferentes o sus derivados. En esta realización, el polímero modificado que contiene dos grupos funcionales diferentes que pueden reaccionar con dos fármacos diferentes o sus derivados puede modificarse adicionalmente de manera que contenga un grupo funcional que pueda reaccionar con un grupo funcional de la PBRM o su derivado; antes de la reacción del polímero modificado con los dos fármacos diferentes (etapa (3) y etapa (5) o PBRM (etapa (6))).

Los conjugados biocompatibles biodegradables de la invención se pueden preparar para satisfacer los requisitos deseados de biodegradabilidad e hidrofiliidad. Por ejemplo, bajo condiciones fisiológicas, se puede alcanzar un equilibrio entre la biodegradabilidad y la estabilidad. Por ejemplo, se sabe que las moléculas con pesos moleculares más allá de cierto umbral (generalmente, por encima de 40-100 kDa, dependiendo de la forma física de la molécula) no se excretan a través de los riñones, como moléculas pequeñas, y se pueden eliminar del cuerpo sólo a través de la absorción por las células y la degradación en los compartimentos intracelulares, sobre todo en los lisosomas. Esta observación ejemplifica cómo se pueden diseñar materiales funcionalmente estables pero biodegradables modulando su estabilidad bajo condiciones fisiológicas generales ($\text{pH} = 7,5 \pm 0,5$) y a pH lisosomal (pH cercano a 5). Por ejemplo, se sabe que la hidrólisis de grupos acetal y cetel está catalizada por ácidos, por lo tanto, los polials serán en general menos estables en un entorno lisosómico ácido que, por ejemplo, en el plasma sanguíneo. Se puede diseñar un ensayo para comparar el perfil de degradación del polímero, por ejemplo, a $\text{pH} = 5$ y $\text{pH} = 7,5$ a 37°C en medio acuoso, y así

determinar el equilibrio esperado de la estabilidad del polímero en el entorno fisiológico normal y en el compartimento lisosómico "digestivo" después de la absorción por las células. La integridad del polímero en tales ensayos se puede medir, por ejemplo, por HPLC de exclusión por tamaño. Un experto en la técnica puede seleccionar otros métodos adecuados para estudiar diversos fragmentos de los conjugados degradados de esta invención.

- 5 En muchos casos, será preferible que a pH = 7,5 el tamaño eficaz del polímero no cambie de forma detectable durante 1 a 7 días y permanezca dentro del 50% del original durante al menos varias semanas. A pH = 5, por otra parte, el polímero preferiblemente se degradará detectablemente durante 1 a 5 días y se transformará completamente en fragmentos de bajo peso molecular dentro de un intervalo de tiempo de dos semanas a varios meses. Aunque en algunos casos se puede preferir una degradación más rápida, en general puede ser más deseable que el polímero se degrade en las células con una velocidad que no supere la velocidad de metabolización o excreción de fragmentos poliméricos por las células. De acuerdo con esto, en ciertas realizaciones, se espera que los conjugados de la presente invención sean biodegradables, en particular tras la absorción por las células, y relativamente "inertes" en relación con sistemas biológicos. Los productos de degradación del soporte son preferiblemente sin carga y no desplazan significativamente el pH del medio ambiente. Se propone que la abundancia de grupos alcohólicos puede proporcionar baja tasa de reconocimiento de polímero por receptores celulares, particularmente de fagocitos. Las cadenas principales de polímero de la presente invención generalmente contienen, si acaso, pocos determinantes antigénicos (característicos, por ejemplo, para algunos polisacáridos y polipéptidos) y generalmente no comprenden estructuras rígidas capaces de interactuar en interacciones de tipo "llave y cerradura" *in vivo* a menos que estos últimos sean deseables. Por lo tanto, se prevé que los conjugados entrecruzados y sólidos solubles de esta invención tienen baja toxicidad y bioadhesividad, lo que los hace adecuados para varias aplicaciones biomédicas.

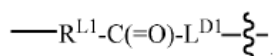
En ciertas realizaciones de la presente invención, los conjugados biocompatibles biodegradables pueden formar estructuras lineales o ramificadas. Por ejemplo, los conjugados de polial biocompatibles biodegradables de la presente invención pueden ser quirales (ópticamente activos). Opcionalmente, los conjugados de polial biocompatibles biodegradables de la presente invención pueden ser escalémicos.

- 25 En ciertas realizaciones, los conjugados de la invención son solubles en agua. En ciertas realizaciones, los conjugados de la invención son insolubles en agua. En ciertas realizaciones, el conjugado de la invención está en una forma sólida. En ciertas realizaciones, los conjugados de la invención son coloides. En ciertas realizaciones, los conjugados de la invención están en forma de partícula. En ciertas realizaciones, los conjugados de la invención están en forma de gel.
- 30 Esta invención también presenta una estructura polimérica útil para conjugar con una PBRM para formar un conjugado de polímero-fármaco-PBRM descrito en la presente memoria. La estructura comprende un soporte polimérico, uno o más -L^D-D conectados al soporte polimérico, y uno o más L^P conectados al soporte polimérico que es adecuado para conectar una PBRM al soporte polimérico, en el que:

cada aparición de D es independientemente un agente terapéutico que tiene un peso molecular ≤ 5 kDa;

el soporte polimérico es un poliacetal o policetal,

- 35 L^D es un enlazador que tiene la estructura:



con R^{L1} conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico y L^{D1} conectado a D, y



- 40 denota la unión directa o indirecta de D a L^{D1}, y L^D contiene un enlace biodegradable de manera que cuando se rompe el enlace, se libera D del soporte polimérico en una forma activa para el efecto terapéutico pretendido;

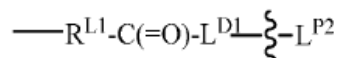
L^{D1} es una fracción que contiene carbonilo;

L^P es un enlazador diferente de L^D y que tiene la estructura: -R^{L2}-C(=O)-L^{P1} con R^{L2} conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico y L^{P1} adecuado para conectarse directa o indirectamente a una PBRM;

cada uno de R^{L1} y R^{L2} está independientemente ausente, es alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, o heterocicloalquilo; y

- 45 L^{P1} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de una PBRM.

Por ejemplo, L^P es un enlazador que tiene la estructura:



en la que L^{P2} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de una PBRM, y



denota la unión directa o indirecta de L^{P2} a L^{D1} .

Por ejemplo, el grupo funcional de L^{P1} o L^{P2} se selecciona entre -SR^p , -SS-LG , maleimido y halo, en el que LG es un grupo saliente y R^p es H o un grupo protector de azufre.

Por ejemplo, L^{D1} comprende $\text{-X-(CH}_2\text{)}_v\text{-C(=O)-}$ con X directamente conectado al grupo carbonilo de $R^{L1}\text{-C(=O)-}$, en el que X es CH_2 , O, o NH, y v es un número entero de 1 a 6.

Por ejemplo, L^{P1} o L^{P2} contiene un enlace biodegradable.

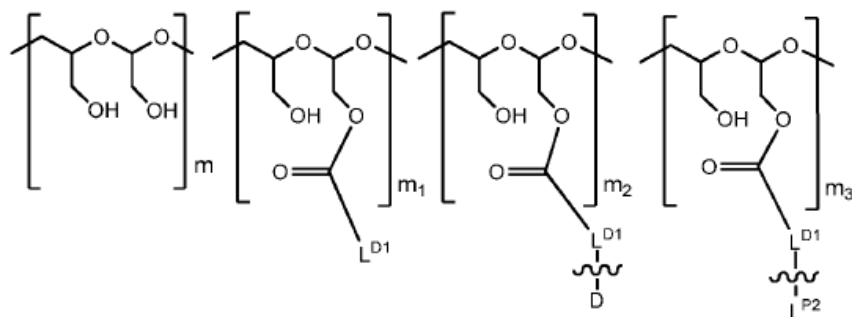
Por ejemplo, cada uno de R^{L1} y R^{L2} está ausente.

Por ejemplo, el soporte polimérico de la estructura de la invención es un poliacetal, por ejemplo, un PHF que tiene un peso molecular (es decir, PM del PHF no modificado) que varía de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 300 kDa. La selección de un soporte polimérico con un intervalo específico de PM puede depender del tamaño de la PBRM con la que se va a conjugar.

Por ejemplo, para conjugar una PBRM que tiene un peso molecular de 40 kDa o mayor (por ejemplo, 80 kDa o mayor), el soporte polimérico de la estructura de la invención es un poliacetal, por ejemplo, un PHF que tiene un peso molecular (es decir, PM del PHF no modificado) que oscila entre aproximadamente 2 kDa y aproximadamente 40 kDa (por ejemplo, aproximadamente 6-20 kDa o aproximadamente 8-15 kDa).

Por ejemplo, para conjugar una PBRM que tiene un peso molecular de 200 kDa o menos (por ejemplo, 80 kDa o menos), el soporte polimérico de la estructura de la invención es un poliacetal, por ejemplo, un PHF que tiene un peso molecular (es decir, PM del PHF no modificado) que oscila entre aproximadamente 20 kDa y aproximadamente 300 kDa (por ejemplo, aproximadamente 40-150 kDa o aproximadamente 50-100 kDa).

Por ejemplo, la estructura es de Fórmula (Ia):



(Ia),

en donde:

m es un número entero de 1 a aproximadamente 2.200,

m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 660,

m_2 es un número entero de 1 a aproximadamente 300,

m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 110, y

La suma de m , m_1 , m_2 y m_3 oscila entre aproximadamente 15 y aproximadamente 2.200.

Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 40 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_2 y m_3 varía de aproximadamente 15 a aproximadamente 300), m_2 es un número entero de 1 a aproximadamente 40, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 18 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 140 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 1-90).

Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 6 kDa a aproximadamente 20 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_2 y m_3 varía de aproximadamente 45 a aproximadamente 150), m_2 es un número entero de 2 a aproximadamente 20, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 9, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 75 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 4-45).

Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 8 kDa a aproximadamente 15 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_2 y m_3 varía de aproximadamente 60 a aproximadamente 110), m_2 es un número entero de 2 a aproximadamente 15, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 7, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 55 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 4-30).

Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de 20 kDa a 300 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_2 y m_3 varía de aproximadamente 150 a aproximadamente 2200), m_2 es un número entero de 3 a aproximadamente 300, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 110 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 660 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 10-250).

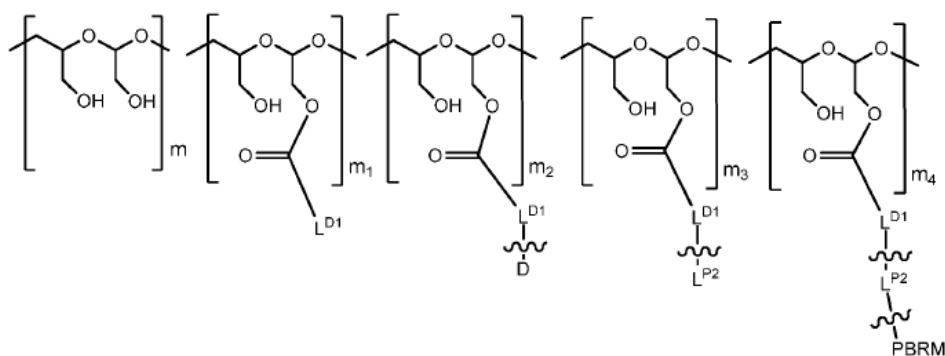
Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de 40 kDa a 150 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_2 y m_3 varía de aproximadamente 300 a aproximadamente 1100), m_2 es un número entero de 4 a aproximadamente 150, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 75 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 330 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 15-100).

Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ia) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 50 kDa a aproximadamente 100 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_2 y m_3 varía de aproximadamente 370 a aproximadamente 740), m_2 es un número entero de 5 a aproximadamente 100, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 40 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 220 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 15-80).

Por ejemplo, la estructura comprende además una PBRM conectada al soporte polimérico a través de L^P .

Por ejemplo, una o más PBRM están conectadas a un soporte polimérico portador del fármaco.

Por ejemplo, la estructura (por ejemplo, un conjugado de PBRM-polímero-fármaco) es de Fórmula (Ib):



(Ib),

en donde:



entre L^{P2} y PBRM denota la unión directa o indirecta de PBRM a L^{P2} ,

cada aparición de PBRM tiene independientemente un peso molecular de menos de 200 kDa,

m es un número entero de 1 a aproximadamente 2.200,

m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 660,

m_2 es un número entero de 3 a aproximadamente 300,

m_3 es un número entero de 0 a aproximadamente 110,

5 m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 60; y

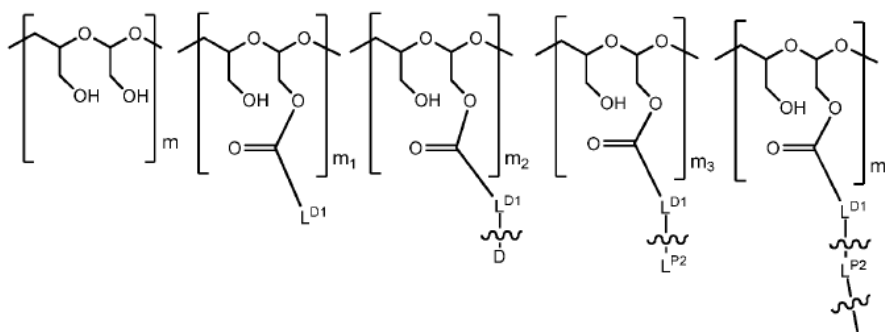
la suma de m, m_1 , m_2 , m_3 y m_4 oscila entre aproximadamente 150 y aproximadamente 2.200.

Por ejemplo, en la Fórmula (Ib), m_1 es un número entero de aproximadamente 10 a aproximadamente 660 (por ejemplo, aproximadamente 10-250).

10 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ib) tiene un peso molecular que varía de 40 kDa a 150 kDa (es decir, la suma de m, m_1 , m_2 , m_3 y m_4 varía de aproximadamente 300 a aproximadamente 1100), m_2 es un número entero de 4 a aproximadamente 150, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 75, m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 30 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 330 (por ejemplo, m_1 es aproximadamente 10-330 o aproximadamente 15-100).

15 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ib) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 50 kDa a aproximadamente 100 kDa (es decir, la suma de m, m_1 , m_2 , m_3 y m_4 varía de aproximadamente 370 a aproximadamente 740), m_2 es un número entero de 5 a aproximadamente 100, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 40, m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 20 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 220 (por ejemplo, m_1 es aproximadamente 15-80).

20 Alternativamente o adicionalmente, uno o más portadores poliméricos portadores de fármacos están conectados a una PBRM. Por ejemplo, la estructura (por ejemplo, un conjugado de PBRM-polímero-fármaco) comprende una PBRM con un peso molecular superior a 40 kDa y uno o más soportes poliméricos portadores de D conectados a la PBRM, en donde cada uno de los soportes poliméricos que portan D independientemente es de Fórmula (Ic):



(Ic),

donde:

25 el terminal



unido a L^{P2} denota la unión directa o indirecta de L^{P2} a PBRM de tal manera que el soporte polimérico portador de D está conectado a la PBRM,

m es un número entero de 1 a 300,

30 m_1 es un número entero de 1 a 140,

m_2 es un número entero de 1 a 40,

m_3 es un número entero de 0 a 18,

m_4 es un número entero de 1 a 10; y

la suma de m , m_1 , m_2 , m_3 y m_4 oscila entre 15 y 300; siempre que el número total de L^{P2} unido a la PBRM sea 10 o menos.

- 5 Por ejemplo, en la Fórmula (Ic), m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 120 (por ejemplo, aproximadamente 1-90) y/o m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 10 (por ejemplo, aproximadamente 1-8).

- 10 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ic) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 6 kDa a aproximadamente 20 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_2 , m_3 y m_4 varía de aproximadamente 45 a aproximadamente 150), m_2 es un número entero de 2 a aproximadamente 20, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 9, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 75 (por ejemplo, siendo m_1 aproximadamente 4-45).

Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ic) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 8 kDa a aproximadamente 15 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_2 , m_3 y m_4 varía de aproximadamente 60 a aproximadamente 110), m_2 es un número entero de 2 a aproximadamente 15, m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 7, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 55 (por ejemplo, m_1 es aproximadamente 4-30).

- 15 En otro aspecto, la invención presenta una estructura polimérica útil para conjugar tanto con una molécula de reconocimiento basada en proteínas (PBRM) como con un agente terapéutico (D). La estructura libre de D comprende un soporte polimérico, uno o más L^P conectado al soporte polimérico que es adecuado para conectar una PBRM al soporte polimérico, y uno o más $-R^{L1}-C(=O)-L^{D1}$ conectado al soporte polimérico a través de R^{L1} , en el que:

el soporte polimérico es un poliacetal o policetal,

- 20 R^{L1} está conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico,

L^{D1} es un enlazador adecuado para conectar una molécula D al soporte polimérico, en la que cada aparición de D es independientemente un agente terapéutico que tiene un peso molecular ≤ 5 kDa;

L^P es un enlazador diferente de $-R^{L1}-C(=O)-L^{D1}$, y que tiene la estructura: $-R^{L2}-C(=O)-L^{P1}$ con R^{L2} conectado a un átomo de oxígeno del soporte polimérico y L^{P1} adecuado para conectar a una PBRM;

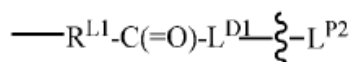
- 25 cada uno de R^{L1} y R^{L2} está independientemente ausente, es alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, o heterocicloalquilo;

L^{D1} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de D, y

L^{P1} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de una PBRM.

- 30 Por ejemplo, la estructura libre de D útil para conjugar con una PBRM y un D puede tener una o más de las siguientes características.

Por ejemplo, L^P es un enlazador que tiene la estructura:



- 35 en la que L^{P2} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de una PBRM, y



denota la unión directa o indirecta de L^{P2} a L^{D1} .

Por ejemplo, el grupo funcional de L^{P1} o L^{P2} se selecciona de $-SR^p$, $-SS-LG$, maleimido y halo, en donde LG es un grupo saliente y R^p es H o un grupo protector de azufre.

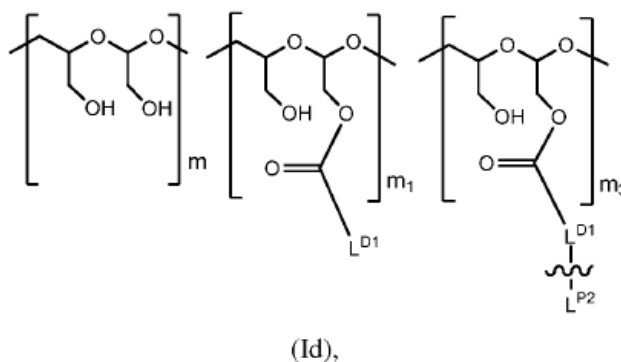
Por ejemplo, L^{D1} comprende $-X-(CH_2)_v-C(=O)-$ con X directamente conectado al grupo carbonilo de $R^{L1}-C(=O)$, en el que X es CH_2 , O, o NH, y v es un número entero de 1 a 6.

Por ejemplo, L^{P1} o L^{P2} contiene un enlace biodegradable.

Por ejemplo, cada uno de R^{L1} y R^{L2} está ausente.

- 5 Por ejemplo, el soporte polimérico de la estructura libre de D es un poliacetal, por ejemplo, un PHF que tiene un peso molecular (es decir, PM del PHF no modificado) que varía de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 300 kDa.

La estructura libre de D es de Fórmula (Id):



en donde:

- 10 m es un número entero de 1 a aproximadamente 2.200,

m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 660,

m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 110, y

la suma de m, m_1 y m_3 oscila entre aproximadamente 15 y aproximadamente 2.200.

- 15 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 40 kDa (es decir, la suma de m, m_1 y m_3 varía de aproximadamente 15 a aproximadamente 300), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 18, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 140 (por ejemplo, m_1 es aproximadamente 2-120).

- 20 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 6 kDa a aproximadamente 20 kDa (es decir, la suma de m, m_1 y m_3 varía de aproximadamente 45 a aproximadamente 150), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 9, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 75 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 6 - 60).

- 25 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 8 kDa a aproximadamente 15 kDa (es decir, la suma de m, m_1 y m_3 varía de aproximadamente 60 a aproximadamente 110), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 7, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 55 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 6-45).

Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de 20 kDa a 300 kDa (es decir, la suma de m, m_1 y m_3 varía de aproximadamente 150 a aproximadamente 2200), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 110, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 660 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 13 - 550).

- 30 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de 40 kDa a 150 kDa (es decir, la suma de m, m_1 y m_3 varía de aproximadamente 300 a aproximadamente 1100), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 75, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 330 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 20 - 250).

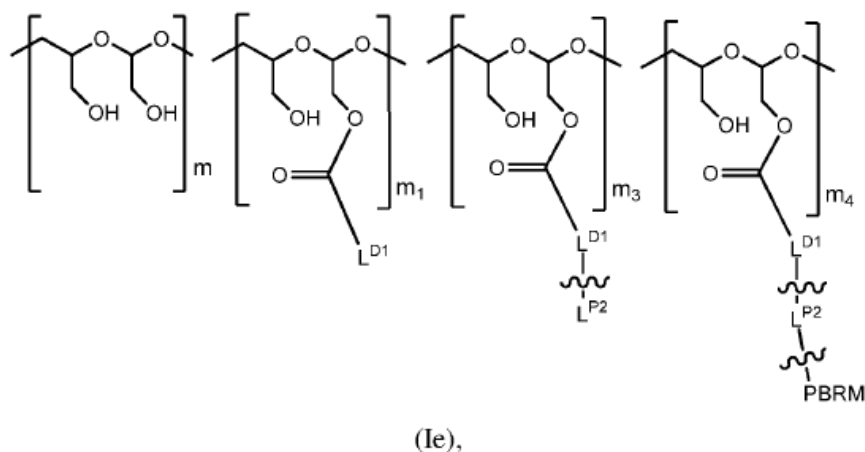
- 35 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Id) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 50 kDa a aproximadamente 100 kDa (es decir, la suma de m, m_1 y m_3 varía de aproximadamente 370 a aproximadamente 740),

m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 40 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 220 (por ejemplo, m_1 es aproximadamente 20 - 180°C).

Por ejemplo, la estructura libre de D comprende además una PBRM conectada al soporte polimérico a través de L^P .

Por ejemplo, una o más PBRM están conectadas a un soporte polimérico libre de D.

5 Por ejemplo, la estructura libre de D es de Fórmula (Ie):



donde:



10 entre L^{P2} y PBRM denota la unión directa o indirecta de PBRM a L^{P2} , PBRM tiene un peso molecular de menos de 200 kDa,

m es un número entero de 1 a 2.200,

m_1 es un número entero de 1 a 660,

m_3 es un número entero de 0 a 110,

m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 60; y

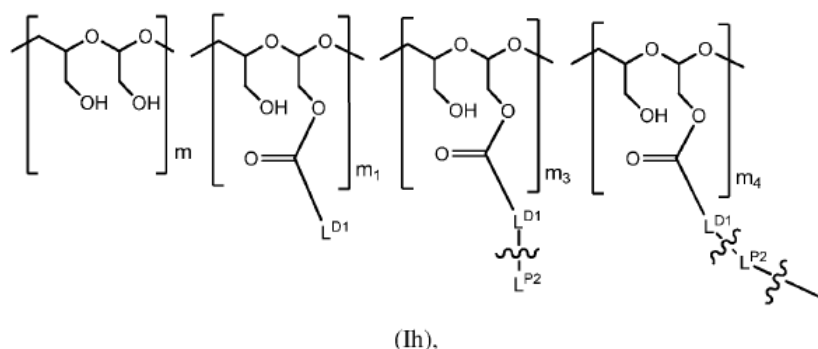
15 la suma de m , m_1 , m_2 , m_3 y m_4 oscila entre aproximadamente 150 y aproximadamente 2.200.

Por ejemplo, en la Fórmula (Ie), m_1 es un número entero de aproximadamente 10 a aproximadamente 660 (por ejemplo, aproximadamente 14-550).

20 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ie) tiene un peso molecular que varía de 40 kDa a 150 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_3 y m_4 varía de aproximadamente 300 a aproximadamente 1100), m_3 es un entero de 1 a aproximadamente 75, m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 30, y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 330 (por ejemplo, m_1 es aproximadamente 20-250).

25 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ie) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 50 kDa a aproximadamente 100 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_3 y m_4 varía de aproximadamente 370 a aproximadamente 740), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 40, m_4 es un número entero de 1 a aproximadamente 20 y/o m_1 es un número entero de 1 a aproximadamente 220 (por ejemplo, m_1 es de aproximadamente 20-180).

Alternativamente o adicionalmente, uno o más soportes poliméricos libres de D están conectados a una PBRM. Por ejemplo, la estructura comprende una PBRM con un peso molecular mayor de 40 kDa y uno o más soportes poliméricos conectados a la PBRM, en donde cada uno de los portadores poliméricos es independientemente de Fórmula (Ih):



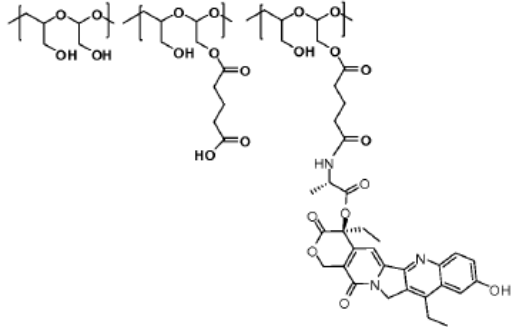
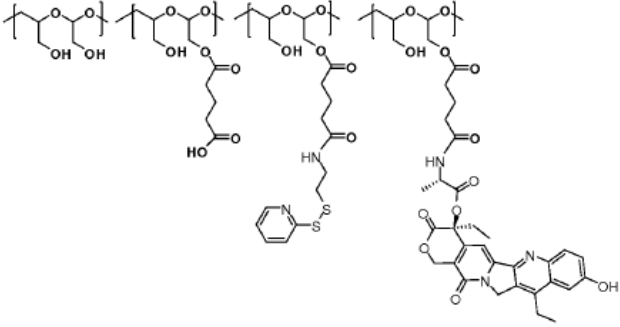
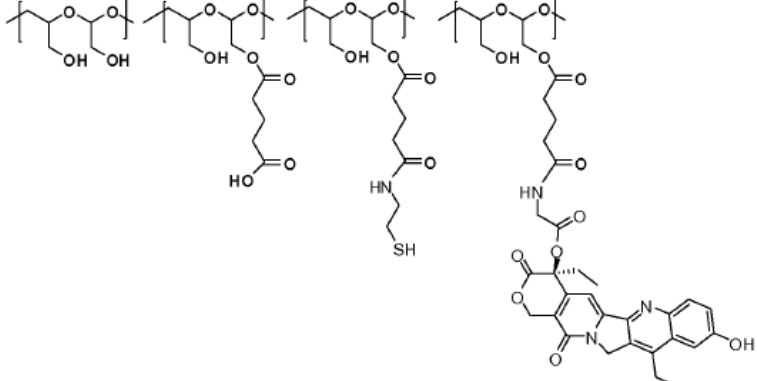
donde:

el terminal

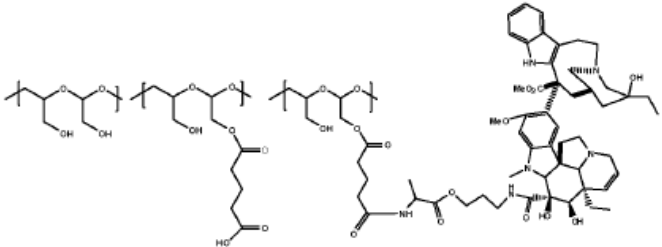
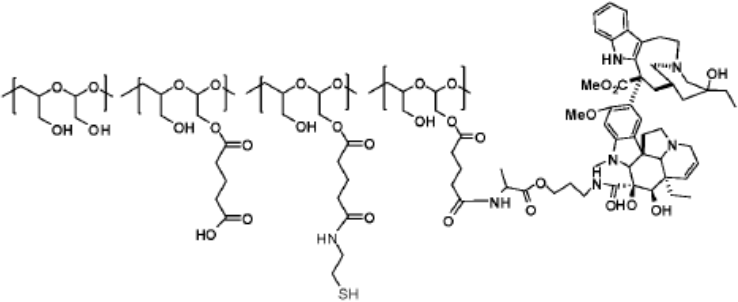
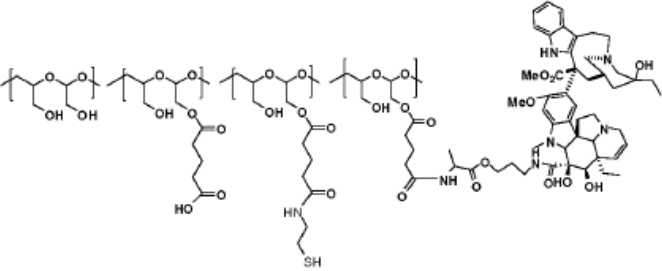
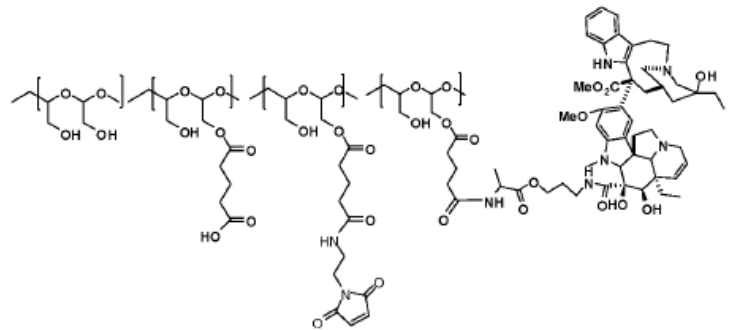


- 5 unido a L^{P2} denota la unión directa o indirecta de L^{P2} a PBRM de tal manera que el soporte polimérico portador de D está conectado a la PBRM,
- m es un número entero de 1 a 300,
- m_1 es un número entero de 1 a 140,
- m_3 es un número entero de 0 a 18,
- 10 m_4 es un número entero de 1 a 10; y
- la suma de m , m_1 , m_3 y m_4 oscila entre 15 y 300; siempre que el número total de L^{P2} unido a la PBRM sea 10 o menos.
- Por ejemplo, en la Fórmula (Ih), m_1 es un número entero de 2 a aproximadamente 130 (por ejemplo, aproximadamente 3-120) y/o m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 10 (por ejemplo, aproximadamente 1-8).
- 15 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ih) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 6 kDa a aproximadamente 20 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_3 y m_4 varía de aproximadamente 45 a aproximadamente 150), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 9, y/o m_1 es un número entero de 6 a aproximadamente 75 (por ejemplo, m_1 es aproximadamente 7 - 60).
- 20 Por ejemplo, cuando el PHF en la Fórmula (Ih) tiene un peso molecular que varía de aproximadamente 8 kDa a aproximadamente 15 kDa (es decir, la suma de m , m_1 , m_3 y m_4 varía de aproximadamente 60 a aproximadamente 110), m_3 es un número entero de 1 a aproximadamente 7, y/o m_1 es un número entero de 6 a aproximadamente 55 (por ejemplo, m_1 es aproximadamente 7-45).
- 25 Los conjugados de PBRM-fármaco-polímero, estructuras poliméricas que portan fármacos o estructuras poliméricas que portan PBRM pueden purificarse (es decir, la eliminación del fármaco residual sin reaccionar, PBRM o materiales de partida poliméricos) mediante diafiltración extensiva. Si es necesario, se puede llevar a cabo una purificación adicional por cromatografía de exclusión por tamaño para eliminar cualquier conjugado de PBRM-fármaco-polímero agregado. En general, los conjugados de PBRM-polímero-fármaco como los purificados contienen típicamente 5% de conjugados de PBRM-fármaco-polímero agregados como se determina por SEC o SDS-PAGE; 1% de conjugado de polímero-fármaco según lo determinado por SEC y 2% de PBRM no conjugado según lo determinado por RP HPLC.
- 30 Las Tablas D y E a continuación proporcionan ejemplos de las estructuras poliméricas portadoras de fármaco y los conjugados de polímero-fármaco-proteína de la invención respectivamente.

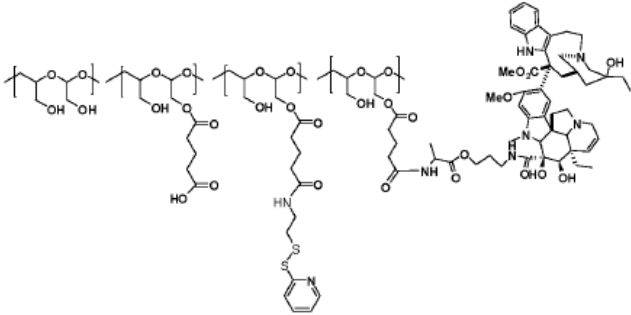
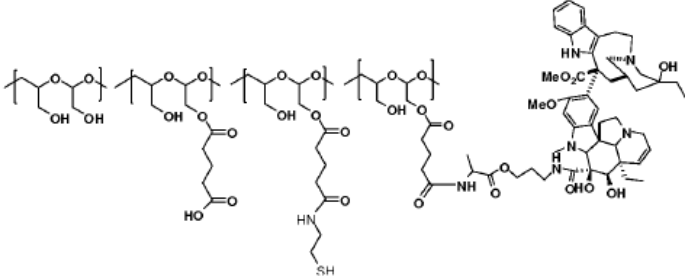
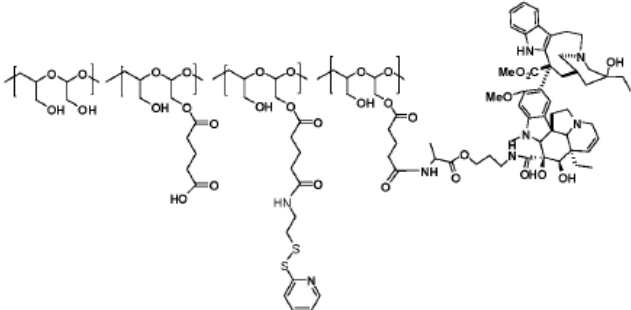
Tabla D

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 9		
Ej. 9		
	7:1 a 11:1	

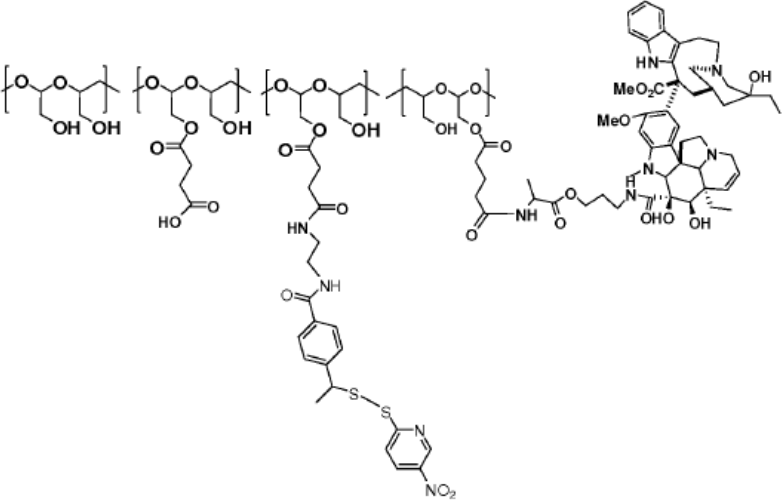
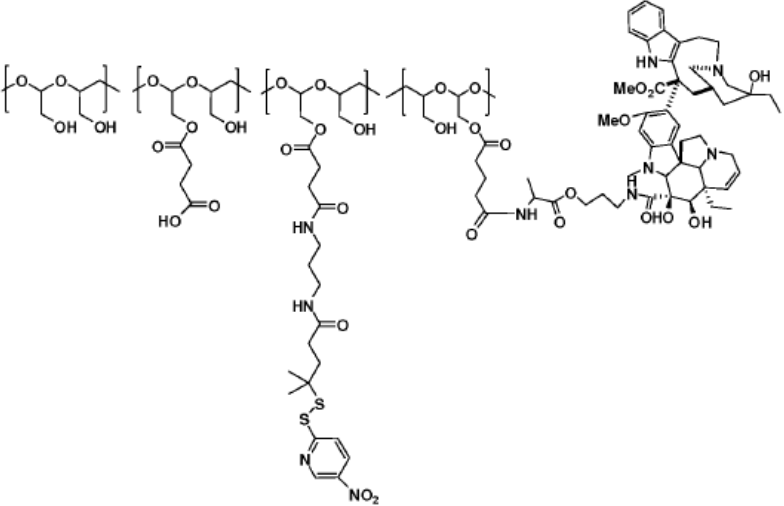
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	11:1 a 15:1	
Ej. 6		
Ej. 18		
Ej. 13	24:1 a 28:1	

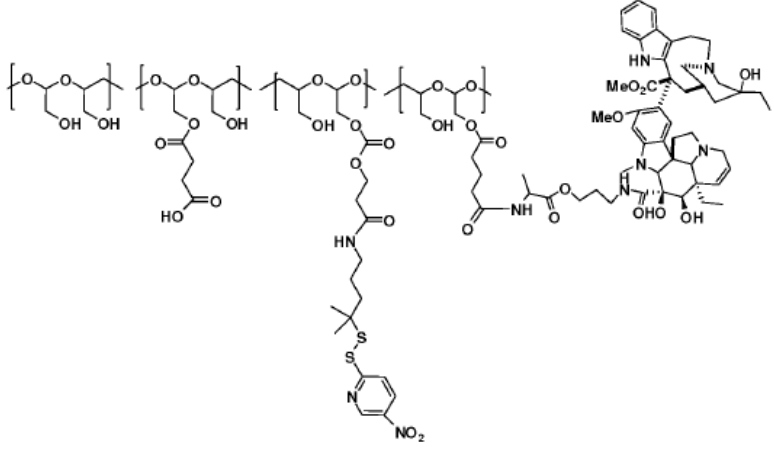
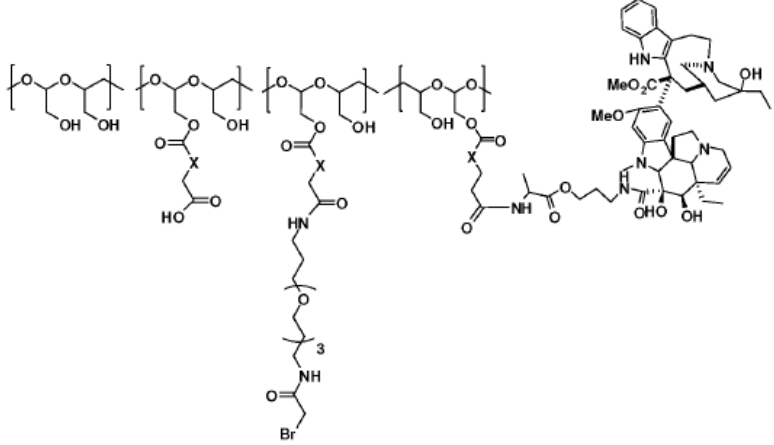
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 59	11:1 a 15:1	
Ej. 20		
	4:1 a 8:1	

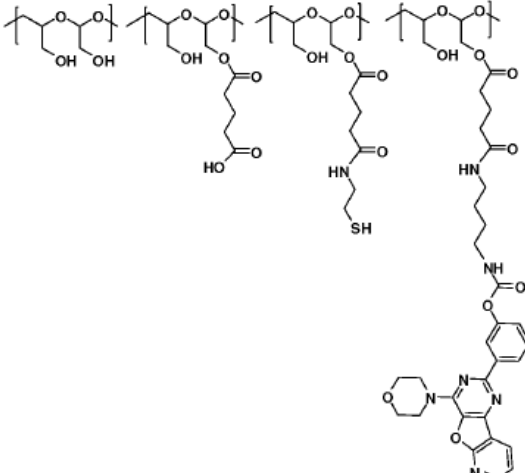
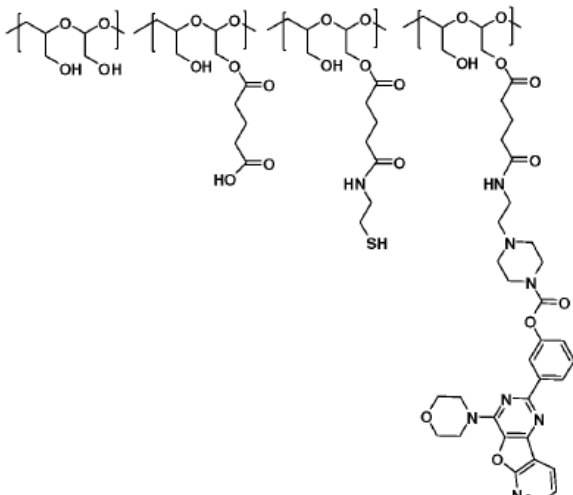
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	11:1 a 15:1	
	1:1 a 5:1	

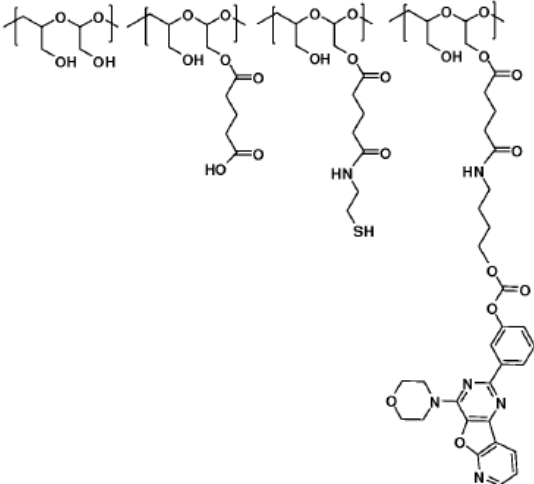
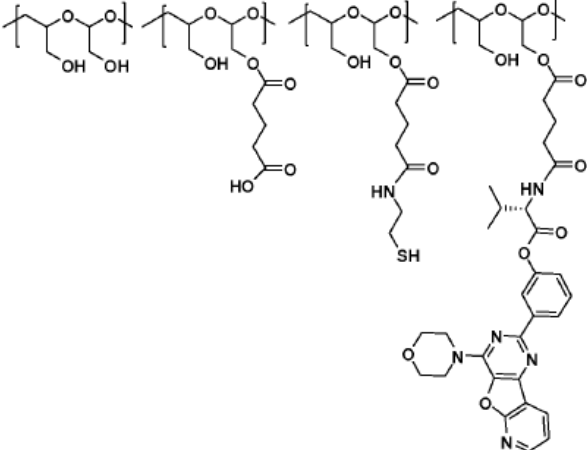
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	1:1 a 5:1	
		

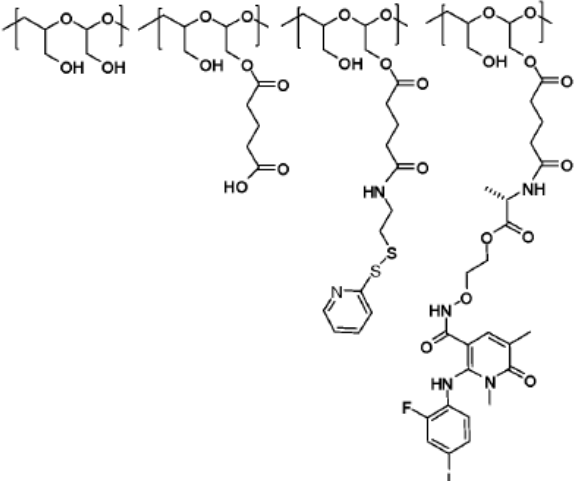
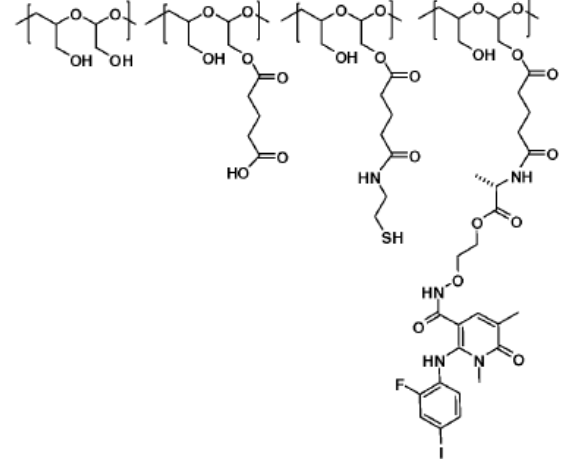
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 26		
Ej. 28		

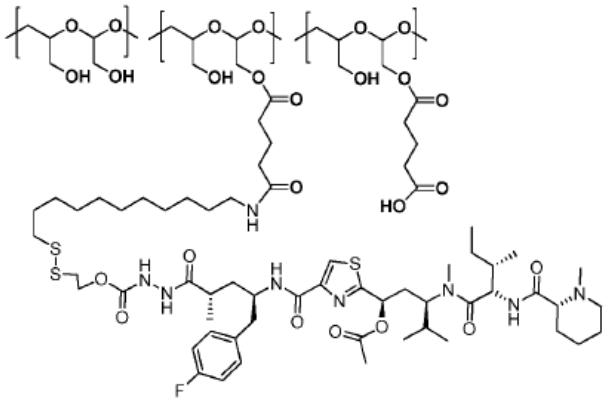
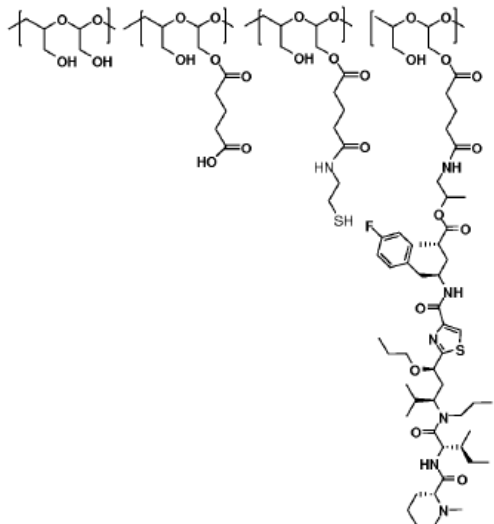
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej.31		
Ej.34		

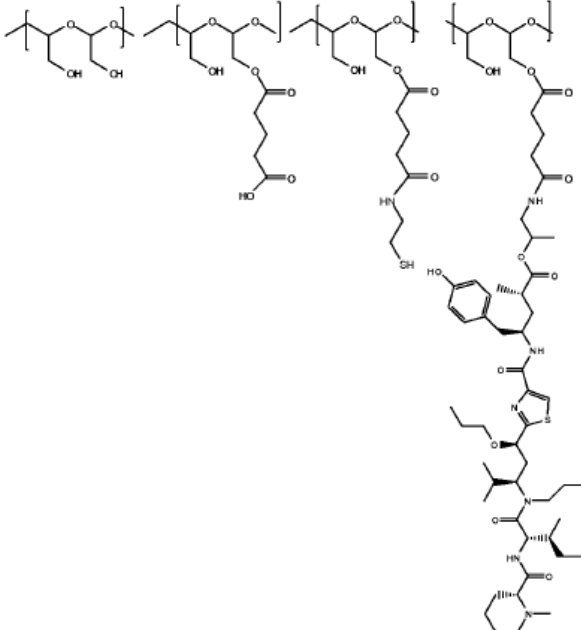
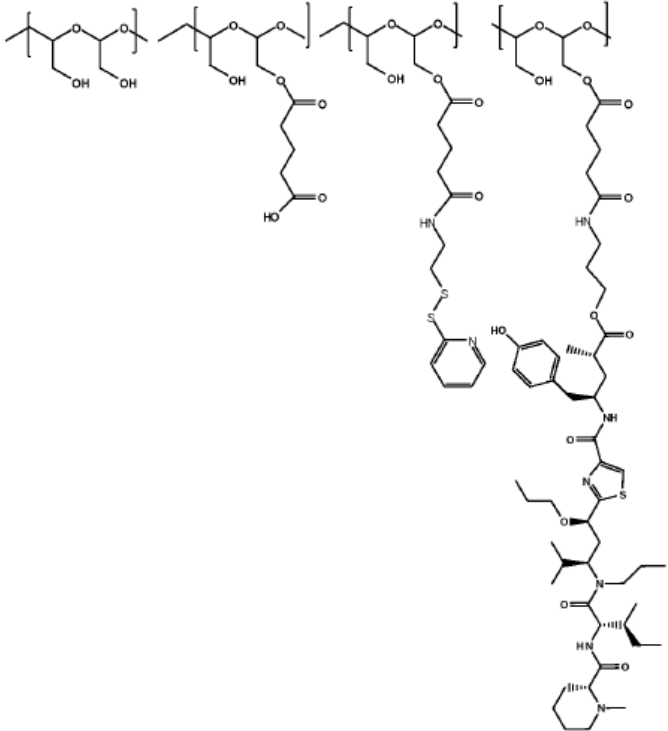
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
		
Ej. 37		

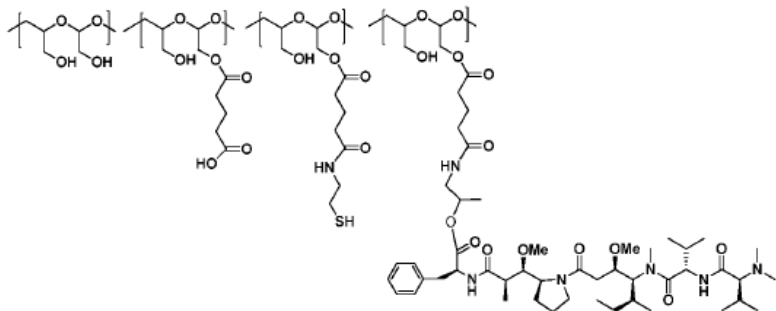
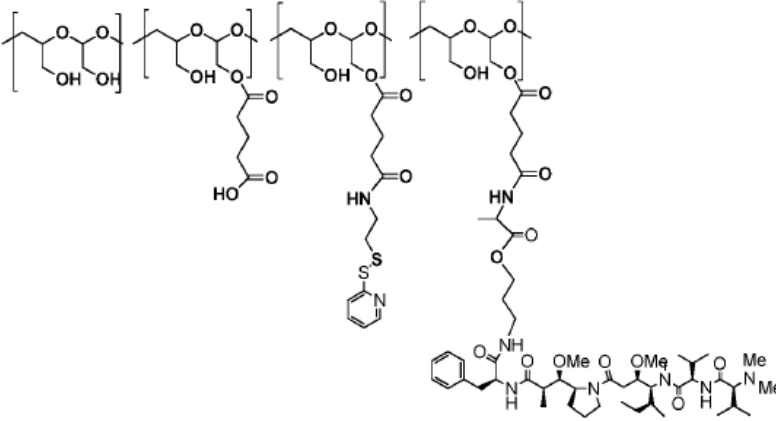
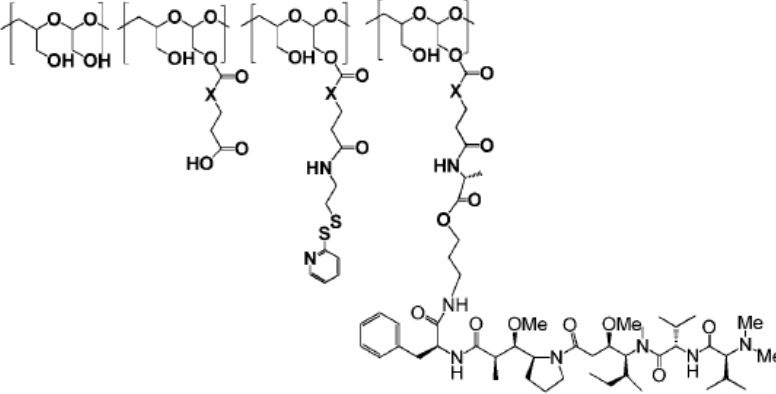
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 47		
Ej. 44		

(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
		
11:1 a 15:1		

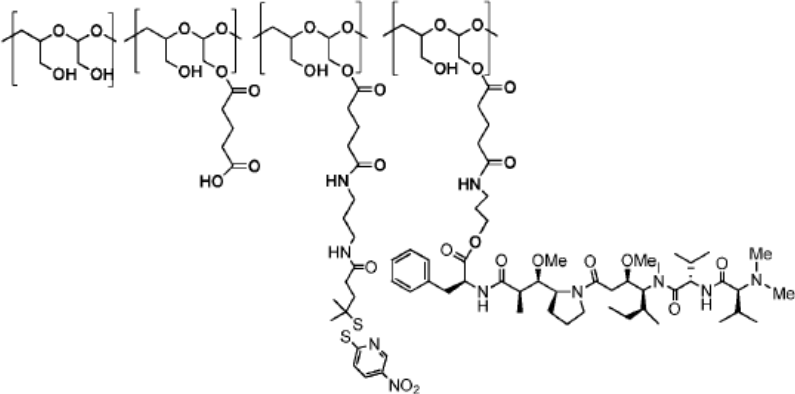
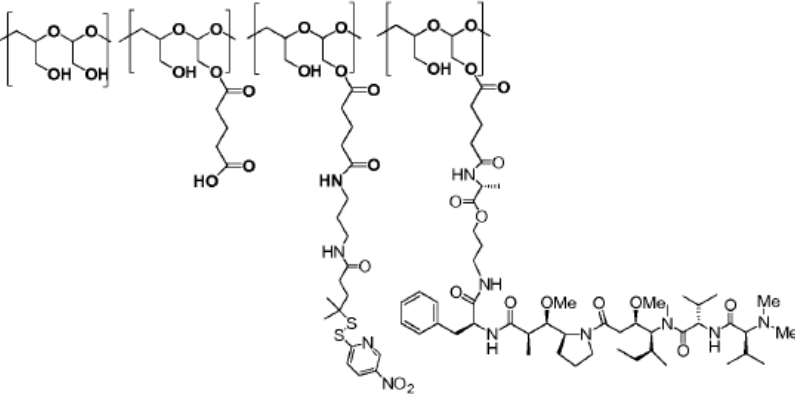
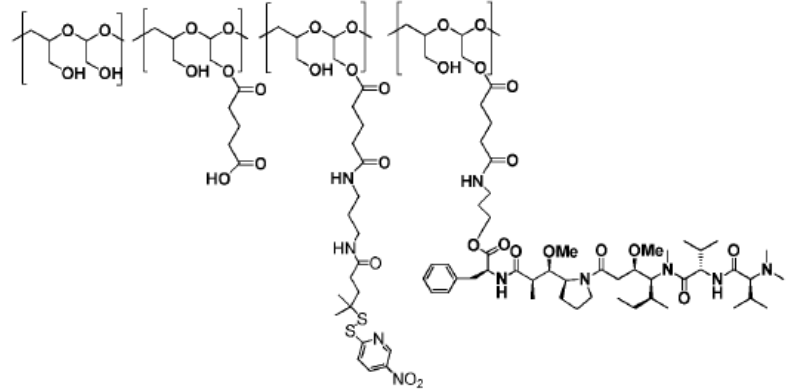
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 40		
		
	$X=CH_2$ 1:1 a 4:1	

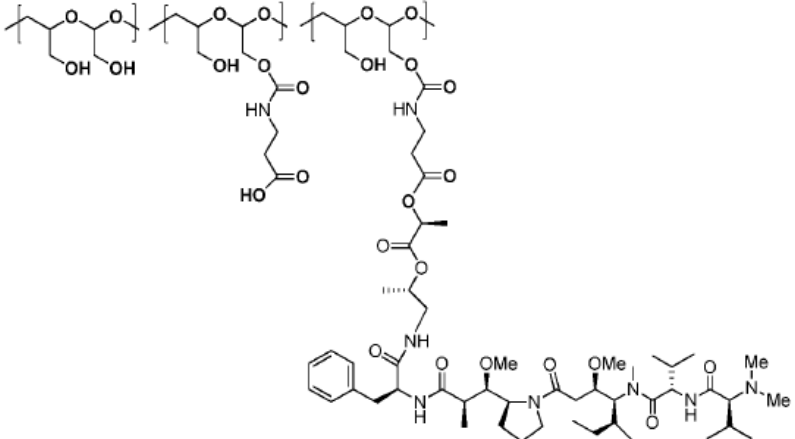
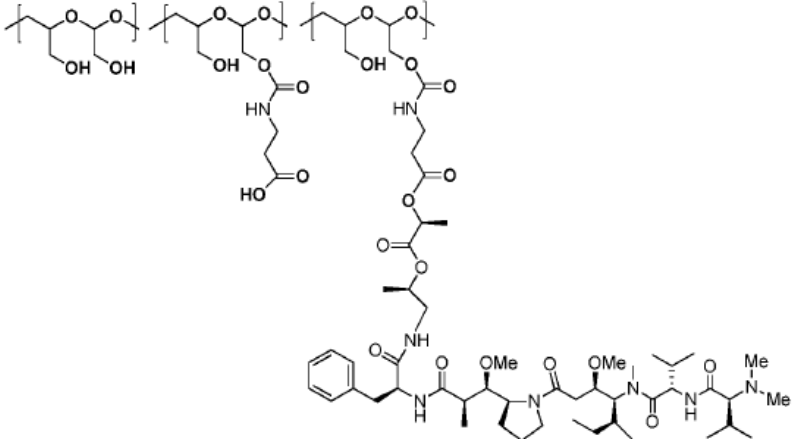
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 51		
	1:1 a 4:1	
Ej. 65	3:1 a 7:1	

(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	1 :1 a 5 :1	
Ej.69	1:1 a 5:1	
Ej. 71		

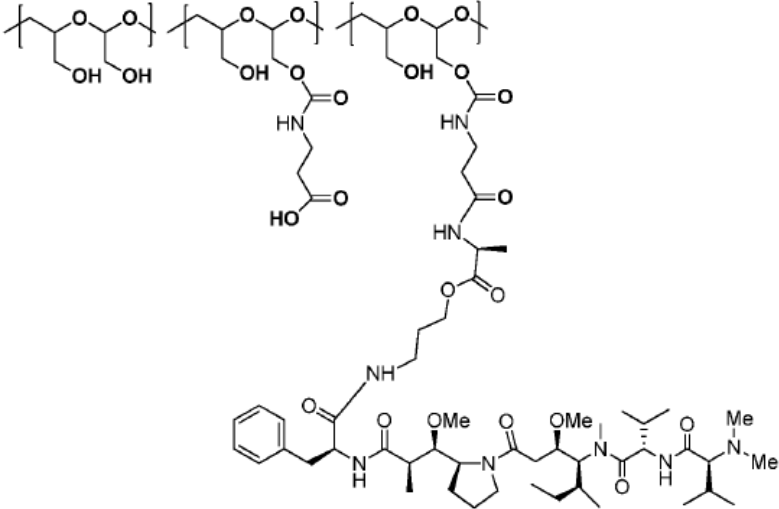
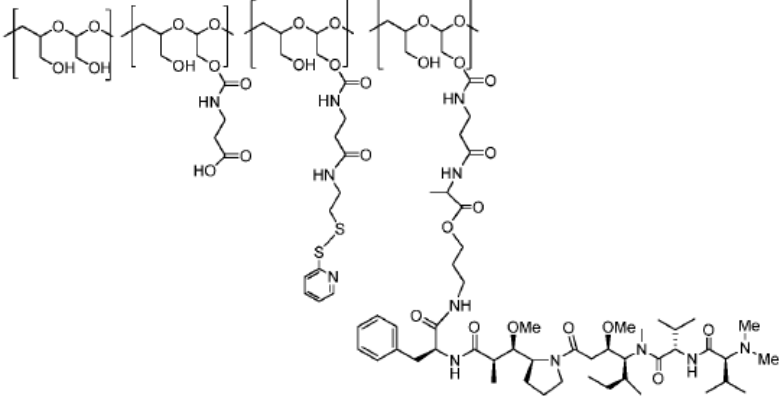
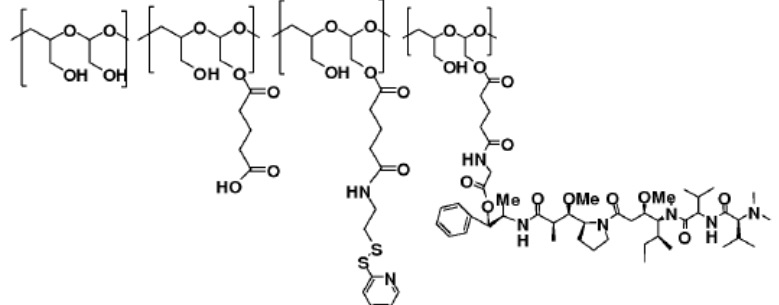
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	1 :1 a 6 :1	
	1 :1 a 6 :1	

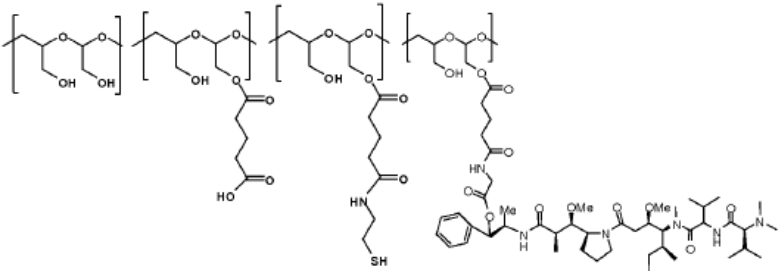
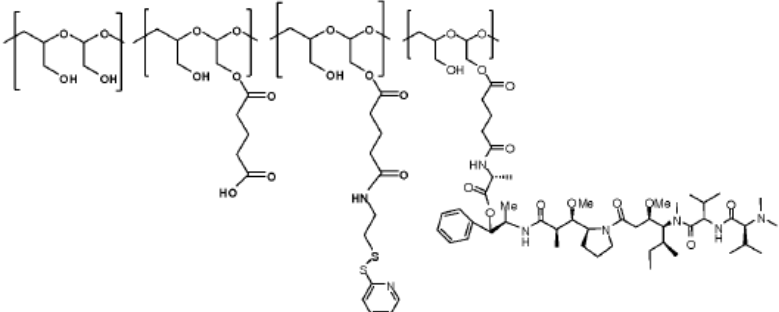
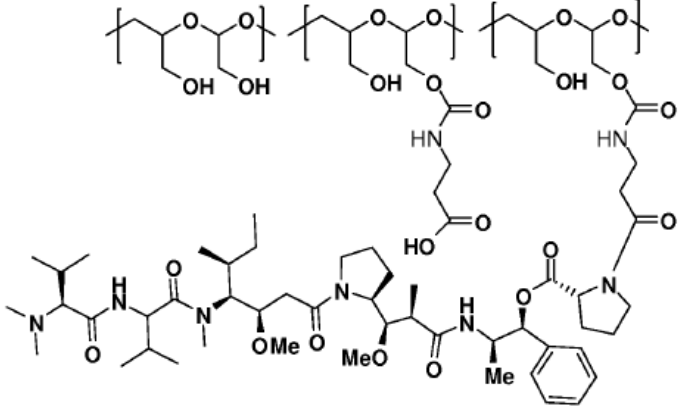
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	8:1 a 12:1	
	1:1 a 5:1	

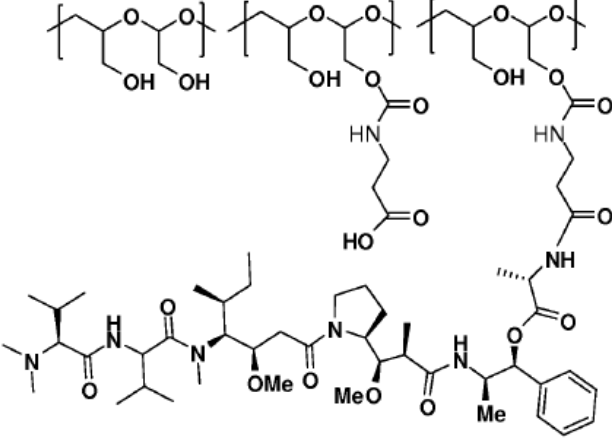
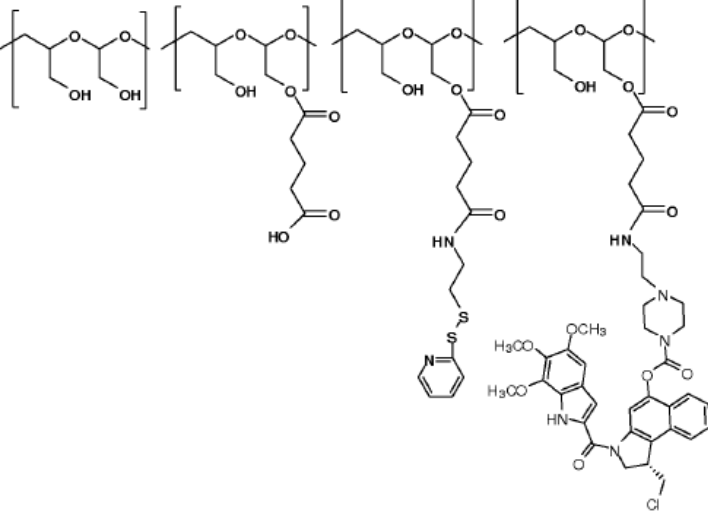
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
		
		
	1:1 a 5:1	

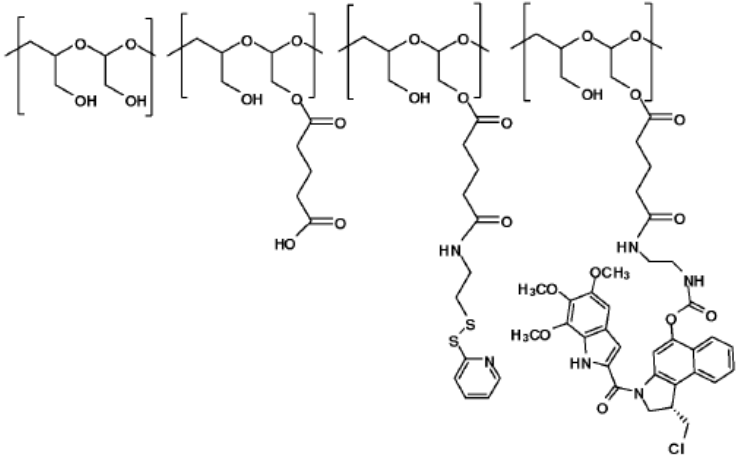
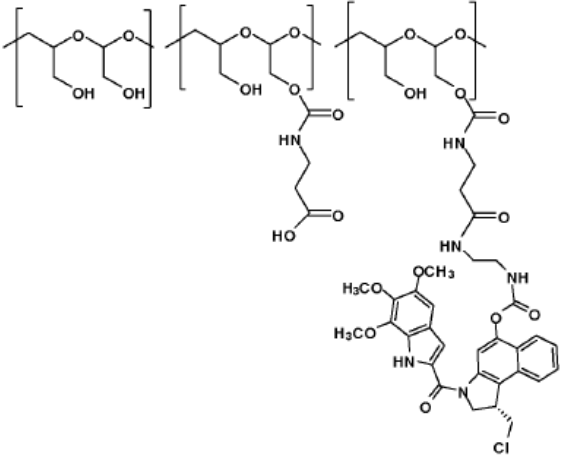
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	1:1 a 5:1	
		
		

(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	5:1 a 10:1	
	1:1 a 5:1	

(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	12 :1 a 16:1	
	5 :1 a 9 :1	

(continuación)

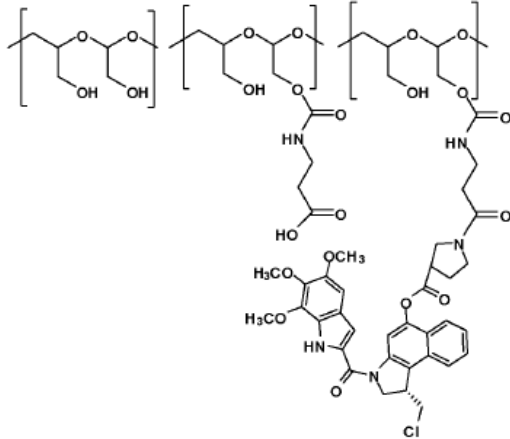
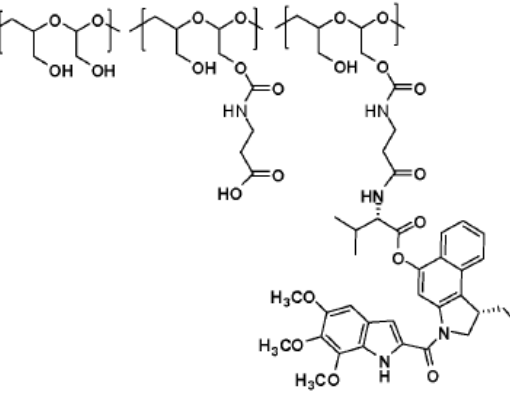
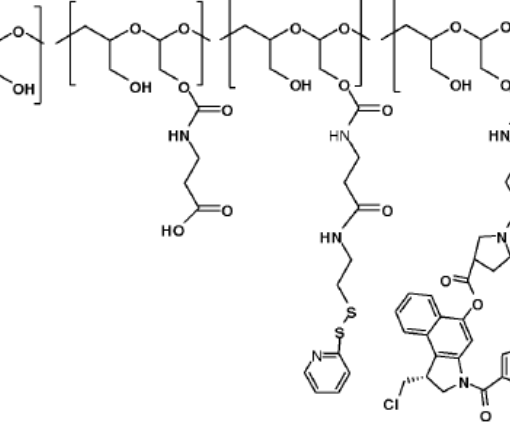
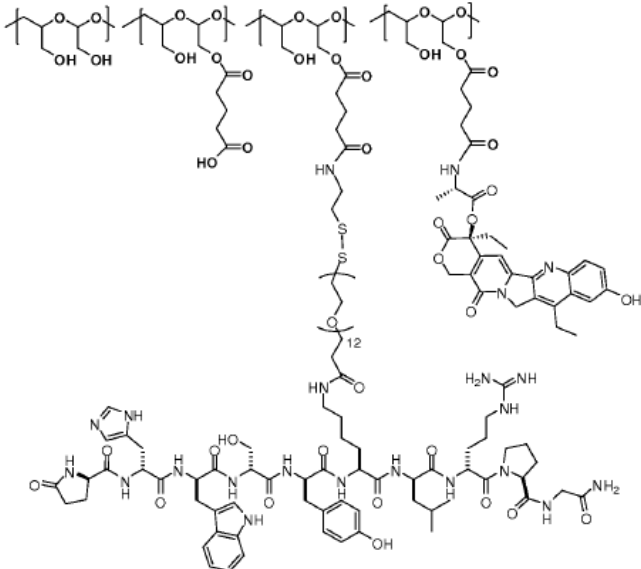
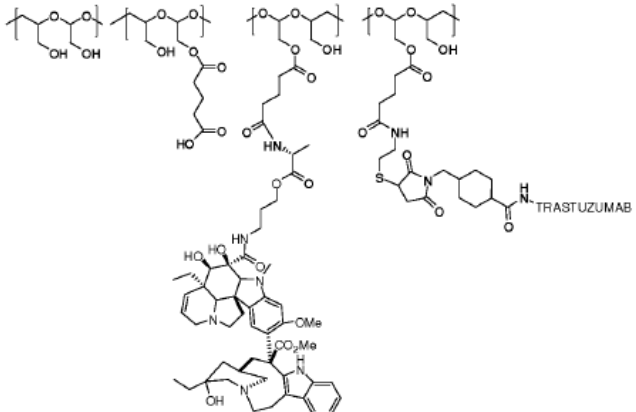
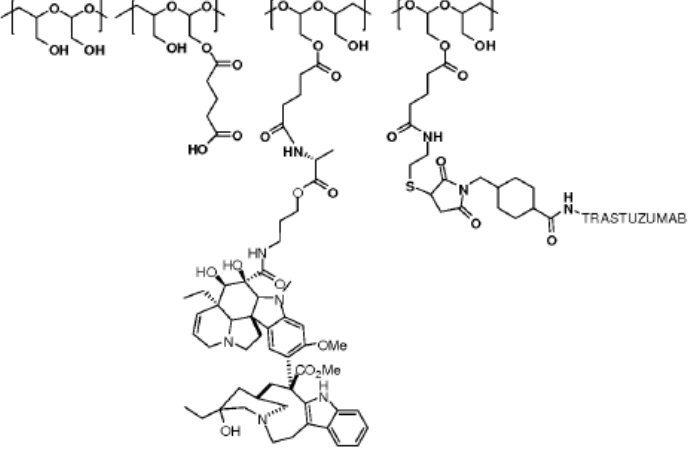
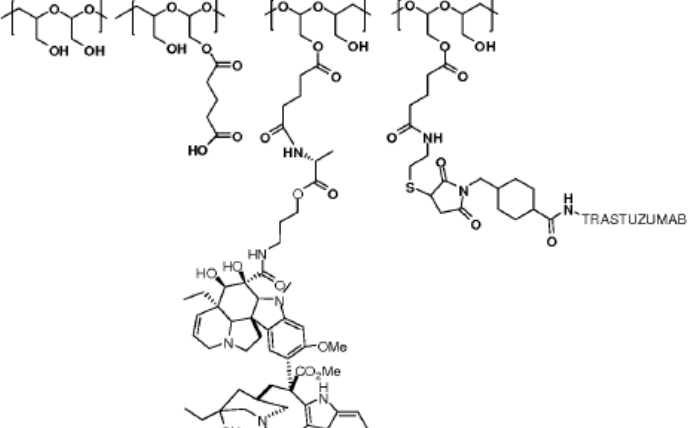
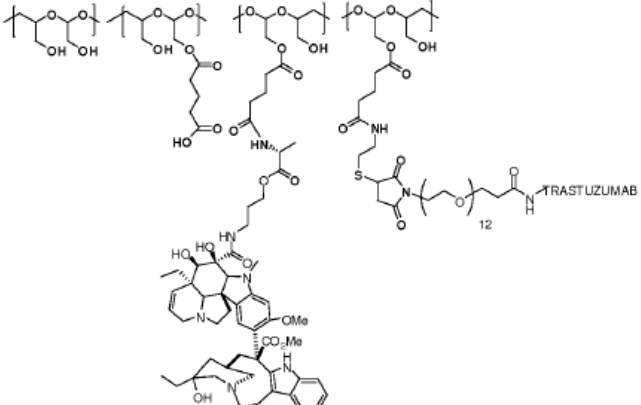
Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	2:1 a 6:1	
		
		

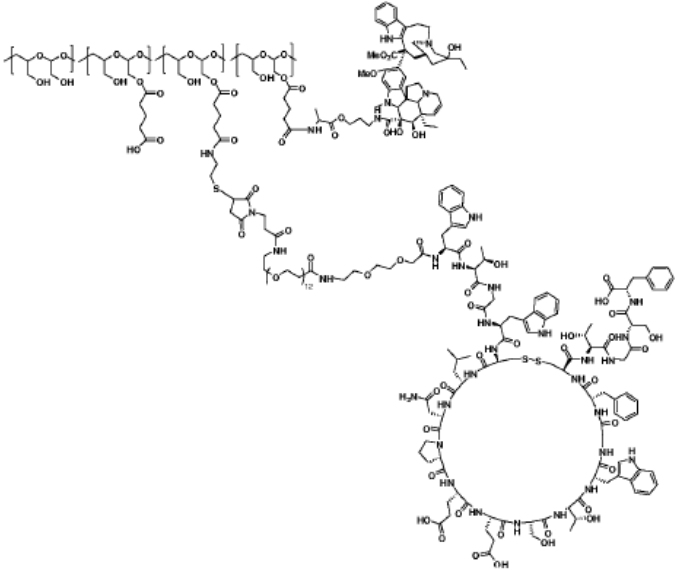
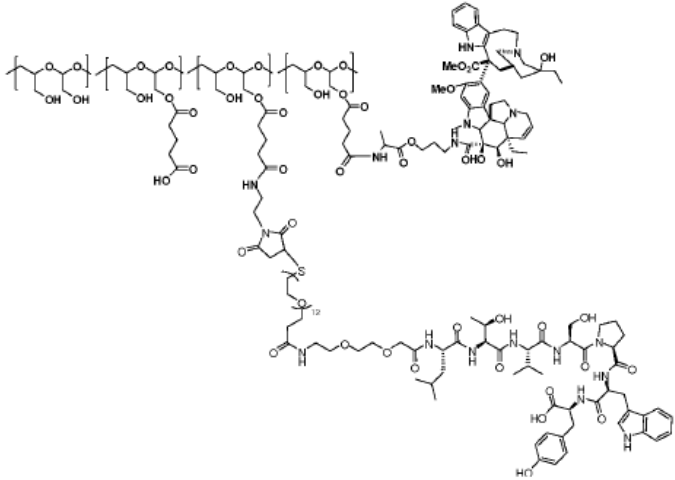
Tabla E

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 11		
Ej. 7	14.1 a 17:1 19.1 a 22:1	

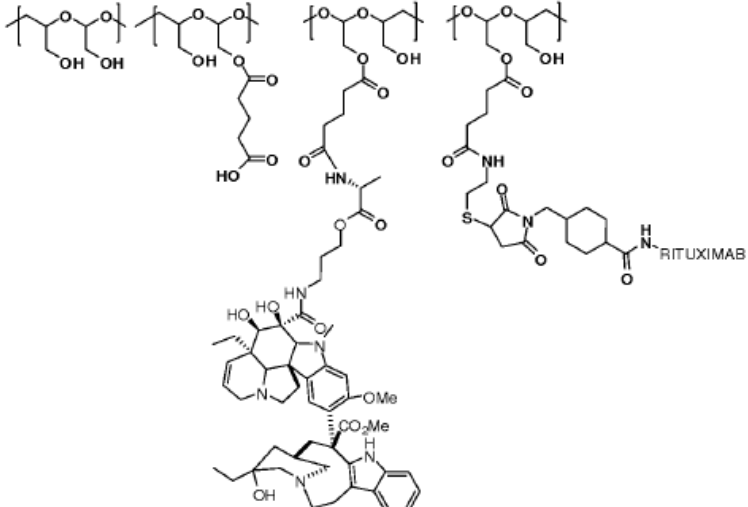
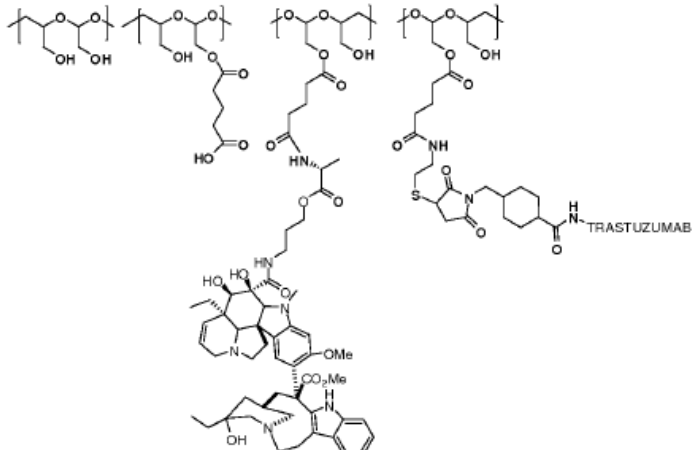
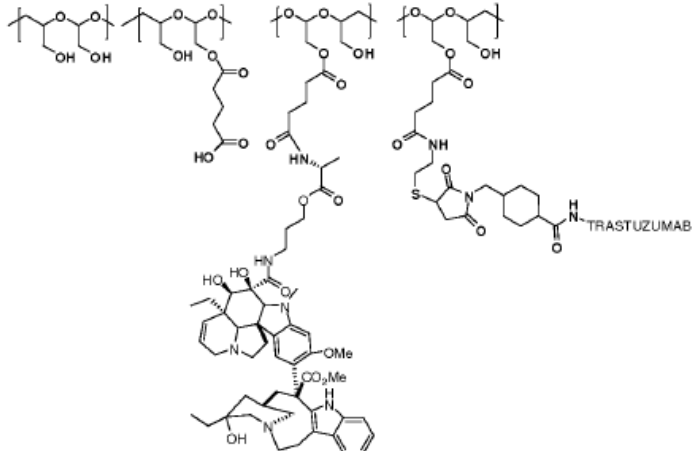
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 19	10:1 a 12:1	
Ej. 21	47:1 a 50:1	
Ej. 8	16.1 a 18.1	

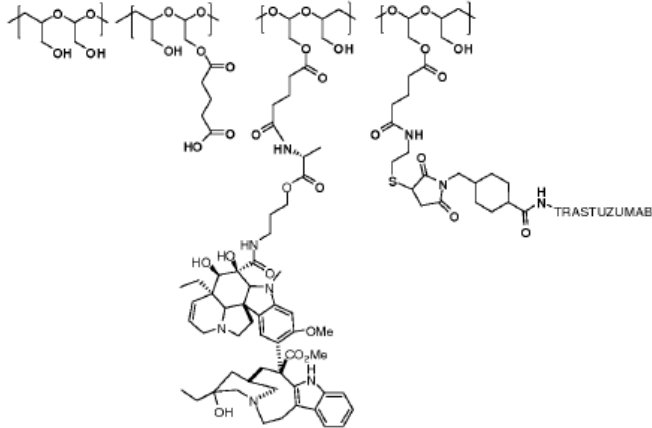
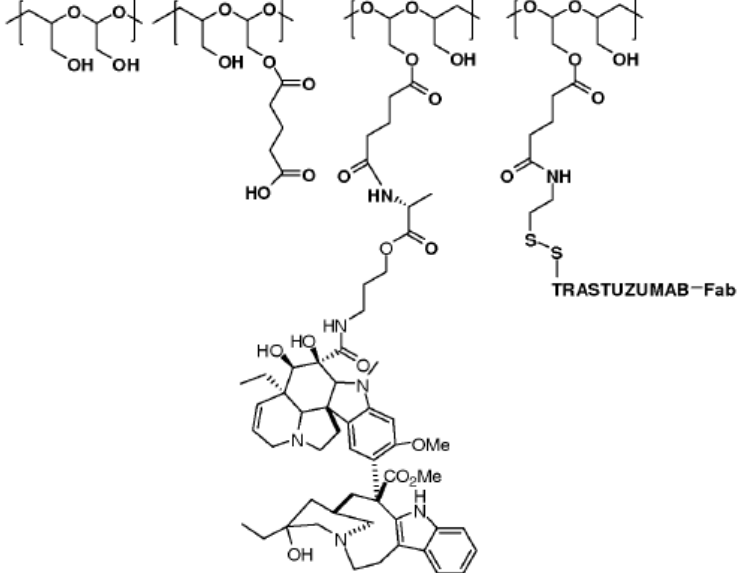
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 15		
Ej. 17		

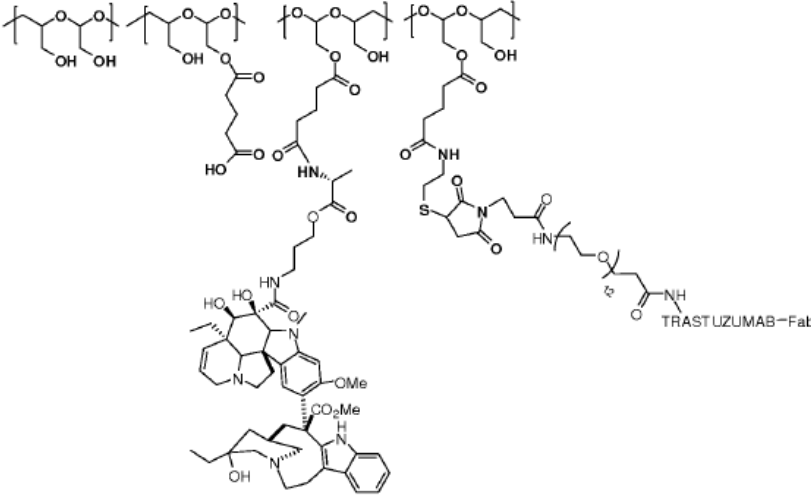
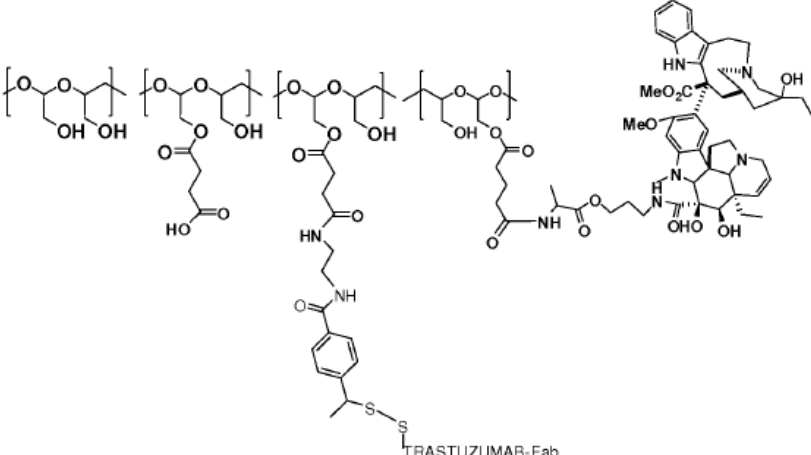
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 54	12.1 a 15:1	
Ej. 55	~5:1	
Ej. 56	~10:1	

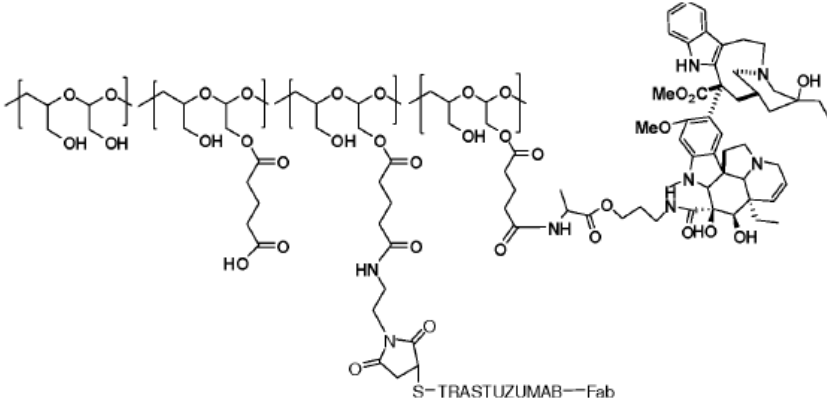
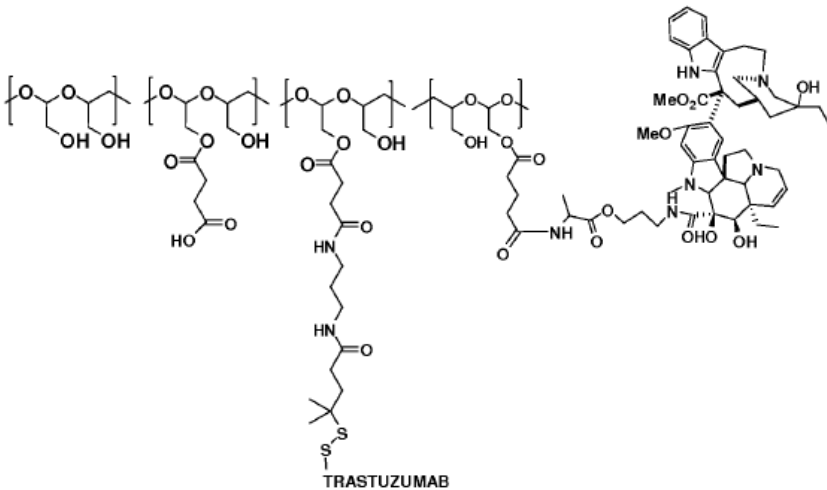
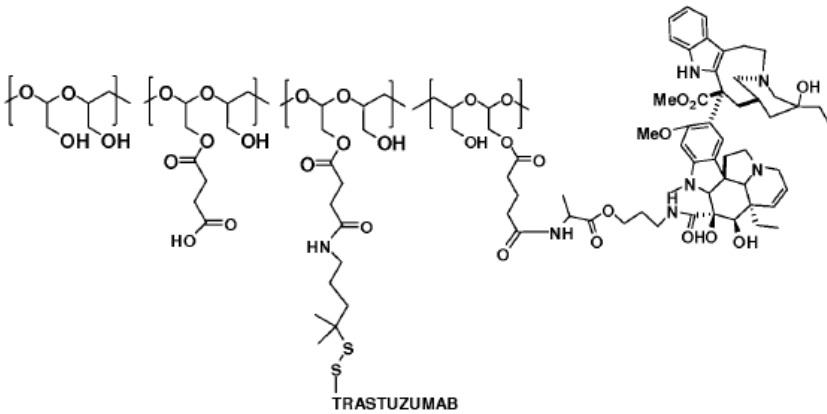
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 57	~20:1	
Ej. 60	10:1 a 14:1	

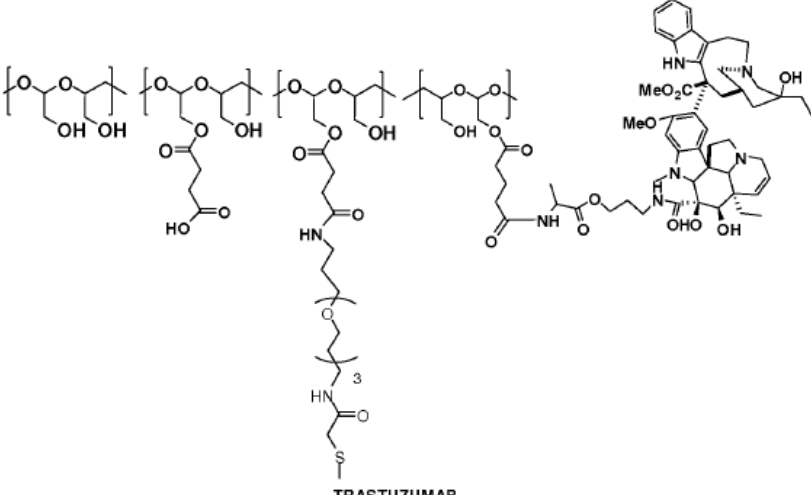
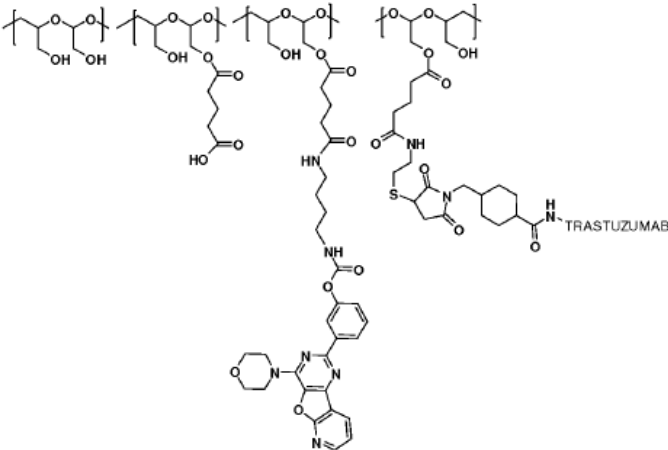
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
		
	9:1 a 13:1	

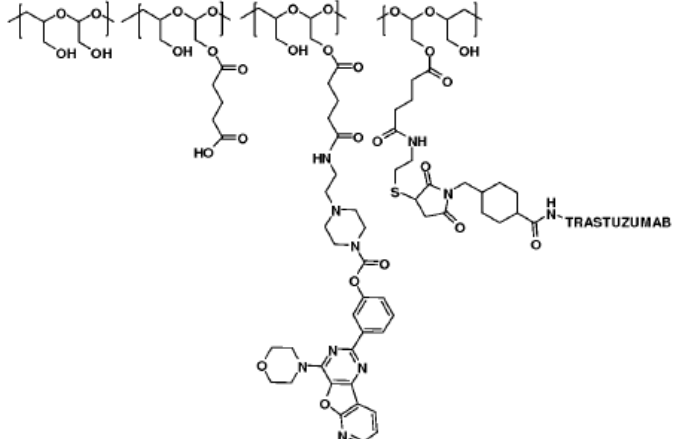
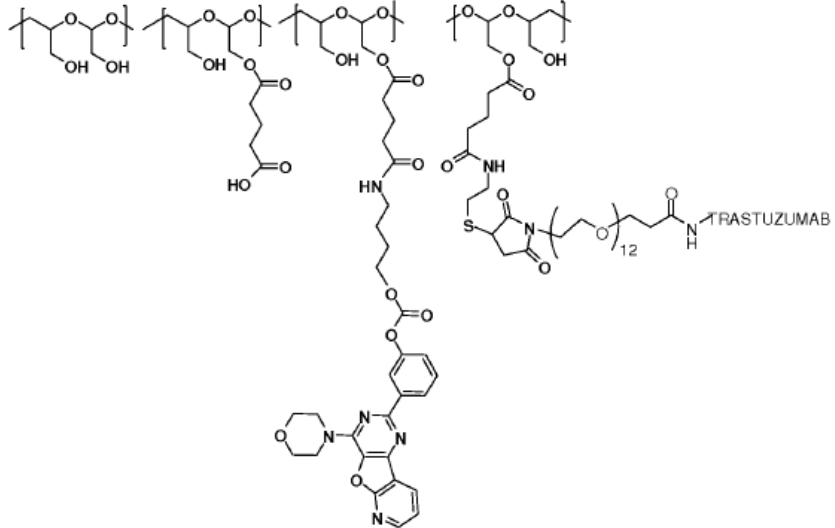
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
		 <p>S-TRASTUZUMAB-Fab</p>
		 <p>TRASTUZUMAB</p>
		 <p>TRASTUZUMAB</p>

(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
		 <p style="text-align: center;">TRASTUZUMAB</p>
Ej. 27		 <p style="text-align: right;">TRASTUZUMAB</p>

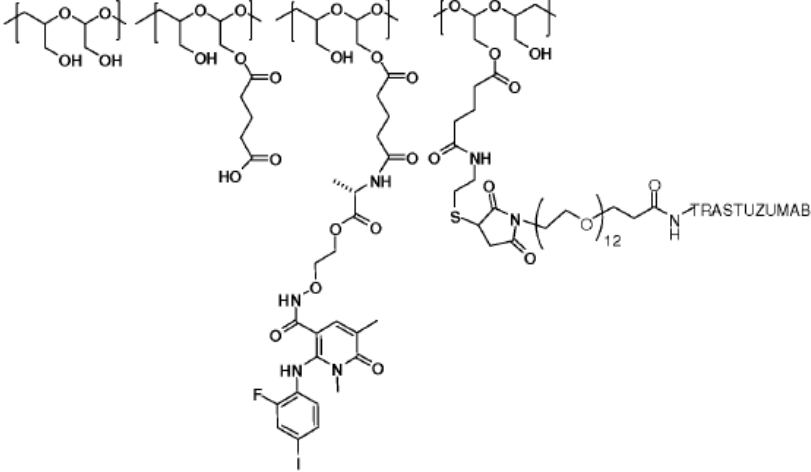
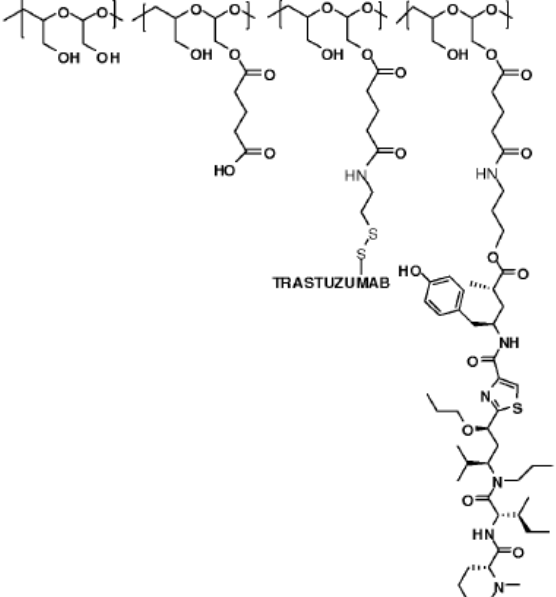
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 29		
		

(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 32		
Ej. 35		
Ej. 38	2:1 a 6:1	

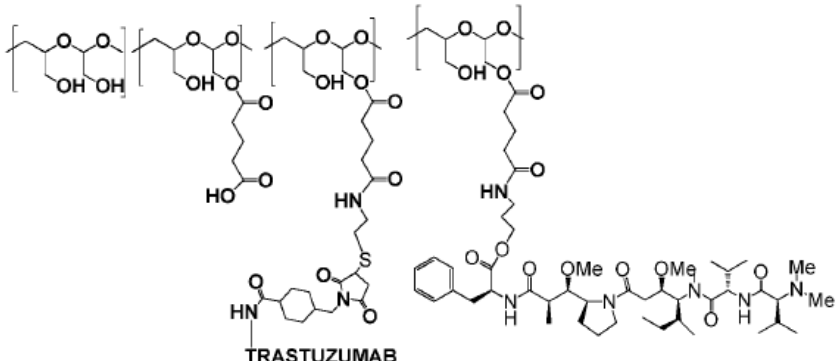
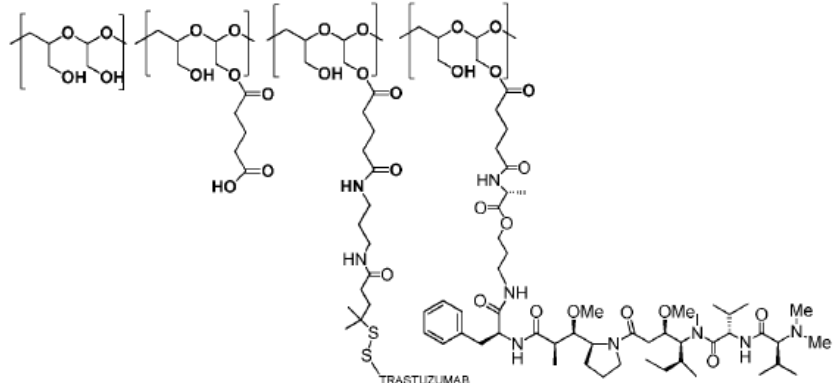
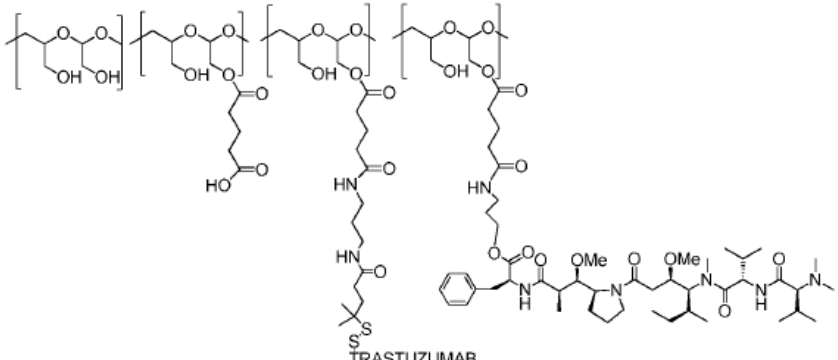
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	2:1 a 6:1	
	14:1 a 18:1	

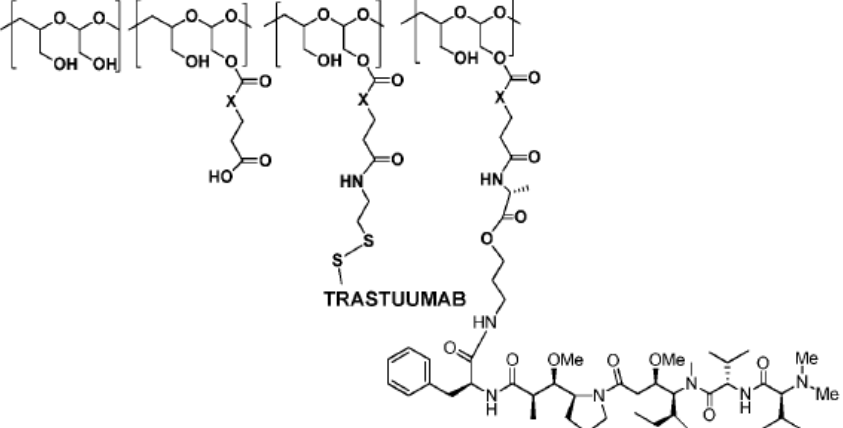
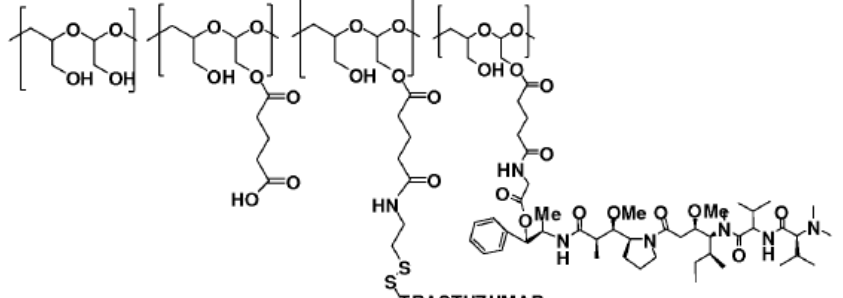
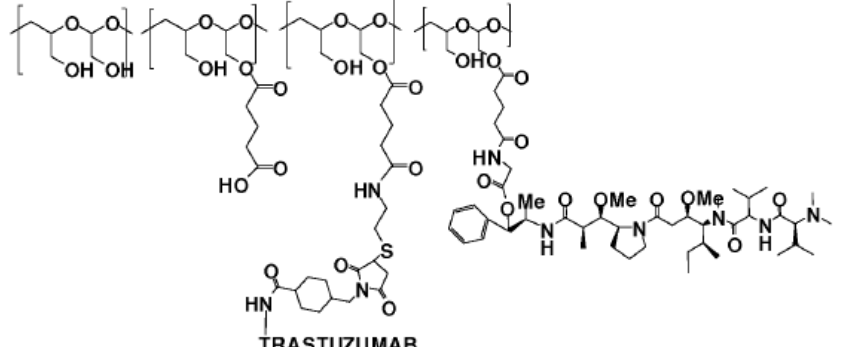
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 41		
Ej. 52	19:1 a 23:1 24:1 - 28:1	
	8:1 a 12:1	

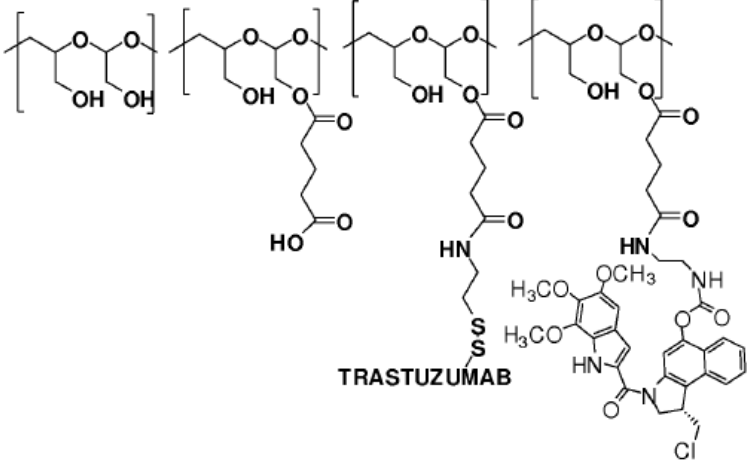
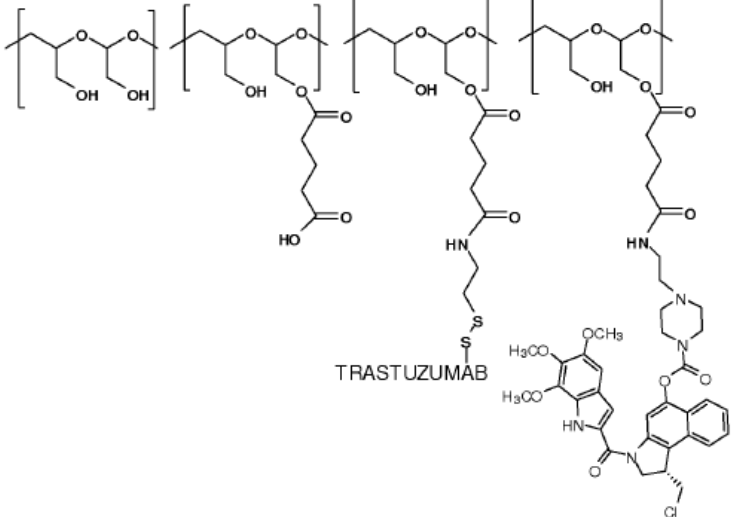
(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
Ej. 66	9:1 a 13:1 21:1 a 25:1	 <p>The structure shows a Trastuzumab antibody molecule with four heavy chain C-termini. The first and third chains are terminated with a hydroxyl group (OH). The second and fourth chains are terminated with a carboxylic acid group (COOH). The second and fourth chains are also linked to a Trastuzumab molecule via a disulfide bond (S-S) and a linker. The Trastuzumab molecule consists of a heavy chain and a light chain, both with various modifications including methoxy groups (OMe) and a dimethylamino group (NMe₂).</p> <p>TRASTUZUMAB</p>
Ej. 70	9:1 a 13:1	 <p>The structure shows a Trastuzumab antibody molecule with four heavy chain C-termini. The first and third chains are terminated with a hydroxyl group (OH). The second and fourth chains are terminated with a carboxylic acid group (COOH). The second and fourth chains are also linked to a Trastuzumab molecule via a disulfide bond (S-S) and a linker. The Trastuzumab molecule consists of a heavy chain and a light chain, both with various modifications including methoxy groups (OMe) and a dimethylamino group (NMe₂).</p> <p>TRASTUZUMAB</p>
Ej. 72	11:1 a 15:1	 <p>The structure shows a Trastuzumab antibody molecule with four heavy chain C-termini. The first and third chains are terminated with a hydroxyl group (OH). The second and fourth chains are terminated with a carboxylic acid group (COOH). The second and fourth chains are also linked to a Trastuzumab molecule via a disulfide bond (S-S) and a linker. The Trastuzumab molecule consists of a heavy chain and a light chain, both with various modifications including methoxy groups (OMe) and a dimethylamino group (NMe₂).</p> <p>TRASTUZUMAB</p>

(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	X=NH 7:1 a 11:1	
	2:1 a 6:1	
	12:1 a 16:1	

(continuación)

Ref #	Relación Fármaco: PHF	Estructura
	11:1 a 15:1	
		

Métodos sintéticos

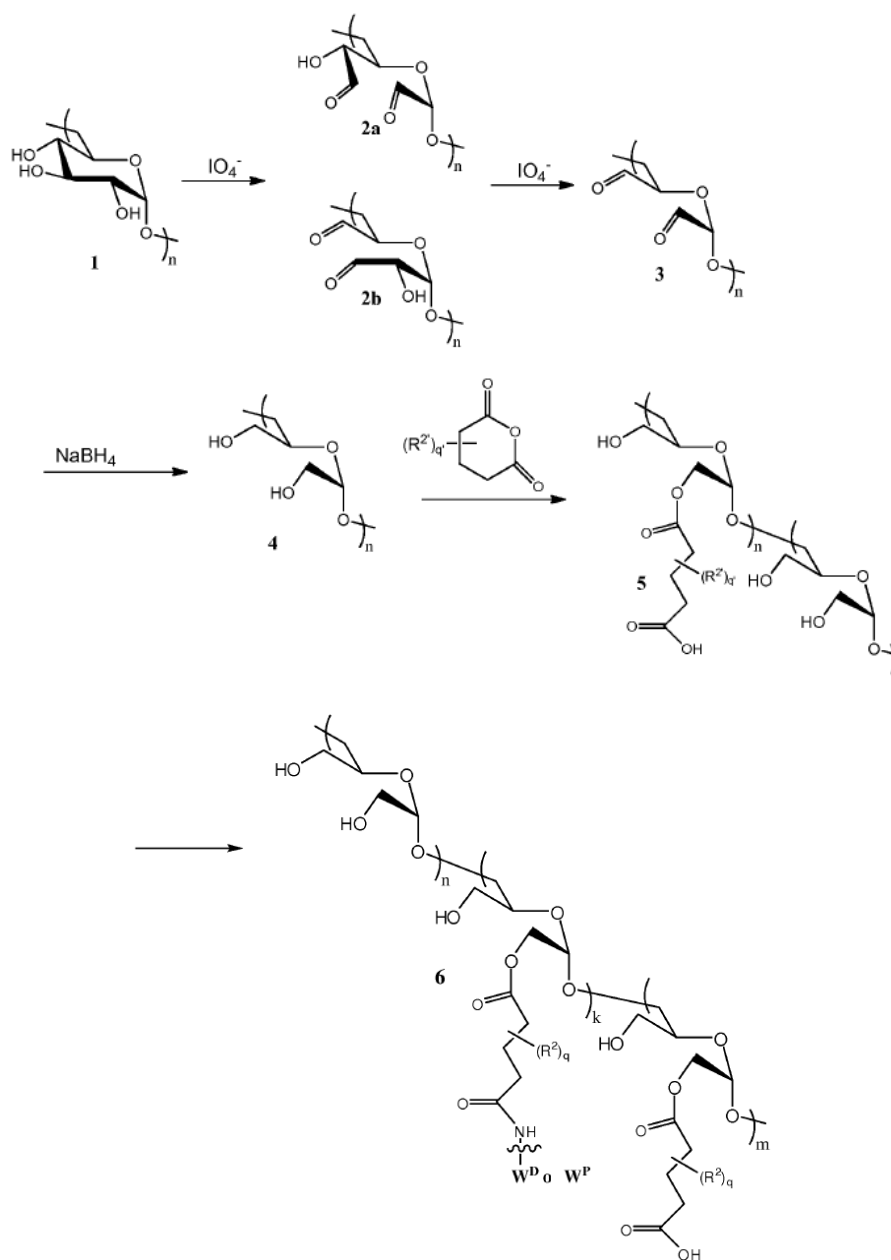
- 5 De acuerdo con la presente invención, se pueden utilizar cualquiera de las técnicas disponibles para fabricar los conjugados o composiciones de la invención que los incluyan, y los compuestos intermedios y componentes (por ejemplo, soportes y modificadores) útiles para fabricarlos. Por ejemplo, pueden usarse métodos semisintéticos y totalmente sintéticos tales como los discutidos en detalle a continuación.

Soportes

- 10 En la técnica se conocen métodos para preparar portadores poliméricos (por ejemplo, portadores poliméricos biocompatibles y biodegradables) adecuados para la conjugación con modificadores. Por ejemplo, se puede encontrar una guía de síntesis en las patentes estadounidenses Nos. 5.811.510; 5.863.990; 5.958.398; 7.838.619; y 7.790.150; y las publicaciones de la solicitud de patente estadounidense No. 2006/0058512. El experto en la materia sabrá adaptar estos métodos para fabricar soportes poliméricos para uso en la práctica de la invención.

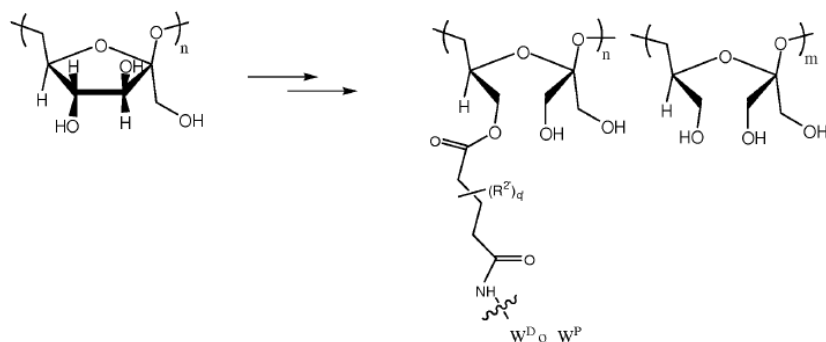
- 15 Por ejemplo, los polials semisintéticos se pueden preparar a partir de polialdosas y policetosas mediante la escisión lateral completa de anillos de carbohidratos con periodato en soluciones acuosas, con posterior conversión en fracciones hidrofílicas (por ejemplo, mediante reducción con borohidruro) para la conjugación de grupos hidroxilo con una o más moléculas de fármaco o PBRM, a través de un enlazador de ácido dicarboxílico (por ejemplo, un enlazador de ácido glutámico). En un ejemplo de realización, los anillos de carbohidrato de un polisacárido adecuado se pueden

oxidar mediante reactivos específicos de glicol, dando como resultado la escisión de enlaces carbono-carbono entre átomos de carbono que están conectados cada uno a un grupo hidroxilo. Un ejemplo de aplicación de esta metodología al dextrano B-512 se ilustra a continuación:

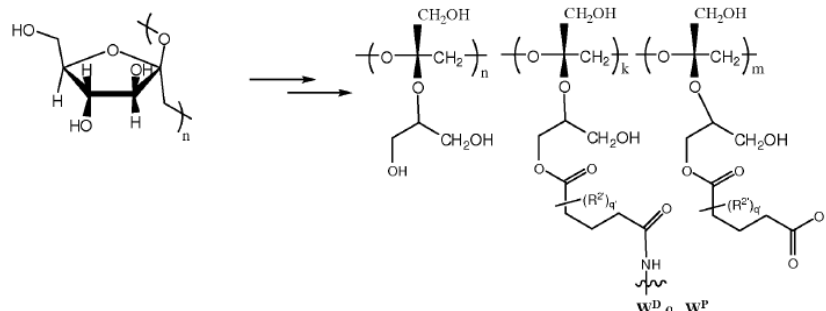


5

Se puede usar un enfoque similar con Levano:



e Inulina:



En los esquemas anteriores, el enlace ondulado indica que W^D o W^P están conectados directamente como se muestra o mediante otra fracción tal como M^{D2} o M^{P2} respectivamente

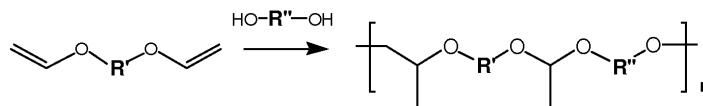
5 En los esquemas anteriores, q' es un número entero de 0 a 4; y cada aparición de R² es independientemente hidrógeno, halógeno, -CN, NO₂, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo, o -GR^{G1} en donde G es -O-, -S-, -NR^{G2}-, -C(=O)-, -S(=O)-, -SO₂-, -C(=O)O-, -C(=O)NR^{G2}-, -OC(=O)-, -NR^{G2}C(=O)-, -OC(=O)O-, -OC(=O)NR^{G2}-, -NR^{G2}C(=O)O-, -NR^{G2}C(=O)NR^{G2}-, -C(=S)-, -C(=S)S-, -SC(=S)-, -SC(=S)S-, -C(=NR^{G2})-, -C(=NR^{G2})O-, -C(=NR^{G2})NR^{G3}-, -OC(=NR^{G2})-, -NR^{G2}C(=NR^{G3})-, -NR^{G2}SO₂-, -NR^{G2}SO₂NR^{G3}-, o -SO₂NR^{G2}-, en donde cada aparición de R^{G1}, R^{G2} y R^{G3} es independientemente hidrógeno, halógeno, o una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo
10 opcionalmente sustituida.

En ciertas realizaciones, cada aparición de R^2 es independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroalquilo, heteroalquenilo, heteroalquinilo, heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, $-C(=O)R^{2A}$ o $-ZR^{2A}$, en donde Z es O, S, NR^{2B} , donde cada aparición de R^{2A} y R^{2B} es independientemente hidrógeno, o un alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heteroalquilo, heteroalquenilo, heteroalquinilo, heterocicloalquilo, arilo o heteroarilo. En ciertas realizaciones, cada aparición de R^2 es hidrógeno. En ciertas realizaciones, una o más apariciones de R^2 son una fracción alquilo C_{1-10} . En ciertas realizaciones, una o más apariciones de R^2 son alquilo inferior. En ciertas realizaciones, una o más apariciones de R^2 son un grupo hidrófobo. En ciertas realizaciones, una o más apariciones de R^2 son un grupo hidrofílico. En ciertas realizaciones, una o más apariciones de R^2 son un grupo aniónico. En ciertas realizaciones, una o más apariciones de R^2 son un grupo catiónico. En ciertas realizaciones, una o más apariciones de R^2 son un ligando receptor.

En una realización, un método para formar los conjugados de polial biocompatibles biodegradables de la presente invención comprende un proceso mediante el cual un polisacárido adecuado se combina con una cantidad eficaz de un agente oxidante específico de glicol para formar un compuesto intermedio de aldehído. El compuesto intermedio de aldehído, que es un polial propiamente dicho, puede reducirse a continuación al poliol correspondiente, succinado y acoplado con uno o más modificadores adecuados para formar un conjugado de polial biocompatible biodegradable que comprende enlaces que contienen succinamida.

30 En otra realización preferida, los polímeros biocompatibles biodegradables totalmente sintéticos utilizados en la presente invención pueden prepararse haciendo reaccionar un iniciador adecuado con un compuesto precursor adecuado.

Por ejemplo, se pueden preparar polials totalmente sintéticos por condensación de éteres vinílicos con dioles sustituidos protegidos. Pueden utilizarse otros métodos, tales como la polimerización de apertura de ciclo, en la que la eficacia del método puede depender del grado de sustitución y voluminosidad de los grupos protectores.



35 Un experto en la técnica apreciará que los sistemas disolventes, catalizadores y otros factores pueden optimizarse para obtener productos de alto peso molecular.

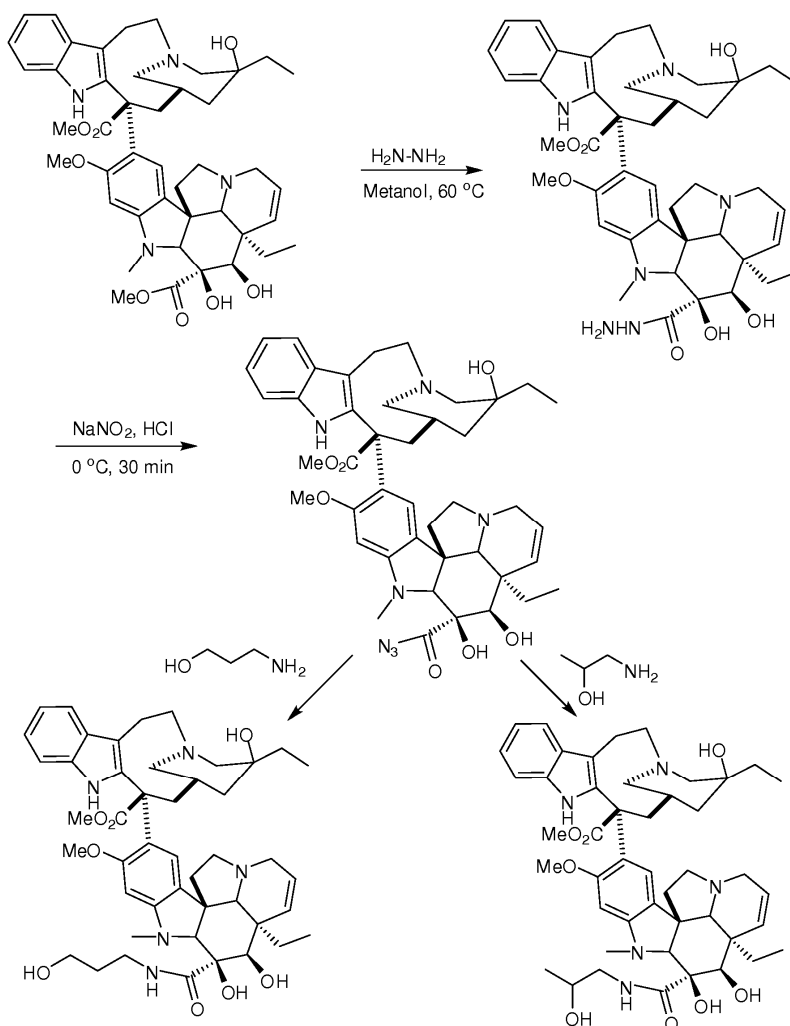
En ciertas realizaciones, el soporte es PHF.

Fármacos y derivados de fármacos

En ciertas realizaciones, el fármaco puede modificarse antes de la conjugación con el soporte polimérico. Los

Esquemas 1 y 2 son métodos ilustrativos para modificar un alcaloide de la Vinca. El Esquema 3 muestra un método para modificar un derivado de camptotecina no natural. El Esquema 4 muestra un método para modificar la auristatina F. Más métodos de modificación se describen en el documento US 2010/0305149.

Esquema 1

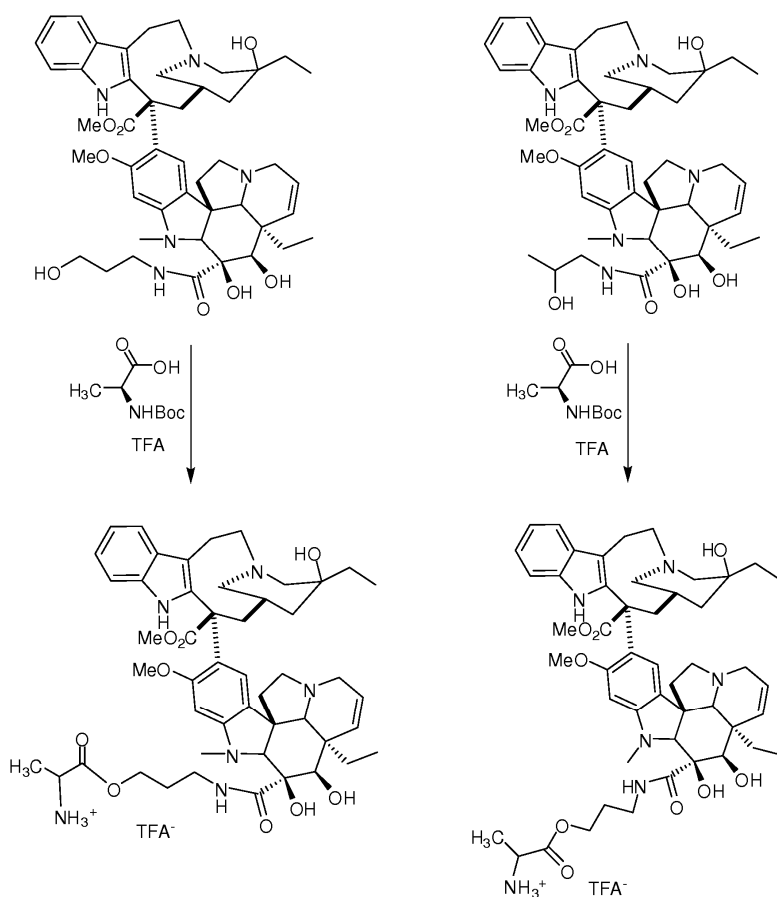


5

La reacción del éster C₂₃ de un alcaloide de la Vinca con hidracina seguido de tratamiento con NaNO₂ da como resultado un azido éster activo. La reacción del azido éster con un compuesto amino tal como propanolamina o 1-aminopropan-2-ol da como resultado un derivado alcaloide de la Vinca con un hidroxilo al cual se le han añadido grupos funcionales que pueden formar derivados adicionalmente con compuestos que contienen amino, tales como, por ejemplo, alanina o derivados de metilalanina, para conjugación con polímeros (véase el Esquema 1).

10

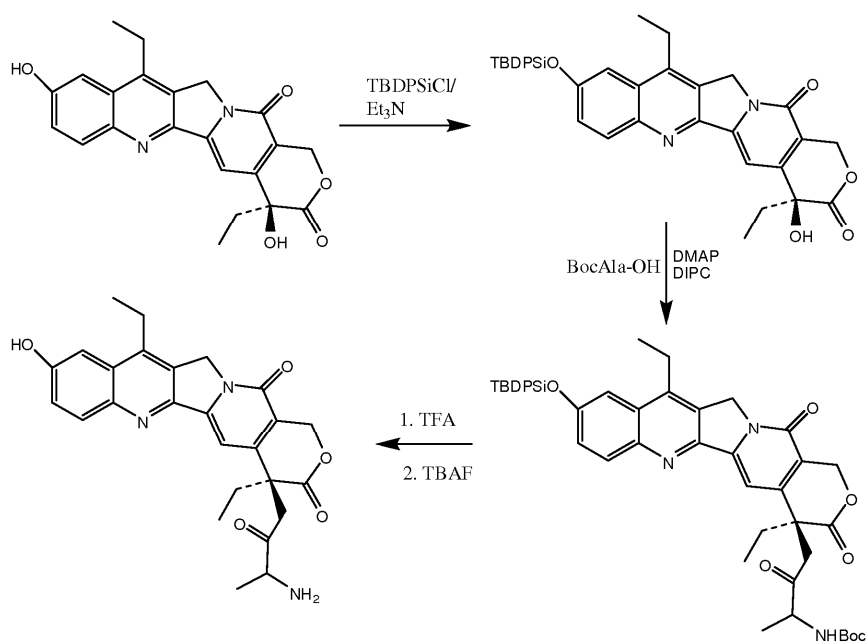
Esquema 2



5

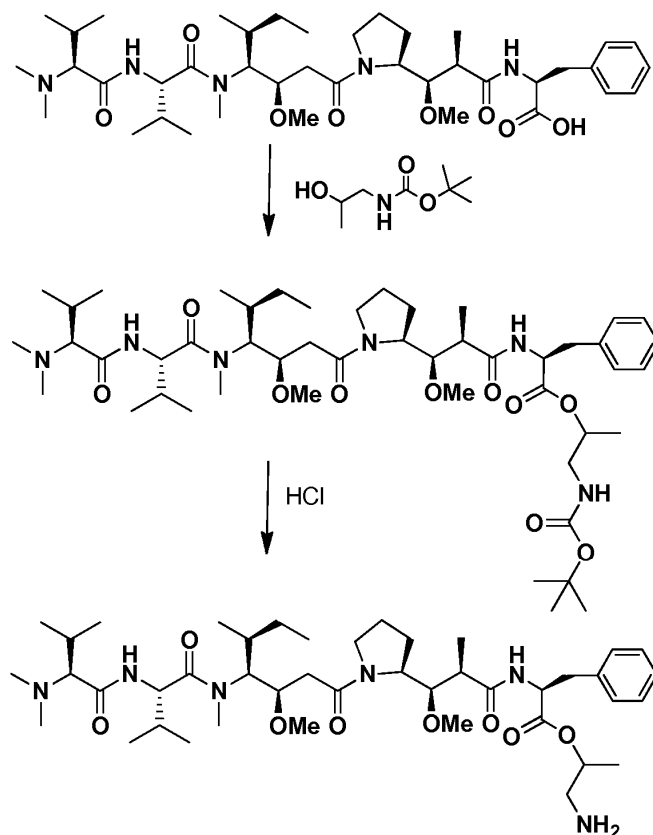
El tratamiento del derivado de hidroxilo del alcaloide de la Vinca con un éter terciario que contiene amino protegido tal como el aminoácido esterificado con t-butoxi seguido por la hidrólisis con TFA del éster produce la sal triflato del alcaloide de la vinca (Esquema 2). La conjugación del alcaloide de la vinca con los polímeros a los que se les han añadido grupos funcionales da como resultado conjugados fármaco-polímero que pueden conjugarse adicionalmente con una PBRM o su derivado para producir como resultado conjugados de proteína-fármaco-polímero.

Esquema 3



El grupo 10-hidroxi del derivado de camptotecina no natural, por ejemplo, SN38, se protege selectivamente haciendo reaccionar el derivado con cloruro de terc-butildifenilsililo (TBDPSiCl) en presencia de trietilamina. El grupo 20-hidroxi puede hacerse reaccionar con t-butylcarbonil-alanina para formar el derivado de alanina usando el procedimiento descrito en Sapra, P. et al., Clin. Cancer Res., 14: 1888-1896 (2008). Alternativamente, pueden emplearse otros aminoácidos, por ejemplo, glicina. La amina primaria se desenmascara eliminando el grupo protector Boc por tratamiento con ácido trifluoroacético, seguido de la eliminación del grupo protector TBDPS con fluoruro de tetrabutilamonio (véase el Esquema 3). El compuesto SN38 resultante derivado de amino puede conjugarse con un polímero al cual se le han añadido grupos funcionales para formar un conjugado de fármaco-polímero.

Esquema 4

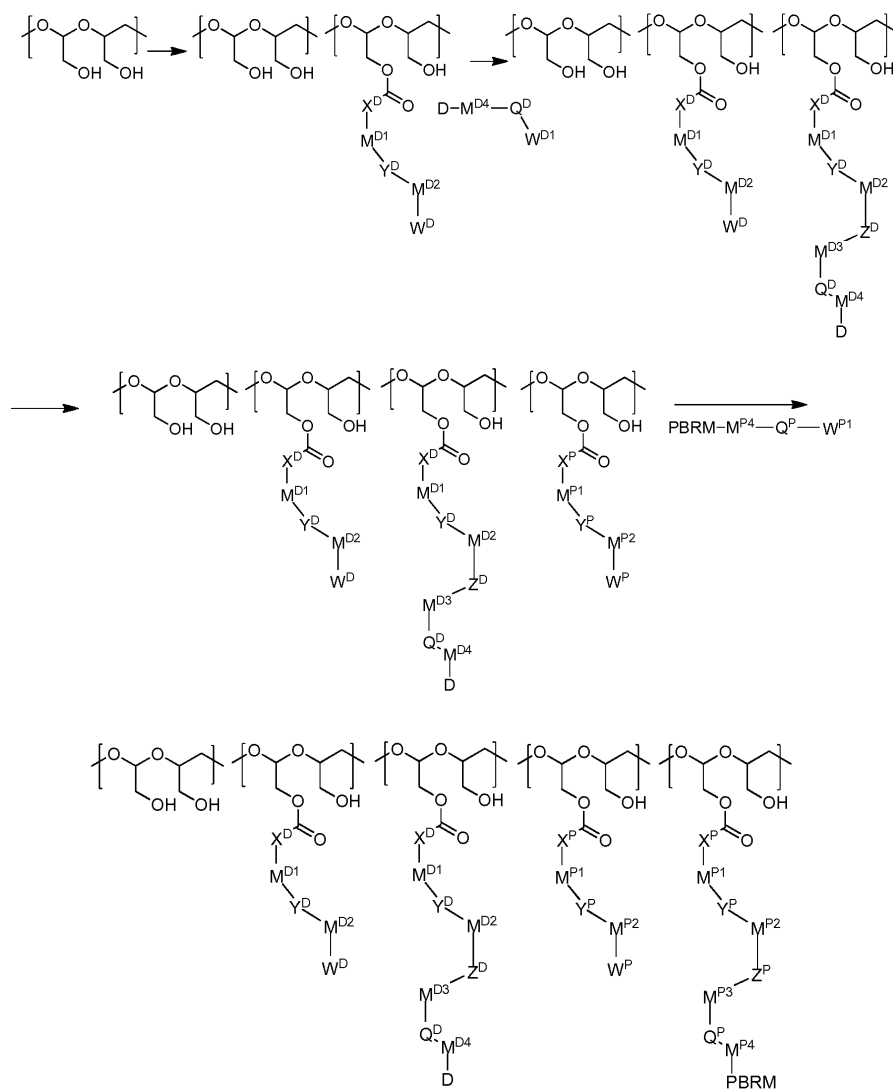


El tratamiento de la auristatina F con éter terciario que contiene amino protegido tal como 2-hidroxipropilamina esterificada con t-butoxi seguido de hidrólisis con HCl del éster, produce el derivado 2-hidroxilpropilamino de la auristatina F (véase el Esquema 4). La conjugación del derivado de auristatina F con polímeros a los que se les ha añadido grupos funcionales da como resultado conjugados de fármaco-polímero que pueden ser conjugados adicionalmente con una PBRM o su derivado para producir lugar a conjugados de proteína-polímero-fármaco.

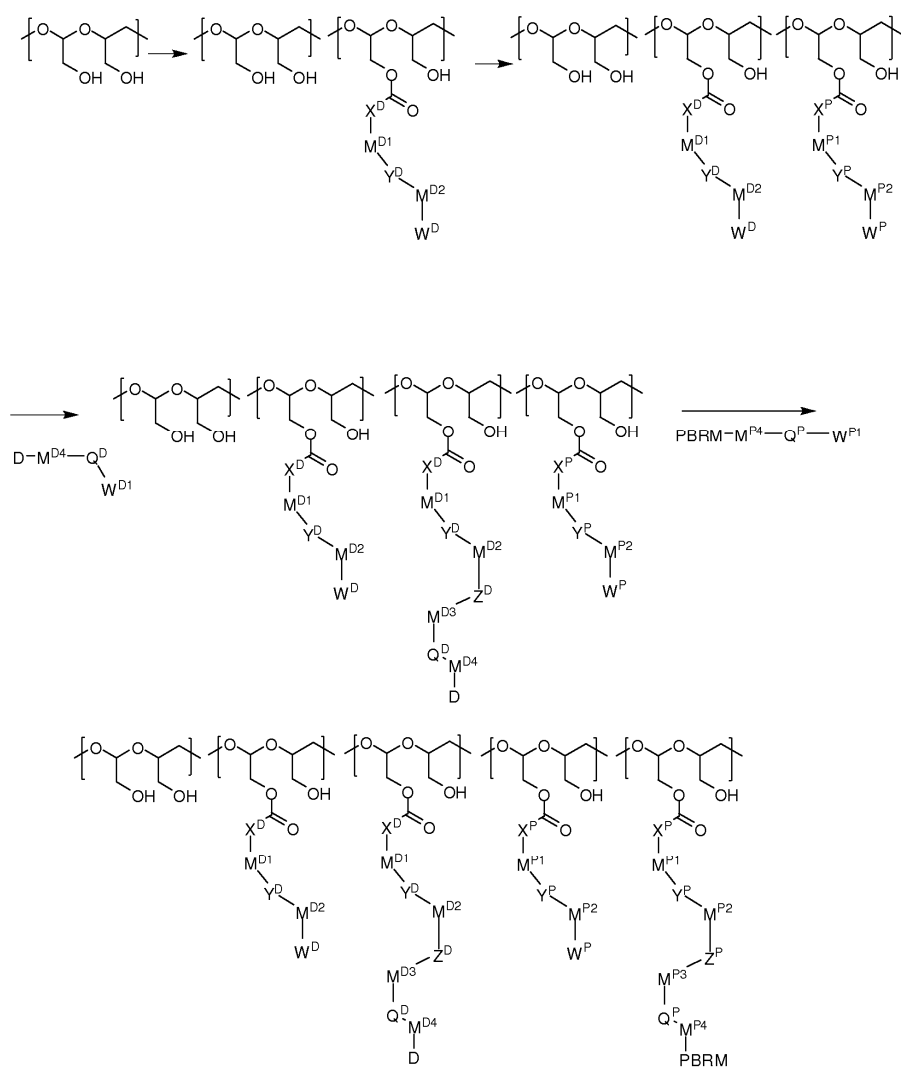
Conjugados o estructuras poliméricas

Los métodos generales para producir los conjugados o estructuras poliméricas de esta invención se han descrito anteriormente. Los Esquemas 5-10 a continuación ejemplifican cómo se sintetizan los conjugados o estructuras poliméricas. Las variables (por ejemplo, X^D , X^P , L^{D1} y L^{P2} etc.) en estos esquemas tienen las mismas definiciones que se describen en este documento a menos que se especifique lo contrario. Cada W^{D1} es una fracción de una función que es capaz de reaccionar con W^D para formar Z^D-M^{D3} y cada W^{P1} es una fracción de una función capaz de reaccionar con W^P para formar Z^P-M^{P3} . $-X^D-M^{D1}-Y^D-M^{D2}-W^D$ y $-X^P-M^{P1}-Y^P-M^{P2}-W^P$ pueden ser diferentes (tal como en los Esquemas 5 y 5A) o los mismos (tal como en el Esquema 6). En algunas realizaciones $-X^P-M^{P1}-Y^P-M^{P2}-W^P$ se forma mediante una modificación adicional de $-X^D-M^{D1}-Y^D-M^{D2}-W^D$.

Esquema 5



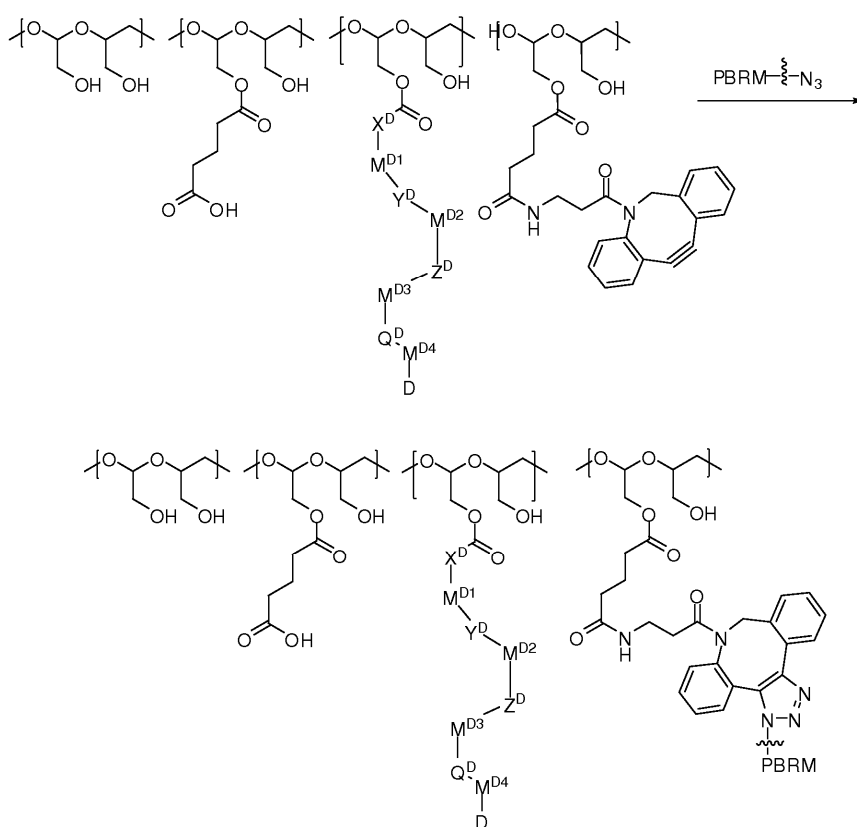
Esquema 5A





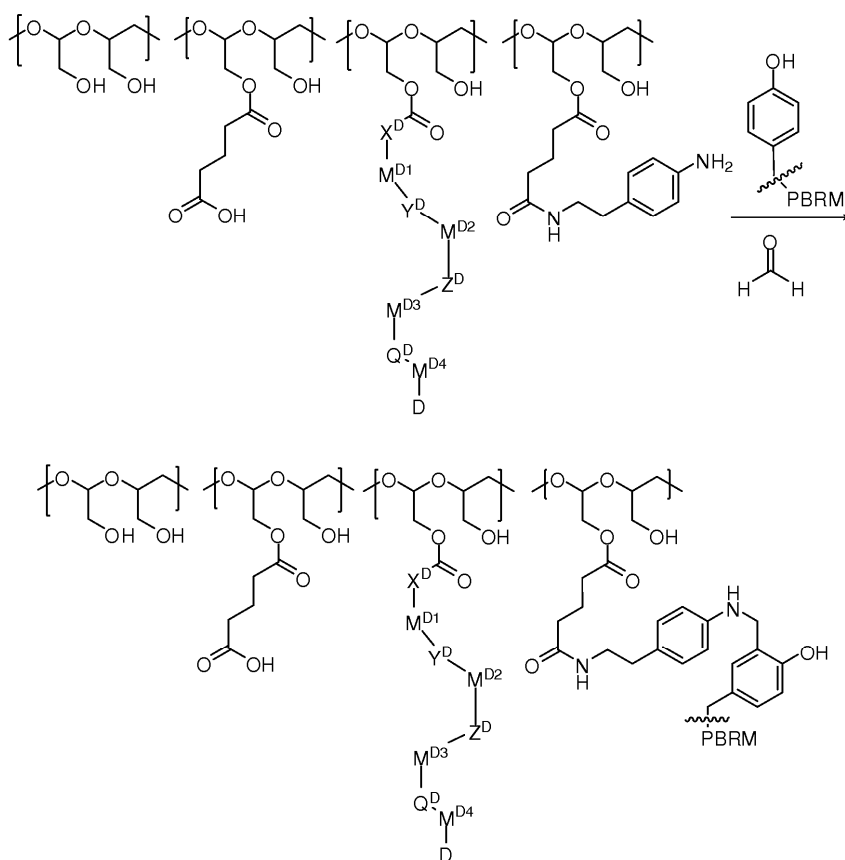
El Esquema 7 a continuación muestra la síntesis de un conjugado de PBRM-fármaco-polímero en el que la PBRM está enlazada al conjugado de fármaco-polímero usando química clic.

Esquema 7



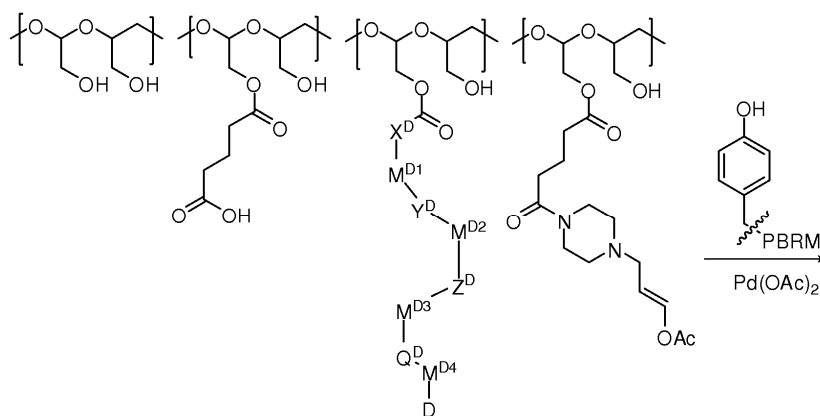
El Esquema 8 a continuación muestra que la síntesis de un conjugado de PBRM-fármaco-polímero en el que la PBRM es enlazada al conjugado de fármaco-polímero mediante una reacción de Mannich.

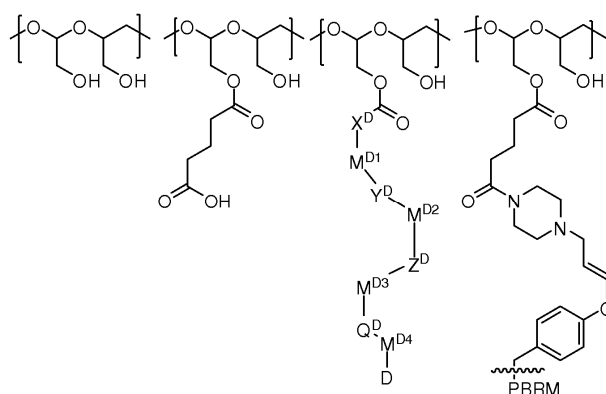
Esquema 8



El Esquema 9 a continuación muestra que la síntesis de un conjugado de PBRM-fármaco-polímero en el que la PBRM es enlazada al conjugado de fármaco-polímero por acoplamiento cruzado catalizado con paladio.

Esquema 9

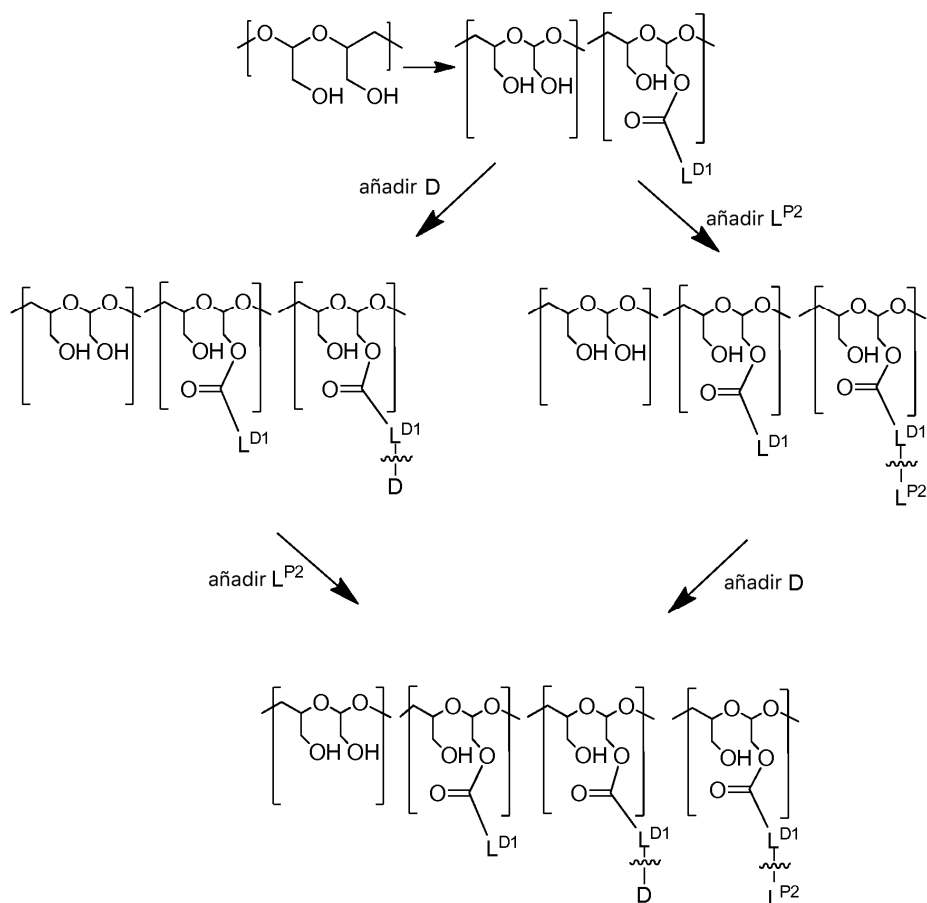




En los Esquemas 7-9 anteriores, el enlace ondulado indica que PBRM está o bien conectada al modificador funcional directamente o a través de otra fracción tal como alquilo, cicloalquilo, arilo, etc.

5 Los Esquemas 10 a continuación muestran un esquema general de síntesis de elaboración de las estructuras poliméricas de la invención. El enlace ondulado indica conexión directa o indirecta entre L^{D1} y D o L^{P2} .

Esquema 10



10 La PBRM puede estar enlazada al conjugado de fármaco-polímero para formar el conjugado de proteína-fármaco-polímero usando métodos de síntesis estándar para la conjugación de proteínas, incluyendo, pero sin limitarse a, reacciones basadas en aminación reductora, ligación de Staudinger, formación de oxima, formación de tiazolidina y los métodos y reacciones descritos en la presente memoria.

Composiciones Farmacéuticas

También se incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más conjugados de proteína-polímero-

5 fármaco como se describe aquí en un soporte aceptable, tal como un estabilizador, regulador y similares. Los conjugados se pueden administrar e introducir en un sujeto por medios estándar, con o sin estabilizadores, reguladores, y similares, para formar una composición farmacéutica. La administración puede ser tópica (incluyendo oftálmica y a membranas mucosas incluyendo administración vaginal y rectal), pulmonar, por ejemplo, por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, incluyendo mediante nebulizador; intratraqueal, intranasal, epidérmica y transdérmica, oral o parenteral, incluyendo inyección intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular o infusión o administración intracranial, por ejemplo, intratecal o intraventricular. Los conjugados se pueden formular y utilizar como soluciones y/o suspensiones estériles para administración inyectable; polvos liofilizados para reconstitución antes de la inyección/infusión; composiciones tópicas; como comprimidos, cápsulas o elixires para administración oral; o supositorios para administración rectal, y las otras composiciones conocidas en la técnica.

15 Una composición o formulación farmacológica se refiere a una composición o formulación en una forma adecuada para administración, por ejemplo, administración sistémica, en una célula o sujeto, incluyendo por ejemplo un ser humano. Las formas adecuadas, en parte, dependen del uso o de la vía de entrada, por ejemplo, oral, inhalada, transdérmica o mediante inyección/infusión. Tales formas no deben impedir que la composición o formulación alcancen una célula diana (es decir, una célula a la que es deseable administrarle el fármaco). Por ejemplo, las composiciones farmacológicas inyectadas en el torrente sanguíneo deben ser solubles. Otros factores son conocidos en la técnica, e incluyen consideraciones tales como toxicidad y formas que impiden que la composición o formulación ejerza su efecto.

20 Por "administración sistémica" se entiende la absorción o acumulación sistémica *in vivo* del polímero modificado en el torrente sanguíneo seguido por la distribución a través de todo el cuerpo. Las vías de administración que conducen a la absorción sistémica incluyen, sin limitación: intravenosa, subcutánea, intraperitoneal, inhalación, oral, intrapulmonar e intramuscular. Cada una de estas vías de administración expone los polímeros modificados a un tejido enfermo accesible. Se ha demostrado que la velocidad de entrada de un agente activo en la circulación es una función del peso molecular o del tamaño. El uso de un conjugado de esta invención puede localizar el suministro del fármaco en ciertas células, tales como células cancerosas a través de la especificidad de las PBRM.

25 Una "formulación farmacéuticamente aceptable" significa una composición o formulación que permite la distribución efectiva de los conjugados en la ubicación física más adecuada para su actividad deseada. En una realización, la liberación eficaz tiene lugar antes de la eliminación por el sistema reticuloendotelial o la producción de unión fuera de la diana que puede dar como resultado una eficacia o toxicidad reducida. Ejemplos no limitativos de agentes adecuados para la formulación con los conjugados incluyen: inhibidores de la glicoproteína P (tales como Pluronic P85), que pueden mejorar la entrada de agentes activos en el SNC; polímeros biodegradables, tales como microesferas de poli (DL-láctido-coglicólido) para administración de liberación sostenida después de la implantación intracerebral; y nanopartículas cargadas, como las elaboradas de polibutílcianoacrilato, que pueden administrar agentes activos a través de la barrera hematoencefálica y pueden alterar los mecanismos de absorción neuronal.

35 También se incluyen aquí composiciones farmacéuticas preparadas para almacenamiento o administración, que incluyen una cantidad farmacéuticamente efectiva de los conjugados deseados en un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los vehículos, diluyentes y/o excipientes aceptables para uso terapéutico son bien conocidos en la técnica farmacéutica. Por ejemplo, se pueden proporcionar reguladores, conservantes, agentes de relleno, dispersantes, estabilizadores, colorantes. Además, pueden usarse antioxidantes y agentes de suspensión. Ejemplos de vehículos, diluyentes y/o excipientes adecuados incluyen, pero no se limitan a: (1) solución salina regulada con fosfato de Dulbecco, pH aproximadamente 6,5, que contendría aproximadamente 1 mg/mL a 25 mg/mL de albúmina de suero humano, (2) solución salina al 0,9% (NaCl al 0,9% p/v) y (3) dextrosa al 5% (p/v).

45 El término "cantidad farmacéuticamente eficaz", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una cantidad de un agente farmacéutico para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o afección identificada, o para exhibir un efecto terapéutico o inhibidor detectable. El efecto puede ser detectado por cualquier método de ensayo conocido en la técnica. La cantidad efectiva precisa para un sujeto dependerá del peso corporal, el tamaño y la salud del sujeto; la naturaleza y extensión de la condición; y el compuesto terapéutico o combinación de agentes terapéuticos seleccionados para administración. Las cantidades farmacéuticamente eficaces para una situación dada se pueden determinar por experimentación rutinaria que está dentro de la habilidad y juicio del médico tratante. En un aspecto preferido, la enfermedad o afección puede tratarse mediante el silenciamiento génico.

50 Para cualquier conjugado, la cantidad farmacéuticamente efectiva puede estimarse inicialmente en ensayos de cultivo celular, por ejemplo, de células neoplásicas, o en modelos animales, usualmente ratas, ratones, conejos, perros o cerdos. El modelo animal también se puede usar para determinar el intervalo de concentración y la vía de administración apropiados. Dicha información puede usarse entonces para determinar dosis y vías útiles para la administración en seres humanos. La eficacia terapéutica/profiláctica y la toxicidad se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, ED₅₀ (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población) y LD₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, y puede expresarse como la relación, LD₅₀/ED₅₀. Se prefieren composiciones farmacéuticas que exhiben grandes índices terapéuticos. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada, la sensibilidad del paciente y la vía de

administración.

En una realización, los conjugados se formulan para administración parenteral mediante inyección incluyendo el uso de técnicas convencionales de cateterización o infusión. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en envases de múltiples dosis, con un conservante añadido. Los conjugados pueden administrarse parenteralmente en un medio estéril. El conjugado, dependiendo del vehículo y de la concentración utilizada, puede ser suspendido o disuelto en el vehículo. Ventajosamente, los adyuvantes tales como anestésicos locales, conservantes y agentes reguladores pueden disolverse en el vehículo. El término "parenteral" tal como se utiliza en la presente memoria incluye técnicas de inyección o infusión percutánea, subcutánea, intravascular (por ejemplo, intravenosa), intramuscular o intratecal y similares. Además, se proporciona una formulación farmacéutica que comprende conjugados y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Uno o más de los conjugados pueden estar presentes en asociación con uno o más vehículos y/o diluyentes y/o adyuvantes farmacéuticamente aceptables no tóxicos y, si se desea, otros ingredientes activos.

La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear un aceite fijo blando incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

Los conjugados y composiciones descritas en la presente invención se pueden administrar en una forma apropiada, preferiblemente parenteralmente, más preferiblemente por vía intravenosa. Para la administración parenteral, los conjugados o composiciones pueden ser soluciones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles. Se pueden usar como disolvente o vehículo propilenglicol, aceites vegetales y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Las composiciones también pueden contener adyuvantes, emulsionantes o dispersantes.

Los niveles de dosificación del orden de entre aproximadamente 0,01 mg y aproximadamente 140 mg por kilogramo de peso corporal por día son útiles en el tratamiento de las condiciones indicadas anteriormente (entre aproximadamente 0,05 mg y aproximadamente 7 g por sujeto al día). En algunas realizaciones, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,01 mg/kg y aproximadamente 100 mg/kg del peso corporal del sujeto. En algunas realizaciones, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg del peso corporal del sujeto. En algunas realizaciones, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 15 mg/kg del peso corporal del sujeto. En algunas realizaciones, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg del peso corporal del sujeto. En algunas realizaciones, la dosis administrada está entre aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 5 mg/kg o aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal del sujeto. En algunas realizaciones, la dosis administrada está entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 15 mg/kg del peso corporal del sujeto. En algunas realizaciones, la dosificación administrada está entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal del sujeto. La cantidad de conjugado que se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma de dosificación única varía dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Las formas unitarias de dosificación pueden contener generalmente entre aproximadamente 0,01 mg y aproximadamente 100 mg; entre aproximadamente 0,01 mg y aproximadamente 75 mg; o entre aproximadamente 0,01 mg y aproximadamente 50 mg; o entre aproximadamente 0,01 mg y aproximadamente 25 mg de un conjugado.

Para administración intravenosa, los niveles de dosificación pueden comprender de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 200 mg de un conjugado por kg de peso corporal del animal. En un aspecto, la composición puede incluir de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg de un conjugado por kg de peso corporal del animal. En otro aspecto, la cantidad administrada estará en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal de un compuesto.

En algunas realizaciones, los conjugados se pueden administrar son como sigue. Los conjugados se pueden administrar diariamente durante aproximadamente 5 días ya sea como un bolo i.v. cada día durante aproximadamente 5 días, o como una infusión continua durante aproximadamente 5 días.

Alternativamente, los conjugados se pueden administrar una vez por semana durante seis semanas o más. Como otra alternativa, los conjugados se pueden administrar una vez cada dos o tres semanas. Las dosis de bolo se administran en aproximadamente 50 a aproximadamente 400 mL de solución salina normal a las que se pueden añadir aproximadamente 5 a aproximadamente 10 mL de albúmina de suero humano. Las infusiones continuas se dan en aproximadamente 250 a aproximadamente 500 mL de solución salina normal, a la que se pueden añadir aproximadamente 25 a aproximadamente 50 mL de albúmina de suero humano, por un período de 24 horas.

En algunas realizaciones aproximadamente de una a cuatro semanas después del tratamiento, el paciente puede recibir

un segundo tratamiento. Los protocolos clínicos específicos con respecto a la vía de administración, los excipientes, los diluyentes, las dosis y los tiempos pueden ser determinados por el experto en la técnica según lo justifique la situación clínica.

5 Se entiende que el nivel de dosis específico para un sujeto particular depende de una variedad de factores que incluyen la actividad del conjugado específico, la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración, y la velocidad de excreción, la combinación con otros agentes activos y la gravedad de la enfermedad particular que se somete a terapia.

10 Para la administración a animales no humanos, los conjugados también se pueden añadir a la alimentación animal o al agua potable. Puede ser conveniente formular la alimentación animal y el agua potable para que el animal tome una cantidad terapéuticamente apropiada de los conjugados junto con su dieta. También puede ser conveniente presentar los conjugados como una premezcla para la adición a la alimentación o al agua potable.

15 Los conjugados también se pueden administrar a un sujeto en combinación con otros compuestos terapéuticos para aumentar el efecto terapéutico global. El uso de compuestos múltiples para tratar una indicación puede aumentar los efectos beneficiosos al tiempo que reduce la presencia de efectos secundarios. En alguna realización, los conjugados se usan en combinación con agentes quimioterapéuticos, tales como los descritos en la patente estadounidense No. 7.303.749. En otras realizaciones los agentes quimioterapéuticos incluyen, pero no se limitan a, letrozol, oxaliplatino, docetaxel, 5-FU, lapatinib, capecitabina, leucovorina, erlotinib, pertuzumab, bevacizumab y gemcitabina.

20 La presente invención también proporciona kits farmacéuticos que comprenden uno o más recipientes llenos con uno o más de los conjugados y/o composiciones de la presente invención, incluyendo uno o más agentes quimioterapéuticos. Estos kits pueden incluir también, por ejemplo, otros compuestos y/o composiciones, un dispositivo o dispositivos para administrar los compuestos y/o composiciones, e instrucciones escritas en una forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos o productos biológicos.

Métodos de uso

Métodos de tratamiento

25 En ciertas realizaciones preferidas de la invención, el conjugado de proteína-polímero-fármaco de la invención se utiliza en métodos de tratamiento de animales (preferiblemente mamíferos, más preferiblemente seres humanos e incluye machos, hembras, infantes, niños y adultos). En una realización, los conjugados de la presente invención pueden usarse en un método de tratamiento de animales que comprende administrar al animal un conjugado biocompatible biodegradable de la invención. Por ejemplo, los conjugados de acuerdo con la invención se pueden administrar en forma de polímeros lineales solubles, copolímeros, conjugados, coloides, partículas, geles, elementos sólidos, fibras, películas, etc. Los conjugados biocompatibles biodegradables de esta invención pueden usarse como portadores de fármacos y componentes portadores de fármacos, en sistemas de liberación controlada de fármacos, preparaciones para procedimientos quirúrgicos poco invasivos, etc. Las formulaciones farmacéuticas pueden ser inyectables, implantables, etc.

35 Se describe aquí un método para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto que lo requiera, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un conjugado de la invención; en el que dicho conjugado libera uno o más agentes terapéuticos después de la biodegradación.

40 En otra realización, los conjugados se pueden administrar *in vitro*, *in vivo* y/o *ex vivo* para tratar pacientes y/o modular el crecimiento de poblaciones celulares seleccionadas incluyendo, por ejemplo, cáncer. En algunas realizaciones, los tipos particulares de cánceres que pueden tratarse con los conjugados incluyen, pero no se limitan a: (1) tumores sólidos, incluyendo pero sin limitarse a fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomasarcoma, rabdomiosarcoma, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de páncreas, cáncer de hueso, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer esofágico, cáncer de garganta, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de glándula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistoadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, carcinoma de conductos biliares de hepatoma, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrional, tumor de Wilms, cáncer cervical, cáncer uterino, cáncer testicular, carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoma 201 de vejiga, cáncer de pulmón, carcinoma epitelial, glioma, glioblastoma, astrocitoma multiforme, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, cáncer de piel, melanoma, neuroblastoma y retinoblastoma; (2) cánceres transmitidos por la sangre, incluyendo, pero no limitados a, leucemia linfoblástica aguda "ALL", leucemia linfoblástica aguda de células B, leucemia linfoblástica aguda de células T, leucemia mieloblástica aguda "AML", leucemia promielocítica aguda "APL", leucemia monoblástica aguda, leucemia eritroleucémica aguda, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia no linfocítica

aguda, leucemia indiferenciada aguda, leucemia mielocítica crónica "CML", leucemia linfocítica crónica "CLL", leucemia de células pilosas, mieloma múltiple, leucemias agudas y crónicas, por ejemplo, leucemias mielocítica linfocítica y mielógena linfoblástica; y (3) linfomas tales como enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenstrom, enfermedad de cadena pesada y policitemia vera.

- 5 En otra realización, los conjugados pueden administrarse *in vitro*, *in vivo* y/o *ex vivo* para tratar enfermedades autoinmunes, tales como lupus sistémico, artritis reumatoide, psoriasis y esclerosis múltiple; rechazo de injertos, tales como rechazo de trasplante renal, rechazo de trasplante de hígado, rechazo de trasplante de pulmón, rechazo de trasplante cardíaco y rechazo de trasplante de médula ósea; enfermedad de injerto contra huésped; infecciones virales, tales como infección por CMV, infección por VIH y SIDA; e infecciones parasitarias, tales como giardiasis, amebiasis, esquistosomiasis, y similares.

En ciertas realizaciones, los conjugados también pueden usarse para la fabricación de un medicamento útil para tratar o disminuir la gravedad de trastornos, tales como, los caracterizado por crecimiento anormal de células (por ejemplo, cáncer).

En ciertas realizaciones, el agente terapéutico se administra localmente a una célula, tejido u órgano diana específico.

- 15 En ciertas realizaciones, al practicar el método de la invención, el conjugado comprende además o está asociado con una etiqueta de diagnóstico. En ciertas realizaciones ejemplares, la etiqueta de diagnóstico se selecciona del grupo que consiste en: isótopos radiofarmacéuticos o radioactivos para gammagrafía y PET, agente de contraste para imágenes de resonancia magnética (MRI), agente de contraste para tomografía computarizada, agente de contraste para método de formación de imágenes de rayos X, agente para el método de diagnóstico por ultrasonido, agente para activación de neutrones, fracción que puede reflejar, dispersar o afectar rayos X, ultrasonidos, ondas de radio y microondas y fluoróforos. En ciertos ejemplos de realizaciones, se controla además el conjugado *in vivo*.

- 25 Ejemplos de etiquetas de diagnóstico incluyen, pero no se limitan a, isótopos radiofarmacéuticos de diagnóstico o isótopos radiactivos para gammagrafía y PET, agente de contraste para formación de imágenes de resonancia magnética (MRI) (por ejemplo, átomos paramagnéticos y nanocristales superparamagnéticos), agente de contraste para tomografía computarizada, agente de contraste para el método de formación de imágenes de rayos X, agente para el método de diagnóstico por ultrasonido, agente para activación de neutrones, y fracción que puede reflejar, dispersar o afectar rayos X, ultrasonidos, ondas de radio y microondas, fluoróforos en diversos procedimientos ópticos, etc. Los radiofarmacéuticos de diagnóstico incluyen radionúclidos emisores γ , por ejemplo, indio-111, tecnecio-99m y yodo-131, etc. Los agentes de contraste para resonancia magnética (formación de imágenes de resonancia magnética) incluyen compuestos magnéticos, por ejemplo, iones paramagnéticos, hierro, manganeso, gadolinio, lantánidos, fracciones paramagnéticas orgánicas y superparamagnéticas, compuestos ferromagnéticos y antiferromagnéticos, por ejemplo, coloides de óxido de hierro, coloides de ferrita, etc. Los agentes de contraste para la tomografía computarizada y otros métodos de formación de imágenes basados en rayos X incluyen compuestos que absorben rayos X, por ejemplo, yodo, bario, etc. Los agentes de contraste para métodos basados en ultrasonido incluyen compuestos que pueden absorber, reflejar y dispersar ondas de ultrasonido, por ejemplo, emulsiones, cristales, burbujas de gas, etc. Incluso otros ejemplos incluyen sustancias útiles para la activación de neutrones, tales como boro y gadolinio. Además, se pueden emplear etiquetas que puedan reflejar, refractar, dispersar o bien afectar los rayos X, ultrasonido, ondas de radio, microondas y otros rayos útiles en procedimientos de diagnóstico. Las etiquetas fluorescentes se pueden utilizar para la formación de imágenes fotográficas. En ciertas realizaciones, un modificador comprende un ion o grupo paramagnético.

- 40 Se describe aquí un método para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto, que comprende preparar una formulación acuosa de al menos un conjugado de la invención e inyectar parenteralmente dicha formulación en el sujeto.

- Se describe aquí un método para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto, que comprende preparar un implante que comprende al menos un conjugado de la invención, e implantar dicho implante en el sujeto. En ciertos ejemplos de realizaciones, el implante es una matriz de gel biodegradable.

Se describe aquí un método para tratar un animal que lo requiere, que comprende administrar un conjugado de acuerdo con los métodos descritos anteriormente.

Se describe aquí un método para provocar una respuesta inmune en un animal, que comprende administrar un conjugado como en los métodos descritos anteriormente.

- 50 Se describe aquí un método para diagnosticar una enfermedad en un animal, que comprende las etapas de:

administrar un conjugado como en los métodos descritos anteriormente, en donde dicho conjugado comprende una molécula detectable; y

detectar la molécula detectable.

La etapa de detección de la molécula detectable se lleva a cabo de manera no invasiva. En ciertos ejemplos de realizaciones, la etapa de detección de la molécula detectable se realiza usando un equipo adecuado de formación de imágenes.

- 5 El método para tratar un animal comprende administrar al animal un conjugado biocompatible biodegradable de la invención como un empaque para una herida quirúrgica a partir de la cual se ha eliminado un tumor o crecimiento. El empaque biodegradable biocompatible del conjugado reemplazará el sitio del tumor durante la recuperación y se degradará y se disipará a medida que la herida cicatriza.

En ciertas realizaciones, el conjugado se asocia con una etiqueta de diagnóstico para control *in vivo*.

- 10 Los conjugados descritos anteriormente se pueden usar para tratamiento terapéutico, preventivo y analítico (diagnóstico) de animales. Los conjugados están destinados, en general, para administración parenteral, pero en algunos casos pueden ser administrados por otras vías.

En una realización, los conjugados solubles o coloidales se administran intravenosamente. En otra realización, los conjugados solubles o coloidales se administran a través de inyección local (por ejemplo, subcutánea, intramuscular).

- 15 En otra realización, los conjugados sólidos (por ejemplo, partículas, implantes, sistemas de administración de fármacos) se administran mediante implantación o inyección.

En otra realización, se administran conjugados que comprenden una etiqueta detectable para estudiar los patrones y la dinámica de distribución de la etiqueta en el cuerpo del animal.

- 20 En ciertas realizaciones, uno o más de los conjugados descritos en la presente memoria pueden usarse en la práctica de cualquiera de los métodos descritos anteriormente. En ciertos ejemplos de realizaciones, el conjugado es un conjugado de Trastuzumab-PHF-, Rituximab-PHF- o LHRH-PHF-fármaco.

A lo largo de la descripción, donde se describen composiciones que tienen, que incluyen, o que comprenden componentes específicos, se contempla que las composiciones también consisten esencialmente en, o consisten en, los componentes citados. De manera similar, cuando se describen métodos o procedimientos que tienen, que incluyen o que comprenden etapas de procedimiento específicas, los procedimientos también consisten esencialmente en, o consisten en, las etapas de procesamiento citadas. Además, debe entenderse que el orden de las etapas o el orden para realizar ciertas acciones es inmaterial mientras la invención permanezca operable. Además, pueden realizarse simultáneamente dos o más etapas o acciones.

- 30 Los procedimientos sintéticos de la invención pueden tolerar una amplia variedad de grupos funcionales; por lo tanto, pueden utilizarse diversos materiales de partida sustituidos. Los procedimientos proporcionan generalmente el compuesto final deseado en o cerca del final del proceso global, aunque puede ser deseable en ciertos casos convertir aún más el compuesto en una sal, éster o profármaco farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 35 Los compuestos farmacéuticos usados para los conjugados de la presente invención se pueden preparar de diversas maneras usando materiales de partida comercialmente disponibles, compuestos conocidos en la bibliografía, o a partir de productos intermedios fácilmente preparados, empleando métodos y procedimientos de síntesis estándar ya conocidos por aquellos expertos en la técnica, o que será evidente para el experto en la materia a la luz de las enseñanzas de la presente invención. Los métodos y procedimientos sintéticos estándar para la preparación de moléculas orgánicas y transformaciones y manipulaciones de grupos funcionales pueden obtenerse de la bibliografía científica pertinente o de libros de texto estándar en el campo. Aunque no se limita a una o varias fuentes, los textos clásicos como Smith, M. B., March, J., March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5ª edición, John Wiley & Sons: Nueva York, 2001; Y Greene, T.W., Wuts, P.G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, John Wiley & Sons: Nueva York, 1999, son libros de referencia útiles y reconocidos de síntesis orgánica conocidos por los expertos en la técnica. Las siguientes descripciones de métodos de síntesis están diseñadas para ilustrar, pero no para limitar, procedimientos generales para la preparación de compuestos de la presente invención.

- 45 Los conjugados de la presente invención y los compuestos de fármacos incluidos en la misma pueden prepararse convenientemente mediante una variedad de métodos familiares para los expertos en la técnica. Los conjugados o compuestos de esta invención con cada una de las fórmulas descritas aquí se pueden preparar de acuerdo con los procedimientos siguientes a partir de materiales de partida o materiales de partida comercialmente disponibles que se pueden preparar usando procedimientos de la literatura. Estos procedimientos muestran la preparación de conjugados representativos de esta invención.

50 Los conjugados diseñados, seleccionados y/u optimizados por los métodos descritos anteriormente, una vez producidos, pueden caracterizarse usando una variedad de ensayos conocidos por los expertos en la técnica para

determinar si los conjugados tienen actividad biológica. Por ejemplo, los conjugados pueden caracterizarse por ensayos convencionales, incluyendo, pero sin limitarse a los ensayos descritos a continuación, para determinar si tienen una actividad prevista, actividad de unión y/o especificidad de unión.

5 Además, se puede utilizar un cribado de alto rendimiento para acelerar el análisis utilizando dichos ensayos. Como resultado, puede ser posible rastrear rápidamente las moléculas conjugadas descritas aquí por la actividad, usando técnicas conocidas en el arte. Las metodologías generales para realizar un cribado de alto rendimiento se describen, por ejemplo, en Devlin (1998) High Throughput Screening, Marcel Dekker; y la patente estadounidense No. 5.763.263. Los ensayos de alto rendimiento pueden usar una o más técnicas de ensayo diferentes incluyendo, pero sin limitarse a las descritas a continuación.

10 Ejemplos

Los conjugados descritos en la presente invención pueden prepararse mediante los esquemas descritos en general anteriormente y por los métodos descritos en los ejemplos siguientes. El término "contenido", tal como se usa en ciertos ejemplos a continuación, a menos que se especifique lo contrario, significa la fracción molar de las unidades poliméricas que están sustituidas con la fracción deseada, tal como el enlazador, la molécula del fármaco, o PBRM.

15 Abreviaturas

Las siguientes abreviaturas se usan en los esquemas de reacción y los ejemplos de síntesis, que siguen a continuación. Esta lista no pretende ser una lista completa de las abreviaturas utilizadas en la solicitud como abreviaturas estándar adicionales, que son fácilmente comprendidas por los expertos en la técnica de síntesis orgánica, también se pueden usar en los esquemas y ejemplos de síntesis.

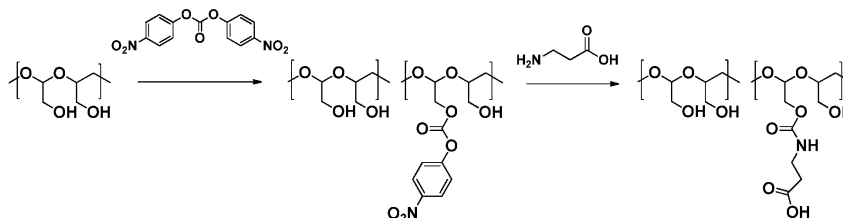
20	Adoa	Ácido 8-amino-3,6-dioxa-octanoico
	AZD 8330	2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]-1,6-dihidro-N-(2-hidroxietoxi)-1,5-dimetil-6-oxo-3-piridinacarboxamida
	BOC	terc-Butiloxicarbonilo
	DIC	N,N'-Diisopropilcarbodiimida
	DIEA	N,N-Diisopropiletilamina
25	DCM	Diclorometano
	DMA	Dimetilacetamida
	DMF	Dimetilformamida
	DMSO	Dimetilsulfóxido
	DTT	(2S,3S)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol
30	EDC	Clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida
	GA	Ácido glutárico
	HATU	Hexafluorofosfato de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
	HOBt	Hidroxibenzotriazol
	HPLC	Cromatografía líquida de alta presión
35	HPSEC	Cromatografía de exclusión por tamaños de alto rendimiento
	HPV	Hidroxipropilvindesina
	2HPV	2-Hidroxipropilvindesina
	MCC	1,4-Ciclohexilcarbamato de (N-maleimidometilo)

	M-(PEG) ₁₂	N-maleimido-PEG ₁₂ -propionamida
	MWCO	Corte de peso molecular
	NHS	1-Hidroxipirrolidin-2,5-diona
	NMP	N-metil-2-pirrolidona
5	PBS	Solución salina regulada con fosfato, NaCl al 0,9%
	PHF	Poli (1-hidroximetil-etileno hidroximetilformal), o FLEXIMER®
	PI-103	3-[4-(4-Morfolinil)pirido[3',2':4,5]furo[3,2-d]pirimidin-2-il]-fenol
	RP-HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa
	SATA	N-Succinimidil-S-acetiltioacetato
10	SEC	Cromatografía de exclusión por tamaño
	SMCC	Succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato
	SM(PEG) ₁₂	Succinimidil-([N-maleimidopropionamida]-PEG ₁₂)-éster
	-SS-	Indica un grupo disulfuro unido covalentemente
	SSPy	2-(piridina-2-ildisulfanilo)
15	TCEP	Tris[2-carboxietil]fosfina
	TEA	Trietilamina
	TFA	Ácido trifluoroacético
	Información general	
	Los péptidos EC-1-Adoa-NH ₂ y LTVSPNY-Adoa-NH ₂ se adquirieron a través de CreoSalus, Louisville, Kentucky.	
20	Los enlazadores M-(PEG) ₁₂ -NHS y S-Acetil-(PEG) ₁₂ -NHS éster se adquirieron a través de Quanta Biodesign, Powell, Ohio.	
	La purificación por HPLC se realizó en una columna de semipreparativa Phenomenex Gemini de 5 µm, 110 Å, 250 x 10 mm, 5 micras, utilizando el siguiente sistema disolvente: Disolvente A: agua (TFA al 0,1%); disolvente B: CH ₃ CN (TFA al 0,1%).	
25	El contenido de HPV de los conjugados se determinó mediante LC/MS/MS o HPLC.	
	El contenido de proteína de los conjugados se determinó espectrofotométricamente a 280 nm.	
	El contenido de disulfuro en conjugados de SSPy se determinó espectrofotométricamente a 340 nm después de la liberación de piridinotona (DTT 10 mM, 10 min, temperatura ambiente).	
	El contenido de SN38 de los conjugados se determinó espectrofotométricamente a 370 nm.	
30	Los pesos moleculares de los conjugados se determinaron mediante SEC ya sea con polisacáridos o proteínas como patrones de peso molecular.	
	Se aislaron conjugados de PBRM-fármaco-polímero a partir de conjugados de fármaco-polímero no reaccionados residuales mediante diafiltración extensiva. Si fuera necesario, se llevó a cabo una purificación adicional por cromatografía de exclusión por tamaño para eliminar cualquier conjugado agregado de PBRM-fármaco-polímero. En general, los conjugados de PBRM-fármaco-polímero contenían típicamente < 5% de conjugados agregados de PBRM-fármaco-polímero como se determinó mediante SEC o SDS-PAGE; <1% de conjugado de polímero-fármaco	
35		

determinado por SEC y <2% de PBRM no conjugado determinado por RP HPLC.

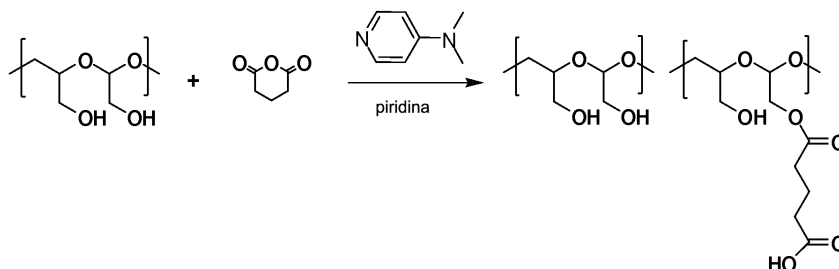
Se prepararon anticuerpos reducidos o parcialmente reducidos utilizando procedimientos descritos en la bibliografía, véase, por ejemplo, Francisco et al., Blood 102 (4): 1458-1465 (2003).

Ejemplo 1. Síntesis de PHF-β-alanina de 30 kDa:



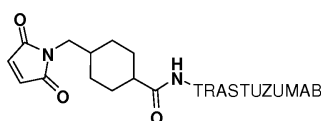
Se disolvieron PHF (30 kDa, 4,54 g, 33,6 mmol de monómero de PHF) en 150 mL de DMF anhidro, seguido de la adición de carbonato de bis(nitrofenol) (3,07 g, 10,1 mmol). La solución se agitó a 40°C durante 4 h. Se añadió β-alanina (1,50 g, 16,8 mmol) disuelta en agua (10 mL) a la mezcla de PHF. El pH se ajustó a 7,5-8 con TEA y la mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 18 h, se diluyó a 400 mL con agua y el pH se ajustó a 11 con NaOH 5 N. La mezcla resultante se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente, se ajustó el pH a 6,5 y luego se diluyó la mezcla hasta 10% de compuestos orgánicos con agua. El producto (PHF-β-Alanina de 30 kDa) se purificó usando un cartucho de ultrafiltración equipado con un filtro de membrana Biomax de 5 K. El producto purificado se liofilizó para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco (2,07 g, 36% de rendimiento). La fracción molar de las unidades monoméricas de PHF sustituidas con β-alanina fue del 13%, como se determinó por RMN ¹H.

Ejemplo 2. Síntesis de PHF-GA de 30 kDa



Se añadió N,N-dimetilpiridin-4-amina (0,268 g, 2,91 mmol) y anhídrido glutárico (1,375 g, 12,06 mmol) a una solución de PHF (30 kDa, 1,48 g, 10,96 mmol de monómero de PHF) en DMA (300 mL) y piridina anhidra (33,3 mL). La mezcla de reacción se agitó a 60°C durante 18 h. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el aceite espeso resultante se recogió en agua (100 mL). El pH se ajustó a pH 6,0-6,5 con NaOH 5 N. La disolución transparente resultante se diluyó a 200 mL con agua, se filtró a través de un filtro de 0,2 micrómetros y se purificó por diafiltración usando un filtro de membrana con un valor de corte de peso molecular de 5.000. Se eliminó el agua por liofilización para producir PHF-GA de 30 kDa como un sólido blanco (1,28 g, rendimiento del 48%). La fracción de las unidades monoméricas totales de PHF sustituidas con ácido glutárico como se determinó por RMN ¹H fue del 96%.

Ejemplo 3. Síntesis del derivado de trastuzumab-MCC

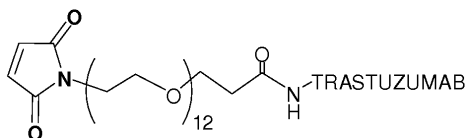


Se disolvió trastuzumab (10 mg) en regulador de PBS (1 mL, pH 7,0), después se añadió una solución de SMCC en DMSO (5 µL, 30 mg/mL). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El trastuzumab-MCC se purificó por filtración en gel utilizando una columna PD-10 equilibrada con PBS (90% de rendimiento). El análisis mostró

que en promedio 5 a 6 grupos MCC estaban unidos a trastuzumab.

El procedimiento descrito anteriormente se puede usar para sintetizar otros derivados de PBRM.

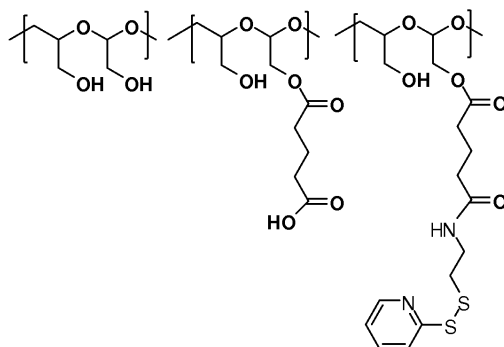
Ejemplo 4. Síntesis del derivado de trastuzumab-M-(PEG)₁₂



- 5 Se disolvió trastuzumab (10 mg) en regulador de PBS (1 mL, pH 7,0), después se añadió una solución de SM-(PEG)₁₂ en DMSO (4 µL, 100 mg/mL). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se purificó trastuzumab-M-(PEG)₁₂ por filtración en gel utilizando una columna PD-10 equilibrada con PBS (rendimiento ~90%). El análisis mostró que en promedio 5 a 6 grupos de polietileno estaban unidos a un trastuzumab.

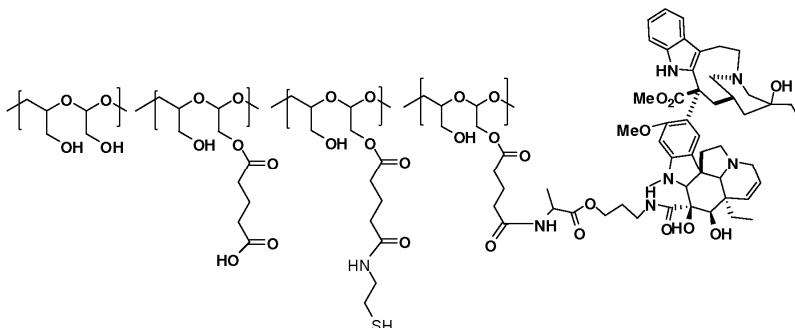
El procedimiento descrito puede utilizarse para sintetizar otros derivados de PBRM.

10 Ejemplo 5. Síntesis de PHF-GA-SSPy de 10 kDa



- 15 Se disolvió PHF-GA de 10 kDa (1,63 g 11,12 mmol, preparado usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 2 con PHF de 10.000 Da, 25% de GA) en agua (10 mL) y se añadió NHS (0,154 g, 1,33 mmol). La mezcla se enfrió a 0°C y después se añadió una solución acuosa de EDC (0,256 g, 1,33 mmol) seguido de clorhidrato de 2-(piridina-2-ildisulfanil) etanamina (0,297 g, 1,33 mmol). El pH de la mezcla resultante se ajustó a 5,5-6,0, luego se agitó a 23°C durante 18 h, seguido de purificación por diálisis a través de una membrana de celulosa regenerada, y liofilización para producir el compuesto del título (1,66 g, 86%) como un sólido blanco. El contenido de SSPy fue del 3%.

Ejemplo 6. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH de 10 kDa

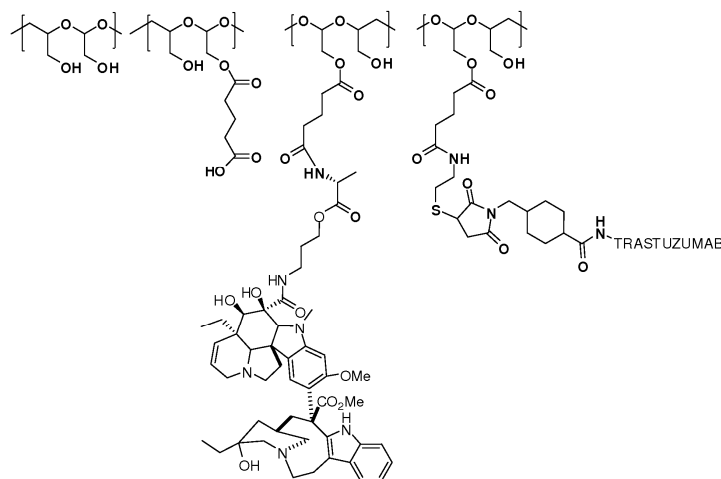


- 20 Se recogió PHF-GA-SSPy de 10 kDa (289,0 mg, 0,023 mmol, preparado como se describe en el Ejemplo 5) en una mezcla de agua (8 mL) y acetonitrilo (4 mL) y se enfrió a 0°C. Se añadió NHS (26,4 mg, 0,230 mmol) seguido por una solución acuosa de EDC (44,0 mg, 0,230 mmol) y HPV-Alanina (131,45 mg, 0,138 mmol, preparada como se describe en la publicación estadounidense No. 2010/0305149, Ejemplo 1). El pH de la mezcla resultante se ajustó a 6, y después la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El pH se ajustó a 7,5 con NaHCO₃ 1 M y se añadió DTT (37,8 mg, 0,245 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 30 min, se diluyó a 15 mL con agua y se purificó
- 25

por diálisis usando una membrana de celulosa regenerada (corte de PM de 3 K). Rendimiento 57% (con base en HPV); 7,3% en peso de HPV, determinado por HPLC.

Mediante la sustitución de HPV-Alanina con otras fracciones de fármaco o derivados de fármaco en el procedimiento descrito anteriormente, es posible sintetizar otros conjugados de fármaco-polímero.

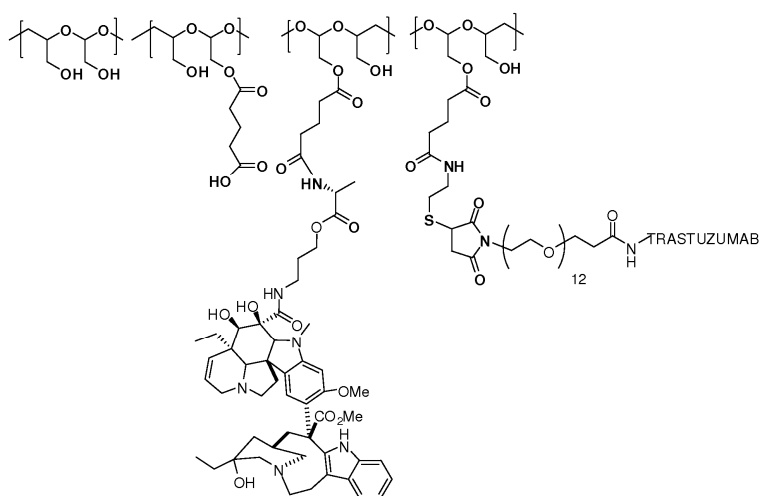
5 Ejemplo 7. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa



10 Se añadió a Trastuzumab-MCC (20 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 3) en PBS (2 mL, pH 7,0), PHF-GA (HPV-Alanina)-SH de 10 kDa (11,2 mg preparado como se describe en el Ejemplo 6) en agua (0,5 mL). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 4 h a pH 7,0. El conjugado resultante se purificó por filtración en gel utilizando una columna Superpose-6 con PBS como eluyente (75% de rendimiento). El peso molecular del PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) determinado por SEC fue de aproximadamente 170 kDa. El contenido de HPV determinado por HPLC mostró una relación molar promedio de HPV con respecto a Trastuzumab de aproximadamente 14:1 a 17:1. Para el PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa usado en las Figuras 2 y 4, la relación de HPV con respecto a Trastuzumab fue de aproximadamente 19:1 a 22:1.

15 Mediante la sustitución de trastuzumab-MCC con otros derivados de PBRM en el procedimiento descrito anteriormente, es posible sintetizar otros conjugados de proteína-fármaco. También se pueden obtener conjugados PBRM-fármaco-polímero con diferentes relaciones de fármaco con respecto a PBRM variando la cantidad de PBRM y fármaco-polímero utilizados en los Ejemplos anteriores.

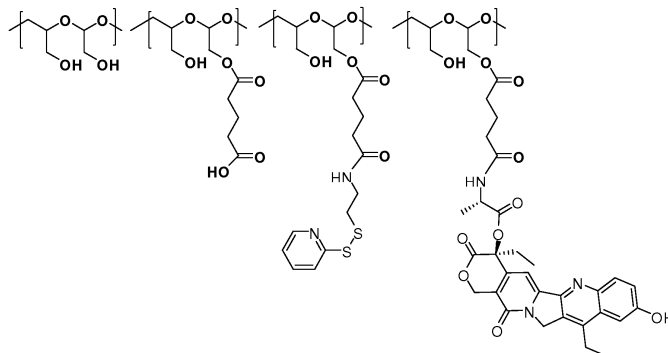
Ejemplo 8. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)- (Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) de 10 kDa



20 Se preparó PHF-GA- (HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) de 10 kDa como se describe en el Ejemplo 7, excepto porque se reemplazó Trastuzumab-MCC por Trastuzumab-M- (PEG)₁₂ (preparado como se describe en el Ejemplo 4). El peso molecular del conjugado de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) determinado por SEC fue de aproximadamente 200 kDa. El contenido de HPV determinado por HPLC mostró una relación molar promedio de HPV

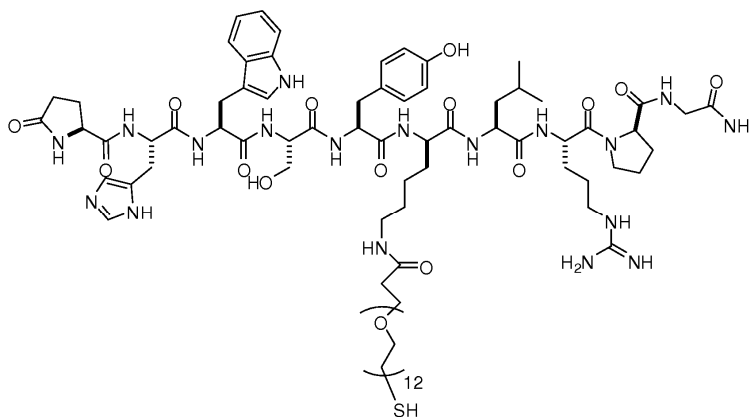
con respecto a Trastuzumab de aproximadamente 16:1 a 18:1.

Ejemplo 9. Síntesis de PHF-GA-SN-38-Alanina-SSPy de 70 kDa



5 Se colocó PHF-GA-Alanina-SN38 de 70 kDa (37,4 mg, 0,254 mmol, preparado como se describe en el documento US 2010/0305149, usando PHF de 70.000 Da, 20% de GA) en un vial y se añadieron clorhidrato de 2-(piridin-2-ildisulfanil)etanamina (2,83 mg, 0,013 mmol) y NHS (2,93 mg, 0,025 mmol), seguido por EDC (7,32 mg, 0,038 mmol). Se añadieron alícuotas adicionales de EDC (7,32 mg, 0,038 mmol) a los 30 min, 2 h, 4 h y 6 h, y se agitó la mezcla de reacción durante 12 h adicionales. Se purificó el producto por diálisis a través de un filtro de membrana de celulosa regenerada de 10 kDa (SSPy al 2%, SN38 4,8% (en peso)).

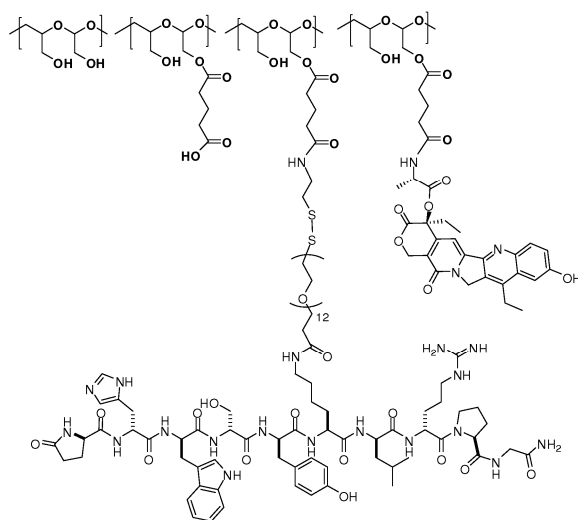
10 Ejemplo 10. Síntesis de LHRH-PEG₁₂-SH



Se disolvió LHRH (10 mg) en una mezcla de acetonitrilo:agua (1:1, 500 μ L) y se le añadió solución madre de PEG₁₂-SATA (9,2 μ L, 0,0025 mmol, 1,9 mg). La mezcla resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. El producto se purificó por RP-HPLC seguido por liofilización (60% de rendimiento).

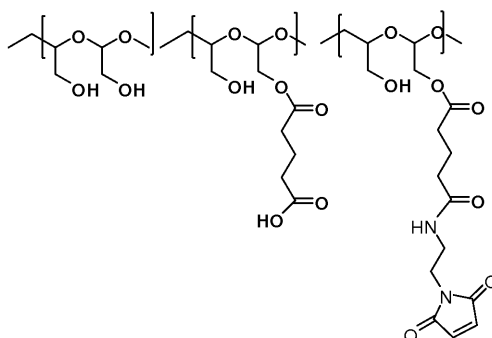
15 Se disolvió LHRH-PEG₁₂-SH purificado (2 mg) en agua (400 μ L), se ajustó el pH a 11,8 con TEA, y la mezcla se agitó durante 40 minutos bajo atmósfera de argón y se usó en la siguiente etapa.

Ejemplo 11. Síntesis de PHF-GA-SN-38-Alanina-(SS-PEG₁₂-LHRH) de 70 kDa



5 Se disolvió PHF-GA-SN-38-Alanina-SSPy de 70 kDa (2 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 9) en PBS (0,5 mL, 50 mM, pH = 7,5). Después, se añadió LHRH-PEG₁₂-SH (0,8 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 10). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h a pH 7,0. El conjugado se purificó por diálisis contra PBS (pH 7,0) usando un filtro de membrana de celulosa regenerada de corte de 10 kDa. El contenido de LHRH estimado por HPSEC fue de 65% con retención cuantitativa de SN38.

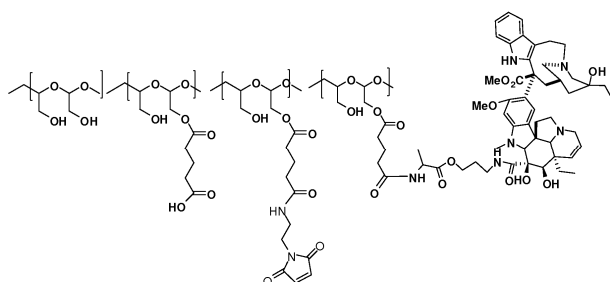
Ejemplo 12. Síntesis de PHF-GA-maleimida de 30 kDa



10 Se recogió PHF-GA de 30 kDa (7,98 g, 50,2 mmol, preparado como se describe en el Ejemplo 2, GA al 15%) en agua (502 mL) y se enfrió a 0°C. Se añadió NHS (0,087 g, 0,752 mmol) seguido por una solución acuosa de EDC (0,144 g, 0,752 mmol). El pH se ajustó a pH 7 a 8 con NaOH 1N y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Se añadió N-aminoetil-maleimida (0,080 g, 0,451 mmol) a 0°C y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y después se dejó agitando durante la noche. La mezcla se filtró a través de un filtro de 2 micras, se concentró hasta 200 mL, se purificó mediante diálisis a través de un cartucho de Biomax (polietersulfona) (5K) lavando con 1 litro de agua, seguido de liofilización para producir el compuesto del título (2,19 g, rendimiento del 28%) en forma de un sólido blanco. El contenido de maleimida determinado por el análisis elemental de CHN fue del 2,6%: (promedio de CHN): C: 44,81, H: 6,91, N: 0,49.

15

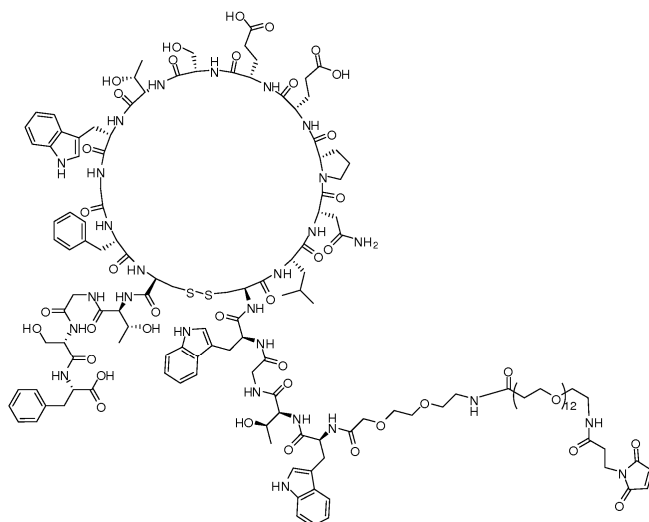
Ejemplo 13. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-Maleimida de 30 kDa



20 Se recogió PHF-GA-maleimida de 30 kDa (271 mg, 7,86 µmol, preparado como se describe en el Ejemplo 12) en una

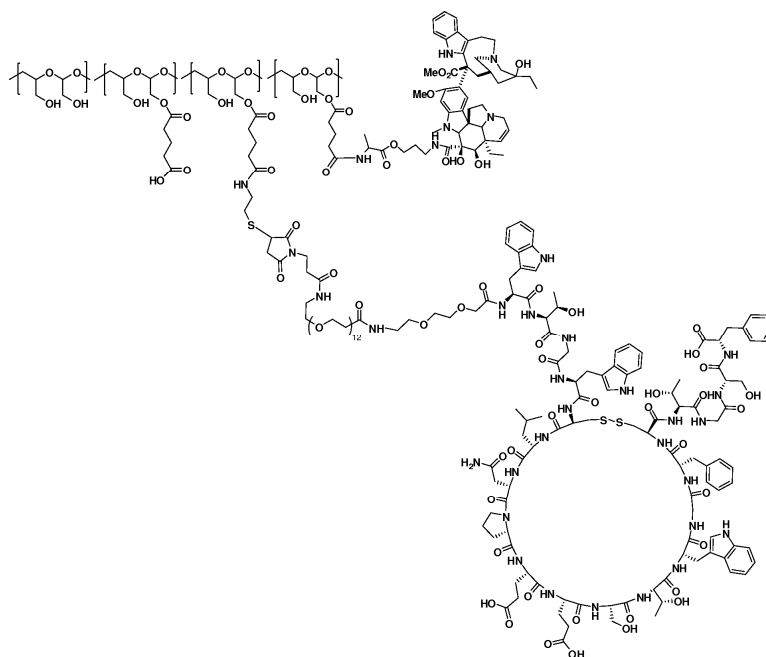
mezcla de agua (8 mL) y CH₃CN (4 mL) y se enfrió a 0°C. Se añadió NHS (9,04 mg, 0,079 mmol) seguido por una solución acuosa de EDC (15,1 mg, 0,079 mmol) y HPV-Alanina (104 mg, 0,109 mmol, preparada como se describe en la Publicación estadounidense No. 2010/0305149, Ejemplo 1) en agua (2 mL). El pH de la mezcla resultante se ajustó a 6,0 y luego se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El progreso de la reacción se controló mediante análisis por HPLC, detección a 245 nm, y se añadieron alícuotas adicionales de EDC (15,1 mg, 0,079 mmol) en agua a las 19 y 22 h. La mezcla de reacción se diluyó a 15 mL con agua y la mezcla resultante se purificó por diálisis a través de una membrana de celulosa regenerada (5 K) eluyendo con NaCl al 5%/CH₃CN al 10% (3x10 mL) y agua (2x10 mL). La muestra se diluyó a 10 mL y se congeló para producir 245 mg del compuesto del título, rendimiento 93%. La relación molar de HPV con respecto a polímero fue en promedio de aproximadamente 24:1 a 28:1.

10 Ejemplo 14. Síntesis de EC-1-Adoa-M-(PEG)₁₂



A una mezcla de EC-1-Adoa-NH₂ (10 mg, 4 15 μmol) en CH₃CN/H₂O/DMSO (750 μL, 7:7:1) se le añadió una solución madre de M-(PEG)₁₂-NHS (63 μL, 4,1 mg, 4,7 μmol), (0,064 mg/mL) en CH₃CN. El pH se ajustó a 7,4 y después se añadieron DMSO (50 μL) y NMP (50 μL) para hacer la mezcla más homogénea. La mezcla se agitó bajo atmósfera de argón durante la noche, protegida de la luz. Se añadió una alícuota adicional (13 μL, 1 mg) de solución madre de M-PEG₁₂-NHS recién preparado (0,077 mg/mL) y la mezcla resultante se agitó durante 30 min. El producto crudo se purificó por HPLC (gradiente: 10% de disolvente B hasta 90% de disolvente B durante 25 min). El compuesto del título eluyó a los 16 min. y se concentró para producir 2 mg de un sólido incoloro. ESI-MS calculado para C₁₄₆H₂₀₉N₂₇O₅₀S₂ 801,1 (M + 4H⁺), encontrado 802,1.

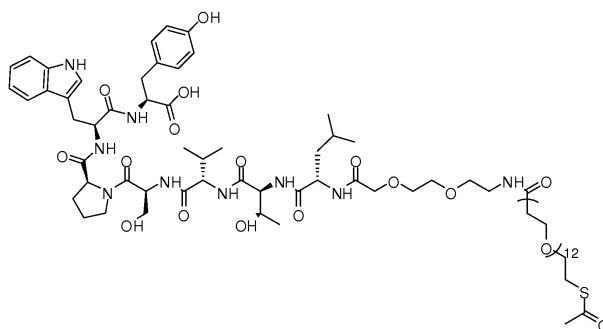
20 Ejemplo 15. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(EC-1-Adoa-M-(PEG)₁₂) de 10 kDa



5

A una solución de PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH de 10 kDa (2 mg, 0,12 μ mol, preparada como se describe en el Ejemplo 6, PHF 10 kDa, GA al 26%, HPV al 7,4%, SH al 3%), en 400 μ L de agua se le añadió una solución del péptido EC-1-Adoa-M-(PEG)₁₂ (1 mg, 0,31 μ mol, preparado como se describe en el Ejemplo 14) en NMP (50 μ L). El pH se ajustó a 7,4 y la mezcla de reacción se agitó bajo atmósfera de argón hasta que no se observó ninguna incorporación adicional de péptido por HPSEC (2 h, 37% de péptido). La mezcla de reacción se diluyó con NaCl (1%, 10 mL) y después se concentró hasta 2 mL mediante filtración centrífuga (corte de membrana a 3000 Da). La solución se diluyó con PBS (25 mM, 8 mL) y se concentró hasta 1,5 mL para producir el compuesto del título que contenía 0,373 mM de HPV.

Ejemplo 16. Síntesis de LTVSPNY-Adoa-PEG₁₂-Tioéster

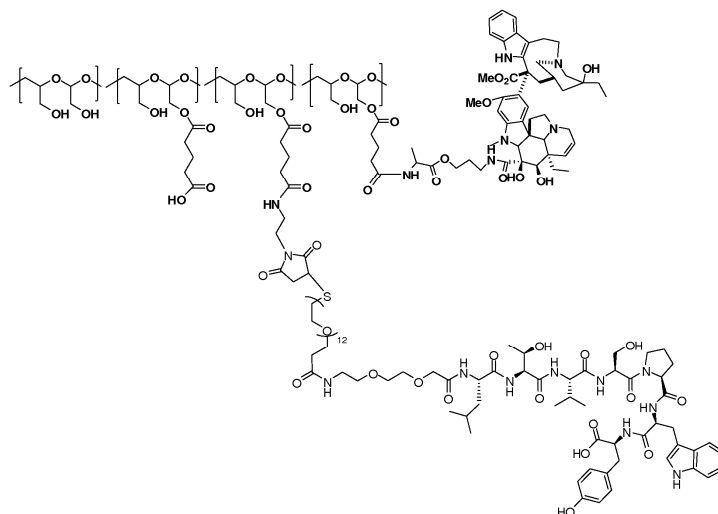


10

15

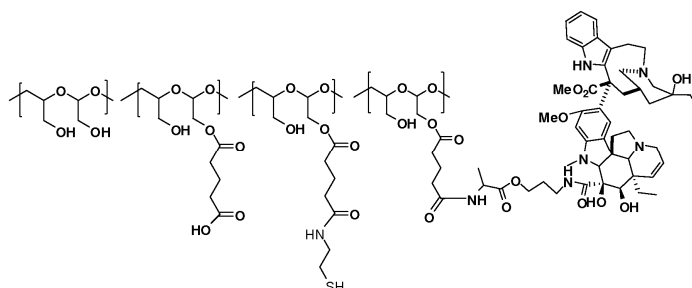
A una solución de LTVSPNY-Adoa-NH₂ (10 mg, 10,7 μ mol) en una mezcla de CH₃CN/H₂O (500 μ L, 1:1) se le añadió (46 μ L, 20,8 μ mol, 16,1 mg) de una solución madre recién preparada de S-Acetil-PEG₁₂-NHS (350 mg/mL) en DMSO. El pH se ajustó a 6,5-7,0 y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. El pH se ajustó luego a 7,5-8,0 y la mezcla de reacción se agitó durante ~ 2 h. El producto crudo se purificó por HPLC (gradiente: 10% de disolvente B hasta 70% de disolvente B durante 25 min) para proporcionar, después de la concentración, 9 mg del compuesto del título como un sólido incoloro (51% de rendimiento). ESI-MS calculado para C₇₈H₁₂₆N₉NaO₂₈S 845,9, encontrado 845,9 (M+ H⁺ + Na⁺).

Ejemplo 17. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(LTVSPNY-Adoa-PEG₁₂) de 30 kDa



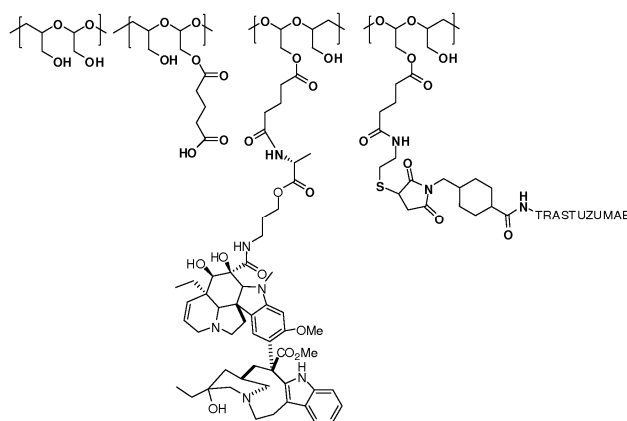
Se disolvió LTVSPNY-Adoa-PEG₁₂-tioéster (0,57 mg, 0,34 μ mol, preparado como se describe en el Ejemplo 16) en agua (500 μ L) y el pH se ajustó a 11,8. La solución se agitó bajo atmósfera de argón durante 30 min y el pH se redujo hasta 5-5,5. A esta solución se le añadió una solución de PHF-GA-(HPV-Alanina)-maleimida de 30 kDa (2,5 mg, 0,057 mmol, preparado como se describe en el Ejemplo 13, 15% de GA, 2,6% de maleimida, 5% de HPV) en agua (62,5 μ L). El pH se ajustó a 7,6 y luego la mezcla de reacción se agitó bajo atmósfera de argón hasta que no se observó ninguna incorporación adicional de péptido por HPSEC (3 h, incorporación del 15% del péptido). Después, la mezcla de reacción se diluyó con NaCl al 1% y se filtró a través de un filtro de jeringa de 0,2 μ m. El material crudo se purificó por filtración celular agitada a través de una membrana de corte de 5 kDa PM para proporcionar una solución del compuesto del título.

Ejemplo 18. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH de 30 kDa



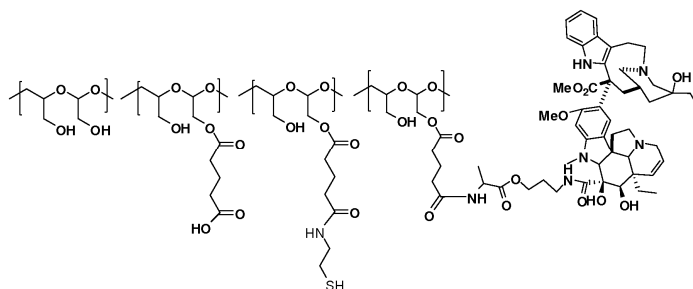
Se recogió PHF-GA-SSPy de 30 kDa (26,2 mg, 0,72 μ moles, preparado como se describe en el Ejemplo 5 utilizando PHF de 30 kDa, 10% de GA; 4,8% de SSPy) en una mezcla de agua (3 mL) y acetonitrilo (3 mL) y se enfrió a 0°C. Se añadió NHS (0,83 mg, 7,16 μ mol) seguido por una solución acuosa de EDC (1,37 mg, 7,16 μ mol) y HPV-Alanina (10,2 mg, 10,7 μ mol, preparada como se describe en la publicación estadounidense No. 2010/0305149, Ejemplo 1). El pH de la mezcla resultante se ajustó a 6,0 y luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El pH se ajustó a 7,5 con NaHCO₃ 1M y se añadió DTT (11,7 mg, 0,076 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 30 min, se diluyó a 15 mL con agua y se purificó mediante diálisis usando una membrana de celulosa regenerada (corte de PM de 30 kDa). Rendimiento 82% (con base en HPV); 20,6% en peso de HPV, determinado por HPLC.

Ejemplo 19. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) de 30 kDa



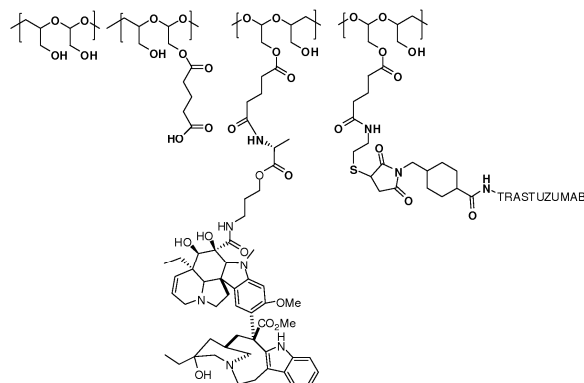
5 Se añadió PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH de 30 kDa (11,2 mg, preparado como se describe en Ejemplo 18) a Trastuzumab-MCC (20 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 3) en PBS (2 mL, pH 7,0), en agua (0,5 mL). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 4 h a pH 7,0. El conjugado resultante se purificó por filtración en gel utilizando una columna Superpose-6 con PBS como eluyente. El contenido de HPV determinado por HPLC era una relación molar promedio de HPV con respecto al anticuerpo de aproximadamente 10:1 a 12:1.

Ejemplo 20. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH de 70 kDa



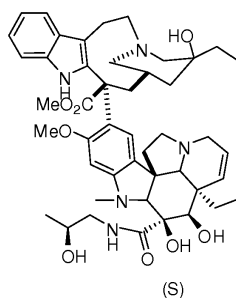
10 Se preparó PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH de 70 kDa como se describe en el Ejemplo 18, excepto que se usaron PHF-GA-SSPy de 70 kDa (10% de GA, 4,8% de SSPy, 58,2 mg, 0,727 μ mol, preparado como se describe en el Ejemplo 5), NHS (0,843 mg, 7,27 μ mol), EDC (1,39 mg, 7,27 μ mol) y HPV-Alanina (10,4 mg, 10,9 μ mol). Rendimiento 82% (con base en el polímero); 10,9% en peso de HPV.

Ejemplo 21. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) de 70 kDa



15 El compuesto del título se preparó como se describe en el Ejemplo 19, excepto que se usaron trastuzumab-MCC (20 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 3) y PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH de 70 kDa (11,2 mg, preparado como se describe en Ejemplo 20). El contenido de HPV determinado por HPLC mostró una relación molar promedio de HPV con respecto al anticuerpo de aproximadamente 47:1 a 50:1.

Ejemplo 22. Síntesis de (S)-2HPV

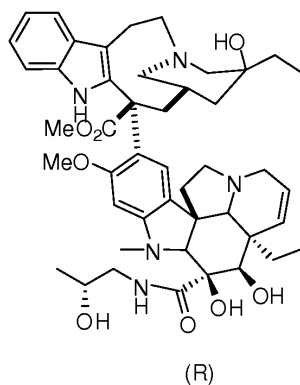


Se combinó la vinblastina desacetil hidracida (400 mg, 0,520 mmol, preparada como se describe en J. Med. Chem., 21, 88-96, 1978) en MeOH (5 mL) con HCl 1 N (15 mL) a 0°C, después se añadió una porción de nitrito de sodio (93 mg, 1,353 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 12 min seguido por ajuste de pH a 7,6 a 0°C con NaHCO₃ saturado. La mezcla de reacción se extrajo con DCM (3x50 mL). Las fracciones de DCM combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se filtraron a través de una almohadilla de MgSO₄. El volumen se redujo a 10 mL y se utilizó 5 mL para acoplamiento con (S)-1-aminopropan-2-ol.

Se añadió gota a gota (S)-1-aminopropan-2-ol (205 µL, 2,6 mmol) en DCM anhidro (2 mL) a una solución agitada fría de vinblastina desacetil diazida (preparada como se describió anteriormente) bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante varias horas y después se llevó a temperatura ambiente. El LC/MS mostró la conversión al compuesto del título. La mezcla de reacción cruda se aplicó directamente a una columna CombiFlash (columna de 40 g) para purificación.

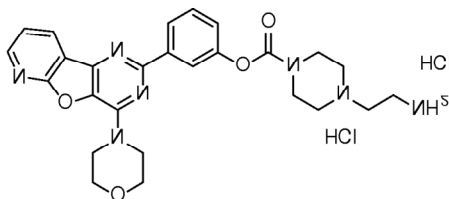
La columna CombiFlash se acondicionó con acetato de etilo (TEA al 1%). Después de la inyección de la muestra, las condiciones iniciales se continuaron durante 2 min seguido por un gradiente de MeOH al 10% (TEA al 1%) hasta acetato de etilo (TEA al 1%) durante 10 minutos y luego se mantuvo así. El compuesto del título eluyó en ~ 12 minutos. El eluyente se concentró para obtener 96 mg (46% de rendimiento). M/z(+) 812,4.

Ejemplo 23. Síntesis de (R)-2HPV



El compuesto del título se preparó como se describe en el Ejemplo 21 excepto que se usó (R)-1-aminopropan-2-ol (205 µL, 2,6 mmol) en vez de (S)-1-aminopropan-2-ol para producir 97 mg (46% de rendimiento).

Ejemplo 24. Síntesis de diclorhidrato de (PI-103)-4-(2-aminoetil) piperazina-1-carboxilato

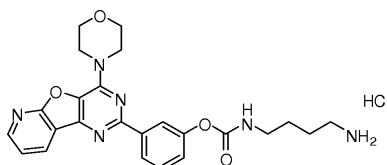


A una mezcla de PI-103 (50 mg, 0,144 mmol) y TEA (60 µL, 0,431 mmol) en DMF seca (2,5 mL) se le añadió cloroformiato de 4-nitrofenilo (35 mg, 0,172 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 45 minutos se añadió éster t-butilico del ácido 2-piperazin-1-il-etil-carbámico (56 mg, 0,244 mmol) y la mezcla de reacción se agitó después durante la noche a temperatura ambiente seguido de la eliminación del disolvente bajo alto vacío. El residuo se disolvió en DCM (50 mL) y después se lavó sucesivamente con agua (15 mL) y salmuera (15 mL).

La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice (4 g de columna CombiFlash, $\text{MeOH}:\text{DCM}$ (MeOH al 0%, 1-2 min, seguido de un gradiente hasta 7% de MeOH durante 15 min) para producir el carbamato protegido con BOC como una película incolora. ESI-MS calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{N}_7\text{O}_6$ 604,3 ($\text{M} + \text{H}^+$), encontrado 604,3.

5 Al carbamato protegido con BOC purificado se añadió DCM (5 mL) y HCl 4 M en dioxano (5 mL). La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente y después se concentró al vacío. El producto PI-103 desprotegido se disolvió en agua y luego se liofilizó para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo pálido (69 mg, rendimiento total del 83%). ESI-MS calculado para $C_{26}H_{30}N_7O_4$ 504.2 ($M + H^+$), encontrado 504.2.

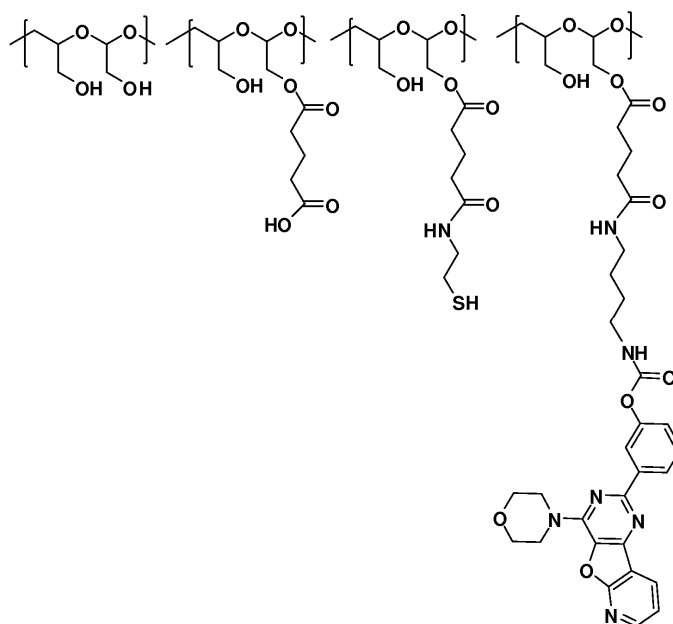
Ejemplo 25. Síntesis de clorhidrato de (PI-103)-4-aminobutilcarbamato



10

El compuesto del título se preparó como se describe en el Ejemplo 24, excepto que la síntesis se llevó a cabo a escala menor con PI-103 (25 mg) y se usó BOC-1,4-diaminobutano (23 mg, 0,122 mmol) en lugar del éster terc-butílico del ácido 2-piperazin-1-il-etil-carbámico para producir el compuesto del título (13 mg, rendimiento total del 36%). ESI-MS calculado para $C_{24}H_{27}N_6O_4$ 463,2 (M + H⁺), encontrado 463,2.

15 Ejemplo 26. Síntesis de PHF-GA-(PI-103)-4-aminobutilcarbamato-SH de 10 kDa



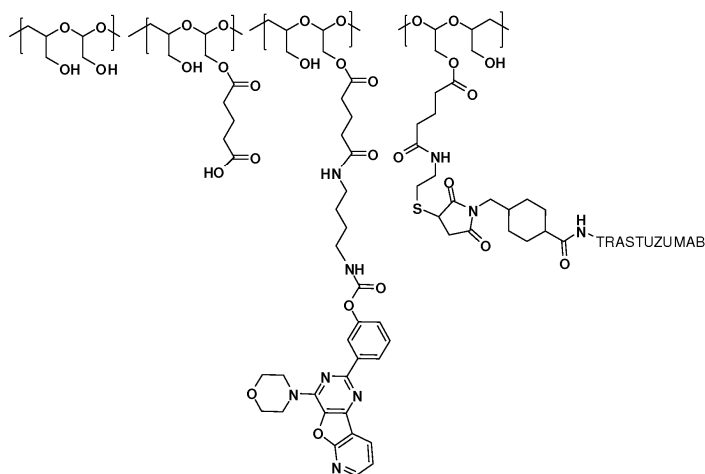
20

25

30

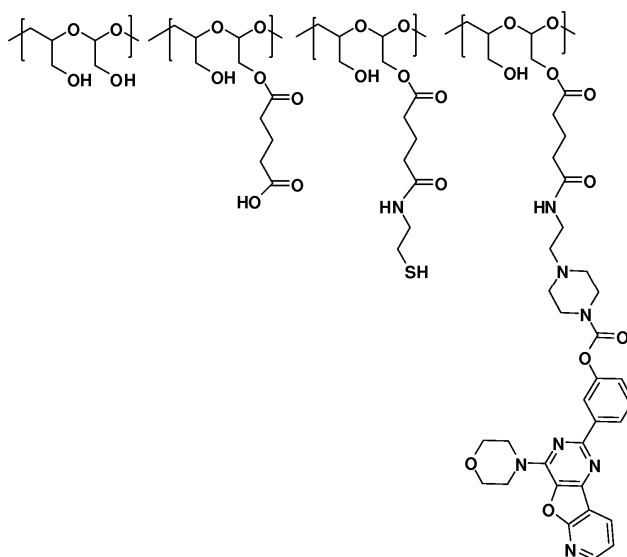
A una solución de PHF-GA-SSPy (25% de GA, 3,8% de SSPy, 30 mg, 2,38 μ mol, preparado como se describe en el Ejemplo 5) en CH₃CN/H₂O 1:1 (400 μ L) se le añadió NHS (18 μ L de solución madre de 96 mg/mL en CH₃CN, 1,7 mg), EDC (78 μ L de solución madre recién preparada en agua, 37,3 mg/mL, 2,9 mg), seguido de una solución de clorhidrato de (PI-103)-4-aminobutilcarbamato (5,35 mg, 10,7 μ mol, preparado como se describe en el Ejemplo 25) en CH₃CN/H₂O 1:1 (200 μ L). Se añadió CH₃CN adicional (100 μ L) para mejorar la solubilidad. El pH se ajustó a 5,7-5,8 y la mezcla se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Se añadió CH₃CN adicional (100 μ L) y se continuó agitando durante la noche. El análisis por HPLC de la mezcla de reacción cruda indicó una incorporación de 92% de (PI-103)-4-aminobutilcarbamato. El pH se ajustó a 6,0 y después la mezcla cruda se diluyó con NaCl acuoso al 1% (10 mL) y se filtró a través de un filtro de jeringa de 0,2 μ m. El producto crudo se purificó por filtración con una célula de agitación en una membrana de celulosa regenerada MWCO de 3 kDa seguido por liofilización para proporcionar un sólido incoloro (26 mg, 1,82 μ mol, rendimiento 76%). El producto (26 mg, 1,82 μ mol) se disolvió en PBS (25 mM, pH 7,1 mL) y después se lo trató con DTT (10,4 mg, 0,067 mmol). La mezcla se agitó durante aproximadamente 1 h a temperatura ambiente y después se purificó por filtración de celda agitada a través de membrana de celulosa regenerada MWCO de 3 kDa para producir una solución acuosa del compuesto del título.

Ejemplo 27. Síntesis de PHF-GA- (PI-103)-4-aminobutilcarbamato de 10 kDa (Trastuzumab-MCC)



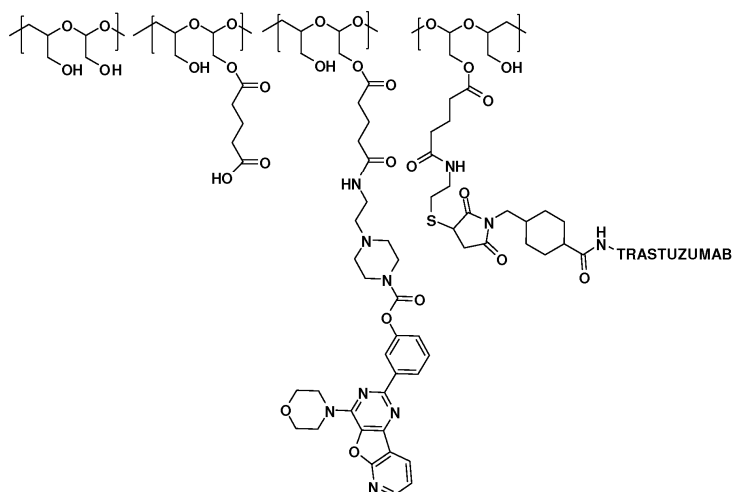
El conjugado del título se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 7 excepto que se usaron trastuzumab-MCC (10 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 3) y PHF-GA-(PI-103)-4-aminobutilcarbamato-SH de 10 kDa (11,2 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 26).

Ejemplo 28. Síntesis de PHF-GA-(PI-103)-4-(2-aminoetil)piperazina-1-carbamato-SH de 10 kDa



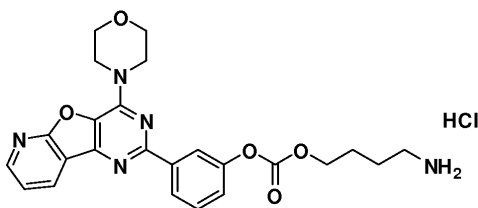
El compuesto del título se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 26, excepto que se utilizaron PHF-GA-SSPy de 10 kDa (25% de GA, 3,8% de SSPy, 30 mg, 3,38 μ mol, preparado como se describe en el Ejemplo 5), NHS (1,7 mg, 15 μ mol), EDC (2,88 mg, 15 μ mol) y dihidroclorhidrato de (PI-103)-4-(2-aminoetil)piperazina-1-carboxilato (5,49 mg, 9,52 μ mol, preparado como se describe en el Ejemplo 24). Rendimiento 80%.

Ejemplo 29. Síntesis de PHF-GA-(PI-103)-4-(2-aminoetil)piperazina-1-carbamato-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa



El conjugado del título se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 7, excepto que se utilizaron trastuzumab-MCC (10 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 3) y PHF-GA-(PI-103)-4-2-aminoetil)piperazina-1-carbamato-SH de 10 kDa (11,2 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 28).

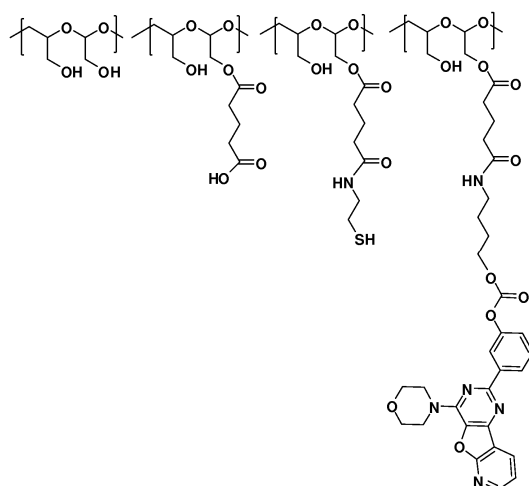
5 Ejemplo 30. Síntesis de clorhidrato de (PI-103)-4-aminobutilcarbonato



10 A una solución enfriada con hielo de trifosgeno (13,6 mg, 0,046 mmol) en THF seco (0,5 mL) se le añadió una solución de 4-hidroxibutilcarbonato de t-butilo (24,2 mg, 0,128 mmol) y TEA (18,1 μ L, 0,13 mmol) en THF seco (1 mL) bajo atmósfera de argón. Después de agitar durante 1 h a 0°C, se añadió lentamente el cloroformiato crudo a una solución de PI-103 (25 mg, 0,072 mmol) y TEA (15,1 μ L, 0,108 mmol) en NMP (0,5 mL). Después de varios minutos, se eliminó el THF al vacío y se añadió NMP (0,5 mL) para hacer la mezcla más homogénea. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadieron cloroformiato adicional (a partir de 45 mg de alcohol BOC, preparado como se ha descrito anteriormente) y TEA (15 μ L) y se agitó la mezcla de reacción durante 40 minutos, momento en el que LC/MS indicó una conversión del 95% al producto deseado. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (150 mL) y después se lavó con agua (2 x 50 mL) y salmuera (50 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró al vacío. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice (4 g de columna CombiFlash, EtOAc:Hex, 0% de EtOAc 1 min, luego gradiente hasta EtOAc al 80% durante 16 min) para producir 26 mg de una película incolora. Rendimiento 64%. ESI-MS calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_5\text{O}_7$ 564,3 ($\text{M} + \text{H}^+$), encontrado 564,1.

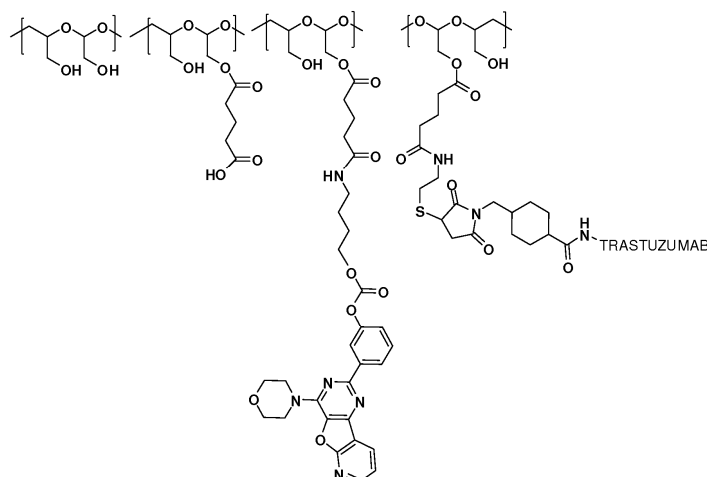
20 El carbonato protegido con BOC se disolvió en DCM (2 mL) ya continuación se lo trató con HCl 4 M en dioxano (4 mL). La mezcla resultante se agitó durante 3,5 h y luego se concentró al vacío. El carbonato desprotegido se liofilizó a partir de agua: CH_3CN para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo pálido (21,9 mg, 96% de rendimiento). ESI-MS calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_5$ 464,2 ($\text{M} + \text{H}^+$), encontrado 464,1.

Ejemplo 31. Síntesis de PHF-GA-(PI-103)-4-aminobutilcarbonato-SH de 10 kDa



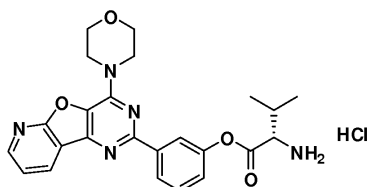
5 El compuesto del título se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 26, excepto que se utilizaron PHF-GA-SSPy de 10 kDa (25% de GA, 3,8% de SSPy, 30 mg, 3,38 μ mol, preparado como se describe en el Ejemplo 5), NHS (1,7 mg, 15 μ mol), EDC (2,88 mg, 15 μ mol) y clorhidrato de (PI-103)-4-aminobutilcarbonato (5,35 mg, 10,7 μ mol, preparado como se describe en el Ejemplo 30). Rendimiento del 76%.

Ejemplo 32. Síntesis de PHF-GA-(PI-103)-4-aminobutilcarbonato-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa



10 El conjugado del título se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 7, excepto que se utilizó trastuzumab-MCC (10 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 3) y PHF-GA-(PI-103)-(4-aminobutilcarbonato)-SH de 10 kDa (11,2 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 31). Rendimiento 30%.

Ejemplo 33. Síntesis de clorhidrato de (PI-103)-(S)-2-amino-3-metilbutanoato

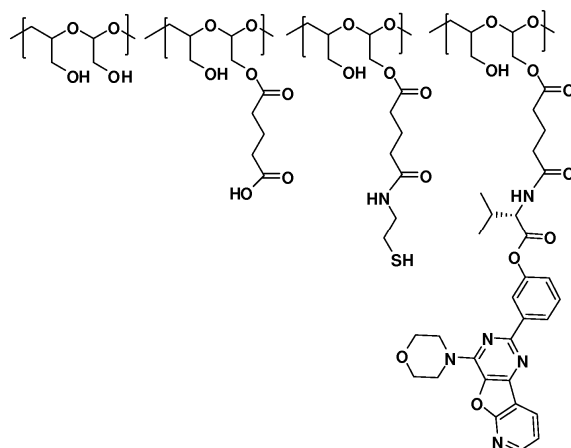


15 Se añadió una mezcla de HATU (32,7 mg, 0,086 mmol), DIEA (30,2 μ L, 0,173 mmol) y BOC-Val-OH (0,086 mmol, 18,7 mmol) en NMP a una solución de PI-103 (25 mg, 0,072 mmol). La mezcla resultante se agitó, se protegió de la luz, durante 3 días a temperatura ambiente. Después se añadió una solución de BOC-Val-OH (15,6 mg, 0,072 mmol), HATU (27,4 mg, 0,072 mmol) y DIEA (25,1 μ L, 0,144 mmol) en NMP (200 μ L). La mezcla de reacción se agitó durante ~ 18 h a 50°C y luego se añadió DMAP (0,072 mmol, 8,8 mg). La mezcla se agitó durante 1,5 horas adicionales a 50°C seguido de inactivación de la reacción con ácido diluido. La mezcla de reacción se diluyó con DCM y después se lavó con agua (2 x 50 mL) y salmuera (50 mL). El éster de valina protegido con BOC se purificó sobre gel de sílice (4 g de columna

CombiFlash, EtOAc:Hex, EtOAc al 0% se mantuvo durante 1 min luego a un gradiente hasta EtOAc al 50% durante 16 min).

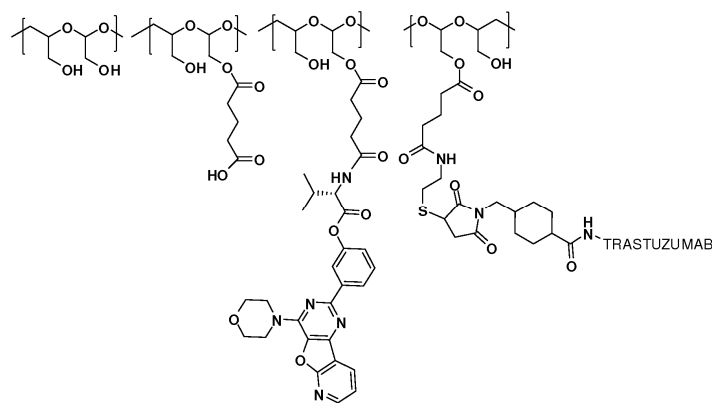
El éster de valina protegido con BOC se disolvió en DCM (5 mL) y después se lo trató con HCl 4 M en dioxano (5 mL). La mezcla se agitó durante 6 h a temperatura ambiente y luego se concentró a sequedad al vacío. El éster de valina desprotegido se liofilizó a partir de agua:CH₃CN para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo pálido (13,6 mg, rendimiento total del 39%). ESI-MS calculado para C₂₄H₂₆N₅O₄ 448,2 (M + H⁺), encontrado 448,2.

Ejemplo 34. Síntesis de PHF-GA-(PI-103)-(S)-2-amino-3-metilbutanoato-SH de 10 kDa



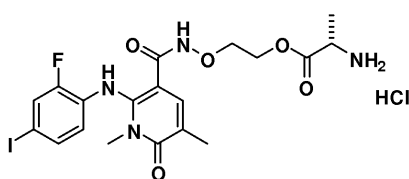
El compuesto del título se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 26, excepto que se utilizaron PHF-GA-SSPy de 10 kDa (25% de GA, 3,8% de SSPy, 41,4 mg, 3,38 μmol, preparado como se describe en el Ejemplo 5) NHS (2,81 mg, 25 μmol), EDC (4,85 mg, 25 μmol), y clorhidrato de (PI-103)-(S)-2-amino-3-metilbutanoato (6,38 mg, 13 μmol).

Ejemplo 35. Síntesis de PHF-GA-((PI-103)-(S)-2-amino-3-metilbutanoato-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa



El conjugado del título se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 7, excepto que se utilizó trastuzumab-MCC (10 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 3) y PHF-GA-(PI-103)-(S)-2-amino-3-metilbutanoato-SH 10 kDa (11,2 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 34).

Ejemplo 36. Síntesis de clorhidrato de (AZD 8330)-(S)-2-aminopropanoato



A una solución de BOC-Ala-OH (61,5 mg, 0,325 mmol) en THF seco (1,5 mL) se le añadió DIC (20,5 mg, 0,163 mmol). La mezcla resultante se enfrió a 0°C bajo atmósfera de argón y se agitó durante 10-15 minutos. Se añadió una mezcla

Ejemplo 37. Síntesis de PHF-GA-(AZD 8330)-(S)-2-aminopropanoato-SH de 10 kDa



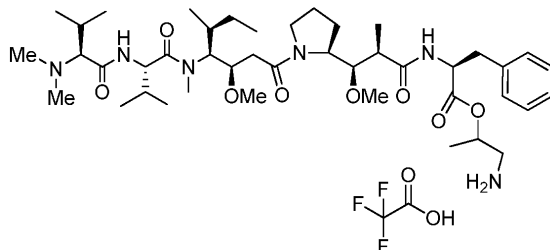
15

The chemical structure represents the conjugate of the 1,2:3,5-di-O-isopropylidene- α -D-glucopyranose derivative with Trastuzumab. The structure is highly complex, featuring a central sugar moiety (1,2:3,5-di-O-isopropylidene- α -D-glucopyranose) linked to various functional groups, including hydroxyl, ester, amide, and thioether groups. The structure also includes a fluorinated pyridine ring and a thioether linkage to a cyclohexane ring, which is further linked to a thioether group. The entire structure is labeled as a conjugate with Trastuzumab.

176

respecto al anticuerpo fue en promedio de aproximadamente 2:1 a 6:1

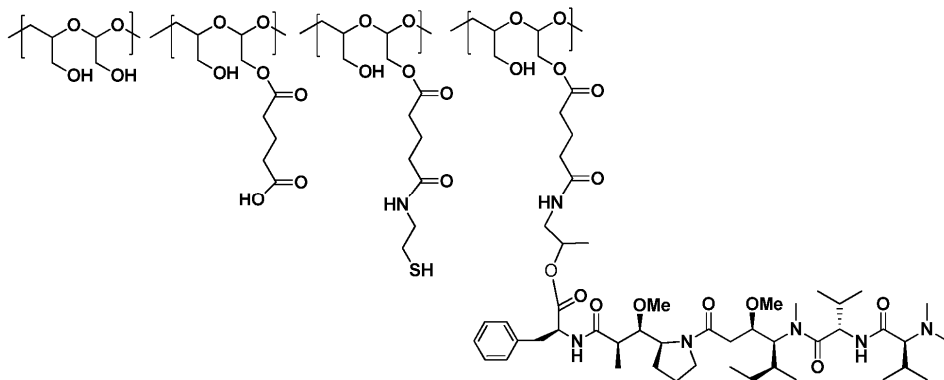
Ejemplo 39. Síntesis de trifluoroacetato de 1-aminopropan-2-il-auristatina F



5 A la auristatina F (150,0 mg, 0,201 mmol) y HOBt (32,6 mg, 0,241 mmol) en 5 mL de diclorometano se le añadió diisopropilcarbodiimida (68,5 μ L, 0,442 mmol). La mezcla se agitó a 0°C durante 10 minutos, momento en el que se observó un precipitado. Se añadió terc-butil-2-hidroxiopropilcarbamat (881,0 mg, 5,03 mmol) en 2 mL de diclorometano. La mezcla de reacción se agitó a 45°C en un vial sellado y el progreso de la reacción se controló mediante LCMS. Se añadió HOBt adicional (30,0 mg, 0,222 mmol) a 2,5 y 6 horas y la mezcla se agitó durante 18 horas. Se añadieron HOBt adicional (54,3 mg, 0,402 mmol) y diisopropilcarbodiimida (43,1 mg, 0,342 mmol) y la mezcla se agitó a 45°C durante 10
10 otras 9 horas, momento en el cual el análisis LCMS mostró la desaparición completa del material de partida. Se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo se disolvió en 3 mL de DMF. La muestra se purificó por HPLC preparativa; (10-90 gradiente de disolvente B durante 10 minutos, eluyendo con TFA al 0,1%/agua, TFA al 0,1%/CH₃CN). El agua se eliminó mediante liofilización para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco.

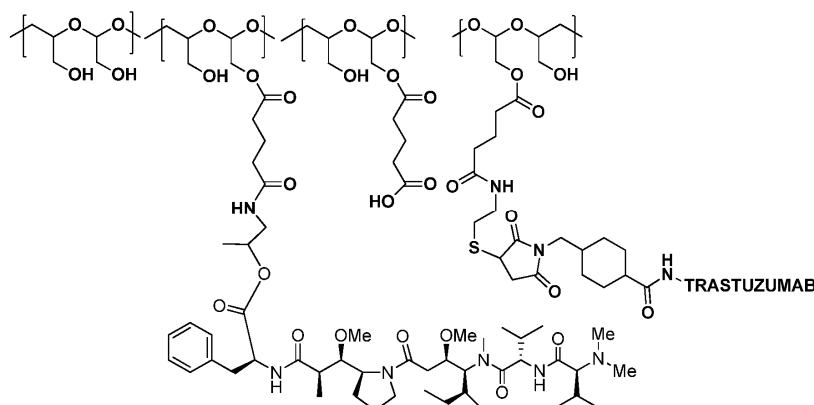
15 Se recogió 1-(terc-butoxicarbonilamino)propan-2-il-auristatina F (150 mg, 0,166 mmol) en diclorometano (5 mL) y se añadió ácido 2,2,2-trifluoroacético (0,256 mL, 3,32 mmol). La mezcla se agitó a 23°C durante 30 minutos, momento en el que LC/MS indicó una conversión completa. El disolvente se redujo a 1 mL a presión reducida. La adición gota a gota de la solución a éter dietílico bajo agitación produjo el compuesto del título (27,5 mg, 0,027 mmol, 16%) en forma de un sólido blanco que se recogió por filtración.

Ejemplo 40. Síntesis de PHF-GA-(1-aminopropan-2-il-Auristatina F)-SH de 10 kDa



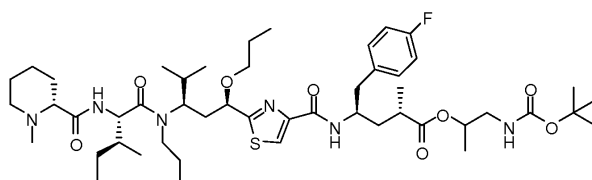
20 Se recogió PHF-GA de 10K (28%)-SSPyr (10%) (76,0 mg, 5,93 μ mol), preparado como se describe en el Ejemplo 5, en agua (5 mL) y acetonitrilo (3 mL) y se enfrió a 0°C. Se añadió NHS (6,82 mg, 0,059 mmol en 500 μ L de agua) seguido de trifluoroacetato de 1-aminopropan-2-il-auristatina F (27,5 mg, 0,027 mmol, preparado como se describe en el Ejemplo 39) y EDC (11,4 mmol, 0,059 mmol, 500 μ L de agua). El pH se ajustó a 6 con NaOH 0,1 N y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El pH se ajustó a 7,5 con NaHCO₃ 1 M y se añadió (2S,3S)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol (100 mg, 0,648 mmol). La mezcla se agitó a 23°C durante 30 minutos, se diluyó a 15 mL con agua y se purificó mediante diálisis a través de una membrana de celulosa regenerada 3K eluyendo con NaCl al 1% /agua (3 x 10 mL) y agua (3 x 10 mL). La muestra (76 mg) se diluyó a 5 mL y se almacenó a 2-8°C.

Ejemplo 41. Síntesis de PHF-GA-(1-aminopropan-2-il-Auristatina F)-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa



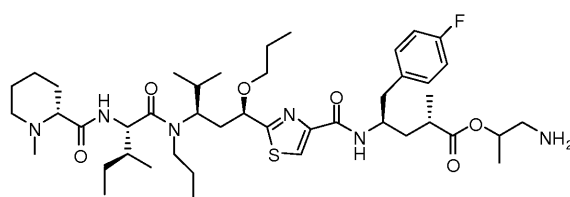
El conjugado del título se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 7 excepto que se utilizó trastuzumab-MCC (5 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 3) y PHF-GA-(1-aminopropan-2-il-Auristatina F)-SH (4.44 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 40, 19% de GA, 4.8% de SH).

5 Ejemplo 42. Síntesis de RD-S1-BOC-amina



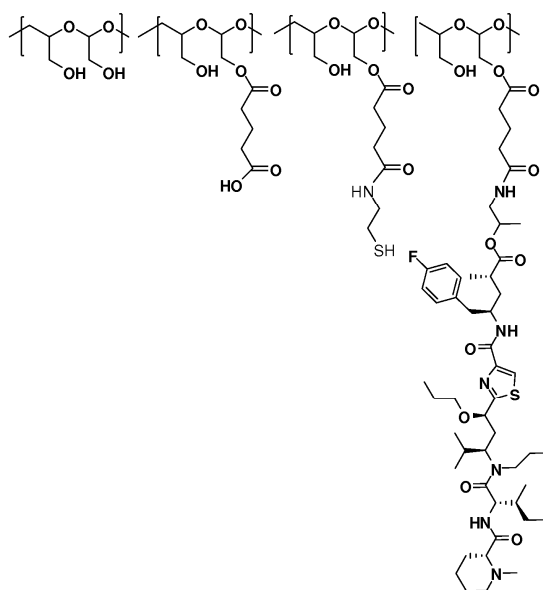
Se recogió RD-S1 (48,5 mg, 0,055 mmol, preparado según los procedimientos descritos en el documento WO 2008/138561) en CH₂Cl₂ (1 mL) y la solución se enfrió a 0°C. Se añadieron EDC (0,127 mL, 0,82 mmol) y N,N-dimetilpiridin-4-amina (33,4 mg, 0,273 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 20 min y luego se añadió 2-hidroxipropilcarbamato de t-butilo (0,094 mL, 0,546 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 24 h. La muestra se purificó por HPLC preparativa, eluyendo con TFA al 0,1%/CH₃CN y TFA al 0,1% / agua, seguido por liofilización para producir el compuesto del título (20,3 mg, 40% de rendimiento) como un sólido beige.

Ejemplo 43. Síntesis de RD-S1-amina



Se recogió RD-S1-BOC-Amina (20,3 mg, 0,022 mmol, preparado como se describe en el Ejemplo 42) en CH₂Cl₂ (0,500 mL) y se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota ácido 2,2,2-trifluoroacético (200 µL, 2,61 mmol), después se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se eliminó el disolvente a presión reducida. El aceite resultante se recogió en CH₂Cl₂ seguido de la adición de éter para producir el compuesto del título como un sólido beige (18,1 mg, rendimiento del 100%).

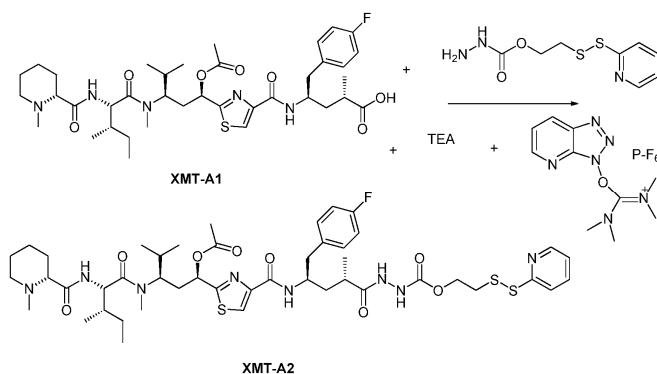
Ejemplo 44. Síntesis de PHF-GA-RD-S1-amina-SH



Se recogió PHF-GA-SSPy (40,2 mg, 3,19 μ mol, PHF-GA-SSPy preparado como se describe en el Ejemplo 5) en una mezcla de agua (2 mL) y CH_3CN (2 mL) y se enfrió a 0°C . Se añadió NHS (3,67 mg, 0,032 mmol) seguido de una solución acuosa de EDC (6,12 mg, 0,032 mmol) y RD-S1-amina (18,1 mg, 0,019 mmol, preparado como se describe en el Ejemplo 43) en agua (1 mL). El pH de la mezcla resultante se ajustó a 6,0 a 6,5 y después se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El pH se ajustó a 7,5 con NaHCO_3 1M y se añadió DTT (10 mg, 0,065 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, se diluyó a 15 mL con agua, se filtró a través de un filtro de 2 micras y se purificó por diálisis usando una membrana de celulosa regenerada (corte de PM 3 K) lavando con NaCl al 1%/agua (3 x 10 mL) seguido por agua (2 x 10 mL). El producto del título se obtuvo con un rendimiento del 61% (con base en tubilisina), un 3,8% de contenido de SH.

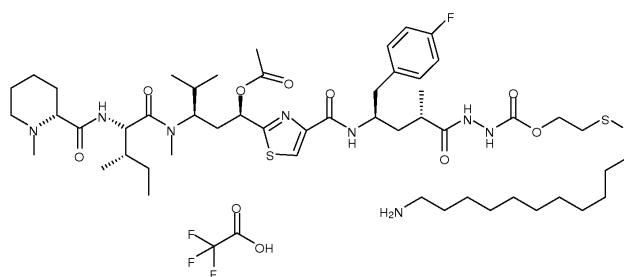
Al sustituir RD-S1-amina con otras fracciones de fármaco o derivados de fármaco en los procedimientos descritos anteriormente, es posible sintetizar otros conjugados de fármaco-polímero.

Ejemplo 45. Síntesis de XMT-A2



A una solución de XMT-A1 (5,03 mg, 6,74 μ mol) en DMF (33 μ L) a 0°C bajo atmósfera de argón se le añadió TEA (1,88 μ L, 0,013 mmol). La mezcla se agitó durante 5 minutos y después se añadieron hidracina carboxilato de (2-(piridina-2-ildisulfanil)etil) (2,48 mg, 10,1 μ moles) en DMF (20 μ L) y HATU (3,85 mg, 10,1 μ mol). Se dejó calentar la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se agitó durante 2,5 h, se diluyó con una mezcla de agua (750 μ L) y CH_3CN (1 mL) y luego se purificó por HPLC preparativa eluyendo con TFA al 0,1%/CH₃CN y TFA al 0,1%/agua, seguido por liofilización para producir el compuesto del título (8,64 mg, 65,2% de rendimiento) en forma de un sólido blanco.

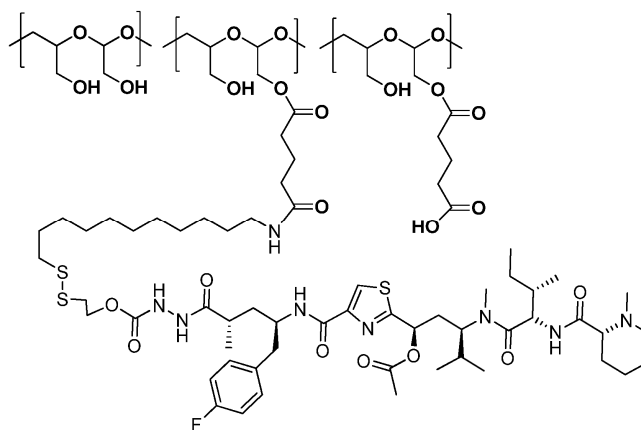
Ejemplo 46. Síntesis de XMT-A3



XMT-A3

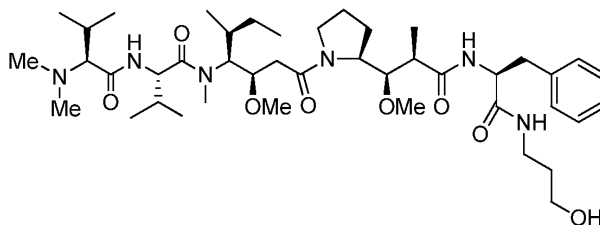
5 Se disolvió XMT-A2 (11,9 mg, 0,012 mmol, preparado como se describe en el Ejemplo 45) en DMF (0,3 mL) y clorhidrato de 11-aminoundecano-1-tiol (29,5 mg, 0,123 mmol) en DMF (0,3 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 días, se diluyó con agua (2 mL) y se purificó por HPLC preparativa, seguido de liofilización para producir el compuesto del título (6,02 mg, 46% de rendimiento) como un sólido blanco.

Ejemplo 47. Síntesis de PHF-GA-(XMT-A3) de 70 kDa,



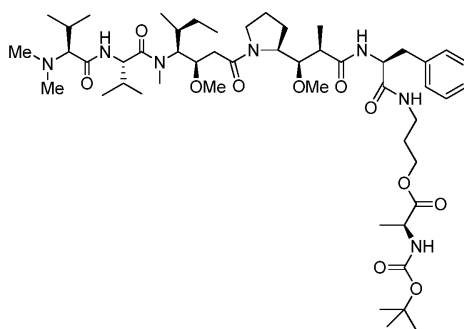
10 Se disolvió PHF-GA de 70 KDa (57,4 mg, 0,217 mmol, preparado usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 2 con PHF de 70 KDa, 9% de GA) en una mezcla de agua (2,17 mL) y DMF (0,05 mL). Se añadió XMT-A3 (12,8 mg, 10,9 μmol, preparado como se describe en el Ejemplo 46) en DMF (0,05 mL) y se ajustó el pH de 5 a 6. La solución resultante se enfrió a 0°C y se añadió EDC (4,16 mg; 0,022 mmol) en porciones durante 4 h. La mezcla de reacción se agitó durante 6 h a pH de 5,0 a 6,0. La purificación mediante cromatografía de exclusión por tamaño eluyendo con agua produjo el compuesto del título (40 mg, 5% (en peso) de Tubulisina).

15 Ejemplo 48. Síntesis de auristatina F-hidroxipropilamida



20 Se tomaron Auristatina F (150 mg, 0,201 mmol), HATU (153,0 mg, 0,402 mmol) y diisopropiletilamina (108 μL, 0,603 mmol) en DMF (5 mL) y se añadió 3-aminopropan-1-ol (45,9 μL, 0,603 mmol). La mezcla se agitó a 23°C durante 45 minutos, momento en el cual el análisis de LCMS mostró desaparición completa del material de partida. La reducción del volumen hasta 1,4 mL bajo alto vacío seguido por purificación mediante HPLC preparativa (gradiente de disolvente B 10-90 durante 20 minutos eluyendo con TFA al 0,1% / agua, TFA al 0,1% / CH₃CN) dio el compuesto del título como un sólido blanco (109 mg, 68% de rendimiento).

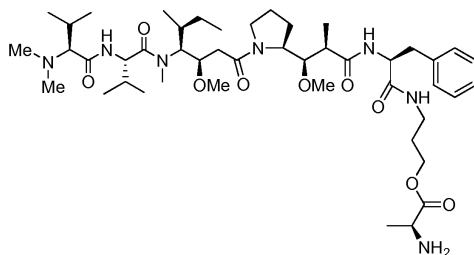
Ejemplo 49. Síntesis de la auristatina F-hidroxipropilamida Boc-L-alanina



5

Se recogieron BOC-L-alanina (117,0 mg, 0,618 mmol) y DMAP (94,0 mg, 0,772 mmol) en diclorometano y después se añadió diisopropilcarbodiimida (52,6 μ L, 0,340 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se agitó durante 10 minutos, después de lo cual se añadió auristatina F-hidroxiopropilamida (124 mg, 0,154 mmol, preparado como se describe en el Ejemplo 48). La mezcla de reacción se calentó a 23°C y se agitó durante 18 horas. La purificación mediante HPLC preparativa seguida por la eliminación del agua mediante liofilización proporcionó el compuesto del título como un sólido beige (112 mg, 75% de rendimiento).

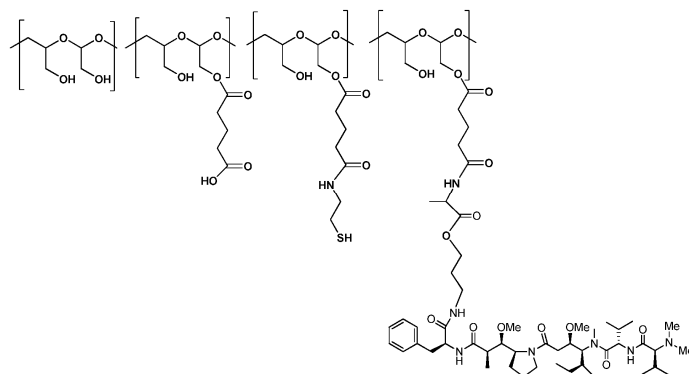
Ejemplo 50. Síntesis de la Auristatina F-hidroxiopropilamida-L-alanina



10

Se recogió auristatina F-hidroxiopropilamida Boc-L-Alanina (112 mg, 0,115 mmol, preparada como se describe en el Ejemplo 49) en diclorometano (3 mL) y se añadió ácido trifluoroacético en exceso. La mezcla se agitó a 23°C durante 1 hora y el disolvente se retiró a alto vacío. El aceite resultante se recogió en diclorometano (1,5 mL) y se precipitó en éter dietílico (30 mL) para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco (96,2 mg, 85%).

Ejemplo 51. Síntesis de PHF-GA-SH- (Auristatina F-hidroxiopropilamida-L-alanina) de 10K

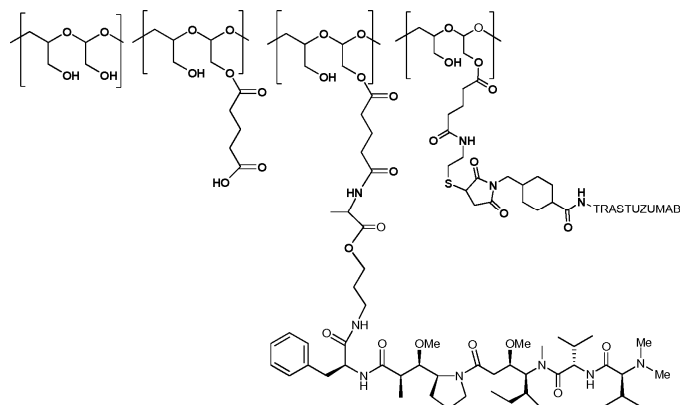


15

20

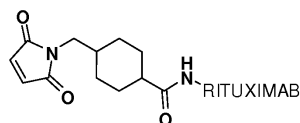
Se recogió PHF-GA (28%)-SSPyr (10%) de 10 K (135,0 mg, 10,49 μ L, preparado como se describe en el Ejemplo 5) en agua (8 mL) y acetonitrilo (4 mL) y se enfrió a 0°C. Se añadió 1-NHS (12,07 mg, 0,105 mmol) seguido de EDC (20,11 mg, 0,105 mmol) y auristatina F-hidroxiopropilamida-L-alanina (52,02 mg, 0,047 mmol, preparada como se describe en el Ejemplo 50). El pH se ajustó a 6 con NaOH 0,1 N y la mezcla se agitó a 23°C durante 18 horas. El pH se ajustó a 7,5 con NaHCO₃ 1M y se añadió (2S, 3S)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol (90 mg, 0,583 mmol). La mezcla se agitó a 23°C durante 30 minutos y luego se diluyó hasta 15 mL con agua. El material se purificó mediante diálisis a través de una membrana de celulosa regenerada 3K eluyendo con NaCl al 1%/agua (3 x 10 mL) y agua (3 x 10 mL). La muestra se diluyó a 5 mL y se almacenó a 2 - 8°C (145,0 mg, Auristatina F 14,06 mg/mL).

Ejemplo 52. Síntesis de PHF-GA-(Auristatina F-hidroxiopropilamida-L-alanina)-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa



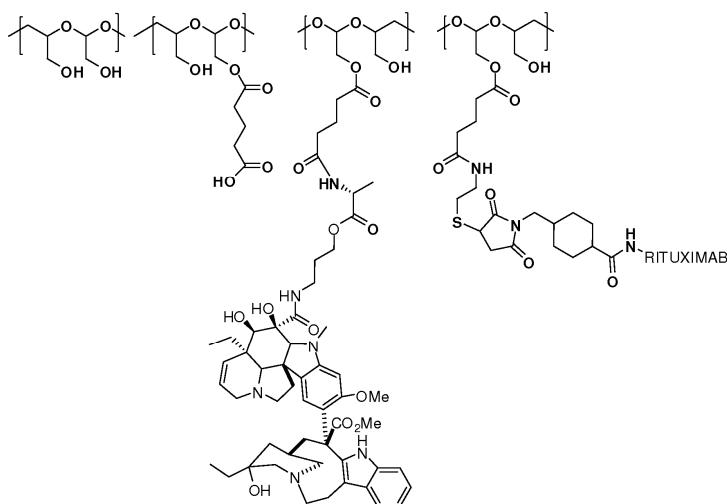
Se añadió PHF-GA-SH-(Auristatina F-hidroxiopropilamida-L-alanina) de 10 kDa (106 mg, preparado como se describe en el Ejemplo 51) a trastuzumab-MCC (400 mg, preparado como se ha descrito en el Ejemplo 3) en PBS (20 mL, pH 7,0) en agua (10 mL). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 4 h a pH 7,0. El producto resultante se purificó por filtración en gel utilizando una columna Superpose-6 con PBS como eluyente (50% de rendimiento). El peso molecular del PHF-GA-(Auristatina F-hidroxiopropilamida-L-alanina)-(Trastuzumab-MCC) determinado por SEC fue de aproximadamente 170 kDa. El contenido de auristatina F determinado por LC-MS mostró una relación molar promedio de auristatina F con respecto al anticuerpo de aproximadamente 20:1 a 22:1. Para el PHF-GA-(Auristatina F-hidroxiopropilamida-L-alanina)-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa utilizado en la Figura 3, la relación de auristatina F con respecto a trastuzumab fue de aproximadamente 20:1 a 22:1 y para aquella utilizada en la Figura 8 La relación de auristatina F con respecto a trastuzumab fue de aproximadamente 24:1 a 28:1.

Ejemplo 53. Síntesis del derivado de Rituximab-MCC



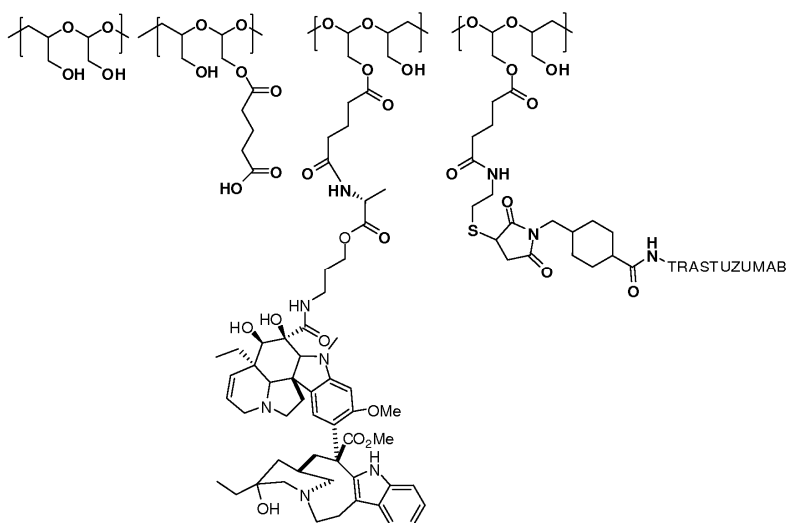
El compuesto del título se preparó como se describe en el Ejemplo 3. Se utilizó rituximab en vez de trastuzumab. El análisis mostró que en promedio 5 a 6 grupos de MCC estaban unidos a un Rituximab.

Ejemplo 54. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Rituximab-MCC) de 10 kDa



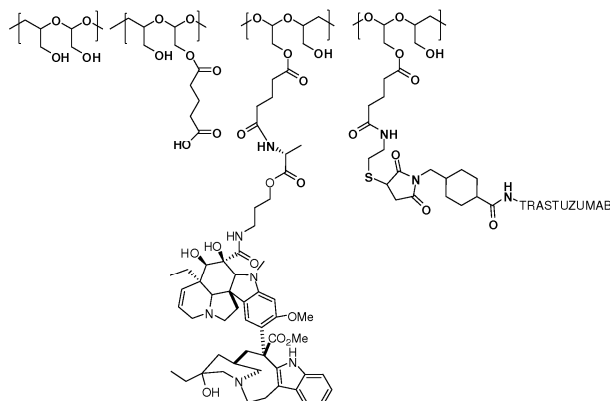
El compuesto del título se preparó usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 7, excepto que se utilizó Rituximab-MCC (preparado como se describe en el Ejemplo 53) en lugar de Trastuzumab-MCC. El contenido de HPV determinado por HPLC mostró una relación molar promedio de HPV con respecto a Rituximab de aproximadamente 12:1 a 15:1.

Ejemplo 55. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa (5: 1)



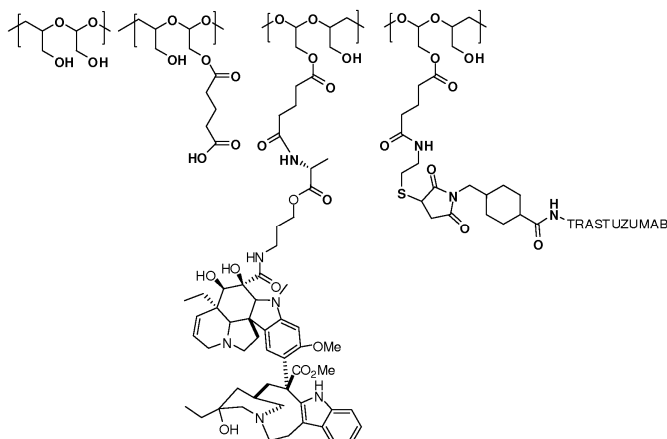
El compuesto del título se preparó usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 7, excepto que el contenido de HPV determinado por HPLC mostró una relación molar promedio de HPV con respecto a anticuerpo de aproximadamente 5:1.

5 Ejemplo 56. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa (10:1)



El compuesto del título se preparó usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 7, excepto que el contenido de HPV determinado por HPLC mostró una relación molar promedio de HPV con respecto al anticuerpo de aproximadamente 10:1.

10 Ejemplo 57. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) de 10 kDa (20:1)



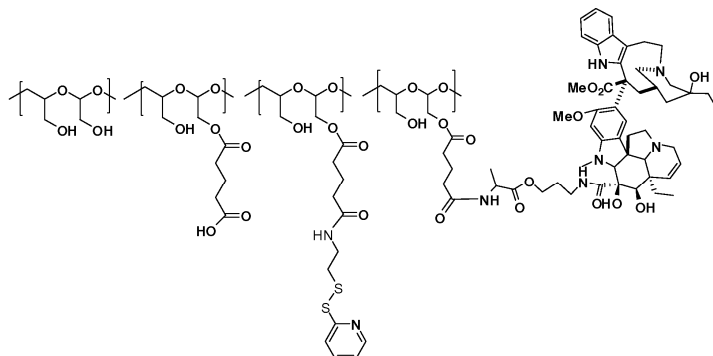
El compuesto del título se preparó usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 7 excepto que el contenido de HPV

determinado por HPLC mostró una relación molar promedio de HPV con respecto al anticuerpo de aproximadamente 20:1.

Ejemplo 58. Síntesis de Trastuzumab-F(ab)₂

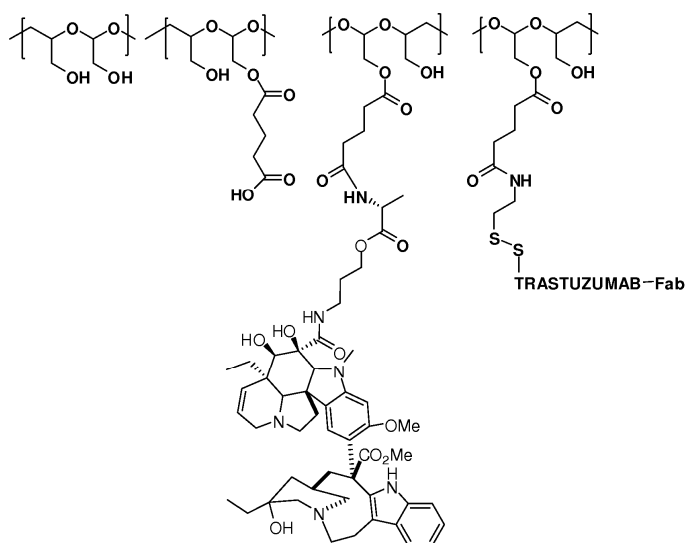
5 Se preparó Trastuzumab-F(ab)₂ a partir de pepsina inmovilizada (15 mL de gel sedimentado) y trastuzumab (440 mg, 2,4 μ mol) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Pierce) para producir el compuesto del título (265,2 mg, rendimiento del 100%).

Ejemplo 59. Síntesis de PHF-GA-SSPyR-(HPV-Alanina) de 30 kDa



10 A una solución de PHF-GA de 30 kDa (54 mg, 1,49 μ mol, preparado como se describe en el Ejemplo 2) en 2 mL de CH₃CN:H₂O (1:1) se le añadieron 69 μ L (37 μ mol) de solución madre de NHS recién preparada (62,4 mg/mL en CH₃CN) seguido de solución madre de EDC (150 μ L (37 μ mol) de 47,3 mg/mL en agua). Se añadió una solución de clorhidrato de HPV-alanina (21,3 mg, 22 μ mol, preparada como se describe en la publicación estadounidense No. 2010/0305149, Ejemplo 1) en 500 μ L de CH₃CN:agua (1:1) y luego el pH de la mezcla de reacción se ajustó a 5,8. La reacción se controló por HPLC SEC (detección a 270 nm), y se añadió EDC adicional a las 18 h (7 mg, 0,037 mmol) y 19 h (4,5 mg, 0,023 mmol). La mezcla de reacción se diluyó con 30 mL de NaCl al 1% para llevar al CH₃CN por debajo del 4% del volumen total de reacción. La mezcla cruda se filtró a través de una membrana de 0,2 μ m mediante una jeringa y después se purificó mediante filtración en celda de agitación sobre una membrana de corte de PM de 5.000 (celulosa regenerada) lavando con NaCl al 1% hasta que no se observaron moléculas pequeñas por HPLC SEC. El material purificado se concentró finalmente hasta 2,5 mL y se almacenó en forma de una solución de NaCl al 1% a -20°C. Rendimiento 86% (con base en HPV). La relación molar de HPV con respecto al polímero fue en promedio aproximadamente de 11:1 a 15:1.

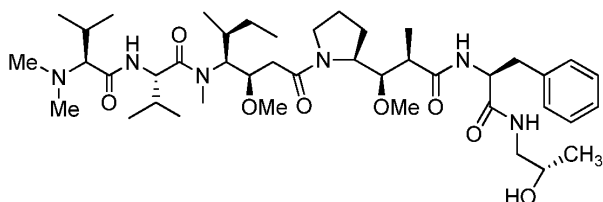
Ejemplo 60. Síntesis de PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-Fab) de 30 kDa



25 A trastuzumab-F(ab)₂ (3,44 mL, 0,325 μ mol de solución madre de 10,4 mg/mL, preparada como se describe en el Ejemplo 58) en PBS, pH 7,4 se le añadió una alícuota (138 μ L, 0,467 mg), de solución madre de TCEP recientemente preparada (3,38 mg/mL en regulador de Et₃NHOAc). La mezcla se incubó 1 h a 37°C. La mezcla de reacción se enfrió a

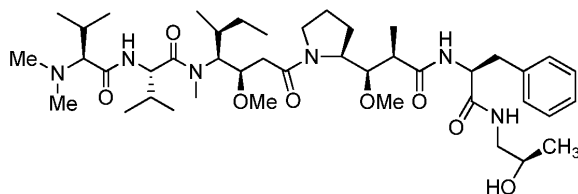
temperatura ambiente y luego se purificó en una columna PD10 que se equilibró previamente con regulador Et₃NHOAc. Se añadió una solución de PHF-GA- (HPV-Alanina)-SSPy de 30 kDa (600 µL de solución madre de 6,2 mg de equivalentes de HPV/mL, 3,72 mg de equivalentes de HPV) en NaCl al 1% y se mezcló la solución a temperatura ambiente varias horas. El conjugado resultante se purificó primero por centrifugación en una membrana MWCO de 10 kDa y opcionalmente se purificó mediante filtración en gel. El peso molecular del conjugado PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-Fab) determinado por SEC fue de aproximadamente 108 kDa con polisacáridos como patrones de peso molecular. El contenido de HPV determinado por HPLC mostró una relación molar promedio de HPV con respecto a trastuzumab-Fab de aproximadamente 5:1 a 8:1. Para el PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-Fab) de 30 kDa utilizado en la Figura 5, la relación de HPV con respecto a trastuzumab-Fab fue de aproximadamente 10:1 a 14:1.

10 Ejemplo 61. Síntesis de (S) 2-hidroxipropilamida-auristatina F



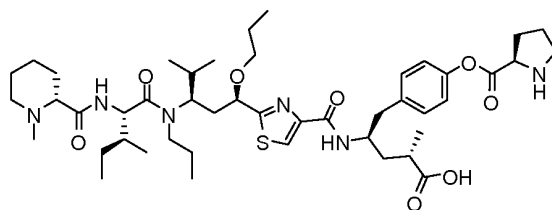
A una solución enfriada con hielo de auristatina F (50 mg, 0,067 mmol) en DMF (4 mL) se le añadió HATU (51,0 mg, 0,134 mmol) y la mezcla resultante se agitó en frío durante 20 minutos. A esta mezcla se le añadió (S)-1-aminopropan-2-ol (10,07 mg, 0,134 mmol) seguido por DIEA (0,035 mL, 0,201 mmol) y se agitó la mezcla en frío durante 1 h y luego durante la noche a temperatura ambiente. La purificación mediante HPLC preparativa seguida de liofilización produjo el compuesto del título como un sólido amorfo blanco como la sal de TFA (47 mg, rendimiento del 76%). M/z = 803,4.

Ejemplo 62. Síntesis de (R) 2-hidroxipropilamida-auristatina F



El compuesto del título se preparó como se describe en el Ejemplo 61 excepto que se usó (R)-1-aminopropan-2-ol (10,07 mg, 0,134 mmol) en lugar de (S)-1-aminopropan-2-ol (49 mg, 80% de rendimiento). M/z = 803,4.

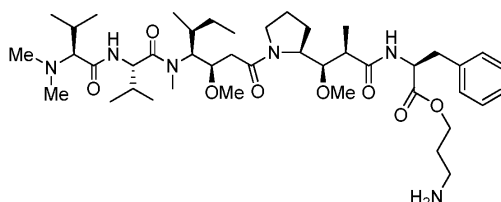
Ejemplo 63. Síntesis del éster de prolina XMT-A4



A una solución enfriada con hielo de ácido (S)-1-(terc-butoxicarbonil) pirrolidina-2-carboxílico (2,79 mg, 0,013 mmol) en DMF (250 µL) se le añadió DIC (2,018 µL, 0,013 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 15 minutos y después se añadió a una solución de XMT-A4 (5 mg, 6,48 µmol) y DMAP (2,374 mg, 0,019 mmol) en DMF (250 µL). La mezcla de reacción se agitó en frío y luego a temperatura ambiente. Después de 4 h se añadió otra alícuota del ácido (S)-1-(terc-butoxicarbonil) pirrolidina-2-carboxílico (2,79 mg, 0,013 mmol) DIC (2,018 µL, 0,013 mmol) en 100 µL de DMF y se agitó en forma continua durante la noche a temperatura ambiente. El producto crudo se purificó por HPLC seguido por liofilización para producir el XMT-A4 protegido con Boc como un sólido amorfo blanco (4,4 mg, 63% de rendimiento). M/z = 969,4.

A una solución enfriada con hielo del compuesto XMT-A4 protegido con Boc con ácido 2,2,2-trifluoroacético (1:1) (4,4 mg, 4,06 µmol) en DCM (300 µL) se le añadió TFA (31,3 µL, 0,406 mmol) y la mezcla resultante se agitó en frío durante 1 h seguido de agitación a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró, se disolvió en acetonitrilo y se liofilizó para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco (2,3 mg, 58% de rendimiento). M/z = 869,4.

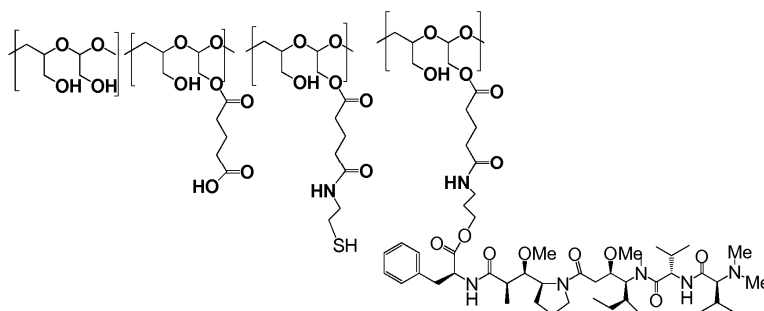
Ejemplo 64. Síntesis de auristatina F-hidroxiopropilamida



A una solución de auristatina F (100 mg, 0,134 mmol) en DCM (5 mL) enfriada en un baño de hielo/sal se le añadió DIC (0,052 mL, 0,335 mmol), 3-hidroxiopropilcarbamato de terc-butilo (117 mg, 0,670 mmol) y DMAP (82 mg, 0,670 mmol) y la mezcla resultante se agitó en frío durante 2 h y luego durante toda la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se purificó por HPLC seguido por liofilización para producir el compuesto del título protegido con carbamato de terc-butilo como un sólido amorfo blanco (121 mg, 89% de rendimiento). $M/z = 903,5$.

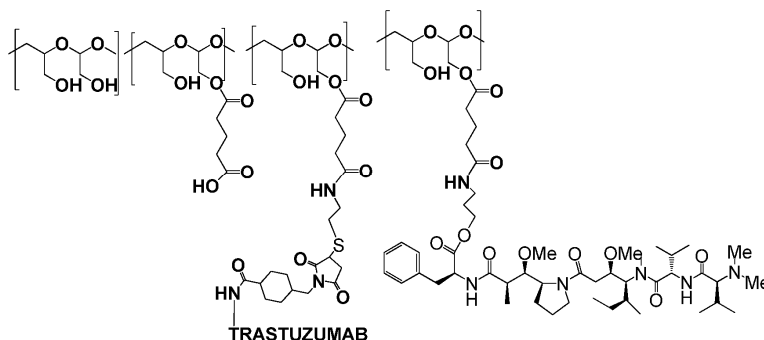
A una solución enfriada con hielo del compuesto del título 2,2,2-trifluoroacetato protegido con carbamato de terc-butilo (121 mg, 0,119 mmol) en DCM (4 mL) se le añadió TFA (500 μ L, 6,49 mmol) y la mezcla resultante se agitó en frío durante 1 h y después a temperatura ambiente durante 1 h. Después de la eliminación del exceso de TFA, el compuesto del título se aisló por precipitación en éter etílico como un sólido amorfo blanco (109 mg, 93% de rendimiento). $M/z = 803,4$.

Ejemplo 65. Síntesis de PHF-GA-SH-(Auristatina F-hidroxiopropilamida) de 10K



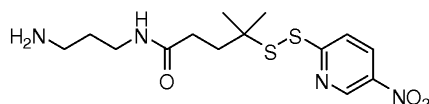
El compuesto del título se preparó como se describe en el Ejemplo 51 excepto que se utilizó auristatina F-hidroxiopropil amida (Ejemplo 64) en lugar de auristatina F-hidroxiopropilamida-L-alanina (Ejemplo 50).

Ejemplo 66. Síntesis de PHF-GA-SH-(Auristatina F-hidroxiopropilamida)-(Trastuzumab-MCC) de 10K



El compuesto del título se preparó como se describe en el Ejemplo 52, excepto que se usó PHF-GA-SH-(Auristatina F hidroxiopropilamida) de 10 K (Ejemplo 66). El contenido de auristatina F determinado por LC-MS mostró una relación molar promedio de auristatina F con respecto al anticuerpo de aproximadamente 21:1 a 25:1

Ejemplo 67. Síntesis de N-3(aminopropil)-4-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)disulfanil)pentanamida

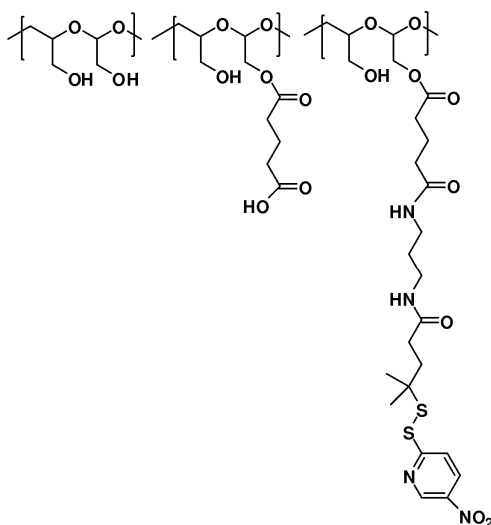


5

Se añadió N-etil-N-isopropilpropan-2-amina (0,437 mL, 2,50 mmol) y 1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-ol (846 mg, 6,26 mmol) a 3-aminopropilcarbamato de terc-butilo (0,437 mL, 2,50 mmol) en DMF (1 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a 25°C y se añadió 2,5-dioxipirrolidin-1-il-4-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)disulfanil)pentanoato (500 mg, 1,25 mmol) en DMF (1 mL). La mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 18 horas. La purificación por HPLC proporcionó el compuesto del título como su carbamato de terc-butilo (476,7 mg, 1,04 mmol, 83%) en forma de un sólido beige: m/z 459 [M + H]⁺.

10

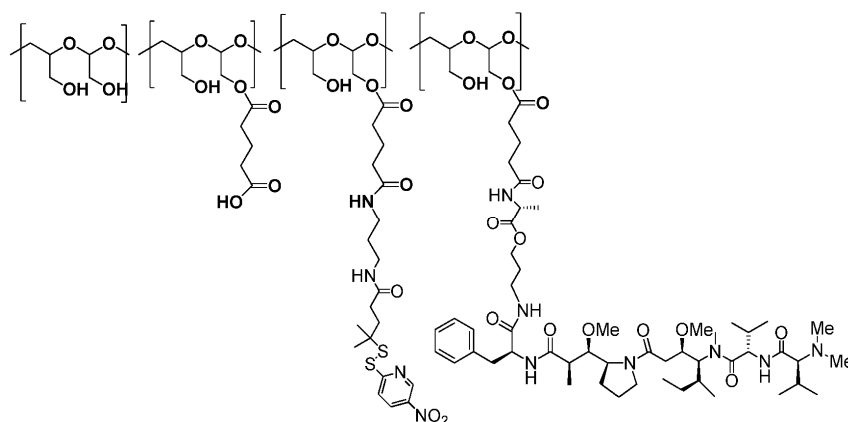
Ejemplo 68. PHF-GA (25%)-SS-Dimetil-NO₂ de 10 K (5%):



15

Se diluyó PHF-GA de 10 kDa (2,37 g, 14,5 mmol, preparado usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 2 con PHF 10.000 Da, 25% de GA) hasta 100 mL con agua y se añadió NHS (0,133 g, 1,16 mmol). La mezcla se enfrió a 0°C, se ajustó el pH a 5,5 - 6,0 y después se añadieron N-3(aminopropil)-4-metil-4-((5-nitropiridin-2-il)disulfanil)pentanamida (547,0 mg, 1,16 mmol, Ejemplo 67) en CH₃CN (4 mL) y DMF (0,5 mL) seguido de EDC (0,222 g, 1,16 mmol). El pH de la mezcla de reacción se ajustó de nuevo a 5,5 - 6,0 y se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. Se añadió EDC adicional (0,150 mg, 0,782 mmol) y la mezcla se agitó durante 1,5 horas adicionales. La muestra se purificó mediante diálisis a través de una membrana de celulosa regenerada para producir el compuesto del título (2,05 g).

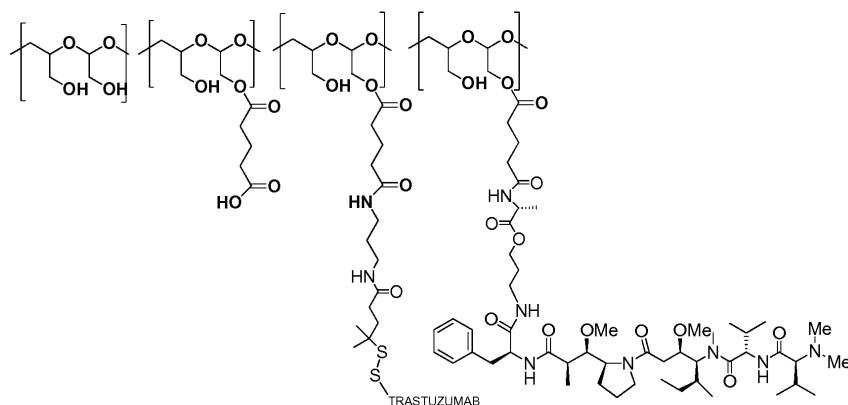
Ejemplo 69. PHF-GA-SS-Dimetil-NO₂-(Auristatina F-hidroxipropilamida-L-alanina) de 10 K



20

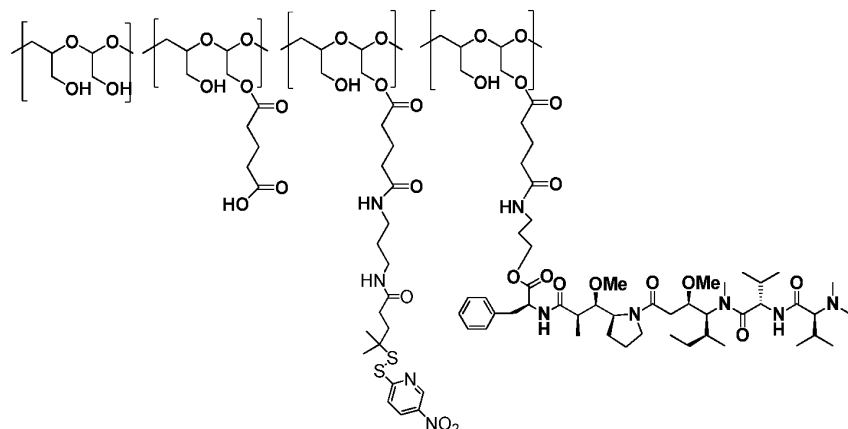
El compuesto del título se preparó como se describe en el Ejemplo 51, excepto que se usó PHT-GA (25%)-SS-Dimetil-NO₂ (5%) de 10 K (Ejemplo 68) en lugar de PHF-GA-SS-Pyr de 10K (Ejemplo 5) y no se añadió (2S,3S)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol (90 mg, 0,583 mmol).

Ejemplo 70. PHF-GA-SS-Dimetil-NO₂-(Auristatina F-hidroxipropilamida-L-alanina)-(S-S-Trastuzumab) de 10 K



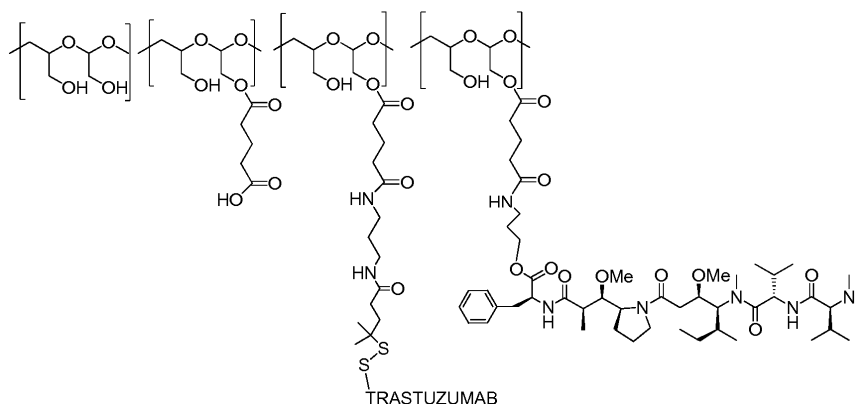
El compuesto del título se preparó a partir de PHF-GA-SS-Dimetil-NO₂-(Auristatina F-hidroxipropilamida-L-alanina) de 10 K (Ejemplo 69) usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 60 excepto que se utilizó Trastuzumab reducido en lugar de Trastuzumab-Fab. El contenido de auristatina F determinado por LC-MS mostró una relación molar promedio de auristatina F con respecto al anticuerpo de aproximadamente 9:1 a 13:1

Ejemplo 71. PHF-GA-SS-Dimetil-NO₂-(Auristatina F-hidroxipropilamida) de 10 K



El compuesto del título se preparó como se describe en el Ejemplo 69, excepto que se usaron PHF-GA-SS-Dimetil-NO₂ de 10 K (Ejemplo 68) y Auristatina F-hidroxipropilamida.

Ejemplo 72. PHF-GA-SS-Dimetil-NO₂-(Auristatina F-hidroxipropilamida)-(S-S-trastuzumab) de 10 K



El compuesto del título se preparó usando el procedimiento descrito en el Ejemplo 70 excepto que se utilizó PHF-GA-SS-Dimetil-NO₂-(Auristatina F-hidroxipropilamida) de 10 K (Ejemplo 71). El contenido de auristatina F determinado por LC-MS mostró una relación molar promedio de auristatina F con respecto al anticuerpo de aproximadamente 11:1 a 15:1

Ejemplo 73. Ensayo de viabilidad celular para conjugados de PBRM-fármaco-polímero

Se evaluaron los conjugados de PBRM-fármaco-polímero para determinar su viabilidad tumoral usando Cell Titer-Glo (Promega Corp.). Las células se sembraron en placas de 96 pozos de paredes negras y se dejaron adherir durante la noche a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5%. Las células que expresan HER2, SKBR3, BT474, NCI-N87 y células que expresan niveles bajos de HER2-MCF7 se sembraron en placas a una densidad de 5.000 células por pozo. Al día siguiente se reemplazó el medio con 50 µL de medio fresco y se añadieron 50 µL de soluciones madre 2x de conjugado de PBRM-fármaco-polímero, conjugado de fármaco-polímero o fármaco a los pozos apropiados, se mezcló e incubó durante 72 h. El reactivo Cell Titer-Glo se añadió a los pozos a temperatura ambiente y la señal luminiscente se midió después de 10 min usando un lector de placas SpectraMax M5 (Molecular Devices). Las curvas de respuesta a la dosis se generaron utilizando el software SoftMax Pro. Los valores de IC₅₀ se determinaron a partir del ajuste de la curva con cuatro parámetros.

Las líneas celulares Raji y Ramos que expresan CD20 se sembraron y analizaron usando el mismo procedimiento descrito anteriormente para células que expresan HER2.

Las Tablas I a VII son resultados ilustrativos de las propiedades antiproliferación del conjugado de PBRM-fármaco-polímero ya sea en células que expresan HER2 (Tablas I a IV, VI y VII) o en células que expresan CD20 (Tabla V).

La Tabla I enumera los resultados para el conjugado de PBRM-fármaco-polímero (PHV-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC), Ejemplo 7, (HPV:trastuzumab aproximadamente 14:1 a 17:1) y PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂), Ejemplo 8, (HPV:trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1), conjugado de fármaco-polímero (PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH, Ejemplo 6, y fármaco solo (HPV).

Tabla I

	IC ₅₀ de SKBR3 (nmol/L)	IC ₅₀ de BT474 (nmol/L)	IC ₅₀ de MCF7 (nmol/L)
Ejemplo 6	9,58	11,90	131
Ejemplo 7	1,43	1,5	912
Ejemplo 8	1,54	1,55	31,6
HPV	0,52	0,61	8,26

Los resultados en la Tabla I muestran que, para las líneas celulares SKBR3 y BT474 que expresan HER2, los conjugados de PBRM-fármaco-polímero (Ejemplos 7 y 8) exhibieron una actividad antiproliferativa mejorada con respecto al conjugado de fármaco-polímero (Ejemplo 6) y fármaco solo (HPV). En estas líneas celulares, el conjugado de fármaco-polímero (Ejemplo 6) es menos potente que el fármaco solo (HPV).

La Tabla II enumera los resultados para (S)-2HPV (Ejemplo 22) y (R)-2HPV (Ejemplo 23).

Tabla II

	IC ₅₀ de SKBR3 (nmol/L)	IC ₅₀ de BT474 (nmol/L)	IC ₅₀ de MCF7 (nmol/L)
Ejemplo 22	0,76	0,41	1,83
Ejemplo 23	0,71	0,39	1,71

Los resultados en la Tabla II muestran que, para las líneas celulares SKBR3 y BT474 que expresan HER2, los derivados de la Vinca (Ejemplos 22 y 23) exhibieron una actividad antiproliferativa similar.

La Tabla III enumera los resultados para el conjugado PBRM-fármaco-polímero (PHF-GA-SSPyr-(HPV-Alanina)), Ejemplo 59) y para el conjugado de fármaco-polímero (PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-Fab)), Ejemplo 60, HPV: trastuzumab-Fab de aproximadamente 6:1 a 8:1).

Tabla III

	IC ₅₀ de SKBR3 (nmol/L)	IC ₅₀ de BT474 (nmol/L)	IC ₅₀ de N87 (nmol/L)	IC ₅₀ de MCF7 (nmol/L)
Ejemplo 59	17,35	7,35	35,85	31,60
Ejemplo 60	1,2	0,4	7,0	28,7

Los resultados de la Tabla III muestran que, para las líneas celulares SKBR3, BT474 y N87 que expresan HER2, el conjugado de PBRM-fármaco-polímero (Ejemplo 60) mostró una actividad antiproliferativa mayor comparativamente con el conjugado de fármaco-polímero (Ejemplo 59).

La Tabla IV muestra los resultados para el conjugado PBRM-fármaco-polímero (PHV-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC)), Ejemplo 7 (HPV:trastuzumab aproximadamente 19:1 a 22:1) y PHF-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂), Ejemplo 8, HPV:trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) y conjugado de fármaco-polímero (PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH, Ejemplo 6).

Tabla IV

	IC ₅₀ de SKBR3 (nmol/L)	IC ₅₀ de BT474 (nmol/L)	IC ₅₀ de N87 (nmol/L)	IC ₅₀ de MCF7 (nmol/L)
Ejemplo 6	19	10	43	54
Ejemplo 7	1,3	0,8	8,0	69,3
Ejemplo 8	2,17	1,44	4,44	30,75

Los resultados en la Tabla IV muestran que, para las líneas celulares SKBR3, BT474 y N87 que expresan HER2, ambos conjugados de PBRM-fármaco-polímero (Ejemplo 7 y Ejemplo 8) exhibieron una actividad antiproliferativa mayor comparativamente con el conjugado de fármaco-polímero (Ejemplo 6).

La Tabla V enumera los resultados para el conjugado PBRM-fármaco-polímero (PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Rituximab-MCC), (Ejemplo 54, HPV:Rituximab aproximadamente 12 a 15:1) (PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH, Ejemplo 6) para líneas celulares Raji y Ramos que expresan CD20.

Tabla V

	IC ₅₀ de Raji (nmol/L)	IC ₅₀ de Ramos (nmol/L)
Ejemplo 54	17,57	1,54
Ejemplo 6	48,20	11,60

Los resultados en la Tabla V muestran que, para las líneas celulares Raji y Ramos que expresan CD20, el conjugado de PBRM-fármaco-polímero (Ejemplo 54) mostró una actividad antiproliferativa mayor comparativamente con conjugados

de fármaco-polímero (Ejemplo 6).

La Tabla VI enumera los resultados para los conjugados de PBRM-fármaco PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (aproximadamente 5:1) (Ejemplo 55); PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (aproximadamente 10:1) (Ejemplo 56); y PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (aproximadamente 20:1) (Ejemplo 57);

Tabla VI

	Relación Fármaco/Anticuerpo	IC ₅₀ de SKBR3 (µg/mL)	IC ₅₀ de BT474 (µg/mL)
Ejemplo 57	20:1	0,0079	0,0037
Ejemplo 56	10:1	0,0121	0,0083
Ejemplo 55	5:1	0,0492	0,0302

Los resultados en la Tabla VI muestran que, para las líneas celulares SKBR3 y BT474 que expresan HER2, el efecto antiproliferación depende de la carga del fármaco. Los conjugados de PBRM-fármaco-polímero con carga de fármaco más alta (Ejemplo 57) exhibieron una actividad antiproliferativa mayor comparativamente con conjugados con menor carga de fármaco (Ejemplo 56 y Ejemplo 55).

La Tabla VII enumera los resultados para los conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(Auristatina F-hidroxiopropilamida-L-alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 52, Auristatina F:trastuzumab aproximadamente 20:1 a 22:1); conjugado de fármaco-polímero PHF-GA-SH-(Auristatina F-propilamida-L-alanina) (Ejemplo 51) y Auristatina F-hidroxiopropilamida (Ejemplo 48)

Tabla VII

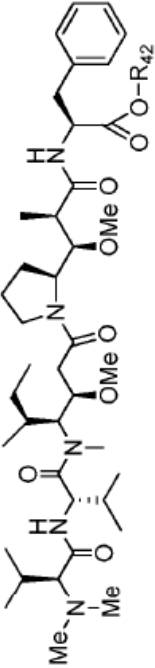
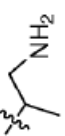


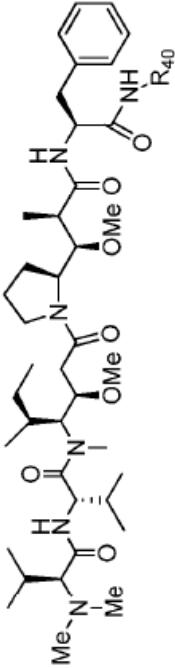


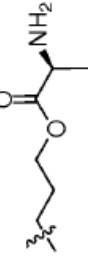
	IC ₅₀ de SKBR3 (nmol/L)	IC ₅₀ de BT474 (nmol/L)	IC ₅₀ de N87 (nmol/L)	IC ₅₀ de MCF7 (nmol/L)
Ejemplo 52	2,8	2,9	11,2	120,5
Ejemplo 51	46	56	128	369
Ejemplo 48	0,6	1,0	1,6	2,5

Los resultados en la Tabla VII muestran que para las líneas celulares SKBR3, BT474 y N87 que expresan HER2, los conjugados de PBRM-fármaco-polímero (Ejemplo 52) y fármaco solo (Ejemplo 48) exhibieron una actividad antiproliferativa mayor comparado con el conjugado de fármaco-polímero (Ejemplo 51). El conjugado de PBRM-fármaco-polímero retiene la potencia del fármaco solo.



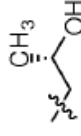
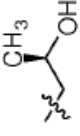
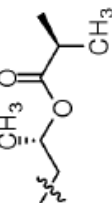
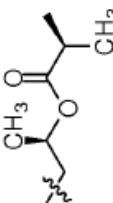
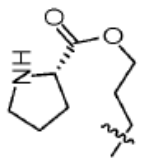
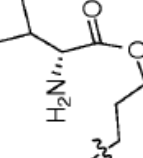
Ejemplo 74. Ensayo de viabilidad celular para compuestos de fármaco

Los compuestos de fármaco se evaluaron en cuanto a su viabilidad tumoral utilizando Cell Titer-Glo (Promega Corp.) como se describe en el Ejemplo 73. La Tabla VIII son resultados ilustrativos de las propiedades antiproliferativas de los compuestos de fármaco en células que expresan HER2 ("ND" = no determinado).

Tabla VIII

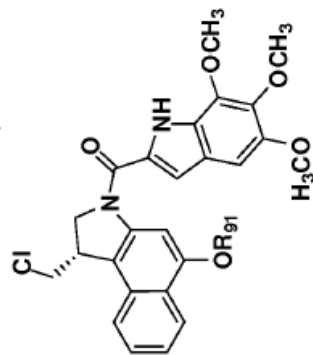
						
R ₄₂	SKBR3 IC ₅₀ (nmol/L)	BT474 IC ₅₀ (nmol/L)	MCF7 IC ₅₀ (nmol/L)	N87 IC ₅₀ (nmol/L)	HCT15 IC ₅₀ (nmol/L)	
-H	103	160	619	ND	ND	ND
-CH ₃	0,05	0,09	0,27	0,03	0,41	
	0,72	1,07	3,29	ND	ND	ND
	0,73	1,17	3,28	0,89	ND	ND
	2,04	2,84	11,5	3,72	ND	ND
						
R ₄₀	SKBR3 IC ₅₀ (nmol/L)	BT474 IC ₅₀ (nmol/L)	MCF7 IC ₅₀ (nmol/L)	N87 IC ₅₀ (nmol/L)	HCT15 IC ₅₀ (nmol/L)	
H	0,32	0,67	1,78	ND	ND	ND
	0,60	1,00	2,50	1,60	36,32	
	1,11	1,74	4,92	ND	ND	ND
	1,40	1,66	6,77	2,47	ND	ND

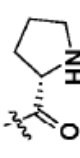
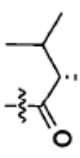
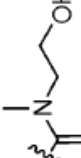
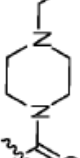
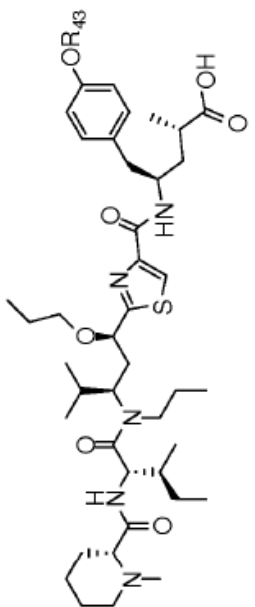
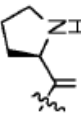
(continuación)

R ₄₀	SKBR3 IC ₅₀ (nmol/L)	BT474 IC ₅₀ (nmol/L)	MCF7 IC ₅₀ (nmol/L)	N87 IC ₅₀ (nmol/L)	HCT15 IC ₅₀ (nmol/L)
	0,73	1,17	3,28	0,89	ND
	2,04	2,84	11,5	3,72	ND
-OH	12,0	20,6	39	ND	ND
	0,44	1,27	1,88	0,69	31,8
	0,5	1,5	2,06	0,78	32,42
	0,67	2,04	2,53	1,08	46,06
	0,75	2,33	3,02	1,22	101,2
	0,88	3,5	3,3	1,51	85,7
	0,63	ND	3,85	1,64	42,2

(continuación)

R ₄₀	SKBR3 IC ₅₀ (nmol/L)	BT474 IC ₅₀ (nmol/L)	MCF7 IC ₅₀ (nmol/L)	N87 IC ₅₀ (nmol/L)	HCT15 IC ₅₀ (nmol/L)
R ₉₀	SKBR3 IC ₅₀ (nmol/L)	BT474 IC ₅₀ (nmol/L)	MCF7 IC ₅₀ (nmol/L)	N87 IC ₅₀ (nmol/L)	HCT15 IC ₅₀ (nmol/L)
-H	0,14	0,14	0,41	0,24	10,11
	2,79	1,81	6,60	4,50	35,5
	0,25	0,21	0,83	0,41	13,8
R ₉₁	SKBR3 IC ₅₀ (nmol/L)	BT474 IC ₅₀ (nmol/L)	MCF7 IC ₅₀ (nmol/L)	N87 IC ₅₀ (nmol/L)	HCT15 IC ₅₀ (nmol/L)
H	1,05	3,7	0,99	0,80	1,75
	2,07	6,54	1,40	1,50	2,50



(continuación)						
R ₉₁	SKBR3 IC ₅₀ (nmol/L)	BT474 IC ₅₀ (nmol/L)	MCF7 IC ₅₀ (nmol/L)	N87 IC ₅₀ (nmol/L)	HCT15 IC ₅₀ (nmol/L)	
	1,34	4,55	0,67	0,93	1,53	
	0,95	3,47	0,79	0,96	1,44	
	21,5	68	100	30	100	
	100	100	100	77	68	
						
R ₄₃	SKBR3 IC ₅₀ (nmol/L)	BT474 IC ₅₀ (nmol/L)	MCF7 IC ₅₀ (nmol/L)	N87 IC ₅₀ (nmol/L)	HCT15 IC ₅₀ (nmol/L)	
H	0,06	0,04	0,76	0,10	0,29	
	0,13	0,15	0,44	0,19	1,91	

Ejemplo 75. Eficacia *in vivo*, estudios farmacocinéticos y de biodistribución

5

Para evaluar la eficacia y la farmacocinética del conjugado de proteína-fármaco se utilizan modelos de xenoinjerto subcutáneo y ortotópico de ratón y rata.

Los artículos de ensayo, junto con los controles apropiados, se administran por vía intravenosa (IV) mediante inyección de vena de la cola o intraperitonealmente. Para evaluar los niveles en circulación de la muestra de sangre del artículo

de ensayo, se recoge en determinados momentos mediante punción cardiaca terminal. Las muestras se mantienen a temperatura ambiente durante 30 minutos hasta coagular, luego se centrifugan durante 10 min a 1.000 x g a 4°C y se congelan inmediatamente a -80°C. Las concentraciones totales de PBRM en muestras de suero se miden usando ELISA. La concentración de fármaco en circulación (conjugada y libre) se determina mediante métodos de LC/MS/MS.

- 5 Para evaluar la eficacia del conjugado de PBRM-fármaco-polímero, el tamaño del tumor se mide usando calibradores digitales. Se calcula el volumen del tumor y se utiliza para determinar el retraso en el crecimiento del tumor.

10 Para la determinación de la biodistribución del fármaco, se recolectan tumor y órganos principales tales como, por ejemplo, hígado, riñón, bazo, pulmón, corazón, músculos y cerebro, se congelan inmediatamente en nitrógeno líquido, y se almacenan a -80°C. Los niveles de PBRM y/o fármaco se determinan en homogeneizados de tejido por métodos estándar, tales como, por ejemplo, métodos ELISA o LC/MS/MS, respectivamente.

Ejemplo 76. Respuesta del crecimiento tumoral a la administración de conjugados de PBRM-fármaco-polímero

15 Se inocularon ratones SCID hembra CB-17 en forma subcutánea con células NCI-N87 (n = 10 por cada grupo) o tumores BT474 (n = 12 o n = 10 por cada grupo). Los compuestos de ensayo o vehículo se dosificaron en forma IV como una dosis única el día 1; una vez cada semana durante 3 semanas el día 1, día 8 y día 15 respectivamente; o una vez cada semana durante 3 semanas el día 17, día 24 y día, respectivamente. La dosis del conjugado de fármaco-polímero se determinó de tal manera que se suministró la misma cantidad de fármaco que la presente en la dosis más alta del correspondiente conjugado de PBRM-fármaco-polímero administrado. El tamaño del tumor se midió en los tiempos indicados en las Figuras 1, 2, 3, 4 y 5 utilizando calibradores digitales. Se calculó el volumen del tumor y se usó para determinar el retraso en el crecimiento tumoral. Los ratones se sacrificaron cuando los tumores alcanzaron un tamaño de 1000 mm³, 800 mm³, o 700 mm³. Los volúmenes de tumores se informan como la media ± EEM para cada grupo.

25 La Figura 1 proporciona los resultados para la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con células NCI-N87 (n = 10 por cada grupo) después de la administración IV del vehículo, conjugado de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂), (Ejemplo 8, HPV:trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) a razón de 15,6 mg/kg, 5,2 mg/kg, 1,6 mg/kg y 0,5 mg/kg y conjugado de fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH (Ejemplo 6) (dosificado con una dosis de Vinca que era equivalente a la presente en el Ejemplo 8 a razón de 15,6 mg/kg) dosificado una vez a la semana durante 3 semanas el día 1, 8 y 15 respectivamente. Los resultados muestran una respuesta a la dosis para el conjugado de PBRM-fármaco-polímero (Ejemplo 8) con la dosis más alta de 15,6 mg/kg que muestra una reducción del volumen del tumor con 80% de respuestas parciales (8/10); 20% de respuestas completas (2/10) y 0% de supervivencia libre de tumor (0/10). El vehículo, el conjugado fármaco-polímero (Ejemplo 6) y el conjugado PBRM-fármaco-polímero (Ejemplo 8) con dosis de 5,2 mg/kg, 1,6 mg/kg y 0,5 mg/kg todos mostraron aumento del volumen del tumor.

35 La Figura 2 proporciona los resultados para la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con tumores BT474 (n = 12 para cada grupo) después de la administración IV del vehículo; PBRM (trastuzumab) a razón de 15 mg/kg; conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 7, HPV: trastuzumab aproximadamente 19:1 a 22:1) a razón de 7,5 mg/kg y PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Rituximab-MCC) (Ejemplo 54, HPV:Rituximab aproximadamente 12:1 a 15:1) a razón de 20 mg/kg; conjugado de fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-SH (Ejemplo 6) (dosificado con una dosis de Vinca que era equivalente a la presente en el Ejemplo 7 a razón de 15 mg/kg) en combinación con trastuzumab a razón de 15 mg/kg dosificado una vez cada semana durante 3 semanas el día 1, el día 8 y el día 15 respectivamente. Los resultados muestran una reducción del volumen del tumor para el Ejemplo 7 con 100% de respuestas completas y 100% de supervivencia libre de tumor. El vehículo, trastuzumab solo, combinación del Ejemplo 6 y trastuzumab; y el Ejemplo 54 mostraron todos un aumento del volumen del tumor. La conjugación de una PBRM específica para células HER2 (trastuzumab) con un conjugado de fármaco-polímero fue necesaria para la reducción del volumen del tumor ya que ni el conjugado de fármaco-polímero en combinación con una PBRM (Ejemplo 6 en combinación con trastuzumab) ni la conjugación de PBRM no específica de la célula HER2 (Rituximab, Ejemplo 54) mostraron una reducción en el volumen del tumor.

50 La Figura 3 proporciona los resultados para la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con tumores BT474 (n = 12 por cada grupo) después de la administración IV del vehículo; PBRM (trastuzumab) a razón de 15 mg/kg; conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(Auristatina F-hidroxipropilamida-L-alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 52, Auristatina F:Trastuzumab aproximadamente 20:1 a 22:1) a razón de 7,5 mg/kg; conjugado de fármaco-polímero PHF-GA-SH-(Auristatina F-propilamida-L-alanina) (Ejemplo 51) (dosificado con una dosis de auristatina que era equivalente a la presente en el Ejemplo 52 a razón de 15 mg/kg) en combinación con trastuzumab a razón de 15 mg/kg dosificado una vez por semana durante 3 semanas el día 1, el día 8 y el día 15 respectivamente. Los resultados muestran una reducción del volumen del tumor para el Ejemplo 52 con 100% de respuestas completas (11/11) y 100% de supervivencia libre de tumor (11/11). El vehículo, trastuzumab solo, combinación del Ejemplo 51 y trastuzumab mostraron todos un aumento del volumen del tumor. La conjugación de PBRM con el conjugado de fármaco-polímero fue necesaria para la reducción del volumen del tumor ya que ni el conjugado fármaco-polímero en combinación con una PBRM (Ejemplo 51 en combinación con trastuzumab) ni PBRM (trastuzumab) solo mostraron

reducción en el volumen del tumor.

La Figura 4 proporciona los resultados para la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con tumores BT474 (n = 10 por cada grupo) después de la administración IV de vehículo; los conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 7, HPV:trastuzumab aproximadamente 19:1 a 22:1) a razón de 3,5 mg/kg dosificados una vez por semana durante 3 semanas en el día 1, el día 8 y el día 15 respectivamente; conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 7, HPV:trastuzumab aproximadamente 19:1 a 22:1) a razón de 10 mg/kg dosificados como una dosis única el día 1; conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 7, HPV:trastuzumab aproximadamente 19:1 a 22:1) a razón de 10 mg/kg dosificados una vez por semana durante 3 semanas en el día 17, el día 24 y el día 31, respectivamente. Los resultados muestran una reducción del volumen del tumor para el Ejemplo 7 para todos los regímenes de dosificación y todas las concentraciones de dosificación ensayadas con 100% de respuestas completas (10/10) y 100% de supervivencia libre de tumor (10/10) dosificadas a razón de 3,5 mg/kg una vez por semana durante 3 semanas; con 90% de respuestas parciales (9/10); 10% de respuestas completas (1/10) y 10% de supervivencia libre de tumor (1/10) dosificadas a razón de 10 mg/kg una vez por semana durante 3 semanas en ratones con tumores grandes; y con 100% de respuestas completas (10/10) y 100% de supervivencia libre de tumor (10/10) dosificada a razón de 10 mg/kg como una dosis única. El vehículo, mostró un aumento del volumen del tumor.

La Figura 5 proporciona los resultados para la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con tumores BT474 (n = 10 por cada grupo) después de la administración IV del vehículo o PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-Fab) de 30 kDa (Ejemplo 60, HPV:trastuzumab-Fab de aproximadamente 10:1 a 14:1) a razón de 7 mg/kg dosificados una vez por semana durante 3 semanas en el día 1, el día 8 y el día 15 respectivamente. Los resultados muestran una reducción del volumen del tumor para el Ejemplo 60 con 100% de respuestas completas (10/10) y un 100% de supervivencia libre de tumor (10/10) en comparación con un aumento del volumen del tumor para el vehículo.

La Figura 8 proporciona los resultados para la respuesta del tumor en ratones inoculados en forma subcutánea con tumores BT474 (n = 10 por cada grupo) después de la administración IV de vehículo; conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(Auristatina F-hidroxipropilamida-L-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) (Ejemplo 52, Auristatina F:trastuzumab aproximadamente 24:1 a 28:1) y conjugado de fármaco-polímero PHF-GA-SS-Dimetil-NO₂-(Auristatina F-hidroxipropilamida-L-alanina)-S-S-Trastuzumab) (Ejemplo 70, Auristatina F:trastuzumab aproximadamente 9:1 a 13:1) a razón de 2 mg/kg y 4 mg/kg dosificado una vez por semana durante 3 semanas en el día 1, el día 8 y el día 15 respectivamente. Los resultados muestran reducción completa del volumen del tumor para el Ejemplo 70 con dosis de 2 mg/kg y 4 mg/kg y para el Ejemplo 52 a razón de 4 mg/kg.

En todos los experimentos *in vitro* o *in vivo* descritos en el presente documento, a menos que se especifique lo contrario, las dosis utilizadas se basaron todas en la PBRM (por ejemplo, anticuerpos de fragmentos de anticuerpo) de los conjugados de PBRM-fármaco-polímero.

Ejemplo 77. Estabilidad *in vitro* de los conjugados PBRM-fármaco-polímero

La estabilidad *in vitro* de los conjugados de PBRM-fármaco-polímero se evaluaron mediante incubación del conjugado de PBRM-fármaco-polímero en solución salina fisiológica o plasma animal a 37°C, pH 7,4. La velocidad de degradación del conjugado de PBRM-fármaco-polímero se determinó mediante el control de la cantidad de fármaco liberado en la matriz mediante análisis de LC/MS/MS después del aislamiento del fármaco liberado del conjugado de PBRM-fármaco-polímero mediante extracción líquido-líquido.

La Tabla IX enumera la semivida ($T_{1/2}$) del conjugado de PBRM-fármaco, PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) del Ejemplo 8 (HPV:trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) en plasma de ratón, plasma de rata y plasma de perro.

Tabla IX

Medio	$T_{1/2}$ (días)
PBS	6,4
Plasma de ratón	3,5
Plasma de rata	5,0
Plasma de perro	4,8

Los resultados muestran que el conjugado de PBRM-fármaco-polímero del Ejemplo 8 era estable en plasma de animales y liberó el fármaco según lo previsto.

Ejemplo 78. Estudios de unión de ligandos mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) BIAcore

5 La unión cinética del conjugado de PBRM-fármaco-polímero con un receptor inmovilizado se determinó mediante SPR de BIAcore. Las constantes de unión para la PBRM en el conjugado de PBRM-fármaco PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) Ejemplo 8 (HPV:trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) y PBRM (es decir, trastuzumab) solo se determinaron usando procedimientos BIAcore estándar.

10 Usando química estándar de acoplamiento de aminas, se inmovilizó hErbB2 en tres canales de flujo para la superficie del chip del sensor de resonancia de Plasmón superficial en tres densidades similares. Trastuzumab se unió fácilmente al hErbB2 inmovilizado demostrando así que ambos compañeros de unión estaban activos. La Tabla X proporciona los parámetros de unión k_a (constante de asociación o de afinidad) y K_D (constante de disociación) medidas a 25°C para el conjugado del Ejemplo 8 y trastuzumab usando un biosensor óptico BioRad ProteOn XPR36 equipado con un chip sensor de GLC y equilibrado con regulador de funcionamiento.

Tabla X

	k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	K_D (pM)
Trastuzumab	9,39 x 10 ⁵	1,07
Ejemplo 8	3,06 x 10 ⁵	3,27

15

Los resultados muestran que la PBRM en el conjugado de PBRM-fármaco fue reconocida por el receptor PBRM.

Ejemplo 79. PK en plasma de ratón y distribución en el tejido después de administración de conjugados de PBRM-fármaco-polímero

20 La estabilidad de PK en plasma y la distribución en el tejido del conjugado de PBRM-fármaco se determinó después de la administración del conjugado PBRM-fármaco en ratones SCID hembra CB-17 con tumores NCI-N87 (n = 3). Las concentraciones de HPV conjugado se determinaron por análisis de LC/MS/MS. La concentración del conjugado de HPV-trastuzumab se estimó a partir de los datos de HPV conjugado. La concentración total de trastuzumab se determinó mediante ELISA

25 Los ratones recibieron un bolo en forma IV de conjugado de PBRM-fármaco PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) como en el Ejemplo 8 (HPV:trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) a razón de 15 mg/kg (con base en trastuzumab).

La Figura 6 muestra la PK de plasma para el HPV conjugado y trastuzumab después de la administración de bolo en forma IV del conjugado de PBRM-fármaco PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) como en el Ejemplo 8 (HPV:trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) a razón de 15 mg/kg (con base en trastuzumab).

30 La Figura 7 muestra la cantidad de HPV que se acumuló en los diversos órganos de los ratones después de la administración del bolo en forma IV del conjugado de PBRM-fármaco PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) como en el Ejemplo 8 (HPV:trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) a razón de 15 mg/kg (con base en trastuzumab).

35 Los resultados muestran que el conjugado de PBRM-fármaco era estable en plasma y que el fármaco alcanzó al tumor. Se observó una acumulación máxima en el tumor de HPV entre 24 y 72 horas.

Ejemplo 80. PK en plasma de ratón después de la administración de conjugados de PBRM-fármaco-polímero

40 La estabilidad de PK en plasma del conjugado de PBRM-fármaco se determinó después de la administración del conjugado PBRM-fármaco en ratones SCID hembra CB-17 con tumores N87 (n = 3) o tumores BT474 (n = 3). La concentración de HPV conjugado se determinó mediante análisis de LC/MS/MS. La concentración total de trastuzumab se determinó por ELISA.

La Tabla XI proporciona la semivida ($T_{1/2}$) y el área bajo la curva (AUC) del conjugado de PBRM-fármaco, PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-M-(PEG)₁₂) Ejemplo 8 (HPV:trastuzumab aproximadamente 16:1 a 18:1) a razón de 15,6

mg/kg con base en trastuzumab en un modelo de xenoinjerto de N87 y conjugados de PBRM-fármaco-polímero PHF-GA-(HPV-Alanina)-(Trastuzumab-MCC) Ejemplo 7, (HPV:trastuzumab aproximadamente 19:1 a 22:1) a razón de 15,0 mg/kg con base en trastuzumab en el modelo de xenoinjerto de BT474.

Tabla XI

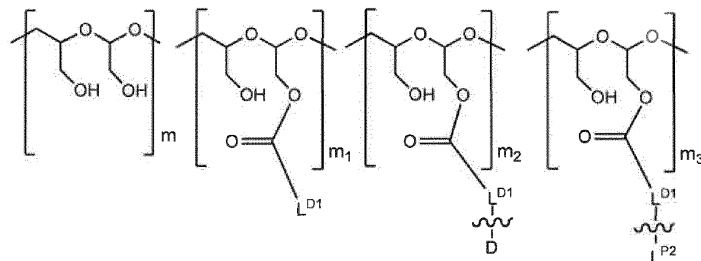
	$T_{1/2}$ (h) HPV conjugado	AUC (0 hasta α) HPV conjugado $\mu\text{g día/mL}$	AUC (0 hasta α) ADC total $\mu\text{g día/mL}$
Ejemplo 7, modelo de xenoinjerto de BT474	83 (β)	19,5	205
Ejemplo 8, modelo de xenoinjerto de N87	81 (β)	25,6	332

Los resultados muestran que el conjugado de PBRM-fármaco-polímero de los Ejemplos 7 y 8 eran estables en plasma.

Las realizaciones anteriores deben considerarse en todos los aspectos ilustrativos en lugar de limitantes de la invención descrita en la presente memoria. El alcance de la invención se indica por lo tanto mediante las reivindicaciones adjuntas más que por la descripción anterior.

Reivindicaciones

1. Una estructura polimérica de Fórmula (Ia) útil para conjugar con una molécula de reconocimiento basada en proteínas (PBRM) que tiene un peso molecular de 40 kDa o mayor:



(Ia),

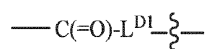
5 en donde:

la estructura comprende poli(1-hidroximetiletilen hidroximetil-formal) (PHF) que tiene un peso molecular que varía de 2 kDa a 40 kDa;

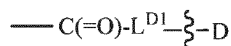
cada aparición de D es independientemente un agente terapéutico que tiene un peso molecular de ≤ 5 kDa;

L^{D1} es una fracción que contiene carbonilo;

10 en donde



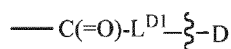
en



15 contiene un enlace biodegradable de manera que cuando el enlace se rompe, D se libera en una forma activa para el efecto terapéutico pretendido; y el

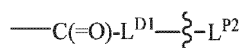


en

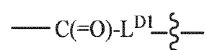


entre L^{D1} y D denota la unión directa o indirecta de D a L^{D1} ;

20 en donde



Es diferente de



en

25 $-C(=O)-L^{D1}-\xi-D$

y L^{P2} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de la PBRM, y el grupo



entre L^{D1} y L^{P2} denota la unión directa o indirecta de L^{P2} a L^{D1} ;

5 m es un número entero de 1 a 300,

m_1 es un número entero de 1 a 140,

m_2 es un número entero de 1 a 40,

m_3 es un número entero de 1 a 18, y

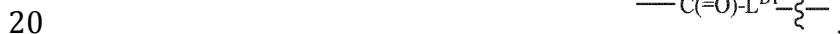
la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 oscila entre 15 y 300

10 2. La estructura de la reivindicación 1, en la que el PHF tiene un peso molecular que varía de 6 kDa a 20 kDa, preferiblemente m_2 es un número entero de 2 a 20, m_3 es un número entero de 1 a 9 y m_1 es un número entero de 1 a 75, y la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 oscila entre 45 y 150.

15 3. La estructura de la reivindicación 1, en la que el PHF tiene un peso molecular que varía de 8 kDa a 15 kDa, preferiblemente m_2 es un número entero de 2 a 15, m_3 es un número entero de 1 a 7 y m_1 es un número entero de 1 a 55, y la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 oscila entre 60 y 110.

4. La estructura de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el grupo funcional de L^{P2} se selecciona de $-SR^p$, $-SS-LG$, maleimido y halo, en donde LG es un grupo saliente y R^p es H o un grupo protector de azufre.

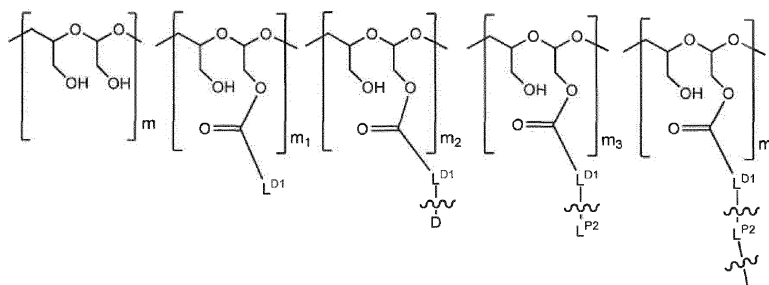
5. La estructura de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que L^{D1} comprende $-X-(CH_2)_v-C(=O)-$ con X directamente conectado al grupo carbonilo de



en la que X es CH_2 , O, o NH, y v es un número entero de 1 a 6.

6. La estructura de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que L^{P2} contiene un enlace biodegradable.

7. Una estructura polimérica que comprende una PBRM y uno o más soportes poliméricos que portan D conectados a la PBRM, siendo cada soporte polimérico de Fórmula (Ic):



25 (Ic),

en donde:

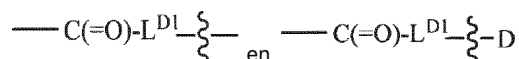
la PBRM tiene un peso molecular de 40 kDa o mayor, y preferiblemente la PBRM es un péptido, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo;

30 la estructura comprende poli(1-hidroximetil-etilen hidroximetil-formal) (PHF) que tiene un peso molecular que varía de 2 kDa a 40 kDa;

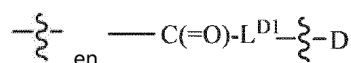
cada aparición de D es independientemente un agente terapéutico que tiene un peso molecular de ≤ 5 kDa;

L^{D1} es una fracción que contiene carbonilo;

en donde



- 5 contiene un enlace biodegradable de manera que cuando el enlace se rompe, D se libera en una forma activa para el efecto terapéutico pretendido; y el

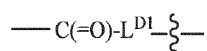


entre L^{D1} y D denota unión directa o indirecta de D a L^{D1} ;

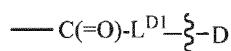
en donde



es diferente de



en



- 15 y L^{P2} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de la PBRM; y el



entre L^{D1} y L^{P2} denota la unión directa o indirecta de L^{P2} a L^{D1} ;

la terminal



unido a L^{P2} denota unión directa o indirecta de L^{P2} a la PBRM de tal manera que el soporte polimérico que porta a D está conectado a la PBRM;

m es un número entero de 1 a 300,

m_1 es un número entero de 1 a 140,

- 25 m_2 es un número entero de 1 a 40,

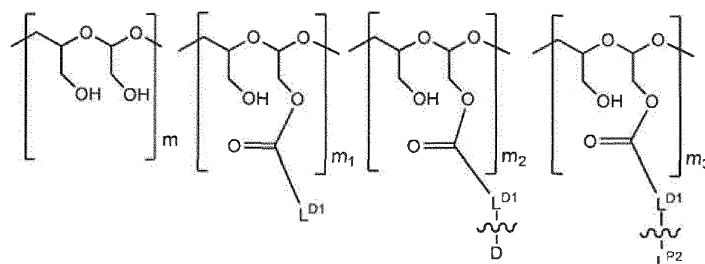
m_3 es un número entero de 0 a 18,

m_4 es un número entero de 1 a 10, y

la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 oscila entre 15 y 300;

siempre que el número total de L^{P2} conectado a la PBRM sea 10 o menos.

8. Una estructura polimérica de Fórmula (Ia) útil para conjugar con una molécula de reconocimiento basada en proteínas (PBRM) que tiene un peso molecular de 80 kDa o menos:



(Ia),

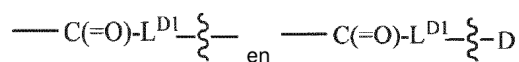
5 en donde:

la estructura comprende poli(1-hidroximetil-etilen hidroximetil-formal) (PHF) que tiene un peso molecular que varía de 20 kDa a 300 kDa;

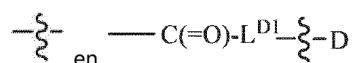
cada aparición de D es independientemente un agente terapéutico que tiene un peso molecular de ≤ 5 kDa;

LD1 es una fracción que contiene carbonilo;

10 en donde

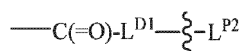


contiene un enlace biodegradable de manera que cuando el enlace se rompe, D se libera en una forma activa para el efecto terapéutico pretendido; y el

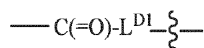


15 entre L^{D1} y D denota unión directa o indirecta de D a L^{D1} ;

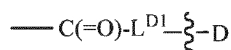
en donde



es diferente de



20 en



y L^{P2} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de la PBRM; y el



25 entre L^{D1} y L^{P2} denota unión directa o indirecta de L^{P2} a L^{D1} ;

m es un número entero de 1 a 2.200,

m_1 es un número entero de 1 a 660,

m_2 es un número entero de 3 a 300,

m_3 es un número entero de 1 a 110, y

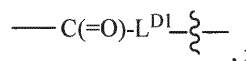
5 la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 oscila entre 150 y 2.200;

9. La estructura de la reivindicación 8, en la que el PHF tiene un peso molecular de 40 kDa a 150 kDa, m_2 es un número entero de 4 a 150, m_3 es un número entero de 1 a 75 y m_1 es un número entero de 1 a 330, la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 oscila entre aproximadamente 300 y aproximadamente 1.100.

10 La estructura de la reivindicación 8, en la que el PHF tiene un peso molecular de 50 kDa a 100 kDa, m_2 es un número entero de 5 a 100, m_3 es un número entero de 1 a 40 y m_1 es un número entero de 1 a 220, la suma de m, m_1 , m_2 y m_3 oscila entre aproximadamente 370 y aproximadamente 740.

11. La estructura de cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en la que el grupo funcional de L^{P2} se selecciona entre $-SR^p$, $-SS-LG$, maleimido y halo, en donde LG es un grupo saliente y R^p es H o un grupo protector de azufre.

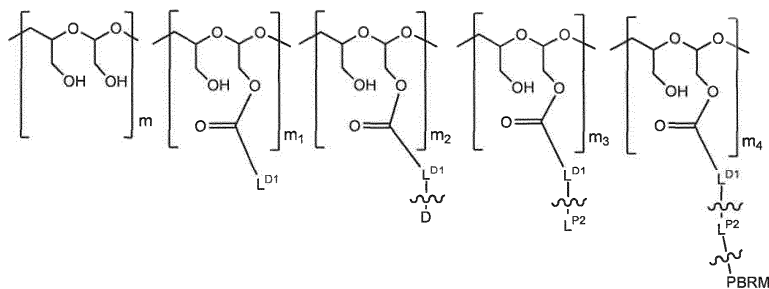
15 12. La estructura de cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en la que L^{D1} comprende $-X-(CH_2)_v-C(=O)-$ con X directamente conectado al grupo carbonilo de



en la que X es CH_2 , O, o NH, y v es un número entero de 1 a 6.

13. La estructura de cualquiera de las reivindicaciones 8-12, en la que L^{P2} contiene un enlace biodegradable.

20 14. Una estructura polimérica que comprende una PBRM y un soporte polimérico portador de D conectado a la PBRM, siendo la estructura de Fórmula (Ib):



(Ib),

en donde:

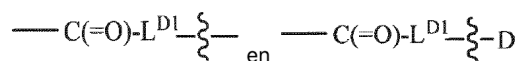
cada PBRM tiene independientemente un peso molecular de 80 kDa o menos, y preferiblemente la PBRM es un péptido, un anticuerpo, o un fragmento de anticuerpo;

25 la estructura comprende poli(1-hidroximetil-etilen hidroximetil-formal) (PHF) que tiene un peso molecular que varía de 20 kDa a 300 kDa;

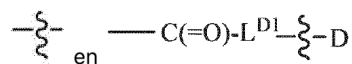
cada aparición de D es independientemente un agente terapéutico que tiene un peso molecular de ≤ 5 kDa;

L^{D1} es una fracción que contiene carbonilo;

en donde

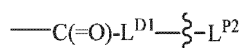


contiene un enlace biodegradable de manera que cuando el enlace se rompe, D se libera en una forma activa para el efecto terapéutico pretendido; y el

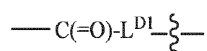


5 entre L^{D1} y D denota unión directa o indirecta de D a L^{D1} ;

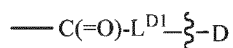
en donde



es diferente de



10 en

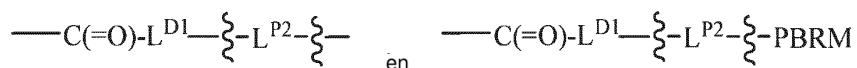


y L^{P2} es una fracción que contiene un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional de la PBRM; y el

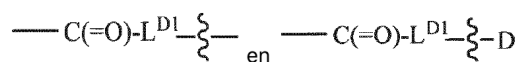


15 entre L^{D1} y L^{P2} denota unión directa o indirecta de L^{P2} a L^{D1} ;

en donde



es diferente de



20 en la que el terminal



unido a L^{P2} denota unión directa o indirecta de L^{P2} a la PBRM tras la formación de un enlace covalente entre un grupo funcional de L^{P2} y el grupo funcional de la PBRM;

m es un número entero de 1 a 2.200,

25 m_1 es un número entero de 1 a 660,

m_2 es un número entero de 3 a 300,

m_3 es un número entero de 0 a 110,

m_4 es un número entero de 1 a 60, y

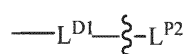
la suma de m , m_1 , m_2 y m_3 oscila entre 150 y 2,200;

15. La estructura de la reivindicación 7, en la que la suma de m , m_1 , m_2 , m_3 y m_4 oscila entre 45 y 150, preferiblemente m_1 es un entero de 1 a 75, m_2 es un número entero de 2 a 20 y m_3 es un número entero de 1 a 9, y PHF tiene un peso molecular que varía entre 6 kDa hasta aproximadamente 20 kDa.

5 16. La estructura de la reivindicación 7, en la que la suma de m , m_1 , m_2 , m_3 y m_4 oscila entre 60 y 110, preferiblemente m_1 es un entero de 1 a 55, m_2 es un número entero de 2 a 15 y m_3 es un número entero de 1 a 7, y PHF tiene un peso molecular que varía desde 8 kDa hasta aproximadamente 15 kDa.

10 17. La estructura de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en la que cada aparición de D se selecciona independientemente de alcaloides de la Vinca, Auristatinas, tubulisin, duocarmicinas, inhibidores de quinasas, inhibidores de MEK, inhibidores de KSP, pirrolobenzodiazepinas, camptotecinas no naturales, maitansinoides, fármacos que se unen al ADN y análogos de los mismos.

18. La estructura de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, 8-13 o 17, en la que



cuando no está conectado a PBRM, comprende un grupo terminal W^P , en donde cada W^P es independientemente:

15

(1)



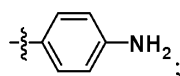
(2)



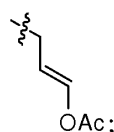
(3)



(4)



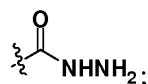
(5)



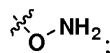
(6)



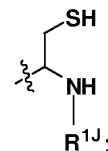
(7)



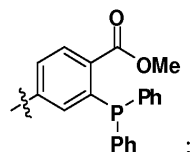
(8)



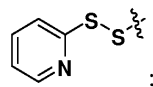
(9)



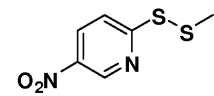
(10)



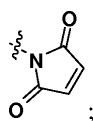
(11)



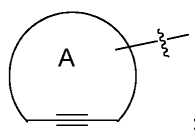
(12)



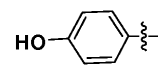
(13)



(14)



(15)

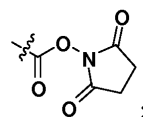


20

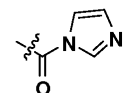
(16)



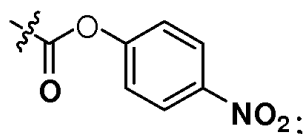
(17)



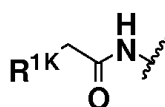
(18)



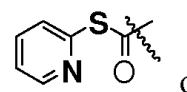
(19)



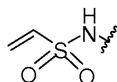
(20)



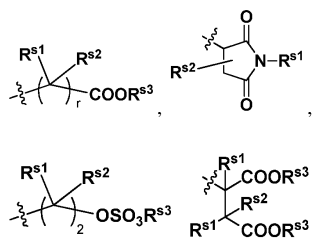
(21)



(22)

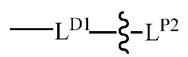


en donde R^{1K} es un grupo saliente, R^{1A} es un grupo protector de azufre y el anillo A es cicloalquilo o heterocicloalquilo, y R^{1J} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo; preferiblemente R^{1A} es

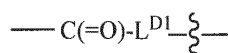


en donde r es 1 o 2 y cada uno de R^{s1} , R^{s2} y R^{s3} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo.

19. La estructura de cualquiera de las reivindicaciones 7 o 14-17, en la que



cuando se conecta a PBRM, es $-X^P-M^{P1}-Y^P-M^{P2}-Z^P-M^{P3}-Q^P-M^{P4}-$, con X^P conectado directamente al grupo carbonilo de



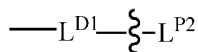
y M^{P4} conectado directamente a PBRM, en la que

X^P es $-O-$, $-S-$, $-N(R^1)-$, o ausente, en donde R^1 es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo, $-C(=O)R^{1B}$, $-C(=O)OR^{1B}$, o $-SO_2R^{1B}$, o $-N(R^1)-$ es una fracción heterocicloalquilo, en donde R^{1B} es hidrógeno, una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocicloalquilo;

cada uno de Y^P , Z^P y Q^P , independientemente, está ausente o es una fracción enlazadora biodegradable seleccionada del grupo que consiste en $-S-S-$, $-C(=O)O-$, $-C(=O)NR^2-$, $-OC(=O)-$, $-NR^2C(=O)-$, $-OC(=O)O-$, $-OC(=O)NR^2-$, $-NR^2C(=O)O-$, $-NR^2C(=O)NR^3-$, $-C(OR^2)O-$, $-C(OR^2)S-$, $-C(OR^2)NR^3-$, $-C(SR^2)O-$, $-C(SR^2)S-$, $C(SR^2)NR^3-$, $-C(NR^2R^3)O-$, $-C(NR^2R^3)S-$, $-C(NR^2R^3)NR^4-$, $-C(=O)S-$, $-SC(=O)-$, $-SC(=O)S-$, $-OC(=O)S-$, $-SC(=O)O-$, $-C(=S)S-$, $-SC(=S)-$, $-OC(=S)-$, $-C(=S)O-$, $-SC(=S)O-$, $-OC(=S)S-$, $-OC(=S)O-$, $-SC(=S)S-$, $-C(=NR^2)O-$, $-C(=NR^2)S-$, $-C(=NR^2)NR^3-$, $-OC(=NR^2)-$, $-SC(=NR^2)-$, $-NR^3C(=NR^2)-$, $-NR^2SO_2-$, $-NR^2NR^3-$, $-C(=O)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=O)-$, $-OC(=O)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=O)O-$, $-C(=S)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=S)-$, $-C(=NR^4)NR^2NR^3-$, $-NR^2NR^3C(=NR^4)-$, $-O(N=CR^3)-$, $-(CR^3=N)O-$, $-C(=O)NR^2(N=CR^3)-$, $-(CR^3=N)-NR^2C(=O)-$, $-SO_3-$, $-NR^2SO_2NR^3-$, $-SO_2NR^2-$, y poliamida, en donde cada aparición de R^2 , R^3 y R^4 es independientemente hidrógeno o una fracción alifática, heteroalifática, carbocíclica o heterocíclica, o cada aparición de $-NR^2-$ o $-NR^2NR^3-$ es una fracción heterocicloalquilo; y

cada uno de M^{P1} , M^{P2} , M^{P3} , y M^{P4} independientemente, está ausente o es una fracción enlazadora no biodegradable seleccionada del grupo que consiste en alquilo, alqueno, alquino, heteroalquilo, heteroalqueno, heteroalquino, una fracción carbocíclica, una fracción heterocíclica, y una combinación de los mismos, y cada uno de M^{P1} , M^{P2} y M^{P3} contiene opcionalmente uno o más $-C(=O)-$ pero no contiene ninguna de dichas fracciones enlazadoras biodegradables;

siempre que, para cada

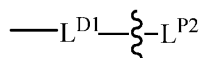


conectado a PBRM, al menos uno de X^P , Y^P , Z^P y Q^P no está ausente.

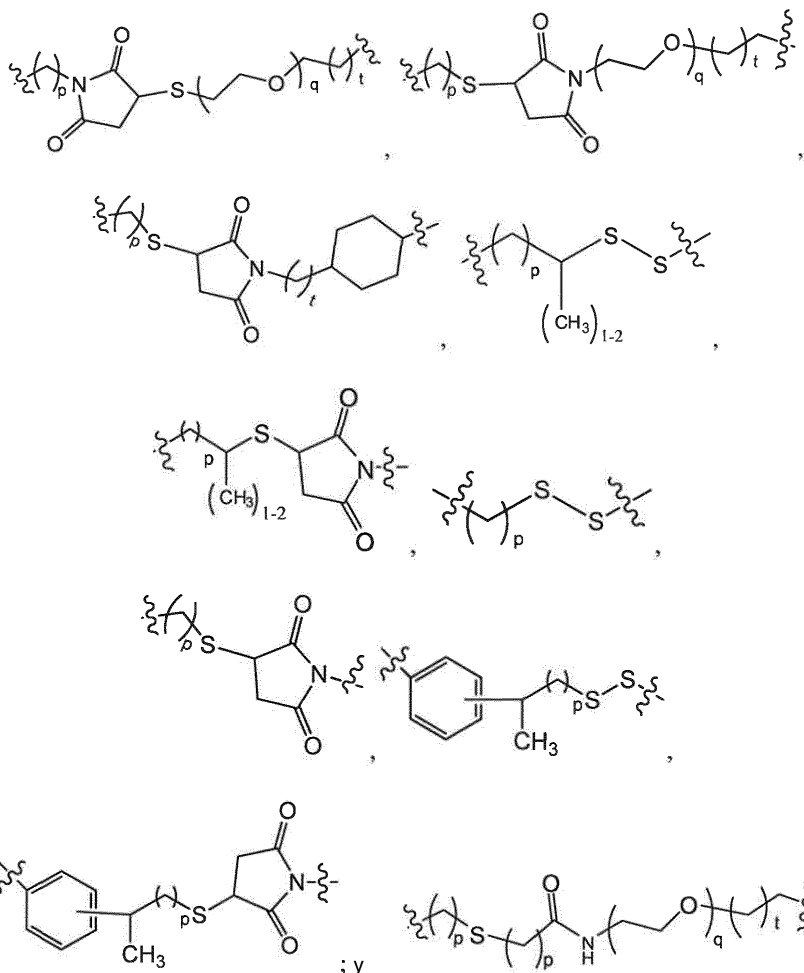
- 5 preferiblemente cada uno de M^{D1} y M^{P1} es independientemente alquilo C_{1-6} o heteroalquilo C_{1-6} , y cada uno de M^{D2} , M^{D3} , M^{D4} , M^{P2} , M^{P3} y M^{P4} , independientemente está ausente, alquilo C_{1-6} , cicloalquilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, o una combinación de los mismos;

y

más preferiblemente para cada



- 10 a lo sumo uno de M^{P2} y M^{P3} tiene una de las siguientes estructuras:

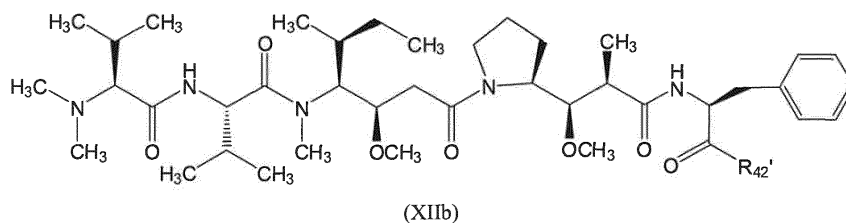


15

en la que q es un número entero de 0 a 12 y cada uno de p y t independientemente es un número entero de 0 a 3.

20. Una composición farmacéutica que comprende una estructura de cualquiera de las reivindicaciones 7 o 14-17 y un portador farmacéuticamente aceptable.

21. Un compuesto de la Fórmula (XIIb):

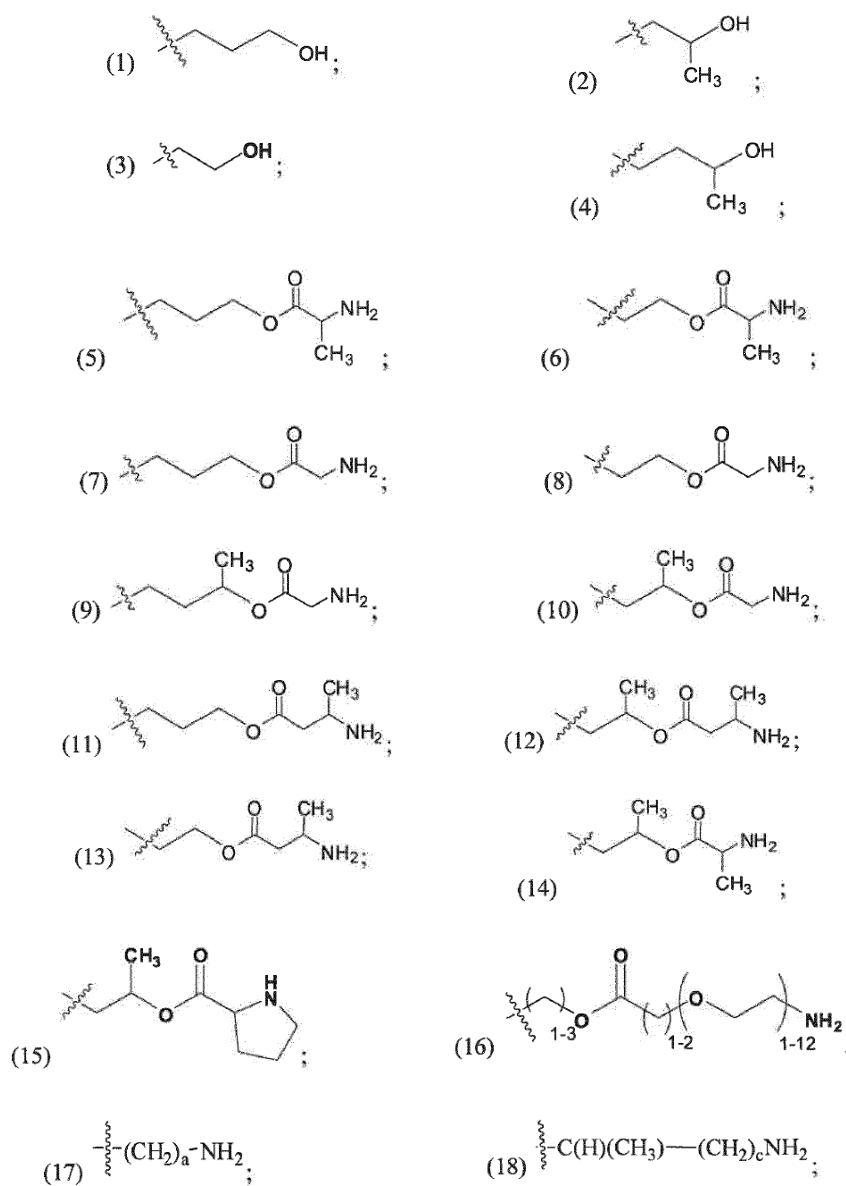


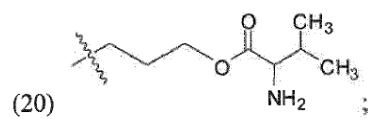
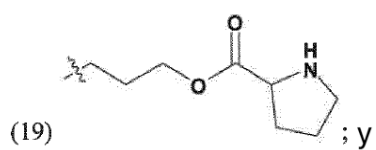
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en donde

$R_{42'}$ es $-NH-R_{40}$ o $-O-R_{42}$;

5 cada uno de R_{40} y R_{42} se selecciona independientemente del grupo que consiste en

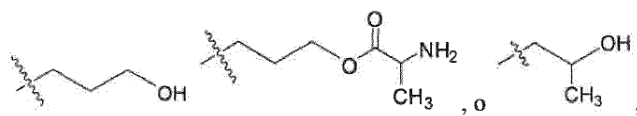




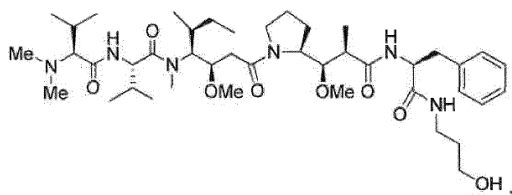
a es un número entero de 1 a 6; y

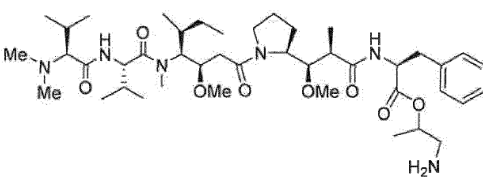
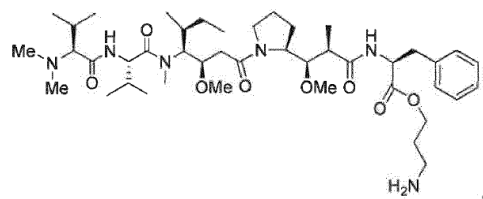
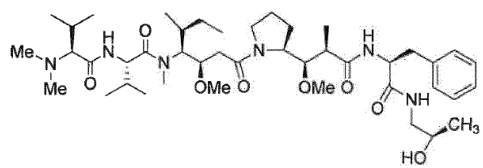
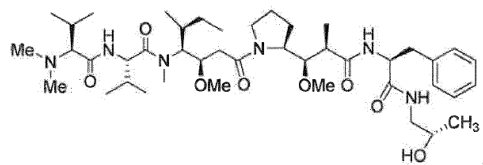
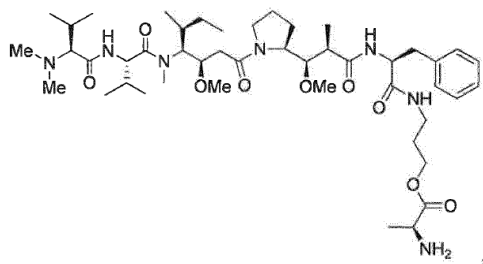
c es un número entero de 0 a 3, y

5 preferiblemente R_{40} es



y más preferiblemente el compuesto se selecciona de





y

sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

- 5

22. Una estructura de cualquiera de las reivindicaciones 7 o 13-18 para uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto que requiera del mismo, preferiblemente en donde D se administra localmente a una célula diana con la cual la PBRM es capaz de unirse, y en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer anal, astrocitoma, leucemia, linfoma, cabeza y cuello, hígado, testicular, cervical, sarcoma, hemangioma, esófago, ojo, laringe, boca, mesotelioma, piel, mieloma, oral, rectal, garganta, vejiga, mama, útero, ovario, próstata, pulmón, colon, páncreas, renal o cáncer gástrico.

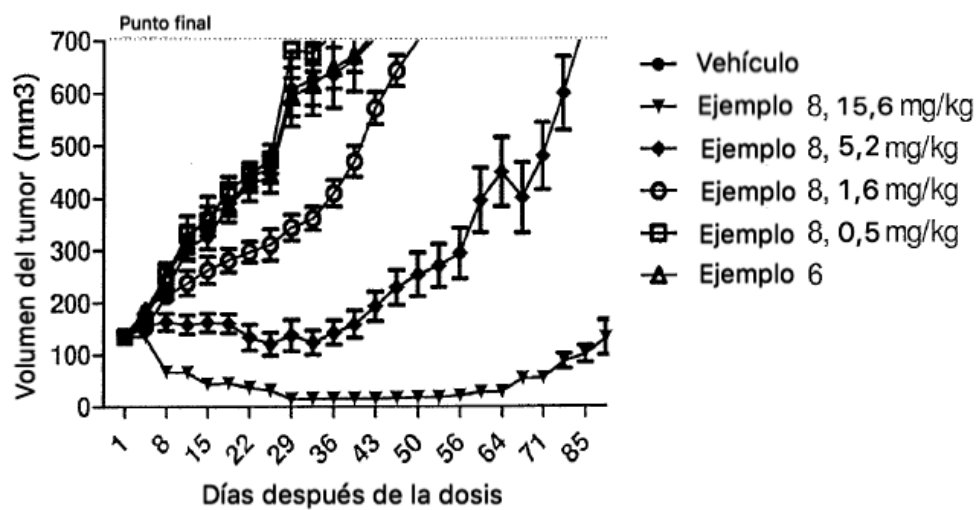


Figura 1

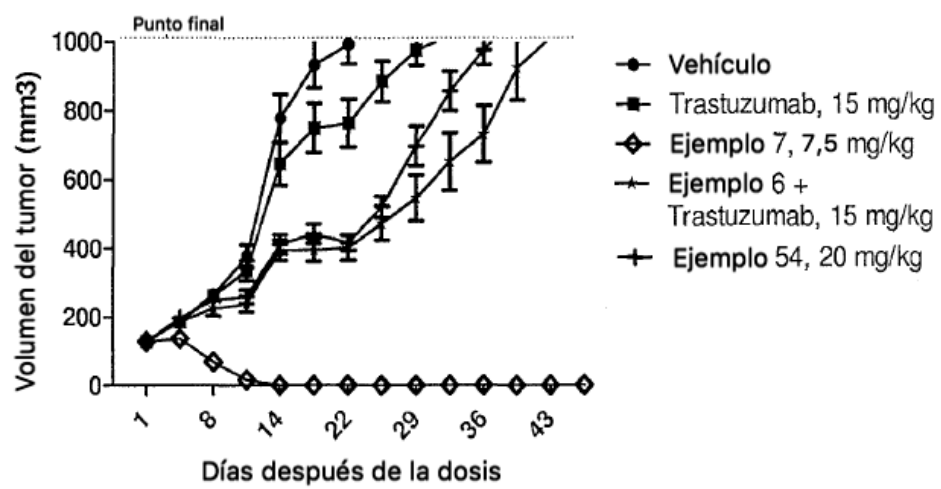


Figura 2

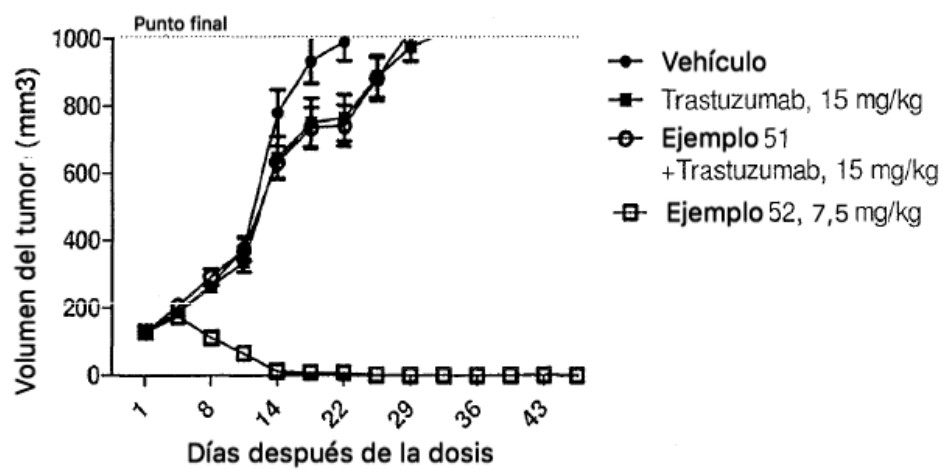


Figura 3

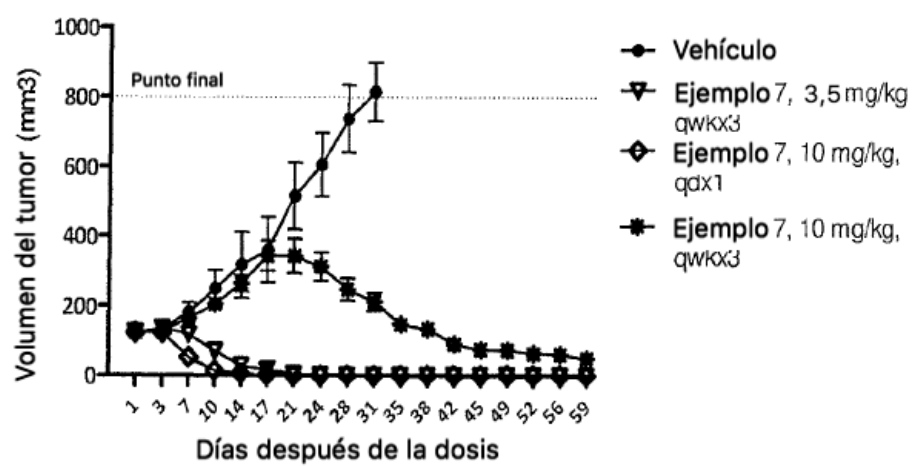


Figura 4

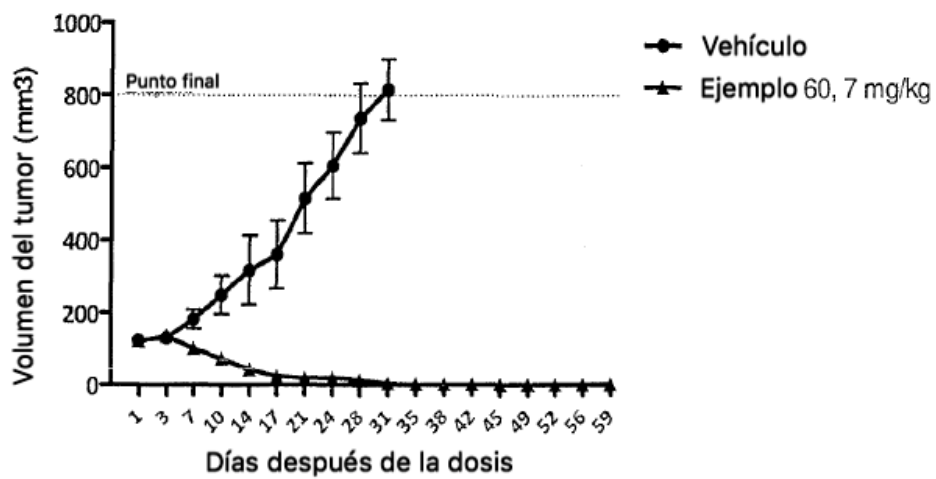


Figura 5

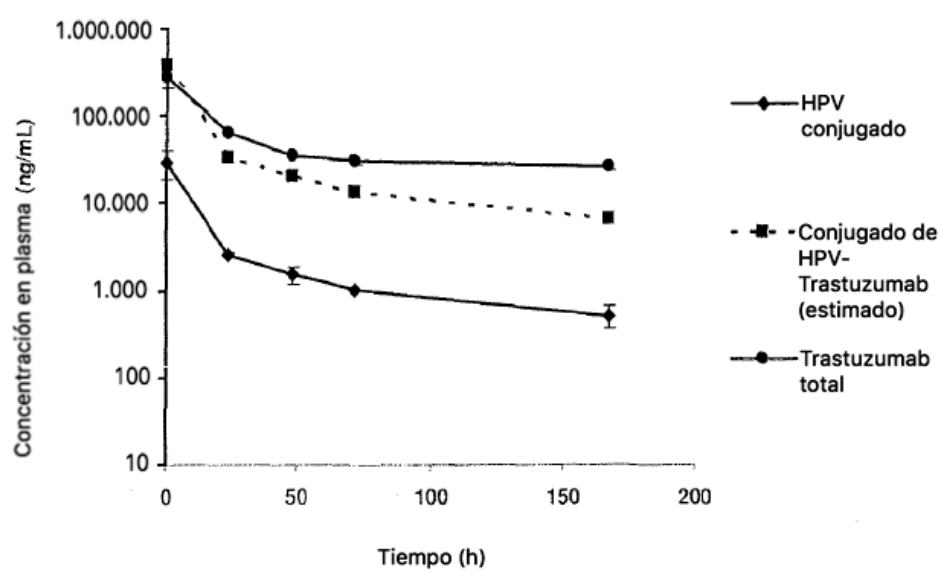


Figura 6

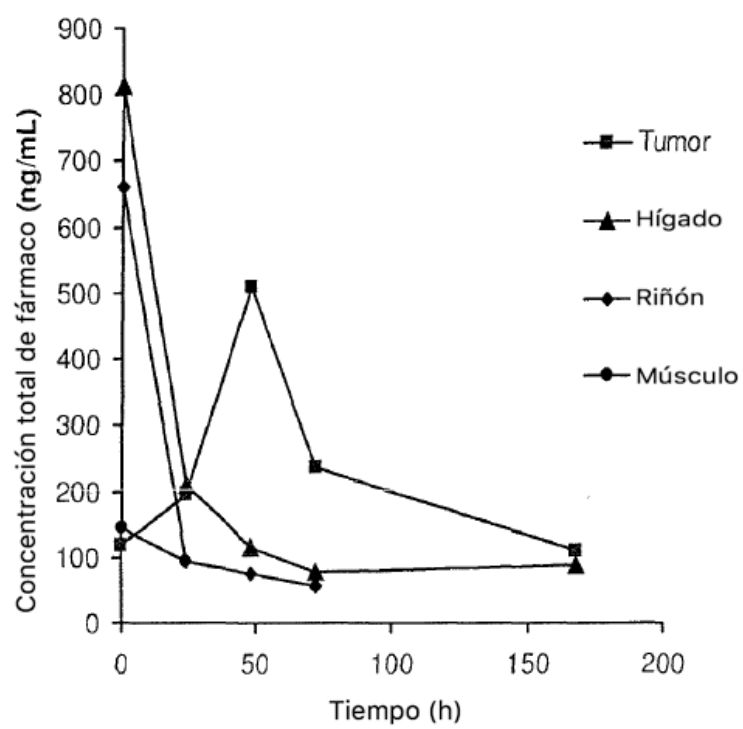


Figura 7

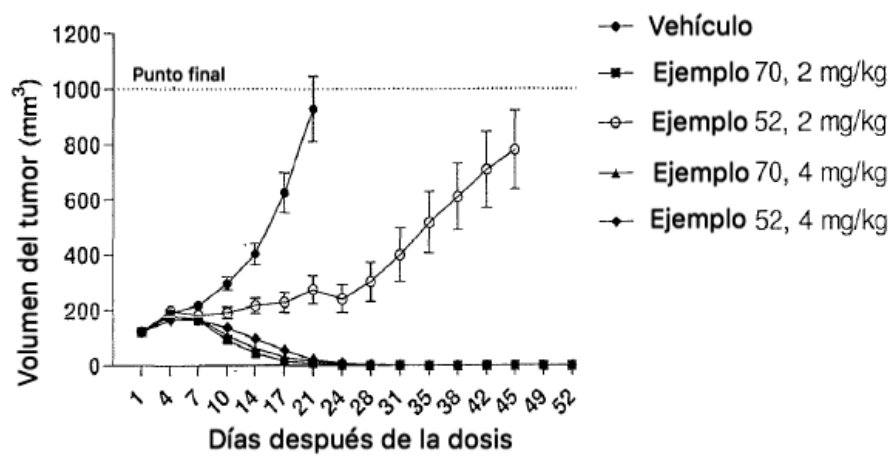


Figura 8