

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 629 696**

51 Int. Cl.:

A61K 47/58 (2007.01)
A61K 47/59 (2007.01)
A61K 47/60 (2007.01)
A61K 47/61 (2007.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C08L 71/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.09.2004 PCT/US2004/030720**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.03.0005 WO05028539**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2004 E 04784560 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.06.2017 EP 1675622**

54 Título: **Profármacos poliméricos multibrazo**

30 Prioridad:

17.09.2003 US 503673 P
30.06.2004 US 584308 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.08.2017

73 Titular/es:

NEKTAR THERAPEUTICS (100.0%)
455 Mission Bay Boulevard South Suite 100
San Francisco CA 94158, US

72 Inventor/es:

ZHAO, XUAN;
BENTLEY, MICHAEL D.;
REN, ZHONGXU y
VIEGAS, TACEY X.

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 629 696 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

Profármacos poliméricos multibrazo

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere a productos conjugados de fármacos poliméricos solubles en agua multibrazo, y en particular a profármacos basados en polímeros, y a métodos para preparar, formular y administrar composiciones que comprenden tales profármacos.

10

Antecedentes de la invención

A lo largo de los años, se han propuesto numerosos métodos para mejorar el suministro de agentes biológicamente activos. Los desafíos asociados con la formulación y suministro de agentes farmacéuticos pueden incluir una baja solubilidad acuosa del agente farmacéutico, toxicidad, baja biodisponibilidad, inestabilidad y rápida degradación in vivo, por nombrar sólo algunos. Aunque se han ideado muchos enfoques para mejorar el suministro de agentes farmacéuticos, ningún enfoque único carece de inconvenientes. Por ejemplo, los enfoques de suministro de fármacos comúnmente empleados dirigidos a resolver o al menos mejorar uno o más de estos problemas incluyen la encapsulación del fármaco, tal como en un liposoma, matriz polimérica o micela unimolecular, anclaje covalente a un polímero soluble en agua tal como polietilenglicol, el uso de agentes de direccionamiento génico, y similares.

Al observar más detenidamente algunos de estos enfoques, la encapsulación de liposomas a menudo se ve complicada por una baja eficiencia de carga de fármaco, dando como resultado un procedimiento a menudo ineficiente y poco rentable. Además, la velocidad de liberación del agente activo en una formulación liposomal depende de la disolución o disgregación del liposoma, o de la difusión del agente activo a través de las capas liposomales, limitando de este modo la disponibilidad práctica del agente activo al sistema biológico. Además, las formulaciones liposomales se limitan generalmente a fármacos solubles en lípidos. Las formulaciones a base de matriz de polímero pueden adolecer de deficiencias similares, tales como la incapacidad para caracterizar bien tales sistemas de suministro de fármacos, en particular los que están entrecruzados, y las velocidades de liberación variables asociadas a agentes activos que deben difundirse a partir de una matriz polimérica degradable hidrolíticamente. En comparación, la conjugación de un agente activo con un polímero tal como el polietilenglicol ofrece una alternativa más bien definida, puesto que el propio producto conjugado está a menudo aunque no necesariamente bien caracterizado, particularmente en el caso del anclaje específico del sitio del polímero al agente activo. Sin embargo, no son infrecuentes las composiciones basadas en proteínas que contienen mezclas de isómeros posicionales que varían tanto en el sitio o los sitios como en el número de cadenas de polímero ancladas a una proteína concreta. Esto puede conducir a problemas con la preparación reproducible de tales composiciones.

Si bien la modificación de las proteínas terapéuticas con el fin de mejorar su utilidad farmacéutica es tal vez una de las aplicaciones más comunes de la PEGilación, la PEGilación también se ha utilizado, aunque en un grado limitado, para mejorar la biodisponibilidad y la facilidad de formulación de terapias de moléculas pequeñas que tienen escasas solubilidades en agua. Por ejemplo, los polímeros solubles en agua tales como PEG se han unido covalentemente al ácido arilínico para mejorar su solubilidad en agua (Bentley, et al., Patente de Estados Unidos Núm. 6.461.603). De forma similar, el PEG se ha unido covalentemente a compuestos a base de triazina tales como trimetilamina para mejorar su solubilidad en agua y mejorar su estabilidad química (Bentley, et al., documento WO 02/043772). La anclaje covalente de PEG a bisindolil maleimidias se ha empleado para mejorar la escasa biodisponibilidad de tales compuestos debido a la baja solubilidad en agua (Bentley, et al., documento WO 03/037384). Los profármacos de camptotecina que tienen una o dos moléculas de camptotecina unidas covalentemente a un polietilenglicol lineal se han preparado de manera similar (Greenwald, et al., Patente de Estados Unidos Núm. 5.880.131).

La camptotecina (a menudo abreviada como "CPT") es un alcaloide fitotóxico aislado en primer lugar de la madera y corteza de *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae), y se ha demostrado que exhibe actividad antitumoral. El compuesto tiene un sistema anular pentacíclico con un centro asimétrico en el anillo de lactona E con una configuración 20S. El sistema anular pentacíclico incluye una pirrolo[3, 4-b]quinolina (anillos A, B y C), una piridona conjugada (anillo D) y una lactona de seis miembros (anillo E) con un grupo 20-hidroxilo. Debido a su insolubilidad en agua, la camptotecina se evaluó inicialmente clínicamente en forma de una sal carboxilato soluble en agua que tenía abierto el anillo de lactona para formar la sal sódica. La sal sódica, aunque exhibía una solubilidad en agua muy mejorada en comparación con la propia camptotecina, produjo una toxicidad severa y demostró muy poca actividad anticancerosa *in vivo*, demostrando de ese modo la inconveniencia de este enfoque.

Más tarde se descubrió que la camptotecina y muchos de sus derivados inhiben la topoisomerasa, una enzima que se requiere para girar y relajar el ADN durante eventos moleculares tales como la replicación y la transcripción. La camptotecina se estabiliza y forma un complejo ternario de enzima-camptotecina-ADN reversible. La formación del complejo escindible impide específicamente la etapa de reunión del ciclo de rotura/unión de la reacción de

topoisomerasa. También se sabe que los inhibidores de la topoisomerasa I son útiles en el tratamiento del VIH.

En un esfuerzo por abordar la escasa solubilidad en agua asociada con camptotecina y muchos de sus derivados, se han dirigido varios esfuerzos sintéticos para derivatizar el anillo A y/o el anillo B o esterificar el 20-hidroxilo para mejorar la solubilidad en agua a la vez que se mantiene la actividad citotóxica. Por ejemplo, el topotecán (9-dimetilaminometil-10-hidroxi CPT) y el irinotecán (7-etil-10[4-(1-piperidino)-1-piperidino]carboniloxi CPT), también conocido como CPT-11, son dos derivados de CPT solubles en agua que han demostrado actividad útil clínicamente. La conjugación de ciertos derivados de camptotecina, tales como 10-hidroxycamptotecina y 11-hidroxycamptotecina, con una molécula de poli(etilenglicol) lineal a través de una conexión éster se ha descrito como un medio para formar profármacos solubles en agua (Greenwald, et al., Patente de Estados Unidos Núm. 6.011.042).

La eficacia clínica de muchos agentes terapéuticos de molécula pequeña, y oncolíticos en particular, está limitada por varios factores. Por ejemplo, el irinotecán y otros derivados de camptotecina experimentan una hidrólisis indeseable de la lactona del anillo E en condiciones alcalinas. Además, la administración de irinotecán causa una serie de efectos secundarios preocupantes, incluyendo leucopenia y diarrea. Debido a su severo efecto secundario diarreico, la dosis de irinotecán que se puede administrar en su forma convencional no modificada es extremadamente limitada, obstaculizando así la eficacia de este fármaco y otros de este tipo.

Estos efectos secundarios asociados, cuando son graves, pueden ser suficientes para detener el desarrollo ulterior de tales fármacos como agentes terapéuticos prometedores. Los desafíos adicionales a las que se enfrentan las moléculas pequeñas incluyen altas tasas de aclaramiento, y en el caso de los agentes anticancerosos, penetración mínima del tumor y tiempo de residencia. Los enfoques que implican el uso de anclaje de polímeros deben equilibrar el tamaño del polímero frente al peso molecular del agente activo con el fin de permitir la administración de dosis terapéuticamente eficaces. Por último, la síntesis de un agente activo modificado o potenciado para el suministro del fármaco debe dar lugar a rendimientos razonables, para hacer económicamente atractivo cualquier procedimiento de este tipo. Por lo tanto, existe una necesidad de nuevos métodos para suministrar eficazmente fármacos, y en particular fármacos de moléculas pequeñas, y más concretamente oncolíticos, que pueden reducir sus efectos secundarios adversos y a menudo tóxicos, al tiempo que mejoran su eficacia y facilidad de formulación. Específicamente, existe la necesidad de métodos mejorados para suministrar fármacos que posean un equilibrio óptimo de biodisponibilidad debido a tiempos de aclaramiento reducidos, bioactividad y eficacia, junto con efectos secundarios reducidos. La presente invención satisface esas necesidades.

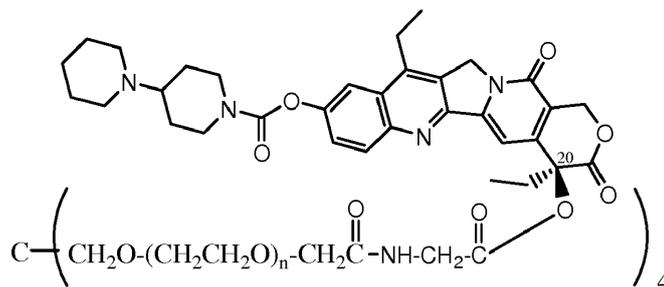
El documento WO2003037385 describe productos conjugados poliméricos solubles en agua de retinoides biológicamente activos, particularmente a composiciones adecuadas para su administración al pulmón por medio de inhalación. El documento US2002/182172 describe productos conjugados poliméricos solubles en agua de derivados de triazina tales como trimelamol. El documento WO03/037384 describe inhibidores de la proteína quinasa C modificados con polímeros solubles en agua para el tratamiento de enfermedades mediadas por PKC. El documento WO2002/089789 describe compuestos que tienen un radical aromático dentro de un conector que conecta un radical polimérico soluble en agua a un grupo reactivo o fármaco. El documento US2003/0105275 describe polímeros reactivos hidrosolubles que tienen al menos un grupo ácido carboxílico terminal y un grupo alquilo o arilo en el carbono alfa. El documento US 6.395.266 describe conectores poliméricos ramificados terminalmente y sus productos conjugados, en los que las camptotecinas se describen como un ejemplo para su uso en la preparación de los profármacos.

El documento WO01/62299 describe productos conjugados poliméricos solubles en agua del fármaco antipalúdico, ácido artelinico, e ilustra la conjugación directa de un polímero activado tal como PEG a través de una conexión de un solo átomo tal como O o NH. El documento WO98/41562 describe polímeros de ramas denominados U-PEG que tienen 2 ó 3 brazos de polímero y un único sitio para el anclaje a un agente biológicamente activo. Zalipsky et al. (1983, European Polymer Journal, 19:12, 1177-1183) describen el anclaje covalente de diversos fármacos a ciertos reactivos de PEG funcionalizados, incluyendo el uso de mPEG y PEG-diol.

Greenwald et al. (2000, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 17: 2, 101-161) revisa los fármacos conjugados de polietilenglicol y los profármacos, describiendo profármacos de éster de camptotecina y paclitaxel. Conover y col. (1999, Anti-Cancer Drug Design, 14: 6, 499-506) describen una comparación de sistemas de suministro de camptotecina en los que la 20-S-camptotecina está conjugada con polietilenglicol lineal a través de espaciadores de aminoácidos difuncionales. El documento WO01/74402 describe productos conjugados de camptotecina anclados covalentemente a diversos radicales para resolver el problema de proteger las camptotecinas contra la apertura del anillo de lactona. Conover et al. (1998, Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 42: 5, 407-414) describen un compuesto amidoéster di-sustituido de camptotecina que tiene una molécula de camptotecina anclada covalentemente a cada extremo de un PEG central lineal a través de ácido de glicina.

Compendio de la invención

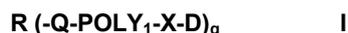
La presente invención proporciona un profármaco polimérico de múltiples brazos que tiene la estructura:



5 donde n oscila entre 40 y 500.

En un aspecto, la presente invención proporciona profármacos solubles en agua. Los profármacos de la invención comprenden un polímero soluble en agua que tiene cuatro brazos, que están anclados covalentemente a un agente activo, p.ej., una molécula pequeña. Los productos conjugados de la invención proporcionan un equilibrio óptimo del tamaño y la estructura del polímero para conseguir una carga de fármaco mejorada, puesto que los productos conjugados de la invención poseen cuatro agentes activos anclados, preferiblemente de forma liberable, a un polímero soluble en agua. En una realización, cada uno de los brazos del polímero soluble en agua posee un agente activo anclado covalentemente al mismo, preferiblemente mediante una conexión hidrolizable.

15 En la presente memoria se describe un ejemplo en el que el producto conjugado de profármaco comprende un polímero multibrazo, es decir, que tiene tres o más brazos, donde el producto conjugado comprende la siguiente estructura generalizada:



20 En la estructura I, R es un radical orgánico que posee de aproximadamente 3 a aproximadamente 150 átomos de carbono, preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 50 átomos de carbono, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono, conteniendo opcionalmente uno o más heteroátomos (por ejemplo O, S, o N). En un ejemplo, R posee un número de átomos de carbono seleccionado del grupo que consiste en 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10. R puede ser lineal o cíclico, y típicamente, emanando de él, hay al menos 3 brazos poliméricos independientes, que tienen cada uno al menos un radical agente activo anclado covalentemente a los mismos. Observando la estructura anterior, "q" corresponde al número de brazos de polímero que emanan de "R".

30 En la estructura I, Q es un conector, preferiblemente uno que es hidrolíticamente estable. Típicamente, Q contiene al menos un heteroátomo tal como O, S o NH, donde el átomo proximal a R en Q, cuando se toma junto con R, representa típicamente un residuo del radical orgánico central R. A continuación se proporcionan ejemplos ilustrativos. Generalmente, Q contiene de 1 a aproximadamente 10 átomos, o de 1 a aproximadamente 5 átomos. Más concretamente, Q contiene típicamente uno del siguiente número de átomos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10. En un ejemplo concreto, Q es O, S, o -NH-C(O)-.

35 En la estructura I, POLY₁ representa un polímero soluble en agua y no peptídico. Los polímeros representativos incluyen poli(alquilenglicol), poli(alcohol olefínico), poli(vinilpirrolidona), poli(hidroxialquilmetacrilamida), poli(metacrilato de hidroxialquilo), poli(sacárido), poli(α-hidroxiácido), poli(ácido acrílico), poli(alcohol vinílico), polifosfazeno, polioxazolona, poli(N-acriloilmorfolina), o sus copolímeros o terpolímeros. En un ejemplo concreto de estructura I, POLY₁ es un polietilenglicol, preferiblemente un polietilenglicol lineal (es decir, en cada brazo de la estructura general multibrazo). En otro ejemplo, POLY₁ corresponde a la estructura, -(CH₂CH₂O)_n-, donde n oscila entre aproximadamente 10 y aproximadamente 400, preferiblemente entre aproximadamente 50 y aproximadamente 350.

45 En la estructura I, X es un espaciador que comprende una conexión hidrolizable, en el que el enlace hidrolizable está anclado directamente al agente activo, D. Típicamente, al menos un átomo de la conexión hidrolizable está contenido en el agente activo, D, en su estado no modificado de forma que al hidrolizar la conexión hidrolizable comprendida dentro de X, se libera el agente activo D. En términos generales, el espaciador X tiene una longitud de átomo de aproximadamente 4 átomos a aproximadamente 50 átomos, o más preferiblemente de aproximadamente 5 átomos a aproximadamente 25 átomos, o aún más preferiblemente de aproximadamente 5 átomos a aproximadamente 20 átomos. Los espaciadores representativos tienen una longitud de aproximadamente 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o aproximadamente 20 átomos de carbono.

55 En aún otro ejemplo concreto, X posee la estructura: Y-Z, donde Y es un fragmento espaciador anclado

covalentemente a Z, un enlace hidrolíticamente degradable. En ciertos ejemplos, el propio Z no puede constituir un enlace hidrolíticamente degradable, sin embargo, cuando se toma junto con Y, o al menos una porción de Y, forma un enlace que es hidrolíticamente degradable.

5 En otro ejemplo más particular del espaciador, X, Y tiene la estructura: $-(CR_xR_y)_a-K-(CR_xR_y)_b-(CH_2CH_2O)_c-$, en donde cada R_x y R_y , en cada caso, es independientemente H o un radical orgánico seleccionado del grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo y arilo sustituido, a oscila entre 0 y 12 (es decir, puede ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12), b oscila entre 0 y 12 (es decir, puede ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ó 12), K se selecciona entre $-C(O)-$, $-C(O)NH-$, $-NH-C(O)-$, $C(O)-O-$, $OC(O)-O-$, $OC(O)-NH-$, $NH-C(O)-O-$, c oscila entre 0 y 25, y Z se selecciona entre $C(O)-O-$, $OC(O)-O-$, $-OC(O)-NH-$ y $NH-C(O)-O-$. La estructura particular de K y de Z dependerá de los valores de cada uno de a, b y c, de tal manera que ninguna de las siguientes relaciones da como resultado la estructura global del espaciador X, $-O-O-$, $NH-O-$, $NH-NH-$.

15 Preferiblemente, Y comprende $(CH_2)_a-C(O)NH-(CH_2)_{0,1}-(CH_2CH_2O)_{0-10}$.

En otro ejemplo más del espaciador, X, Y tiene la estructura: $-(CR_xR_y)_a-K-(CR_xR_y)_b-(CH_2CH_2NH)_c-$, donde las variables tienen los valores previamente descritos. En ciertos casos, la presencia de los fragmentos cortos de óxido de etileno o de etilamino en el espaciador X puede ser útil para conseguir buenos rendimientos durante la preparación del producto conjugado de profármaco, puesto que la presencia del conector puede ayudar a eludir problemas asociados con el impedimento estérico, debido al polímero reactivo de múltiples brazos, la estructura del agente activo, o a una combinación de ambos. Preferiblemente, c se selecciona del grupo que consiste en 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.

25 Preferiblemente, R_x y R_y en cada aparición son independientemente H o alquilo inferior. En un ejemplo, R_x y R_y en cada caso H. En otro ejemplo, a oscila entre 0 y 5. En otro ejemplo más, b oscila entre 0 y 5. En otro ejemplo más, c oscila entre 0 y 10. En otra realización más, K es $-C(O)-NH$. Se pretende que cualquiera de los ejemplos descritos en la presente memoria se aplique no sólo a la estructura generalizada I, sino también se extienda a combinaciones concretas de ejemplos.

30 En otro ejemplo más, R_x y R_y en cada aparición son H, a es 1, K es $-C(O)-NH$, y b es 0 ó 1.

Los ejemplos representativos de X incluyen $-CH_2-C(O)-NH-CH_2-C(O)O-$ (aquí, Y corresponde a $-CH_2-C(O)-NH-CH_2-$ y Z corresponde a $-C(O)-O-$), y $-CH_2-C(O)-NH-(CH_2CH_2O)_2-C(O)-O-$ (aquí, Y corresponde a $-CH_2-C(O)-NH-(CH_2CH_2O)_2-$ y Z corresponde a $-C(O)-O-$).

40 Volviendo ahora a la estructura I, D es un radical agente activo, y q (el número de brazos poliméricos independientes) oscila entre aproximadamente 3 y aproximadamente 50. Preferiblemente, q oscila entre aproximadamente 3 y aproximadamente 25. Más preferiblemente, q es de 3 a aproximadamente 10, y posee un valor de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.

De acuerdo con un ejemplo, el producto conjugado comprende un polímero que tiene de aproximadamente 3 a aproximadamente 25 moléculas de agente activo ancladas covalentemente a la misma. Más particularmente, el producto conjugado comprende un polímero soluble en agua que tiene 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 ó 25 moléculas de agente activo ancladas covalentemente a la misma. En un ejemplo adicional, el producto conjugado tiene de aproximadamente 3 a aproximadamente 8 moléculas de agente activo ancladas covalentemente al polímero soluble en agua. Típicamente, aunque no necesariamente, el número de brazos de polímero corresponderá al número de agentes activos anclados covalentemente al polímero soluble en agua.

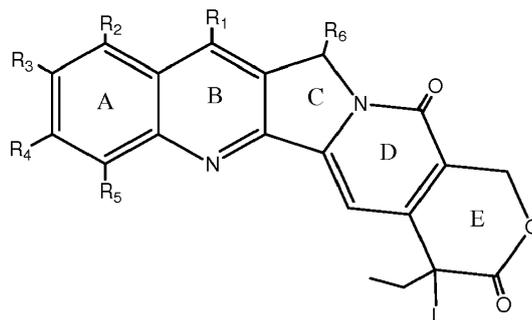
50 El radical agente activo, D, es un agente activo que comprende un grupo funcional adecuado para la anclaje covalente al polímero de múltiples brazos descrito en la presente memoria para formar una conexión hidrolizable, de tal manera que, mediante hidrólisis, el agente activo se libera en su forma no modificada.

55 Los radicales agente activo preferidos incluyen agentes anticancerosos.

En una realización, el agente activo es una molécula pequeña. En un ejemplo concreto, el radical agente activo es una molécula pequeña que posee un peso molecular de menos de aproximadamente 1.000. En otros ejemplos adicionales, el fármaco de molécula pequeña posee un peso molecular inferior a aproximadamente 800, o incluso inferior a aproximadamente 750. En otros ejemplos más, el fármaco de molécula pequeña posee un peso molecular inferior a aproximadamente 500 o, en algunos casos, incluso inferior a aproximadamente 300.

En otro ejemplo más, la molécula pequeña es un fármaco oncolítico que tiene al menos un grupo hidroxilo.

En otro ejemplo adicional, D representa un compuesto de camptotecina que tiene la estructura:

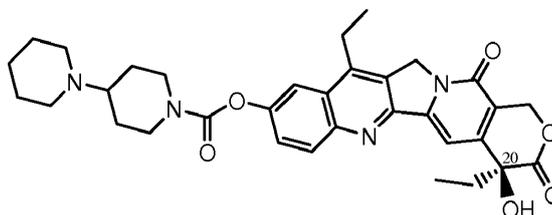


VII

5 en donde R₁-R₅ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; halo;
 acilo; alquilo (p.ej., alquilo C1-C6; alquilo sustituido; alcoxi (p.ej., alcoxi C1-C6; alcoxi sustituido; alqueni-
 10 lo; alquini-; cicloalquilo; hidroxilo; ciano; nitro; azido; amido; hidrazina; aminado; amino sustituido (p.ej.,
 monoalquilamino y dialquilamino); hidroxicarbonilo; alcoxicarbonilo; alquilcarbonilo; alquilcarbonilamino;
 carbamoiloxi; arilsulfonilo; alquilsulfonilo; -C(R₇)=N-(O)-R₈ en donde R₇ es H, alquilo, alqueni-
 15 lo, cicloalquilo o arilo, i es 0 ó 1 y R₈ es H, alquilo, alqueni-; heterociclo; y R₉C(O)O- en donde R₉ es halógeno,
 amino, amino sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, o R₁₀-O-(CH₂)_m- donde m es un número entero de
 1-10 y R₁₀ es alquilo, fenilo, fenilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclo o heterociclo
 sustituido; o
 R₂ junto con R₃ o R₃ junto con R₄ forman metilendioxi sustituido o no sustituido, etilendioxi, o etilenoxi;
 20 R₆ es H o OR', en donde R' es alquilo, alqueni-; cicloalquilo, haloalquilo o hidroxialquilo; y
 L es el sitio de anclaje a X.

En otra realización concreta, D es irinotecán.

20



25

Alternativamente, D es una molécula pequeña seleccionada del grupo que consiste en platinos, análogos de oximorfona, esteroides, quinolonas y nucleósidos.

En un ejemplo, D es un platino tal como cis-platino, hidroxilatino, carboplatino, u oxaliplatino.

30

En otros ejemplos más, D es un análogo de oximorfona tal como naloxona, metilnaltrexona, oximorfona, codeína, oxycodona, o morfona.

En otro ejemplo adicional, D es un esteroide tal como budesonida, triamcinolona o fluticasona.

35

En otro ejemplo más, D es una quinolona, isoquinolona o fluoroquinolona tal como ciprofloxacina, moxifloxacina o palonosetrón.

En otro ejemplo adicional, D es un nucleósido o nucleótido tal como gemcitabina, cladribina o fludarabina.

40

Los profármacos poliméricos de múltiples brazos de la invención poseen muchas características únicas, particularmente en el caso en el que la molécula pequeña es un compuesto anticanceroso. Por ejemplo, en una
 45 realización, se proporciona un profármaco polimérico multibrazo de acuerdo con las reivindicaciones, que cuando se evalúa en un modelo animal adecuado para cánceres de tipo de tumores sólidos y se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz, es eficaz para suprimir el crecimiento tumoral en un grado que es al menos 1,5 veces, o incluso el doble que el observado para el agente anticanceroso no modificado, cuando se evalúa durante un período de tiempo de 30 días. En otra realización más, el profármaco es eficaz para suprimir el crecimiento tumoral en el grado anterior o incluso mayor cuando se evalúa durante un período de tiempo de 60 días. La molécula pequeña

empleada es una que se sabe que posee propiedades anticancerosas, sin embargo, en virtud de su conjugación con un polímero multibrazo como se describe en la presente memoria, posee una eficacia y una farmacocinética significativamente mejoradas en comparación con la molécula pequeña, p.ej., un compuesto anticanceroso. Los tipos de tumores sólidos adecuados incluyen sarcomas malignos, carcinomas y linfomas de mama, ovarios, colon, riñón, conducto biliar, pulmón y cerebro.

En otro aspecto, se describen en la presente memoria polímeros reactivos de múltiples brazos adecuados para preparar cualquiera de los productos conjugados de profármaco descritos anteriormente.

En otro aspecto, se describen en la presente memoria composiciones farmacéuticas que comprenden productos conjugados de profármacos poliméricos de múltiples brazos como se ha descrito anteriormente combinados con un portador farmacéuticamente aceptable.

También se describen en la presente memoria métodos para tratar diversas afecciones médicas en un sujeto mamífero. Más específicamente, se describe en la presente memoria un método para administrar a un sujeto mamífero que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un producto conjugado de profármaco multibrazo como se ha descrito anteriormente. En una realización, el radical de fármaco, D, es un agente anticanceroso tal como una camptotecina (p.ej., irinotecán), y es eficaz para suprimir el crecimiento tumoral. En un ejemplo particularmente preferido, un producto conjugado de profármaco de múltiples brazos, particularmente uno en el que D es un agente anticanceroso, presenta una o más de las siguientes características: (i) suprime el crecimiento del tumor en un grado mayor que el de D no modificado, (ii) demuestra un tiempo de retención tumoral que aumenta con respecto a D no modificado, (iii) presenta una velocidad de aclaramiento que se reduce en comparación con la de D no modificado y/o (iv) produce una reducción de efectos secundarios adversos en comparación con el D no modificado.

En la presente memoria se describe un método para tratar el cáncer o una infección viral mediante la administración de un producto conjugado polimérico multibrazo como se describe en la presente memoria.

En aún otro aspecto, se describe en la presente memoria un método para tratar una enfermedad relacionada con el inhibidor de la topoisomerasa I en un sujeto mamífero mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un profármaco polimérico multibrazo a un sujeto mamífero que lo necesite, donde la molécula pequeña es una molécula de tipo camptotecina.

De acuerdo con otro aspecto más, se describe en la presente memoria el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un profármaco polimérico multibrazo de acuerdo con las reivindicaciones, que se sabe que es eficaz en el tratamiento de tumores sólidos a un sujeto diagnosticado que tiene uno o más tumores sólidos cancerosos. Como resultado, el profármaco es eficaz para producir una inhibición del crecimiento de tumores sólidos en el sujeto que aumenta con respecto a la inhibición del crecimiento de tumores sólidos resultante de la administración del agente anticanceroso solo.

También se describe un método para preparar un producto conjugado de profármaco polimérico multibrazo. En el método, se proporciona una molécula pequeña, D, en la que la molécula pequeña comprende un grupo funcional, F, adecuado para formar una conexión hidrolizable, Z. La molécula pequeña se hace reaccionar con un espaciador bifuncional, Y', que comprende cada uno un primer y un segundo grupo funcional F1 y F2. El grupo funcional F2 es adecuado para la reacción con F, y F1 puede estar opcionalmente en forma protegida (F1-Y'-F2). La reacción se lleva a cabo en condiciones eficaces para formar un agente activo parcialmente modificado que comprende una conexión hidrolizable, Z, resultante de la reacción de F y F2, que corresponde a la estructura D-Z-Y'-F1. Si es necesario, el método incluye la etapa opcional de desproteger F1 contenido en el agente activo parcialmente modificado. El método incluye en ese caso la etapa de hacer reaccionar el agente activo parcialmente modificado, D-Z-Y'-F1, con un polímero soluble en agua de de múltiples brazos que comprende la estructura, $R(-Q-POLY_1-F3)_q$, donde R, Q, $POLY_1$, y Q se definen como antes, y F3 es un grupo funcional que es reactivo con F1. La reacción se lleva a cabo en condiciones eficaces para promover la reacción entre F3 y F1 para convertir Y' en Y, para formar así un profármaco polimérico que tiene la estructura, $R(-Q-POLY_1-Y-Z-D)_q$, donde Y es un fragmento espaciador, y Z es una conexión hidrolizable, que, por hidrólisis, libera D.

En un ejemplo del método, se hace reaccionar un exceso estequiométrico en una cantidad mayor que "q" moles del agente activo parcialmente modificado, D-Z-Y'-F1, con el $R(-Q-POLY_1-F3)_q$ soluble en agua de múltiples brazos para conducir la reacción hasta su conclusión, es decir, para anclar covalentemente el agente activo a cada uno de los brazos poliméricos reactivos.

En otro ejemplo más, cuando la molécula pequeña D posee grupos funcionales adicionales reactivos con F2, el método comprende adicionalmente la etapa de proteger los grupos funcionales adicionales con grupos protectores adecuados antes de la reacción con el espaciador bifuncional. Estos grupos protectores se eliminan a continuación de las moléculas pequeñas del producto profármaco, $R(-Q-POLY_1-Y-Z-D)_q$.

- De acuerdo con otro aspecto más, se describe otro método para preparar un profármaco polimérico multibrazo. El método incluye la etapa de proporcionar un polímero reactivo multibrazo que tiene la estructura, $R(-Q-POLY_1-F3)_q$, donde R, Q, $POLY_1$, y q se describen como antes, y F3 es un grupo funcional reactivo. El polímero multibrazo se hace reaccionar a continuación con un espaciador bifuncional, Y', que comprende cada uno un primer y un segundo grupo funcional F1 y F2, en donde F1 es adecuado para la reacción con F3 y F1 está opcionalmente en forma protegida (F1-Y'-F2). La reacción se lleva a cabo en condiciones eficaces para formar un polímero intermedio multibrazo resultante de la reacción de F3 y F1, y que tiene la estructura $R(-Q-POLY_1-Y-F2)_q$. El método incluye adicionalmente la etapa opcional de desprotección de F2 en el polímero de múltiples brazos intermedio, $R(-Q-POLY_1-Y-F2)_q$ si está en forma protegida. El polímero de multibrazo intermedio, $R(-Q-POLY_1-Y-F2)_q$, se hace reaccionar a continuación con una molécula pequeña, D, que comprende un grupo funcional, F, adecuado para formar una conexión hidrolizable, Z, por reacción de F con F2, en condiciones eficaces para formar de este modo un profármaco que tiene la estructura, $R(-Q-POLY_1-Y-Z-D)_q$, donde Z es una conexión hidrolizable, que, mediante hidrólisis, libera D.
- Los grupos funcionales reactivos tales como los descritos anteriormente como F1, F2 y F3 son numerosos y pueden seleccionarse entre, por ejemplo, hidroxilo, éster activo (p.ej., éster de N-hidroxisuccinimidilo y éster de 1-benzotriazolilo), carbonato activo (p.ej., carbonato de N-hidroxisuccinimidilo, carbonato de 1-benzotriazolilo, carbonato de p-nitrofenilo), haluro de ácido, acetal, aldehído que tiene una longitud de carbono de 1 a 25 carbonos (p.ej., acetaldehído, propionaldehído y butiraldehído), hidrato de aldehído, alqueno, acrilato, metacrilato, acrilamida, sulfona activa, amina, hidrazida, tiol, ácidos alcanóicos que tienen una longitud de carbono (incluyendo el carbono carbonílico) de 1 a aproximadamente 25 átomos de carbono (p.ej., ácido carboxílico, carboximetilo, ácido propanoico y ácido butanoico), isocianato, isotiocianato, maleimida, vinilsulfona, ditiopiridina, vinilpiridina, yodoacetamida, epóxido, glioxal y diona.
- En un ejemplo, el espaciador bifuncional, Y' es un aminoácido o derivado de un aminoácido. Los aminoácidos representativos tienen la estructura $HO-C(O)-CH(R'')-NH-Gp$ en donde R'' es H, alquilo C1-C6 o alquilo C1-C6 sustituido y Gp es un grupo protector de amino. En un ejemplo alternativo, el espaciador bifuncional, Y' posee la estructura: $-C(O)-(OCH_2CH_2)_{1-10}-NH-Gp$.
- Los métodos anteriores para preparar un profármaco descrito anteriormente incluyen las etapas adicionales de purificación de los productos intermedios y/o del profármaco final, por ejemplo mediante cromatografía de exclusión por tamaños o cromatografía de intercambio iónico en casos en los que los compuestos que se vayan a purificar contengan uno o más grupos ionizables, tales como carboxilo o amino.
- Estos y otros objetos y características de la invención resultarán más completamente evidentes cuando se lean conjuntamente con la siguiente descripción detallada.

Breve descripción de los dibujos

- La Fig. 1 es un gráfico que ilustra el efecto de un producto conjugado de PEG-irinotecán ilustrativo de múltiples brazos sobre el crecimiento de tumores de colon humanos HT29 implantados en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos en comparación con un grupo control no tratado y un grupo tratado con irinotecán como se describe en detalle en el Ejemplo 2;
- La Fig. 2 es un gráfico que ilustra los efectos de una variedad de dosis (90 mg/kg, 60 mg/kg y 40 mg/kg) de un producto conjugado de PEG-irinotecán de PEG de 20 kilodaltons (20K) ilustrativo sobre el crecimiento de tumores de pulmón humanos NCI-H460 implantados en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos en comparación con un grupo de control y un grupo tratado con irinotecán como se describe en el Ejemplo 6;
- La Fig. 3 es un gráfico que ilustra los efectos de una variedad de dosis (90 mg/kg, 60 mg/kg y 40 mg/kg) de un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 40 kilodaltons (40K) ilustrativo sobre el crecimiento de tumores de pulmón humanos NCI-H460 implantados en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos en comparación con un grupo de control y un grupo tratado con irinotecán como se describe en el Ejemplo 6;
- La Fig. 4 es un gráfico que ilustra los efectos de una variedad de dosis (90 mg/kg, 60 mg/kg y 40 mg/kg) de un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 20 kilodaltons (20K) ilustrativo sobre el crecimiento de tumores colon humanos HT29 implantados en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos en comparación con un grupo control no tratado y un grupo tratado con irinotecán como se describe con detalle en el Ejemplo 6;
- La Fig. 5 es un gráfico que ilustra los efectos de una variedad de dosis (90 mg/kg, 60 mg/kg y 40 mg/kg) de un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 40 kilodaltons (40K) ilustrativo sobre el crecimiento de tumores de colon humanos HT29 implantados en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos en comparación con un grupo control no tratado y un grupo tratado con irinotecán como se describe con detalle en el Ejemplo 6;
- La Fig. 6 es un gráfico que ilustra la concentración en el plasma venoso a lo largo del tiempo de (i) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 20 kilodaltons (20K) ilustrativo, y (ii) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 40 kilodaltons, después de la administración IV como una dosis única en ratones

carentes de sistema inmunitario atímicos a los que se habían implantado tumores de colon humanos HT29 o tumores de pulmón humanos NCI-H460 como se describe en el Ejemplo 7.

La Fig. 7 es un gráfico que ilustra la concentración en el tejido tumoral a lo largo del tiempo de (i) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 20 kilodaltons (20K) ilustrativo, y (ii) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 40 kilodaltons, después de la administración IV como una dosis única en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos a los que se habían implantado tumores de colon humanos HT29 o tumores de pulmón humanos NCI-H460 como se describe en el Ejemplo 7.

La Fig. 8 es un gráfico que ilustra la concentración de PEG-SN-38 en plasma a lo largo del tiempo después de la administración IV de (i) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 20 kilodaltons (20K) ilustrativo, o (ii) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 40 kilodaltons, como una dosis única en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos a los que se habían implantado tumores de colon humanos HT29 o tumores de pulmón humanos NCI-H460 como se describe en el Ejemplo 7.

La Fig. 9 es un gráfico que ilustra la concentración de PEG-SN-38 en el tejido tumoral a lo largo del tiempo después de la administración IV de (i) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 20 kilodaltons (20K) ilustrativo, o (ii) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 40 kilodaltons, como dosis única en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos a los que se habían implantado tumores de colon humanos HT29 o tumores de pulmón humanos NCI-H460 como se describe en el Ejemplo 7.

La Fig. 10 es un gráfico que ilustra la concentración de irinotecán en plasma venoso a lo largo del tiempo después de la administración IV de (i) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 20 kilodaltons (20K) ilustrativo, o (ii) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 40 kilodaltons, o (iii) irinotecán como una dosis única en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos a los que se habían implantado tumores de colon humanos HT29 o tumores de pulmón humanos NCI-H460 como se describe en el Ejemplo 7.

La Fig. 11 es un gráfico que ilustra la concentración de irinotecán en el tejido tumoral a lo largo del tiempo después de la administración IV de (i) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 20 kilodaltons (20K) ilustrativo, o (ii) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 40 kilodaltons o (iii) irinotecán, como una dosis única en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos a los que se habían implantado tumores de colon humanos HT29 o tumores de pulmón humanos NCI-H460 como se describe en el Ejemplo 7.

La Fig. 12 es un gráfico que ilustra la concentración de SN-38 en el plasma a lo largo del tiempo después de la administración intravenosa de (i) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 20 kilodaltons (20K) ilustrativo, o (ii) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 40 kilodaltons, o (iii) irinotecán, como una dosis única en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos a los que se habían implantado tumores de colon humanos HT29 o tumores de pulmón humanos NCI-H460 como se describe en el Ejemplo 7.

La Fig. 13 es un gráfico que ilustra la concentración de SN-38 en el tejido tumoral a lo largo del tiempo después de la administración intravenosa de (i) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 20 kilodaltons (20K) ilustrativo, o (ii) un producto conjugado de PEG-irinotecán multibrazo de 40 kilodaltons, o (iii) irinotecán, como una dosis única en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos a los que se habían implantado tumores de colon humanos HT29 o tumores de pulmón humanos NCI-H460 como se describe en el Ejemplo 7.

40 Descripción detallada de la invención

Definiciones

Debe tenerse en cuenta que, tal como se utiliza en esta memoria descriptiva, las formas singulares "un", "uno", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a un "polímero" incluye un único polímero así como dos o más de los mismos o diferentes polímeros, la referencia a un "producto conjugado" se refiere a un único producto conjugado así como dos o más de los mismos o diferentes productos conjugados, la referencia a un "excipiente" incluye un único excipiente, así como dos o más de los mismos o diferentes excipientes, y similares.

Al describir y reivindicar la presente invención, se utilizará la siguiente terminología de acuerdo con las definiciones que se describen a continuación.

Un "grupo funcional" es un grupo que puede utilizarse, en condiciones normales de síntesis orgánica, para formar una conexión covalente entre la estructura a la que está anclado y otra estructura, que típicamente porta un grupo funcional adicional. El grupo funcional incluye generalmente múltiples enlaces y/o heteroátomos. Los grupos funcionales preferidos para su uso en los polímeros de la invención se describen a continuación.

El término reactivo se refiere a un grupo funcional que reacciona fácilmente o a una velocidad práctica en condiciones convencionales de síntesis orgánica. Esto está en contraste con aquellos grupos que o no reaccionan o que requieren catalizadores fuertes o condiciones de reacción inviables para reaccionar (es decir, un grupo "no reactivo" o "inerte").

"No fácilmente reactivo", con referencia a un grupo funcional presente en una molécula en una mezcla de reacción,

indica que el grupo permanece en gran parte intacto en condiciones eficaces para producir una reacción deseada en la mezcla de reacción.

Un "derivado activado" de un ácido carboxílico se refiere a un derivado de ácido carboxílico que reacciona fácilmente con nucleófilos, generalmente mucho más fácilmente que el ácido carboxílico no derivatizado. Los ácidos carboxílicos activados incluyen, por ejemplo, haluros de ácido (tales como cloruros de ácido), anhídridos, carbonatos y ésteres. Tales ésteres incluyen, por ejemplo, ésteres de imidazolilo y ésteres de benzotriazol, y ésteres de imida, tales como ésteres de N-hidroxisuccinimidilo (NHS). Se puede formar un derivado activado *in situ* por reacción de un ácido carboxílico con uno de varios reactivos, p.ej. hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinfosfonio (PyBOP), utilizado preferiblemente combinado con 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) o 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAT); hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU); o cloruro de ácido bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfínico (BOP-Cl).

Un "grupo protector" es un radical que impide o bloquea la reacción de un grupo funcional químicamente reactivo concreto en una molécula bajo ciertas condiciones de reacción. El grupo protector variará dependiendo del tipo de grupo químicamente reactivo que se proteja, así como de las condiciones de reacción que se vayan a emplear y de la presencia de grupos reactivos o protectores adicionales en la molécula. Los grupos funcionales que pueden estar protegidos incluyen, a modo de ejemplo, grupos ácido carboxílico, grupos amino, grupos hidroxilo, grupos tiol, grupos carbonilo y similares. Los grupos protectores representativos para ácidos carboxílicos incluyen ésteres (tales como un éster p-metoxibencílico), amidas e hidrazidas; para los grupos amino, carbamatos (tales como terc-butoxicarbonilo) y amidas; para los grupos hidroxilo, éteres y ésteres; para los grupos tiol, tioéteres y tioésteres; para grupos carbonilo, acetales y cetales; y similares. Tales grupos protectores son bien conocidos por los expertos en la técnica y son descritos, por ejemplo, por T.W. Greene y G.M. Wuts, en *Protecting Groups in Organic Synthesis*, tercera edición, Wiley, Nueva York, 1999, y las referencias allí citadas.

Un grupo funcional en "forma protegida" se refiere a un grupo funcional que porta un grupo protector. Según se utiliza en la presente memoria, se entiende que el término "grupo funcional" o cualquier sinónimo del mismo abarcan las formas protegidas de los mismos.

Se entiende que "PEG" o "poli(etilenglicol)" según se utiliza en la presente memoria, abarca cualquier poli(óxido de etileno) soluble en agua. Típicamente, los PEG descritos en la presente memoria comprenderán una de las dos estructuras siguientes: $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ o $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{n-1}\text{CH}_2\text{CH}_2-$ dependiendo de si el oxígeno o los oxígenos terminales se han desplazado o no, por ejemplo, durante una transformación sintética. La variable (n) es de 3 a 3000, y los grupos terminales y la arquitectura del PEG total pueden variar. Cuando el PEG comprende adicionalmente un espaciador como en la estructura I anterior (que se describirá con mayor detalle más adelante), los átomos que comprenden el espaciador (X), cuando están anclados covalentemente a un segmento de PEG, no dan lugar a la formación de (i) un enlace oxígeno-oxígeno (-OO-, una conexión peróxido), o (ii) un enlace nitrógeno-oxígeno (NO, ON). "PEG" significa un polímero que contiene una mayoría, es decir, más del 50%, de subunidades que son $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$. Los PEG descritos en la presente memoria incluyen PEG que tienen una variedad de pesos moleculares, estructuras o geometrías que se describirán con mayor detalle a continuación.

"Soluble en agua", en el contexto de un polímero de la invención o un "segmento de polímero soluble en agua" es cualquier segmento o polímero que es soluble en agua a temperatura ambiente. Típicamente, un polímero o segmento soluble en agua transmitirán al menos aproximadamente 75%, más preferiblemente al menos aproximadamente 95% de luz, transmitida por la misma solución después de filtrar. En peso, un polímero o segmento solubles en agua serán preferiblemente al menos aproximadamente 35% (en peso) solubles en agua, más preferiblemente al menos aproximadamente 50% (en peso) solubles en agua, aún más preferiblemente aproximadamente 70% (en peso) solubles en agua, y aún más preferiblemente aproximadamente 85% (en peso) solubles en agua. Sin embargo, es muy preferido que el polímero o segmento solubles en agua sean aproximadamente 95% (en peso) solubles en agua o completamente solubles en agua.

Un grupo "con protección terminal" o "protegido terminalmente" es un grupo inerte presente en un extremo de un polímero tal como PEG. Un grupo con protección terminal es aquel que no experimenta fácilmente transformación química bajo condiciones de reacción de síntesis típicas. Un grupo con protección terminal es generalmente un grupo alcoxi, -OR, donde R es un radical orgánico que comprende 1-20 carbonos y es preferiblemente alquilo inferior (p.ej., metilo, etilo) o bencilo. "R" puede ser saturado o insaturado e incluye arilo, heteroarilo, ciclo, heterociclo y formas sustituidas de cualquiera de los anteriores. Por ejemplo, un PEG protegido terminalmente comprenderá típicamente la estructura $\text{RO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$, en donde R se define como antes. Alternativamente, el grupo con protección terminal también puede comprender ventajosamente una marca detectable. Cuando el polímero tiene un grupo con protección terminal que comprende una marca detectable, se puede determinar la cantidad o ubicación del polímero y/o el radical (p.ej., agente activo) al que se acopla el polímero, utilizando un detector adecuado. Dichas etiquetas incluyen, sin limitación, agentes fluorescentes, quimioluminiscentes, radicales utilizados en el marcaje enzimático, colorimétrico (p.ej., colorantes), iones metálicos, radicales radiactivos y similares.

"De origen no natural" con respecto a un polímero de la invención significa un polímero que en su totalidad no se encuentra en la naturaleza. Sin embargo, un polímero no natural de la invención puede contener una o más subunidades o segmentos de subunidades que se producen de forma natural, siempre y cuando la estructura polimérica global no se encuentre en la naturaleza.

La "masa molecular" en el contexto de un polímero soluble en agua de la invención, tal como PEG, se refiere a la masa molecular media nominal de un polímero, determinada típicamente por medio de cromatografía de exclusión por tamaños, técnicas de dispersión de luz o determinación de velocidad intrínseca en 1,2,4-triclorobenceno. Los polímeros de la invención son típicamente polidispersos, poseyendo bajos valores de polidispersidad de menos de aproximadamente 1,20.

El término "conector" se utiliza en la presente memoria para referirse a un átomo o una colección de átomos utilizados para conectar radicales de interconexión, tales como un núcleo de radical orgánico y un segmento de polímero, POLY₁. Un radical conector puede ser hidrolíticamente estable o puede incluir una conexión fisiológicamente hidrolizable o enzimáticamente degradable. Un conector denominado en la presente memoria Q es hidrolíticamente estable.

El término "espaciador" se utiliza en la presente memoria para referirse a una colección de átomos utilizados para conectar radicales de interconexión, tales como POLY₁ y el agente activo D. Un radical espaciador puede ser hidrolíticamente estable o puede incluir un enlace fisiológicamente hidrolizable o enzimáticamente degradable. Un espaciador denominado en la presente memoria X comprende una conexión hidrolizable, en el que la conexión hidrolizable se ancla directamente al agente activo, D, de manera que después de la hidrólisis, el agente activo se libera en su forma de origen.

Un enlace "hidrolizable" es un enlace relativamente débil que reacciona con agua (es decir, se hidroliza) bajo condiciones fisiológicas. La tendencia de un enlace a hidrolizarse en agua dependerá no sólo del tipo general de conexión que conecta dos átomos centrales sino también de los sustituyentes unidos a estos átomos centrales. Entre las conexiones hidrolíticamente inestables ilustrativas se incluyen éster carboxilato, éster fosfato, anhídridos, acetales, cetales, éteres de aciloxialquilo, iminas, ortoésteres, péptidos y oligonucleótidos.

Una "conexión enzimáticamente degradable" significa una conexión que está sujeta a degradación por una o más enzimas. Tal conexión requiere la acción de una o más enzimas para efectuar la degradación.

Una conexión o enlace "hidrolíticamente estables" se refiere a una unión química, típicamente un enlace covalente, que es sustancialmente estable en agua, es decir, no experimenta hidrólisis en condiciones fisiológicas hasta un grado apreciable durante un período de tiempo prolongado. Los ejemplos de conexiones hidrolíticamente estables incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: enlaces carbono-carbono (p.ej., en cadenas alifáticas), éteres, amidas, uretanos y similares. Generalmente, una conexión hidrolíticamente estable es una que exhibe una velocidad de hidrólisis de menos de aproximadamente 1-2% por día en condiciones fisiológicas. Las tasas de hidrólisis de los enlaces químicos representativos se pueden encontrar en la mayoría de los libros de texto de química convencionales.

"Multibrazo" en referencia a la geometría o a la estructura global de un polímero se refiere al polímero que tiene 3 o más "brazos" que contienen polímero. Por lo tanto, un polímero de múltiples brazos puede poseer 3 brazos de polímero, 4 brazos de polímero, 5 brazos de polímero, 6 brazos de polímero, 7 brazos de polímero, 8 brazos de polímero o más, dependiendo de su configuración y estructura núcleo. Un tipo particular de polímero altamente ramificado es un polímero dendrítico o dendrímero que, para los propósitos de la invención, se considera que posee una estructura distinta de la de un polímero de múltiples brazos.

"Punto de ramificación" se refiere a un punto de bifurcación que comprende uno o más átomos en los que un polímero se divide o se ramifica desde una estructura lineal a uno o más brazos poliméricos adicionales. Un polímero de múltiples brazos puede tener un punto de ramificación o múltiples puntos de ramificación.

Un "dendrímero" es un polímero de tamaño monodisperso, globular en el que todos los enlaces emergen radialmente desde un punto focal o núcleo central con un patrón de ramificación regular y con unidades repetidas que aportan cada una un punto de ramificación. Los dendrímeros exhiben ciertas propiedades de estado dendríticas tales como la encapsulación del núcleo, haciéndolas únicas con respecto a otros tipos de polímeros.

"Sustancialmente" o "esencialmente" significa casi totalmente o completamente, por ejemplo, el 95% o más de una determinada cantidad.

"Alquilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada, que típicamente oscila entre aproximadamente 1 a 20 átomos de longitud. Tales cadenas hidrocarbonadas están preferiblemente pero no necesariamente saturadas y pueden ser de cadena ramificada o lineal, aunque se prefiere típicamente cadena lineal. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen

metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, 1-metilbutilo, 1-etilpropilo, 3-metilpentilo y similares. Según se utiliza en la presente memoria, "alquilo" incluye cicloalquilo cuando se hace referencia a tres o más átomos de carbono.

5 "Alquilo inferior" se refiere a un grupo alquilo que contiene de 1 a 6 átomos de carbono, y puede ser de cadena lineal o ramificada, como se ilustra mediante metilo, etilo, n-butilo, i-butilo, t-butilo.

10 "Cicloalquilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada cíclica saturada o insaturada, incluyendo compuestos cíclicos puenteados, fusionados o espiro, preferiblemente compuestos de 3 a aproximadamente 12 átomos de carbono, más preferiblemente de 3 a aproximadamente 8.

15 "Sustituyentes que no interfieren" son aquellos grupos que, cuando están presentes en una molécula, son típicamente no reactivos con otros grupos funcionales contenidos dentro de la molécula.

El término sustituido como, por ejemplo, en "alquilo sustituido", se refiere a un radical (p. ej., un grupo alquilo) sustituido con uno o más sustituyentes que no interfieren, tales como, pero sin limitarse a: cicloalquilo C₃-C₈, p.ej., ciclopropilo, ciclobutilo y similares; halo, por ejemplo, flúor, cloro, bromo y yodo; ciano; alcoxi, fenilo inferior; fenilo sustituido; y similares. Para sustituciones en un anillo de fenilo, los sustituyentes pueden estar en cualquier orientación (es decir, orto, meta o para).

20 Alcoxi se refiere a un grupo -O-R, en donde R es alquilo o alquilo sustituido, preferiblemente alquilo C₁-C₂₀ (p.ej., metoxi, etoxi, propiloxi, etc.), preferiblemente C₁-C₇.

25 Como se utiliza en la presente memoria, "alqueno" se refiere a un grupo hidrocarbonado ramificado o no ramificado de 1 a 15 átomos de longitud, que contiene al menos un doble enlace, tal como etenilo, n-propenilo, isopropenilo, n-butenilo, isobutenilo, octenilo, tetradecenilo y similares.

30 El término alquino, según se utiliza en la presente memoria, se refiere a un grupo hidrocarbonado ramificado o no ramificado de 2 a 15 átomos de longitud, que contiene al menos un triple enlace, etinilo, n-propinilo, isopropinilo, n-butinilo, isobutinilo, octinilo, decinilo etcétera.

35 "Arilo" significa uno o más anillos aromáticos, cada uno de 5 ó 6 átomos de carbono núcleo. Arilo incluye múltiples anillos de arilo que pueden estar fusionados, como en naftilo o no fusionados, como en bifenilo. Los anillos de arilo también pueden estar fusionados o no fusionados con uno o más anillos hidrocarbonados cíclicos, heteroarílicos o heterocíclicos. Según se utiliza en la presente memoria, "arilo" incluye heteroarilo.

"Heteroarilo" es un grupo arilo que contiene de uno a cuatro heteroátomos, preferiblemente N, O, o S, o una combinación de los mismos. Los anillos de heteroarilo también pueden estar fusionados con uno o más anillos hidrocarbonados cíclicos, heterocíclicos, arílicos o heteroarílicos.

40 "Heterociclo" o "heterocíclico" significan uno o más anillos de 5-12 átomos, preferiblemente 5-7 átomos, con o sin insaturación o carácter aromático y que tiene al menos un átomo de anillo que no es un carbono. Los heteroátomos preferidos incluyen azufre, oxígeno y nitrógeno.

45 "Heteroarilo sustituido" es heteroarilo que tiene uno o más grupos no interferentes como sustituyentes.

"Heterociclo sustituido" es un heterociclo que tiene una o más cadenas laterales formadas a partir de sustituyentes no interferentes.

50 "Electrófilo" se refiere a un ión, átomo o colección de átomos que pueden ser iónicos, que tienen un centro electrofílico, es decir, un centro que busca electrones, capaz de reaccionar con un nucleófilo.

"Nucleófilo" se refiere a un ión o átomo o conjunto de átomos que pueden ser iónicos, que tienen un centro nucleofílico, es decir, un centro que está buscando un centro electrofílico, y capaz de reaccionar con un electrófilo.

55 "Agente activo" según se utiliza en la presente memoria incluye cualquier agente, fármaco, compuesto, composición de materia o mezcla que proporcione algún efecto farmacológico, a menudo beneficioso, que pueda demostrarse *en vivo* o *In vitro*. Esto incluye alimentos, suplementos alimenticios, nutrientes, nutracéuticos, medicamentos, vacunas, anticuerpos, vitaminas y otros agentes beneficiosos. Tal como se utiliza en la presente memoria, estos términos incluyen además cualquier sustancia fisiológica o farmacológicamente activa que produce un efecto localizado o sistémico en un paciente.

60 "Excipiente farmacéuticamente aceptable" o "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un excipiente que puede incluirse en las composiciones descritas en la presente memoria y que no causa efectos toxicológicos adversos significativos para el paciente.

"Cantidad farmacológicamente eficaz", "cantidad fisiológicamente eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz" se utilizan indistintamente en la presente memoria para significar la cantidad de un producto conjugado de agente activo de PEG presente en una preparación farmacéutica que se necesita para proporcionar un nivel deseado de agente activo y/o producto conjugado en el torrente sanguíneo o en un tejido diana. La cantidad exacta dependerá de numerosos factores, p.ej., del agente activo concreto, de los componentes y características físicas de la preparación farmacéutica, de la población de pacientes pretendida, de las consideraciones de los pacientes y similares, y puede ser determinada fácilmente por un experto en la técnica, basándose en la información proporcionada en la presente memoria y disponible en la literatura pertinente.

"Multi-funcional" en el contexto de un polímero de la invención significa un polímero que tiene 3 o más grupos funcionales, donde los grupos funcionales pueden ser iguales o diferentes y están típicamente presentes en los extremos poliméricos. Los polímeros multifuncionales descritos en la presente memoria contendrán típicamente aproximadamente 3-100 grupos funcionales, o 3-50 grupos funcionales, o 3-25 grupos funcionales, o 3-15 grupos funcionales, o 3-10 grupos funcionales, es decir, contienen 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 grupos funcionales. Típicamente, en referencia a un precursor polimérico utilizado para preparar un profármaco polimérico descrito en la presente memoria, el polímero posee 3 o más brazos de polímero que tienen en el extremo de cada brazo un grupo funcional adecuado para acoplarse a un radical agente activo mediante una conexión hidrolizable.

"Difuncional" o "bifuncional" según se utiliza indistintamente en la presente memoria significa una entidad tal como un polímero que tiene dos grupos funcionales contenidos en la misma, típicamente en los extremos poliméricos. Cuando los grupos funcionales son iguales, se dice que la entidad es homodifuncional o homobifuncional. Cuando los grupos funcionales son diferentes, se dice que el polímero es heterodifuncional o heterobifuncional

Un reaccionante alcalino o ácido descrito en la presente memoria incluye formas de sales neutras, cargadas y cualquier forma de sal correspondiente de las mismas.

"Alcohol poliolefínico" se refiere a un polímero que comprende una cadena principal polimérica de olefina, tal como polietileno, que tiene múltiples grupos hidroxilo pendientes anclados al esqueleto polimérico. Un alcohol poliolefínico ilustrativo es poli(alcohol vinílico).

Según se utiliza en la presente memoria, "no peptídico" se refiere a una cadena principal polimérica sustancialmente libre de enlaces peptídicos. Sin embargo, el polímero puede incluir un número menor de conexiones peptídicas espaciadas a lo largo de las subunidades monoméricas repetitivas, tal como, por ejemplo, no más de aproximadamente 1 enlace peptídico por aproximadamente 50 unidades monoméricas.

El término "paciente" se refiere a un organismo vivo que sufre o es propenso a una afección que puede prevenirse o tratarse mediante la administración de un polímero descrito en la presente memoria, típicamente pero no necesariamente en forma de un producto conjugado de polímero-agente activo, e incluye tanto seres humanos y animales.

"Opcional" o "opcionalmente" significa que la circunstancia descrita subsiguientemente puede ocurrir o no, de manera que la descripción incluye casos en los que ocurre la circunstancia y los casos en los que no ocurre.

Una "molécula pequeña" puede definirse ampliamente como un compuesto orgánico, inorgánico u organometálico que tiene típicamente un peso molecular de menos de aproximadamente 1.000. Las moléculas pequeñas descritas en la presente memoria abarcan oligopéptidos y otras biomoléculas que tienen un peso molecular de menos de aproximadamente 1.000.

Un "radical agente activo" en referencia a un producto conjugado de profármaco de la invención, se refiere a la porción o residuo del agente activo principal no modificado hasta el enlace covalente resultante del anclaje covalente del fármaco (o una forma activada o químicamente modificada del mismo) a un polímero de la invención. Tras la hidrólisis de la conexión hidrolizable entre el radical agente activo y el polímero de múltiples brazos, se libera el agente activo per se.

Descripción de los productos conjugados de profármaco polimérico multibrazo

Como se ha descrito generalmente en lo que antecede, los productos conjugados poliméricos de la invención comprenden un polímero multibrazo no peptídico y soluble en agua anclado covalentemente a cuatro compuestos de agente activo. Los productos conjugados de la invención son típicamente profármacos, lo que significa que el agente activo, anclado al polímero a través de un enlace hidrolíticamente degradable, se libera a lo largo del tiempo después de la administración del producto conjugado a un sujeto. Además, los productos conjugados de la invención son composiciones bien caracterizadas, aislables y purificables, en comparación, por ejemplo, con una matriz polimérica degradable que tiene moléculas de fármaco encapsuladas en la misma. Los productos conjugados de la invención exhiben características de carga de fármaco más altas cuando se comparan con sus homólogos basados

en polímeros lineales, disminuyendo así el peso de dosificación total necesario para tratar un estado de enfermedad concreto. Es decir, el armazón de polímero de la invención es eficaz para unir covalentemente múltiples moléculas de agente activo al mismo, permitiendo de este modo que se administre una mayor cantidad de agente terapéutico (es decir, agente activo) por peso dado de polímero cuando se compara con un polímero monofuncional o bifuncional lineal de aproximadamente el mismo tamaño pero que tiene solamente una o dos moléculas de agente activo unidas al mismo. Los polímeros utilizados en la invención son de naturaleza hidrófila, confiriendo de este modo carácter hidrófilo a los productos conjugados resultantes, lo que, particularmente en el caso de agentes activos insolubles en agua, facilita su formulación en composiciones farmacéuticas útiles.

Típicamente, el peso molecular medio numérico total de la porción polimérica multibrazo global de un producto conjugado de polímero descrito en la presente memoria es de aproximadamente 1.000 daltons (Da) a aproximadamente 100.000 Da, más preferiblemente de aproximadamente 10.000 Da a aproximadamente 60.000 Da, lo más preferiblemente de aproximadamente 15.000 a aproximadamente 60.000 Da. Son particularmente preferidos los polímeros de múltiples brazos que tienen un peso molecular medio numérico de aproximadamente 5.000 Da, aproximadamente 8.000 Da, aproximadamente 10.000 Da, aproximadamente 12.000 Da, aproximadamente 15.000 Da, aproximadamente 20.000 Da, aproximadamente 25.000 Da, aproximadamente 30.000 Da, aproximadamente 35.000 Da, aproximadamente 40.000 Da, aproximadamente 45.000 Da, aproximadamente 50.000 Da, y aproximadamente 60.000 Da. Son particularmente preferidos los polímeros de múltiples brazos que tienen un peso molecular de 20.000 Da o más, es decir, de aproximadamente 20.000 Da, o 25.000 Da, o 30.000 Da, o 40.000 Da o 50.000 Da, o 60.000 Da, para aplicaciones de direccionamiento de tumores. El peso molecular real del polímero de múltiples brazos dependerá, por supuesto, del número de brazos de polímero y del peso molecular de cada brazo de polímero en el polímero general multibrazo.

La conexión entre la porción polimérica de múltiples brazos y el agente activo es preferiblemente degradable hidrolíticamente para la liberación *in vivo* de la molécula de fármaco original a lo largo del tiempo. Las conexiones hidrolíticamente degradables representativas correspondientes a X en la estructura I incluyen éster carboxilato, éster carbonato, éster fosfato, anhídrido, acetal, cetal, éter de aciloxialquilo, imina, ortoéster y oligonucleótidos. Los ésteres tales como ésteres carboxilato y carbonato son conexiones particularmente preferidas. La conexión concreta y la química de conexión empleadas dependerán del agente activo concreto, de la presencia de grupos funcionales adicionales dentro del agente activo, y similares, y pueden ser determinadas fácilmente por un experto en la técnica basándose en las directrices presentadas en la presente memoria.

Con respecto a los productos conjugados de profármacos multibrazo descritos en la presente memoria, no es necesario que el propio producto conjugado polimérico presente actividad biológica, ya que el fármaco original se libera mediante hidrólisis. Sin embargo, en ciertos ejemplos, el producto conjugado polimérico mantiene al menos un grado medible de actividad. Es decir, en algunos casos, un producto conjugado polimérico de múltiples brazos posee en cualquier lugar de aproximadamente 1% a aproximadamente 100% o más de la actividad específica del compuesto original no modificado. Es decir, un profármaco polimérico de múltiples brazos descrito en la presente memoria poseerá de aproximadamente 1% a aproximadamente 100% de bioactividad con respecto al agente activo principal no modificado, antes de la conjugación. Dicha actividad se puede determinar utilizando un modelo *in vivo* o *in vitro*, dependiendo de la actividad conocida del compuesto original concreto. Para los fármacos anticancerosos, la actividad anticancerosa *in vivo* se evalúa típicamente mediante la comparación de las tasas de crecimiento de los implantes tumorales en los grupos tratados con fármaco y de control de ratones atómicos utilizando modelos animales bien establecidos (Véanse, por ejemplo, los Ejemplos 2 y 6). La actividad anticancerosa está indicada por velocidades de crecimiento tumoral más lentas en el grupo tratado con respecto al grupo de control (J.W. Singer, et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 922: 136-150, 2000). En general, ciertos productos conjugados poliméricos descritos en la presente memoria poseerán una actividad específica de al menos 2%, 5%, 10%, 15%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 80%, 90% o más con respecto a la del fármaco original no modificado cuando se mide en un modelo adecuado.

Como se demuestra en los Ejemplos 2, 6 y 7, los productos conjugados de profármacos poliméricos preferidos de la invención muestran propiedades mejoradas en comparación con sus contrapartes de fármacos originales no modificados. Los productos conjugados poliméricos descritos en la presente memoria presentan una penetración y retención mejoradas (EPR) en tejidos diana acumulándose pasivamente en dichos tejidos, para proporcionar el suministro dirigido del fármaco a los sitios deseados en el organismo (véase Matsumara Y, Maeda H. "A NEW CONCEPT FOR MACROMOLECULAR THERAPEUTICS IN CANCER THERAPY; MECHANISM OF TUMORITROPIC ACCUMULATION OF PROTEINS AND THE ANTITUMOUR AGENT SMANCS", Cancer Res 1986; 46:6387-92).

Además, la gravedad de los efectos secundarios asociados con la administración de los productos conjugados poliméricos descritos en la presente memoria es preferiblemente comparable a, o incluso más preferiblemente, es menor que, los efectos secundarios asociados con la administración del compuesto original. En particular, los productos conjugados preferidos, particularmente aquellos que comprenden 3 o más moléculas de un agente anticanceroso tal como irinotecán, cuando se administran a un paciente, dan lugar a reducción de la leucopenia y la diarrea cuando se comparan con la molécula de fármaco original no modificada. La gravedad de los efectos

secundarios de agentes anticancerosos tales como camptotecina y compuestos similares a camptotecina puede ser fácilmente evaluada (véase, por ejemplo, Kado, et al., Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 6 de Agosto de 2003). Se cree que los productos conjugados poliméricos descritos presentan reducción de los efectos secundarios en comparación con el fármaco original no conjugado, en parte, debido a la acumulación de las moléculas conjugadas en el tejido diana y lejos de otros sitios de probable toxicidad. Cada una de estas características de los profármacos de la invención se describirá ahora con mayor detalle a continuación.

Características estructurales del profármaco polimérico

Como se ha descrito anteriormente, un profármaco ilustrativo comprende un polímero multibrazo, es decir, que tiene tres o más brazos, donde el producto conjugado comprende la siguiente estructura generalizada:



Cada brazo del profármaco de múltiples brazos es independiente del otro. Es decir, cada uno de los brazos "q" del profármaco puede estar compuesto por un Q, POLY₁, X, D diferentes etcétera. Típico de tales ejemplos, una estructura generalizada corresponde a: R[(-Q₁-POLY_{1A}-X₁-D₁)(Q₂-POLY_{1B}-X₂-D₂)(Q₃-POLY_{1C}-X₃-D₃)] etcétera para cada uno de los brazos que emanan del núcleo orgánico central. Generalmente, sin embargo, cada brazo del profármaco de múltiples brazos es el mismo.

A continuación se describirán en detalle cada uno de los componentes variables de la estructura I.

Núcleo orgánico, "R"

En la estructura I, R es un radical núcleo orgánico que posee de aproximadamente 3 a aproximadamente 150 átomos de carbono. Preferiblemente, R contiene de aproximadamente 3 a aproximadamente 50 átomos de carbono, e incluso más preferiblemente, R contiene de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono. Es decir, R puede poseer un número de átomos de carbono seleccionado del grupo que consiste en 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10. El núcleo orgánico puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos (p.ej., O, S, o N), dependiendo por supuesto de la molécula núcleo particular empleada. R puede ser lineal o cíclico, y típicamente, emanando del mismo hay al menos 3 brazos poliméricos independientes, tres o más de los cuales tienen al menos un radical agente activo anclado covalentemente a los mismos. Observando la Estructura I, "q" corresponde al número de brazos de polímero que emanan de "R". En algunos casos, uno o más de los brazos poliméricos pueden no tener un agente activo anclado covalentemente a los mismos, sino que pueden tener un grupo funcional relativamente no reactivo o sin reaccionar en su extremo, resultante de una síntesis que no pudo completarse. En este caso, D está ausente y la estructura individual de al menos uno de los brazos poliméricos está en su forma precursora (o es un derivado de la misma), es decir, que no tiene en su extremo un agente activo, D, sino más bien un grupo funcional que no ha reaccionado.

El radical orgánico núcleo central, R, deriva de una molécula que proporciona varios sitios anclaje de polímero aproximadamente igual al número deseado de brazos de polímero hidrosoluble y no peptídico. Preferiblemente, la molécula núcleo central de la estructura polimérica de múltiples brazos es el residuo de un poliol, politiol o una poliamina que porta al menos tres grupos hidroxilo, tiol o amino disponibles para la unión del polímero. Un "poliol" es una molécula que comprende una pluralidad (mayor de 2) de grupos hidroxilo disponibles. Un "politiol" es una molécula que posee una pluralidad (mayor de 2) de grupos tiol. Una "poliamina" es una molécula que comprende una pluralidad (mayor de 2) de grupos amino disponibles. Dependiendo del número deseado de brazos poliméricos, el poliol, poliamina o politiol precursores (antes del anclaje covalente de POLY₁) contendrán típicamente de 3 a aproximadamente 25 grupos hidroxilo, o grupos amino o grupos tiol, respectivamente, preferiblemente de 3 a aproximadamente 10 grupos hidroxilo, grupos amino o grupos tiol (es decir, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10), lo más preferiblemente, contendrá de 3 a 8 (p.ej., 3, 4, 5, 6, 7 u 8) grupos hidroxilo, amino o tiol adecuados para el anclaje covalente de POLY₁. El poliol, la poliamina o el politiol pueden incluir también otros grupos funcionales protegidos o no protegidos. Centrándose en los núcleos orgánicos derivados de polioles o poliaminas, aunque el número de átomos intermedios entre cada grupo hidroxilo o amino variará, los núcleos preferidos son aquellos que tienen una longitud de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 átomos núcleo intermedios, tales como átomos de carbono, entre cada grupo hidroxilo o amino, preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5. Al referirse a átomos núcleo intermedios y la longitudes se considera que -CH₂-, por ejemplo, tiene una longitud de un átomo intermedio, aunque el propio grupo metileno contiene tres átomos totales, puesto que los H son sustituyentes en el carbono y se considera que -CH₂CH₂-, por ejemplo, tiene una longitud de dos átomos de carbono, etc. El precursor de poliol o poliamina particular depende del número deseado de brazos de polímero en el producto conjugado final. Por ejemplo, una molécula núcleo de poliol o poliamina que tiene 4 grupos funcionales, Q, es adecuada para preparar un profármaco de acuerdo con la estructura I que tiene cuatro brazos de polímero extendidos desde allí y anclados covalentemente al agente activo.

El núcleo de poliol o poliamina precursor tendrá típicamente una estructura R-(OH)_p o R-(NH₂)_p antes de la

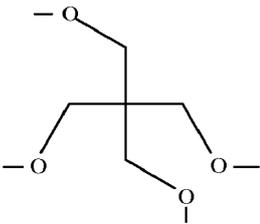
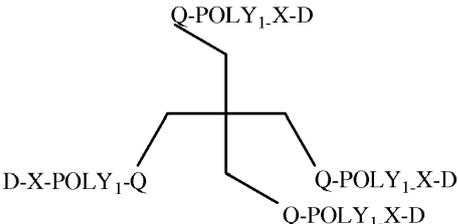
funcionalización con un polímero. El valor de p corresponde al valor de q en la estructura I, ya que cada grupo funcional, típicamente -OH o -NH₂, en la molécula orgánica núcleo original, si es estéricamente accesible y reactiva, está anclado covalentemente a un brazo polimérico, POLY₁. Obsérvese que en la estructura I, la variable "Q", cuando se toma junto con R, representa típicamente un residuo del radical orgánico núcleo como se describe en la presente memoria. Es decir, cuando se describen moléculas núcleo orgánicas preferidas, particularmente por su nombre, las moléculas núcleo se describen en su forma precursora, en lugar de en su forma de radical después de la eliminación, por ejemplo, de un protón. Por lo tanto, si, por ejemplo, el radical núcleo orgánico deriva de pentaeritritol, el poliol precursor posee la estructura C(CH₂OH)₄, y el radical núcleo orgánico, junto con Q, corresponde a C(CH₂O)₄, donde Q es O.

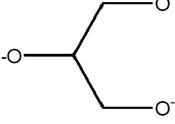
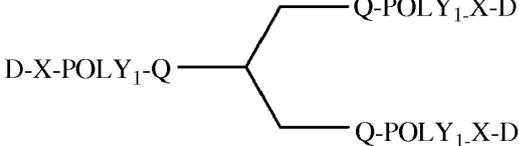
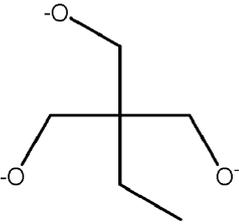
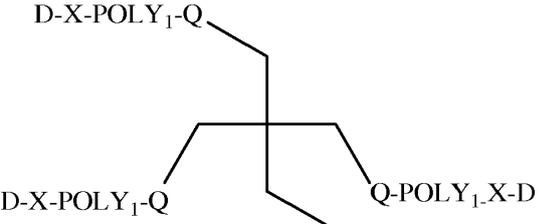
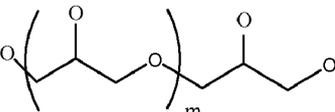
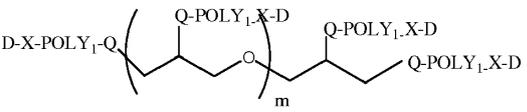
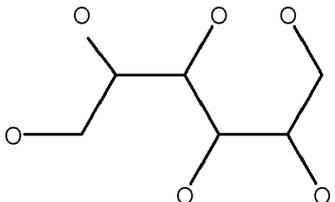
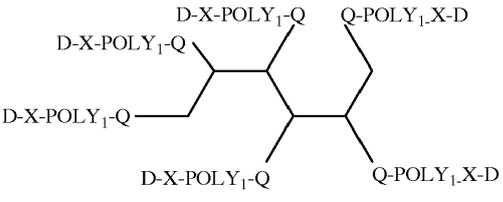
Los polioles ilustrativos que se prefieren para su uso como núcleo polimérico incluyen polioles alifáticos que tienen de 1 a 10 átomos de carbono y de 1 a 10 grupos hidroxilo, incluyendo, por ejemplo, etilenglicol, alcanodiolos, alquilglicoles, alquilidenalquidolios, 1,5-decalindiol, 4,8-bis(hidroximetil)tricyclodecano, cicloalquilidendiolos, dihidroxialcanos, trihidroxialcanos y similares. Los polioles cicloalifáticos incluyen azúcares y alcoholes de azúcar de cadena lineal o de anillo cerrado, tales como manitol, sorbitol, inositol, xilitol, quebrachitol, treitol, arabitol, eritritol, adonitol, dulcitol, facosa, ribosa, arabinosa, xilosa, lixosa, ramnosa, galactosa, glucosa, fructosa, sorbosa, manosa, piranosa, altrosa, talosa, tagitosa, piranosidos, sacarosa, lactosa, maltosa y similares. Los ejemplos adicionales de polioles alifáticos incluyen derivados de gliceraldehído, glucosa, ribosa, manosa, galactosa y estereoisómeros relacionados. También pueden utilizarse polioles aromáticos, tales como 1,1,1-tris(4'-hidroxifenil)alcanos, tales como 1,1,1-tris(4'-hidroxifenil)etano, (1,3-adamantanodiol)difenol, 2,6-bis(hidroxialquil)cresoles, 2,2'-alquilen-bis(t-butilfenoles), catecol, alquilatecol, pirogalol, fluoroglicinol, 1,2,4-benzenotriol, resorcinol, alquilresorcinolos, dialquilresorcinolos, monohidrato de orcinol, olivetol, hidroquinona, alquilhidroquinonas, 1,1-bi-2-naftol, fenil-hidroquinonas, dihidroxinaftalenos, 4,4'-(9-fluoreniliden)-difenol, antarobina, ditranol, bis(hidroxifenil)metano bifenoles, dialquilestilbesterolos, bis(hidroxifenil)alcanos, bisfenol A y derivados de los mismos, mesohexesterol, ácido nordihidroguaiarético, calixarenos y derivados de los mismos, ácido tánico y similares. Otros polioles núcleo que se pueden utilizar incluyen éteres corona, ciclodextrinas, dextrinas y otros carbohidratos (p.ej., monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, almidones y amilasa).

Los polioles preferidos incluyen glicerol, trimetilolpropano, azúcares reductores tales como sorbitol o pentaeritritol, y oligómeros de glicerol, tales como hexaglicerol. Se puede sintetizar un polímero de 21 brazos utilizando hidroxipropil-β-ciclodextrina, que tiene 21 grupos hidroxilo disponibles.

Las poliaminas ilustrativas incluyen poliaminas alifáticas tales como dietilentriamina, N,N,N'-trimetildietilen triamina, pentametildietilentriamina, trietilentetramina, tetraetilenpentamina, pentaetilenhexamina, dipropilentriamina, tripropilentetramina, bis-(3-aminopropil)-amina, bis-(3-aminopropil)-metilamina, y N,N-dimetil-dipropilen-triamina. Las poliaminas naturales que se pueden utilizar incluyen putrescina, espermidina y espermina. Numerosas pentaminas, tetraminas, oligoaminas y análogos de pentamidina adecuados son descritos por Bacchi et al., en Antimicrobial Agents and Chemotherapy, enero de 2002, pág. 55-61, Vol. 46, Núm. 1.

A continuación se proporcionan estructuras ilustrativas correspondientes a la porción de radical orgánico del producto conjugado, R, y el producto conjugado correspondiente, suponiendo que cada uno de los hidroxilos en el poliol original ha sido transformado en un brazo polimérico. Obsérvese que los radicales orgánicos mostrados a continuación, derivados de los polioles, incluyen los oxígenos que, en el contexto de la estructura I, para los brazos que son brazos poliméricos, se consideran parte de Q. No es necesario que todos los hidroxilos en, por ejemplo, un radical orgánico derivado de poliol, formen parte de un brazo polimérico. En los ejemplos ilustrativos de más abajo, Q se muestra como O, pero también se puede considerar como correspondiente a S, -NH-, o -NH-C(O)-.

RADICAL ORGÁNICO *	PRODUCTO CONJUGADO ILUSTRATIVO
	
II	II-A

RADICAL ORGÁNICO *	PRODUCTO CONJUGADO ILUSTRATIVO
	
III	III-A
	
IV	IV-A
	Véase el producto conjugado más abajo
V	
	
	V-A
m=0-40, preferiblemente 0-10, o 0-5.	
	
VI	VI-A
* Incluye Q	

Conexiones, Q y X.

5 Las conexiones entre el radical orgánico R y el segmento polimérico POLY₁, o entre POLY₁ y el agente activo, D, resultan de la reacción de varios grupos reactivos contenidos dentro de R, POLY₁, y D. La química de acoplamiento particular empleada dependerá de la estructura del agente activo, de la presencia potencial de múltiples grupos funcionales dentro de la molécula activa, de la necesidad de etapas de protección/desprotección, de la estabilidad química del agente activo y similares, y será fácilmente determinada por un experto en la técnica basándose en las presentes directrices. La química de unión ilustrativa útil para preparar los productos conjugados poliméricos descritos en la presente invención puede encontrarse, por ejemplo, en Wong, S.H., (1991), "Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking", CRC Press, Boca Ratón, FL y en Brinkley, M. (1992) "A Brief Survey of Methods for Preparing Protein Conjugates with Dyes, Haptens, and Crosslinking Reagent"s, en Bioconjug. Chem., 3, 2013. Como se ha indicado anteriormente, el enlace global entre el núcleo de polímero de múltiples brazos y cada molécula de fármaco comprende preferiblemente una porción degradable hidrolíticamente, tal como un enlace éster, de manera

10

15 que el agente activo se libera a lo largo del tiempo a partir del núcleo polimérico de múltiples brazos.

Los productos conjugados poliméricos de múltiples brazos proporcionados en la presente memoria (así como las moléculas precursoras de polímero reactivo correspondientes, etcétera) comprenden un segmento conector, Q, y un segmento espaciador, X. Los espaciadores o conectores ilustrativos pueden incluir segmentos tales como los seleccionados independientemente del grupo que consiste en -O-, -S-, -NH-, -C(O)-, -O-C(O)-, -C(O)-O-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-NH-, -O-C(O)-NH-, -C(S)-, -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -O-CH₂-, -CH₂-O-, -O-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-CH₂-O-, -O-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-O-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-O-, -O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-O-, -C(O)-NH-CH₂-, -C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-NH-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-NH-, -C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-, -C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -NH-C(O)-CH₂-, -CH₂-NH-C(O)-CH₂-, -CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-, -NH-C(O)-CH₂-CH₂-, -CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₂-, -C(O)-NH-CH₂-, -C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -O-C(O)-NH-CH₂-, -O-C(O)-NH-CH₂-CH₂-, -O-C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-, -NH-CH₂-CH₂-CH₂-, -NH-CH₂-, -NH-CH₂-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-CH₂-NH-CH₂-, -C(O)-CH₂-, -C(O)-CH₂-CH₂-, -CH₂-C(O)-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-, -O-C(O)-NH-[CH₂]₀₋₆-(OCH₂CH₂)₀₋₂-, -C(O)-NH-(CH₂)₁₋₆-NH-C(O)-, -NH-C(O)-NH-(CH₂)₁₋₆-NH-C(O)-, -O-C(O)-CH₂-, -O-C(O)-CH₂-CH₂-, y -O-C(O)-CH₂-CH₂-CH₂-.

En cualquiera de los ejemplos anteriores, un grupo cicloalquileo simple, p.ej. 1,3 ó 1,4-ciclohexileno, puede reemplazar cualquier grupo alquileo de dos, tres o cuatro carbonos. Sin embargo, para los propósitos de la presente descripción, una serie de átomos no es un radical espaciador cuando la serie de átomos es inmediatamente adyacente a un segmento polimérico soluble en agua y la serie de átomos es solamente otro monómero, de modo que el radical espaciador propuesto representaría una mera extensión de la cadena polimérica. Un espaciador o conector como se describe en la presente memoria también puede comprender una combinación de cualquiera de dos o más de los grupos anteriores, en cualquier orientación.

Haciendo referencia a la estructura I, Q es un conector, preferiblemente uno que es hidrolíticamente estable. Típicamente, Q contiene al menos un heterómero tal como O, S o NH, donde el átomo proximal a R en Q, cuando se toma junto con R, representa típicamente un residuo del radical orgánico núcleo R. Generalmente, Q contiene de 1 a aproximadamente 10 átomos, o de 1 a aproximadamente 5 átomos. Q contiene típicamente uno del siguiente número de átomos: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Los Q ilustrativos incluyen O, S, o -NH-C(O)-.

De nuevo en referencia a la estructura I, X es un espaciador que comprende una conexión hidrolizable, donde la conexión hidrolizable está anclada directamente al agente activo, D. Típicamente, está contenido al menos un átomo de la conexión hidrolizable en el agente activo en su estado no modificado de forma que al hidrolizar la conexión hidrolizable comprendida dentro de X, se libera el agente activo D. En términos generales, el espaciador tiene una longitud de átomos de aproximadamente 4 átomos a aproximadamente 50 átomos, o más preferiblemente de aproximadamente 5 átomos a aproximadamente 25 átomos, o aún más preferiblemente de aproximadamente 5 átomos a aproximadamente 20 átomos. Típicamente, el espaciador tiene una longitud de átomos seleccionada del grupo que consiste en 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20. Cuando se considera la longitud de la cadena de átomos, sólo se consideran los átomos que contribuyen a la distancia total. Por ejemplo, un espaciador que tiene la estructura, -CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-O-C(O)-O-, tiene una longitud de cadena de 11 átomos, ya que no se considera que los sustituyentes contribuyan significativamente a la longitud del espaciador.

En otro ejemplo concreto adicional, X posee la estructura: Y-Z, donde Y es un fragmento espaciador anclado covalentemente a Z, un enlace hidrolíticamente degradable. En ciertos ejemplos, el propio Z no puede constituir un enlace hidrolíticamente degradable, sin embargo, cuando se toma junto con Y, o al menos una porción de Y, forma una conexión que es hidrolíticamente degradable.

En otro nuevo ejemplo concreto del espaciador, X, Y tiene la estructura: -(CR_xR_y)_a-K-(CR_xR_y)_b-(CH₂CH₂O)_c-, en donde cada R₁ y R₂, en cada caso, es independientemente H o un radical orgánico seleccionado del grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo y arilo sustituido, a oscila entre 0 y 12 (es decir, puede ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12), b oscila entre 0 y 12 (es decir, puede ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ó 12), K se selecciona entre -C(O)-, -C(O)-NH-, -NH-C(O)-, -O-, -S-, O-C(O)-, C(O)-O-, O-C(O)-O-, O-C(O)-NH-, NH-C(O)-O-, c oscila entre 0 y 25, y Z se selecciona entre C(O)-O-, OC(O)-O-, -OC(O)-NH- y NH-C(O)-O-. La estructura concreta de K y de Z dependerá de los valores de cada uno de a, b y c, de tal manera que ninguna de las siguientes conexiones da como resultado la estructura global del espaciador X: -OO-, NH-O-, NH-NH-.

Preferiblemente, Y comprende (-CH₂)_a-C(O)NH-(CH₂)_{0,1}-(CH₂CH₂O)₀₋₁₀.

En otro ejemplo más del espaciador, X, Y tiene la estructura: -(CR_xR_y)_a-K-(CR_xR_y)_b-(CH₂CH₂NH)_c-, donde las variables tienen los valores previamente descritos. En ciertos casos, la presencia de los fragmentos cortos de óxido

de etileno o de etilamino en el espaciador X puede ser útil para conseguir buenos rendimientos durante la preparación del producto conjugado de profármaco, puesto que la presencia del conector puede ayudar a eludir problemas asociados con impedimento estérico, debidos al polímero reactivo de múltiples brazos, a la estructura del agente activo, o a una combinación de ambos. Preferiblemente, c se selecciona del grupo que consiste en 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.

Preferiblemente, R_x y R_y en cada aparición son independientemente H o alquilo inferior. En un ejemplo, R_x y R_y son en cada caso H. En otro ejemplo más, "a" oscila entre 0 y 5, es decir, se selecciona entre 0, 1, 2, 3, 4 o 5. En otro ejemplo más, b oscila entre 0 y 5, es decir, se selecciona entre 0, 1, 2, 3, 4 o 5. En otro ejemplo más, c oscila entre 0 y 10. En otra realización más, K es -C(O)-NH. Se pretende que cualquiera de los ejemplos descritos en la presente memoria se aplique no sólo a la estructura general I, sino que también se extienda a combinaciones concretas de realizaciones.

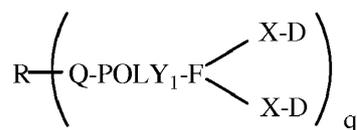
En otro ejemplo más, R_x y R_y en cada caso son H, a es 1, K es -C(O)-NH, y b es 0 ó 1.

Los ejemplos concretos de X incluyen -CH₂-C(O)-NH-CH₂-C(O)- (aquí, Y corresponde a -CH₂-C(O)-NH-CH₂- y Z corresponde a -C(O)-O-), y -CH₂-C(O)-NH-(CH₂CH₂O)₂-C(O)-O- (aquí, Y corresponde a -CH₂-C(O)-NH-(CH₂CH₂O)₂- y Z corresponde a -C(O)-O-).

El polímero, POLY₁

En la estructura I, POLY₁ representa un polímero soluble en agua y no peptídico. POLY₁ en cada brazo polimérico de estructura I se selecciona independientemente, aunque preferiblemente, cada brazo polimérico comprenderá el mismo polímero. Preferiblemente, cada uno de los brazos (es decir, cada "-(Q-POLY₁-X-D) de estructura I es idéntico. Cualquiera de una variedad de polímeros que son no peptídicos ni solubles en agua se puede utilizar para formar un producto conjugado descrito en la presente memoria. Los ejemplos de polímeros adecuados incluyen, sin limitación, poli(alquilenglicoles), copolímeros de etilenglicol y propilenglicol, poli(alcohol olefínico), poli(vinilpirrolidona), poli(hidroxiálquilmetacrilamida), poli(metacrilato de hidroxialquilo), poli(sacáridos), poli(α-hidroxiácido), poli(ácido acrílico), poli(alcohol vinílico), polifosfazeno, polioxazolina, poli(N-acriloilmorfolina), tal como se describe en la Patente de Estados Unidos Núm. 5.629.384 y copolímeros, terpolímeros y mezclas de uno cualquiera o más de los anteriores.

Preferiblemente, POLY₁ es un polietilenglicol o PEG. POLY₁ puede estar en cualquiera de una serie de geometrías o formas, incluyendo cadenas lineales, ramificadas, bifurcadas, etc., aunque preferiblemente POLY₁ es lineal (es decir, en cada brazo de la estructura de brazo múltiple total) o bifurcada. Una estructura preferida para un profármaco polimérico de múltiples brazos que tiene una configuración de polímero "bifurcada" es la siguiente:



XII

F representa un grupo de bifurcación, y las variables restantes son las descritas anteriormente. Preferiblemente, el punto de bifurcación en el grupo de bifurcación, F, comprende o es (-CH), aunque también puede ser un átomo de nitrógeno (N). De esta manera, cada brazo de polímero se bifurca para poseer dos radicales agente activo anclados covalentemente de forma liberable al mismo, en lugar de uno.

Los polímeros bifurcados ilustrativos útiles para preparar un polímero de múltiples brazos del tipo mostrado en la Fig. XII se describen en la Patente de Estados Unidos Núm. 6.362.254.

Cuando POLY₁ es PEG, su estructura comprende típicamente -(CH₂CH₂O)_n-, donde n oscila entre aproximadamente 5 y aproximadamente 400, preferiblemente entre aproximadamente 10 y aproximadamente 350, o entre aproximadamente 20 y aproximadamente 300.

En los ejemplos de multibrazo descritos en la presente memoria, cada brazo de polímero, POLY₁, tiene típicamente un peso molecular correspondiente a uno de los siguientes: 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1.000, 1.500, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000, 6.000, 7.000, 7.500, 8.000, 9.000, 10.000, 12.000, 15.000, 17.500, 18.000, 19.000, 20.000 daltons o mayor. Los pesos moleculares totales para las configuraciones poliméricas de brazos múltiples descritas en la presente memoria (es decir, el peso molecular del polímero de múltiples brazos en su conjunto) corresponden generalmente a uno de los siguientes: 800, 1.000, 1.200, 1.600, 2.000, 2.400, 2.800, 3.200, 3.600, 4.000, 6.000, 8.000, 12.000, 16.000, 20.000, 24.000, 28.000, 30.000, 32.000, 36.000, 40.000, 48.000, 60.000 o más. Típicamente, el peso molecular total para un polímero de múltiples brazos oscila entre aproximadamente 800

y aproximadamente 60.000 daltons.

Agente activo, D.

5 Volviendo ahora a la estructura I, D es un radical agente activo, y q (el número de brazos poliméricos independientes) oscila entre aproximadamente 3 y aproximadamente 50. Preferiblemente, q oscila entre aproximadamente 3 y aproximadamente 25. Más preferiblemente, q es de 3 a aproximadamente 10, y posee un valor de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. El radical agente activo D contiene al menos un grupo funcional adecuado para el anclaje covalente al polímero de múltiples brazos descrito en la presente memoria para formar una conexión hidrolizable, de tal manera que, después de la hidrólisis, el agente activo se libera en su forma no modificada.

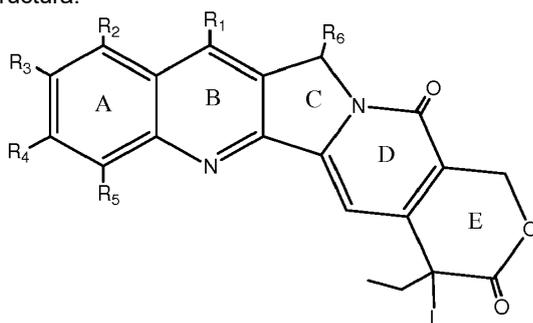
De acuerdo con un ejemplo descrito en la presente memoria, un producto conjugado de profármaco se caracteriza como un polímero que tiene de aproximadamente 3 a aproximadamente 25 moléculas de agente activo ancladas covalentemente al mismo. Más concretamente, el producto conjugado se caracteriza como un polímero soluble en agua que tiene 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 ó 25 moléculas de agente activo ancladas covalentemente al mismo. En un ejemplo adicional, el producto conjugado tiene de aproximadamente 3 a aproximadamente 8 moléculas de agente activo ancladas covalentemente al polímero soluble en agua. Típicamente, aunque no necesariamente, el número de brazos de polímero corresponderá al número de agentes activos anclados covalentemente al polímero soluble en agua.

En otro ejemplo más, en lugar de tener múltiples brazos de polímero que emanan de un núcleo radical orgánico central, un producto conjugado se caracteriza como un polímero soluble en agua que tiene radicales de agente activo pendientes anclados covalentemente al mismo, cada uno de los cuales está anclado covalentemente de manera preferible por medio de una conexión degradable. En tal ejemplo, la estructura del producto conjugado de profármaco polimérico se describe generalmente como $POLY_1(X-D)_q$, y donde $POLY_1$, X, D y q son los indicados anteriormente, y el polímero, típicamente un polímero lineal, posee "q" radicales de agente activo anclados al mismo, típicamente a longitudes discretas a lo largo de la cadena polimérica, a través del espaciador X que contiene una conexión hidrolizable.

30 En un ejemplo específico, el radical agente activo es una molécula pequeña que posee un peso molecular inferior a aproximadamente 1.000. En otros ejemplos adicionales, el fármaco de molécula pequeña posee un peso molecular inferior a aproximadamente 800, o incluso inferior a aproximadamente 750. En otro ejemplo más, el fármaco de molécula pequeña posee un peso molecular inferior a aproximadamente 500 o, en algunos casos, incluso inferior a aproximadamente 300.

35 Los radicales agente activo preferidos incluyen agentes anticancerosos. Son particularmente preferidos los oncolíticos que tienen al menos un grupo hidroxilo.

40 Una clase preferida de agentes activos son las camptotecinas. En una realización, una camptotecina para su uso en la invención corresponde a la estructura:



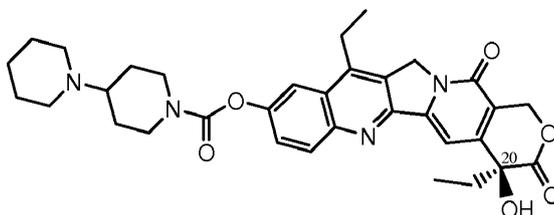
VII

en donde R_1 - R_5 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; halo; acilo; alquilo (p.ej., alquilo C1-C6; alquilo sustituido; alcoxi (p.ej., alcoxi C1-C6; alcoxi sustituido; alquenoilo; alquinoilo; cicloalquilo; hidroxilo; ciano; nitro; azido; amido; hidrazina; amino; amino sustituido (p.ej., monoalquilamino y dialquilamino); hidroxicarbonilo; alcóxicarbonilo; alquilcarbonilo; alquilcarbonilamino; carbamoilo; arilsulfonilo; alquilsulfonilo; $-C(R_7)=N(O)-R_8$ en donde R_7 es H, alquilo, alquenoilo, cicloalquilo o arilo, i es 0 ó 1 y R_8 es H, alquilo, alquenoilo, cicloalquilo o heterociclo; y $R_9C(O)O-$ en donde R_9 es halógeno, amino, amino sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, o $R_{10}-O-(CH_2)_m-$ donde m es un número entero de 1 a 10 y R_{10} es alquilo, fenilo, fenilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclo o heterociclo sustituido; o

50 R_2 junto con R_3 o R_3 junto con R_4 forman metilendioxi sustituido o no sustituido, etilendioxi, o etilenoxi;

R₆ es H o OR', en donde R' es alquilo, alqueniilo, cicloalquilo, haloalquilo o hidroxialquilo; y L es el sitio de anclaje a X.

5 En una realización concreta, D es irinotecán, donde el H en el hidroxilo de la posición 20 está ausente en el producto conjugado de profármaco de múltiples brazos final.



10 Los agentes activos descritos en la presente memoria incluyen hipnóticos y sedantes, energizantes psíquicos, tranquilizantes, fármacos respiratorios, anticonvulsivos, relajantes musculares, agentes antiparkinsonianos (analgésicos de dopamina), analgésicos, antiinflamatorios, fármacos antiangustia (ansiolíticos), supresores del apetito, agentes antimigrañosos, anti-infecciosos (antibióticos, antivirales, antifúngicos, vacunas) antiartríticos, antimaláricos, antieméticos, anepilépticos, broncodilatadores, citocinas, factores de crecimiento, agentes anticancerosos, agentes antitrombóticos, antihipertensivos, fármacos cardiovasculares, antiarrítmicos, antioxidantes,

15 agentes antiasmáticos, agentes hormonales incluyendo anticonceptivos, simpatomiméticos, diuréticos, agentes reguladores de lípidos, agentes anti-androgénicos, antiparasitarios, anticoagulantes, neoplásicos, antineoplásicos, hipoglucemiantes, agentes y suplementos nutricionales, suplementos de crecimiento, agentes antienteritis, vacunas, anticuerpos, agentes de diagnóstico y agentes de contraste.

20 Más concretamente, el agente activo puede entrar en una de varias clases estructurales, incluyendo, pero sin limitarse a, moléculas pequeñas, oligopéptidos, polipéptidos o miméticos, fragmentos o análogos de proteínas, esteroides, nucleótidos, oligonucleótidos, electrolitos y similares. Preferiblemente, un agente activo posee un grupo hidroxilo, carboxilo, tio, amino, o similar libre (es decir, "asa") adecuado para la anclaje covalente al polímero. Preferiblemente, un agente activo posee al menos un grupo funcional adecuado para formar una conexión

25 hidrolizable cuando se hace reaccionar con un precursor polimérico de múltiples brazos adecuado para formar un producto conjugado de profármaco de la invención.

Alternativamente, el fármaco se modifica introduciendo un "asa" adecuada, preferiblemente mediante la conversión de uno de sus grupos funcionales existentes en un grupo funcional adecuado para la formación de una conexión covalente hidrolizable entre el polímero de múltiples brazos y el fármaco. Idealmente, tal modificación no debería afectar adversamente al efecto terapéutico o la actividad del agente activo en un grado significativo. Es decir, cualquier modificación de un agente activo para facilitar su fijación a un polímero de múltiples brazos descrito en la presente memoria debería dar como resultado una reducción de su bioactividad no mayor de aproximadamente 30%

30 con respecto al agente activo principal conocido antes de la modificación. Más preferiblemente, cualquier modificación de un agente activo para facilitar su anclaje a un polímero de múltiples brazos, preferiblemente da como resultado una reducción de su actividad relativa al agente activo principal conocido antes de la modificación de no más de aproximadamente 25%, 20%, 15%, 10% o 5%.

Los ejemplos específicos de agentes activos incluyen proteínas, miméticos de molécula pequeña y fragmentos activos (incluyendo variantes) de los siguientes: asparaginasa, amdoxovir (DAPD), antide, becaplermina, calcitoninas, cianovirina, denileucina diftotox, eritropoyetina (EPO), agonistas de EPO (p.ej., péptidos de aproximadamente 10-40 aminoácidos de longitud y que comprenden una secuencia núcleo particular como se describe en el documento WO 96/40749), dornasa alfa, proteína estimuladora de la eritropoyesis (NESP), factores de coagulación tales como Factor V, Factor VII, Factor VIIa, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XII, Factor XIII, factor de von Willebrand;

40 ceredasa, cerezima, alfa-glucosidasa, colágeno, ciclosporina, alfa defensinas, beta defensinas, exedina-4, factor estimulador de colonias de granulocitos (GCSF), trombopoyetina (TPO), inhibidor de alfa-1 proteinasa, elcatonina, factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos), fibrinógeno, filgrastim, hormonas del crecimiento, hormona de crecimiento humano (hGH), hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH), GRO-beta, anticuerpo GRO-beta, proteínas morfogénicas óseas tales como la proteína 2 morfogénica ósea, la proteína 6 morfogénica ósea, OP-1; factor de crecimiento de fibroblastos ácido, factor de crecimiento de fibroblastos básico,

45 ligando CD-40, heparina, albúmina de suero humano, heparina de bajo peso molecular (LMWH), interferones tales como interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, interferón omega, interferón tau, interferón consenso; interleuquinas y receptores de interleuquinas tales como receptor de interleuquina-1, interleuquina-2, proteínas de fusión de interleuquina-2, antagonista del receptor de interleuquina-1, interleuquina-3, interleuquina-4, receptor de interleuquina-4, interleuquina-6, interleuquina-8, interleuquina-12, receptor de interleuquina-13, receptor de interleuquina-17; lactoferrina y fragmentos de lactoferrina, hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH), insulina, pro-insulina, análogos de insulina (p.ej., insulina mono-acilada como se describe en Patente de Estados

50

55

Unidos Núm. 5.922.675), amilina, péptido C, somatostatina, análogos de somatostatina incluyendo octreotida, vasopresina, hormona estimuladora del folículo (FSH), vacuna contra la gripe, factor de crecimiento de tipo insulínico (IGF), insulintropina, factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF) tales como alteplasa, uroquinasa, reteplasa, estreptoquinasa, pamiteplasa, lanoteplasa y tenetepasa; factor de crecimiento nervioso (NGF), osteoprotegerina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factores de crecimiento de tejidos, factor de crecimiento transformante 1, factor de crecimiento del endotelio vascular, factor de inhibición de la leucemia, factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), factor de crecimiento glial (GGF), receptores de células T, moléculas CD/antígenos, factor de necrosis tumoral (TNF), proteína quimioattractiva monocítica 1, factores de crecimiento endotelial, hormona paratiroidea (PTH), péptido tipo glucagón, somatotropina, timosina alfa 1, inhibidor IIb/IIIa de timosina alfa 1, timosina beta 10, timosina beta 9, timosina beta 4, alfa-1 antitripsina, compuestos de fosfodiesterasa (PDE), VLA-4 (antígeno 4 muy tardío), inhibidores de VLA-4, bifosponatos, anticuerpo del virus sincitial respiratorio, gen regulador transmembrana de fibrosis quística CFTR, desoxirribonucleasa (ADNasa), proteína bactericida/de aumento de permeabilidad (BPI) y anticuerpo anti-CMV. Los anticuerpos monoclonales ilustrativos incluyen etanercept (una proteína de fusión dimérica que consiste en la porción de unión al ligando extracelular del receptor de TNF de 75 kD humano conectada a la porción Fc de IgG1), abciximab, afeliomab, basiliximab, daclizumab, infliximab, ibitumomab tiuxetan, mitumomab, muromonab-CD3, producto conjugado de yodo 131 tositumomab, olizumab, rituximab y trastuzumab (herceptina).

Los agentes adicionales adecuados incluyen amifostina, amiodarona, ácido aminocaproico, aminohipurato sódico, aminoglucetimidina, ácido aminolevulínico, ácido aminosalicílico, amsacrina, anagrelida, anastrozol, asparaginasa, antraciclina, bexaroteno, bicalutamida, bleomicina, buserelina, busulfán, cabergolina, capecitabina, carboplatino, carmustina, clorambucilo, cilastatina sódica, cisplatino, cladribina, clodronato, ciclofosfamida, ciproterona, citarabina, camptotecinas, ácido 13-cis retinoico, ácido todo trans-retinoico; dacarbazina, dactinomicina, daunorrubicina, deferoxamina, dexametasona, diclofenaco, dietilestilbestrol, docetaxel, doxorubicina, epirubicina, estramustina, etopósido, exemestano, fexofenadina, fludarabina, fludrocortisona, fluorouracilo, fluoximesterona, flutamida, gemcitabina, epinefrina, L-Dopa, hidroxurea, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, irinotecan, itraconazol, goserelina, letrozol, leucovorina, levamisol, lisinopril, lovotiroxina sódica, lomustina, mecloretamina, medroxiprogesterona, megestrol, melfalán, mercaptopurina, bitartrato de metaraminol, metotrexato, metoclopramida, mexiletina, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, naloxona, nicotina, nilutamida, octreotida, oxaliplatino, pamidronato, pentostatina, pilcamicina, porfímero, prednisona, procarbazona, proclorperazina, ondansetron, raltitrexed, sirolimus, estreptozocina, tacrolimus, tamoxifeno, temozolomida, tenipósido, testosterona, tetrahidrocannabinol, talidomida, tioguanina, tiotepa, topotecán, tretinoína, valrubicina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, dolasetrón, granisetrón; formoterol, fluticasona, leuprolida, midazolam, alprazolam, anfotericina B, podofilotoxinas, antivirales nucleosídicos, aroilhidrazonas, sumatriptán; macrólidos, tales como eritromicina, oleandomicina, troleandomicina, roxitromicina, claritromicina, davericina, azitromicina, fluritromicina, diritromicina, josamicina, espiromicina, mideamicina, leucomicina, miocamicina, rokitamicina, andazitromicina y swinolida A; fluoroquinolonas tales como ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina, trovafloxacina, alatrofloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, enoxacina, grepafloxacina, gatifloxacina, lomefloxacina, esparfloxacina, temafloxacina, pefloxacina, amifloxacina, fleroxacina, tosufloxacina, prulifloxacina, irloxacina, pazufloxacina, clinafloxacina, y sitafloxacina; aminoglucósidos tales como gentamicina, netilmicina, paramecina, tobramicina, ampicacina, kanamicina, neomicina y estreptomina, vancomicina, teicoplanina, rampolanina, mideplanina, colistina, daptomicina, gramicidina, colistimetato; polimixinas tales como polimixina B, capreomicina, bacitracina, penemos; penicilinas incluyendo agentes sensibles a la penicilinas, como penicilina G, penicilina V; agentes resistentes a la penicilinas tales como meticilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, floxacilina, nafcilina; agentes activos contra microorganismos gram negativos como ampicilina, amoxicilina, hetacilina, cillina y galampicilina; penicilinas antipseudomonales como carbenicilina, ticarcilina, azlocilina, mezlocilina y piperacilina; cefalosporinas como cefpodoxima, cefprozil, ceftibuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefalotina, cefapirina, cefalexina, cefradrina, cefoxitina, cefamandol, cefazolina, cefaloridina, cefaclor, cefadroxilo, cefaloglicina, cefuroxima, ceforanida, cefotaxima, cefatrizina, cefacetil, cefepima, cefixima, cefonicid, cefoperazona, cefotetan, cefmetazol, ceftazidima, loracarbef, y moxalactama, monobactamas como aztreonam; y carbapenemos tales como imipenemo, meropenemo, isetonato de pentamidina, sulfato de albuterol, lidocaína, sulfato de metaproterenol, dipropionato de beclometasona, acetamida de triamcinolona, acetónido de budesonida, fluticasona, bromuro de ipratropio, flunisolida, cromolina sódica y tartrato de ergotamina; taxanos tales como paclitaxel; SN-38 y tirfostinas.

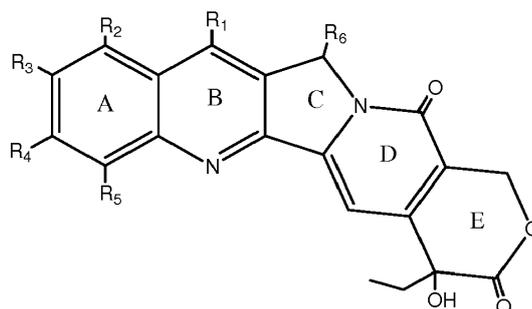
Se pretende que los fármacos ilustrativos anteriores abarquen, cuando sea aplicable, análogos, agonistas, antagonistas, inhibidores, isómeros, formas polimorfas y formas de sal farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Como se ha descrito anteriormente, una clase preferida de agentes activos son las camptotecinas. El término "compuesto de camptotecina" según se utiliza en la presente memoria incluye el alcaloide vegetal 20(S)-camptotecina, así como derivados farmacéuticamente activos, análogos y metabolitos del mismo. Los ejemplos de derivados de camptotecina incluyen, pero no se limitan a, 9-nitro-20(S)-camptotecina, 9-amino-20(S)-camptotecina, 9-metil-camptotecina, 9-cloro-camptotecina, 9-fluoro-camptotecina, 7-etilcamptotecina, 10-metil-camptotecina, 10-cloro-camptotecina, 10-bromo-camptotecina, 10-fluoro-camptotecina, 9-metoxi-camptotecina, 11-fluoro-

camptotecina, 7-etil-10-hidroxycamptotecina (SN38), 10,11-metilendioxicamptotecina y 10,11-etilendioxicamptotecina y 7-(4-metilpiperazinometileno)-10,11-metilendioxicamptotecina, 7-etil-10-(4-(1-piperidin)piperidin-1-piperidino)-carboniloxi-camptotecina, 9-hidroxi-camptotecina y 11-hidroxi-camptotecina. Los compuestos de camptotecina particularmente preferidos incluyen camptotecina, irinotecán y topotecán.

El alcaloide vegetal camptotecina, nativo e insustituido, se puede obtener por medio de la purificación del extracto natural, o se puede obtener de la Fundación Stehlin para la Investigación del Cáncer (Houston, Texas). Las camptotecinas sustituidas se pueden obtener utilizando métodos conocidos en la literatura o se pueden obtener de proveedores comerciales. Por ejemplo, la 9-nitro-camptotecina se puede obtener de SuperGen, Inc. (San Ramon, Calif.) y la 9-amino-camptotecina se puede obtener de Idec Pharmaceuticals (San Diego, Calif.). La camptotecina y diversos análogos y derivados también se pueden obtener de las casas convencionales de suministro de productos químicos finos, tales como Sigma Chemicals.

Los compuestos de camptotecina preferidos se ilustran a continuación en la Fórmula XI.



Fórmula XI

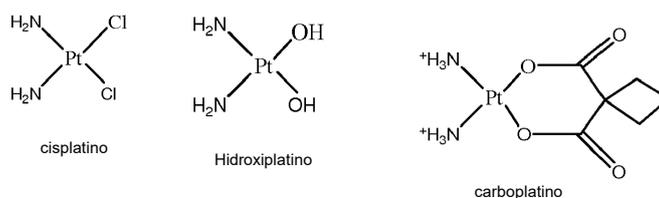
en donde R₁-R₅ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; halo; acilo; alquilo (p.ej., alquilo C1-C6; alquilo sustituido; alcoxi (p.ej., alcoxi C1-C6; alcoxi sustituido; alquenilo; alquinilo; cicloalquilo; hidroxilo; ciano; nitro; azido; amido; hidrazina; amino; amino sustituido (p.ej., monoalquilamino y dialquilamino); hidroxicarbonilo; alcoxicarbonilo; alquilcarboniloxi; alquilcarbonilamino; carbamoiloxi; arilsulfoniloxi; alquilsulfoniloxi; -C(R₇)=N-(O)-R₈ en donde R₇ es H, alquilo, alquenilo, cicloalquilo o arilo, i es 0 ó 1 y R₈ es H, alquilo, alquenilo, cicloalquilo o heterociclo; y R₉C(O)O- en donde R₉ es halógeno, amino, amino sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, o R₁₀-O-(CH₂)_m- donde m es un número entero de 1-10 y R₁₀ es alquilo, fenilo, fenilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclo o heterociclo sustituido; o

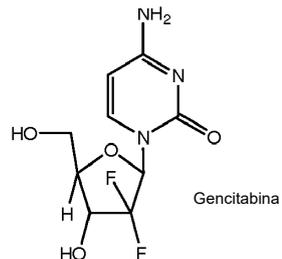
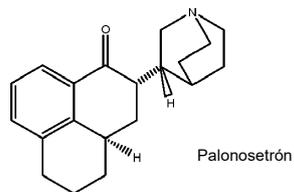
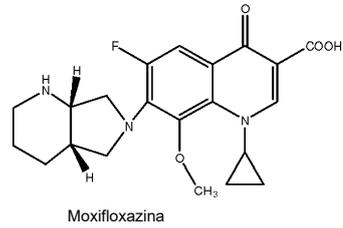
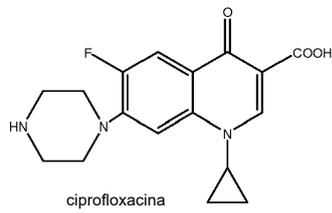
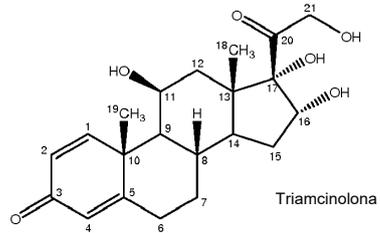
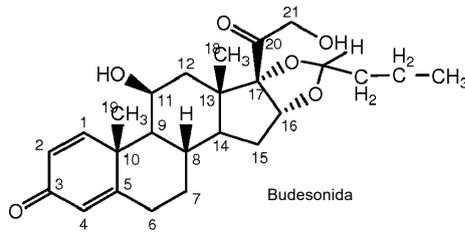
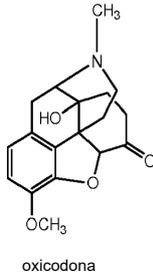
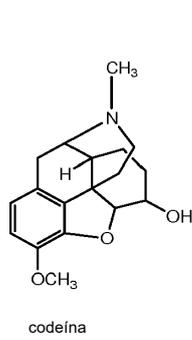
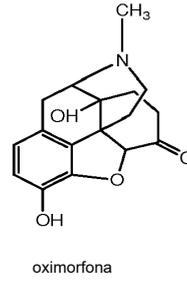
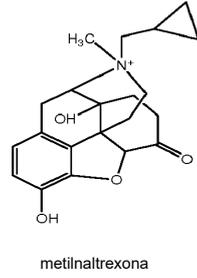
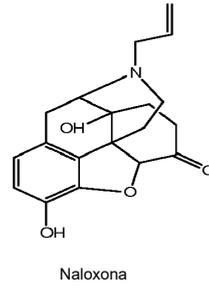
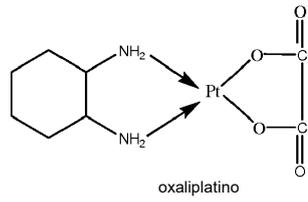
R₂ junto con R₃ o R₃ junto con R₄ forman metilendioxi sustituido o no sustituido, etilendioxi, o etilenoxi; y R₆ es H o OR', en donde R' es alquilo, alquenilo, cicloalquilo, haloalquilo o hidroxialquilo.

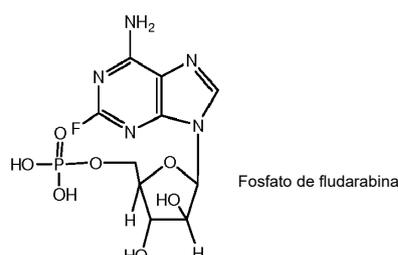
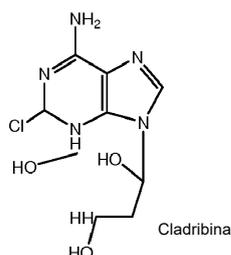
Los grupos sustituyentes ilustrativos incluyen grupos hidroxilo, amino, amino sustituido, halo, alcoxi, alquilo, ciano, nitro, hidroxicarbonilo, alcoxicarbonilo, alquilcarboniloxi, alquilcarbonilamino, arilo (p.ej., fenilo), heterociclo y glicosilo.

En un ejemplo, la molécula pequeña no es taxol, o no está basada en taxanos.

Otros agentes activos preferidos para preparar un producto conjugado de profármaco polimérico de múltiples brazos como se describe en la presente memoria incluyen platinos, análogos de oximorfona, esteroides, quinolonas, isoquinolonas y fluoroquinolonas y nucleósidos y nucleótidos. A continuación se proporcionan estructuras de compuestos ilustrativos pertenecientes a cada una de las clases estructurales anteriores.







Método de formación de un producto conjugado de profármaco polimérico de múltiples brazos

- 5 Los polímeros reactivos de múltiples brazos, tales como aquellos para preparar un profármaco descrito en la presente memoria, pueden prepararse fácilmente a partir de sustancias de partida disponibles comercialmente, en vista de las directrices presentadas en la presente memoria, junto con lo que se conoce en la técnica de síntesis química.
- 10 Los PEG de múltiples brazos terminados en hidroxilo que tienen un núcleo de pentaeritritol o un núcleo de glicerol están disponibles en Nektar, Huntsville, Alabama. Tales PEG de múltiples brazos se pueden utilizar directamente para acoplarse a agentes activos que tienen, por ejemplo, un grupo carboxilo en una posición adecuada para su acoplamiento, p.ej., para proporcionar un profármaco polimérico que tiene un enlace de éster carboxílico hidrolizable. Alternativamente, los hidroxilos terminales presentes en un precursor polimérico de múltiples brazos
- 15 pueden oxidarse a grupos carboxilo terminales, p.ej., para el acoplamiento a hidroxilos presentes en un agente activo.

Alternativamente, se puede preparar sintéticamente un polímero reactivo de múltiples brazos para preparar un profármaco descrito en la presente memoria. Por ejemplo, se puede adquirir cualquiera de una serie de materiales núcleo de poliol adecuados de un proveedor químico tal como Aldrich (St. Louis, MO). Los hidroxilos terminales del poliol se convierten primero en su forma aniónica, utilizando, por ejemplo, una base fuerte, para proporcionar un sitio adecuado para iniciar la polimerización, seguido de polimerización directa de subunidades monoméricas, p.ej., óxido de etileno, sobre el núcleo. Se permite que la construcción de la cadena continúe hasta que se alcanza una longitud deseada de la cadena del polímero en cada uno de los brazos, seguido de la terminación de la reacción, por

25 ejemplo, mediante enfriamiento rápido.

En un enfoque alternativo, se puede preparar sintéticamente un precursor polimérico de múltiples brazos activado para los profármacos proporcionando primero un material de núcleo de poliol deseado y haciendo reaccionar el poliol en condiciones adecuadas con un mesilato de PEG heterobifuncional de una longitud deseada, donde el extremo de PEG no mesilato está opcionalmente protegido para evitar la reacción con el núcleo de poliol. El precursor polimérico de múltiples brazos resultante es adecuado en ese caso para transformaciones adicionales o acoplamiento directo a un agente activo, después de la desprotección si fuera necesario.

30

Los precursores poliméricos de múltiples brazos basados en núcleos de poliamino pueden prepararse, por ejemplo, mediante acoplamiento directo a un reactivo polimérico activado con un agente acilante tal como un éster de NHS, un carbonato de succinimidilo, un éster BTC o similar para proporcionar precursores poliméricos de múltiples brazos que tienen un conector de amida, Q. Alternativamente, una molécula núcleo que tiene múltiples grupos amino puede acoplarse a un polímero terminado con aldehído, tal como un PEG, mediante aminación reductora (usando, por ejemplo, un agente reductor tal como cianoborohidruro sódico) para proporcionar un precursor polimérico de

35

40 múltiples brazos que tiene un conector de amina interno, Q.

Aunque el polímero de PEG se describe como un polímero representativo en las descripciones sintéticas anteriores, tales enfoques se aplican igualmente bien a otros polímeros solubles en agua descritos en la presente memoria.

45 Los profármacos descritos en la presente memoria pueden formarse utilizando técnicas de acoplamiento químico conocidas para el anclaje covalente de polímeros activados, tales como un PEG activado, a un agente biológicamente activo (Véase, por ejemplo, POLY(ETHYLENE GLYCOL) CHEMISTRY AND BIOLOGICAL APPLICATIONS, American Chemical Society, Washington, DC(1997)). La selección de grupos funcionales, conectores, grupos protectores y similares adecuados para conseguir un profármaco polimérico de múltiples brazos descrito en la presente memoria, dependerá, en parte, de los grupos funcionales sobre el agente activo y sobre el material de partida polimérico de múltiples brazos y resultará evidente para un experto en la técnica, basándose en los contenidos de la presente descripción.

50

Un polímero de múltiples brazos adecuado para acoplarse a un agente activo o un agente activo derivatizado tendrá típicamente un grupo funcional terminal tal como el siguiente: carbonato de N-succinimidilo (véanse, p.ej., las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.281.698, 5.468.478), amina (véase, p.ej., Buckmann et al. Makromol. Chem.

55

182:1379 (1981), Zalipsky et al. EUR. Polym. J. 19: 1177 (1983)), hidrazida (Véase, por ejemplo, Andresz et al. Makromol. Chem. 179:301 (1978)), propionato de succinimidilo y butanoato de succinimidilo (véanse, p.ej., Olson et al. en Poly(ethylene glycol) Chemistry & Biological Applications, pág. 170-181, Harris & Zalipsky Eds., ACS, Washington, DC, 1997; véase también la Patente de Estados Unidos Núm. 5.672.662), succinato de succinimidilo (véanse, por ejemplo, Abuchowski et al. Cancer Biochem. Biophys. 7:175 (1984) y Joppich et al., Makromol. Chem. 180:1381 (1979), éster de succinimidilo (véase, p.ej., la Patente de Estados Unidos Núm. 4.670.417), carbonato de benzotriazol (véase, p.ej., la Patente de Estados Unidos Núm. 5.650.234), éter de glicidilo (véase, por ejemplo, Pitha et al. Eur. J. Biochem. 94:11 (1979), Elling et al., Biotech. Appl. Biochem. 13:354 (1991), oxicarbonilimidazol (véanse, p.ej., Beauchamp et al., Anal. Biochem. 131:25 (1983), Tondelli et al. J. Controlled Release 1:251 (1985)), carbonato de p-nitrofenilo (véanse, p.ej., Veronese, et al., Appl. Biochem. Biotech., 11:141 (1985); y Sartore et al., Appl. Biochem. Biotech., 27:45 (1991)), aldehído (véanse, p.ej., Harris et al. J. Polym. Sci. Chem. Ed. 22:341 (1984), la Patente de Estados Unidos Núm. 5.824.784, la Patente de Estados Unidos Núm. 5.252.714), maleimida (véase, p.ej., Goodson et al. Bio/Technology 8:343 (1990), Romani et al. en Chemistry of Peptides and Proteins 2:29 (1984)), y Kogan, Synthetic Comm. 22:2417 (1992)), disulfuro de ortopiridilo (véase, p.ej., Woghiren, et al. Bioconj. Chem. 4:314 (1993)), acrilol (véase, p.ej., Sawhney et al., Macromolecules, 26:581 (1993)), vinilsulfona (véase, p.ej., la Patente de Estados Unidos Núm. 5.900.461).

Volviendo ahora a una de las clases preferidas de agentes activos, las camptotecinas, puesto que el grupo 20-hidroxilo del compuesto de camptotecina sufre impedimento estérico, es difícil conseguir una reacción de conjugación de una sola etapa con rendimientos significativos. Como resultado, un método preferido es hacer reaccionar el grupo 20-hidroxilo con un conector o radical espaciador corto que porta un grupo funcional adecuado para la reacción con un polímero de múltiples brazos. Tal enfoque es aplicable a muchas moléculas pequeñas, particularmente aquellas que tienen un sitio de anclaje covalente que es inaccesible a un polímero reactivo entrante. Los conectores preferidos incluyen t-BOC-glicina u otros aminoácidos que tienen un grupo amino protegido y un grupo ácido carboxílico disponible (véase Zalipsky et al., "Attachment of Drugs to Polyethylene Glycols", Eur. Polym. J., Vol. 19, Núm. 12, pag. 1177-1183 (1983)). El grupo ácido carboxílico reacciona fácilmente con el grupo 20-hidroxilo en presencia de un agente de acoplamiento (p.ej., dicitohexilcarbodiimida (DCC)) y un catalizador base (p.ej., dimetilaminopiridina (DMAP)). A continuación, el grupo protector de amino, tal como t-BOC(N-terc-butoxicarbonilo), se elimina por tratamiento con el agente desprotector apropiado (p.ej., ácido trifluoroacético (TFA) en el caso de t-BOC). El grupo amino libre se hace reaccionar a continuación con un polímero multibrazo o bifurcado que porta grupos ácido carboxílico en presencia de un agente de acoplamiento (p.ej., hidroxibenciltriazol (HOBT)) y una base (p.ej., DMAP).

En un ejemplo preferido, el radical espaciador deriva de, y comprende, un aminoácido y tiene la estructura HO-C(O)-CH(Rⁿ)-NH-Gp en donde Rⁿ es H, alquilo C1-C6 o alquilo C1-C6 sustituido y Gp es un grupo protector que protege el grupo alfa-amino del aminoácido. Los grupos protectores lábiles típicos incluyen t-BOC y FMOC(9-farilniltetrahidrocarbodiimida). t-BOC es estable a temperatura ambiente y se elimina fácilmente con soluciones diluidas de TFA y diclorometano. FMOC es un grupo protector lábil alcalino que se elimina fácilmente mediante soluciones concentradas de aminas (usualmente piperidina al 20-55% en N-metilpirrolidona). Los aminoácidos preferidos incluyen alanina, glicina, isoleucina, leucina, fenilalanina y valina.

También pueden usarse otros radicales espaciadores que tienen un grupo ácido carboxílico disponible u otro grupo funcional reactivo con un grupo hidroxilo y un grupo amino protegido en lugar de los aminoácidos descritos anteriormente. Por ejemplo, se puede emplear un radical espaciador que tiene la estructura HOOC-alquilen-NH-Gp, donde Gp se ha descrito anteriormente y la cadena de alquilen tiene, por ejemplo, una longitud de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono. También se prefieren espaciadores que comprenden grupos -(CH₂CH₂O)_c- cortos o grupos (CH₂CH₂NH)_c, donde c oscila entre aproximadamente 0 a aproximadamente 25. Más concretamente, c posee un valor seleccionado entre 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12.

En un ejemplo concreto mostrado en el Ejemplo 1, la conjugación se consigue haciendo reaccionar primero el compuesto de camptotecina con t-BOC-glicina, seguido de desprotección del grupo amino de glicina y el acoplamiento de la camptotecina modificada con glicina a una molécula de PEG de 4 brazos que comprende un núcleo de pentaeritritol.

En un enfoque alternativo ilustrado en el Ejemplo 8, se proporciona un espaciador bifuncional que comprende varias subunidades -(CH₂CH₂O)-. Un grupo funcional terminal del espaciador es un cloruro de ácido (-OC(O)-Cl) adecuado para la reacción con un grupo hidroxilo del agente activo para formar un éster carbonato (es decir, una conexión hidrolizable), mientras que el otro grupo funcional terminal es una amina protegida. El espaciador bifuncional se acopla al irinotecan, en particular al hidroxilo de la posición 20 del mismo, en presencia de un agente de acoplamiento tal como DMAP para proporcionar un agente activo parcialmente modificado. En el agente activo parcialmente modificado, se ha introducido un enlace hidrolizable, Z, acoplado a un espaciador, Y' que tiene un extremo protegido, que después de la desprotección, es adecuado para la reacción con un polímero de múltiples brazos activado. El agente activo parcialmente modificado se hace reaccionar a continuación con un precursor polimérico de múltiples brazos que tiene un extremo reactivo adecuado para acoplarse a una amina, para

proporcionar un enlace amida estable como parte de la conexión total, X.

El producto profármaco puede purificarse adicionalmente. Los métodos de purificación y aislamiento incluyen precipitación seguida de filtración y secado, así como cromatografía. Los métodos cromatográficos adecuados incluyen cromatografía de filtración en gel y cromatografía de intercambio iónico.

Composiciones farmacéuticas

Se describen en la presente memoria formulaciones o composiciones farmacéuticas, tanto para uso veterinario como para uso médico en seres humanos, que comprenden uno o más profármacos poliméricos o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente cualquier otro ingrediente terapéutico, estabilizantes o similares. El portador o los portadores deben ser farmacéuticamente aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no ser indebidamente perjudiciales para el receptor de los mismos. Las composiciones también pueden incluir excipientes/aditivos o portadores poliméricos, por ejemplo, polivinilpirrolidonas, celulosas derivatizadas tales como hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa, Ficoles (un azúcar polimérico), hidroxietilalmidón (HES), dextratos (p.ej., ciclodextrinas tales como 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina y sulfobutil-éter- β -ciclodextrina), polietilenglicoles y pectina. Las composiciones pueden incluir adicionalmente diluyentes, tampones, aglutinantes, disgregantes, espesantes, lubricantes, conservantes (incluyendo antioxidantes), agentes aromatizantes, agentes enmascaradores del sabor, sales inorgánicas (p.ej., cloruro de sodio), agentes antimicrobianos (p.ej., cloruro de benzalconio), edulcorantes, agentes antiestáticos, tensioactivos (p.ej., polisorbatos tales como "TWEEN 20" y "TWEEN 80", y plurónicos tales como F68 y F88, disponibles de BASF), ésteres de sorbitán, lípidos (p.ej., fosfolípidos tales como lecitina y otras fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas, ácidos grasos y ésteres grasos, esteroides (p.ej., colesterol)), y agentes quelantes (p.ej., EDTA, cinc y otros cationes adecuados). Otros excipientes farmacéuticos y/o aditivos adecuados para su uso en las composiciones se enumeran en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19ª ed., Williams & Williams, (1995), y en "Physician's Desk Reference", 52ª ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), y en "Handbook of Pharmaceutical Excipients", Tercera Ed., Ed. A.H. Kibbe, Pharmaceutical Press, 2000.

Los profármacos descritos en la presente memoria pueden formularse en composiciones que incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, tópica, nasal, oftálmica o parenteral (incluyendo intraperitoneal, intravenosa, subcutánea o intramuscular). Las composiciones se pueden presentar convenientemente en una forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por medio de cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica. Todos los métodos incluyen la etapa de asociar el agente o compuesto activo (es decir, el profármaco) con un portador que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las composiciones se preparan asociando el compuesto activo con un portador líquido para formar una solución o una suspensión, o alternativamente, asociando el compuesto activo con componentes de formulación adecuados para formar un sólido, opcionalmente un producto particulado, y a continuación, si procede, moldeando el producto en una forma de suministro deseada. Las formulaciones sólidas, cuando son particuladas, comprenderán típicamente partículas con tamaños que varían de aproximadamente 1 nanómetro a aproximadamente 500 micrómetros. En general, para las formulaciones sólidas destinadas a la administración intravenosa, las partículas oscilarán típicamente entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 10 micrometros de diámetro. Son particularmente preferidas las composiciones liofilizadas estériles que se reconstituyen en un vehículo acuoso antes de su inyección.

Una formulación preferida es una formulación sólida que comprende el profármaco polimérico de múltiples brazos, en el que el agente activo D es irinotecán. La formulación sólida comprende sorbitol y ácido láctico, y típicamente se diluye con inyección de dextrosa al 5% o inyección de cloruro sódico al 0,9% antes de la infusión intravenosa.

La cantidad de producto conjugado polimérico en la formulación variará dependiendo del antagonista opioide específico empleado, su actividad en forma conjugada, el peso molecular del producto conjugado y otros factores tales como la forma de dosificación, la población de pacientes diana y otras consideraciones, y generalmente será fácilmente determinada por un experto en la técnica. La cantidad de producto conjugado en la formulación será la cantidad necesaria para suministrar una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de camptotecina a un paciente que lo necesite para lograr al menos uno de los efectos terapéuticos asociados con el compuesto de camptotecina, p.ej., tratamiento del cáncer. En la práctica, esto variará ampliamente dependiendo del producto conjugado concreto, su actividad, la gravedad de la afección que se vaya a tratar, la población de pacientes, la estabilidad de la formulación y similares. Las composiciones contendrán generalmente de aproximadamente 1% en peso a aproximadamente 99% en peso de profármaco, típicamente de aproximadamente 2% a aproximadamente 95% en peso de profármaco, y más típicamente de aproximadamente 5% a 85% en peso de profármaco, y también dependerá de las cantidades relativas de excipientes/aditivos contenidos en la composición. Más específicamente, la composición contendrá típicamente al menos aproximadamente uno de los siguientes porcentajes de profármaco: 2%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% o más en peso.

Las composiciones descritas en la presente memoria, adecuadas para administración oral, pueden presentarse

como unidades discretas tales como cápsulas, sellos, comprimidos, pastillas y similares, conteniendo cada una una cantidad predeterminada del agente activo en forma de polvo o gránulos; o una suspensión en un licor acuoso o líquido no acuoso tal como un jarabe, un elixir, una emulsión, un trago y similares.

5 Se puede preparar un comprimido por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos se pueden preparar por compresión en una máquina adecuada, estando el compuesto activo en una forma de flujo libre tal como un polvo o gránulos que se mezcla opcionalmente con un aglutinante, disgregante, lubricante, diluyente inerte, agente tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados formados con un portador adecuado se pueden fabricar mediante moldeo en una máquina adecuada.

10 Se puede preparar un jarabe añadiendo el compuesto activo a una solución acuosa concentrada de un azúcar, por ejemplo sacarosa, a la que también se pueden añadir uno o varios ingredientes accesorios cualesquiera. Tales ingredientes accesorios pueden incluir aromatizantes, conservantes adecuados, un agente para retardar la cristalización del azúcar, y un agente para aumentar la solubilidad de cualquier otro ingrediente, tal como alcohol polihidroxilado, por ejemplo, glicerol o sorbitol.

15 Las formulaciones adecuadas para administración parenteral comprenden convenientemente una preparación acuosa estéril del producto conjugado de profármaco, que puede formularse para que sea isotónica con la sangre del receptor.

20 Las formulaciones de pulverización nasal comprenden soluciones acuosas purificadas del agente activo con agentes conservantes y agentes isotónicos. Tales formulaciones se ajustan preferiblemente a un pH y estado isotónico compatible con las membranas mucosas nasales.

25 Las formulaciones para administración rectal pueden presentarse como un supositorio con un portador adecuado tal como manteca de cacao, o grasas hidrogenadas o ácidos carboxílicos grasos hidrogenados.

30 Las formulaciones oftálmicas se preparan mediante un método similar a la pulverización nasal, excepto que el pH y los factores isotónicos se ajustan preferiblemente para que se ajusten a los del ojo.

35 Las formulaciones tópicas comprenden el compuesto activo disuelto o suspendido en uno o más medios tales como aceite mineral, petróleo, alcoholes polihidroxilados u otras bases utilizadas para formulaciones tópicas. Puede ser deseable la adición de otros ingredientes accesorios como se ha indicado anteriormente.

40 También se proporcionan formulaciones farmacéuticas que son adecuadas para la administración en forma de un aerosol, mediante inhalación. Estas formulaciones comprenden una solución o suspensión del producto conjugado polimérico deseado o una sal del mismo. La formulación deseada se puede colocar en una cámara pequeña y nebulizar. La nebulización puede realizarse por medio de aire comprimido o por medio de energía ultrasónica para formar una pluralidad de gotitas de líquido o partículas sólidas que comprenden los productos conjugados o sales de los mismos.

Métodos de uso

45 Los profármacos poliméricos de múltiples brazos descritos en la presente memoria pueden usarse para tratar o prevenir cualquier afección que responda al agente activo no modificado en cualquier animal, particularmente en mamíferos, incluyendo seres humanos.

50 Los profármacos de la invención son particularmente útiles como agentes anticancerosos, es decir, se ha demostrado que son eficaces para reducir significativamente el crecimiento de ciertos cánceres representativos de pulmón y colon en estudios *in vivo*. En particular, se ha demostrado que los profármacos descritos en la presente memoria son casi cinco veces más eficaces en la prevención del crecimiento de tumores de cáncer de pulmón humano y tumores de cáncer de colon humano que el correspondiente agente anticanceroso per se, cuando se administran a dosis comparables durante períodos ilustrativos que van desde 30 a 80 días.

55 Los profármacos poliméricos de múltiples brazos descritos en la presente memoria, en particular, aquellos en los que el fármaco de molécula pequeña es un agente anticanceroso tal como un compuesto de camptotecina como se describe en este documento u otro agente oncolítico, son útiles en el tratamiento del cáncer de mama, cáncer de ovario, melanoma maligno, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de tiroides, cáncer de riñón, cáncer de vías biliares, cáncer de cerebro, linfomas, leucemias, rhabdomyosarcoma, neuroblastoma y similares. Los profármacos de la invención son particularmente eficaces en el direccionamiento y acumulación en tumores sólidos. Los profármacos también son útiles en el tratamiento del VIH y otros virus.

60 Los métodos de tratamiento comprenden administrar a un mamífero que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición o formulación que contiene un profármaco polimérico descrito en la presente memoria.

Una cantidad de dosificación terapéuticamente eficaz de cualquier profármaco específico variará entre producto conjugado y producto conjugado, entre paciente y paciente y dependerá de factores tales como el estado del paciente, la actividad del agente activo concreto empleado y la vía de administración.

5 Para agentes activos de tipo camptotecina, se prefieren dosificaciones de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg de camptotecina/kg de peso corporal, preferiblemente de aproximadamente 10,0 a aproximadamente 60 mg/kg. Cuando se administran conjuntamente con otros agentes farmacéuticamente activos, puede ser terapéuticamente eficaz incluso menos profármaco.

10 Los métodos de tratamiento incluyen también administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición o formulación que contiene un profármaco polimérico multibrazo de un compuesto de camptotecina como se describe en la presente memoria, junto con un segundo agente anticanceroso. Preferiblemente, dichos profármacos de tipo camptotecina se administran combinados con 5-fluorouracilo y ácido folínico, como se describe en Patente de Estados Unidos Núm. 6.403.569.

15 El profármaco se puede administrar una o varias veces al día, preferiblemente una vez al día o menos. La duración del tratamiento puede ser una vez al día durante un período de dos a tres semanas y puede continuar durante un período de meses o incluso años. La dosis diaria se puede administrar ya sea mediante una sola dosis en forma de una unidad de dosificación individual o varias unidades de dosificación más pequeñas o mediante administración múltiple de dosis subdivididas a ciertos intervalos.

Ejemplos

25 Debe entenderse que aunque la invención se ha descrito conjuntamente con ciertas realizaciones específicas preferidas de la misma, se pretende que la descripción anterior así como los ejemplos que siguen ilustren el alcance de la invención. Otros aspectos, ventajas y modificaciones dentro del alcance de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a la que pertenece la invención.

30 Todos los reactivos de PEG a los que se hace referencia en los ejemplos adjuntos están disponibles en Nektar Therapeutics, Huntsville, AL. Todos los datos de RMN H¹ se generaron mediante un espectrómetro de RMN 300 ó 400 MHz fabricado por Bruker.

Abreviaturas.

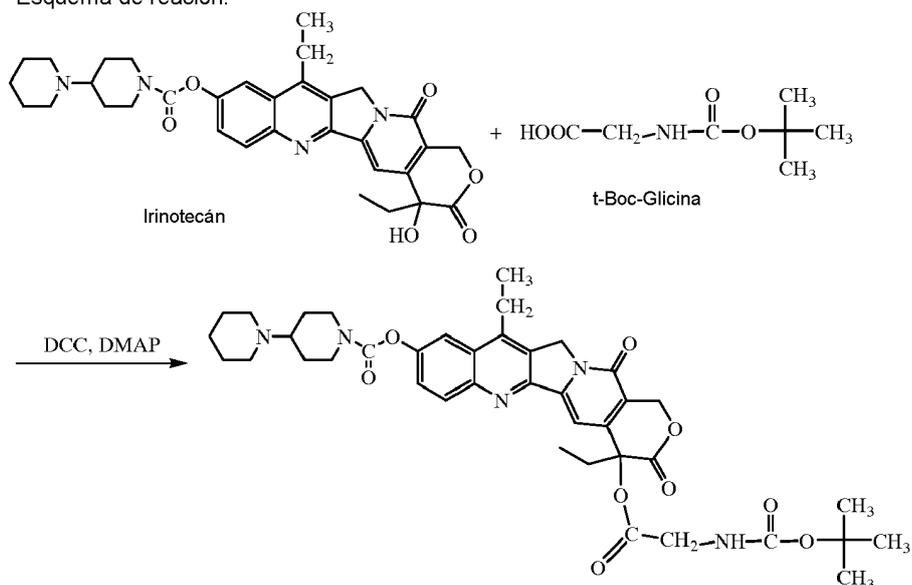
35 DCM: diclorometano
 DCC diciclohexilcarbodiimida
 DMAP dimetilaminopiridina
 HCl ácido clorhídrico
 MeOH metanol
 40 CM carboximetileno
 HOBT hidroxibenciltriazol
 TFA ácido trifluoroacético
 RT temperatura ambiente
 SCM succinimidilo

45 Ejemplo 1

Síntesis de pentaeritritolil-(PEG-1-metilen-2-oxo-vinilamino acetato conectado a Irinotecán)-20K de 4 brazos

50 A. Síntesis de t-Boc-Glicina-Irinotecan

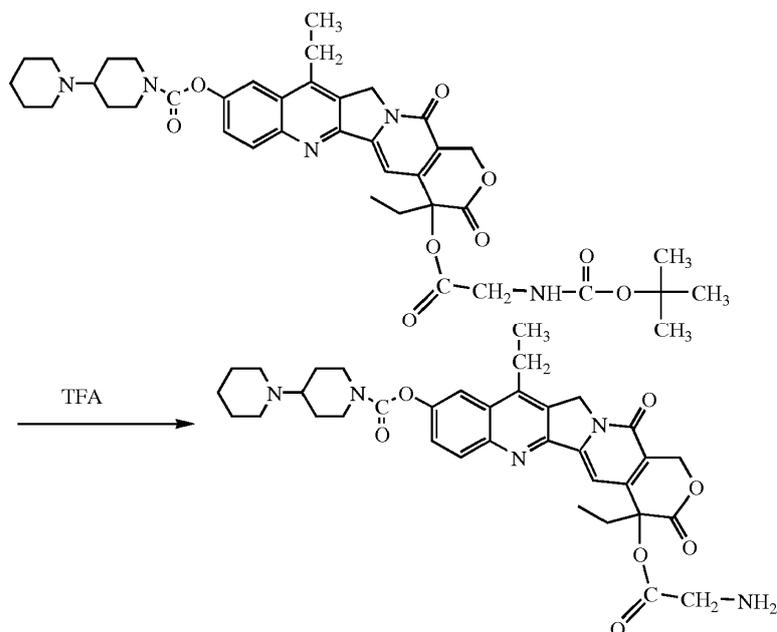
Esquema de reacción:



5 En un matraz, se disolvieron 0,1 g de irinotecán (0,1704 mmoles), 0,059 g de t-Boc-Glicina (0,3408 mmoles) y 0,021 g de DMAP (0,1704 mmoles) en 13 mL de diclorometano anhidro (DCM). A la solución se le añadieron 0,070 g de DCC(0,3408 mmoles) disueltos en 2 mL de DCM anhidro. La solución se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El sólido se eliminó a través de una frita gruesa y la solución se lavó con 10 mL de HCl 0,1 N en un embudo de separación. La fase orgánica se lavó adicionalmente con 10 mL de H₂O desionizada en un embudo de separación y a continuación se secó con Na₂SO₄. El disolvente se retiró utilizando evaporación rotativa y el producto se secó adicionalmente a vacío. RMN H¹ (DMSO): δ 0,919 (t, CH₂CH₃), 1,34 (s, C(CH₃)₃), 3,83 (m, CH₂), 7,66 (d, H aromático).

10

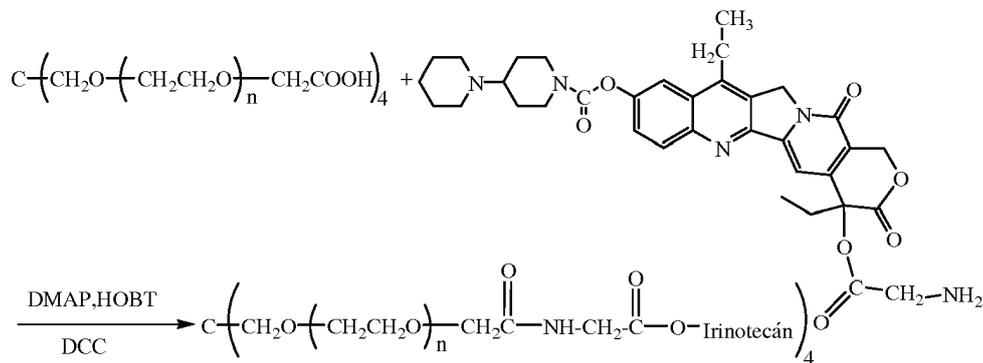
B. Desprotección de t-Boc-Glicina-Irinotecán



15 Se disolvieron 0,1 g de t-Boc-glicina-Irinotecán (0,137 mmoles) en 7 mL de DCM anhidro. A la solución se le añadieron 0,53 mL de ácido trifluoroacético (6,85 mmoles). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se separó utilizando evaporación rotativa. El producto bruto se disolvió en 0,1 mL de MeOH y después se precipitó en 25 mL de éter. La suspensión se agitó en un baño de hielo durante 30 minutos. El producto se recogió mediante filtración y se secó al vacío. RMN H¹ (DMSO): δ 0,92 (t, CH₂CH₃), 1,29 (t, CH₂CH₃), 5,55 (s, 2H), 7,25 (s, H aromático).

20

C. Anclaje covalente de un polímero activado multibrazo a Glicina Irinotecán.



IX

5 Se disolvieron 0,516 g de Glicina-Irinotecán (0,976 mmoles), 3,904 g de PEG(20K)-CM de 4 brazos (0,1952 mmoles), 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 0,488 mmoles), y 0,0658 g de 2-hidroxibenciltriazol (HOBT, 0,488 mmoles) en 60 mL de cloruro de metileno anhidro. A la solución resultante se añadieron 0,282 g de 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC, 1,3664 mmoles). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de una frita gruesa y el disolvente se separó utilizando evaporación rotativa. El jarabe se precipitó en 200 mL de isopropanol frío sobre un baño de hielo. El sólido se filtró y a continuación se secó a vacío. Rendimiento: 4,08 g. RMN H^1 (DMSO): δ 0,909 (t, CH_2CH_3), 1,28 (m, CH_2CH_3), 3,5 (m ancho, PEG), 3,92 (s, CH_2), 5,50 (s, 2H).

Ejemplo 2

15 Actividad antitumoral de pentaeritritolil-(PEG-1-metilen-2-oxo-vinilamino acetato conectado a irinotecán)-20K de 4 brazos, "Peg-Gly-Irino-20K de 4 brazos" en un modelo de xenoinjerto de ratón de cáncer de colon

20 Se implantaron subcutáneamente xenoinjertos de tumor de colon HT29 humanos en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos. Después de aproximadamente dos semanas de crecimiento adecuado del tumor (100 a 250 mg), estos animales se dividieron en diferentes grupos de diez ratones cada uno. A un grupo se le administraron dosis de solución salina normal (control), a un segundo grupo se le administraron dosis de 60 mg/kg de irinotecán y al tercer grupo se le administraron dosis de 60 mg/kg del PEG-GLY-Irino-20K de 4 brazos (dosis calculada por contenido de irinotecán). Las dosis se administraron por vía intravenosa, con una dosis administrada cada 4 días para un total de 3 dosis administradas. Los ratones se observaron diariamente y los tumores se midieron con calibres dos veces por semana. La Figura 1 muestra el efecto del tratamiento con irinotecán y PEG-irinotecán en tumores de colon HT29 en ratones carentes de sistema inmunitario atímicos.

30 Como puede apreciarse a partir de los resultados representados en la Fig. 1, los ratones tratados con irinotecán y PEG-GLY-Irino-20K de 4 brazos mostraron un retraso en el crecimiento del tumor (actividad antitumoral) que se mejoró significativamente en comparación con el control. Además, el retraso en el crecimiento del tumor fue significativamente mejor para el grupo de PEG-GLY-Irino-20K de 4 brazos de ratones cuando se comparó con el grupo de animales a los que se administró irinotecán no conjugado.

Ejemplo 3

35 Síntesis de pentaeritritolil-(PEG-1-metilen-2-oxo-vinilamino acetato conectado a irinotecán)-40K de 4 brazos, "Peg-Gly-Irino-40K de 4 brazos"

40 Se preparó Peg-Gly-Irino-40K de 4 brazos de manera idéntica a la descrita para el compuesto de 20K en el Ejemplo 1, con la excepción de que en la etapa C, el reactivo de PEG activado de múltiples brazos empleado fue PEG(40K)-CM de 4 brazos en lugar del material de 20K.

Ejemplo 4

45 Síntesis de pentaeritritolil-(PEG-1-metilen-2-oxo-vinilamino acetato conectado a SN-38)-20K de 4 brazos, "Peg-Gly-SN-38-20K de 4 brazos"

50 Se preparó Peg-Gly-SN-38-20K de 4 brazos de manera similar a su contraparte de irinotecán como se describe en el Ejemplo 1, con la excepción de que el agente activo empleado fue SN-38, un metabolito activo de camptotecina, en

lugar de irinotecán, donde el OH-fenólico de SN-38 se protegió con MEMC1 (cloruro de 2-metoxietoximetilo) durante las transformaciones químicas, seguido por la desprotección con TEA para proporcionar el producto conjugado de múltiples brazos deseado.

5 Ejemplo 5

Síntesis de pentaeritritolil-(PEG-1-metilen-2-oxo-vinilamino acetato conectado a SN-38)-40K de 4 brazos, "Peg-Gly-N-38-40K de 4 brazos"

10 Se preparó Peg-Gly-SN-38-40K de 4 brazos de una manera similar a la versión de 20K descrita anteriormente, con la excepción de que el reactivo de PEG activado de múltiples brazos empleado fue PEG(40K)-CM de 4 brazos en lugar del material 20K.

15 Ejemplo 6

Estudios de xenoinjertos adicionales

Se llevaron a cabo estudios adicionales de xenoinjerto de ratón para examinar adicionalmente la eficacia de productos conjugados poliméricos ilustrativos de múltiples brazos descritos en la presente memoria.

20 A los ratones carentes de sistema inmunitario atímicos se les implantaron subcutáneamente líneas celulares de cáncer humano (línea celular de cáncer de pulmón NCI-H460 y línea celular de cáncer de colon HT-29) y los tumores se dejaron crecer hasta aproximadamente 150 mg de tamaño. Los animales se dividieron en grupos de diez ratones cada uno.

25 Se evaluaron diversos compuestos y dosis de la siguiente manera: irinotecán (40, 60 y 90 mg/kg); Peg-Gly-Irino-20K de 4 brazos (40, 60 y 90 mg/kg); Peg-Gly-Irino-40K de 4-brazos (40, 60 y 90 mg/kg); Peg-Gly-SN-38-20K de 4 brazos (7,5, 15, 30 mg/kg) y Peg-Gly-SN-38-40K (7,5, 15, 30 mg/kg). Las dosis se administraron por vía intravenosa, con una dosis administrada cada 4 días para un total de 3 dosis administradas.

30 Las mediciones de volumen del tumor se tomaron durante un periodo de 60-80 días; los volúmenes tumorales se convirtieron en peso de tumor. Los pesos corporales también se midieron durante el mismo período para proporcionar una indicación de la pérdida de peso. Los resultados se presentan gráficamente en las Figuras 2-5.

35 Ejemplo 7

Estudio FC de xenoinjerto de tumor de colon en ratones

40 Se realizó un estudio farmacocinético (FC) de dosis única comparativo de un PEG-irinotecán de múltiples brazos frente a irinotecán no modificado en ratones carentes de sistema inmunitario para evaluar la distribución tumoral del fármaco original y metabólico.

45 El estudio empleó 108 ratones carentes de sistema inmunitario, 36 ratones por grupo, 4 animales por punto de muestreo. El fármaco se administró por vía intravenosa como una dosis única. La forma de fármaco y las dosis fueron las siguientes: irinotecán (40 mg/kg); Peg-Gly-Irino-20K de 4 brazos (equivalente a 40 mg/kg); Peg-Gly-Irino-40K de 4 brazos ((equivalente a 40 mg/kg). Se tomaron muestras de plasma venoso y de tejido tumoral en los siguientes puntos horarios: 20 minutos, 40 minutos y 1, 2, 4, 12, 24, 48 y 72 horas y se evaluaron las concentraciones de las siguientes especies: Peg-Gly-Irino-20K de 4 brazos, Peg-Gly-Irino-40K de 4 brazos, irinotecán y SN-38. Los resultados se representan en las Figuras 6 a 13.

50 Como se puede observar en las Figuras 6-13, basándose en la velocidad de declinación de las especies PEGiladas de múltiples brazos en el tejido tumoral en comparación con el plasma, las especies PEGiladas demuestran un notable incremento del tiempo de retención del tumor en comparación con el fármaco original no modificado.

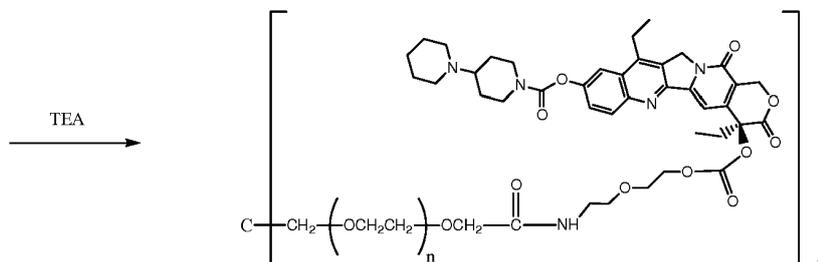
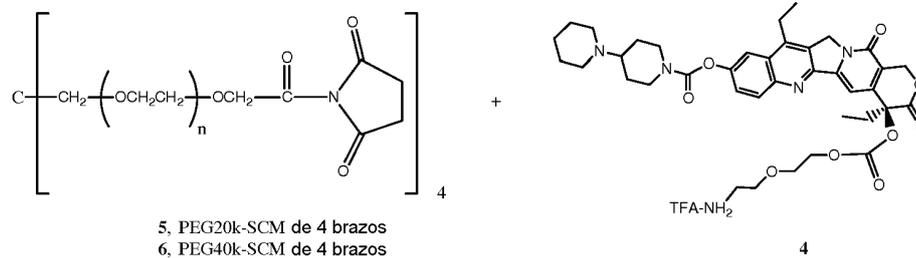
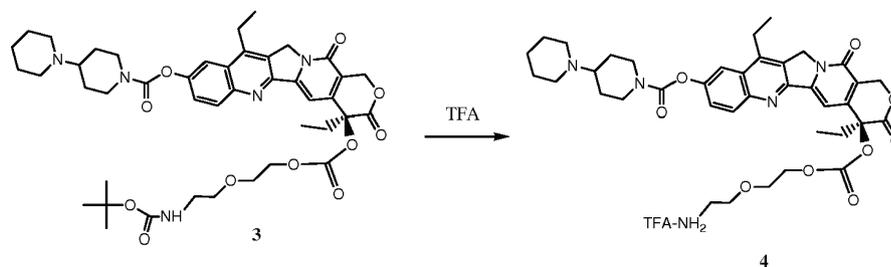
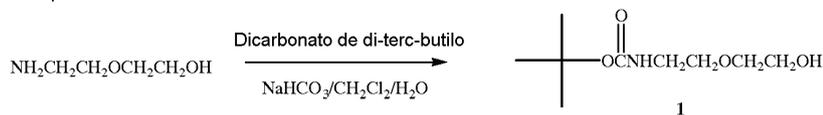
55 Al observar los resultados de los metabolitos, las concentraciones de SN-38 derivadas de los compuestos PEGilados parecen estar aumentando al final del periodo de 72 horas, mientras que, por el contrario, el SN-38 derivado del irinotecán es aclarado esencialmente en 12 horas. En suma, la exposición del tumor a SN38 después de la administración de cualquiera de los compuestos PEGilados es aproximadamente cinco veces mayor que para el irinotecán durante el mismo período de muestreo de 72 horas. En suma, ambos compuestos PEGilados multibrazo proporcionan un aumento de la inhibición del crecimiento tumoral (colon y pulmón) para ambos modelos de tumor *in vivo* investigados en comparación con el fármaco no modificado. Más específicamente, ambos compuestos PEGilados multibrazo demostraron una supresión marcada del crecimiento tumoral en comparación con el fármaco no modificado en modelos de xenoinjerto de ratón, lo que indica la eficacia de tales compuestos como agentes anticancerosos. Por último, la administración de los compuestos de irinotecán PEGilados multibrazo descritos en la

presente memoria parece causar menos diarrea en ratas que el propio irinotecán.

Ejemplo 8

5 Síntesis de pentaeritritolil(PEG-2-{2-[2-1-hidroxi-2-oxo-viniloxi]-etoxi]-etilamino}-propen-1-ona conectada a Irinotecán)-20K y -40K de 4 brazos

Esquema de Reacción Ilustrativo.



7, PEG20k-carbonato-irinotecán de 4 brazos
 8, PEG40k-carbonato-irinotecán de 4 brazos

10 A. 2-(2-t-Boc-aminoetoxi)etanol (1)

Se añadieron 2-(2-aminoetoxi)etanol (10,5 g, 0,1 moles) y NaHCO₃ (120,6 g, 0,15 moles) a 100 mL de CH₂Cl₂ y 100 mL de H₂O. La solución se agitó a RT durante 10 minutos, después se añadió dicarbonato de di-terc-butilo (21,8 g, 0,1 moles). La solución resultante se agitó a RT durante una noche, después se extrajo con CH₂Cl₂ (3 X 100 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se evaporaron a vacío. El residuo se

15

sometió a cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH} = 50:1 \sim 10:1$) para proporcionar 2- (2-t-Boc-aminoetoxi)etanol (**1**) (16,0 g, 78 mmoles, rendimiento 78%)

5 B. 2- (2-t-Boc-aminoetoxi)etoxicarbonil-Irinotecán (**2**)

Se disolvieron 2-(2-t-Boc-aminoetoxi)etanol (**1**) (12,3 g, 60 mmoles) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (14,6 g, 120 mmoles) en 200 mL de CH_2Cl_2 anhidro. Se añadió trifosgeno (5,91 g, 20 mmoles) a la solución mientras se agitaba a temperatura ambiente. Después de 20 minutos, la solución se añadió a una solución de irinotecán (6,0 g, 10,2 mmoles) y DMAP (12,2 g, 100 mmoles) en CH_2Cl_2 anhidro (200 mL). La reacción se agitó a TA durante 2 horas, después se lavó con solución de HCl (pH = 3, 2L) para eliminar la DMAP. Las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. La solución seca se evaporó a vacío y se sometió a cromatografía en columna de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH} = 40:1 \sim 10:1$) para proporcionar 2-(2-t-Boc-aminoetoxi)etoxicarbonil-irinotecán (**2**) (4,9 g, 6,0 mmoles, rendimiento 59%).

15 C. Sal de TFA de 2-(2-aminoetoxi)etoxicarbonil-irinotecán (**3**)

Se disolvió 2-(2-t-Boc-aminoetoxi)etoxicarbonil-irinotecán (**2**) (4,7 g, 5,75 mmoles) en 60 mL de CH_2Cl_2 , y se añadió ácido trifluoroacético (TFA) (20 ml) a RT. La solución de reacción se agitó durante 2 horas. Los disolventes se eliminaron a vacío y el residuo se añadió a éter etílico y se filtró para proporcionar un sólido de color amarillo como producto **3** (4.3 g, rendimiento 90%).

20 D. PEG_{20k}-carbonato-irinotecán de 4 brazos (**4**)

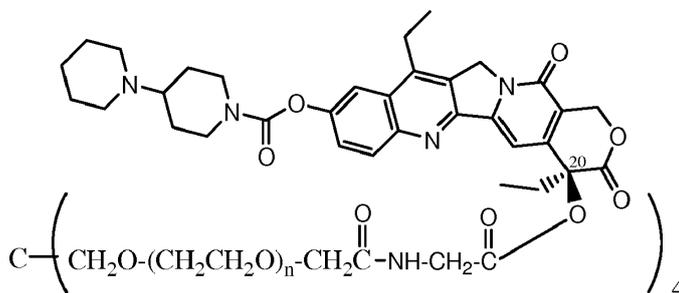
Se disolvió PEG_{20k}-SCM de 4 brazos (16,0 g) en 200 mL de CH_2Cl_2 . Se disolvió sal de TFA de 2-(2-aminoetoxi)etoxicarbonil-irinotecán (**3**) (2,85 g, 3,44 mmoles) en 12 mL de DMF y se trató con 0,6 mL de TEA, a continuación se añadió a una solución de PEG_{20k}-SCM de 4 brazos. La reacción se agitó a RT durante 12 h y a continuación se precipitó en Et_2O para proporcionar un producto sólido, que se disolvió en 500 mL de IPA a 50°C. La solución se enfrió a RT y el precipitado resultante se recogió mediante filtración para proporcionar PEG_{20k}-glicina-irinotecán de 4 brazos (**4**) (16,2 g, contenido de fármaco 7,5% basado en el análisis mediante HPLC). Rendimiento: 60%.

30 E. PEG_{40k}-carbonato-irinotecán de 4 brazos (**5**)

Se disolvió PEG_{40k}-SCM de 4 brazos (32,0 g) en 400 mL de CH_2Cl_2 . Se disolvió sal de TFA de 2-(2-aminoetoxi)etoxicarbonil-irinotecán (**3**) (2,85 g, 3,44 mmoles) en 12 mL de DMF y se trató con 0,6 mL de TEA, a continuación se añadió a la solución de PEG_{40k}-SCM de 4 brazos. La reacción se agitó a RT durante 12 horas y a continuación se precipitó en Et_2O para obtener el producto sólido, que se disolvió en 1000 mL de alcohol isopropílico (IPA) a 50°C. La solución se enfrió a RT y el precipitado se recogió mediante filtración para proporcionar PEG_{40k}-glicina-irinotecán de 4 brazos (**4**) (g, contenido de fármaco 3,7% basado en el análisis mediante HPLC). Rendimiento: 59%.

REIVINDICACIONES

1. Un profármaco polimérico de múltiples brazos que tiene la estructura:



donde n oscila entre 40 y 500.

10 2. El profármaco polimérico de múltiples brazos de la reivindicación 1, en donde el peso molecular medio nominal total del profármaco oscila entre 20.000 y 80.000 Daltons.

15 3. Un profármaco polimérico de múltiples brazos de la reivindicación 2, en donde dicho profármaco, cuando se evalúa en un modelo animal adecuado para cánceres de tipo tumores sólidos y se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz, es eficaz para suprimir el crecimiento tumoral en un grado que es al menos 1,5 veces el observado para el agente anticanceroso sin modificar, cuando se evalúa durante un período de tiempo de 30 días.

20 4. Un profármaco polimérico de múltiples brazos de la reivindicación 2, en donde dicho profármaco, cuando se evalúa en un modelo animal adecuado para cánceres de tipo tumores sólidos y se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz, es eficaz para suprimir el crecimiento tumoral en un grado que es al menos el doble del observado para el agente anticanceroso sin modificar cuando se administra de forma similar durante un período de tiempo de 30 días.

25 5. Un profármaco polimérico de múltiples brazos de 2, en donde dicho profármaco, cuando se evalúa en un modelo animal adecuado para cánceres de tipo tumores sólidos y se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz, es eficaz para suprimir el crecimiento del tumor en un grado que es al menos 1,5 veces mayor que el observado para el agente anticanceroso sin modificar cuando se administra de forma similar durante un período de tiempo de 60 días.

30 6. Un profármaco polimérico de múltiples brazos de la reivindicación 2, en donde dicho profármaco, cuando se evalúa en un modelo animal adecuado para cánceres de tipo tumores sólidos y se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz, es eficaz para suprimir el crecimiento tumoral en un grado que es al menos 2 veces el observado para el agente anticanceroso no modificado cuando se administra de forma similar durante un período de tiempo de 60 días.

35 7. El uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un profármaco polimérico multibrazo de la reivindicación 2 en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad relacionada con el inhibidor de la topoisomerasa I en un sujeto mamífero.

40 8. El uso de la reivindicación 7, en donde el medicamento se formula para administrar dicho profármaco por vía parenteral.

45 9. El uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un profármaco polimérico multibrazo de la reivindicación 2 en la fabricación de un medicamento para tratar un tumor sólido en un sujeto mamífero en el que se han diagnosticado uno o más tumores sólidos cancerosos, en donde dicho profármaco es eficaz para producir una inhibición del crecimiento del tumor sólido en dicho sujeto que se incrementa sobre la inhibición del crecimiento del tumor sólido que resulta de la administración de dicho agente anticanceroso solo.

10. El profármaco polimérico de múltiples brazos de la reivindicación 2, que comprende un PEG de cuatro brazos de 20 kilodaltons.

50 11. Una composición farmacéutica que comprende el profármaco polimérico de múltiples brazos de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 ó 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

**Efecto de PEG-Irinotecán e Irinotecán intravenoso (q4dx3) sobre
Pesos de Tumor de Colon Humano SC HT29 en Ratones
Carentes de Sistema Inmunitario Atímicos
(±ETM)**

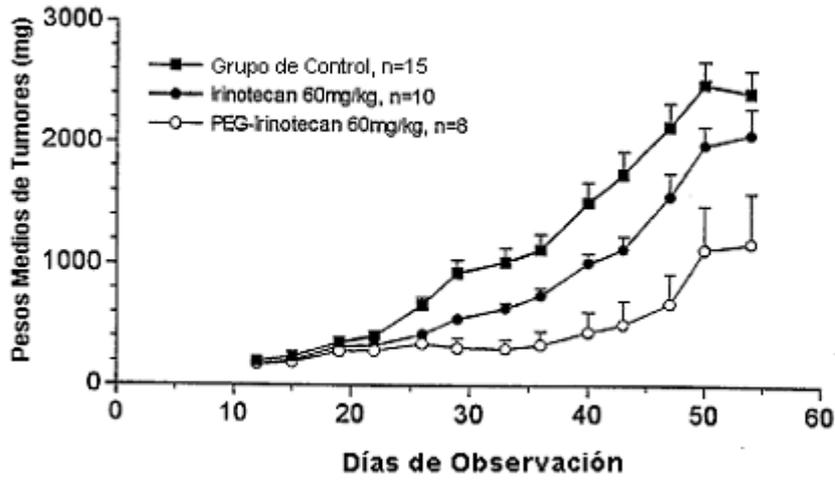


FIG. 1

**Efecto de PEG-Irinotecán e Irinotecán Intravenoso (q4dx3)
sobre Pesos de Tumores de Pulmón Humano SC H460
en Ratones Carentes de Sistema Inmunitario Atímicos
(\pm ETM, N=10)**

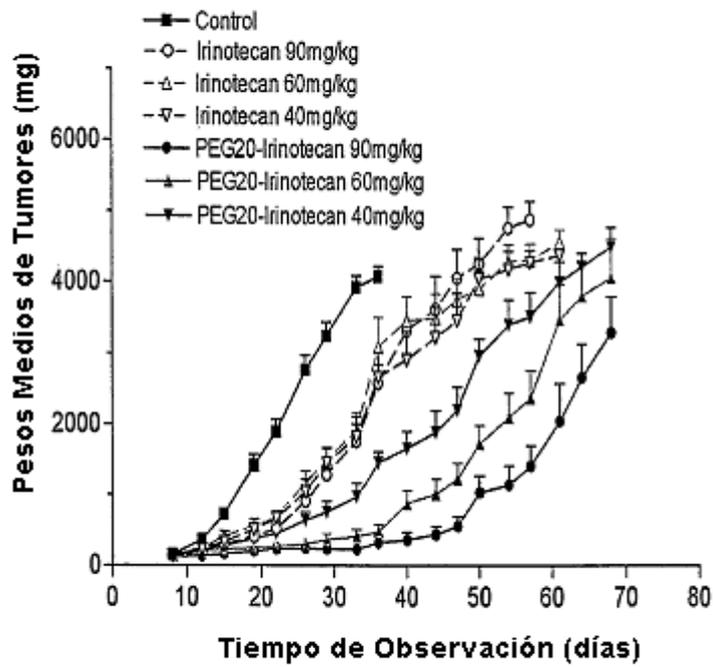


Fig.2

**Efecto de PEG-Irinotecán e Irinotecán intravenoso (q4dx3) sobre
Pesos de Tumor de Pulmón Humano SC H460 en Ratones
Carentes de Sistema Inmunitario Atímicos
(\pm ETM, N=10)**

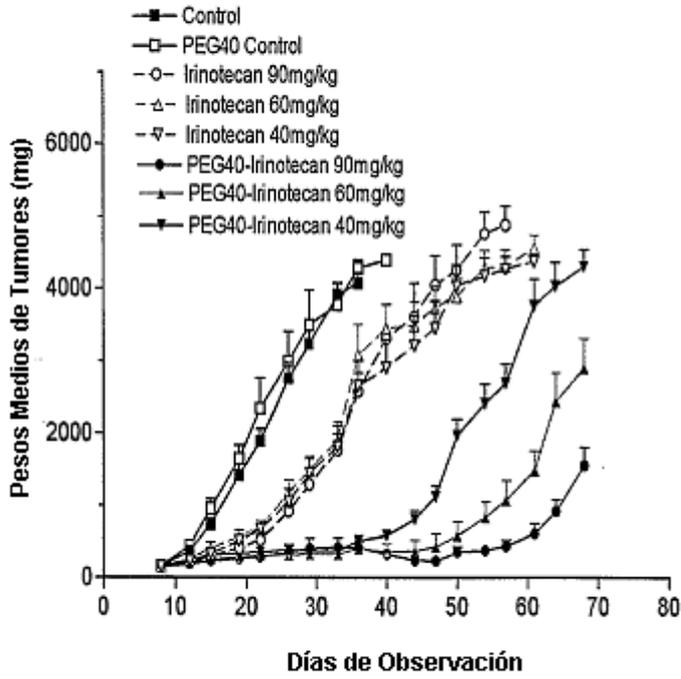


Fig. 3

**Efecto de PEG-Irinotecán e Irinotecán intravenoso (q4dx3) sobre
Pesos de Tumor de Colon Humano SC HT29 en Ratones
Carentes de Sistema Inmunitario Atímicos
(±ETM, N=10)**

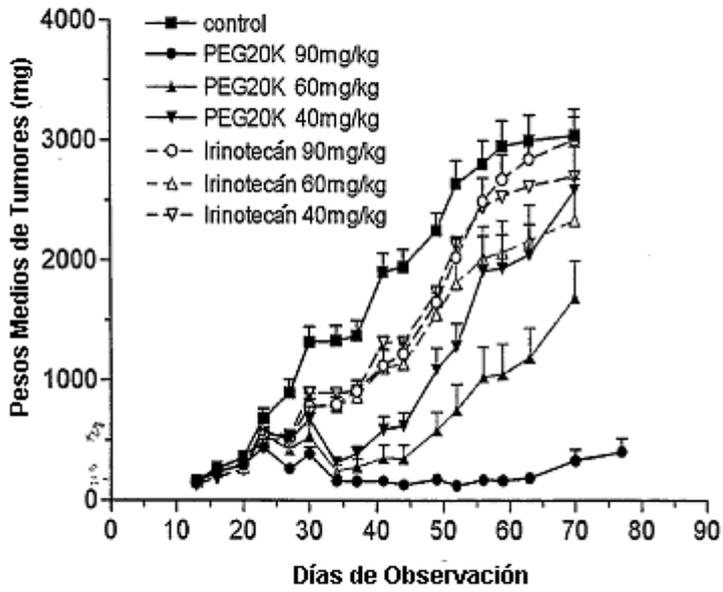


Fig. 4

**Efecto de PEG-Irinotecán e Irinotecán intravenoso (q4dx3) sobre
Pesos de Tumor de Colon Humano SC HT29 en Ratones
Carentes de Sistema Inmunitario Atímicos
(\pm ETM, N=10)**

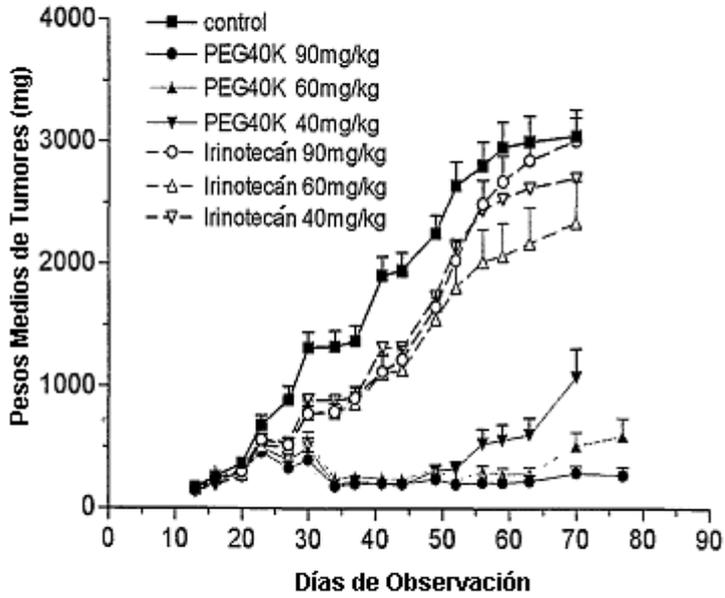


Fig. 5

