

## DENDRÍMEROS TERAPÉUTICOS

### ANTECEDENTES

Bcl-2 y Bcl-XL son miembros anti-apoptóticos importantes de la familia de proteínas de BCL-2 y reguladores clave de la supervivencia celular (Chipuk JE et al., The BCL-2 family reunion, *Mol.Cell*, 12 de febrero de 2010;37(3):299-310). Se ha observado translocación génica, amplificación y/o sobreexpresión de proteína de estos factores críticos para la supervivencia en múltiples tipos de cáncer y están ampliamente implicados en el desarrollo y la progresión del cáncer (Yip et al., Bcl-2 family proteins and cancer, *Oncogene* 2008 27, 6398-6406; y Beroukhim R. et al., The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers, *Nature*, 18 de febrero de 2010;463 (7283):899-905). En muchas neoplasias malignas, también se ha demostrado que BCL-2 y/o BCL-XL median la resistencia a fármacos y la recaída y están fuertemente asociados con un mal pronóstico (Robertson LE et al. Bcl-2 expression in chronic lymphocytic leukemia and its correlation with the induction of apoptosis and clinical outcome, *Leukemia*, marzo de 1996;10(3):456-459; e Ilievska Poposka B. et al., Bcl-2 as a prognostic factor for survival in small-cell lung cancer, *Makedonska Akademija*

*na Naukite i Umetnostite Oddelenie Za Bioloshki i Meditsinski Nauki Prilozi*, diciembre de 2008; 29(2):281-293).

La familia de proteínas antiapoptóticas de BCL2 promueven la supervivencia de células cancerosas uniéndose a proteínas proapoptóticas, tales como BIM, PUMA, BAK y BAX y neutralizando sus actividades inductoras de muerte celular (Chipuk JE et al., citado más adelante; y Yip et al, citado más adelante). Por lo tanto, el uso como diana terapéutica de BCL-2 y BCL-XL, solo o en combinación con otras terapias que influencien el eje de proteínas de la familia de BCL-2, tales como agentes quimioterapéuticos citotóxicos, inhibidores del proteasoma o inhibidores de cinasa es una estrategia atractiva que puede tratar el cáncer y puede superar la resistencia a fármacos en muchos cánceres humanos (Delbridge, ARD et al., The BCL-2 protein family, BH3-mimetics and cancer therapy, *Cell Death & Differentiation* 2015 22, 1071-1080).

Además de potencia en células, para desarrollar un compuesto candidato en un producto farmacológico adecuadamente aceptable, el compuesto necesita poseer y mostrar una serie de propiedades adicionales. Estas incluyen propiedades fisicoquímicas adecuadas para permitir su formulación en una forma de dosificación adecuada (por ejemplo, solubilidad, estabilidad, posibilidad de

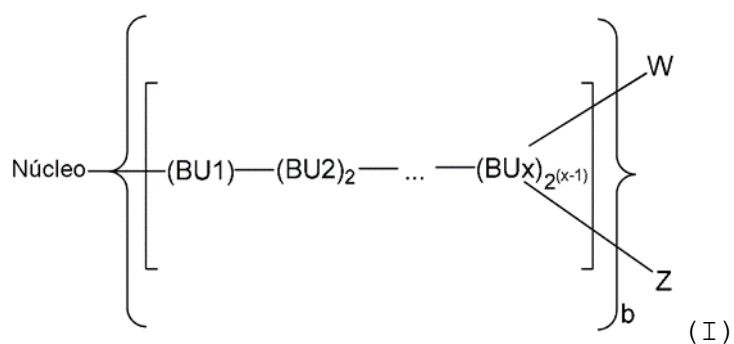
fabricación), propiedades biofarmacéuticas adecuadas (por ejemplo, permeabilidad, solubilidad, absorción, biodisponibilidad, estabilidad en condiciones biológicas, comportamiento farmacocinético y farmacodinámico) y un perfil de seguridad adecuado para proporcionar un índice terapéutico aceptable. Es un reto la identificación de compuestos, por ejemplo, inhibidores de Bcl-2 y/o Bcl-XL que muestren algunas de o todas estas propiedades.

En la Patente de los Estados Unidos n.º 9,018,381 se divulgan ciertos inhibidores de Bcl-2 y/o Bcl-XL a base de N-acilsulfonamida y métodos para producir los mismos. También se ha divulgado en la Patente de los Estados Unidos n.º 9,018,381 la actividad y especificidad de los compuestos que se unen a e inhiben la función de Bcl-2 en una célula mediante ensayos de unión y celulares *in vitro*. Sin embargo, el suministro de estos inhibidores de Bcl-2 y/o Bcl-XL a base de N-acilsulfonamida ha resultado ser complicada debido a, por ejemplo, u baja solubilidad y sus efectos secundarios relacionados con la diana. Por lo tanto, los solicitantes han desarrollado dendrímeros unidos a determinados inhibidores de Bcl que pueden superar los retos de suministro encarados por los inhibidores de Bcl no conjugados.

#### **BREVE DESCRIPCIÓN**

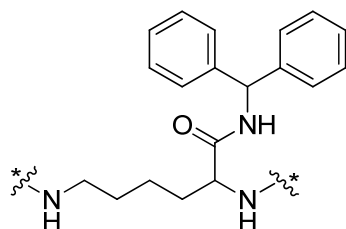
En el presente documento se divulgan dendrímeros unidos covalentemente (por ejemplo, conjugados o unidos) a un inhibidor de Bcl. Los dendrímeros conjugados muestran una alta solubilidad en comparación con el inhibidor de Bcl no conjugado y los datos preclínicos sugieren que los dendrímeros conjugados con el inhibidor de Bcl tienen el potencial de mejorar la tolerabilidad *in vivo*, lo que puede mejorar el índice terapéutico y reducir los efectos secundarios. Los dendrímeros están diseñados para que tengan una velocidad de liberación concreta (por ejemplo, la velocidad a la que se escinde el inhibidor de Bcl del dendrímero).

En algunas realizaciones, se divulgan dendrímeros de fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde:

Núcleo es

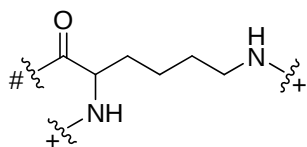


\* indica unión covalente a un resto de carbonilo de  
(BU1);

b es 2;

BU son unidades de construcción;

BU<sub>x</sub> son unidades de construcción de generación x, en  
donde el número total de unidades de construcción en la  
generación x del dendrímero de fórmula (I) es igual a 2<sup>(x)</sup> y  
el número total de BU en el dendrímero de fórmula (I) es  
igual a (2<sup>x</sup>-1)b; en donde BU tiene la siguiente estructura:



# indica unión covalente a un resto de amina de Núcleo o  
un resto amino de BU;

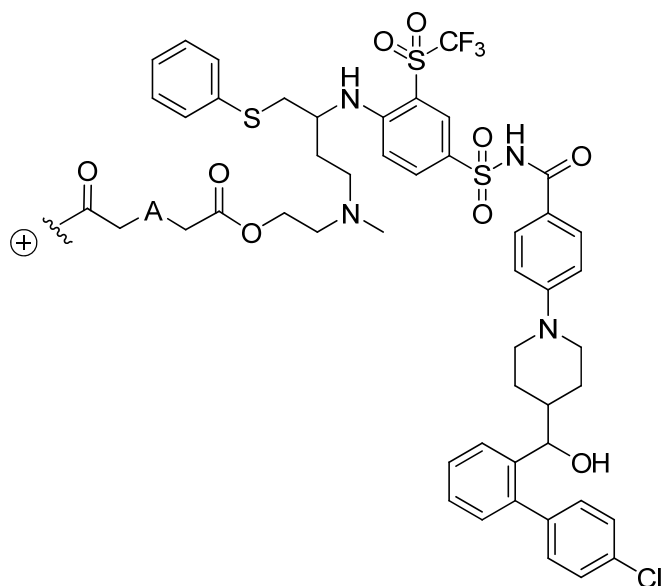
+ indica una unión covalente a un resto de carbonilo de  
BU o una unión covalente a W o Z;

W es independientemente (PM)<sub>c</sub> o (H)<sub>e</sub>;

Z es independientemente (L-AA)<sub>d</sub> o (H)<sub>e</sub>;

PM es PEG<sub>900-1200</sub> o PEG<sub>1800-2400</sub>;

L-AA es un enlazador unido covalentemente a un agente activo; en donde L-AA es de fórmula:



en donde

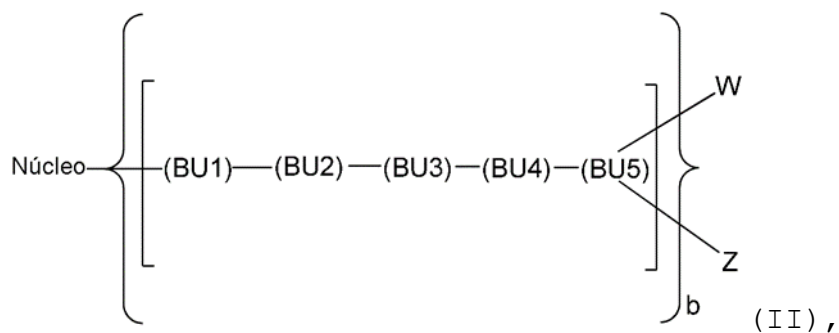
A es  $-N(CH_3)$ ,  $-O-$ ,  $-S-$  o  $-CH_2-$ ;

$\oplus$  es el punto de unión a un resto de amina de BUx;

a condición de que  $(c+d) \leq (2^*)b$  y  $d \geq 1$ ; y

a condición de que si  $(c+d) < (2^*)b$ , entonces cualquier grupo W y Z restante sea  $(H)_e$ , en donde e es  $[(2^*)b] - (c+d)$ .

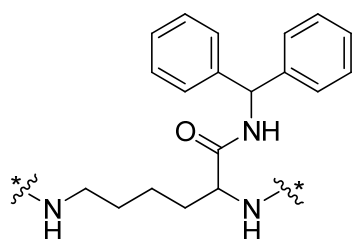
En algunas realizaciones, se divulga un dendrímero de fórmula (II):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

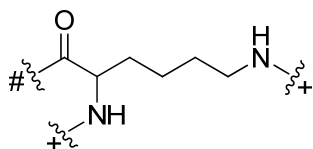
b es 2;

Núcleo es



\* indica unión covalente a un resto de carbonilo de (BU1);

BU son unidades de construcción y el número de BU es igual a 62; en donde BU tiene la siguiente estructura:



# indica unión covalente a un resto de amina de Núcleo o un resto amino de BU y + indica una unión covalente a un resto carbonilo de BU o una unión covalente a W o Z;

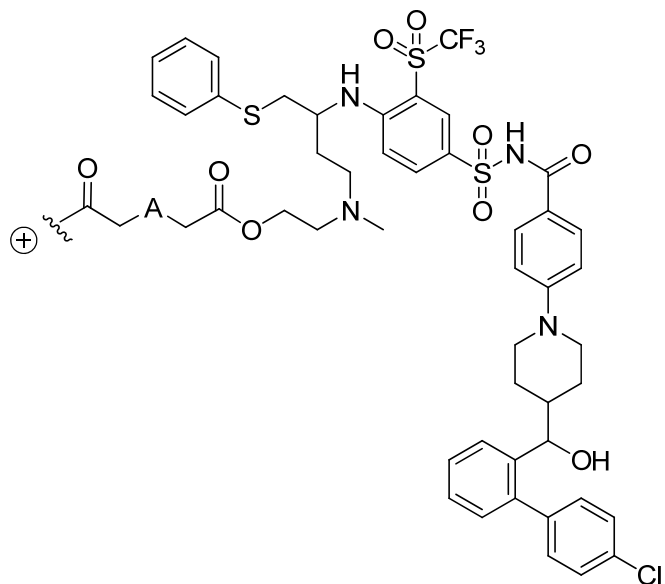
W es independientemente (PM)<sub>c</sub> o (H)<sub>e</sub>;

Z es independientemente (L-AA)<sub>d</sub> o (H)<sub>e</sub>;

PM es PEG<sub>900-1200</sub> o PEG<sub>1800-2400</sub>;

L-AA es un enlazador unido covalentemente a un agente

5 activo; en donde L-AA es de fórmula:



10 en donde

A es -N(CH<sub>3</sub>), -O-, -S- o -CH<sub>2</sub>-;

⊕ indica unión covalente a un resto de amina de BU5;

a condición de que (c+d) sea ≤ 64 y d sea ≥ 1; y

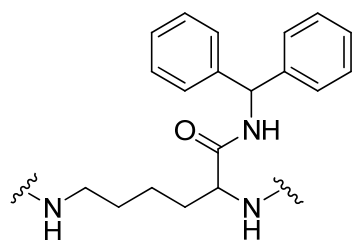
a condición de que si (c+d) < 64, entonces cualquier  
 20 grupo W o Z restante sea (H)<sub>e</sub>, en donde e es 64-(c+d).

En algunas realizaciones, se divulga un dendrímero de  
 fórmula (III):

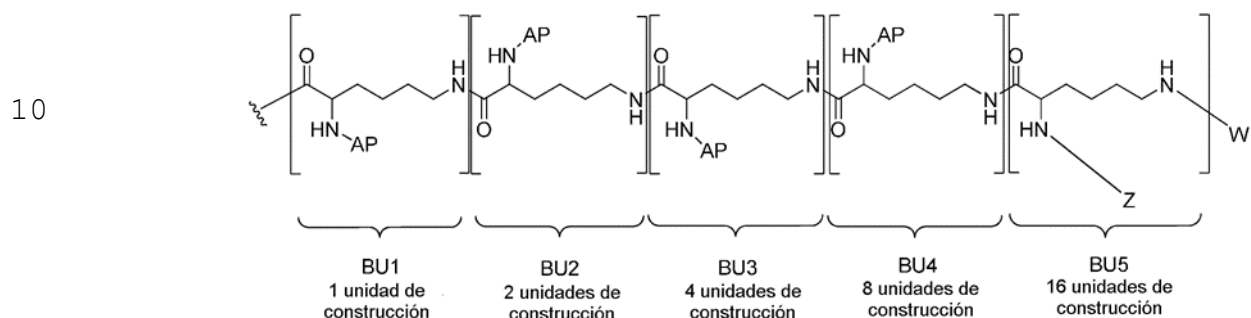
D-Núcleo-D (III)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

Núcleo es



D es



AP es un punto de unión a otra unidad de construcción;

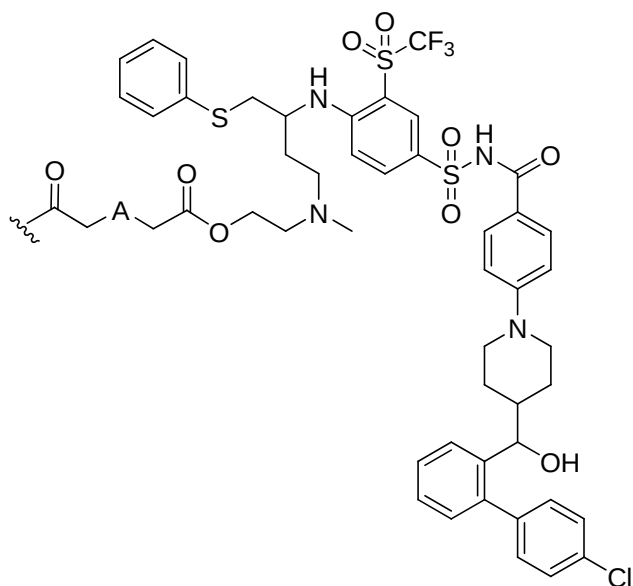
15 W es independientemente  $(PM)_c$  o  $(H)_e$ ;

Z es independientemente  $(L-AA)_d$  o  $(H)_e$ ;

PM es PEG<sub>900-1200</sub> o PEG<sub>1800-2400</sub>;

L-AA es un enlazador unido covalentemente a un agente activo; en donde L-AA es de fórmula:

20

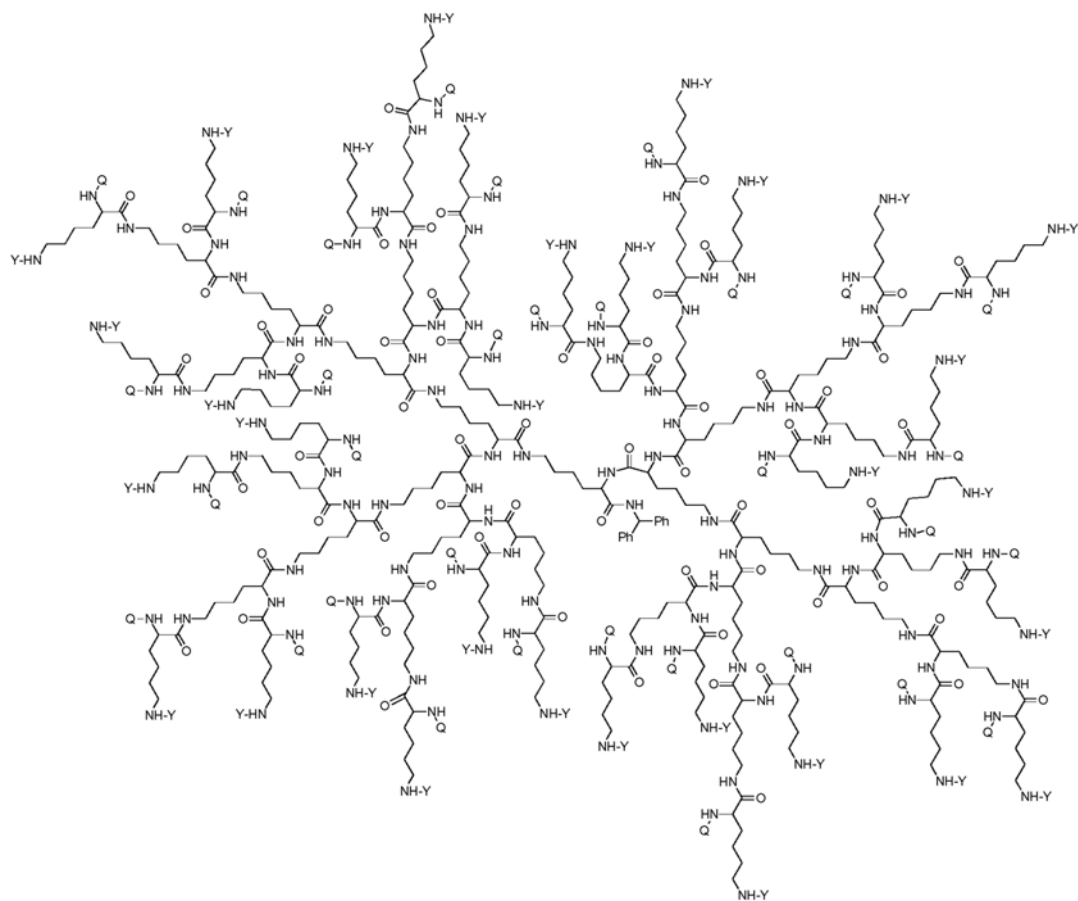


en donde

A es  $-N(CH_3)$ ,  $-O-$ ,  $-S-$  o  $-CH_2-$ ;

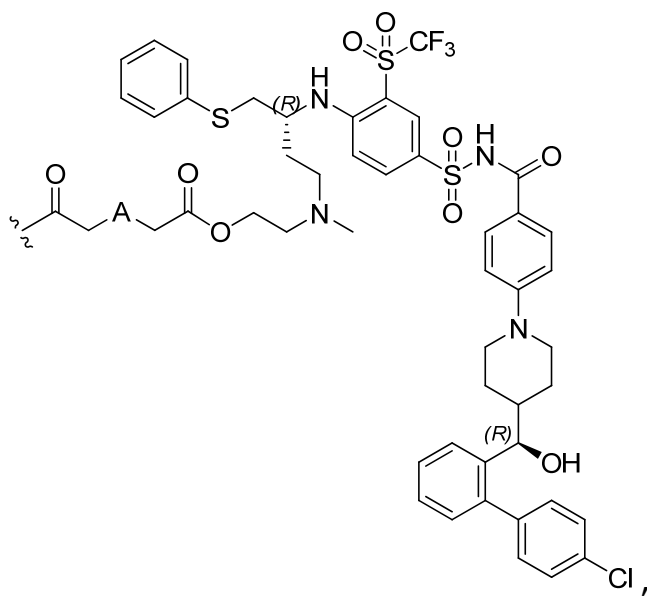
a condición de que si  $(c+d) < 64$ , entonces cualquier grupo W o Z restante sea  $(H)_e$ , en donde e es  $64-(c+d)$ ; y d es  $\geq 1$ .

En algunas realizaciones, se divulga un dendrímero de fórmula (IV):



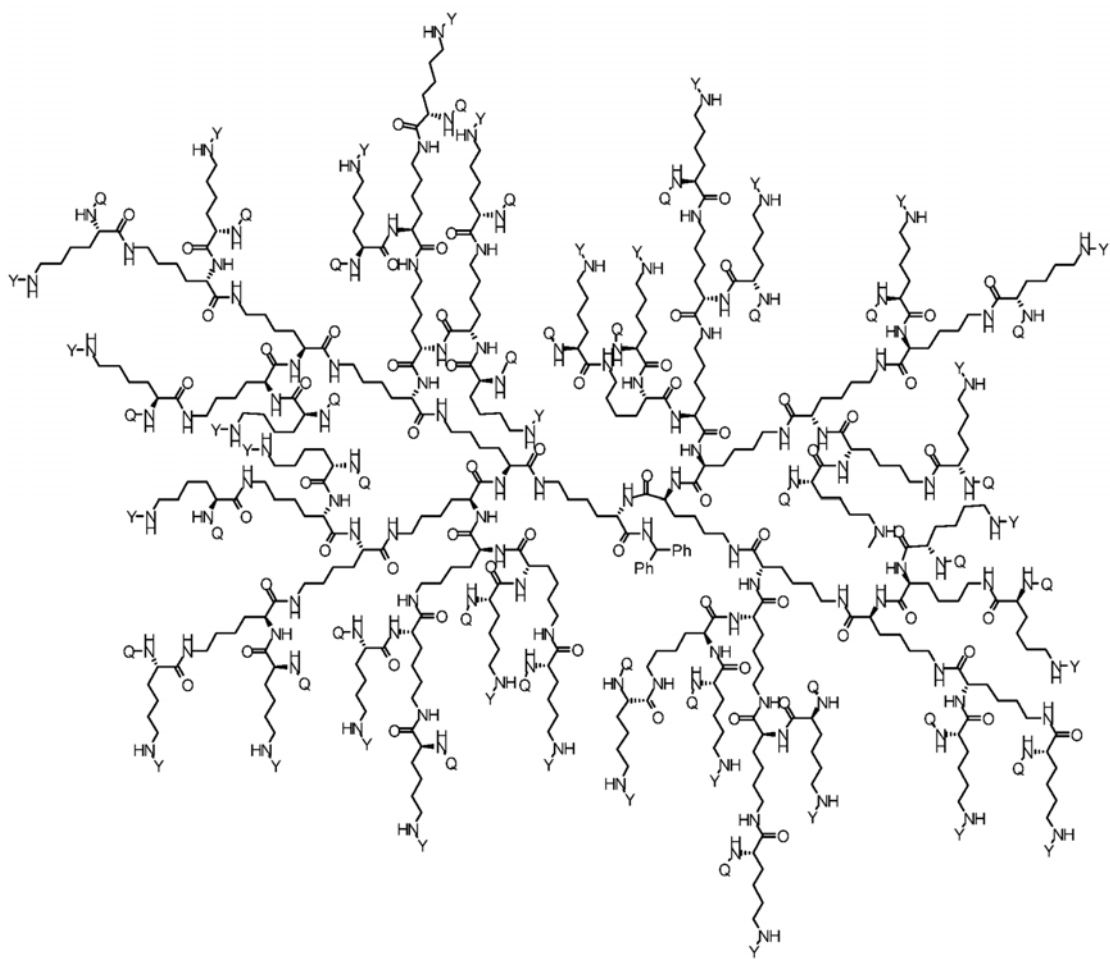
(IV),

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en  
 donde Y es PEG<sub>1800-2400</sub> o H; Q es H o L-AA, en el que L-AA tiene  
 la estructura:



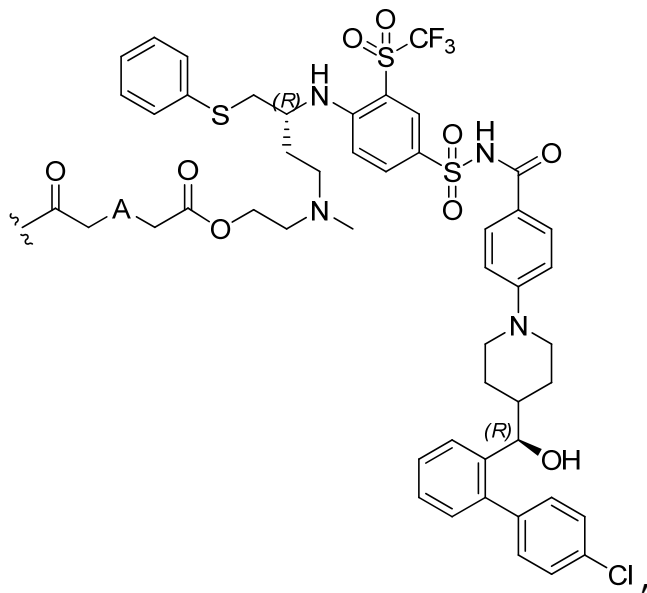
A es -S- o -N(CH<sub>3</sub>), a condición de que si la suma de PEG<sub>1800-2400</sub> y L-AA es menor de 64, los demás restos Q e Y son H y a condición de que al menos un Q sea L-AA.

En algunas realizaciones, se divulga un dendrímero de fórmula (V):



(V)

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde Y es PEG<sub>1800-2400</sub> o H; Q es H o L-AA, en el que L-AA tiene la estructura:



A es -S- o -N(CH<sub>3</sub>), a condición de que si la suma de PEG<sub>1800-2400</sub> y L-AA es menor de 64, los demás restos Q e Y son H y a condición de que al menos un Q sea L-AA.

En algunas realizaciones, se divulgan composiciones farmacéuticas que comprenden un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones, se divulgan métodos para tratar el cáncer que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del cáncer.

5 En algunas realizaciones, se divulga el uso de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer.

10 En algunas realizaciones, se divulga una composición farmacéutica que comprende un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para tratar el cáncer.

#### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

15 **La figura 1** es una representación de un dendrímero de 3.<sup>a</sup> generación.

**La figura 2** es un difractograma de XRPD para la forma B del compuesto A.

20 **La figura 3A** presenta un modelo de xenoinjerto de leucemia linfoblástica aguda (ALL) en ratones SCID usando células de leucemia linfoblástica aguda humana (RS4:11) para las formulaciones del compuesto A explicadas en el ejemplo 2. Se muestra la evaluación de eficacia del compuesto A formulado con cada uno de HP- $\beta$ -CD (V1), Captisol (V2) y Tween

(V3) en comparación con los vehículos correspondientes: vehículo 1 (V1, HP- $\beta$ -CD al 30%, pH4), vehículo 2 (V2, Captisol al 10.6%, pH 9) y vehículo 3 (V3, Tween al 0.5%, pH 9).

5       **La figura 3B** presenta un modelo de xenoinjerto de leucemia linfoblástica aguda (ALL) en ratones SCID usando células de leucemia linfoblástica aguda humana (RS4:11) para una formulación del compuesto A con Cremophor. Se muestra la evaluación de eficacia del compuesto A formulado con  
10 Cremophor (V4) en comparación con el vehículo correspondiente: vehículo 4 (V4, Cremophor EL al 5% p/v, pH4). Véase el ejemplo 2.

15       **La figura 4** presenta la muerte celular (apoptosis) a las 6 h y a las 24 h después de una sola dosis de compuesto A formulado en cada uno de HP- $\beta$ -CD (V1), Captisol (V2) y Tween (V3) en comparación con los vehículos correspondientes: vehículo 1 (V1, HP- $\beta$ -CD al 30%, pH4), vehículo 2 (V2, Captisol al 10.6%, pH9) y vehículo 3 (V3, Tween al 0.5%, pH9). Se usó la respuesta de caspasa 3 escindida (CC3) como medida  
20 de la muerte celular y se determinó usando el kit de ELISA de señalización celular Pathscan. Véase el ejemplo 2.

**La figura 5** presenta la exposición tumoral de una sola dosis para el compuesto A formulado en cada uno de HP- $\beta$ -CD

(V1), Captisol (V2) y Tween (V3). Las concentraciones de compuesto A en el tumor después de 6 h y 24 h después de una sola dosis se determinaron usando LC-MS/MS. Véase el ejemplo 2.

5           **La figura 6** presenta un modelo de xenoinjerto de leucemia linfoblástica aguda (ALL) en ratas Rag2-/- usando células de leucemia linfoblástica aguda humana (RS4:11). Cuando los tumores crecieron hasta alcanzar aproximadamente 4500-6000 mm<sup>3</sup>, se asignaron aleatoriamente a las ratas a  
10           vehículo 1 (HP-β-CD al 30%, pH4) o a compuesto A 5 mg/kg, infusión IV 30 min una vez. Se muestra la evaluación de la eficacia del compuesto A formulado con HP-β-CD (V1) al 30% en comparación con el vehículo correspondiente (V1). Véase el ejemplo 2.

15           **La figura 7** presenta un modelo de xenoinjerto de leucemia linfoblástica aguda (ALL) en ratas Rag2-/- usando células de leucemia linfoblástica aguda humana (RS4:11). Cuando los tumores crecieron hasta alcanzar aproximadamente 4500-6000 mm<sup>3</sup>, se asignaron aleatoriamente a las ratas a  
20           vehículo 1 (HP-β-CD al 30%, pH4) o a compuesto A 5 mg/kg, compuesto A 3 mg/kg y compuesto A 1 mg/kg, infusión IV 30 min una vez. Se muestra la evaluación de la eficacia de respuesta a la dosis del compuesto A formulado con HP-β-CD (V1) al 30%

a 5 mg/kg, 3 mg/kg y 1 mg/kg en comparación con el vehículo correspondiente (V1). Véase el ejemplo 2.

5       **La figura 8** es una comparación de la velocidad de liberación inicial del ejemplo 6 y 9 a lo largo de una serie de valores de pH. Véase el ejemplo 13.

10       **La figura 9** presenta un modelo de xenoinjerto de leucemia linfoblástica aguda (ALL) en ratones SCID usando células de leucemia linfoblástica aguda humana (RS4:11) para diversas macromoléculas de la presente invención. Se muestra la evaluación de eficacia del vehículo (suero salino tamponado con fosfato), el compuesto A (formulado en HP- $\beta$ -CD al 30%, pH 4), el ejemplo 6 en PBS (equivalente a 10 mg/kg y 30 mg/kg de compuesto A) y el ejemplo 9 en PBS (equivalente a 10 mg/kg de compuesto A). Véase el ejemplo 18.

15       **La figura 10** presenta la muerte celular (apoptosis) en diversos instantes después de una sola dosis de vehículo (suero salino tamponado con fosfato) o de ejemplo 6 en PBS (equivalente a 10 y 30 mg/kg de compuesto A). Se usó la respuesta de caspasa 3 escindida (CC3) como medida de la muerte celular y se determinó usando el kit de ELISA de señalización celular Pathscan. Véase el ejemplo 18.

20

**La figura 11** presenta un modelo de xenoinjerto de leucemia linfoblástica aguda (ALL) en ratones SCID usando

células de leucemia linfoblástica aguda humana (RS4:11) para los diversos dendrímeros divulgados. Se muestra la evaluación de eficacia del vehículo (suero salino tamponado con fosfato, PBS), una formulación del compuesto A en vehículo 1 (HP- $\beta$ -CD al 30%), el ejemplo 6 en PBS (equivalente a 20 mg/kg de compuesto A) y el ejemplo 9 en PBS (equivalente a 20 mg/kg de compuesto A). Véase el ejemplo 18.

**La figura 12** presenta la muerte celular (apoptosis), en diversos instantes después de una sola dosis del vehículo (suero salino tamponado con fosfato), formulaciones del compuesto A en vehículo 1 (HP- $\beta$ -CD al 30%) a 5 mg/kg y 10 mg/kg y el dendrímero del ejemplo 9 en PBS a un equivalente de 10 mg/kg de compuesto A. Se usó la respuesta de poli-ADP-ribosa polimerasa escindida (PARP) como medida de la muerte celular. Véase el ejemplo 18.

**La figura 13** presenta datos de los ejemplos 5, 7 y 8 dosificados a razón de 10 mg/kg de equivalente de compuesto A en el modelo de xenoinjerto de RS4;11 en ratones. Los datos demuestran que el ejemplo 7 dosificado a razón de 10 mg/kg de equivalente de compuesto A induce regresión tumoral, mientras que los ejemplos 5 y 8 dosificados a razón de 10 mg/kg de equivalente de compuesto A no mostraron una actividad antitumoral significativa. Véase el ejemplo 18.

**La figura 14** presenta un modelo de xenoinjerto de leucemia linfoblástica aguda (ALL) en ratas Rag2-/- usando células de leucemia linfoblástica aguda humana (RS4:11) para el ejemplo 6 y el vehículo. Se muestra la evaluación de  
5 eficacia del vehículo (suero salino tamponado con fosfato, PBS) y del ejemplo 6 en PBS (equivalente a 10 mg/kg y 30 mg/kg de compuesto A). Véase el ejemplo 18.

**La figura 15** presenta un modelo de xenoinjerto de SuDHL-4 en ratones SCID para el vehículo (suero salino tamponado  
10 con fosfato, PBS), el ejemplo 6 en PBS (equivalente a 50 mg/kg de compuesto A), el ejemplo 9 en PBS (equivalente a 50 mg/kg de compuesto A), rituximab (10 mg/kg), una combinación del ejemplo 6 (equivalente a 10 mg/kg, 30 mg/kg y 50 mg/kg de  
15 compuesto A) con rituximab (10 mg/kg) y una combinación del ejemplo 9 (equivalente a 10 mg/kg, 30 mg/kg y 50 mg/kg de compuesto A) con rituximab (10 mg/kg). Véase el ejemplo 18.

**La figura 16** presenta el dendrímero de fórmula (IV).

**La figura 17** presenta el dendrímero de fórmula (V).

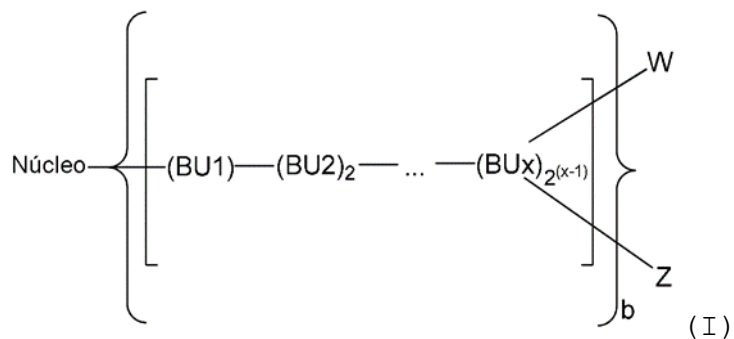
**La figura 18** ilustra la actividad antitumoral *in vivo* en  
20 un modelo de cáncer microcítico de pulmón humano mostrada por el ejemplo 9 en combinación con el inhibidor de mTOR, AZD2014.

**La figura 19** ilustra la actividad antitumoral *in vivo* en un modelo de tumor de DLBCL humano mostrada por el ejemplo 9 en combinación con acalabrutinib.

### DESCRIPCIÓN DETALLADA

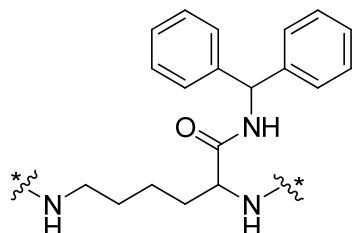
En una realización, se divulgan dendrímeros que comprenden un núcleo de bencihidrilhexanamida-lisina divalente, unidades de construcción de lisina y en donde los grupos funcionales de superficie están sustituidos con un inhibidor de Bcl y PEG.

En una realización, se divulgan dendrímeros de fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde:

Núcleo es



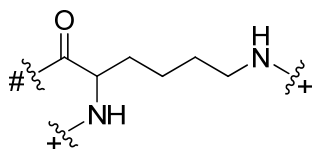
\* indica unión covalente a un resto de carbonilo de (BU1);

b es 2;

BU son unidades de construcción;

5 BU<sub>x</sub> son unidades de construcción de generación x, en donde el número total de unidades de construcción en la generación x del dendrímero de fórmula (I) es igual a 2<sup>x</sup> y el número total de BU en el dendrímero de fórmula (I) es igual a (2<sup>x</sup>-1)b; en donde BU tiene la siguiente estructura:

10



# indica unión covalente a un resto de amina de Núcleo o un resto amino de BU;

15

+ indica una unión covalente a un resto de carbonilo de BU o una unión covalente a W o Z;

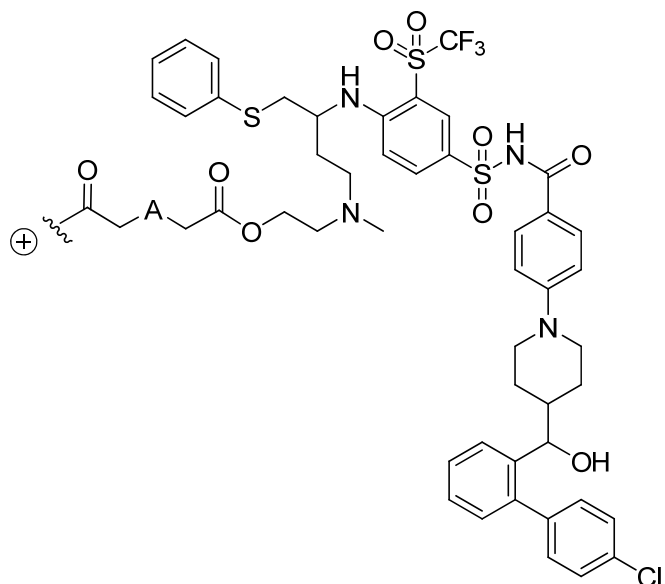
W es independientemente (PM)<sub>c</sub> o (H)<sub>e</sub>;

Z es independientemente (L-AA)<sub>d</sub> o (H)<sub>e</sub>;

PM es PEG<sub>900-1200</sub> o PEG<sub>1800-2400</sub>;

20

L-AA es un enlazador unido covalentemente a un agente activo; en donde L-AA es de fórmula:



en donde

A es  $-N(CH_3)$ ,  $-O-$ ,  $-S-$  o  $-CH_2-$ ;

$\oplus$  es el punto de unión a un resto de amina de BUx;

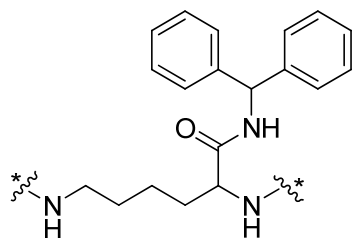
a condición de que  $(c+d) \leq (2^x)b$  y d sea  $\geq 1$ ; y

a condición de que si  $(c+d) < (2^x)b$ , entonces cualquier grupo W y Z restante sea  $(H)_e$ , en donde e es  $[(2^x)b] - (c+d)$ .

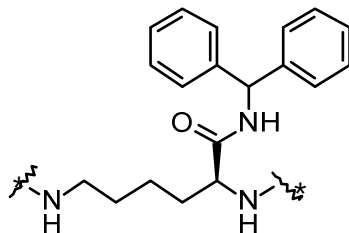
Con fines únicamente ilustrativos, la figura 1 es una representación de un dendrímero de 3.<sup>a</sup> generación, que comprende un núcleo, 3 generaciones de unidades de construcción (BU) y 24 grupos funcionales de superficie.

Se apreciará que el núcleo del dendrímero representa la unidad central a partir de la cual se construye el dendrímero. A este respecto, el núcleo representa la unidad central a partir de la cual "crecen" la primera y las generaciones

siguientes de unidades de construcción. En una realización, el núcleo en cualquiera de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) es



en donde \* indica una unión covalente a las unidades de construcción del dendrímero. En algunas realizaciones, el núcleo en cualquiera de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) es



en donde \* indica una unión covalente a las unidades de construcción del dendrímero.

La expresión "unidad de construcción" o "BU" incluye moléculas que tienen al menos tres grupos funcionales, uno para la unión al núcleo o una unidad de construcción en una generación (o capa) previa de unidades de construcción y dos o más grupos funcionales para su unión a unidades de construcción de la siguiente generación (o capa) de unidades

de construcción. Las unidades de construcción se usan para construir las capas del dendrúmero, mediante su adición al núcleo o la capa anterior de unidades de construcción. En algunas realizaciones, las unidades de construcción tienen  
5 tres grupos funcionales.

El término "generación" incluye el número de capas de unidades de construcción que forman un dendrón o dendrúmero. Por ejemplo, un dendrúmero de una generación tendrá una capa de unidades de construcción unidas al núcleo, por ejemplo,  
10 Núcleo-[[unidad de construcción] $b$ , donde  $b$  es el número de dendrones unidos al núcleo y la valencia del núcleo. Un dendrúmero de dos generaciones tiene dos capas de unidades de construcción en cada dendrón unido al núcleo. Por ejemplo, cuando la unidad de construcción tiene un punto de  
15 ramificación bivalente, el dendrúmero puede ser: Núcleo[[unidad de construcción][unidad de construcción] $2$ ] $b$ , un dendrúmero de generación tres tiene tres capas de unidades de construcción en cada dendrón unido al núcleo, por ejemplo, Núcleo-[[unidad de construcción][unidad de  
20 construcción] $2$ ][unidad de construcción] $4$ ] $b$ , un dendrúmero de generación cinco tiene cinco capas de unidades de construcción en cada dendrón unido al núcleo, por ejemplo, Núcleo-[[unidad de construcción][unidad de

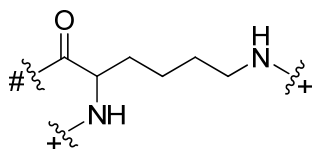
construcción]2[unidad de construcción]4[unidad de  
construcción]8[unidad de construcción]16]b, un dendrímero de  
generación 6 tiene seis capas de unidades de construcción  
unidas al núcleo, por ejemplo, Núcleo-[[unidad de  
5 construcción][unidad de construcción]2[unidad de  
construcción]4[unidad de construcción]8[unidad de  
construcción]16[unidad de construcción]32]b y similares. La  
última generación de unidades de construcción (la generación  
más externa) proporciona la funcionalización de superficie  
10 del dendrímero y el número de grupos funcionales de  
superficie disponibles para la unión del grupo modificador  
farmacocinético (PM) y/o el enlazador y agente activo (L-AA).

La expresión "grupos funcionales de superficie" se  
refiere a los grupos funcionales sin reaccionar que se  
15 encuentran en la generación final de las unidades de  
construcción. En algunas realizaciones, el número de grupos  
funcionales de superficie es igual a  $(2^x)b$ , en el que x es el  
número de generaciones en el dendrímero y b es el número de  
dendrones. En algunas realizaciones, los grupos funcionales  
20 de superficie son principalmente grupos funcionales amino.

El número total de unidades de construcción en un  
dendrímero con unidades de construcción que tienen 3 grupos  
funcionales (por ejemplo, un punto de ramificación) es igual

a  $(2^x-1)b$ , donde x es igual al número de la generación y b es igual al número de dendrones. Por ejemplo, en un dendrímero que tiene un núcleo con dos dendrones unidos ( $b = 2$ ), si cada unidad de construcción tiene un punto de ramificación y hay 5 generaciones, habrá 62 unidades de construcción y la generación más externa tendrá 16 unidades de construcción con 64 grupos funcionales de superficie. En algunas realizaciones, los grupos funcionales de superficie son restos amino, por ejemplo, aminas primarias o secundarias. En algunas realizaciones, el dendrímero es un dendrímero de quinta generación que tiene un núcleo bivalente, 62 unidades de construcción y 64 grupos funcionales amino primarios.

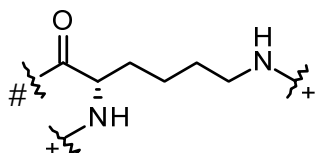
En algunas realizaciones, las unidades de construcción en cualquiera de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) tienen la estructura:



en la que # indica unión covalente a un resto amina del núcleo o un resto amino de una unidad de construcción y + indica una unión covalente a un resto de carbonilo de una unidad de construcción o unión covalente a un grupo modificador de la farmacocinética, un enlazador unido a un

agente activo o un hidrógeno. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene 62 unidades de construcción con 64 grupos funcionales amino primarios.

En algunas realizaciones, las unidades de construcción  
5 en cualquiera de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) tienen la estructura:



10 en la que # indica unión covalente a un resto amina del núcleo o un resto amino de una unidad de construcción y + indica una unión covalente a un resto de carbonilo de una unidad de construcción o unión covalente a un grupo modificador de la farmacocinética, un enlazador unido a un  
15 agente activo o un hidrógeno.

La expresión "grupo modificador de la farmacocinética" o "PM" incluye restos que pueden modificar o modular el perfil farmacocinético del dendrímero o del agente activo que está suministrando. En algunas realizaciones, el PM puede modular  
20 la distribución, el metabolismo y/o la excreción del dendrímero o del agente activo. En algunas realizaciones, el PM puede influenciar la velocidad de liberación del agente activo, ya sea frenando o aumentando la velocidad a la cual

se libera el agente activo del dendrímero, ya sea por las vías de degradación química (por ejemplo, hidrólisis) o enzimática. En algunas realizaciones, el PM puede cambiar el perfil de solubilidad del dendrímero, ya sea aumentando o reduciendo la solubilidad en un portador farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, el PM puede ayudar al dendrímero a suministrar el agente activo en tejidos específicos (por ejemplo, tumores).

En algunas realizaciones, en cualquiera de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V), el PM es polietilenglicol (PEG). En algunas realizaciones, el polietilenglicol (PEG) tiene un peso molecular medio de entre aproximadamente 220 y aproximadamente 5500 Da. En algunas realizaciones, el PEG tiene un peso molecular medio de entre aproximadamente 500 y aproximadamente 5000 Da. En algunas realizaciones, el PEG tiene un peso molecular medio de entre aproximadamente 1000 y 2500 Da. En algunas realizaciones, el PEG tiene un peso molecular medio de entre aproximadamente 1500 y aproximadamente 2400 Da. En algunas realizaciones, el PEG tiene un peso molecular de entre aproximadamente 900 y aproximadamente 1200 Da. En algunas realizaciones, el PEG tiene un peso molecular de entre aproximadamente 1800 y aproximadamente 2400 Da. En algunas realizaciones, el PEG

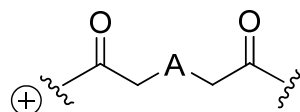
tiene un peso molecular medio de aproximadamente 2150. Un experto en la materia entenderá fácilmente que el término "PEG<sub>900-1200</sub>" incluye PEG con un peso molecular medio de entre aproximadamente 900 y aproximadamente 1200 Da y que el  
5 término "PEG<sub>1800-2400</sub>" incluye PEG con un peso molecular medio de entre aproximadamente 1800 y aproximadamente 2400 Da.

En algunas realizaciones, el PEG tiene un índice de polidispersidad (PDI) de entre aproximadamente 1.00 y aproximadamente 2.00, entre aproximadamente 1.00 y 1.50, por  
10 ejemplo, entre aproximadamente 1.00 y aproximadamente 1.25, entre aproximadamente 1.00 y aproximadamente 1.10 o entre aproximadamente 1.00 y aproximadamente 1.10. En algunas realizaciones, el PDI del PEG es de aproximadamente 1.05. La expresión "índice de polidispersidad" se refiere a una medida  
15 de la distribución de masa molecular en una muestra de polímero dada. El PDI es igual al peso molecular medio ( $M_w$ ) dividido entre el peso molecular medio en número ( $M_n$ ) e indica la distribución de masas moleculares individuales en un lote de polímeros. El PDI tiene un valor mayor o igual a 1,  
20 pero a medida que el polímero alcanza una longitud de cadena y un peso molecular medio uniforme, el PDI se aproximará más a 1.

En algunas realizaciones, el dendrímero tiene menos de  $(2^x)b$  grupos PEG, en donde  $x$  es el número de generaciones del dendrímero y  $b$  es el número de dendrones. En algunas realizaciones, todos los grupos funcionales de superficie están unidos covalentemente a grupos PEG. En algunas realizaciones, cuando  $x$  es 5, el dendrímero tiene entre aproximadamente 25 y aproximadamente 60 grupos PEG. En algunas realizaciones, el dendrímero no tiene más de  $2^x$  grupos PEG. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene  $2^x$  grupos PEG. Por ejemplo, cuando la unidad de construcción del dendrímero tiene un punto de ramificación bivalente, un dendrímero de segunda generación no tendrá más de 4 grupos PEG, un dendrímero de tercera generación no tendrá más de 8 grupos PEG, un dendrímero de cuarta generación no tendrá más de 16 grupos PEG y un dendrímero de quinta generación no tendrá más de 32 grupos PEG. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene menos de  $2^x$  grupos PEG. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene entre aproximadamente 25 y aproximadamente 64 grupos PEG. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene entre aproximadamente 25 y aproximadamente 40 grupos PEG. En algunas realizaciones, el dendrímero no tiene más de 32 grupos PEG. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene entre aproximadamente 25 y aproximadamente

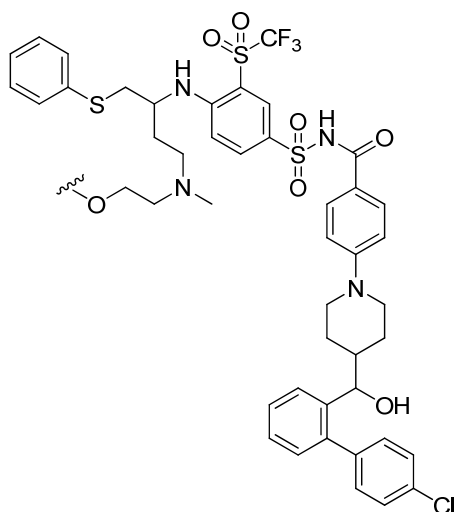
32 grupos PEG. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene de aproximadamente 28 a aproximadamente 32 grupos PEG. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene 29 grupos PEG, 30 grupos PEG, 31 grupos PEG o 32 grupos PEG.

5 Los dendrímeros divulgados de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) incluyen un enlazador unido covalentemente a un agente activo (L-AA), en el que el enlazador (L) está unido covalentemente a los grupos funcionales de superficie en la generación final de las unidades de construcción en un  
10 extremo del enlazador y a un agente activo (AA) en el otro extremo del enlazador. En algunas realizaciones, el enlazador en cualquiera de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) tiene la estructura:

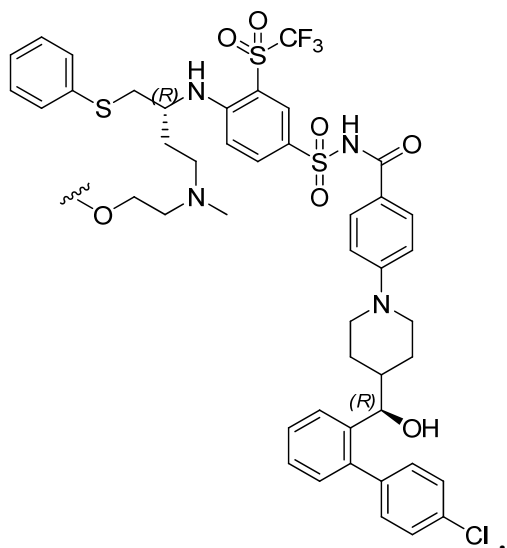


en la que  $\oplus$  está unido covalentemente a los grupos funcionales amino de la generación final de las unidades de construcción,  $\sim$  es un punto de unión covalente al agente activo (AA) y A es -N(CH<sub>3</sub>), -O-, -S- o -CH<sub>2</sub>-. En algunas  
20 realizaciones, A es -CH<sub>2</sub>-. En algunas realizaciones, A es -O-. En algunas realizaciones, A es -S-. En algunas realizaciones, A es -N(CH<sub>3</sub>).

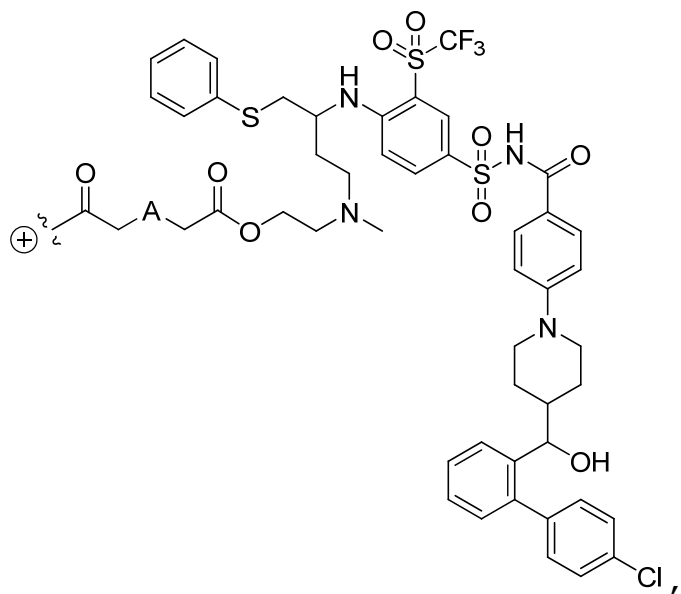
En algunas realizaciones, AA es un inhibidor de Bcl. En algunas realizaciones, AA es un inhibidor de Bcl-2 y/o Bcl-XL. En algunas realizaciones, AA es un inhibidor de Bcl-2 y/o Bcl-XL divulgado en la Patente de los Estados Unidos n.º 9,018,381. En algunas realizaciones, AA en cualquiera de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) tiene la estructura:



en la que  es un punto de unión covalente al enlazador. En algunas realizaciones, AA en cualquiera de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) tiene la estructura:



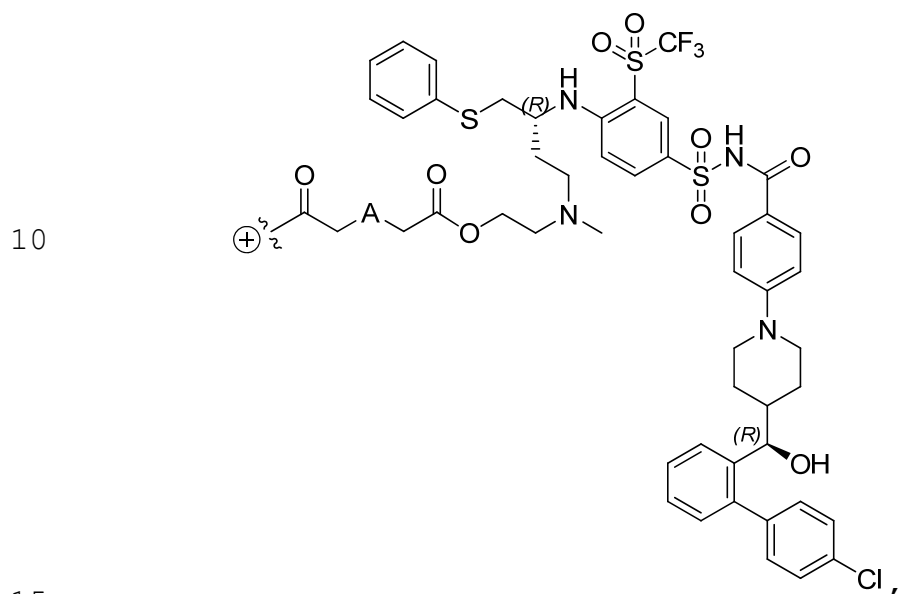
En algunas realizaciones, la estructura de L-AA en cualquiera de los dendrímeros de (I), (II), (III), (IV) o (V) es:



en la que  $\oplus$  está unido covalentemente a los grupos funcionales amino de la generación final de las unidades de construcción y A es  $-\text{N}(\text{CH}_3)$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$  o  $-\text{CH}_2-$ . En algunas

realizaciones, A es  $-\text{CH}_2-$ . En algunas realizaciones, A es  $-\text{O}-$ .  
En algunas realizaciones, A es  $-\text{S}-$ . En algunas realizaciones,  
A es  $-\text{N}(\text{CH}_3)$ .

En algunas realizaciones, la estructura de L-AA en  
5 cualquiera de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III),  
(IV) o (V) es:



en la que  $\oplus$  está unido covalentemente a los grupos  
funcionales amino de la generación final de las unidades de  
construcción y A es  $-\text{N}(\text{CH}_3)$ ,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$  o  $-\text{CH}_2-$ . En algunas  
realizaciones, A es  $-\text{CH}_2-$ . En algunas realizaciones, A es  $-\text{O}-$ .  
20 En algunas realizaciones, A es  $-\text{S}-$ . En algunas realizaciones,  
A es  $-\text{N}(\text{CH}_3)$ .

En algunas realizaciones, el dendrímero de una  
cualquiera de las fórmulas (I), (II), (III), (IV) y (V) tiene

menos de  $(2^x)b$  grupos L-AA, en donde  $x$  es el número de generaciones del dendrímero y  $b$  es el número de dendrones. En algunas realizaciones, todos los grupos funcionales de superficie están unidos covalentemente a grupos L-AA. En

5 algunas realizaciones, cuando  $x$  es 5, el dendrímero tiene entre aproximadamente 25 y aproximadamente 64 grupos L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero no tiene más de  $2^x$  grupos L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene  $2^x$  grupos L-AA. Por ejemplo, cuando la unidad de construcción del

10 dendrímero tiene un punto de ramificación bifuncional, un dendrímero de segunda generación no tendrá más de 4 grupos L-AA, un dendrímero de tercera generación no tendrá más de 8 grupos L-AA, un dendrímero de cuarta generación no tendrá más de 16 grupos L-AA y un dendrímero de quinta generación no

15 tendrá más de 32 grupos L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene menos de  $2^x$  grupos L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene entre aproximadamente 25 y aproximadamente 64 grupos L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene entre aproximadamente 25 y aproximadamente

20 40 grupos L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero no tiene más de 32 grupos L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene entre aproximadamente 25 y aproximadamente 32 grupos L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene

entre aproximadamente 28 y aproximadamente 32 grupos L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene 29 grupos L-AA, 30 grupos L-AA, 31 grupos L-AA o 32 grupos L-AA.

En algunas realizaciones, en cualquiera de los  
5 dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V), la suma de grupos L-AA y de grupos PEG puede ser igual a no más de 64. En algunas realizaciones, la suma de grupos L-AA y de grupos PEG puede ser menor de 64, a condición de que el dendrímero tenga al menos un grupo L-AA. En algunas realizaciones, la  
10 suma de grupos L-AA y de grupos PEG puede ser de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 64. En caso de que la suma de grupos L-AA y de grupos PEG sea menor de 64, las unidades funcionales de superficie sin reaccionar de la generación final de unidades de construcción siguen siendo  
15 grupos amino primarios, a condición de que el dendrímero tenga al menos un grupo L-AA. Por ejemplo, el número de grupos amino primarios en la generación final de unidades de construcción es igual a 64 menos la suma de los grupos L-AA y PEG (por ejemplo,  $64 - (\text{L-AA} + \text{PEG})$ ), a condición de que el  
20 dendrímero tenga al menos un grupo L-AA. Por ejemplo, en caso de que la suma de grupos L-AA y grupos PEG sea 50, entonces 14 grupos funcionales de superficie permanecerán como restos amino primarios, en caso de que la suma de grupos L-AA y

grupos PEG sea 51, entonces 13 grupos funcionales de superficie permanecerán como restos amino primarios, en caso de que la suma de grupos L-AA y grupos PEG sea 52, entonces 12 grupos funcionales de superficie permanecerán como restos amino primarios, en caso de que la suma de grupos L-AA y grupos PEG sea 53, entonces 11 grupos funcionales de superficie permanecerán como restos amino primarios, etc. En algunas realizaciones, el número de restos amino primarios en el dendrímero es de entre aproximadamente 0 y aproximadamente 14. En algunas realizaciones, en caso de que la suma del número de grupos PEG y el número de grupos L-AA sea menor de  $(2^x)b$ , en el que  $x$  es el número de generaciones del dendrímero y  $b$  es el número de dendrones, el resto de grupos funcionales de superficie es igual a 64 menos la suma de los grupos PEG y los grupos L-AA, a condición de que el dendrímero tenga al menos un grupo L-AA.

En algunas realizaciones, si  $W$  es  $(PM)_c$  o  $(H)_e$ ;  $Z$  es  $(L-AA)_d$  o  $(H)_e$ ; a condición de que  $(c+d) \leq (2^x)b$  y a condición de que  $d$  sea  $\geq 1$ ; en donde  $x$  es el número de generaciones y  $b$  es el número de dendrones; y a condición de que si  $(c+d) < (2^x)b$ , entonces cualquier grupo  $W$  y  $Z$  restante sea  $(H)_e$ , en donde  $e$  es  $[2^{(x+1)}] - (c+d)$ . Por ejemplo, cuando  $b$  es 2 y  $x$  es 5, entonces  $(c+d) \leq 64$ . En algunas realizaciones,  $(c+d) = 64$ ; es

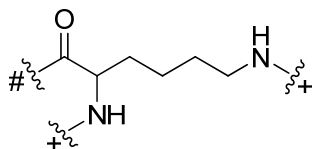
decir, la suma de  $(PM)_c$  y  $(L-AA)_d$  es igual a 64. En algunas realizaciones, cuando  $b$  es 2 y  $x$  es 5, entonces  $(c+d) < 64$ ; es decir, la suma de  $(PM)_c$  y  $(L-AA)_d$  es menor de 64, a condición de que  $d$  sea  $\geq 1$ . En algunas realizaciones,  $(c+d)$  es un número entero entre 50 y 64. En algunas realizaciones,  $(c+d)$  es un número entero entre 58 y 64.

En algunas realizaciones,  $(c+d) = (2^x)b$  en cuyo caso, no hay  $(H)_e$  y  $e$  es 0. Por ejemplo, si  $b$  es 2 y  $x$  es 5, y la suma de  $(PM)_c$  y  $(L-AA)_d$  es igual a 64, entonces no hay grupos funcionales de superficie sin sustituir en la quinta generación de unidades de construcción en el dendrímero y por lo tanto,  $e$  es 0. Sin embargo, si  $(c+d) < (2^x)b$ , entonces  $(H)_e$  es igual a  $(2^x)b - (c+d)$ . Por ejemplo, si  $b$  es 2,  $x$  es 5 y la suma de  $(PM)_c$  y  $(L-AA)_d$  es menor de 64, entonces el número de grupos funcionales de superficie sin sustituir e la quita generación de bloques de construcción es igual a 64 menos la suma de  $(PM)_c$  y  $(L-AA)_d$ . En este caso,  $e$  es igual a 64 menos la suma de  $(PM)_c$  y  $(L-AA)_d$ . En algunas realizaciones, cuando la suma de  $(c+d)$  es un número entero entre 50 y 64,  $e$  es un número entero entre 0 y 14. En algunas realizaciones, cuando  $(c+d)$  es un número entero entre 58 y 64,  $e$  es un número entero entre 0 y 6. En algunas realizaciones,  $(c+d)$  es 58 y  $e$  es 6. En algunas realizaciones,  $(c+d)$  es 59 y  $e$  es 5. En

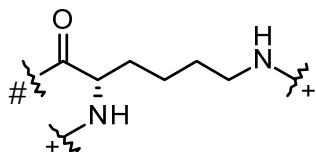
algunas realizaciones, (c+d) es 60 y e es 4. En algunas realizaciones, (c+d) es 61 y e es 3. En algunas realizaciones, (c+d) es 62 y e es 2. En algunas realizaciones, (c+d) es 63 y e es 1. En algunas realizaciones, (c+d) es 60 y e es 0.

5        En algunas realizaciones, cualquiera de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) tiene un peso molecular de aproximadamente 90 a aproximadamente 120 kDa. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene un peso molecular de aproximadamente 100 y 115 kDa. En algunas realizaciones,  
10        el dendrímero tiene un peso molecular de aproximadamente 100 a aproximadamente 110 kDa. En algunas realizaciones, el dendrímero tiene un peso molecular de aproximadamente 100 a aproximadamente 105 kDa. En algunas realizaciones, el peso molecular del dendrímero es de aproximadamente 100 kDa,  
15        aproximadamente 101 kDa, aproximadamente 102 kDa, aproximadamente 103 kDa, aproximadamente 104 kDa, aproximadamente 105 kDa, aproximadamente 106 kDa, aproximadamente 107 kDa, aproximadamente 108 kDa, aproximadamente 109 kDa o aproximadamente 110 kDa.

20        En algunas realizaciones, cuando BU es



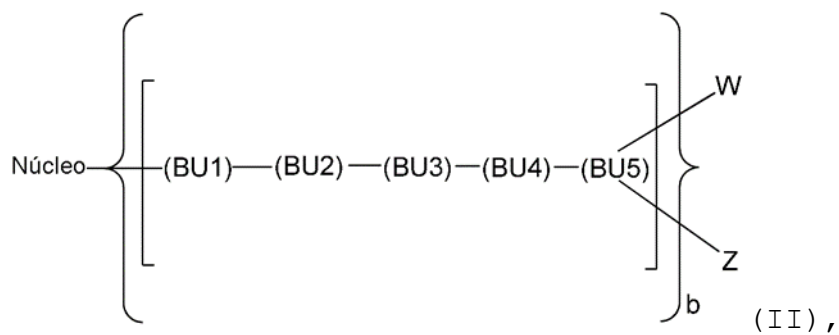
o



5 el PEG está unido covalentemente a la funcionalidad amino en la posición  $\epsilon$  del BU y el L-AA está unido a la funcionalidad amino en la posición  $\alpha$  del BU.

En algunas realizaciones, se divulga un dendrímero de fórmula (II):

10



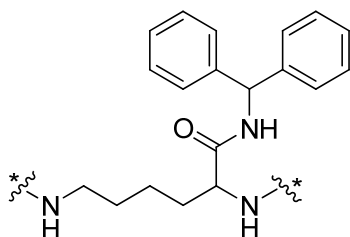
15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

b es 2;

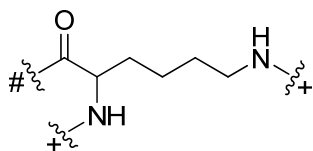
Núcleo es

20



\* indica unión covalente a un resto de carbonilo de (BU1);

BU son unidades de construcción y el número de BU es igual a 62; en donde BU tiene la siguiente estructura:



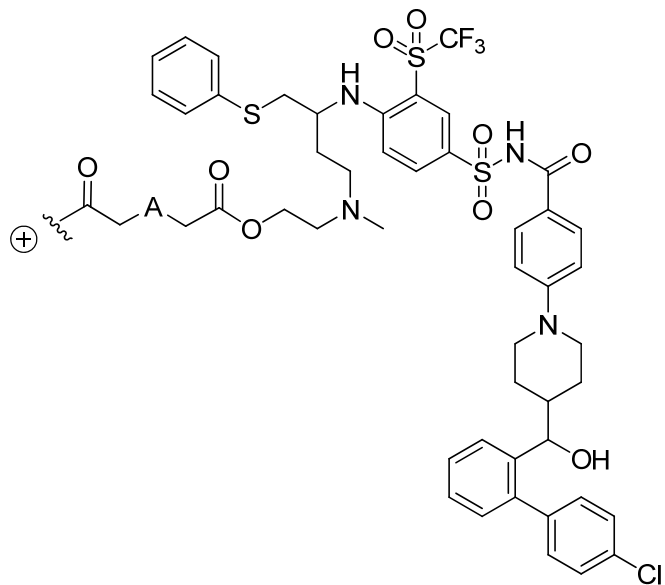
# indica unión covalente a un resto de amina de Núcleo o un resto amino de BU y + indica una unión covalente a un resto carbonilo de BU o una unión covalente a W o Z;

W es independentemente  $(PM)_c$  o  $(H)_e$ ;

Z es independientemente (L-AA)<sub>d</sub> o (H)<sub>e</sub>;

PM es PEG<sub>900-1200</sub> o PEG<sub>1800-2400</sub>;

L-AA es un enlazador unido covalentemente a un agente activo; en donde L-AA es de fórmula:



20

en donde

A es  $-N(CH_3)$ ,  $-O-$ ,  $-S-$  o  $-CH_2-$ ;

$\oplus$  indica unión covalente a un resto de amina de BU5;

a condición de que  $(c+d)$  sea  $\leq 64$  y  $d$  sea  $\geq 1$ ; y

5 a condición de que si  $(c+d) < 64$ , entonces cualquier grupo W o Z restante sea  $(H)_e$ , en donde e es  $64-(c+d)$ .

En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $(PM)_c$  es PEG<sub>900-1200</sub> y A es  $-O-$ . En algunas realizaciones,  $(PM)_c$  es PEG<sub>1800-2400</sub> y A es  $-O-$ . En algunas realizaciones del  
10 dendrímero de fórmula (II),  $(PM)_c$  es PEG<sub>1800-2400</sub> y A es  $-N(CH_3)$ . En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $(PM)_c$  es PEG<sub>1800-2400</sub> y A es  $-S-$ . En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $(PM)_c$  es PEG<sub>1800-2400</sub> y A es  $-CH_2-$ .

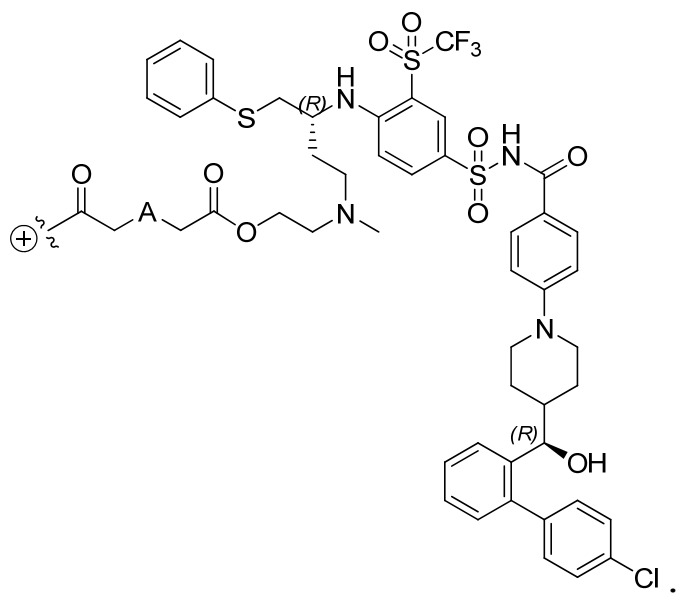
En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  
15 c es un número entero entre 25 y 32. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II), c es un número entero entre 29 y 32. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II), c es 29. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II), c es 30. En algunas realizaciones del  
20 dendrímero de fórmula (II), c es 31. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II), c es 32.

En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II), d es un número entero entre 25 y 32. En algunas realizaciones

del dendrímero de fórmula (II),  $d$  es un número entero entre 29 y 32. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $d$  es 29. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $d$  es 30. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $d$  es 31. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $d$  es 32.

En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $e$  es un número entero entre 0 y 14. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $e$  es un número entero entre 0 y 6. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $e$  es 0. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $e$  es 1. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $e$  es 2. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $e$  es 3. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $e$  es 4. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $e$  es 5. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II),  $e$  es 6.

En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (II), L-AA es:

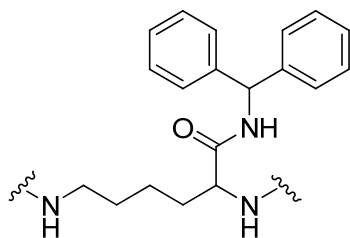


En algunas realizaciones, se divulga un dendrímero de fórmula (III):

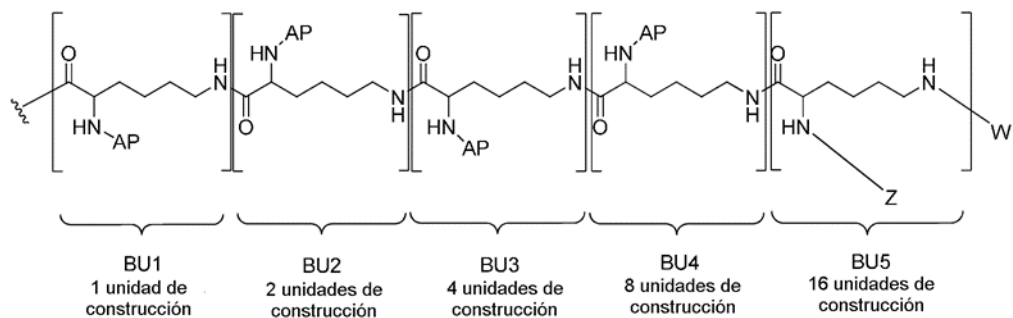
D-Núcleo-D (III)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

Núcleo es



D es



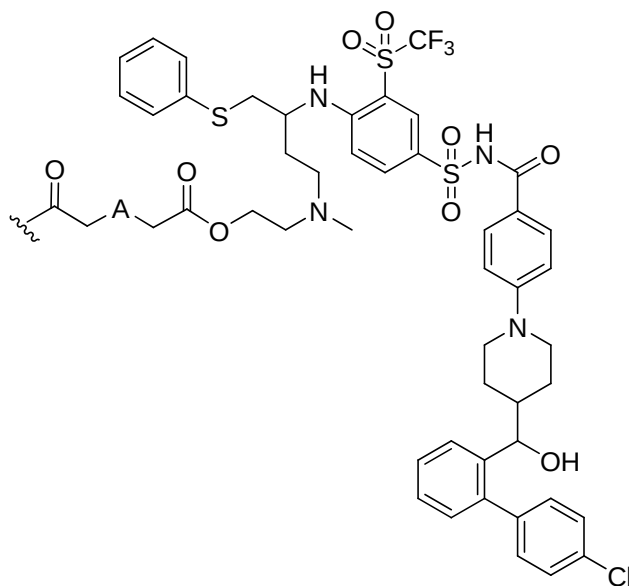
AP es un punto de unión a otra unidad de construcción;

W es independientemente  $(PM)_c$  o  $(H)_e$ ;

Z es independientemente  $(L-AA)_d$  o  $(H)_e$ ;

PM es  $PEG_{900-1200}$  o  $PEG_{1800-2400}$ ;

L-AA es un enlazador unido covalentemente a un agente activo; en donde L-AA es de fórmula:

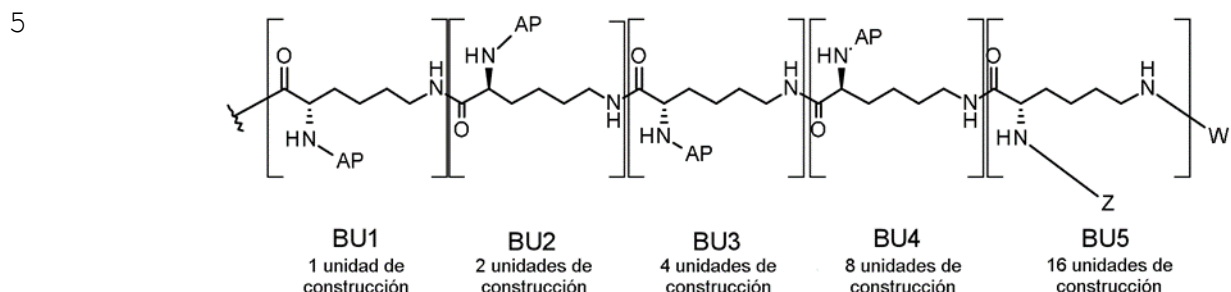


en donde

A es  $-N(CH_3)$ ,  $-O-$ ,  $-S-$  o  $-CH_2-$ ;

a condición de que si  $(c+d) < 64$ , entonces cualquier grupo W o Z restante sea  $(H)_e$ , en donde e es  $64-(c+d)$ ; y d es  $\geq 1$ .

En algunas realizaciones, D es



10 En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (III),  $(PM)_c$  es PEG<sub>900-1200</sub> y A es -O-. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (III),  $(PM)_c$  es PEG<sub>1800-2400</sub> y A es -O-. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (III),  $(PM)_c$  es PEG<sub>1800-2400</sub> y A es -N(CH<sub>3</sub>). En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (III),  $(PM)_c$  es PEG<sub>1800-2400</sub> y A es -S-. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (III),  $(PM)_c$  es PEG<sub>1800-2400</sub> y A es -CH<sub>2</sub>-.

15

En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (III), c es un número entero entre 25 y 32. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (III), c es un número entero entre 29 y 32. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (III), c es 29. En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (III), c es 30. En algunas realizaciones del

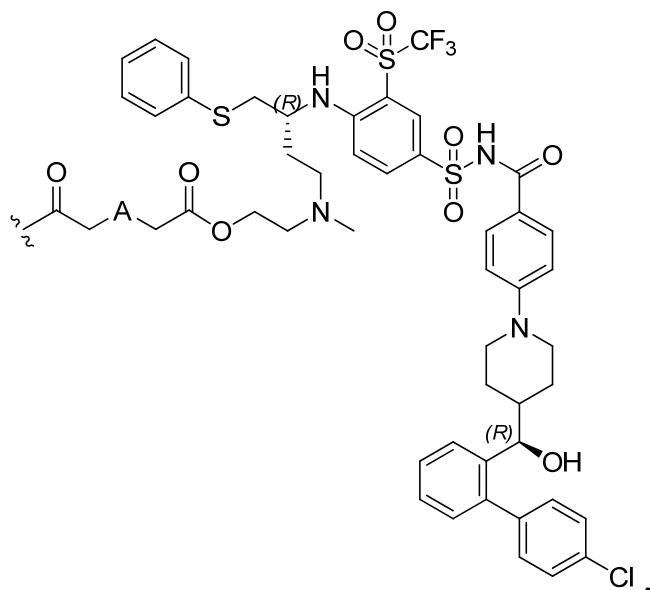
20

dendrúmero de fórmula (III),  $c$  es 31. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $c$  es 32.

En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $d$  es un número entero entre 25 y 32. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $d$  es un número entero entre 29 y 32. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $d$  es 29. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $d$  es 30. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $d$  es 31. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $d$  es 32.

En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $e$  es un número entero entre 0 y 14. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $e$  es un número entero entre 0 y 6. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $e$  es 0. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $e$  es 1. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $e$  es 2. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $e$  es 3. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $e$  es 4. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $e$  es 5. En algunas realizaciones del dendrúmero de fórmula (III),  $e$  es 6.

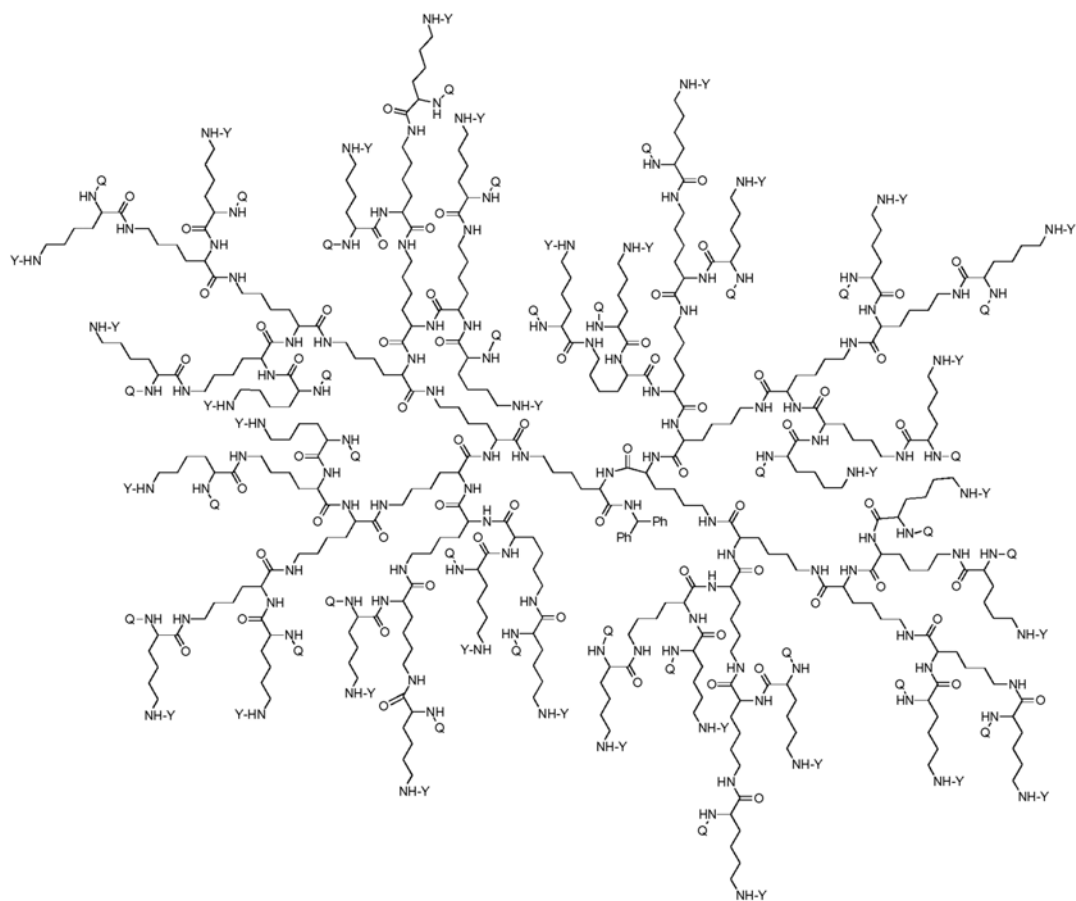
En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (III),  
L-AA del dendrímero de fórmula (III) es:



En algunas realizaciones, se divulga un dendrímero de  
fórmula (IV):

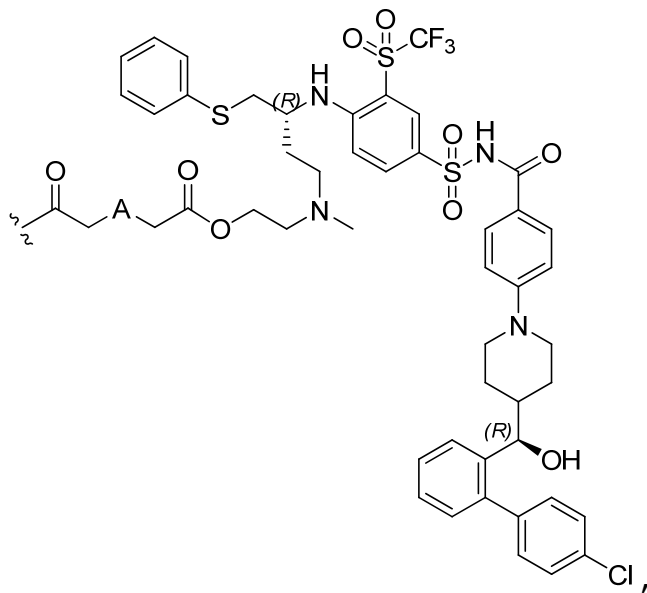
15

20



(IV),

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en  
 donde Y es PEG<sub>1800-2400</sub> o H; Q es H o L-AA, en el que L-AA tiene  
 la estructura:



A es -S- o -N(CH<sub>3</sub>), a condición de que si la suma de PEG<sub>1800-2400</sub> y L-AA es menor de 64, los demás restos Q e Y son H y a condición de que al menos un Q sea L-AA.

En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (IV), A es -N(CH<sub>3</sub>). En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (IV), A es -S-.

En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene entre 25 y 32 PEG<sub>1800-2400</sub>. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene entre 29 y 32 PEG<sub>1800-2400</sub>. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 29 PEG<sub>1800-2400</sub>. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 30 PEG<sub>1800-2400</sub>. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 31 PEG<sub>1800-2400</sub>. En algunas

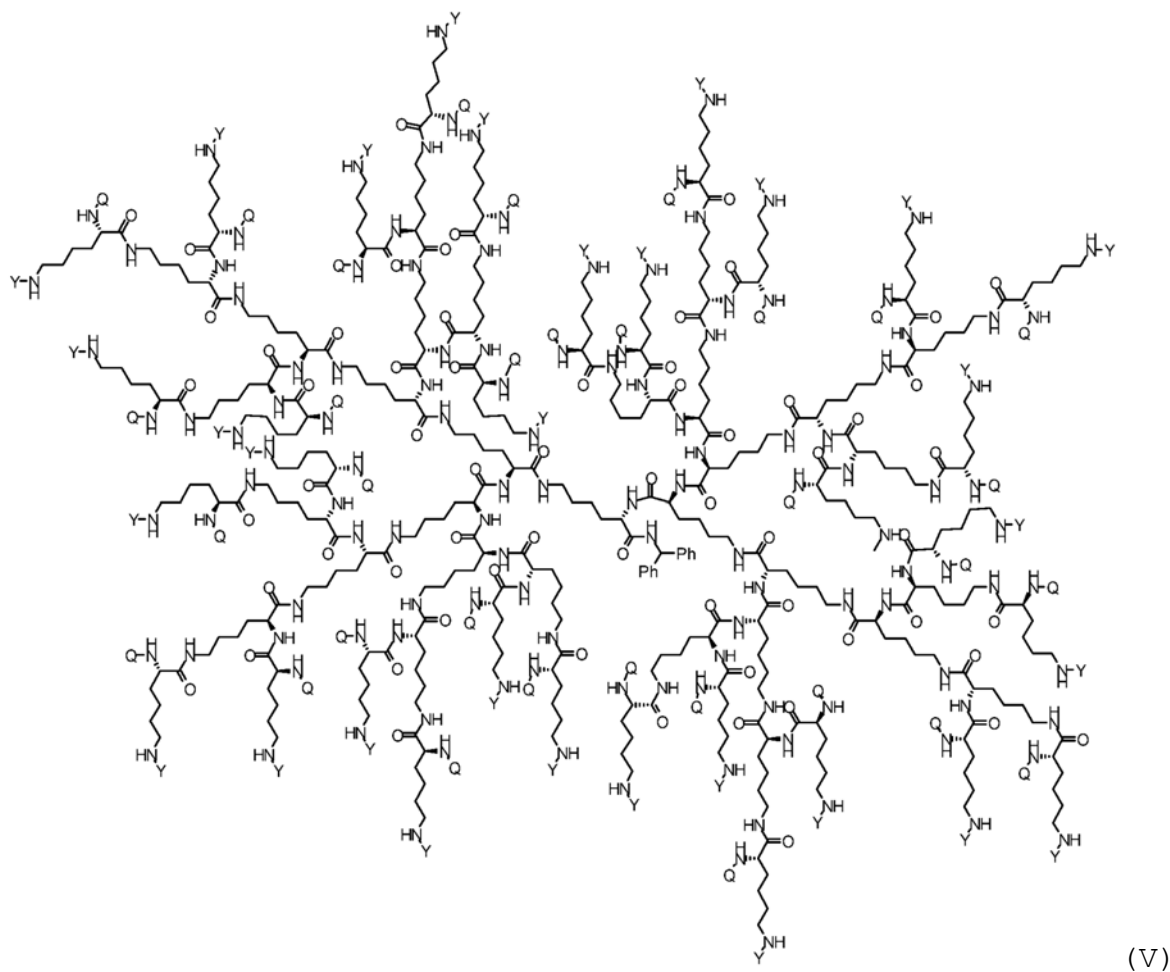
realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 32 PEG<sub>1800-2400</sub>.

En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene entre 25 y 32 L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene entre 29 y 32 L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 29 L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 30 L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 31 L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 32 L-AA.

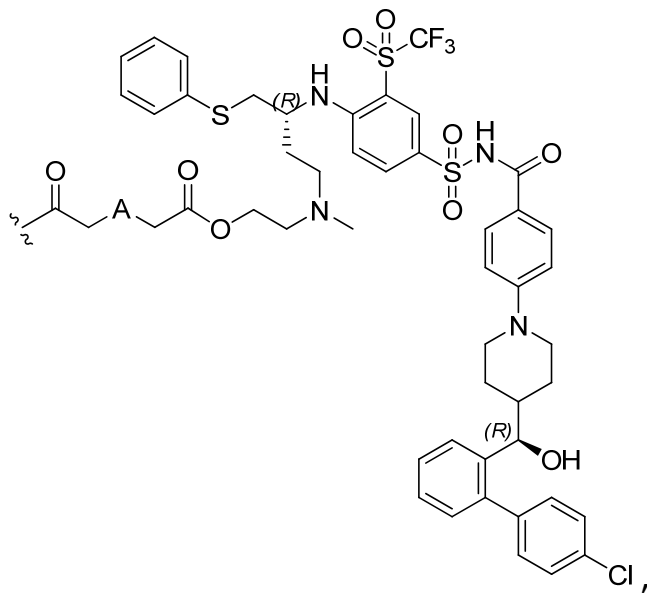
En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene entre 0 y 14 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene entre 0 y 6 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 1 hidrógeno en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 2 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 3 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 4 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 5 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas

realizaciones, el dendrímero de fórmula (IV) tiene 6 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y.

En algunas realizaciones, se divulga un dendrímero de fórmula (V):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en donde Y es PEG<sub>1800-2400</sub> o H; Q es H o L-AA, en el que L-AA tiene la estructura:



A es -S- o -N(CH<sub>3</sub>), a condición de que si la suma de PEG<sub>1800-2400</sub> y L-AA es menor de 64, los demás restos Q e Y son H y a condición de que al menos un Q sea L-AA.

En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (V), A es -N(CH<sub>3</sub>). En algunas realizaciones del dendrímero de fórmula (V), A es -S-.

En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene entre 25 y 32 PEG<sub>1800-2400</sub>. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene entre 29 y 32 PEG<sub>1800-2400</sub>. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 29 PEG<sub>1800-2400</sub>. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 30 PEG<sub>1800-2400</sub>. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 31 PEG<sub>1800-2400</sub>. En algunas

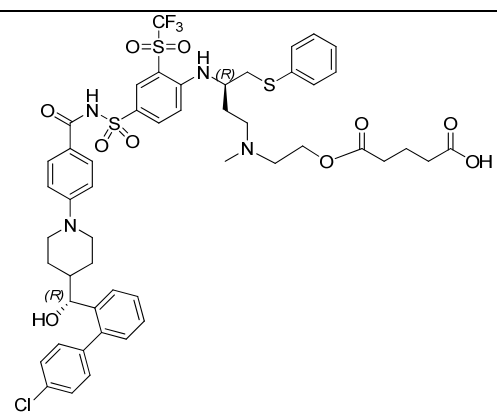
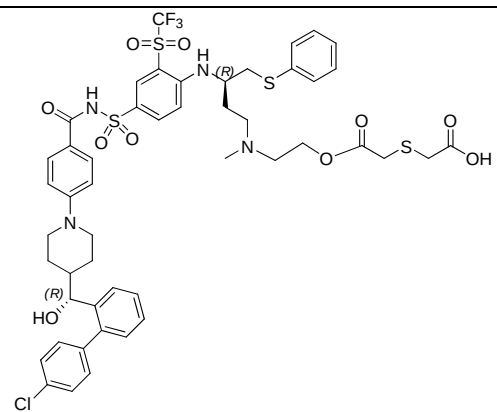
realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 32 PEG<sub>1800-2400</sub>.

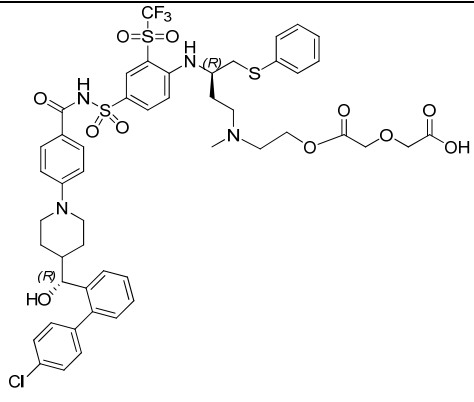
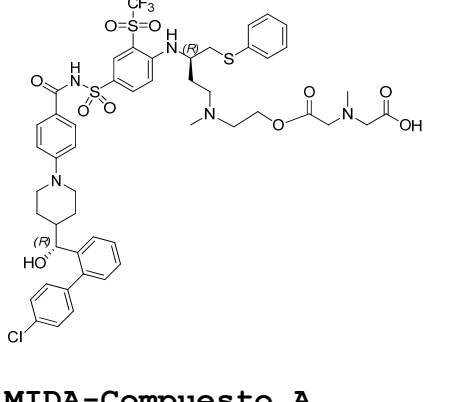
En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene entre 25 y 32 L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene entre 29 y 32 L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 29 L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 30 L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 31 L-AA. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 32 L-AA.

En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene entre 0 y 14 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene entre 0 y 6 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 1 hidrógeno en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 2 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 3 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 4 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 5 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y. En algunas

realizaciones, el dendrímero de fórmula (V) tiene 6 hidrógenos en las posiciones Q y/o Y.

En algunas realizaciones, también se divulgan compuestos con las estructuras:

|    |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                       |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5  |  <p><b>Glu-Compuesto A</b></p>   | <p>Ácido 5-(2-(((R)-3-(4-(N-(4-(4-((R)-(4'-clorobifenil-2-il)(hidroxi)metil)piperidin-1-il)benzoil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)(metil)amino)etoxi)-5-oxopentanoico</p>         |
| 10 |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                       |
| 15 |  <p><b>TDA-Compuesto A</b></p> | <p>Ácido 2-(2-(2-(((R)-3-(4-(N-(4-(4-((R)-(4'-clorobifenil-2-il)(hidroxi)metil)piperidin-1-il)benzoil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil)(metil)amino)etoxi)-2-oxoetiltio)acético</p> |
| 20 |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                       |

|                     |                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                    |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>5</p>            |  <p><b>DGA-Compuesto A</b></p>   | <p>Ácido 2-(2-(2-((R)-3-(4-(N-(4-(4-((R)-(4'-clorobifenil-2-il) (hidroxi)metil)piperidin-1-il)benzoil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil) (metil)amino)etoxi)-2-oxoetoxi)acético</p>               |
| <p>10</p> <p>15</p> |  <p><b>MIDA-Compuesto A</b></p> | <p>Ácido 2-((2-(2-((R)-3-(4-(N-(4-(4-((R)-(4'-clorobifenil-2-il) (hidroxi)metil)piperidin-1-il)benzoil)sulfamoil)-2-(trifluorometilsulfonil)fenilamino)-4-(feniltio)butil) (metil)amino)etoxi)-2-oxoetil) (metil)amino)acético</p> |

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" incluye sales de adición de ácido o de base que conservan la eficacia y las propiedades biológicas de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) y que normalmente no son biológicamente o de otra forma no deseables. En muchos casos,

los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) son capaces de formar sales ácidas y/o básicas en virtud de la presencia de grupos básicos y/o carboxilo o grupos similares a los mismos.

5 Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables pueden formarse con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, canforsulfonato, cloruro/clorhidrato, 10 clorteofilonato, citrato, etanodisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, 15 octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, palmoato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, subsalicilato, sulfato/hidrogenosulfato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato. Los ácidos inorgánicos a partir de los 20 cuales pueden obtenerse sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares. Los ácidos orgánicos a partir de los cuales pueden obtenerse sales incluyen, por

ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido trifluoroacético, ácido sulfosalicílico y similares.

Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables pueden formarse con bases orgánicas e inorgánicas. Las bases inorgánicas a partir de las cuales pueden obtenerse sales incluyen, por ejemplo, amoníaco y sales de amonio y metales de las columnas I a XII de la tabla periódica. En determinadas realizaciones, las sales se obtienen a partir de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc y cobre; particularmente, las sales adecuadas incluyen sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. Las bases orgánicas a partir de las cuales pueden obtenerse sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, resinas de intercambio iónico básicas y similares. Algunas aminas orgánicas incluyen isopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) pueden sintetizarse a partir de un resto básico o ácido, por medio de métodos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tal como hidróxido, carbonato, bicarbonato, o similares, de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , o  $\text{K}^+$ ), o haciendo reaccionar formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Estas reacciones se llevan a cabo normalmente en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de ambos. En general, cuando sea posible, es deseable el uso de un medio no acuoso tal como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Pueden encontrarse listas de sales adecuadas adicionales, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences," 20.<sup>a</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); Berge et al., "J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19 y en "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

Cualquier fórmula proporcionada en el presente documento también puede representar formas no marcadas, así como formas marcadas isotópicamente para los dendrímeros de fórmula (I),

(II), (III), (IV) y (V). Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas proporcionadas en el presente documento, salvo por que uno o más átomos se reemplazan por un átomo del mismo elemento pero con un número másico diferente. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) y sus sales incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$  y  $^{125}\text{I}$ . Los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) pueden incluir diversos compuestos marcados isotópicamente, en los que están presentes isótopos radiactivos, tales como  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$  y  $^{36}\text{Cl}$ . Generalmente, pueden prepararse dendrímeros de fórmula (I), (II), (III) y (IV) marcados isotópicamente mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procesos análogos a los descritos en los ejemplos adjuntos, usando reactivos marcados isotópicamente adecuados en lugar de los reactivos no marcados empleados previamente.

Los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) pueden tener diferentes formas isoméricas. La expresión "isómero óptico" o "estereoisómero" se refiere a cualquiera de las diversas configuraciones estereoisoméricas que puedan

existir para un dendrímero dado de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V). En particular, los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) poseen quiralidad y como tales, pueden existir en forma de mezclas de enantiómeros con un  
5 exceso enantiomérico de entre aproximadamente el 0% y >98% e.e. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, puede especificarse la estereoquímica e cada centro quiral mediante R o S. Dichas denominaciones también pueden usarse para mezclas que están enriquecidas en un enantiómero. A los  
10 compuestos resueltos cuya configuración absoluta se desconoce puede asignárseles (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextro- o levógira) en la que rotan la luz polarizada en el plano a la longitud de onda de la línea D de sodio. La presente divulgación pretende incluir todos los posibles  
15 isómeros de este tipo, incluyendo mezclas racémicas, formas ópticamente puras y mezclas intermedias. Pueden prepararse isómeros (R) y (S) ópticamente activos usando sintones quirales, reactivos quirales o catalizadores quirales o resolverse usando técnicas convencionales bien conocidas en  
20 la técnica, tales como HPLC quiral.

#### **COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS**

En algunas realizaciones, se divulgan composiciones farmacéuticas que comprenden un dendrímero de fórmula (I),

(II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

La expresión "excipiente, portador o diluyente  
5 farmacéuticamente aceptable" incluye compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del juicio médico sensato, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro  
10 problema o complicación, tal como determina un experto en la técnica.

Las composiciones divulgadas pueden estar en una forma adecuada para uso oral (por ejemplo, como comprimidos, pastillas para chupas, cápsulas duras o blandas, suspensiones  
15 acuosas u oleosas, emulsiones, polvos o gránulos dispersables, jarabes o elixires), para uso tópico (por ejemplo, como cremas, pomadas, geles, o disoluciones o suspensiones acuosas u oleosas), para administración por inhalación (por ejemplo, como un polvo finamente dividido o un aerosol líquido), para  
20 administración por insuflación (por ejemplo, como un polvo finamente dividido) o para administración parenteral (por ejemplo, en forma de una disolución acuosa u oleosa estéril

para la dosificación intravenosa, subcutánea, intramuscular o en forma de un supositorio para la dosificación rectal).

Las composiciones divulgadas pueden obtenerse mediante procedimientos convencionales usando excipientes farmacéuticos convencionales bien conocidos en la técnica. Por lo tanto, las composiciones destinadas para su uso oral pueden contener, por ejemplo, uno o más agentes colorantes, edulcorantes, saporíferos y/o conservantes.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables para una formulación en comprimidos pueden incluir, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como lactosa, carbonato de sodio, fosfato de calcio o carbonato de calcio; agentes de granulación y disgregantes, tales como almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, tales como almidón; agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco; agentes conservantes, tales como p-hidroxibenzoato de etilo o propilo; y antioxidantes, tales como ácido ascórbico. Las formulaciones en comprimidos pueden estar sin recubrir o recubiertas, ya sea para modificar su disgregación y posterior absorción del principio activo en el tracto gastrointestinal o para mejorar su estabilidad y/o apariencia usando agentes y procedimientos de recubrimiento convencionales bien conocidos en la técnica.

Las composiciones para uso oral pueden estar en forma de cápsulas de gelatina dura en las que se mezcla el principio activo con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín o en forma de cápsulas de gelatina blanda en las que se mezcla el principio activo con agua o aceite, tal como aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Las suspensiones acuosas pueden contener el principio activo en forma de un polvo fino o en forma de partículas nano o micronizadas, junto con uno o más agentes de suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga; agentes dispersantes o humectantes, tales como lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos (por ejemplo, estearato de polioxietileno) o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, heptadecaetilenoxicetanol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol, tal como monooleato de polioxietileno sorbitol o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, heptadecaetilenoxicetanol o

productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol, tal como monooleato de polioxietileno sorbitol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de polietileno sorbitán. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes tales como p-hidroxibenzoato de propilo o etilo; antioxidantes tales como ácido ascórbico; agentes colorantes; agentes saporíferos y/o agentes edulcorantes tales como sacarosa, sacarina o aspartamo.

Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo el principio activo en un aceite vegetal, tal como aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco o en un aceite mineral, tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas también pueden contener un agente espesante, tal como cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Pueden añadirse agentes edulcorantes y saporíferos para proporcionar una preparación oral sabrosa. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante, tal como ácido ascórbico.

Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de

agua pueden contener el principio activo junto con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes de dispersión o agentes humectantes adecuados y los agentes de suspensión se ejemplifican mediante los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, tales como edulcorantes, saporíferos y colorantes.

Las composiciones farmacéuticas también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, tal como aceite de oliva o aceite de cacahuete o un aceite mineral, tal como, por ejemplo, parafina líquida o una mezcla de cualquiera de los mismos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser, por ejemplo, gomas de origen natural, tales como goma arábiga o goma de tragacanto, fosfátidos de origen natural, tales como soja, lecitina, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol (por ejemplo, monooleato de sorbitán) y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, tales como monooleato de polioxietileno sorbitán. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes, saporíferos y conservantes.

Los jarabes y elixires pueden formularse con agentes edulcorantes tales como glicerol, propilenglicol, sorbitol,

aspartamo o sacarosa y también pueden contener un agente demulcente, conservante, saporífero y/o colorante.

Las composiciones farmacéuticas también pueden encontrarse en forma de una solución inyectable estéril en uno o más sistemas tamponadores, diluyentes, agentes solubilizantes, codisolventes o portadores acuosos o no acuosos, no tóxicos, parenteralmente aceptables, tales como etanol, Solutol HS15, PEG400, Tween 80, alcohol bencílico, NN-dimetilacetamida, propilenglicol, Cremophor, HP- $\beta$ -CD y SBE- $\beta$ -1865 ciclodextrina. Una preparación inyectable estéril también puede ser una suspensión acuosa u oleosa inyectable o una suspensión en un disolvente, portador o codisolvente no acuoso, que puede formularse de acuerdo con procedimientos conocidos usando uno o más de los agentes dispersantes o humectantes y de los agentes de suspensión.

Las composiciones farmacéuticas deben ser una solución para inyección en bolo/infusión iv de dendrímero estéril para su reconstitución con un sistema tamponador o un sistema liofilizado (ya sea de dendrímero solo o con excipientes) para su reconstitución con un sistema tamponador con o sin otros excipientes. El material criodesecado liofilizado puede prepararse a partir de disolventes no acuosos (por ejemplo, t-butanol o ácido acético) o disolventes acuosos. La forma de

dosificación también puede ser un concentrado para su dilución adicional para posteriormente inyectarse.

Las composiciones para la administración por inhalación pueden presentarse en forma de un aerosol presurizado convencional diseñado para dispensar el principio activo, ya sea como un aerosol que contiene un sólido finamente dividido o como microgotas líquidas. Pueden emplearse propelentes para aerosoles convencionales, tales como hidrocarburos o hidrocarburos fluorados volátiles y el dispositivo de aerosol se diseña convenientemente para dispensar una cantidad medida de principio activo.

La cantidad de principio activo que puede combinarse con uno o más excipientes para producir una forma de dosificación individual variará necesariamente dependiendo del hospedador tratado y de la ruta de administración concreta. Para obtener más información sobre Vías de administración y pautas posológicas, se remite al lector al Capítulo 25.3 en el Volumen 5 de Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

Los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) pueden administrarse una vez, dos veces, tres veces al día o tantas veces durante un periodo de 24 horas como sea médicamente necesario. Un experto en la materia será capaz de

determinar fácilmente la cantidad de cada dosis individual en función del sujeto. En algunas realizaciones, los dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) se administran en una forma de dosificación. En algunas realizaciones, los  
5 dendrímeros de fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) se administran en múltiples formas de dosificación.

#### **MÉTODO DE USO**

En un aspecto, se divulgan métodos para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesite, que comprenden administrar al  
10 sujeto una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable  
15 del mismo para su uso en el tratamiento del cáncer.

En un aspecto, se divulga el uso de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para fabricar un medicamento para tratar un cáncer.

20 En un aspecto, se divulgan composiciones farmacéuticas que comprenden un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del cáncer.

El término "cáncer" incluye, pero sin limitación, neoplasias malignas hematológicas (por ejemplo, linfomas, leucemia) y sólidas. El término "cáncer" incluye, por ejemplo, leucemias de linfocitos T, linfomas de linfocitos T, linfoma  
5 linfoblástico agudo (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma linfocítico pequeño (SLL), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia monocítica aguda (AML), mieloma múltiple, linfoma de células del manto, linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL),  
10 linfoma de Burkitt, linfoma no Hodgkin, linfoma folicular y tumores sólidos, por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, por ejemplo, NSCLC mutante para EGF, NSCLC mutante para KRAS), cáncer de pulmón microcítico (SCLC), cáncer de mama, neuroblastoma, cáncer de ovarios, cáncer de próstata,  
15 melanoma (por ejemplo, melanoma mutante para BRAF, melanoma mutante para KRAS), cáncer de páncreas, útero, endometrio y cáncer de colon (por ejemplo, cáncer de colon mutante para KRAS, cáncer de colon mutante para BRAF).

En un aspecto, se divulgan métodos para tratar el cáncer  
20 en un sujeto que lo necesite que comprenden administrar al sujeto una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de un

segundo agente anticáncer o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de un  
5 segundo agente anticáncer o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de un cáncer.

En un aspecto, se divulga el uso de un dendrímero de  
10 fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de un agente anticáncer o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer.

15 En un aspecto, se divulgan composiciones farmacéuticas que comprenden un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de un segundo agente anticáncer o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,  
20 para su uso en el tratamiento del cáncer.

La expresión "en combinación con" incluye administrar el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el agente anticáncer

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de manera  
secuencia, por separado o de manera simultánea. En algunos  
aspectos, el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o  
(V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el  
5 segundo agente anticáncer o una sal farmacéuticamente  
aceptable del mismo pueden administrarse en la misma  
formulación, por ejemplo, en una formulación de dosis fija.  
En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (I), (II),  
(III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del  
10 mismo y el segundo agente anticáncer o una sal  
farmacéuticamente aceptable del mismo pueden administrarse en  
formulaciones separadas y se administran sustancialmente al  
mismo tiempo, de manera secuencial o por separado.

La expresión "agente anticancerígeno" incluye, pero no  
15 se limita a, radiación, agentes alquilantes, inhibidores de  
la angiogénesis, anticuerpos, conjugados de anticuerpo-  
fármaco, antimetabolitos, antimitóticos, antiproliferativos,  
antivirales, inhibidores de aurora cinasa, otros activadores  
de muerte celular (por ejemplo, inhibidores de Bcl-2, Bcl-XL,  
20 Bcl-w, Bfl-1 o Mcl), activadores de rutas de receptores de  
muerte (por ejemplo, agonistas de FAS o TRAIL ), inhibidores  
de Bcr-Abl cinasa, inhibidores de BET (bromodominio),  
anticuerpos BiTE (del inglés, Bi-Specific T cell Engager),

modificadores de la respuesta biológica, inhibidores de  
cinasa dependiente de ciclina, inhibidores del ciclo celular,  
inhibidores de ciclooxigenasa-2, DVD (anticuerpos de dominio  
variable doble), inhibidores de receptor de homólogo de  
5 oncogén viral de leucemia (ErbB2), inhibidores de factores de  
crecimiento, inhibidores de EGFR, inhibidores de proteína de  
choque térmico (HSP), inhibidores de histona desacetilasa  
(HDAC), terapias hormonales, productos inmunológicos,  
inhibidores de los inhibidores de proteínas de apoptosis  
10 (IAP), antibióticos intercalantes, inhibidores de cinasa,  
inhibidores de cinesina, inhibidores de Jak2, diana de  
mamífero de inhibidores de rapamicina (mTOR), microARN,  
inhibidores de cinasa regulada por señal extracelular  
activada por mitógeno (MEK), inhibidores de BRAF, proteínas  
15 de unión multivalentes, fármacos antiinflamatorios no  
esteroideos (AINE), inhibidores de poli ADP (adenosina  
difosfato)-ribosa polimerasa (PARP), agentes  
quimioterapéuticos de platino, inhibidores de cinasa de tipo  
polo (Plk), inhibidores de fosfoinosítido-3 cinasa,  
20 inhibidores de proteasoma, análogos de purina, análogos de  
pirimidina, inhibidores de tirosina cinasa receptora,  
alcaloides de plantas etinoides/deltoides, ácidos  
ribonucleicos inhibidores pequeños (ARNip), compuestos anti-

CD20, inhibidores de topoisomerasa e inhibidores de ubiquitina ligasa.

Los agentes alquilantes incluyen altretamina, AMD-473, AP-5280, apaziquona, bendamustina, brostalicina, busulfano, 5 cisplatino, carboplatino, carbocuna, carmustina (BCNU), clorambucilo, CLORETAZINE® (laromustina, VNP 40101M), ciclofosfamida, decarbazina, estramustina, fotemustina, glufosfamida, ifosfamida, KW-2170, lomustina (CCNU), mafosfamida, melfalán, mitobronitol, mitolactol, nimustina, 10 N-óxido de mostaza de nitrógeno, nitrosoureas, oxaliplatino, ranimustina, temozolomida, tiotepa, TREANDA® (bendamustina), treosulfano, rofosfamida y similares.

Los inhibidores de la angiogénesis incluyen inhibidores de receptor específico endotelial, (Tie-2), inhibidores de 15 receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), inhibidores de receptor de factor de crecimiento de insulina-2 (IGFR-2), inhibidores de metaloproteinasa de la matriz 2 (MMP-2), inhibidores de metaloproteinasa de la matriz-9 (MMP-9), inhibidores de receptor de factor de crecimiento derivado 20 de las plaquetas (PDGFR), análogos de trombospondina, inhibidores de tirosina cinasa receptora de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR), inhibidores de ALK y similares.

Los antimetabolitos incluyen ALIMTA® (pemetrexed disodio, LY231514, MTA), 5-azacitidina, XELODA® (capecitabina), carmofur, LEUSTAT® (cladribina), clofarabina, citarabina, octafosfato de citarabina, arabinósido de citosina, 5 decitabina, deferoxamina, doxifluridina, eflornitina, EICAR (5-etinil-1-β-D-ribofuranosilimidazol-4-carboxamida), enocitabina, etinilcitidina, fludarabina, 5-fluorouracilo solo o en combinación con leucovorina, GEMZAR® (gemcitabina), hidroxiurea, ALKERAN® (melfalán), mercaptopurina, ribósido de 10 6-mercaptopurina, metotrexato, ácido micofenólico, nelarabina, nolatrexed, ocfosfato, pelitrexol, pentostatina, pemextred, raltitrexed, ribavirina, triapina, trimetrexato, S-1, tiazofurina, tegafur, TS-1, vidarabina, UFT y similares.

Los inhibidores de la proteína Bcl-2 incluyen ABT-199, 15 AT-101 ((-)gosipol), GENASENSE® (G3139 u oblimersen (oligonucleótido antisentido que dirigido contra Bcl-2)), IPI-194, IPI-565, ABT-737, ABT-263, GX-070 (obatoclax) AMG-176, S63645 y similares.

Los compuestos anti-CD20 incluyen rituximab y 20 obinutuzumab.

Los inhibidores de Btk incluyen ibrutinib y acalabrutinib.

Los inhibidores de bromodominio incluyen I-BET 762, OTX-015, CPI-203, LY294002 y similares.

Los inhibidores de CDK incluyen BMI-1040, BMS-032, BMS-387, CVT-2584, flavopiridol, GPC-286199, MCS-5A, PD0332991,  
5 PHA-690509, seliciclib (CYC-202, R-roscovitina), ZK-304709, AZD4573 y similares.

Los inhibidores de EGFR incluyen anticuerpos frente a EGFR, ABX-EGF, inmunoliposomas anti-EGFR, vacuna contra EGF, EMD-7200, ERBITUX® (cetuximab), HR3, anticuerpos IgA, IRESSA®  
10 (gefitinib), TARCEVA® (erlotinib o OSI-774), TP-38, proteína de fusión de EGFR, TYKERB® (lapatinib), TAGRISSO (AZD9291, osimertinib) y similares.

Los inhibidores de ALK incluyen crizotinib, ceritinib, y similares.

15 Los inhibidores del receptor de ErbB2 incluyen CP-724-714, CI-1033 (canertinib), HERCEPTIN® (trastuzumab), TYKERB® (lapatinib), OMNITARG® (2C4, petuzumab), TAK-165, GW-572016 (ionafarnib), GW-282974, EKB-569, PI-166, dHER2 (vacuna contra HER2), APC-8024 (vacuna contra HER-2 ), anticuerpo  
20 biespecífico anti-HER/2neu, B7.her2IgG3, anticuerpos biespecíficos bifuncionales frente a AS HER2, AcM AR-209, AcM 2B-1 y similares.

Los conjugados de anticuerpo-fármaco incluyen anti-CD22-MC-MMAF, anti-CD22-MC-MMAE, anti-CD22-MCC-DM1, CR-011-vcMMAE, PSMA-ADC (por ejemplo, MEDI3726), MEDI-547, SGN-19Am SGN-35, SGN-75 y similares.

5 Los inhibidores de cinesina incluyen inhibidores de Eg5 tales como AZD4877, ARRY-520; inhibidores de CENPE tales como GSK923295A y similares.

Los inhibidores de MEK incluyen trametinib (GSK1120212), binimetinib (MEK162), selumetinib (AZD6244), cobimetinib  
10 (XL518), ARRY-142886, ARRY-438162, PD-325901, PD-98059, y similares.

Los inhibidores de BRAF incluyen sorafenib, vemurafenib, dabrafenib, GDC-0879, LGX818 y similares.

Los agentes quimioterapéuticos de platino incluyen  
15 cisplatino, ELOXATIN® (oxaliplatino) eptaplatino, lobaplatino, nedaplatino, PARAPLATIN® (carboplatino), satraplatino, picoplatino y similares.

Los inhibidores de VEGFR incluyen AVASTIN (bevacizumab), ABT-869, AEE-788, ANGIOZYME™ (una ribozima que inhibe la  
20 angiogénesis (Ribozyme Pharmaceuticals (Boulder, Colo.) y Chiron, (Emeryville, Calif.)), axitinib (AG-13736), AZD-2171, CP-547,632, IM-862, MACUGEN (pegaptamib), NEXAVAR® (sorafenib, BAY43-9006), pazopanib (GW-786034), vatalanib (PTK-787, ZK-

222584), SUTENT® (sunitinib, SU-11248), VEGF trap, ZACTIMA™  
(vandetanib, ZD-6474), GA101, ofatumumab, ABT-806 (mAb-806),  
anticuerpos específicos frente a ErbB3, anticuerpos  
específicos contra BSG2, anticuerpos específicos contra DLL4  
5 (por ejemplo, MEDI0629) y anticuerpos específicos contra C-  
met y similares.

Los inhibidores de WEE1 incluyen AZD1775 y similares.

Los antibióticos antitumorales incluyen los antibióticos  
intercalantes aclarubicina, actinomicina D, amrubicina,  
10 annamicina, adriamicina, BLENOXANE® (bleomicina),  
daunorubicina, CAELYX® o MYOCET® (doxorubicina liposomal),  
elsamitrucina, epirbucina, glarbuicina, ZAVEDOS®  
(idarubicina), mitomicina C, nemorubicina, neocarzinostatina,  
peplomycin, pirarubicina, rebeccamicina, estimalámero,  
15 estreptozocina, VALSTAR® (valrubicina), zinostatina y  
similares.

Inhibidores de mecanismos de reparación del ADN tales  
como CHK cinasa; inhibidores de proteína cinasa dependiente  
de ADN; inhibidores de poli (ADP-ribosa) polimerasa  
20 (inhibidores de PARP), incluyendo ABT-888 (veliparib),  
olaparib, KU-59436, AZD-2281, AG-014699, BSI-201, BGP-15,  
INO-1001, ONO-2231 y similares; e inhibidores de Hsp90 tales  
como tanespimicina y retaspimicina.

Los inhibidores de proteasoma incluyen VELCADE® (bortezomib), KYPROLIS (carfilzomib), NINLARO (ixazomib), MG132, NPI-0052, PR-171 y similares.

Los ejemplos de agentes inmunológicos incluyen  
5 interferones y otros agentes de potenciación inmunitaria. Los interferones incluyen interferón alfa, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, interferón beta, interferón gamma-1a, ACTIMMUNE® (interferón gamma-1b) o interferón gamma-n1, combinaciones de los mismos y similares. Otros agentes  
10 incluyen ALFAFERONE®, (IFN- $\alpha$ ), BAM-002 (glutati3n oxidado), BEROMUN® (tasonermina), BEXXAR® (tositumomab), CAMPATH® (alemtuzumab), decarbazina, denileucina, epratuzumab, GRANOCYTE® (lenograstim), lentinan, interfer3n alfa de leucocitos, imiquimod, MDX-010 (anti-CTLA-4), vacuna contra  
15 melanoma, mitumomab, molgramostim, MYLOTARG™ (gemtuzumab ozogamicina), NEUPOGEN® (filgrastim), OncoVAC-CL, OVAREX® (oregovomab), pentumomab (Y-muHMFG1), PROVENGE® (sipuleucel-T), sargaramostim, sizofilan, teceleucina, THERACYS® (bacilo Calmette-Guerin), ubenimex, VIRULIZIN® (producto  
20 inmunoterap3utico, Lorus Pharmaceuticals), Z-100 (sustancia espec3fica de Maruyama (SSM)), WF-10 (tetraclorodeca3xido (TCDO)), PROLEUKIN® (aldesleucina), ZADAXIN® (timalfasina),

ZENAPAX® (daclizumab), ZEVALIN® (90Y-Ibritumomab tiuxetano) y similares.

Los análogos de pirimidina incluyen citarabina (ara C o arabinósido C), arabinósido de citosina, doxifluridina, 5 FLUDARA® (fludarabina), 5-FU (5-fluorouracilo), floxuridina, GEMZAR® (gemcitabina), TOMUDEX® (ratitrexed), TROXATYL™ (triacetiluridina troxacitabina) y similares.

Los agentes antimitóticos incluyen batabulina, epotilona D (KOS-862), N-(2-((4-hidroxifenil)amino)piridin-3-il)-4- 10 metoxibencenosulfonamida, ixabepilona (BMS 247550), paclitaxel, TAXOTERE® (docetaxel), PNU100940 (109881), patupilona, XRP-9881 (larotaxel), vinflunina, ZK-EPO (epotilona sintética) y similares.

Adicionalmente, pueden combinarse dendrímeros de fórmula 15 (I), (II), (III) y (IV) con otros agentes quimioterapéuticos, tales como ABRAXANE™ (ABI-007), ABT-100 (inhibidor de farnesil transferasa), ADVEXIN® (vacuna contra Ad5CMV-p53), ALTOCOR® o MEVACOR® (lovastatina), AMPLIGEN® (poli I:poli C12U, un ARN sintético), APTOSYN® (exisulind), AREDIA® (ácido 20 pamidrónico), arglabina, L-asparaginasa, atamestano (1-metil-3,17-diona-androsta-1,4-dieno), AVAGE® (tazaroteno), AVE-8062 (derivado de combreastatina) BEC2 (mitumomab), caquectina o caquexina (factor de necrosis tumoral), canvaxina (vacuna),

CEAVAC® (vacuna contra el cáncer), CELEUK® (celmoleucina),  
CEPLENE® (diclorhidrato de histamina), CERVARIX® (vacuna  
contra el virus del papiloma humano), CHOP® (C: CYTOXAN®  
(ciclofosfamida); H: ADRIAMYCIN® (hidroxidoxorubicina); O:  
5 vincristina (ONCOVIN®); P: prednisona), CYPAT™ (acetato de  
ciproterona), combrestatina A4P, DAB(389)EGF (dominios  
catalítico y de translocación de toxina diftérica fusionados  
por medio de un ligador de His-Ala a factor de crecimiento  
epidérmico humano) o TransMID-107R™ (toxinas diftéricas),  
10 dacarbazina, dactinomicina, ácido 5,6-dimetilxantenona-4-  
acético (DMXAA), eniluracilo, EVIZON™ (lactato de  
escualamina), DIMERICINE® (loción de liposomas T4N5),  
discodermolida, DX-8951f (mesilato de exatecán), enzastaurina,  
EPO906 (epitilona B), GARDASIL® (vacuna recombinante contra  
15 virus del papiloma humano cuadrivalente (tipos 6, 11, 16,  
18)), GASTRIMMUNE®, GENASENSE®, GMK (vacuna de conjugado de  
gangliósido), GVAX® (vacuna contra cáncer de prostata),  
halofuginona, histerelina, hidroxicarbamida, ácido  
ibandronico, IGN-101, IL-13-PE38, IL-13-PE38QQR (cintredekin  
20 besudotox), IL-13-exotoxina de *Pseudomonas*, interferón- $\alpha$ ,  
interferón- $\gamma$ , JUNOVAN™ o MEPACT™ (mifamurtida), lonafarnib,  
5,10-metilentetrahidrofolato, miltefosina  
(hexadecilfosfocolina), NEOVASTAT® (AE-941), NEUTREXIN®

(trimetrexato glucuronato), NIPENT® (pentostatina), ONCONASE® (una enzima ribonucleasa), ONCOPHAGE® (tratamiento con vacuna contra melanoma), ONCOVAX® (vacuna de IL-2), ORATHECIN™ (rubitecán), OSIDEM® (fármaco celular basado en anticuerpo),

5 OVAREX® MAb (anticuerpo monoclonal murino), paclitaxel, PANDIMEX™ (saponinas de aglicona de ginseng que comprenden 20(S)protopanaxadiol (aPPD) y 20(S)protopanaxatriol (aPPT)), panitumumab, PANVAC®-VF (vacuna contra el cáncer en investigación), pegaspargasa, PEG interferón A, fenoxodiol,

10 procarbazona, rebimastat, REMOVAB® (catumaxomab), REVLIMID® (lenalidomida), RSR13 (efaproxiral), SOMATULINE® LA (lanreotida), SORIATANE® (acitretina), estaurosporina (*Streptomyces staurospores*), talabostat (PT100), TARGRETIN® (bexaroteno), TAXOPREXIN® (DHA-paclitaxel), TELCYTA®

15 (canfosfamida, TLK286), temilifeno, TEMODAR® (temozolomida), tesmilifeno, talidomida, THERATOPE® (STn-KLH), thymitaq (diclorhidrato de 2-amino-3,4-dihidro-6-metil-4-oxo-5-(4-piridiltio)quinazolina), TNFERADE™ (adenovector: portador de ADN que contiene el gen para el factor de necrosis tumoral- $\alpha$ ),

20 TRACLEER® o ZAVESCA® (bosentano), tretinoína (Retin-A), tetrandrina, TRISENOX® (trióxido de arsénico), VIRULIZIN®, ukraina (derivado de alcaloides de la planta de celandina mayor), vitaxina (anticuerpo anti- $\alpha$ favbeta3), XCYTRIN®

(motexafin gadolinio), XINLAY™ (atrasentano), XYOTAX™ (paclitaxel poliglumex), YONDELIS® (trabectedina), ZD-6126, ZINECARD® (dexrazoxana), ZOMETA® (ácido zolendróico), zorrubicina y similares.

5           En una realización, se divulga un método para tratar el  
cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite  
una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II),  
(III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del  
mismo, en combinación con una cantidad eficaz de osimertinib  
10   o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas  
realizaciones, se divulga un método para tratar el cáncer de  
pulmón, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite  
na cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II),  
(III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del  
15   mismo, en combinación con una cantidad eficaz de osimertinib  
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas  
realizaciones, se divulga un método para tratar NSCLC EGFR  
T790M+, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite  
una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II),  
20   (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del  
mismo, en combinación con una cantidad eficaz de osimertinib  
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas  
realizaciones, se divulga un método para tratar NSCLC PTEN,

que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer de pulmón en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el

tratamiento del NSCLC EGFR T790M+ en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del NSCLC PTEN en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del

cáncer de pulmón en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del NSCLC EGFR T790M+ en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del NSCLC PTEN en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) osimertinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

En una realización, se divulga un método para tratar el cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II),

(III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, se divulga un método para tratar un

5 linfoma, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En una realización, se divulga un método para tratar un linfoma no Hodgkin, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz

15 de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar un DLBCL, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable

20 del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar un DLBCL de linfocitos B activados (ABC-DLBCL), que comprende

administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar un DLBCL sensible a BTK e insensible a BTK, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, se divulga un método para tratar un DLBCL OCI-LY10, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar un MCL, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del

mismo. En una realización, se divulga un método para tratar una leucemia, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar una CLL, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar una AML, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de acalabrutinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I),

(II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) acalabrutinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un linfoma no Hodgkin en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) acalabrutinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un DLBCL en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) acalabrutinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un DLBCL de linfocitos B activados (ABC-DLBCL) en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) acalabrutinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un DLBCL sensible a BTK e insensible a BTK en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) acalabrutinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un DLBCL OCI-LY10 en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) acalabrutinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un MCL en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable

del mismo y ii) acalabrutinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de una leucemia en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) acalabrutinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de una CLL en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) acalabrutinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de una AML en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) acalabrutinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga acalabrutinib

para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) acalabrutinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga acalabrutinib para el tratamiento de un DLBCL en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) acalabrutinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga acalabrutinib para el tratamiento de un DLBCL de linfocitos B activados (ABC-DLBCL) en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) acalabrutinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga acalabrutinib para el tratamiento de un DLBCL sensible a BTK e insensible a BTK en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) acalabrutinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una

realización, se divulga acalabrutinib para el tratamiento de un DLBCL OCI-LY10 en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) acalabrutinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga acalabrutinib para el tratamiento de un MCL en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) acalabrutinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga acalabrutinib para el tratamiento de una leucemia en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) acalabrutinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga acalabrutinib para el tratamiento de una CLL en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) acalabrutinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga acalabrutinib

para el tratamiento de una AML en un sujeto, en donde dicho  
tratamiento comprende la administración por separado,  
secuencial o simultánea de i) acalabrutinib e ii) un  
dendrúmero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal  
5 farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

En una realización, se divulga un método para tratar el  
cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite  
una cantidad eficaz de un dendrúmero de fórmula (I), (II),  
(III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del  
10 mismo, en combinación con una cantidad eficaz de rituximab o  
una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una  
realización, se divulga un método para tratar un linfoma, que  
comprende administrar a un sujeto que lo necesite una  
cantidad eficaz de un dendrúmero de fórmula (I), (II), (III),  
15 (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,  
en combinación con una cantidad eficaz de rituximab o una sal  
farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se  
divulga un método para tratar un linfoma no Hodgkin, que  
comprende administrar a un sujeto que lo necesite una  
20 cantidad eficaz de un dendrúmero de fórmula (I), (II), (III),  
(IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,  
en combinación con una cantidad eficaz de rituximab o una sal  
farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se

divulga un método para tratar un DLBCL, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación  
5 con una cantidad eficaz de rituximab o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar un DLBCL de linfocitos B activados del centro germinal (GCB-DLBCL), que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz  
10 de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de rituximab o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar una leucemia, que comprende  
15 administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de rituximab o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se  
20 divulga un método para tratar una CLL, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación

con una cantidad eficaz de rituximab o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar una AML, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz  
5 de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de rituximab o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula  
10 (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal  
15 farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) rituximab a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un linfoma en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende  
20 la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) rituximab a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de

fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un linfoma no Hodgkin en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) rituximab a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un DLBCL en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) rituximab a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un DLBCL de linfocitos B del centro germinal (GCB-DLBCL) en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) rituximab a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una

sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el  
tratamiento de una leucemia en un sujeto, en donde dicho  
tratamiento comprende la administración por separado,  
secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I),  
5 (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable  
del mismo y ii) rituximab a dicho sujeto. En una realización,  
se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o  
(V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el  
tratamiento de una CLL en un sujeto, en donde dicho  
10 tratamiento comprende la administración por separado,  
secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I),  
(II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable  
del mismo y ii) rituximab a dicho sujeto. En una realización,  
se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o  
15 (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el  
tratamiento de una AML en un sujeto, en donde dicho  
tratamiento comprende la administración por separado,  
secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I),  
(II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable  
20 del mismo y ii) rituximab a dicho sujeto. En una realización,  
se divulga rituximab para el tratamiento del cáncer en un  
sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la  
administración por separado, secuencial o simultánea de i)

rituximab y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) a dicho sujeto. En una realización, se divulga rituximab para el tratamiento de un linfoma en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) rituximab y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) a dicho sujeto. En una realización, se divulga rituximab para el tratamiento de un linfoma no Hodgkin en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) rituximab y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) a dicho sujeto. En una realización, se divulga rituximab para el tratamiento de un DLBCL en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) rituximab y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) a dicho sujeto. En una realización, se divulga rituximab para el tratamiento de un DLBCL de linfocitos B del centro germinal (GBC-DLBCL) en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) rituximab y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) a dicho sujeto. En una realización, se divulga rituximab para el tratamiento de una leucemia en un sujeto, en donde dicho tratamiento

comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) rituximab y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) a dicho sujeto. En una realización, se divulga rituximab para el tratamiento de una CLL en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) rituximab y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) a dicho sujeto. En una realización, se divulga rituximab para el tratamiento de una AML en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) rituximab y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) a dicho sujeto.

En una realización, se divulgan métodos para tratar el cáncer, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de rituximab o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulgan métodos para tratar tumores sólidos, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable

del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de rituximab o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar un NSCLC, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una  
5 cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de gefitinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un método para tratar un NSCLC positivo a mutación de  
10 EGFR, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de gefitinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una  
15 realización, se divulga un método para tratar un cáncer de pulmón no microcítico positivo a mutación de EGFR cuyos tumores tienen mutaciones de eliminación en el exón 19 o de sustitución en el exón 21 (L858R), que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un  
20 dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de gefitinib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un

dendrúmero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i)

5 el dendrúmero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) gefitinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrúmero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de

10 tumores sólidos en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrúmero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) gefitinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga

15 un dendrúmero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un NSCLC positivo a mutación de EGFR en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el

20 dendrúmero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) gefitinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrúmero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un cáncer de pulmón no microcítico positivo a mutación de EGFR cuyos tumores tienen mutaciones de eliminación en el exón 19 o de sustitución en el exón 21 (L858R) en un sujeto,

5 en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) gefitinib a dicho sujeto. En una realización, se divulga gefitinib para el

10 tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) gefitinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una

15 realización, se divulga gefitinib para el tratamiento de tumores sólidos en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) gefitinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente

20 aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga gefitinib para el tratamiento de un NSCLC en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i)

gefitinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga gefitinib para el tratamiento de un NSCLC positivo a mutación de EGFR en un  
5 sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) gefitinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga gefitinib para  
10 el tratamiento de un s en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) gefitinib e ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

15 En una realización, se divulgan métodos para tratar el cáncer, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de olaparib  
20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulgan métodos para tratar tumores sólidos, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III),

(IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulgan métodos para tratar un cáncer de ovarios, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulgan métodos para tratar un cáncer de ovarios con mutación de BRCA, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulgan métodos para tratar un cáncer de ovarios epitelial, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulgan métodos para tratar un cáncer de trompas de Falopio, que comprenden

administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulgan métodos para tratar un cáncer de peritoneo primario, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de tumores sólidos en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado,

secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I),  
(II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable  
del mismo y ii) olaparib o una sal farmacéuticamente  
aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se  
5 divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V)  
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el  
tratamiento de un cáncer de ovarios en un sujeto, en donde  
dicho tratamiento comprende la administración por separado,  
secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I),  
10 (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable  
del mismo y ii) olaparib o una sal farmacéuticamente  
aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se  
divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V)  
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el  
15 tratamiento de un cáncer de ovarios con mutación de BRCA en  
un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la  
administración por separado, secuencial o simultánea de i) el  
dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal  
farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) olaparib o una  
20 sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En  
una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I),  
(II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable  
del mismo, para el tratamiento de un cáncer de ovarios

epitelial en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un cáncer de trompas de Falopio en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la

administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En

una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un cáncer de peritoneo primario en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende

la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

En una realización, se divulga olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del

cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento de tumores sólidos en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del cáncer de ovarios en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del cáncer de ovarios con mutación de BRCA en un sujeto, en donde dicho tratamiento

comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del cáncer de ovarios epitelial en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del cáncer de trompas de Falopio en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del cáncer de peritoneo primario en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado,

secuencial o simultánea de i) olaparib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

5        En una realización, se divulgan métodos para tratar el cáncer, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de un  
10        inhibidor de mTOR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulgan métodos para tratar un cáncer microcítico de pulmón, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal  
15        farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de un inhibidor de mTOR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el  
20        tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable

del mismo y ii) un inhibidor de mTOR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer microcítico de pulmón en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un inhibidor de mTOR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga un inhibidor de mTOR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) un inhibidor de mTOR y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga un inhibidor de mTOR o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del cáncer microcítico de pulmón en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) un inhibidor de mTOR y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En cualquiera de las realizaciones anteriores, el inhibidor de mTOR es AZD2014.

En una realización, se divulgan métodos para tratar el  
5 cáncer, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de vistusertib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En una realización, se divulgan métodos para tratar un cáncer microcítico de pulmón, que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una  
15 cantidad eficaz de vistusertib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende  
20 la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) vistusertib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de un cáncer microcítico de pulmón en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) vistusertib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga vistusertib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) vistusertib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga vistusertib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento de un cáncer de pulmón microcítico en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) vistusertib o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) un dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

En una realización, se divulgan métodos para tratar el cáncer que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboblatino). En una realización, se divulgan métodos para tratar tumores sólidos que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboblatino). En una realización, se divulgan métodos para tratar un NSCLC que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboblatino). En una realización, se divulgan métodos para tratar un cáncer SCLC que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboblatino). En una realización, se divulgan métodos para tratar un cáncer de mama que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboblatino). En una realización, se divulgan métodos para tratar un cáncer de ovarios que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad eficaz de quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboblatino).

En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento de tumores sólidos en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del NSCLC en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del SCLC en un sujeto, en donde dicho tratamiento

comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer de mama en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) a dicho sujeto. En una realización, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del cáncer de ovarios en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) el dendrímero de formula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y ii) quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) a dicho sujeto. En una realización, se divulga una quimioterapia (por

ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) para el tratamiento del cáncer en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) la quimioterapia (por

5 ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga una quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel,

10 etopósido y/o carboplatino) para el tratamiento de tumores sólidos en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) la quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) y ii) un dendrímero de fórmula

15 (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga una quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) para el tratamiento de un NSCLC en un sujeto, en donde dicho tratamiento

20 comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) la quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto. En una realización, se divulga una quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) para el tratamiento de un SCLC en un sujeto, en donde dicho  
5 tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) la quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

10 En una realización, se divulga una quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) para el tratamiento del cáncer de mama en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) la quimioterapia (por ejemplo,  
15 topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino) y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

En una realización, se divulga una quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o carboplatino)  
20 para el tratamiento del cáncer de ovarios en un sujeto, en donde dicho tratamiento comprende la administración por separado, secuencial o simultánea de i) la quimioterapia (por ejemplo, topotecán, pemetreved, paclitaxel, etopósido y/o

carboplatino) y ii) un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a dicho sujeto.

En un aspecto, se divulgan métodos para inhibir Bcl-2 y/o Bcl-XL en un sujeto que lo necesite, que comprenden administrar al sujeto una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto, se divulga un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en inhibir Bcl-2 y/o Bcl-XL.

En un aspecto, se divulga el uso de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para fabricar un medicamento para inhibir Bcl-2 y/o Bcl-XL.

En un aspecto, se divulgan composiciones farmacéuticas que comprenden un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en inhibir Bcl-2 y/o Bcl-XL.

El término "Bcl-2" se refiere a linfoma de linfocitos B 2 y el término "Bcl-XL" se refiere a linfoma de linfocitos B extra grande, miembros anti-apoptóticos de la familia de proteínas de BCL-2.

La expresión "cantidad eficaz" incluye una cantidad de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un segundo agente anticáncer que provocará una respuesta biológica o médica en un sujeto, por ejemplo, la reducción o inhibición de la actividad enzimática o de proteína relacionada con Bcl-2 y/o Bcl-XL o el cáncer; alivio de los síntomas del cáncer; o la ralentización o el retraso de la progresión del cáncer. En algunas realizaciones, la expresión "cantidad eficaz" incluye la cantidad de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un segundo agente anticáncer que, cuando se administra a un sujeto, es eficaz para al menos aliviar, inhibir y/o mejorar parcialmente el cáncer o inhibir a Bcl-2 y/o Bcl-XL y/o reducir o inhibir el crecimiento de un tumor o la proliferación de células cancerosas en un sujeto.

En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 500 mg/kg. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser de entre

aproximadamente 10 y aproximadamente 300 mg/kg. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser de entre

5 aproximadamente 10 y aproximadamente 100 mg/kg. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 60 mg/kg. En algunas

10 realizaciones, una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) divulgado o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 30 mg/kg. En algunas

15 realizaciones, una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) puede ser de aproximadamente 20 a aproximadamente 100 mg/kg. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de un dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede ser de

20 aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 50 mg/kg, aproximadamente 60 mg/kg, aproximadamente 70 mg/kg, aproximadamente 80 mg/kg, aproximadamente 90 mg/kg,

aproximadamente 100 mg/kg, aproximadamente 300 mg/kg o aproximadamente 145 mg/kg.

El dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede  
5 diseñarse para liberar el agente activo a partir de los grupos funcionales de superficie del dendrímero. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, libera una cantidad eficaz de Compuesto A. En algunas realizaciones,  
10 el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede liberar entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 150 mg/kg de Compuesto A. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal  
15 farmacéuticamente aceptable del mismo, puede liberar entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 90 mg/kg de Compuesto A. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede liberar entre  
20 aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 25 mg/kg de Compuesto A. En algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede liberar entre

aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 15 mg/kg de  
Compuesto A. En algunas realizaciones, el dendrímero de  
fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) o una sal  
farmacéuticamente aceptable del mismo, puede liberar entre  
5 aproximadamente 1 y aproximadamente 10 mg de Compuesto A. En  
algunas realizaciones, el dendrímero de fórmula (I), (II),  
(III), (IV) o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del  
mismo, puede liberar entre aproximadamente 5 y  
aproximadamente 30 mg/kg de Compuesto A. En algunas  
10 realizaciones, el dendrímero de fórmula (I), (II), (III), (IV)  
o (V) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, puede  
liberar aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 4 mg/kg,  
aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 6 mg/kg,  
aproximadamente 7 mg/kg, aproximadamente 8 mg/kg,  
15 aproximadamente 9 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg,  
aproximadamente 11 mg/kg, aproximadamente 12 mg/kg,  
aproximadamente 13 mg/kg, aproximadamente 14 mg/kg,  
aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 16 mg/kg,  
aproximadamente 17 mg/kg, aproximadamente 18 mg/kg,  
20 aproximadamente 19 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg,  
aproximadamente 21 mg/kg, aproximadamente 22 mg/kg,  
aproximadamente 23 mg/kg, aproximadamente 24 mg/kg,  
aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 26 mg/kg,

aproximadamente 27 mg/kg, aproximadamente 28 mg/kg, aproximadamente 29 mg/kg, aproximadamente 87 mg/kg o aproximadamente 145 mg/kg de Compuesto A.

En algunas realizaciones, el Compuesto A puede tener una  
5 semivida de liberación (por ejemplo, el tiempo que tarda el liberarse la mitad del compuesto A del dendrímero) de entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 360 horas. En algunas realizaciones, el Compuesto A puede tener una semivida de liberación de entre aproximadamente 2 horas y  
10 aproximadamente 72 horas. En algunas realizaciones, el Compuesto A puede tener una semivida de liberación de entre aproximadamente 5 horas y aproximadamente 36 horas. En algunas realizaciones, el Compuesto A puede tener una semivida de liberación de entre aproximadamente 12 horas y  
15 aproximadamente 30 horas. En algunas realizaciones, el Compuesto A puede tener una semivida de liberación de entre aproximadamente 16 y aproximadamente 30 horas. En algunas realizaciones, la semivida de liberación se determina a pH 7.4 en tampón de PBS con DMA al 10% a 37°C. En algunas  
20 realizaciones, la semivida de liberación se determina a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M a 37°C. Un experto en la materia podría determinar la velocidad de liberación del Compuesto A

*in vitro* siguiendo los protocolos expuestos en los ejemplos 11, 12 y el ejemplo 14.

En algunas realizaciones, la semivida de liberación *in vitro* se determina a pH 7.4 en tampón de PBS con DMA al 10% a 37°C, como se describe en el ejemplo 11. En algunas realizaciones, se libera entre aproximadamente un 20 y aproximadamente un 80% del Compuesto A después de aproximadamente 6 horas a pH 7.4 en tampón de PBS con DMA al 10% a 37°C. En algunas realizaciones, se libera aproximadamente un 80% del Compuesto A después de aproximadamente 6.5 horas a pH 7.4 en tampón de PBS con DMA al 10% a 37°C. En algunas realizaciones, se libera aproximadamente un 50% del Compuesto A después de aproximadamente 6.5 horas a pH 7.4 en tampón de PBS con DMA al 10% a 37°C. En algunas realizaciones, se libera aproximadamente un 6% del Compuesto A después de aproximadamente 6.5 horas a pH 7.4 en tampón de PBS con DMA al 10% a 37°C. En algunas realizaciones, se libera aproximadamente un 4% del Compuesto A después de aproximadamente 6.5 horas a pH 7.4 en tampón de PBS con DMA al 10% a 37°C. En algunas realizaciones, se libera aproximadamente un 24% del Compuesto A después de

aproximadamente 6 horas a pH 7.4 en tampón de PBS con DMA al 10% a 37°C.

En algunas realizaciones, la semivida de liberación *in vitro* se determina a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M a 37°C, como se describe en el ejemplo 12. En algunas realizaciones, se libera entre aproximadamente un 3 y aproximadamente un 80% de Compuesto A después de aproximadamente 7 días a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M a 37°C. En algunas realizaciones, se libera aproximadamente un 63% del Compuesto A después de aproximadamente 7 días a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M a 37°C. En algunas realizaciones, se libera aproximadamente un 30% del Compuesto A después de aproximadamente 7 días a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M a 37°C. En algunas realizaciones, se libera aproximadamente un 3.6% del Compuesto A después de aproximadamente 7 días a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M a 37°C. En algunas realizaciones, se libera aproximadamente un 81% del Compuesto A después de aproximadamente 7 días a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M a 37°C.

En algunas realizaciones, puede medirse la solubilidad del dendrímero siguiendo los protocolos expuestos en los ejemplos 15 y 16. En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero a pH 7.4 en tampón PBS con DMA al 10% es de entre aproximadamente 120 y aproximadamente 160 mg/ml. En

algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero a pH 7.4 en tampón PBS con DMA al 10% es de aproximadamente 125 mg/ml. En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero a pH 7.4 en tampón PBS con DMA al 10% es de aproximadamente 153 mg/ml. En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero a pH 7.4 en tampón PBS con DMA al 10% es de aproximadamente 142 mg/ml. En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero a pH 7.4 en tampón PBS con DMA al 10% es de aproximadamente 158 mg/ml.

En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M es de entre aproximadamente 120 y aproximadamente 166 mg/ml. En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M es de aproximadamente 162 mg/ml. En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M es de aproximadamente 141 mg/ml. En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M es de aproximadamente 157 mg/ml. En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M es de aproximadamente 121 mg/ml.

En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero en tampón de McIlvane a pH 4 es de aproximadamente 0.189 g/g.

En algunas realizaciones, la solubilidad del dendrímero en tampón de McIlvane a pH 5 es de aproximadamente 0.224 g/g.

El término "sujeto" incluye animales de sangre caliente, por ejemplo, primates, perros, gatos, conejos, ratas y ratones. En algunas realizaciones, el sujeto es un primate, por ejemplo, un ser humano. En algunas realizaciones, el sujeto padece cáncer o un trastorno inmunitario. En algunas realizaciones, el sujeto necesita tratamiento (por ejemplo, el sujeto podría beneficiarse biológica o médicamente del tratamiento). En algunas realizaciones, el sujeto padece cáncer. En algunas realizaciones, el sujeto padece un cáncer positivo a EGFR-M (por ejemplo, cáncer no microcítico de pulmón). En algunas realizaciones, el cáncer positivo a EGFR-M tiene una mutación predominantemente positiva a T790M. En algunas realizaciones, el cáncer positivo a EGFR-M tiene una mutación predominantemente negativa a T790M. En algunas realizaciones, el sujeto padece una neoplasia maligna hematológica (por ejemplo, linfomas, leucemia) o sólida, tales como, por ejemplo, linfoma linfoblástico agudo (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma linfocítico pequeño (SLL), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia monocítica aguda (AMoL), mieloma múltiple, linfoma de células del manto, linfoma difuso de

linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma de Burkitt, linfoma no Hodgkin, linfoma folicular y tumores sólidos, por ejemplo, cáncer no microcítico de pulmón (NSCLC), cáncer microcítico de pulmón (SCLC), cáncer de mama, neuroblastoma, cáncer de próstata, melanoma, cáncer de páncreas, útero, endometrio y  
5 cáncer de colon.

La expresión "inhibir", "inhibición" o "que inhibe" incluye una disminución en la actividad inicial de un proceso o actividad biológica. En algunas realizaciones, los  
10 dendrímeros de fórmula (I), (II), (III) o (IV) inhiben a Bcl-2 y/o Bcl-XL.

La expresión "tratar", "que trata" y "tratamiento" incluye la reducción o inhibición de la actividad de enzimas o proteínas relacionada con Bcl-2 y/o Bcl-XL o el cáncer en  
15 un sujeto, la mejora de uno o más síntomas de cáncer en un sujeto, o la ralentización o el retraso de la progresión del cáncer en un sujeto. La expresión "tratar", "que trata" y "tratamiento" también incluye la reducción o inhibición del crecimiento de un tumor o la proliferación de células  
20 cancerosas en un sujeto.

#### **EJEMPLOS**

Pueden definirse adicionalmente aspectos de la presente divulgación mediante referencia a los siguientes ejemplos no

limitativos, que describen en detalle la preparación de determinados compuestos y productos intermedios de la presente divulgación y métodos para usar compuestos de la presente divulgación. Resultará evidente para los expertos en la materia que pueden ponerse en práctica muchas modificaciones, tanto de materiales como de métodos, sin apartarse del alcance de la presente divulgación.

A menos indique de otro modo:

(i) todas las síntesis se llevaron a cabo a temperatura ambiental, es decir en el intervalo de 17 a 25°C y en atmósfera de un gas inerte tal como nitrógeno a menos indique lo contrario;

(ii) las evaporaciones se llevaron a cabo mediante evaporación rotatoria a presión reducida, usando equipos Buchi o Heidolph;

(iii) la liofilización se llevó a cabo usando un sistema de criodesecación Labconco FreeZone 6 Plus;

(iv) las purificaciones por cromatografía de exclusión por tamaños se llevaron a cabo usando columnas empaquetadas con perlas Sephadex LH-20;

(v) la cromatografía preparativa se llevó a cabo en un sistema Gilson Prep GX-271 con recogida activada por UV, usando una columna C18 Waters XBridge (5 µM, 30 x 150 mm);

(vi) las purificaciones por ultrafiltración se llevaron a cabo usando un sistema impulsor de bomba de engranajes de Cole-Parmer conectado a un casete de membrana (Merck Millipore Pellicon 3, 0.11 m<sup>2</sup>, 10 kDa).

5       (vii) la cromatografía analítica se llevó a cabo en un módulo de separación Waters Alliance 2695 con detección de PDA;

(viii) los rendimientos, cuando estén presentes, no son necesariamente los máximos que pueden obtenerse;

10       (ix) en general, las estructuras de los productos finales de los dendrímeros se confirmaron mediante espectroscopía RMN; se midieron los valores de cambio químico de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>19</sup>F en la escala delta, [los espectros de resonancia magnética de protones se determinaron usando un  
15       instrumento Bruker Avance 300 (300 MHz)]; las medidas se tomaron a temperatura ambiente, a menos que se indique lo contrario; La <sup>1</sup>H RMN usa el pico residual de disolvente como patrón interno y las siguientes abreviaturas: s, singlete; d, duplete; t, triplete; q, cuadruplete; m, multiplete; dd, doblete de dobletes; ddd, doblete de doblete de dobletes; dt, doblete de tripletes; br s, singlete ancho;

20       (x) en general, los productos finales de dendrímero también se caracterizaron por HPLC, usando un módulo de

separación Waters Alliance 2695 con detección de PDA, conectado a una columna C8 Waters XBridge (3.5  $\mu$ m, 3 x 100 mm) o columna C8 Phenomenex Aeris (3.6  $\mu$ m, 2.1 x 100 mm);

(xi) la pureza intermedia se evaluó mediante espectroscopía de masas tras cromatografía de líquidos (LC-MS); usando un instrumento Waters UPLC equipado con un espectrómetro de masas Waters SQ (temp. de columna de 40 °C, UV = 220-300 nm o 190-400 nm, espec. de masas = ESI con cambio positivo/negativo) a una velocidad de flujo de 1 ml/min usando un sistema de disolventes del 97% de A + el 3% de B al 3% de A + el 97% de B a lo largo de 1.50 min (tiempo de ejecución total con equilibrado de nuevo a las condiciones de partida, etc., 1.70 min), donde A = ácido fórmico al 0.1% o ácido trifluoroacético al 0.05% en agua (para trabajo ácido) o hidróxido de amonio al 0.1% en agua (para trabajo básico) y B = acetonitrilo. Para el análisis ácido, la columna usada fue una Waters Acquity HSS T3 (1.8  $\mu$ m, 2.1 x 50 mm), para el análisis básico la columna usada fue una Waters Acquity BEH C18 (1.7  $\mu$ m, 2.1 x 50 mm). Como alternativa, se llevó a cabo UPLC usando un instrumento Waters UPLC equipado con un espectrómetro de masas Waters SQ (temp. de la columna 30 °C, UV = 210-400 nm, espec. de masas = ESI con cambio positivo/negativo) a una velocidad de flujo de 1 ml/min

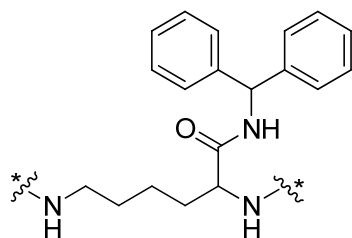
usando un gradiente de disolvente del 2 al 98% de B a lo largo de 1.5 min (tiempo de ejecución total con equilibrado de nuevo a las condiciones de partida 2 min), donde A = ácido fórmico al 0.1% en agua y B = ácido fórmico al 0.1% en acetonitrilo (para trabajo ácido) o A = hidróxido de amonio al 0.1% en agua y B = acetonitrilo (para trabajo básico). Para el análisis ácido la columna usada fue una Waters Acquity HSS T3 (1.8  $\mu$ m, 2.1 x 30 mm), para el análisis básico la columna usada fue una Waters Acquity BEH C18 (1.7  $\mu$ m, 2.1 x 30 mm); el ion molecular notificado corresponde al [M+H]<sup>+</sup> a menos que se especifique otra cosa; para moléculas con múltiples patrones isotópicos (Br, Cl, etc.) el valor notificado es el obtenido con la mayor intensidad a menos que se especifique otra cosa.

(xii) se utilizaron las abreviaturas siguientes:

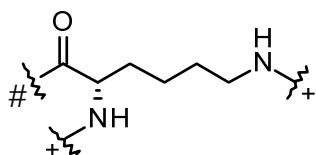
|       |                                |
|-------|--------------------------------|
| ACN   | Acetonitrilo                   |
| BHA   | Bencilhidramina                |
| BOC   | <i>terc</i> -butiloxicarbonilo |
| CoA   | Certificado de análisis        |
| DGA   | Ácido diglicólico              |
| DIPEA | Diisopropiletilamina           |
| DMF   | Dimetilformamida               |
| DMSO  | Dimetilsulfóxido               |

|    |                  |                                                                  |
|----|------------------|------------------------------------------------------------------|
|    | FBA              | Ácido 4-fluorobenzoico                                           |
|    | Glu              | Glutárico                                                        |
|    | HP- $\beta$ -CD  | hidroxipropil-beta-ciclodextrina                                 |
|    | MeOH             | Metanol                                                          |
| 5  | MIDA             | Ácido metiliminodiacético                                        |
|    | MSA              | Ácido metanosulfónico                                            |
|    | MTBE             | terc-butil éter de metilo                                        |
|    | PM               | Peso molecular                                                   |
|    | NMM              | N-metilmorfolina                                                 |
| 10 | PBS              | Suero salino tamponado con fosfato                               |
|    | PEG              | Polietilenglicol                                                 |
|    | PTFE             | Politetrafluoroetileno                                           |
|    | PyBOP            | hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfonio |
| 15 | QS/qs            | Cantidad suficiente (la cantidad que se necesita)                |
|    | SBE- $\beta$ -CD | Sulfobutil éter beta-ciclodextrina (Captisol®)                   |
|    | TDA              | Ácido tioglicólico                                               |
|    | TFA              | Ácido trifluoroacético                                           |
| 20 | WFI              | Agua para inyección WFI                                          |

Tal como se usa en los ejemplos, el término "BHALys" se refiere a 2,6-diamino-N-benzhidrilhexanamida unida a lisina. La BHA tiene la estructura:



5            en donde \* indica una unión covalente a los bloques de construcción de lisina. El término "Lys" se refiere a las unidades de construcción del dendrímero y tiene la estructura:



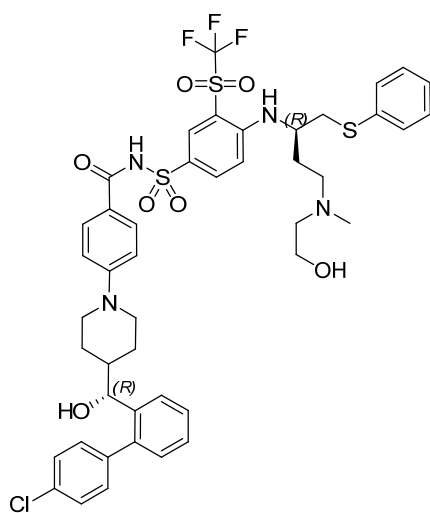
10            en la que # indica unión covalente a un resto de amina de BHALys o a un resto de amino de una unidad de construcción de Lys y + indica una unión covalente a un resto de carbonilo de una unidad de construcción de Lys o una unión covalente a PEG o al enlazador unido al agente activo.

15            Por comodidad, solo se incluye en el nombre del dendrímero la generación de superficie de unidades de construcción en los dendrímeros de los ejemplos. Además, el símbolo ‡ en el nombre se refiere al número teórico de grupos ε-amino disponible para su conjugación a PEG y el símbolo † en el nombre se refiere al número teórico de grupos α-amino en el dendrímero disponible para su conjugación al enlazador unido al agente activo, respectivamente. A modo de ejemplo,

20

el nombre "BHALys[Lys]<sub>32†</sub>[α-TDA-Compuesto A]<sub>32</sub>[ε-PEG<sub>2100, 2200</sub>]<sub>32†</sub>" se refiere a un dendrímero de quinta generación con el núcleo de BHALys, unidades de construcción de Lys en la capa superficial (quinta), aproximadamente 32 unidades de Compuesto A conjugadas a los grupos α-amino de las unidades de construcción de superficie de Lys con enlazadores de ácido tiodiacético y aproximadamente 32 grupos PEG con un peso molecular promedio de entre 2100 y 2200 conjugados a los grupos ε-amino de las unidades de construcción de superficie de Lys.

**Ejemplo 1: Propiedades fisicoquímicas de 4-(4-((R)-4'-clorobifenil-2-il) (hidroxi)metil)piperidin-1-il)-N-(4-((R)-4-((2-hidroxietil) (metil) amino)-1-(feniltio)butan-2-ilamino)-3-(trifluorometilsulfonil) fenilsulfonil)benzamida (Compuesto A)**



La síntesis del Compuesto A se encuentra en la Patente de los Estados Unidos n.º 9,018,381.

Preparación del Compuesto A, forma B

Se agitó una suspensión de Compuesto A en bruto (900 g) en DMSO (450 ml) y etanol (2250 ml) a 50°C hasta que se obtuvo una solución. Se hizo pasar la solución a través de un filtro en línea y se calentó a 60°C. Se añadió antidisolvente de etanol (2700 ml) a la solución durante 35 minutos. Una vez que se había completado la adición, se enfrió la solución a 50°C, se sembró con la forma B del Compuesto A (18 g) y se agitó a 50°C durante 18 horas. Después, se enfrió el lote a 20°C en una rampa lineal durante 17.5 y se mantuvo a 20°C durante 4.5 horas más. El sólido resultante se recogió por filtración y se lavó con 2 porciones de etanol (1350 ml y 1350 ml). El sólido resultante se secó en el horno (40°C, 5 mbar) proporcionando la forma B del Compuesto A (764 g, rendimiento del 81.49 %). En la **figura 2** se proporciona un difractograma de XRPD para la forma B del Compuesto A.

Solubilidad

El Compuesto A tiene una solubilidad en agua muy baja, según se ilustra por los datos mostrados en la tabla 1. La solubilidad es baja a lo largo del intervalo fisiológico de pH de pH 4-9. La forma B es la forma cristalina más estable

del Compuesto A hallada hasta la fecha y esta forma tiene unas características de humectabilidad y disolución bajas. Se llevó a cabo una exploración de sales con la intención de hallar una sal con una cinética de disolución mejorada, pero no se identificó una forma de sal cristalina.

La solubilidad del Compuesto A (forma B) se determinó en agua y propilenglicol. La solubilidad se determinó usando un método de matraz de agitación dejando que se equilibrase la sustancia farmacológica a temperatura ambiente durante 24 horas, mostrándose la presencia de un exceso de sustancia farmacológica por cierta sedimentación en los viales. Las soluciones se centrifugaron usando una ultracentrifugadora durante 30 min a 40,000 rpm, los sobrenadantes se transfirieron a un nuevo tubo de centrifugación y se centrifugaron durante otros 30 min a 40,000 rpm. Después, se estudió el sobrenadante de propilenglicol usando un método de UV-HPLC. El sobrenadante de agua se volvió a ultracentrifugar una tercera vez antes del ensayo. Los resultados se resumen en la tabla 1.

**Tabla 1. Datos de solubilidad de la forma B cristalina del Compuesto A**

| Disolvente | pH final | Solubilidad (mg/ml) |
|------------|----------|---------------------|
|------------|----------|---------------------|

|                |     |            |
|----------------|-----|------------|
| Agua           | 8.7 | <1µg/ml*   |
| Propilenglicol | -   | 6.12 mg/ml |

\*La medición precisa de la solubilidad del Compuesto A en agua es considerablemente complicada por los siguientes  
5 motivos:

1) La solubilidad es extremadamente baja y cuando se transfieren las soluciones de los viales de centrifugación a las pipetas/viales de LC, etc., es probable que se pierda cierta cantidad de Compuesto A debido a su unión a los  
10 componentes de vidrio/plástico.

2) El compuesto A es fotosensible y a una concentración tan baja, la velocidad de degradación lumínica se vuelve significativa. Aunque se hizo todo lo posible para minimizar la cantidad de luz a la que se expuso la solución acuosa, una  
15 pequeña cantidad de exposición a la luz podría afectar significativamente a la medida de la solubilidad.

#### LogD

La lipofilia (LogD) del Compuesto A se midió usando los principios de octanol/agua y matraz de agitación. La solución  
20 acuosa usada fue una solución de tampón de fosfato de sodio 10 mM con el pH ajustado a 7.4. Como capa de reparto orgánica se usó octanol. El método se validó para un log D en el intervalo de -2 a 5.0. El valor de LogD medido para el

Compuesto A fue de  $>3.5$ , lo que indica que es una molécula altamente lipófila.

#### Permeabilidad en Caco2

Las líneas celulares Caco-2 proceden de un  
5 adenocarcinoma de colon humano. La siembra en condiciones de cultivo celular convencionales, la diferenciación y la formación de monocapas densas de células (sobre membranas porosas de policarbonato) permite que las células Caco-2 se asemejen a los enterocitos intestinales (absorbentes). Las  
10 células Caco-2 expresan una serie de transportadores de eflujo, incluyendo resistencia a múltiples fármacos 1 humana (hMDR1), proteína asociada a la resistencia a múltiples fármacos 2 humana (hMRP2) y proteína de resistencia de cáncer de mama humana (hBCRP). Las células Caco-2 se usan en un  
15 formato de 96 pocillos para evaluar la permeabilidad y el eflujo de nuevas entidades químicas. Los datos se generaron mediante LC-MS/MS rutinaria, aunque no se obtuvieron valores. La escasa recuperación se debía probablemente a las limitaciones de solubilidad del Compuesto A.

#### Unión a proteínas plasmáticas:

20 Se evaluó la unión a proteínas del Compuesto A (preparado en forma de soluciones madre en DMSO y añadida a plasma a una concentración nominal de incubación de 0.1, 1,

10 y 100  $\mu\text{mol/L}$ ) en plasma agrupado congelado, obtenido de ratones CD-1 macho, ratas Han Wistar macho, conejos New Zealand White hembra, perros Beagle macho y seres humanos varones por triplicado usando la metodología del dispositivo Equilibrium Dialysis RED (Waters NJ et al., Validation of a Rapid Equilibrium Dialysis Approach for the Measurement of Plasma Protein Binding, Journal of Pharmaceutical Sciences; 2008; Volumen 97; Edición 10; Páginas 4586-4595, 2008). Las incubaciones se llevaron a cabo a lo largo de un tiempo de equilibrado de 30 horas a 37°C. El análisis de la muestra fue mediante HPLC-MS/MS y se empleó un patrón interno de [ $^{13}\text{C}$ ,  $^2\text{H}_7$ ] Compuesto A usando el siguiente método bioanalítico:

Aparato de LC-MS/MS

UHPLC: Shimadzu CC-30A

Instrumento de MS/MS: API 4000 (AB Sciex, EE. UU.).

Condiciones de LC-MS/MS

1. Condiciones cromatográficas

Columna: Phenomenex Kinetex 1.7  $\mu$  C18 (2.1 x 30 mm)

Fase móvil: ácido fórmico al 0.1% en acetonitrilo (B) y ácido fórmico al 0.1% en agua (A)

**Tabla 2. Gradiente de ácido fórmico en agua**

|        |   |     |     |     |     |     |
|--------|---|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tiempo | 0 | 0.5 | 1.2 | 2.0 | 2.1 | 2.5 |
|--------|---|-----|-----|-----|-----|-----|

|        |   |   |     |     |   |   |
|--------|---|---|-----|-----|---|---|
| (min)  |   |   |     |     |   |   |
| % de B | 5 | 5 | 100 | 100 | 5 | 5 |

Velocidad de elución: 0.6 ml/min, Temperatura de la columna: temperatura ambiente, Volumen de inyección: 10 µl

5 Condiciones de la espectroscopía de masas

Fuente de ionización: Turbo espray

Modo de ionización: ESI

Tipo de escaneo: MRM

Otros parámetros

10 **Tabla 3.**

|                                                  | Q1    | Q3    | DP<br>(v) | EP (v) | CE<br>(v) | CXP<br>(v) |
|--------------------------------------------------|-------|-------|-----------|--------|-----------|------------|
| Compuesto A                                      | 945.2 | 404.3 | 120       | 10     | 55        | 12         |
| [ <sup>13</sup> C, <sup>2</sup> H <sub>7</sub> ] | 953.2 | 404.3 | 120       | 10     | 55        | 12         |
| 15 Compuesto A                                   |       |       |           |        |           |            |

Se observó que el porcentaje de Compuesto A no unido en ratón, conejo y ser humano era del 0.00235 %, 0.00153 % y 0.00196 %, respectivamente, a una concentración de Compuesto A de 100 µmol/l. El % de Compuesto A no unido en plasma de rata y perro fue <0.001 % a una concentración de Compuesto A de 100 µmol/l, aunque se observaron niveles detectables de Compuesto A en el componente de tampón, pero estos no fueron cuantificables (<1 nmol/l). A concentraciones de Compuesto A

20



|    |                                 |             |             |             |                                             |                                             |             |
|----|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------|
| 5  | WFI                             | qs 10<br>ml | qs 10<br>ml | qs 10<br>ml | qs 10<br>ml<br>(con<br>suero<br>salino<br>) | qs 10<br>ml<br>(con<br>suero<br>salino<br>) | qs 10<br>ml |
| 10 | HP- $\beta$ -CD<br>(excipiente) | 3.0 g       | 3.0 g       | -           | -                                           | -                                           | -           |
| 10 | Captisol<br>(excipiente)        | -           | -           | -           | -                                           | 1.06g                                       | 1.02g       |
| 15 | Cremophor<br>EL<br>(excipiente) | -           | -           | 0.5 g       | -                                           | -                                           | -           |
| 20 | Tween 80<br>(excipiente)        | -           | -           | -           | 0.05 g                                      | 0.05 g                                      | -           |
| 20 | PEG 400<br>(excipiente)         | -           | -           | 1.5 mL      | -                                           | -                                           | -           |

|                                               |        |         |        |                                                                       |                                                                       |                                                                       |                                                                       |
|-----------------------------------------------|--------|---------|--------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Compuesto                                     | 0.01 g | 0.004 g | 0.02 g | 0.01 g                                                                | 0.004 g                                                               | 0.01 g                                                                | 0.004 g                                                               |
| A<br><br>(principi<br>o activo)               |        |         |        |                                                                       |                                                                       |                                                                       |                                                                       |
| 5<br><br>1<br><br>(modifica<br>dor del<br>pH) | -      | -       | -      | 0.04<br>ml<br>(equiv<br>. a<br>princi<br>pio<br>activo<br>4<br>molar) | 0.04<br>ml<br>(equiv<br>. a<br>princi<br>pio<br>activo<br>4<br>molar) | 0.02<br>ml<br>(equiv<br>. a<br>princi<br>pio<br>activo<br>2<br>molar) | 0.02<br>ml<br>(equiv<br>. a<br>princi<br>pio<br>activo<br>2<br>molar) |

10

15

20

|                                                     |                                                                  |                                                                  |                                                                                                     |                                                                  |                                                                  |                                                                  |                                                                  |
|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| <p>MSA 1 M</p> <p>(modifica<br/>dor del<br/>pH)</p> | <p>sufici<br/>ente<br/>para<br/>modifi<br/>car el<br/>pH a 4</p> | <p>sufici<br/>ente<br/>para<br/>modifi<br/>car el<br/>pH a 4</p> | <p>0.024<br/>ml (y<br/>sufici<br/>ente<br/>para<br/>modifi<br/>car el<br/>pH<br/>final<br/>a 4)</p> | <p>-</p>                                                         | <p>-</p>                                                         | <p>-</p>                                                         | <p>-</p>                                                         |
| <p>HCl 1 M</p> <p>(modifica<br/>dor del<br/>pH)</p> | <p>-</p>                                                         | <p>-</p>                                                         | <p>-</p>                                                                                            | <p>sufici<br/>ente<br/>para<br/>modifi<br/>car el<br/>pH a 9</p> | <p>sufici<br/>ente<br/>para<br/>modifi<br/>car el<br/>pH a 9</p> | <p>sufici<br/>ente<br/>para<br/>modifi<br/>car el<br/>pH a 9</p> | <p>sufici<br/>ente<br/>para<br/>modifi<br/>car el<br/>pH a 9</p> |

|    |                               |                                                         |                                                         |                                                         |   |   |   |   |
|----|-------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---|---|---|---|
| 5  | NaOH 1 M (modificador del pH) | suficiente para modificar el pH a 4 (en caso necesario) | suficiente para modificar el pH a 4 (en caso necesario) | suficiente para modificar el pH a 4 (en caso necesario) | - | - | - | - |
| 10 | Etanol (codisolvente)         | -                                                       | -                                                       | 0.5 ml                                                  | - | - | - | - |

Método para preparar formulaciones de HP-β-CD al 30% p/v

(usadas como "Vehículo 1" en el ejemplo 3)

Se preparó vehículo de HP-β-CD al 30% p/v. Se pesaron 3 g de HP-β-CD (Kleptose de Roquette, grado parenteral) en un matraz volumétrico de 10 ml y se añadieron 8 ml de WFI y se agitó (o se sometió a ultrasonidos) para su disolución. Una vez disuelto, se enrasó el volumen a 10 ml con WFI.

Se pesó la cantidad adecuada de Compuesto A en un matraz volumétrico de 10 ml. Después, se añadieron 8 ml de vehículo de HP-β-CD al 30% p/v y se agitó la formulación. Se añadió

gota a gota MSA 1 M hasta que se redujo el pH a aproximadamente 2. Después, se agitó la formulación hasta que el compuesto se disolvió completamente. El pH se midió y ajustó a pH 4, gota a gota, usando MSA o NaOH 1 M. Después, se agitó la formulación para asegurarse de que se obtenía una solución transparente (con posible turbidez). Después, se enrasó el volumen a 10 ml con vehículo de HP- $\beta$ -CD al 30% p/v y se agitó. Se midió y registró el pH final y se filtró la formulación a través de un filtro de 0.22  $\mu$ m antes de su administración. Se prepararon otras fuerzas de formulación diluyendo el Compuesto A en HP- $\beta$ -CD al 30% p/v con una cantidad adecuada de vehículo de HP- $\beta$ -CD al 30% p/v.

Método para preparar formulación de Captisol al 10.6% p/v (usada como "Vehículo 2" en el ejemplo 3)

Se preparó vehículo de Captisol al 20% p/v. Se pesaron 2 g de Captisol (grado de investigación, ligando) en un matraz volumétrico de 10 ml y se añadieron 8 ml de WFI y se agitó (o se sometió a ultrasonidos) para su disolución. Una vez disuelto, se enrasó el volumen a 10 ml con WFI. El vehículo de Captisol al 7.5% p/v se preparó diluyendo 3,75 ml del vehículo de Captisol al 20% p/v hasta 10 ml con WFI. El vehículo de Captisol al 10.0% p/v se preparó diluyendo 5 ml del vehículo de Captisol al 20% p/v hasta 10 ml con WFI.

Se preparó una solución madre de 4 mg/ml de Compuesto A en Captisol al 20% p/v, pH 9. Se pesaron 0.04 g de Compuesto A en un matraz volumétrico. Después, se añadieron 8 ml de vehículo de Captisol al 20% p/v y se agitó la formulación. Se  
5 añadió el volumen relevante de meglumina 1 M. Después, se agitó la formulación hasta que el compuesto se disolvió completamente. Después, se midió el pH y se ajustó a pH 9, gota a gota, usando HCl 1 M. Después, se enrasó el volumen a 10 ml con vehículo de Captisol al 20% p/v y se agitó. Se  
10 midió y registró el pH final y se filtró la formulación a través de un filtro de 0.22  $\mu$ m.

La formulación de 1 mg/ml de Compuesto A en Captisol al 10.6% p/v (usada en el ejemplo 3) se preparó diluyendo 2,5 ml de la solución madre de 4 mg/ml de Compuesto A en Captisol al  
15 20% p/v hasta 10 ml con vehículo de Captisol al 7.5% p/v.

Método para preparar formulación de Tween 80 al 0.5% p/v  
(usada como "Vehículo 3" en el ejemplo 3)

Se preparó vehículo de Tween 80 al 5% p/v. Se pesaron 0.5 g de Tween 80 (super-refinado, Fisher Scientific) en un  
20 matraz volumétrico de 10 ml y se añadieron 8 ml de WFI y se agitó (o se sometió a ultrasonidos) para su disolución. Una vez disuelto, se enrasó el volumen a 10 ml con WFI. El

vehículo de Tween 80 al 0.5% p/v se preparó diluyendo 1 ml del vehículo de Tween al 5% p/v hasta 10 ml con suero salino.

Se preparó una solución madre de 10 mg/ml de Compuesto A en Tween 80 al 5% p/v, pH 9. Se pesaron 0.1 g de Compuesto A en un matraz volumétrico. Después, se añadieron 8 ml de  
5 vehículo de Tween 80 al 5% p/v y se agitó la formulación. Se añadió el volumen relevante de meglumina 1 M. Después, se agitó la formulación hasta que el compuesto se disolvió completamente. Después, se midió el pH y se ajustó a pH 9,  
10 gota a gota, usando HCl 1 M. Después, se enrasó el volumen a 10 ml con el vehículo de Tween 80 al 5% p/v y se agitó. Se midió y registró el pH final y se filtró la formulación a través de un filtro de 0.22  $\mu$ m.

La formulación de 1 mg/ml de Compuesto A en Tween al  
15 0.5% p/v se preparó diluyendo 1 ml de la solución madre de 10 mg/ml de Compuesto A en Tween al 5% p/v hasta 10 ml con suero salino. La preparación de 0.4 mg/ml de Compuesto A en Tween al 0.5% p/v se preparó diluyendo 4 ml de la formulación de 1 mg/ml de Compuesto A en Tween al 0.5% p/v hasta 10 ml con  
20 vehículo de Tween 80 al 0.5% p/v.

Método para preparar formulación de Cremophor EL al 5% p/v (usada como "Vehículo 4" en el ejemplo 3)

Se preparó vehículo de Cremophor EL al 20% p/v. Se pesaron 2 g de Cremophor EL (Kolliphor EL®, BASF) (líquido viscoso) en un matraz volumétrico de 10 ml. Después, se añadieron 5 ml de WFI y se sometió a ultrasonidos o se agitó hasta su disolución. Una vez disuelto, se enrasó el volumen hasta el volumen con WFI.

Se pesaron 0.02 g de Compuesto A en un matraz volumétrico de 10 ml. Se añadieron 0.5 ml de etanol, 1.5 ml de PEG 400 (Fischer Scientific) y 0.024 ml de MSA 1 M. Después, se agitó la formulación hasta que el fármaco se disolvió completamente. El pH se midió y se ajustó a pH 4.0 con NaOH 1 M o MSA 1 M concentrado, en caso necesario. Se añadieron 2.5 ml de vehículo de Cremophor al 20% p/v y después se enrasó el volumen a 10 ml con WFI para producir una solución transparente. La formulación se filtró a través de un filtro de 0.22  $\mu$ m antes de su administración.

Método de preparación para la formulación de Captisol al 10.2% p/v

La preparación de 0.4 mg/ml de Compuesto A en Captisol al 10.2% p/v se efectuó diluyendo 4 ml de una formulación de 1 mg/ml de Compuesto A en Captisol al 10.6% p/v (véase la sección anterior para el método de preparación) hasta 10 ml con vehículo de Captisol al 10.0% p/v.

**Tabla 5. Composiciones de formulación para gran escala**

| Ingredientes                          | Formulación de HP- $\beta$ -CD al 28% p/v, pH 9.5 (5 mg/ml de Compuesto A)                | Formulación de Captisol al 14% p/v, pH 9.5 (0.5 mg/ml de Compuesto A)                     |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| WFI                                   | qs 500 ml                                                                                 | qs 1200 ml                                                                                |
| HP- $\beta$ -CD<br>(excipiente)       | 140.0 g                                                                                   | -                                                                                         |
| Captisol<br>(excipiente)              | -                                                                                         | 168.0 g                                                                                   |
| Compuesto A<br>(principio activo)     | 2.5 g                                                                                     | 0.60 g                                                                                    |
| Meglumina 1 M<br>(modificador del pH) | 5.42 ml (equiv. a principio activo 2 molar) y suficiente para modificar el pH final a 9.5 | 1.30 ml (equiv. a principio activo 2 molar) y suficiente para modificar el pH final a 9.5 |
| HCl 1 M<br>(modificador del pH)       | suficiente para modificar el pH a 9.5                                                     | suficiente para modificar el pH a 9.5                                                     |

Método de preparación para la formulación de HP- $\beta$ -CD al

28% p/v

La preparación se llevó a cabo en una sala limpia y se usaron equipos limpios y estériles. Se preparó vehículo de HP- $\beta$ -CD al 28% p/v. Se pesaron 145.60 g de HP- $\beta$ -CD en un vaso de precipitados de 2 l y se añadieron 412.88 g de WFI y se  
5 agitó hasta que la HP- $\beta$ -CD se había disuelto completamente.

Se añadieron 279.2 g de HP- $\beta$ -CD al 28% p/v a un vaso de precipitados de 1 l. A continuación, se añadieron 5.689 g de meglumina 1 M con agitación, seguido de 2.50 g de Compuesto A con agitación. La suspensión se homogeneizó durante 30  
10 minutos. Después, se lavó la cabeza del homogeneizador con HP- $\beta$ -CD al 28% p/v y se añadieron los lavados al vaso de precipitado de 1 l para lograr ~95% del volumen final diana. Se protegió a la suspensión de la luz y se agitó durante una noche, dando como resultado una solución de color amarillo  
15 ligeramente turbia. Se ajustó el pH de la solución turbia a 9.5 usando meglumina 1 M, se enrasó hasta el volumen diana usando vehículo de HP- $\beta$ -CD al 28% p/v y se agitó durante 30 minutos. Se midió y registró el pH final y se filtró la formulación a través de un filtro de 0.22  $\mu$ m antes de  
20 rellenarla en viales limpios estériles, que se taparon y crimparon.

Método de preparación para la formulación de Captisol al  
14% p/v

La preparación se llevó a cabo en una sala limpia y se usaron equipos limpios y estériles. En primer lugar, se preparó un vehículo concentrado de Captisol al 42% p/v para ayudar en la disolución del Compuesto A. (Después, en la  
5 preparación, la formulación se diluyó con WFI para producir una formulación final de Captisol al 14% p/v). Se pesaron 579.86 g de WFI en un vaso de precipitados de 3 l, se añadieron 352.94 g de Captisol con agitación y después se agitó la mezcla con un agitador vorticial grande hasta que se  
10 disolvió completamente el Captisol.

Se añadieron 233.2 g de Captisol al 42% p/v en un vaso de precipitados de 600 ml. A continuación, se añadieron 1.365 g de meglumina 1 M con agitación, seguido de 0.60 g de Compuesto A con agitación. La suspensión se homogeneizó  
15 durante 30 minutos, dando como resultado una solución amarilla ligeramente turbia. La cabeza del homogeneizador se lavó con Captisol al 42% p/v. La solución homogeneizada y los lavados se transfirieron a un vaso de precipitados de 2 l y se enrasó hasta un volumen total de 400 ml con Captisol al  
20 42% p/v. Se protegió la solución de la luz y se agitó durante una noche. La solución ligeramente turbia se diluyó con 740 g de WFI hasta ~95% del volumen final diana y se agitó durante 30 minutos. Se ajustó el pH de la solución a 9.5 usando

meglumina 1 M, se enrasó hasta el volumen diana usando WFI y se agitó durante 30 minutos. Se midió y registró el pH final y se filtró la formulación a través de un filtro de 0.22  $\mu$ m antes de rellenarla en viales limpios estériles, que se taparon y crimparon.

Estabilidad de las formulaciones de Captisol y HP- $\beta$ -CD

Se evaluaron las estabilidades físicas de la formulación de 0.5 mg/ml de Compuesto A/Captisol al 14% p/v y la formulación de 5.0 mg/ml de Compuesto A/HP- $\beta$ -CD al 28% p/v.

En cada formulación se formó una cantidad muy pequeña de precipitado, visible a simple vista, tras 24 horas de almacenamiento a temperatura ambiente. Para la formulación a base de Captisol, se observó que el precipitado se formó rápidamente cuando la se alteró el sistema de formulación (por ejemplo, se filtró), pero el precipitado no siguió aumentando a una velocidad rápida cuando se almacenó la formulación a 5°C y 25°C durante 6 meses.

Los datos de estabilidad química indican que se necesitaría almacenar una formulación a base de Captisol a 5°C o congeladas para obtener una vida útil aceptable (>6 meses) para estudios clínicos.

Debido a la baja solubilidad del Compuesto A en vehículos acuosos, se necesitaría un alto nivel de Captisol o

HP- $\beta$ -CD, además de un alto pH y un alto volumen de infusión, para solubilizar las dosis de Compuesto A necesarias para llevar a cabo estudios de seguridad clínica.

**Ejemplo 3: Estudio de eficacia en xenoinjertos para formulaciones de Compuesto A**

Las formulaciones preparadas para la eficacia en xenoinjertos se prepararon de acuerdo con los procedimientos del ejemplo 2 anterior.

Evaluación de eficacia del Compuesto A en el modelo de xenoinjerto en ratones de leucemia linfoblástica aguda RS4;11

Se usaron células de leucemia linfoblástica aguda humanas (RS4;11) para probar la actividad del Compuesto A en diferentes formulaciones (**figura 3A**). Las células RS4;11 se inyectaron por vía subcutánea en el flanco derecho de ratones CB-17/ICr-Prkdcscid/IcrIcoCrl SCID hembra (Charles River Laboratories) a razón de  $5 \times 10^6$  células/ratón. Cuando los tumores alcanzaron un tamaño diana de 300-400 mm<sup>3</sup>, se asignaron los ratones aleatoriamente a control de vehículo; Vehículo 1 (HP- $\beta$ -CD al 30%, pH 4), Vehículo 2 (Captisol al 10.6%, pH 9), Vehículo 3 (Tween al 0.5%, pH 9) o un tratamiento de Compuesto A (2 y 5 mg/kg formulado en Vehículo 1, 2 o 3). Además, en un experimento separado, se investigó la actividad del Compuesto A en una formulación de Cremophor,

Vehículo 4 (**figura 3B**). Todas las formulaciones se administraron en forma de un solo bolo IV. Para evaluar la eficacia, se midió el volumen tumoral dos veces a la semana y se calculó como: Volumen tumoral =  $(A \times B^2)/2$  donde A y B son la longitud y el ancho del tumor (en mm), respectivamente durante un periodo de hasta 4 semanas después de la dosis.

Para evaluar la respuesta farmacodinámica (PD) de una sola dosis (**figura 4**), se sacrificó a los ratones en los instantes adecuados, se extrajeron los tumores y se procesó y analizó la mitad del tumor para caspasa 3 escindida (CC3) como marcador de la inducción de apoptosis usando el kit de ELISA de señalización celular Pathscan. Para evaluar la exposición tumoral a una sola dosis (PK) (**figura 5**), se procesó la otra mitad del tumor y se midió la concentración del fármaco.

Las formulaciones en Captisol y HP- $\beta$ -CD mostraron una eficacia estadísticamente equivalente durante 33 días. Por otra parte, la formulación en Tween 80 mostró una eficacia nula/mínima (**figura 3A**). Las formulaciones tanto en Captisol como en HP- $\beta$ -CD mostraron exposiciones tumorales similares a las 6 y 24 h (**figura 5**). Sin embargo, la formulación en HP- $\beta$ -CD desencadenó una mayor muerte celular, medida por el nivel de respuesta de caspasa 3 escindida, que la formulación en

Captisol (**figura 4**) aunque la eficacia y la exposición parecían equivalentes. La formulación en Tween 80 mostró una menor exposición tumoral y no había evidencias de inducción de caspasa 3 escindida. En resumen, la eficacia del Compuesto A depende de la presencia de ciclodextrina, ya sea HP- $\beta$ -CD o Captisol. Se observó una eficacia reducida con otros vehículos (por ejemplo, Tween o Cremophor).

Evaluación de eficacia del Compuesto A (HP- $\beta$ -CD) a diferentes duraciones de infusión en el modelo de xenoinjerto de leucemia linfoblástica aguda RS4;11 en ratas

Se inoculó a ratas Rag2-/- adquiridas de (SAGE) con RS4;1 (10x10<sup>6</sup> células/rata). Cuando los tumores alcanzaron un tamaño de 4500-6000 mm<sup>3</sup>, se asignaron las ratas aleatoriamente a control de vehículo (HP- $\beta$ -CD al 30%) o a Compuesto A (5 mg/kg en Vehículo 1) suministrado en forma de una sola infusión IV de 30 min (**figura 6**) y control de vehículo (HP- $\beta$ -CD al 30%) o 5mg/kg, 3mg/kg y 1mg/kg de Compuesto A en Vehículo 1 suministrado en forma de una sola infusión IV de 5 h (**figura 7**). Los tamaños tumorales se midieron dos veces a la semana y se calcularon como: Volumen tumoral = (AxB<sup>2</sup>)/2 donde A y B son la longitud y el ancho del tumor (en mm), respectivamente.

Los resultados se muestran en las **figuras 6 y 7**. El Compuesto A en infusión a 5 mg/kg durante 30 min inhibió el crecimiento tumoral durante ~9 días después de un solo tratamiento en comparación con el vehículo. Se observó una  
5 eficacia comparable cuando se prolongó la infusión hasta 5 h. En resumen, la prolongación del tiempo de infusión no afecta a la actividad del compuesto A en esta formulación.

**Ejemplo 4: Preparación y caracterización de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ε-PEG~2000]<sub>32±</sub>**

10 Nota: 32± se refiere al número teórico de grupos ε-amino disponibles para su sustitución con PEG~2000. El número real de grupos PEG~2000 unidos al BHALys[Lys]<sub>32</sub> se determinó experimentalmente mediante <sup>1</sup>H RMN (véase la sección más adelante en el presente ejemplo, titulada Caracterización de  
15 BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-NH<sub>2</sub>-TFA]<sub>32</sub>[ε-PEG~2000]<sub>32±</sub>).

*Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ε-PEG~2000]<sub>32±</sub>*

*BHALys[Boc]<sub>2</sub>*

Se añadió éster de α,ε-(t-Boc)<sub>2</sub>-(L)-lisina p-nitrofenol sólido (2.787 kg, 5.96 mol) a una solución de  
20 aminodifenilmetano (bencilhidramina) (0.99 kg, 5.4 mol) en acetonitrilo anhidro (4.0 l), DMF (1.0 l) y trietilamina (1.09 kg) a lo largo de un periodo de 15 min. La mezcla de reacción se agitó a 20°C durante una noche. Después, se

calentó la mezcla de reacción a 35°C y se añadió hidróxido de sodio acuoso (0.5 N, 10 l) lentamente durante 30 min. La mezcla se agitó durante 30 min adicionales y después se filtró. La torta sólida se lavó con agua y se secó hasta un peso constante (2.76 kg, 5.4 mol) con un rendimiento del 100%.  
5  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.3 (m, 10H, Ph calculado 10H); 6.2 (s, 1H, CH-Ph<sub>2</sub> calculado 1H); 4.08 (m,  $\alpha$ -CH, 1H), 3.18 (a,  $\varepsilon$ -CH<sub>2</sub>) y 2.99 (m,  $\varepsilon$ -CH<sub>2</sub> 2H); 1.7-1.2 (a,  $\beta,\gamma,\delta$ -CH<sub>2</sub>) y 1.43 (s, tBu) total para  $\beta,\gamma,\delta$ -CH<sub>2</sub> y tBu 25H calculado 24H. MS (ESI +ve)  
10 encontrado 534.2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calculado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  534.7.

*BHALys[HCl]<sub>2</sub>*

Se añadió lentamente una solución de HCl concentrado (1.5 l) en metanol (1.5 l), en tres porciones, a una  
15 suspensión en agitación de BHALys[Boc]<sub>2</sub> (780.5g, 1.52mol) en metanol (1.5 l) a una velocidad para evitar un exceso de espuma. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min adicionales y después se concentró al vacío a 35°C. El residuo se recogió en agua (3.4 l) y se concentró al vacío a  
20 35°C dos veces y después se almacenó al vacío durante una noche. Después se añadió acetonitrilo (3.4 l) y el residuo se concentró nuevamente al vacío a 35°C para dar BHALys[HCl]<sub>2</sub> en forma de un sólido de color blanco (586 g, 1.52 mol) con un

rendimiento del 100%.  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.23 (m a, 10H, Ph calculado 10H); 5.99 (s, 1H, CH- $\text{Ph}_2$  calculado 1H); 3.92 (t, J = 6.5 Hz,  $\alpha$ -CH, 1H, calculado 1H); 2.71 (t, J = 7.8 Hz,  $\varepsilon$ - $\text{CH}_2$ , 2H, calculado 2H); 1.78 (m,  $\beta, \gamma, \delta$ - $\text{CH}_2$ , 2H), 1.47 (m,  $\beta, \gamma, \delta$ - $\text{CH}_2$ , 2H), y 1.17 (m,  $\beta, \gamma, \delta$ - $\text{CH}_2$ , 2H, total 6H calculado 6H). MS (ESI +ve) encontrado 312  $[\text{M}+\text{H}]^+$  calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  312.

*BHALys[Lys] $_2$ [Boc] $_4$*

A una suspensión de BHALys[ $\text{HCl}$ ] $_2$  (586 g, 1.52 mmol) en DMF anhidro (3.8 l) se le añadió lentamente trietilamina (1.08 kg) para mantener la temperatura de reacción por debajo de 30°C. Se añadió éster de  $\alpha, \varepsilon$ -(t-Boc) $_2$ -(L)-lisina p-nitrofenol sólido (1.49 kg) en tres porciones, lentamente y con agitación durante 2 horas entre las adiciones. Se dejó la reacción en agitación durante una noche. Se añadió lentamente una solución acuosa de hidróxido de sodio (0.5 M, 17 l) a la mezcla bien agitada y se mantuvo la agitación hasta que el precipitado sólido se movía libremente. El precipitado se recogió por filtración y la torta sólida se lavó bien con agua (2 x 4 l) y después acetona/agua (1:4, 2 x 4 l). El sólido se suspendió de nuevo con agua, después se filtró y se secó al vacío durante una noche para dar BHALys [Lys] $_2$ [Boc] $_4$  (1.51 kg) con un rendimiento del 100%.  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.3 (m,

10H, Ph calculado 10H); 6.2 (s, 1H, CH-Ph<sub>2</sub> calculado 1H);  
4.21 (m, α-CH), 4.02 (m, α-CH) y 3.93 (m, α-CH, total 3H,  
calculado 3H); 3.15 (m, ε-CH<sub>2</sub>) y 3.00 (m, ε-CH<sub>2</sub> total 6H,  
calculado 6H); 1.7-1.3 (a, β,γ,δ-CH<sub>2</sub>) y 1.43 (s, tBu) total  
5 para β,γ,δ-CH<sub>2</sub> y tBu 57H, calculado 54H. MS (ESI +ve)  
encontrado 868.6 [M-Boc]<sup>+</sup>; 990.7 [M+Na]<sup>+</sup> calculado para  
C<sub>51</sub>H<sub>81</sub>N<sub>7</sub>O<sub>11</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> 991.1.

*BHALys[Lys]<sub>2</sub>[HCl]<sub>4</sub>*

Se suspendió BHALys[Lys]<sub>2</sub>[Boc]<sub>4</sub> (1.41 kg, 1.46 mol) en  
10 metanol (1.7 l) con agitación a 35°C. Se mezcló ácido  
clorhídrico (1.7 l) con metanol (1.7 l) y la solución  
resultante se añadió en cuatro porciones a la suspensión de  
dendrímico y se dejó en agitación durante 30 min. El  
disolvente se retiró al vacío y se trabajó con dos adiciones  
15 sucesivas de agua (3.5 l) seguido de dos adiciones sucesivas  
de acetonitrilo (4 l) para dar BHALys[Lys]<sub>2</sub>[HCl]<sub>4</sub> (1.05 Kg,  
1.46 mmol) con un rendimiento del 102%. <sup>1</sup>H RMN (D<sub>2</sub>O) δ 7.4 (m  
a, 10H, Ph calculado 10H); 6.14 (s, 1H, CH-Ph<sub>2</sub> calculado 1H);  
4.47 (t, J = 7.5 Hz, α-CH, 1H ), 4.04 (t, J = 6.5 Hz, α-CH,  
20 1H ), 3.91 (t, J = 6.8 Hz, α-CH, 1H, total 3H, calculado 3H);  
3.21 (t, J = 7.4 Hz, ε-CH<sub>2</sub>, 2H), 3.01 (t, J = 7.8 Hz, ε-CH<sub>2</sub>,  
2H) y 2.74 (t, J = 7.8 Hz, ε-CH<sub>2</sub>, 2H, total 6H, calculado 6H);

1.88 (m,  $\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub>), 1.71 (m,  $\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub>), 1.57 (m,  $\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub>) y 1.35 (m,  $\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub> total 19H, calculado 18H).

*BHALys[Lys]<sub>4</sub>[Boc]<sub>8</sub>*

Se disolvió BHALys[Lys]<sub>2</sub>[HCl]<sub>4</sub> (1.05 Kg, 1.47 mol) en DMF  
5 (5.6 l) y trietilamina (2.19 l). Se añadió el éster de  $\alpha, \epsilon$ -  
(t-Boc)<sub>2</sub>-(L)-lisina p-nitrofenol (2.35 Kg, 5.03 mol) en tres  
porciones y se agitó la reacción durante una noche a 25°C. Se  
añadió una solución de NaOH (0.5M, 22 l) y la mezcla  
resultante se filtró, se lavó con agua (42 l) y después se  
10 secó al aire. El sólido se secó al vacío a 45°C para dar  
BHALys [Lys]<sub>4</sub>[Boc]<sub>8</sub> (2.09 Kg, 1.11 mol) con un rendimiento del  
76%. <sup>1</sup>H RMN (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7.3 (m, 10H, Ph calculado 10H); 6.2 (s,  
1H, CH-Ph<sub>2</sub> calculado 1H); 4.43 (m,  $\alpha$ -CH), 4.34 (m,  $\alpha$ -CH),  
4.25 (m,  $\alpha$ -CH) y 3.98 (a,  $\alpha$ -CH, total 7H, calculado 7H); 3.15  
15 (a,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub>) y 3.02 (a,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub> total 14H, calculado 14H); 1.9-1.2  
(a,  $\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub>) y 1.44 (s a, tBu) total para  $\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub> y tBu  
122H, calculado 144H.

*BHALys[Lys]<sub>4</sub>[TFA]<sub>8</sub>*

A una suspensión en agitación de BHALys[Lys]<sub>4</sub>[Boc]<sub>8</sub> (4 g,  
20 2.13 mmol) en DCM (18 ml) se le añadió TFA (13 ml) a 0°C. Se  
disolvieron los sólidos y la solución se agitó durante una  
noche en una atmósfera de argón. Los disolventes se retiraron  
al vacío y el TFA residual se retiró por trituration con éter

dietílico (100 ml). El producto se redisolvió en agua y después se criodesecó para dar BHALys[Lys]<sub>4</sub>[TFA]<sub>8</sub> en forma de un sólido de color blanquecino (4.27 g, 2.14 mmol) con un rendimiento del 101%. <sup>1</sup>H RMN (D<sub>2</sub>O) δ 7.21 (m a, 10H, Ph calculado 10H); 5.91 (s, 1H, CH-Ph<sub>2</sub> calculado 1H); 4.17 (t, J = 7.4 Hz, α-CH, 1H ), 4.09 (t, J = 7.1 Hz, α-CH, 1H ), 4.02 (t, J = 7.2 Hz, α-CH, 1H, 3.84 (t, J = 6.5 Hz, α-CH, 2H), 3.73 (t, J = 6.7 Hz, α-CH, 1H), 3.67 (t, J = 6.7 Hz, α-CH, 1H, total 7H, calculado 7H); 3.0 (m, ε-CH<sub>2</sub>), 2.93 (m, ε-CH<sub>2</sub>) y 2.79 (b, ε-CH<sub>2</sub>, total 15H, calculado 14H); 1.7 (a, β,γ,δ-CH<sub>2</sub>), 1.5 (a, β,γ,δ-CH<sub>2</sub>), 1.57 (m, β,γ,δ-CH<sub>2</sub>) y 1.25 (a, β,γ,δ-CH<sub>2</sub> total 45H, calculado 42H). MS (ESI +ve) encontrado 541.4 [M+2H]<sup>2+</sup>; calculado para C<sub>55</sub>H<sub>99</sub>N<sub>15</sub>O<sub>7</sub> [M+2H]<sup>2+</sup> 541.2.

*BHALys[Lys]<sub>8</sub>[Boc]<sub>16</sub>*

Se añadió una solución de éster de α,ε-(t-Boc)<sub>2</sub>-(L)-lisina p-nitrofenol (1.89 g, 4.05 mmol) en DMF (25 ml) a una solución de BHALys [Lys]<sub>4</sub>[NH<sub>2</sub>TFA]<sub>8</sub> (644 mg, 0.32 mmol) y trietilamina (0.72 ml, 5.2 mmol) en DMF (25 ml) y se dejó la reacción en agitación durante una noche en una atmósfera de argón. La mezcla de reacción se vertió en hielo/agua (500 ml), después se filtró y el sólido recogido se secó durante una noche al vacío. El sólido seco se lavó exhaustivamente con acetonitrilo para dar BHALys[Lys]<sub>8</sub>[Boc]<sub>16</sub> en forma de un

sólido de color blanquecino (0.82 g, 0.22 mmol) con un  
rendimiento del 68%.  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  7.3 (m, 10H, Ph  
calculado 10H); 6.2 (s a, 1H, CH- $\text{Ph}_2$  calculado 1H); 4.48 (a,  
 $\alpha$ -CH), 4.30 (a,  $\alpha$ -CH) y 4.05 (a,  $\alpha$ -CH, total 16H calculado  
5 15H); 3.18 (a,  $\varepsilon$ - $\text{CH}_2$ ) y 3.02 (m,  $\varepsilon$ - $\text{CH}_2$  total 31H, calculado  
30H); 1.9-1.4 (a,  $\beta, \gamma, \delta$ - $\text{CH}_2$ ) y 1.47 (s a, tBu) total para  
 $\beta, \gamma, \delta$ - $\text{CH}_2$  y tBu 240H, calculado 234H. MS (ESI+ve) encontrado  
3509  $[\text{M}+\text{H}-(\text{Boc})_2]^+$  calculado para  $\text{C}_{173}\text{H}_{306}\text{N}_{31}\text{O}_{43}$   $[\text{M}+\text{H}-(\text{Boc})_2]^+$   
3508.5; 3408  $[\text{M}+\text{H}-(\text{Boc})_3]^+$  calculado para  $\text{C}_{168}\text{H}_{298}\text{N}_{31}\text{O}_{41}$   $[\text{M}+\text{H}-$   
10 (Boc) $_3]^+$  3408.4.

*BHALys[Lys] $_8$ [TFA] $_{16}$*

Se añadió lentamente una solución de TFA/DCM (1:1, 19 ml)  
a una suspensión en agitación de BHALys[Lys] $_8$ [Boc] $_{16}$  (800 mg,  
0.22 mmol) en DCM (25 ml). Se disolvieron los sólidos y la  
15 solución se agitó durante una noche en una atmósfera de argón.  
Los disolventes se retiraron al vacío y el TFA residual se  
retiró criodesecando el residuo repetidas veces para dar  
BHALys [Lys] $_8$ [TFA] $_{16}$  en forma de un liofilizado de color  
blanquecino (848 mg, 0.22 mmol) con un rendimiento del 100%.  
20  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.3 (m a, 10H, Ph calculado 10H); 6.08 (s, 1H,  
CH- $\text{Ph}_2$  calculado 1H); 4.3 (m,  $\alpha$ -CH), 4.18 (m,  $\alpha$ -CH), 4.0 (m,  
 $\alpha$ -CH) y 3.89 (m,  $\alpha$ -CH, total 16H, calculado 15H); 3.18 (a,  $\varepsilon$ -  
 $\text{CH}_2$ ) y 2.94 (m,  $\varepsilon$ - $\text{CH}_2$  total 32H, calculado 30H); 1.9 (m,

$\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub>), 1.68 (m,  $\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub>) y 1.4 (m,  $\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub> total 99H, calculado 90H). MS (ESI +ve) encontrado 2106 [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>103</sub>H<sub>194</sub>N<sub>31</sub>O<sub>15</sub> [M+H]<sup>+</sup> 2106.9.



5        Se añadió una solución de éster de  $\alpha, \epsilon$ -(t-Boc)<sub>2</sub>-(L)-lisina p-nitrofenol (1.89 g, 4.05 mmol) en DMF (25 ml) a una solución de BHALys [Lys]<sub>8</sub>[TFA]<sub>16</sub> (644 mg, 0.32 mmol) y trietilamina (0.72 ml, 5.2 mmol) en DMF (25 ml) y se dejó la reacción en agitación durante una noche en una atmósfera de argón. La reacción se vertió en hielo/agua (500 ml), después se filtró y el sólido recogido se secó durante una noche al vacío. El sólido seco se lavó exhaustivamente con acetonitrilo para dar BHALys[Lys]<sub>16</sub>[Boc]<sub>32</sub> en forma de un sólido de color blanquecino (0.82 g, 0.22 mmol) con un  
10        rendimiento del 68%. <sup>1</sup>H RMN (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7.28 (m, 9H, Ph calculado 10H); 6.2 (s a, 1H, CH-Ph<sub>2</sub> calculado 1H); 4.53 (a,  $\alpha$ -CH), 4.32 (a,  $\alpha$ -CH) y 4.05 (a,  $\alpha$ -CH, total 35H, calculado 31H); 3.18 (a,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub>) y 3.04 (m,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub> total 67H, calculado 62H); 1.9-1.5 (a,  $\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub>) y 1.47 (s a, tBu) total para  $\beta, \gamma, \delta$ -CH<sub>2</sub> y tBu 474H calculado, 474H. MS (ESI+ve) encontrado 6963 [M+H-  
15        (Boc)<sub>4</sub>]<sup>+</sup> calculado para C<sub>339</sub>H<sub>610</sub>N<sub>63</sub>O<sub>87</sub> [M+H-(Boc)<sub>4</sub>]<sup>+</sup> 6960.9; 6862 [M+H-(Boc)<sub>5</sub>]<sup>+</sup> calculado para C<sub>334</sub>H<sub>604</sub>N<sub>63</sub>O<sub>85</sub> [M+H-(Boc)<sub>5</sub>]<sup>+</sup> 6860.8.  
20



Se añadió lentamente una solución de TFA/DCM (1:1, 19 ml) a una suspensión en agitación de BHALys[Lys]<sub>16</sub>[Boc]<sub>32</sub> (800 mg, 0.11 mmol) en DCM (25 ml). Se disolvieron los sólidos y la solución se agitó durante una noche en una atmósfera de argón.

Los disolventes se retiraron al vacío y el TFA residual se retiró criodesecando el residuo repetidas veces para dar BHALys [Lys]<sub>16</sub>[TFA]<sub>32</sub> en forma de un liofilizado de color blanquecino (847 mg, 0.11 mmol) con un rendimiento del 100%.

<sup>1</sup>H RMN (D<sub>2</sub>O) δ 7.3 (m a, 11H, Ph calculado 10H); 6.06 (s, 1H, CH-Ph<sub>2</sub> calculado 1H); 4.3 (m, α-CH), 4.19 (m, α-CH), 4.0 (m, α-CH) y 3.88 (m, α-CH, total 35H, calculado 31H); 3.15 (a, ε-CH<sub>2</sub>) y 2.98 (m, ε-CH<sub>2</sub> total 69H, calculado 62H); 1.88 (m, β,γ,δ-CH<sub>2</sub>), 1.7 (m, β,γ,δ-CH<sub>2</sub>) y 1.42 (m, β,γ,δ-CH<sub>2</sub> total 215H, calculado 186H). MS (ESI+ve) encontrado 4158 [M+H]<sup>+</sup> calculado para C<sub>199</sub>H<sub>386</sub>N<sub>63</sub>O<sub>31</sub> [M+H]<sup>+</sup> 4157.6

*HO-Lys (α-BOC) (ε-PEG<sub>2100</sub>)*

Se añadió DIPEA (0.37 ml, 2.10 mmol) a una mezcla enfriada en hielo de NHS-PEG<sub>2100</sub> (2.29 g, 1.05 mmol) y N-α-t-BOC-L-lisina (0.26 g, 1.05 mmol) en DMF (20 ml). La mezcla agitada se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche y después se filtraron los sólidos restantes (PALL acrodisc de 0.45 μm) antes de retirar el disolvente al vacío. El residuo se recogió en ACN/H<sub>2</sub>O (1:3, 54 ml) y se purificó

mediante HPLC PREP (Waters XBridge C18, 5  $\mu$ m, 19 x 150 mm, ACN del 25 al 32% (5-15 min), ACN del 32 al 60% (15 a 20 min), sin tampón, 8 ml/min, TR = 17 min), proporcionando 1.41 g (56%) de HO-Lys(BOC)(PEG<sub>2100</sub>). <sup>1</sup>H RMN (CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  3.96-4.09 (m, 1H), 3.34-3.87 (m, 188H); 3.32 (s, 3H), 3.15 (q, J = 6.0 Hz, 2H), 2.40 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 1.28-1.88 (m, 6H), 1.41 (s, 9H).



A una mezcla en agitación de BHALys[Lys]<sub>16</sub>[TFA]<sub>32</sub> (0.19 g, 24  $\mu$ mol) en DMF (20 ml) se le añadió DIPEA (0.86 ml, 4.86 mmol). Después, esta mezcla se añadió gota a gota a una mezcla en agitación de PyBOP (0.62 g, 1.20 mmol) y Lys(BOC)(PEG<sub>2100</sub>) (2.94 g, 1.20 mmol) en DMF (20 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante una noche y después se diluyó con agua (200 ml). La mezcla acuosa se sometió a una filtración centramate (membrana de 5 k, 20 l de agua). La fracción retenida se criodesecó, proporcionando 1.27 g (73%) del dendrímero deseado. HPLC (C8 XBridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN al 5% (0-1 min), ACN/H<sub>2</sub>O al 5-80%) (1-7 min), ACN al 80% (7-12 min), ACN al 80-5% (12-13 min), ACN al 5% (13-15 min), 214 nm, TFA al 0.1%) R<sub>f</sub> (min) = 8.52. <sup>1</sup>H-nmr (300MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 1.10-2.10 (m, Lys CH<sub>2</sub> ( $\beta$ ,  $\chi$ ,  $\delta$ ) y BOC, 666H), 3.02-3.36 (m, Lys CH<sub>2</sub>

( $\epsilon$ ), 110H), 3.40 (s, PEG-OMe, 98H), 3.40-4.20 (m, PEG-OCH<sub>2</sub>, 5750H + Lys CH superficial, 32H), 4.20-4.50 (m, Lys, CH interno 32H), 7.20-7.54 (m, BHA, 8H). La <sup>1</sup>H RMN indica aproximadamente 29 restos de PEG.

5 *BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -TFA]<sub>32</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>2100</sub>]<sub>32</sub>†*

Se agitaron 1.27 g (17.4  $\mu$ mol) de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -BOC]<sub>32</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>2100</sub>]<sub>32</sub> en TFA/DCM (1:1, 20 ml) a temperatura ambiente durante una noche. Los volátiles se retiraron al vacío y después se recogió el residuo en agua (30 ml).  
10 Después, se concentró la mezcla. Este proceso se repitió dos veces más antes de criodesecarse, proporcionando 1.35 g del producto deseado (106%) en forma de un aceite viscoso incoloro. HPLC (C8 XBridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN al 5% (0-1 min), ACN/H<sub>2</sub>O al 5-80%) (1-7 min), ACN al 80% (7-12 min),  
15 ACN al 80-5% (12-13 min), ACN al 5% (13-15 min), 214 nm, TFA al 0.1%) R<sub>f</sub> (min) = 8.51. <sup>1</sup>H-nmr (300MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  (ppm): 1.22-2.08 (Lys CH<sub>2</sub> (( $\beta$ ,  $\chi$ ,  $\delta$ ), 378H), 3.00-3.26 (Lys CH<sub>2</sub> ( $\epsilon$ ), 129H), 3.40 (PEG-OMe, 96H), 3.45-4.18 (PEG-OCH<sub>2</sub>, 5610H + Lys CH superficial, 32H), 4.20-4.46 (Lys, CH interno, 33H), 7.24-  
20 7.48 (8H, BHA). La <sup>1</sup>H RMN indica aproximadamente 29 restos de PEG.

*Caracterización de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>2000</sub>]<sub>32</sub>†*

La tabla 6 ilustra los diversos lotes de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ε-PEG~2000]<sub>32</sub># que se usaron en los ejemplos 5-9 más adelante, que tienen longitudes de PEG ligeramente diferentes. El número real de cadenas de PEG en el dendrímero también se calcula mediante RMN de protones.

**Tabla 6. Diversos lotes de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ε-PEG~2000]<sub>32</sub>†**

| Lote | Escala  | Longitud de PEG a partir de CoA (Da) | Número de PEG (x) en BHALys[Lys] <sub>32</sub> [α-NH <sub>2</sub> .TFA] <sub>32</sub> [ε-PEG~2000] <sub>x</sub> (a partir de la RMN de protones*) | PM estimado** (kDa) |
|------|---------|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 1    | 101 mg  | 2200                                 | 29                                                                                                                                                | 75.7                |
| 2    | 98 mg   | 2200                                 | 29                                                                                                                                                | 75.7                |
| 3    | 74.8 g  | 2100                                 | 29                                                                                                                                                | 72.8                |
| 4    | 137 mg  | 2200                                 | 29                                                                                                                                                | 75.7                |
| 5    | 1.19 g  | 2100                                 | 31                                                                                                                                                | 77.0                |
| 6    | 18.98 g | 2100                                 | 29                                                                                                                                                | 72.8                |

\* El número de PEG se calcula a partir de la RMN de protones. Para el lote 1: n.º de PEG = Número (integración) de protones en la región de PEG de la RMN (3.4-4.2 ppm) / Número promedio (medio) de protones por cadena de PEG (CoA PEG/44Da x 4H)

$$= 5706H / (2200/44 \times 4)$$

$$= 28.53 \text{ (aprox. 29 unidades de PEG)}$$

\*\*Peso molecular estimado añadiendo el PM de diversos componentes. Para el lote 1:

$$\begin{aligned} \text{PM total} &= \text{PM del dendrímero} + \text{PM de TFA} + \text{PM de PEG} \\ &= \text{BHALys[Lys]}_{32} + 32(\text{TFA}) + 29(\text{PEG}) \\ &= 8,258 + 3,648 + 63800 \\ &= \underline{\sim 75.7 \text{ kDa}} \end{aligned}$$

La RMN de protones para los diversos lotes de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ε-PEG~2000]<sub>32+</sub> se presenta en la tabla 7:

**Tabla 7. Datos de RMN de protones para diversos lotes de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ε-PEG~2000]<sub>32+</sub>**

| Lote | Escala | RMN de protones de BHALys[Lys] <sub>32</sub> [α-NH <sub>2</sub> .TFA] <sub>32</sub> [ε-PEG~2000] <sub>x</sub>                                                                                                                             |
|------|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1    | 101 mg | 1.22-2.08 (Lys CH <sub>2</sub> (β,χ,δ), 378H), 3.00-3.26 (Lys CH <sub>2</sub> (α), 129H), 3.40 (PEG-OMe, 96H), 3.45-4.18 (PEG-OCH <sub>2</sub> , 5610H + Lys CH superficial, 32H), 4.20-4.46 (Lys, CH interno, 33H), 7.24-7.48 (8H, BHA). |
| 2    | 98 mg  | Igual que para el lote 1                                                                                                                                                                                                                  |
| 3    | 74.8 g | 1.02-2.18 (Lys CH <sub>2</sub> (β,χ,δ), 378H), 2.94-3.36                                                                                                                                                                                  |

|    |   |         |                                                                                                                                                                                                                                            |
|----|---|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5  |   |         | (Lys CH <sub>2</sub> (α), 129H), 3.41 (PEG-OMe, 93H), 3.45-4.18 (PEG-OCH <sub>2</sub> , 5432H + Lys CH superficial, 32H), 4.18-4.50 (Lys, CH interno, 32H), 7.12-7.64 (9H, BHA).                                                           |
|    | 4 | 137 mg  | Igual que para el lote 1                                                                                                                                                                                                                   |
|    | 5 | 1.19 g  | 1.02-2.16 (Lys CH <sub>2</sub> (β,χ,δ), 378H), 2.93-3.36 (Lys CH <sub>2</sub> (α), 129H), 3.41 (PEG-OMe, 101H), 3.45-4.18 (PEG-OCH <sub>2</sub> , 5908H + Lys CH superficial, 32H), 4.18-4.50 (Lys, CH interno, 33H), 7.21-7.54 (9H, BHA). |
| 10 | 6 | 18.98 g | Igual que para el lote 3                                                                                                                                                                                                                   |

### Ejemplo 5: Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-Glu-Compuesto

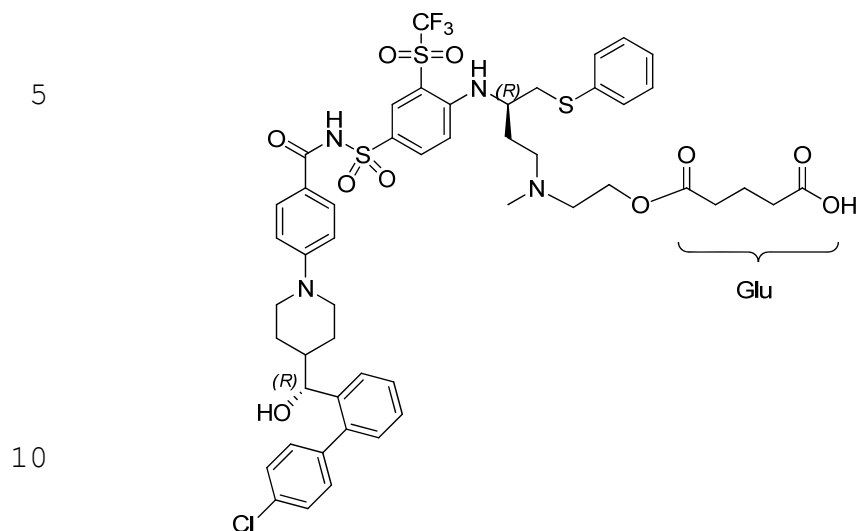
15 **A]<sub>32†</sub>[ε-PEG<sub>2200</sub>]<sub>32†</sub>**

Nota: 32† se refiere al número teórico de grupos α-amino del dendrímero disponibles para su sustitución con Glu-Compuesto A. El número medio real de grupos Glu-Compuesto A unidos a BHALys[Lys]<sub>32</sub> se determinó experimentalmente mediante <sup>1</sup>H RMN (véase el ejemplo 10). 32† se refiere al número teórico de grupos ε-amino disponibles en el dendrímero para su sustitución con PEG-<sub>2200</sub>. El número medio real de grupos

20

PEG<sub>2200</sub> unidos a BHALys[Lys]<sub>32</sub> se determinó experimentalmente mediante <sup>1</sup>H RMN (véase el ejemplo 4, lote 1).

*Preparación de Glu-Compuesto A*



A una suspensión agitada magnéticamente de Compuesto A (200 mg, 0.21 mmol) en DCM (10 ml) a temperatura ambiente se le añadió anhídrido glutárico (29 mg, 0.25 mmol), DMAP (26 mg, 0.21 mmol) y DIPEA (93  $\mu$ l, 0.53 mmol). La suspensión se disolvió rápidamente y se dejó la mezcla en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió anhídrido glutárico adicional a lo largo de las 24 horas siguientes hasta que se consideró que la reacción estaba completa a >80% mediante HPLC. Después, se retiraron los volátiles al vacío y el residuo se purificó por HPLC preparativa (BEH 300 Waters XBridge C18, 5  $\mu$ M, 30 x 150 mm, ACN/agua al 60-80% (5-40 min), TFA al 0.1%, TR = 22 min) proporcionando 117 mg (52%) de

15

20

producto en forma de un sólido de color blanco. LCMS (C18, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 50-60% (1-10 min), ACN al 60% (10-11 min), ACN al 60-50% (11-13 min), ACN al 50% (13-15 min), ácido fórmico al 0.1%, 0.4 ml/min, Rf (min) = 6.30. ESI (+ve) observada  $[M + H]^+ = 1059$ . Calculada para C<sub>50</sub>H<sub>54</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>S<sub>3</sub> = 1058.26 Da. <sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 0.65-1.40 (m, 4H), 1.70-2.30 (m, 6H), 2.34 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.42 (t, J = 7.5Hz, 2H), 2.65 (t, J = 12.3 Hz, 1H), 2.79 (t, J = 12.6 Hz, 1H), 2.91 (s, 3H), 3.14-3.29 (m, 2H), 3.33-3.38 (m, 3H), 3.38-3.52 (m, 3H), 3.71 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 3.89 (d, J = 12.9Hz, 1H), 4.10 (m, 1H), 4.34-4.48 (m, 3H), 6.80-6.96 (m, 3H), 7.01 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.09-7.24 (m, 4H), 7.26-7.46 (m, 8H), 7.61 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 8.07 (dd, J = 9.3, 2.1Hz, 1H), 8.31 (d, J = 3.0 Hz, 1H).

*Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -Glu-Compuesto A]<sub>31</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>2200</sub>]<sub>29</sub>*



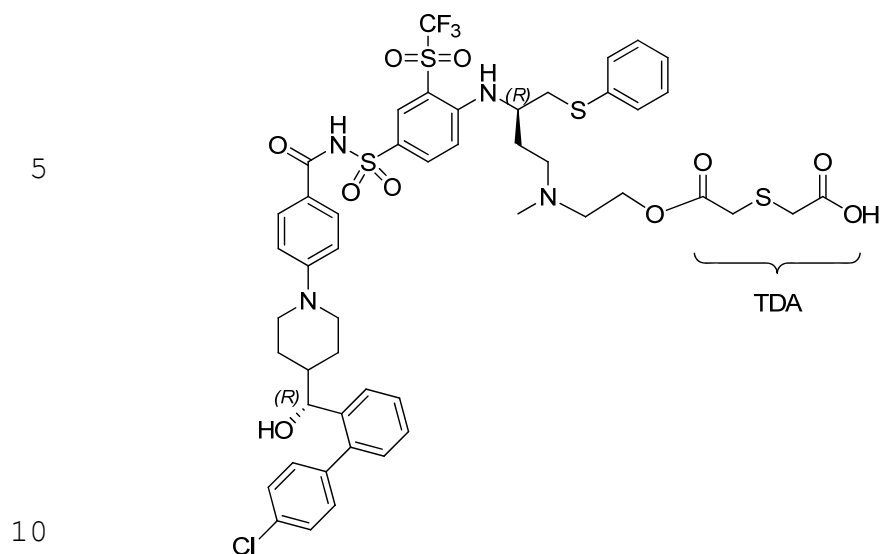
A una mezcla agitada magnéticamente de Compuesto A-Glu (67 mg, 63  $\mu$ mol) y PyBOP (33 mg, 63.3  $\mu$ mol) en DMF (1 ml) a temperatura ambiente se le añadió una mezcla de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>2200</sub>]<sub>29</sub> (99 mg, 1.32  $\mu$ mol, lote 1 del ejemplo 4) y NMM (23  $\mu$ l, 0.21 mmol), también en DMF (2 ml). Después de 16 horas a temperatura ambiente, se retiraron los volátiles y el residuo se purificó por cromatografía de exclusión por tamaños (sephadex, LH20, MeOH). Las fracciones adecuadas, según se juzgó por la HPLC, se combinaron y concentraron. Después, se recogió el residuo en agua, se filtró (0.22  $\mu$ m) y se liofilizó, proporcionando 101 mg (73%)

del material deseado en forma de un sólido de color rosa pálido. HPLC (C8 Xbridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 42-50%) (1-7 min), ACN al 50-80% (7-8 min), ACN al 80% (8-11 min), ACN al 80-42% (11-12 min), ACN al 42% (12-15 min), 214 nm, formiato de amonio 10 mM) R<sub>f</sub> (min) = 10.18. <sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 0.65-2.08 (m, 585H), 2.10-2.50 (m, 144H), 2.50-2.80 (m, 71H), 2.82-3.02 (m, 80H), 3.04-3.27 (m, 137H), 3.35 (s, 108H), 3.40-4.06 (m, 5824H), 4.08-4.62 (m, 181H), 6.54-8.40 (m, 632H).

**Ejemplo 6: Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-TDA-Compuesto A]<sub>32†</sub>[ε-PEG<sub>2100, 2200</sub>]<sub>32‡</sub>**

Nota: 32† se refiere al número teórico de grupos α-amino del dendrímero disponibles para su sustitución con TDA-Compuesto A. El número medio real de grupos TDA-Compuesto A unidos a BHALys[Lys]<sub>32</sub> se determinó experimentalmente mediante <sup>1</sup>H RMN (véase el ejemplo 10). 32‡ se refiere al número teórico de grupos ε-amino disponibles en el dendrímero para su sustitución con PEG<sub>2100, 2200</sub>. El número medio real de grupos PEG<sub>2100, 2200</sub> unidos a BHALys[Lys]<sub>32</sub> se determinó experimentalmente mediante <sup>1</sup>H RMN (véase el ejemplo 4, lote 2 y lote 3).

*Preparación de TDA-Compuesto A*



A una suspensión agitada magnéticamente de Compuesto A (70 mg, 74.1  $\mu\text{mol}$ ) en DCM (5 ml) a temperatura ambiente se le añadió anhídrido tiodiglicólico (TDA, 10 mg, 74.1  $\mu\text{mol}$ ) y DIPEA (33  $\mu\text{l}$ , 185  $\mu\text{mol}$ ). La suspensión se disolvió

15

rápidamente y se dejó la mezcla en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió anhídrido tiodiglicólico adicional a lo largo de las 24 horas siguientes hasta que se consideró que la reacción estaba completa a >80% mediante HPLC. Después, se retiraron los

20

volátiles al vacío y el residuo se purificó por HPLC preparativa (BEH 300 Waters XBridge C18, 5  $\mu\text{M}$ , 30 x 150 mm, ACN/agua al 60-80% (5-40 min), TFA al 0.1%, TR = 22 min) proporcionando 63 mg (70%) de producto en forma de un sólido

de color blanco. LCMS (C18, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 50-60% (1-10 min), ACN al 60% (10-11 min), ACN al 60-50% (11-13 min), ACN al 50% (13-15 min), ácido fórmico al 0.1%, 0.4 ml/min, Rf (min) = 7.33. ESI (+ve) observada [M + H]<sup>+</sup> = 1077. Calculada para C<sub>49</sub>H<sub>52</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>10</sub>S<sub>4</sub> = 1076.22 Da. <sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 0.87-1.04 (m, 1H), 1.08-1.36 (m, 3H), 1.71-1.90 (m, 1H), 1.96-2.40 (m, 3H), 2.64 (t, J = 12.0 Hz, 1H), 2.77 (t, J = 12.6 Hz, 1H), 2.94 (s, 3H), 3.18-3.30 (m, 2H), 3.35 (s, 2H), 3.40 (s, 2H), 3.46-3.55 (m, 2H), 3.73 (d, J = 13.5 Hz, 1H), 3.90 (d, J = 12.9Hz, 1H), 4.02-4.15 (m, 1H), 4.40-4.48 (m, 3H), 6.86 (d, J = 9.3Hz, 2H), 6.92 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 9.0Hz, 1H), 7.08-7.46 (m, 13H), 7.61 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.67 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 8.08 (dd, J = 9.3, 2.1Hz, 1H), 8.31 (d, J = 2.1 Hz, 1H).

#### *Método de preparación alternativo*

Se cargaron Compuesto A (25.50g, 2.70 x 10<sup>-2</sup> mol) y TDA (4.81g, 3.64 x 10<sup>-2</sup> mol, 1.35 equiv.) en un vaso de reacción de 3 bocas equipado con una sonda interna de temperatura y un embudo de goteo igualador de presión en atmósfera de N<sub>2</sub>. Se introdujo DCM (255 ml, 10 vol.) y la suspensión resultante se enfrió a -10°C. Se introdujo TEA 0.29 M en DCM (100 ml, 3.77 x 10<sup>-2</sup> mol, 1.4 equiv.) a lo largo de un periodo de 40 minutos, manteniendo la temperatura a -10°C. Los controles de reacción

durante el proceso (IPC) se tomaron cada hora. La reacción se consideró completa cuando el Compuesto A era <10% del área por HPLC (típicamente 4.5 h tras finalizar la adición). La mezcla de reacción se diluyó con DCM (1.66 l, 65 vol.) y se lavó tres veces con solución salina ac. tamponada con fosfato (PBS) (1.02 l, 40 vol.). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre  $\text{MgSO}_4$  (100 g, 5% p/v), proporcionando un sólido de color amarillo pálido tras la concentración al vacío (0.2 bar, 25°C) durante una noche (típicamente 24.5 g, rendimiento del 85%, 86.83% mediante HPLC).

*Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -TDA-Compuesto A]<sub>32</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>2100, 2200</sub>]<sub>32</sub>†*

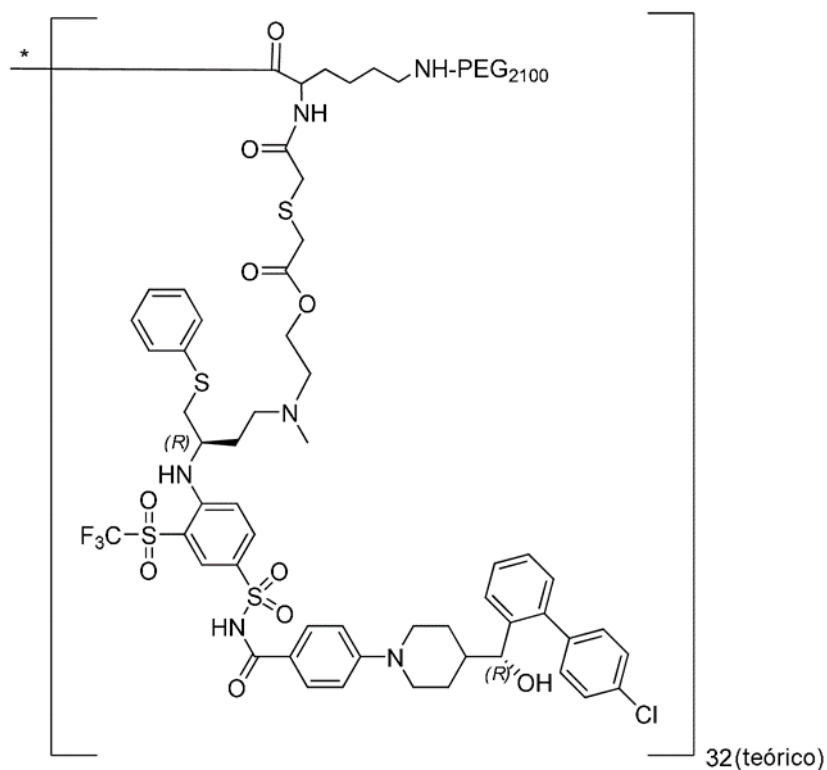
*Método de preparación a pequeña escala*



A una mezcla agitada magnéticamente de Compuesto A-TDA (62 mg, 58  $\mu$ mol) y PyBOP (30 mg, 58  $\mu$ mol) en DMF (1 ml) a temperatura ambiente se le añadió una mezcla de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>2200</sub>]<sub>29</sub> (97 mg, 1.28  $\mu$ mol, lote 2 del ejemplo 4) y NMM (27  $\mu$ l, 0.24 mmol), también en DMF (2 ml). Después de 16 horas a temperatura ambiente, se retiraron los volátiles y el residuo se purificó por cromatografía de exclusión por tamaños (sephadex, LH20, MeOH). Las fracciones adecuadas, según se juzgó por la HPLC, se combinaron y concentraron. Después, se recogió el residuo en agua, se filtró (0.22  $\mu$ m) y se liofilizó, proporcionando 98 mg (72%)

del material deseado en forma de un sólido de color rosa  
pálido. HPLC (C8 Xbridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al  
42-50%) (1-7 min), ACN al 50-80% (7-8 min), ACN al 80% (8-11  
min), ACN al 80-42% (11-12 min), ACN al 42% (12-15 min), 214  
nm, formiato de amonio 10 mM) R<sub>f</sub> (min) = 10.24. <sup>1</sup>H-RMN  
(300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 0.62-2.33 (m, 589H), 2.37-2.69 (m,  
87H), 2.69-2.92 (m, 98H), 2.94-3.27 (m, 202H), 3.35 (s, 113H),  
3.37-4.10 (m, 5781H), 4.10-4.70 (m, 154H), 6.50-8.45 (m,  
661H).

*Método de preparación alternativo (a gran escala)*



\* = BHALys[Lys]16

Se añadió DMF (495 ml, 16.5 vol.) a BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>2100</sub>]<sub>29</sub>, (30.6 g,  $3.82 \times 10^{-4}$  mol, lote 3 del ejemplo 4) y Compuesto A-TDA (19.01 g,  $1.53 \times 10^{-2}$  mol, 40 equiv.) en una atmósfera de N<sub>2</sub>. Se introdujo NMM (8.06 ml,  $7.33 \times 10^{-2}$  mol, 192 equiv.) y se calentó la reacción a 30°C para ayudar en la disolución (aproximadamente 10 minutos). Después, se volvió a enfriar la mezcla a 20°C y se introdujo PyBOP (9.20 g,  $1.68 \times 10^{-2}$  mol., 44 equiv.) en dos porciones iguales. La monitorización de control en proceso reveló que la reacción se había completado tras 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con ACN (495 ml, 16.5 vol.), se filtró a través de un embudo sinterizado y se sometió a 10 diavolúmenes constantes (600 ml, ACN) de ultrafiltración (casete Merck Millipore Pellicon 3, 2 x 0.11 m<sup>2</sup>), manteniendo una presión transmembrana (TMP) de 18 PSI y 48 l/m<sup>2</sup>/hora (LMH). La concentración a presión reducida (45°C, 0.2 bar; durante 30 min.), y el secado a temperatura ambiental durante 16 h adicionales proporcionaron 45.7 g de producto purificado (lote A) en forma de un jarabe de color amarillo oscuro. Este proceso se repitió para producir otros 46.8 g de material (lote B).

Los dos lotes (lotes A y B) se recogieron individualmente en THF (4.7 vol.) y se calentaron a 35-40°C

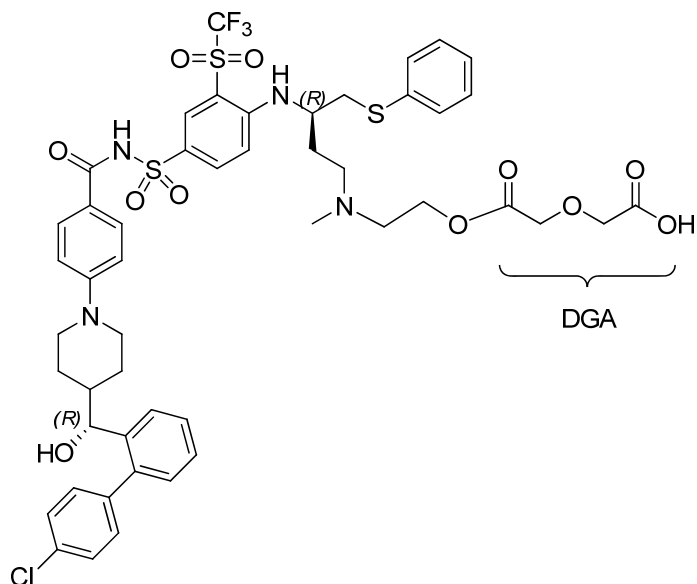
hasta que se completó la disolución (10 min.). A un vaso de fondo separado de 3 bocas, equipado con un termómetro interno, embudo de goteo igualador de la presión y un agitador magnético se le añadió MTBE (1.8 l, 19.5 vol.). Después, se  
5 enfrió el disolvente a 0°C con la ayuda de un baño de hielo externo. Las soluciones de THF combinadas de los lotes A y B se cargaron en el embudo de goteo tras alcanzar la temperatura ambiente y se introdujeron gota a gota en la solución en agitación de MTBE mientras se mantenía la  
10 temperatura a 0°C. En cuanto se observó turbidez, se sembró la reacción con BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-TDA-Compuesto A]<sub>27</sub>[ε-PEG<sub>2200</sub>]<sub>29</sub> sólido (0.95 g, 1% p/p en relación con los lotes A y B de entrada) y se continuó con la adición, que duró 30 minutos. Se dejó que madurase la cristalización durante 60 minutos,  
15 antes de transferirse a un filtro de vacío Buchner (160 mm de diámetro) en atmósfera de N<sub>2</sub> (que duró 15 min.). La torta de filtro se lavó dos veces con 5 vol. de MTBE (300 ml por lavado) y se llevó a sequedad (en atmósfera de N<sub>2</sub>) que duró un total de 30 minutos. La torta de filtro se transfirió a un  
20 horno de vacío, donde el secado se produjo a 40°C, 0.2 bar hasta que se logró una masa constante (24 h), proporcionando 74.8 g de un polvo de color blanco de flujo libre (rendimiento del 105%). HPLC (C8 Phenomenix Aeris, 2.1 x 100

mm, gradiente: ACN al 5% (0-1 min), ACN/H<sub>2</sub>O al 5-45%) (1-2 min), ACN al 45-60% (2-8 min), ACN al 60% (8-10 min), ACN al 60-90% (10-10.1 min), ACN al 90% (10.1-12 min), ACN al 90-5% (12-15 min), ACN al 5% (15-20 min), 272 nm, formiato de amonio 10 mM) R<sub>f</sub> (min) = 14.92. <sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 0.40-2.30 (m, 589H), 2.31-2.79 (m, 154H), 2.81-3.29 (m, 263H), 3.35 (s, 116H), 3.36-4.10 (m, 5924H), 4.13-4.62 (m, 151H), 6.28-8.52 (m, 622H). <sup>19</sup>F-RMN (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: -106.9 ppm (3.81 mg, FBA, integración ajustada a 100), -79.0 ppm (21.4 mg de dendrímero, 62.80). Esto proporciona 5.36 mg de Compuesto A (o una carga del 25.1%).

**Ejemplo 7: Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-DGA-Compuesto A]<sub>32†</sub>[ε-PEG<sub>2200</sub>]<sub>32‡</sub>**

Nota: 32† se refiere al número teórico de grupos α-amino disponibles para su sustitución con DGA-Compuesto A. El número medio real de grupos DGA-Compuesto A unidos al BHALys[Lys]<sub>32</sub> se determinó experimentalmente mediante <sup>1</sup>H RMN (véase el ejemplo 10). 32‡ se refiere al número teórico máximo de grupos ε-amino disponibles para su sustitución con PEG<sub>2200</sub>. El número medio real de grupos PEG<sub>2200</sub> unidos al BHALys[Lys]<sub>32</sub> se determinó experimentalmente mediante <sup>1</sup>H RMN (véase el ejemplo 4, lote 4).

*Preparación de DGA-Compuesto A*



A una suspensión agitada magnéticamente de Compuesto A (77 mg, 81.5  $\mu$ mol) en DCM (5 ml) a temperatura ambiente se le añadió anhídrido diglicólico (9.6 mg, 81.5  $\mu$ mol) y DIPEA (36  $\mu$ l, 200  $\mu$ mol). La suspensión se disolvió rápidamente y se dejó la mezcla en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió anhídrido diglicólico adicional a lo largo de las 24 horas siguientes hasta que se consideró que la reacción estaba completa a >80% mediante HPLC. Después, se retiraron los volátiles al vacío y el residuo se purificó por HPLC preparativa (BEH 300 Waters XBridge C18, 5  $\mu$ M, 30 x 150 mm, ACN/agua al 60-80% (5-40 min), TFA al 0.1%, TR = 22 min) proporcionando 76 mg (87%) de producto en forma de un sólido de color blanco. LCMS (C18, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 50-60% (1-10 min), ACN al 60% (10-11 min), ACN al 60-50% (11-13 min),

ACN al 50% (13-15 min), ácido fórmico al 0.1%, 0.4 ml/min, Rf  
(min) = 5.93. ESI (+ve) observada  $[M + H]^+ = 1061$ . Calculada  
para  $C_{49}H_{52}ClF_3N_4O_{11}S_3 = 1060.24$  Da.  $^1H$ -RMN (300MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$   
(ppm): 0.86-1.04 (m, 1H), 1.08-1.32 (m, 2H), 1.70-1.90 (m,  
5 1H), 1.97-2.08 (m, 1H), 2.08-2.20 (m, 1H), 2.22-2.38 (m, 1H),  
2.65 (t,  $J = 12.3$  Hz, 1H), 2.77 (t,  $J = 12.6$  Hz, 1H), 2.92 (s,  
3H), 3.15-3.29 (m, 2H), 3.36-3.42 (m, 2H), 3.46-3.54 (m, 2H),  
3.73 (d,  $J = 12.6$  Hz, 1H), 3.90 (d,  $J = 11.7$ Hz, 1H), 3.99-  
4.15 (m, 1H), 4.20 (s, 2H), 4.28 (s, 2H), 4.42 (j,  $J = 8.1$  Hz,  
10 1H), 4.45-4.54 (m, 2H), 6.86 (d,  $J = 9.3$ Hz, 2H), 6.92 (d,  $J =$   
9.6 Hz, 1H), 7.01 (d,  $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.10-7.26 (m, 4H),  
7.26-7.47 (m, 7H), 7.59 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.67 (d,  $J = 9.0$   
Hz, 2H), 8.08 (dd,  $J = 9.0, 2.1$ Hz, 1H), 8.31 (d,  $J = 2.1$  Hz,  
1H).

15 *Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -DGA-Compuesto A]<sub>32+</sub>[ $\epsilon$ -  
PEG<sub>2200</sub>]<sub>32+</sub>*



A una mezcla agitada magnéticamente de Compuesto A-DGA (76 mg, 72  $\mu\text{mol}$ ) y PyBOP (37 mg, 72  $\mu\text{mol}$ ) en DMF (1 ml) a temperatura ambiente se le añadió una mezcla de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>2200</sub>]<sub>29</sub> (112 mg, 1.49  $\mu\text{mol}$ , lote 4 del ejemplo 4) y NMM (31  $\mu\text{l}$ , 0.29 mmol), también en DMF (2 ml). Después de 16 horas a temperatura ambiente, se retiraron los volátiles y el residuo se purificó por cromatografía de exclusión por tamaños (sephadex, LH20, MeOH). Las fracciones adecuadas, según se juzgó por la HPLC, se combinaron y concentraron. Después, se recogió el residuo en agua, se filtró (0.22  $\mu\text{m}$ ) y se liofilizó, proporcionando 137 mg (88%)

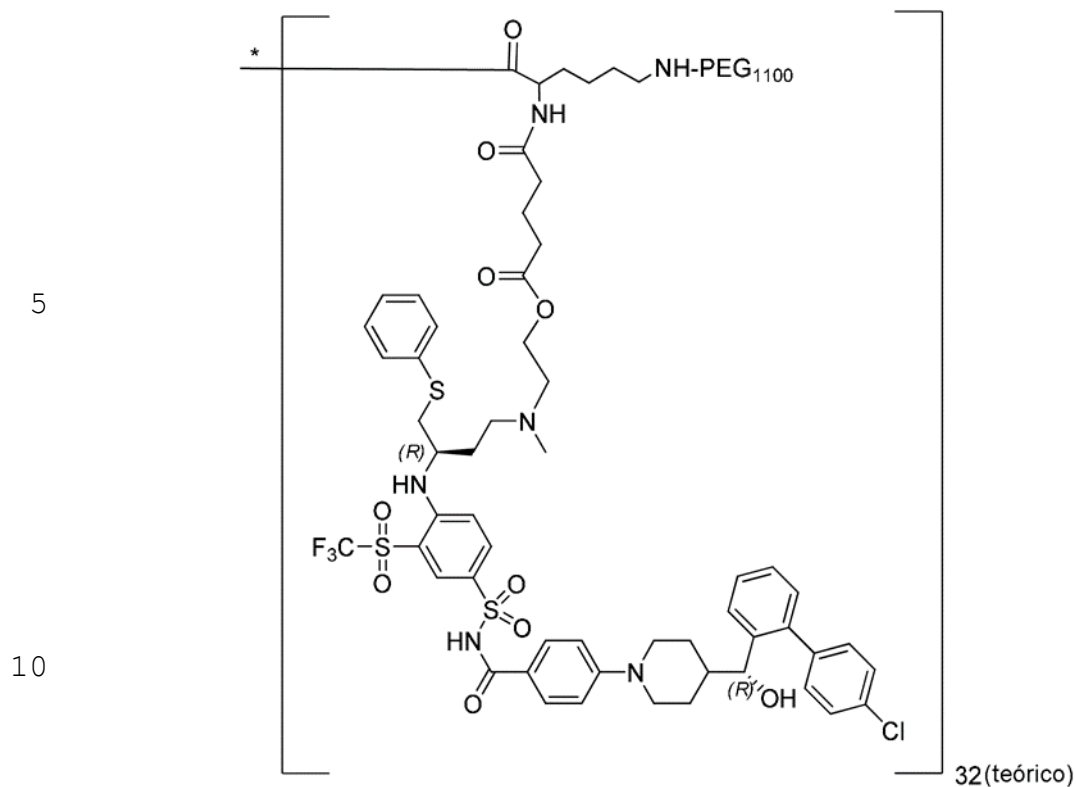
del material deseado en forma de un sólido de color rosa pálido. HPLC (C8 Xbridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 42-50%) (1-7 min), ACN al 50-80% (7-8 min), ACN al 80% (8-11 min), ACN al 80-42% (11-12 min), ACN al 42% (12-15 min), 214 nm, formiato de amonio 10 mM) R<sub>f</sub> (min) = 10.23. <sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  (ppm): 0.58-2.26 (m, 834H), 2.28-2.72 (m, 154H), 2.74-3.28 (m, 245H), 3.35 (s, 101H), 3.37-4.02 (m, 5824H), 4.04-4.68 (m, 272H), 6.46-8.54 (m, 652H).

**Ejemplo 8: Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -Glu-Compuesto**

**A]<sub>32†</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>1100</sub>]<sub>32†</sub>**

Nota: 32† se refiere al número teórico de grupos  $\alpha$ -amino en el dendrímero disponibles para su sustitución con Glu-Compuesto A. 32† se refiere al número teórico máximo de grupos  $\epsilon$ -amino disponibles para su sustitución con PEG<sub>1100</sub>.

*Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -Glu-Compuesto A]<sub>32†</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>1100</sub>]<sub>32†</sub>*



\* = BHALys[Lys]16

15 A una mezcla agitada magnéticamente de Compuesto A-Glu (57 mg, 54  $\mu\text{mol}$ ) y PyBOP (28 mg, 54  $\mu\text{mol}$ ) en DMF (1 ml) a temperatura ambiente se le añadió una mezcla de

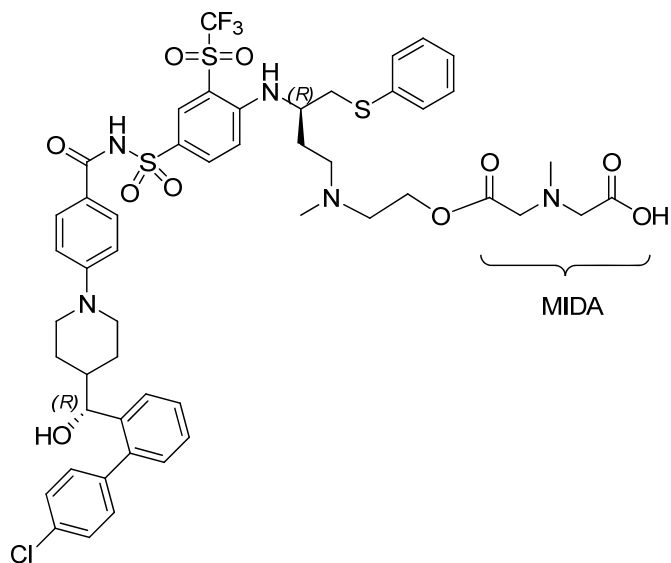
20 BHALys[Lys]<sub>32</sub>[ $\alpha$ -NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ $\epsilon$ -PEG<sub>1100</sub>]<sub>32</sub># (57 mg, 1.20  $\mu\text{mol}$ ) y NMM (25  $\mu\text{l}$ , 0.23 mmol), también en DMF (2 ml). Después de 16 horas a temperatura ambiente, se retiraron los volátiles y el residuo se purificó por cromatografía de exclusión por tamaños (sephadex, LH20, ACN). Las fracciones adecuadas, según se juzgó por la HPLC, se combinaron y concentraron. Después, se recogió el residuo en agua, se filtró (0.22  $\mu\text{m}$ ) y

se liofilizó, proporcionando 72 mg (78%) del material deseado en forma de un sólido de color rosa pálido. HPLC (C8 Xbridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 42-50%) (1-7 min), ACN al 50-80% (7-8 min), ACN al 80% (8-11 min), ACN al 80-42% (11-12 min), ACN al 42% (12-15 min), 214 nm, formiato de amonio 10 mM) R<sub>f</sub> (min) = 10.40. <sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 0.60-2.08 (m, 632H), 2.10-2.35 (m, 127H), 2.36-2.53 (m, 114H), 2.54-2.78 (m, 117H), 2.82-3.27 (m, 254H), 3.34 (s, 102H), 3.37-3.89 (m, 3226H), 3.90-4.58 (m, 185H), 6.36-8.52 (m, 654H).

**Ejemplo 9: Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-MIDA-Compuesto A]<sub>32†</sub>[ε-PEG<sub>2100</sub>]<sub>32‡</sub>**

Nota: 32† se refiere al número teórico de grupos α-amino del dendrímero disponibles para su sustitución con MIDA-Compuesto A. El número medio real de grupos MIDA-Compuesto A unidos a BHALys[Lys]<sub>32</sub> se determinó experimentalmente mediante <sup>19</sup>F RMN (véase el ejemplo 10). 32‡ se refiere al número teórico de grupos ε-amino disponibles en el dendrímero para su sustitución con PEG<sub>2100</sub>. El número medio real de grupos PEG<sub>2100</sub> unidos a BHALys[Lys]<sub>32</sub> se determinó experimentalmente mediante <sup>1</sup>H RMN (véase el ejemplo 4, lote 5 y 6).

*Preparación de MIDA-Compuesto A*



10 A una suspensión agitada magnéticamente de Compuesto A  
(200 mg, 0.21 mmol) en DCM (5 ml) a temperatura ambiente se  
le añadió DIPEA (24  $\mu$ l, 0.14 mmol), NMM (72  $\mu$ l, 0.66 mmol) y  
4-metilmorfolin-2,6-diona (33 mg, 0.26 mmol). La suspensión  
se disolvió rápidamente y se dejó la mezcla en agitación a  
temperatura ambiente durante una noche. Se añadió 4-  
15 metilmorfolin-2,6-diona adicional a lo largo de las 24 horas  
siguientes hasta que se consideró que la reacción estaba  
completa a >80% mediante HPLC. Después, se retiraron los  
volátiles al vacío y el residuo se purificó por HPLC  
preparativa (BEH 300 Waters XBridge C18, 5  $\mu$ m, 30 x 150 mm,  
20 ACN/agua al 50-70% (5-40 min), TFA al 0.1%, TR = 23 min)  
proporcionando 190 mg (84%) de producto en forma de un sólido  
de color blanco. LCMS (C18, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 50-60% (1-  
10 min), ACN al 60% (10-11 min), ACN al 60-50% (11-13 min),

ACN al 50% (13-15 min), ácido fórmico al 0.1%, 0.4 ml/min, Rf (min) = 2.55. ESI (+ve) observada  $[M + H]^+ = 1074$ . Calculada para  $C_{50}H_{55}ClF_3N_5O_{10}S_3 = 1073.28$  Da.  $^1H$ -RMN (300MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  (ppm): 0.86-1.07 (m, 1H), 1.08-1.37 (m, 2H), 1.72-1.88 (m, 1H), 1.96-2.09 (m, 1H), 2.10-2.24 (m, 1H), 2.24-2.38 (m, 1H), 2.66 (t, J = 12.3 Hz, 1H), 2.79 (t, J = 12.6 Hz, 1H), 2.92 (s, 3H), 3.00 (s, 3H), 3.14-3.28 (m, 2H), 3.33-3.43 (m, 2H), 3.47-3.57 (m, 2H), 3.72 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.89 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 4.03-4.15 (m, 1H), 4.06 (s, 2H), 4.19 (s, 2H), 4.43 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.54-4.64 (m, 2H), 6.88 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.93 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.09-7.25 (m, 4H), 7.26-7.47 (m, 8H), 7.61 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 8.07 (dd, J = 9.3, 2.1 Hz, 1H), 8.31 (d, J = 2.1 Hz, 1H).

#### *Método de preparación alternativo*

Se cargaron Compuesto A (28.00 g,  $2.96 \times 10^{-2}$  mol) y 4-metilmorfolin-2,6-diona (7.24 g,  $5.33 \times 10^{-2}$  mol, 1.80 equiv.) en un vaso de reacción de 3 bocas con una sonda interna de temperatura y un embudo de goteo igualador de presión en atmósfera de  $N_2$ . Se introdujo DCM (250 ml, 9 vol.) y la suspensión resultante se enfrió a 0 °C. Se añadió TEA (6.25 ml,  $4.44 \times 10^{-2}$  mol., 1.5 equiv.) en DCM (50 ml, 1.8 vol.) gota a gota durante un periodo de 10 minutos mientras se

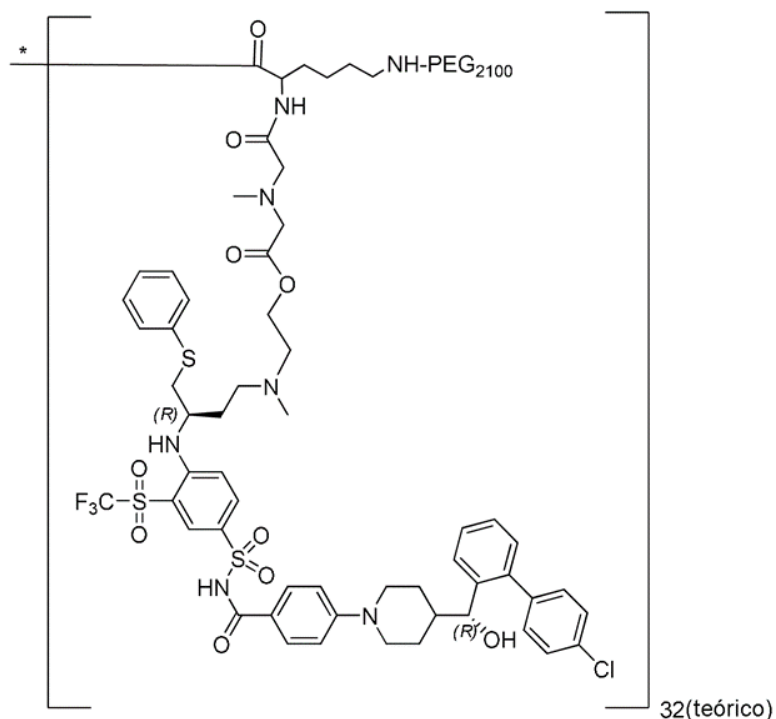
mantenía la temperatura a 0 °C. Se tomaron cada hora  
controles de reacción en proceso. La reacción se consideró  
completa cuando el Compuesto A era <10% por área del pico  
(típicamente 4.5 h tras finalizar la adición). La mezcla de  
5 reacción se diluyó con DCM (1.40 l, 50 vol.) y se lavó dos  
veces con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ac. 1.6 M (1.60 l, 50 vol.). La capa orgánica  
se secó sobre MgSO<sub>4</sub> (90 g, 5% p/v), se filtró a través de un  
embudo de vidrio sinterizado y se lavó con DCM (100 ml, 5  
vol.) proporcionando un sólido de color blanquecino tras  
10 concentrarse al vacío (0.2 bar, 30°C) (33.07 g, rendimiento  
del 95%, 90.6% mediante HPLC).

*Preparación de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-MIDA-Compuesto A]<sub>32</sub>[ε-  
PEG2100]<sub>32</sub>*

*Método de preparación a pequeña escala*

15

20


$$* = \text{BHALys}[\text{Lys}]16$$

15

20

A una mezcla agitada magnéticamente de Compuesto A-MIDA (730 mg, 0.68 mmol) y PyBOP (353 mg, 0.68 mmol) en DMF (10 ml) a temperatura ambiente se le añadió una mezcla de BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ε-PEG<sub>2100</sub>]<sub>31</sub> (934 mg, 12.1 μmol, lote 5 del ejemplo 4) y NMM (255 μl, 2.32 mmol), también en DMF (10 ml). Después de 16 horas a temperatura ambiente, se retiraron los volátiles y el residuo se purificó por cromatografía de exclusión por tamaños (sephadex, LH20, ACN). Las fracciones adecuadas, según se juzgó por la HPLC, se combinaron y concentraron. Después, se recogió el residuo en agua, se filtró (0.22 μm) y se liofilizó, proporcionando 1.19 g (92%)

del material deseado en forma de un sólido de color rosa pálido. HPLC (C8 Xbridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 42-50%) (1-7 min), ACN al 50-80% (7-8 min), ACN al 80% (8-11 min), ACN al 80-42% (11-12 min), ACN al 42% (12-15 min), 214 nm, formiato de amonio 10 mM) R<sub>f</sub> (min) = 10.80. <sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 0.45-1.92 (m, 565H), 2.08-2.78 (m, 228H), 2.79-3.00 (m, 96H), 3.01-3.28 (m, 180H), 3.35 (s, 180H), 3.46-4.20 (m, 6164H), 4.20-4.68 (m, 139H), 6.40-8.52 (m, 680H).

*Método de preparación alternativo (a gran escala)*

Se añadió DMF (225 ml, 16.5 vol.) a BHALys[Lys]<sub>32</sub>[α-NH<sub>2</sub>TFA]<sub>32</sub>[ε-PEG<sub>2100</sub>]<sub>29</sub>, (13.49 g, 1.72 x 10<sup>-4</sup> mol, lote 6 del ejemplo 4) y Compuesto A-MIDA (8.50 g, 6.87 x 10<sup>-3</sup> mol, 40.2 equiv.) en una atmósfera de N<sub>2</sub>. Se introdujo NMM (3.60 ml, 3.30 x 10<sup>-2</sup> mol, 192 equiv.) y se calentó la mezcla de reacción a 30-35°C para ayudar en la disolución (aproximadamente 5 minutos). Después, se volvió a enfriar la mezcla a 20°C y se introdujo PyBOP (4.13 g, 7.56 x 10<sup>-3</sup> mol, 44 equiv.) en dos porciones iguales. La monitorización de control en proceso reveló que la reacción se había completado tras 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con ACN (225 ml, 16.5 volúmenes), se filtró a través de un embudo sinterizado y se sometió a 16 diavolúmenes constantes (200 ml, ACN) de

ultrafiltración (casete Merck Millipore Pellicon 3 de 0.11 m<sup>2</sup>, 10kDa), manteniendo una presión transmembrana (TMP) de 25 PSI y 44 l/m<sup>2</sup>/hora (LMH). La concentración a presión reducida (40°C, 0.2 bar; 60 minutos) y el secado a temperatura ambiente durante 16 h más proporcionó 23.5 g de material purificado en forma de un jarabe de color naranja claro. El jarabe se disolvió en THF (235 ml, 10 volúmenes) a 35-40°C (10 minutos) y se filtró a través de una membrana de PTFE de 47 mm, 0.45 micrómetros (Merck-Millipore Omnipore). El filtrado se concentró a la mitad de su volumen original (100 ml, 4.3 volúmenes) y se cargó en un embudo de goteo igualador de la presión tras volver a la temperatura ambiente.

Se añadió MTBE (400 ml, 19.5 volúmenes) en un RBF de 3 bocas equipado con una sonda de temperatura interna y se enfrió a 0°C con la ayuda de un baño de hielo externo en una atmósfera de N<sub>2</sub>. Tras alcanzar los 0°C, se comenzó la adición del dendrímero, que duró 15 minutos (temperatura interna máxima de 5°C), mientras que se continuó con la agitación durante 45 minutos (a 0-5°C) para permitir la maduración del precipitado. La transferencia de la mezcla resultante a un filtro de vacío Buchner (160 mm de diámetro) en atmósfera de N<sub>2</sub>, proporcionó la primera torta húmeda en 15 minutos. La torta de filtro se lavó dos veces con 5 vol. de MTBE (100 ml

por lavado) y se llevó a sequedad (en atmósfera de N<sub>2</sub>) que duró un total de 15 minutos. La torta de filtro se transfirió a un horno de vacío, donde el secado se produjo a (25°C, 0.2 bar) hasta que se logró una masa constante (48 h), proporcionando 18.98 g de un polvo de color blanco de flujo libre (rendimiento del 102%). HPLC (C8 Phenomenix Aeris, 2.1 x 100 mm, gradiente: ACN al 5% (0-1 min), ACN/H<sub>2</sub>O al 5-45%) (1-2 min), ACN al 45-60% (2-8 min), ACN al 60% (8-10 min), ACN al 60-90% (10-10.1 min), ACN al 90% (10.1-12 min), ACN al 90-5% (12-15 min), ACN al 5% (15-20 min), 272 nm, formiato de amonio 10 mM) R<sub>f</sub> (min) = 14.94. <sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 0.31-2.84 (m, 953H), 2.86-3.27 (m, 211H), 3.35 (s, 109H), 3.37-4.23 (m, 5734H), 4.24-4.64 (m, 95H), 6.26-8.41 (m, 632H). <sup>19</sup>F-RMN (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: -107.1 ppm (3.64 mg, FBA, integración ajustada a 100), -79.1 ppm (31.2 mg de dendrímero, 108.82). Esto proporciona 8.91 mg de Compuesto A (o una carga del 28.6%).

**Ejemplo 10: Carga de fármaco de Compuesto A de los dendrímeros**

La carga de fármaco de Compuesto A en los dendrímeros preparados en los ejemplos 5-9 anteriores se determinó mediante RMN.

% de carga de Compuesto A mediante  $^1\text{H}$  RMN: La carga de Compuesto A se estimó mediante integración de la región aromática (6.5-8.5 ppm), que era representativa del Compuesto A, en comparación con la región de PEG (3.4-4.2 ppm) que es representativa del armazón del dendrímero. En el ejemplo 5  
5  
mostrado en la tabla a continuación, el número teórico de protones para 32 grupos de Compuesto A, más el BHA residual del dendrímero es de 650H. Solo se observaron 631H, lo que indica que solo el 97% o 31 de los 32 sitios estaban ocupados  
10  
por moléculas de Compuesto A. Después, se calculó el % de Compuesto A multiplicando el PM (Compuesto A) por 31, después dividiendo entre el PM total de la construcción, es decir, carga de Compuesto A =  $(945 \times 31)/104,500 = 0.28$  (o 28%).

% de carga de Compuesto A mediante  $^{19}\text{F}$  RMN: Las cargas de  
15  
Compuesto A se calcularon llevando a cabo una  $^{19}\text{F}$  RMN del conjugado usando un patrón interno (ácido 4-fluorobenzoico, FBA). Un experimento se llevaría a cabo típicamente pesando de manera precisa una masa conocida de dendrímero y FBA en un solo vial. Después, esto se recogería en DMSO, se sometería a  
20  
ultrasonidos (2 min) y después se analizaría por RMN (100 escaneos, tiempo de retraso de 30 s). Después, se integrarían los picos de FBA y dendrímero u se calcula el % de Compuesto

A usando las relaciones molares (relación molar de 3:1 de Compuesto (3F) a FBA (1F)).

**Tabla 8. Porcentaje de carga de Compuesto A en dendrímero de Lys**

|    |                |                         |                                 |                  |                                          |
|----|----------------|-------------------------|---------------------------------|------------------|------------------------------------------|
| 5  | <b>Ejemplo</b> | <b>Escala</b>           | <b>Carga de Compuesto A (%)</b> | <b>PM* (kDa)</b> | <b>n.º de Compuesto A por dendrímero</b> |
|    | 5              | 101 mg                  | 28.2 ( <sup>1</sup> H RMN)      | 104.5            | 31                                       |
| 10 | 6              | Pequeña escala (98 mg)  | 28.6 ( <sup>1</sup> H RMN)      | 106.0            | 32                                       |
|    |                | Gran escala (74.8 g)    | 25.1 ( <sup>19</sup> F RMN)     | 96.2             | 27                                       |
| 15 | 7              | 137 mg                  | 28.8 ( <sup>1</sup> H RMN)      | 105.6            | 32                                       |
|    | 9              | Pequeña escala (1.19 g) | 23.6 ( <sup>19</sup> F RMN)     | 99.7             | 25                                       |
| 20 |                | Gran escala (18.98 g)   | 28.6 ( <sup>19</sup> F RMN)     | 101.6            | 31                                       |

\* El peso molecular total puede estimarse usando el PM estimado del armazón de dendrímero, el PM de Compuesto A-

enlazador y el % de carga de Compuesto A a partir de la RMN, es decir, por

Ejemplo:  $PM = PM \text{ del armaz3n de dendr3mero} - 32 \text{ (PM de TFA)} / (100 - \% \text{ de carga de Compuesto A } ((Mr \text{ de Compuesto A-enlazador} - \text{agua}) / Mr \text{ de Compuesto A})) / 100$

$$= \frac{75700 - 3648}{100}$$

$$(100 - 28.2((1058 - 18)/945))/100$$

$$= \frac{72052}{100}$$

$$(100 - 28.2(1.10))/100$$

$$= \frac{72052}{100}$$

$$0.6898$$

$$= \sim 104.5 \text{ kDa}$$

**Ejemplo 11: Estudio de liberaci3n *in vitro* de dendr3meros (pH 7.4 en PBS, DMA al 10%)**

**Protocolo:**

1. Preparaci3n del tamp3n de PBS - el PBS se prepar3 disolviendo 1 comprimido de PBS (Sigma, P4417) en 200 ml de agua desionizada, proporcionando tamp3n fosfato 0.01 M, cloruro de potasio 0.0027 M y cloruro de sodio 0.137 M a pH 7.4, 37°C.

2. Se prepara una mezcla de PBS/DMA a 9:1 v/v diluyendo 9 ml de tamp3n PBS con 1 ml de DMA.

3. Se preparan soluciones de dendrímero a razón de 1 mg/ml en la mezcla de PBS/DMA en viales de HPLC de 2 ml.

4. Se controla la liberación de Compuesto A a temperatura ambiente mediante HPLC a intervalos de 2 horas.

5 Método HPLC (C8 Xbridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 42-50%) (1-7 min), ACN al 50-80% (7-8 min), ACN al 80% (8-11 min), ACN al 80-42% (11-12 min), ACN al 42% (12-15 min), 243 nm, formiato de amonio 10 mM).

**Tabla 9a. Porcentaje de Compuesto A liberado (ejemplos 5-8)**

| tiempo<br>(h) | % de Compuesto A liberado*                         |                                                    |                                                    |                                                    |
|---------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
|               | DGA<br>PEG <sub>2200</sub><br><b>Ejemplo<br/>7</b> | TDA<br>PEG <sub>2100</sub><br><b>Ejemplo<br/>6</b> | Glu<br>PEG <sub>2200</sub><br><b>Ejemplo<br/>5</b> | Glu<br>PEG <sub>1100</sub><br><b>Ejemplo<br/>8</b> |
| 0             | 0                                                  | 0                                                  | 0                                                  | 0                                                  |
| 0.5           | 10.1                                               | 5.2                                                | 0.43                                               | 0.44                                               |
| 2.5           | 62.7                                               | 24.8                                               | 2.65                                               | 1.86                                               |
| 4.5           | 80                                                 | 39.5                                               | 4.38                                               | 2.96                                               |
| 6.5           | 81                                                 | 50                                                 | 5.96                                               | 4.35                                               |

\*Según se juzga comparando el área bajo los picos para el Compuesto A (8.6 min) frente al área bajo el pico del dendrímero (10.8 min) mediante HPLC.

**Tabla 9b. Porcentaje de Compuesto A liberado (ejemplo 9)**

|            | % de Compuesto A liberado*,#                 |
|------------|----------------------------------------------|
| tiempo (h) | MIDA PEG <sub>2100</sub><br><b>Ejemplo 9</b> |
| 0          | 1.43                                         |
| 2          | 10.59                                        |
| 4          | 17.54                                        |
| 6          | 23.71                                        |

\*Según se juzga comparando el área bajo los picos para el Compuesto A (8.6 min) frente al área bajo el pico del dendrímero (10.8 min) mediante HPLC. # El ejemplo 9 se analizó como un experimento separado.

**Ejemplo 12: Estudio de liberación *in vitro* de dendrímeros (pH 4.5 en ácido cítrico 0.1M)**

**Protocolo:**

1. Se preparó una solución de ácido cítrico 0.1 M (7.68 g de ácido cítrico y se diluyó a 400 ml con agua desionizada) y se ajustó el pH a 4.5.

2. Se prepararon las soluciones de dendrímero a 1 mg/ml en solución de ácido cítrico en viales de HPLC de 2 ml.

3. Se controla la liberación de Compuesto A a temperatura ambiente mediante HPLC a diversos intervalos de tiempo.

Método HPLC (C8 Xbridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 42-50%) (1-7 min), ACN al 50-80% (7-8 min), ACN al 80% (8-11 min), ACN al 80-42% (11-12 min), ACN al 42% (12-15 min), 214 nm, formiato de amonio 10 mM).

5           **Tabla 10a. Porcentaje de Compuesto A liberado (ejemplos 5-8)**

|            |  | % de Compuesto A liberado* |                         |                         |
|------------|--|----------------------------|-------------------------|-------------------------|
|            |  | DGA PEG <sub>2200</sub>    | TDA PEG <sub>2100</sub> | Glu PEG <sub>2200</sub> |
| tiempo (d) |  | <b>Ejemplo 7</b>           | <b>Ejemplo 6</b>        | <b>Ejemplo 5</b>        |
| 0          |  | 0                          | 0                       | 0                       |
| 0.1        |  | 4.2                        | 1.3                     | 0.2                     |
| 0.75       |  | 17.5                       | 5.5                     | 0.4                     |
| 1.75       |  | 32.5                       | 10.5                    | 1.2                     |
| 7          |  | 63                         | 30                      | 3.6                     |

15           \*Según se juzga comparando el área bajo los picos para el Compuesto A (8.6 min) frente al área bajo el pico de la macromolécula (10.8 min) mediante HPLC.

**Tabla 10b. Porcentaje de Compuesto A liberado (ejemplo 9)**

|            |  | % de Compuesto A liberado*            |
|------------|--|---------------------------------------|
| tiempo (d) |  | MIDA PEG <sub>2100</sub><br>Ejemplo 9 |

|   |       |
|---|-------|
| 0 | 1.83  |
| 2 | 33.87 |
| 5 | 65.03 |
| 7 | 80.7  |

5           \*Según se juzga comparando el área bajo los picos para el Compuesto A (8.6 min) frente al área bajo el pico de la macromolécula (10.8 min) mediante HPLC. # El ejemplo 9 se analizó como un experimento separado.

10           **Ejemplo 13: Dependencia del pH de la liberación inicial de Compuesto A de los ejemplos 6 y 9 en el vehículo de suministro**

Se usó un método HPLC-UV para determinar la velocidad de hidrólisis del Compuesto A de la macromolécula a pH 2.1, pH 3, pH 4, pH 5, pH 6, pH 7 y pH 8.

15           Se preparó tampón de McIlvane a pH 2.2 mediante la adición de 50 ml de agua desionizada a 0.14 g de decahidrato de fosfato disódico y 2.06 g de monohidrato de ácido cítrico. Después, se enrasó la solución hasta un volumen total de 100 ml con agua desionizada y se confirmó el pH.

20           Se preparó tampón de McIlvane a pH 3 mediante la adición de 50 ml de agua desionizada a 1.47 g de decahidrato de fosfato disódico y 1.67 g de monohidrato de ácido cítrico.

Después, se enrasó la solución hasta un volumen total de 100 ml con agua desionizada y se confirmó el pH.

Se preparó tampón de McIlvane a pH 4 mediante la adición de 50 ml de agua desionizada a 2.76 g de decahidrato de fosfato disódico y 1.29 g de monohidrato de ácido cítrico. Después, se enrasó la solución hasta un volumen total de 100 ml con agua desionizada y se confirmó el pH.

Se preparó tampón de McIlvane a pH 5 mediante la adición de 50 ml de agua desionizada a 3.69 g de decahidrato de fosfato disódico y 1.02 g de monohidrato de ácido cítrico. Después, se enrasó la solución hasta un volumen total de 100 ml con agua desionizada y se confirmó el pH.

Se preparó tampón de McIlvane a pH 6 mediante la adición de 50 ml de agua desionizada a 4.52 g de decahidrato de fosfato disódico y 0.77 g de monohidrato de ácido cítrico. Después, se enrasó la solución hasta un volumen total de 100 ml con agua desionizada y se confirmó el pH.

Se preparó tampón de McIlvane a pH 7 mediante la adición de 50 ml de agua desionizada a 5.90 g de decahidrato de fosfato disódico y 0.37 g de monohidrato de ácido cítrico. Después, se enrasó la solución hasta un volumen total de 100 ml con agua desionizada y se confirmó el pH.

Se preparó tampón de McIlvane a pH 8 mediante la adición de 50 ml de agua desionizada a 6.97 g de decahidrato de fosfato disódico y 0.06 g de monohidrato de ácido cítrico. Después, se enrasó la solución hasta un volumen total de 100 ml con agua desionizada y se confirmó el pH.

Se pesaron de manera precisa 1-2 mg de dendrímero en un vial y se añadió 1 ml de tampón. La muestra se agitó magnéticamente a 37° C durante hasta 130 h. La muestra se analizó periódicamente mediante HPLC-UV. Se determinó la concentración de Compuesto A libre por comparación de la respuesta del Compuesto A por HPLC-UV en la muestra con la respuesta de HPLC-UV de un patrón de concentración conocida.

**Tabla 11. Método HPLC para el ejemplo 13**

|    |                            |                                                                                      |
|----|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 15 | Preparación estándar:      | 5 mg de Comp. A en 10 ml de MeCN:Agua 1:1                                            |
|    | Columna:                   | Waters XBridge C8, 50 x 4.6 mm, 2.7 µm                                               |
|    | Temperatura de la columna: | 40 °C                                                                                |
| 20 | Volumen de inyección (µl): | 5 µl (programa inyector con agrupamiento de la muestra con 5 µl de dimetilacetamida) |
|    | Longitud de onda de        |                                                                                      |

|                     |                             |          |          |
|---------------------|-----------------------------|----------|----------|
| detección:          |                             |          |          |
| Caudal (ml/min)     |                             |          |          |
| Fase móvil A (MPA): | TFA al 0.3% en agua         |          |          |
| Fase móvil B (MPB): | TFA al 0.3% en acetonitrilo |          |          |
| Horario:            | Tiempo<br>(min)             | % de MPA | % de MPB |
|                     | 0                           |          |          |

Se calculó la constante de velocidad a cada pH a partir de las concentraciones de solución observadas con el paso del tiempo usando un método de ajuste de mínimos cuadrados. Las constantes de velocidad observadas se resumen en la **figura 8**. Los datos muestran que el ejemplo 9 mostró menos variación en la liberación inicial a lo largo del intervalo de pH ensayado que el ejemplo 6.

**Ejemplo 14: Liberación *in vitro* del Compuesto A a partir de dendrímeros en plasma de rata y ratón**

**Protocolo:** A 0.5 ml de plasma de ratón (o rata) (centrifugado y filtrado) se le añadieron 0.1 ml de solución de dendrímero (aproximadamente equivalente a 2 mg/ml de Compuesto en suero salino). Las mezclas se agitaron vorticialmente (30 s) y después se incubaron a 37 °C. En diversos instantes, se tomaron alícuotas (0.1 ml) y se añadió ACN (0.2 ml, ácido fórmico al 5%). Las mezclas resultantes se

agitaron vorticialmente (30s), se centrifugaron (10 min, 4°C) se filtraron y se analizaron por HPLC ((C8 Xbridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN/H<sub>2</sub>O al 42-50%) (1-7 min), ACN al 50-80% (7-8 min), ACN al 80% (8-11 min), ACN al 80-42% (11-12 min),  
 5 ACN al 42% (12-15 min), 243 nm, formiato de amonio 10 mM, TR (Compuesto A) = 6.7 min). Para el experimento en plasma de ratón, se cuantificó la cantidad de Compuesto A frente a un patrón de Compuesto A y se calculó el % liberado comparando el material liberado frente al material cargado del conjugado.  
 10 Para el experimento en plasma de rata, se usó la liberación de DGA PEG<sub>2200</sub> (**ejemplo 7**) a las 22.5 horas como patrón y se ajustó a 100%. Los resultados se resumen en las tablas 12a y 12b.

**Tabla 12a. Resultados de la liberación *in vitro* de Compuesto A en plasma de rata**

| % de Compuesto A liberado en plasma de rata a 37C* |                     |                     |                     |                     |                     |
|----------------------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                                                    | DGA                 | TDA                 |                     | Glu                 | Glu                 |
|                                                    | PEG <sub>2200</sub> | PEG <sub>2100</sub> | MIDA                | PEG <sub>2200</sub> | PEG <sub>1100</sub> |
| tiempo                                             | <b>Ejemplo</b>      | <b>Ejemplo</b>      | PEG <sub>2100</sub> | <b>Ejemplo</b>      | <b>Ejemplo</b>      |
| (h)                                                | <b>7</b>            | <b>6</b>            | <b>Ejemplo 9</b>    | <b>5</b>            | <b>8</b>            |
| 0                                                  | 0                   | 0                   | 0                   | 0                   | 0                   |
| 0.5                                                | 32                  | 6                   | 3                   | 0.3                 | 0.2                 |

|      |     |      |    |      |     |
|------|-----|------|----|------|-----|
| 2.5  | 93  | 31   | 9  | 3.5  | 2.6 |
| 4.5  | 96  | 49   | 14 | 4.8  | 4.5 |
| 22.5 | 100 | 89.5 | 57 | 25.3 | 21  |

\*Todos los datos se normalizan frente a DGA PEG<sub>2200</sub>

5 (ejemplo 7) y se asume que hay una liberación completa en esta muestra.

**Tabla 12b. Resultados de la liberación *in vitro* de Compuesto A en plasma de ratón**

|    |                                                     |                     |                     |                     |                     |
|----|-----------------------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 10 | % de Compuesto A liberado en plasma de ratón a 37C* |                     |                     |                     |                     |
|    |                                                     |                     |                     |                     |                     |
|    | DGA                                                 | TDA                 | MIDA                | Glu                 | Glu                 |
|    | PEG <sub>2200</sub>                                 | PEG <sub>2100</sub> | PEG <sub>2100</sub> | PEG <sub>2200</sub> | PEG <sub>1100</sub> |
|    | <b>Ejemplo</b>                                      | <b>Ejemplo</b>      | <b>Ejemplo</b>      | <b>Ejemplo</b>      | <b>Ejemplo</b>      |
|    | <b>7</b>                                            | <b>6</b>            | <b>9</b>            | <b>5</b>            | <b>8</b>            |
|    | tiempo (h)                                          |                     |                     |                     |                     |
| 15 | 0                                                   | 0                   | 0                   | 0                   | 0                   |
|    | 0.5                                                 | 32.6                | 9.1                 | 2.1                 | 0.9                 |
|    | 2.5                                                 | 70.8                | 33.2                | 6.7                 | 2.9                 |
|    | 4.5                                                 | 76.1                | 50.6                | 11.3                | 5.8                 |
|    | 22.5                                                | 87.5                | 88.4                | 46.5                | 22.9                |
| 20 |                                                     |                     |                     |                     |                     |

\* Medida frente a una solución patrón de Compuesto A

**Ejemplo 15: Solubilidad de dendrímero a pH 7.4 y pH 4.5**

**Protocolo:**

1. Se pesan de manera precisa 10 mg de dendrímero en un vial

2. Se añaden cuidadosamente alícuotas de tampón al vial para lograr la disolución. Nota: la mezcla se removió cuidadosamente durante varios minutos entre alícuotas. También se usaron ultrasonidos para ayudar en la disolución.

**Tabla 13. Resultados de los estudios de solubilidad a pH**

**7.4 y pH 4.5**

| Enlazador        | Peso molecular (kDa) | Peso % de Compuesto A (a partir de la RMN) | Solubilidad a pH 7.4 en PBS mg/ml de dendrímero (mg/ml de Compuesto A) | Solubilidad a pH 4.5 en ácido cítrico 0.1 M mg/ml de dendrímero (mg/ml de Compuesto A) |
|------------------|----------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Ejemplo 5</b> | 104.5                | 28.2                                       | 158 (44.5)                                                             | 162 (45.7)                                                                             |
| <b>Ejemplo 6</b> | 106.0                | 28.6                                       | 153 (43.6)                                                             | 141 (40.2)                                                                             |
| <b>Ejemplo 7</b> | 105.6                | 28.8                                       | 142 (41.0)                                                             | 157 (45.2)                                                                             |

|                                |      |      |            |              |
|--------------------------------|------|------|------------|--------------|
| <b>Ejemplo</b><br><br><b>8</b> | 76.7 | 39.4 | 125 (49.3) | 121.3 (48.0) |
|--------------------------------|------|------|------------|--------------|

**Ejemplo 16: Solubilidad de dendrímero a pH 4 y pH 5**

Se usó un método visual para determinar la solubilidad de los dendrímeros en tampones acuosos. Los datos representan experimentos individuales.

Se preparó tampón de McIlvane a pH 5 mediante la adición de 50 ml de agua desionizada a 3.69 g de decahidrato de fosfato disódico y 1.02 g de monohidrato de ácido cítrico. Después, se enrasó la solución hasta un volumen total de 100 ml con agua desionizada y se confirmó el pH.

Se preparó tampón de McIlvane a pH 4 mediante la adición de 50 ml de agua desionizada a 2.76 g de decahidrato de fosfato disódico y 1.29 g de monohidrato de ácido cítrico. Después, se enrasó la solución hasta un volumen total de 100 ml con agua desionizada y se confirmó el pH.

Se añadió 1 ml de tampón a un vial de vidrio y se añadió un agitador magnético. Se añadió dendrímero en alícuotas al vial con agitación. Ambos dendrímeros de los ejemplos 6 y 9 lograron una disolución completa tras la adición de aprox. 250 mg, tras lo cual la solución era demasiado viscosa como para agitarse de manera adecuada. La solubilidad se comunica

como gramos de soluto por gramo de solución y se asume que la densidad del tampón es de 1 g/ml.

**Tabla 14. Resultados de los estudios de solubilidad a pH 4 y pH 5**

|    |                |                       |                                             |                                   |
|----|----------------|-----------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------|
| 5  | <b>Ejemplo</b> | <b>Tampón</b>         | <b>Observación visual de la solubilidad</b> | <b>Equivalente de Compuesto A</b> |
|    | Ejemplo 6      | Tampón McIlvane, pH 4 | >0.189 g/g                                  | >0.048 g/g                        |
| 10 | Ejemplo 9      | Tampón McIlvane, pH 5 | >0.224 g/g                                  | >0.064 g/g                        |

**Ejemplo 17: Formulaciones de dendrímero**

**1. Formulaciones para estudios de telemetría en ratas**

Se seleccionaron viales que contenían la cantidad adecuada de dendrímero liofilizado. Después, se añadieron aproximadamente 0.5-1 ml de suero salino tamponado con fosfato (PBS) a cada vial y los viales se agitaron vorticialmente hasta que el dendrímero se encontraba en solución. Se combinaron los contenidos de cada vial y se transfirieron a un solo vial, enjuagando el resto de PBS hasta enrasar el volumen. Con la excepción del ejemplo 8, se prepararon las formulaciones a temperatura ambiente. Las formulaciones que contenían el ejemplo 8 se calentaron

cuidadosamente en un baño de agua ajustado a 40°C para evitar la dispersión del ejemplo 8 en el vehículo. Todas las formulaciones se dosificaron inmediatamente, al menos, antes de 30 minutos tras su preparación. En la tabla 15a se proporciona un resumen de las formulaciones en PBS.

**Tabla 15a. Formulaciones en PBS de los ejemplos 5, 6 y 8 para los estudios de telemetría en ratas**

| Ingredientes                                   | Ejemplo 5<br>(2 mg/ml de<br>equivalente<br>de<br>Compuesto<br>A) | Ejemplo 5<br>(6 mg/ml de<br>equivalente<br>de<br>Compuesto<br>A) | Ejemplo 6<br>(2 mg/ml de<br>equivalente<br>de<br>Compuesto<br>A) | Ejemplo 6<br>(4 mg/ml de<br>equivalente<br>de Compuesto<br>A) |
|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Solución<br>salina<br>tamponada<br>con fosfato | ~9.5 mL                                                          | ~9.5 mL                                                          | ~9.5 mL                                                          | ~9.5 mL                                                       |
| Dendrímero                                     | 67 mg                                                            | 201 mg                                                           | 67 mg                                                            | 134 mg                                                        |
|                                                |                                                                  |                                                                  |                                                                  |                                                               |

|                                                            |                                                                                                                |                                                                                                                |                                                                                                                |  |
|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <b>Ingredientes</b>                                        | <b>Ejemplo 6</b><br><br><b>(6 mg/ml de</b><br><b>equivalente</b><br><b>de</b><br><b>Compuesto</b><br><b>A)</b> | <b>Ejemplo 8</b><br><br><b>(2 mg/ml de</b><br><b>equivalente</b><br><b>de</b><br><b>Compuesto</b><br><b>A)</b> | <b>Ejemplo 8</b><br><br><b>(6 mg/ml de</b><br><b>equivalente</b><br><b>de</b><br><b>Compuesto</b><br><b>A)</b> |  |
| Solución<br><br>salina<br><br>tamponada<br><br>con fosfato | ~9.2 mL                                                                                                        | ~9.5 mL                                                                                                        | ~10.3 mL                                                                                                       |  |
| Dendrímtero                                                | 194 mg                                                                                                         | 67 mg                                                                                                          | 218 mg                                                                                                         |  |

Se preparó tampón de citrato-fosfato (McIlvane) a pH 4.

Por cada 100 ml de tampón, se pesaron 1.29 g de monohidrato de ácido y 2.76 g de dodecahidrato de fosfato sódico dibásico en un cilindro y se añadieron 95 ml de agua para inyección. El vehículo se agitó (o sometió a ultrasonidos) para disolver. Después, se midió el pH y se ajustó a pH 4 con HCl o NaOH 0.1 M, según se necesitase. Se enrasó el volumen del vehículo con agua para inyección.

Se seleccionaron viales que contenían la cantidad adecuada de dendrímtero liofilizado. Después, se añadieron 0.5-1 ml de tampón de fosfato-citrato (McIlvane) a pH4 a cada vial y se mezclaron los viales, con agitación vorticial en

caso necesario, hasta que la macromolécula se encontraba en solución. Se combinaron los contenidos de cada vial y se transfirieron a un solo vial, enjuagando el resto de PBS hasta enrasar el volumen. Después, se dosificaron inmediatamente, al menos, antes de 30 minutos tras su preparación. Un resumen

**Tabla 15b. Formulaciones del ejemplo 9 para estudios de telemetría en ratas**

| Ingredientes                                           | Ejemplo 9<br>(2 mg/ml de 9<br>equivalente de (6 mg/ml de<br>Compuesto A)<br>Compuesto A) | 22.6 mg/ml de ejemplo<br>de 9<br>(6 mg/ml de<br>equivalente de<br>Compuesto A) |
|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| Tampón de ~8 mL<br>citrato/fosfato de<br>McIlvane, pH4 | ~8 mL                                                                                    | ~8 mL                                                                          |
| Dendrímico                                             | 60 mg                                                                                    | 181 mg                                                                         |

2. Formulaciones para estudios de precipitación (solubilidad)

*Preparación de tampón citrato-fosfato:* Se usó el siguiente método para preparar tampones de citrato/fosfato. Se pesó la cantidad adecuada de ácido cítrico y de dodecahidrato de fosfato de sodio dibásico en un matraz

volumétrico de 100 ml y se añadieron 95 ml de agua para inyección, seguido de agitación (o tratamiento de ultrasonidos). El pH de la solución resultante se ajustó al pH diana (es decir, 4 o 5) y se enrasó el volumen con agua para inyección (es decir, 100 ml).

**Tabla 15c. Composición en tampón de citrato-fosfato (McIlvane), por cada 100 ml para estudios de precipitación (solubilidad)**

| Ejemplo   | pH del tampón | Monohidrato de ácido cítrico/gramos | Dodecahidrato de fosfato de sodio dibásico/gramos |
|-----------|---------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Ejemplo 6 | 4             | 1.29                                | 2.76                                              |
| Ejemplo 9 | 5             | 1.02                                | 3.69                                              |

*Preparación del vehículo:* Se usaron tampones de citrato-fosfato (McIlvane), indicados en la tabla 15c, para preparar los vehículos tamponados diluidos llevando a cabo una dilución 1:10 con glucosa al 5% p/v, en presencia o ausencia de Kolliphor HS-15 al 1% p/v ((15)-hidroxiestearato de polietilenglicol).

Se añadió solución de glucosa al 5% p/v comercialmente disponible hasta aproximadamente un 90% del volumen diana. Para los vehículos de tampón diluidos que contenían Kolliphor, se añadió una cantidad de Kolliphor HS-15 equivalente al 1%

p/v y se agitó el vehículo para disolver el Kolliphor HS-15. Posteriormente, se ajustó el pH hasta el pH diana con HCl o NaOH 0.1 M (en caso necesario). Después, se enrasaron los vehículos hasta su volumen con glucosa al 5% p/v y se  
5 filtraron usando un filtro de jeringuilla de PVDF con un tamaño de poro de 0.22 µm.

*Preparación de la formulación:* Se prepararon formulaciones que contenían el ejemplo 6 y el ejemplo 9 (en presencia o ausencia de Kolliphor HS-15) a una escala de 5 ml  
10 en el vehículo tamponado diluido, por duplicado (n=2), a las concentraciones indicadas en la tabla 15d a continuación:

**Tabla 15d. Formulaciones que contenían los ejemplos 6 y 9 con y sin Kolliphor**

| <b>Ejemplo</b>   | <b>Conc. de<br/>Compuesto A<br/>(mg/ml)</b> | <b>Conc. de<br/>dendrímero<br/>(mg/ml)</b> | <b>pH de la<br/>formulaci<br/>ón</b> |
|------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------|
| <b>Ejemplo 6</b> | 0.74                                        | 3                                          | 4                                    |
| <b>Ejemplo 6</b> | 24.8                                        | 100                                        | 4                                    |
| <b>Ejemplo 9</b> | 0.9                                         | 3                                          | 5                                    |
| <b>Ejemplo 9</b> | 28.6                                        | 100                                        | 5                                    |

Para preparar las formulaciones, se pesó la cantidad adecuada de dendrímero en un recipiente adecuado con un

agitador magnético. Mientras que estaba funcionando el agitador magnético, se añadió vehículo tamponado diluido (tampón de citrato/fosfato a pH 4 o pH 5 diluido a 1:10 con glucosa al 5% p/v que contenía Kolliphor HS-15 al 1% p/v) para lograr un 95% del volumen diana. La formulación se agitó de manera continua para ayudar en la disolución, evitando la generación de un exceso de espuma, hasta que se formó una solución transparente y se ajustó el pH. Posteriormente, se enrasó la formulación hasta su volumen (5 ml) con vehículo tamponado diluido y se registró el pH final.

*Evaluación de la cinética de precipitación:* La formulación se almacenó a temperatura ambiente y se protegió frente a la luz y se evaluaron visualmente las muestras usando un Seidenader y una caja de luz en los instantes de 0, 3, 6, 24, 48, 72 y 96 horas para descartar la presencia de materia en partículas visible. La tabla 15e proporciona un resumen de las observaciones de la evaluación visual.

**Tabla 15e. Resumen de las observaciones de precipitación**

| Ejemplo | Conc. de dendrímero (mg/ml) | Comentarios |
|---------|-----------------------------|-------------|
|         |                             |             |

|    |                                     |     |                                        |
|----|-------------------------------------|-----|----------------------------------------|
| 5  | <b>Ejemplo 6</b> (+Kolliphor HS15)  | 3   | No se observa ppt hasta los siete días |
|    |                                     | 100 | No se observa ppt hasta los siete días |
| 10 | <b>Ejemplo 6</b> (- Kolliphor HS15) | 3   | No se observa ppt hasta los siete días |
|    |                                     | 100 | No se observa ppt hasta los siete días |
| 15 | <b>Ejemplo 9</b> (+Kolliphor HS15)  | 3   | No se observa ppt hasta las 96 horas   |
|    |                                     | 100 | Aparición de ppt a las 42 horas        |
|    | <b>Ejemplo 9</b> (- Kolliphor HS15) | 3   | No se observa ppt hasta las 96 horas   |
|    |                                     | 100 | Aparición de ppt a las 42 horas        |

Dada la muy baja solubilidad acuosa del Compuesto A, se esperaba una precipitación en un espacio de tiempo mucho más breve.

### 3. Formulaciones para estudios de toxicología

*Formulaciones para estudios toxicológicos del ejemplo 6:*

El ejemplo 6 se formuló en un tampón de citrato-fosfato a pH

4 diluido a 1:10 con glucosa al 5% y que contenía Kolliphor HS-15 ((15)-hidroxiestearato de polietilenglicol) al 1% p/v, a concentraciones de hasta 121 mg/ml de ejemplo 6 (hasta una concentración de Compuesto A de 30 mg/ml).

5        *Preparación de tampón citrato-fosfato:* Se preparó la cantidad adecuada de tampón de citrato-fosfato (McIlvane) a pH 4 como se ha indicado en la tabla 14 anterior.

10        *Preparación del vehículo:* Se usó tampón de citrato-fosfato, pH 4 (según la tabla 15c) para preparar el vehículo tamponado diluido efectuando una dilución 1:10 con glucosa al 5% p/v, en presencia de Kolliphor HS-15 al 1% p/v, como se ha indicado en la sección anterior.

15        *Preparación de la formulación:* Se usó tampón de citrato/fosfato a pH 4 diluido a 1:10 con glucosa al 5% y que contenía Kolliphor HS-15 al 1% p/v para preparar las formulaciones de ejemplo 6 como se indica en la sección anterior.

20        Las formulaciones del ejemplo 6 se prepararon a temperatura ambiente y se dosificaron en los 60 minutos posteriores a su preparación. Se prepararon formulaciones que contenían entre 4 mg/ml y 25 mg/ml del ejemplo 6 (equivalentes a 1 mg/ml y 6.2 mg/ml de Compuesto A). Los

volúmenes variaron de 15 ml a 47 ml. Para descartar la presencia de partículas, la formulación se evaluó visualmente.

*Formulaciones para estudios toxicológicos de la macromolécula del ejemplo 9:* El ejemplo 9 se formuló en un  
5 tampón de citrato-fosfato a pH 5 diluido a 1:10 con glucosa al 5% y que contenía Kolliphor HS-15 ((15)-hidroxiestearato de polietilenglicol) al 1%, a concentraciones de 3.1 mg/ml a 105 mg/ml del ejemplo 9 (equivalente a una concentración de Compuesto A de 0.9 mg/ml y 30 mg/ml).

10 *Preparación de tampón citrato-fosfato:* Se prepararon 100 ml de tampón de citrato-fosfato (McIlvane) a pH 5, tal como se ha indicado en la sección anterior.

*Preparación del vehículo:* Se usó tampón de citrato-fosfato (McIlvane), pH 5 (según el ejemplo 16b) para preparar  
15 el vehículo tamponado diluido efectuando una dilución 1:10 con glucosa al 5% p/v, en presencia de Kolliphor HS-15 al 1% p/v, como se ha indicado en la sección anterior.

*Preparación de la formulación:* Se usó tampón de citrato-fosfato a pH 5 diluido a 1:10 con glucosa al 5% y que  
20 contenía Kolliphor HS-15 al 1% p/v para preparar las formulaciones de ejemplo 9 como se indica en la sección anterior. Para descartar la presencia de partículas, la formulación se evaluó visualmente.

Las formulaciones del ejemplo 9 se prepararon a temperatura ambiente y se dosificaron en los 75 minutos posteriores a su preparación. Se prepararon formulaciones que contenían entre 12.5 mg/ml y 100 mg/ml del ejemplo 9  
5 (equivalentes a una concentración de Compuesto A de 3.6 mg/ml y 28.6 mg/ml). Los volúmenes variaron de 6 ml a 18 ml.

**Ejemplo 18: Estudios de eficacia en ratas y ratones**

Las formulaciones usadas en los estudios de eficacia se prepararon del modo siguiente:

10 Preparación de las formulaciones de macromoléculas de los ejemplos 6 y 9 en PBS para el estudio de eficacia de dosificación a RS4;11: Se pesó la cantidad adecuada de los ejemplos 6 o 9 en un matraz volumétrico. Se añadieron 10 ml de suero salino tamponado con fosfato (PBS) de Dulbecco y  
15 después se agitaron las formulaciones hasta que el compuesto se disolvió completamente. Véase también la preparación de las formulaciones para estudios de telemetría en ratas en el ejemplo 17a.

Formulaciones del ejemplo 6 para su dosificación en el estudio de eficacia en SuDHL-4: La macromolécula del ejemplo  
20 6 puede formularse en un tampón de citrato/fosfato a pH 4 diluido a 1:10 con glucosa al 5% y que contenía Kolliphor HS-15 al 1% p/v, a concentraciones de hasta 121 mg/ml del

ejemplo 6 (equivalentes a hasta 30 mg/ml de concentración de Compuesto A).

Se prepararon 100 ml de tampón de citrato/fosfato McIlvane a pH4. Se pesaron 1.29 g de monohidrato de ácido  
5 cítrico y 2.76 g de dodecahidrato de fosfato de sodio dibásico en un vial y se añadieron 95 ml de agua para inyección. El vehículo se agitó (o sometió a ultrasonidos) para disolver. Después, se midió el pH y se ajustó a pH 4 con HCl o NaOH 0.1 M, según se necesitase. El vehículo se enrasó  
10 hasta su volumen (100 ml) con agua para inyección.

Este tampón de McIlvane se usó para preparar el vehículo tamponado diluido (tampón de citrato/fosfato a pH 4 diluido a 1:10 con glucosa al 5% y que contenía Kolliphor HS-15 al 1% p/v). Se añadió la cantidad necesaria de tampón de  
15 citrato/fosfato de McIlvane, equivalente a un 10% del volumen diana total a preparar, en un recipiente adecuado. Se añadió solución de glucosa al 5% comercialmente disponible hasta aproximadamente un 90% del volumen diana. Se añadió Kolliphor HS-15, equivalente al 1% p/v y se agitó el vehículo para  
20 disolver el Kolliphor HS-15. El pH se midió y ajustó a pH 4.0  $\pm$  0.05 con HCl o NaOH 0.1 M (en caso necesario). Después, se enrasó el volumen hasta su volumen con glucosa al 5%. Se

esterilizó por filtración usando un filtro de jeringa con un tamaño de poro de 0.22  $\mu\text{m}$ , en caso necesario.

Para preparar la formulación del ejemplo 6 para la dosis más alta (10 mg/ml de Compuesto A o del ejemplo 6, 5 equivalente a 39 mg/ml), se transfirieron 390 mg de ejemplo 6, equivalentes a 100 mg de Compuesto A, a un recipiente adecuado con un agitador magnético. Mientras que estaba funcionando el agitador magnético, se añadió vehículo de tampón diluido (tampón de citrato/fosfato a pH 4 que se había 10 diluido a 1:10 con glucosa al 5% que contenía Kolliphor HS-15 al 1% p/v) hasta un 95% del volumen diana (9.5 ml). Se continuó agitando la formulación para ayudar en la disolución, evitando la generación de un exceso de espuma, hasta que se formó una solución transparente. Después, se enrasó la 15 formulación hasta su volumen (0.5 ml) con vehículo tamponado diluido y se comprobó el pH. La formulación se evaluó visualmente para descartar la presencia de partículas. Se prepararon 2 y 6 mg/ml a partir de la concentración más elevada.

20 Las formulaciones del ejemplo 6 se prepararon a temperatura ambiente y se dosificaron en los 5 minutos posteriores a su preparación. Sus preparaciones fueron como

se han descrito anteriormente en el ejemplo 17 (formulaciones para estudios toxicológicos).

Formulaciones para la macromolécula del ejemplo 9 para el estudio de eficacia en SuDHL-4: El ejemplo 9 se formuló en

5 un tampón de citrato/fosfato a pH 5 diluido a 1:10 con glucosa al 5% y que contenía Kolliphor HS-15 al 1% p/v, a concentraciones de hasta 105 mg/ml del ejemplo 9 (equivalentes a hasta 30 mg/ml de concentración de Compuesto A).

10 Se prepararon 100 ml de tampón de citrato/fosfato McIlvane a pH 5. Se pesaron 1.02 g de monohidrato de ácido cítrico y 3.69 g de dodecahidrato de fosfato de sodio dibásico en un vial y se añadieron 95 ml de agua para inyección. El vehículo se agitó (o sometió a ultrasonidos)

15 para disolver. Después, se midió el pH y se ajustó a pH 5 con HCl o NaOH 0.1 M, según se necesitase. El vehículo se enrasó hasta su volumen (100 ml) con agua para inyección.

Este tampón de McIlvane se usó para preparar el vehículo tamponado diluido (tampón de citrato/fosfato a pH 5 diluido a

20 1:10 con glucosa al 5% y que contenía Kolliphor HS-15 al 1% p/v). Se añadió la cantidad necesaria de tampón de citrato/fosfato de McIlvane, equivalente a un 10% del volumen diana total a preparar, en un recipiente adecuado. Se añadió

solución de glucosa al 5% comercialmente disponible hasta aproximadamente un 90% del volumen diana. Se añadió Kolliphor HS-15, equivalente al 1% p/v y se agitó el vehículo para disolver el Kolliphor HS-15. El pH se midió y ajustó a pH 5.0  
5 ± 0.05 con HCl o NaOH 0.1 M (en caso necesario). Después, se enrasó el volumen hasta su volumen con glucosa al 5%. Se esterilizó por filtración usando un filtro de jeringa con un tamaño de poro de 0.22 µm, en caso necesario.

Para preparar la formulación del ejemplo 9 para la dosis  
10 más alta (10 mg/ml de Compuesto A o del ejemplo 9, equivalente a 37 mg/ml), se transfirieron 370 mg de ejemplo 9, equivalentes a 100 mg de Compuesto A, a un recipiente adecuado con un agitador magnético. Mientras que estaba funcionando el agitador magnético, se añadió vehículo de  
15 tampón diluido (tampón de citrato/fosfato a pH 4 que se había diluido a 1:10 con glucosa al 5% que contenía Kolliphor HS-15 al 1% p/v) hasta un 95% del volumen diana (9.5 ml). Se continuó agitando para ayudar en la disolución, evitando la generación de un exceso de espuma, hasta que se formó una  
20 solución transparente. Después, se enrasó la formulación hasta su volumen (0.5 ml) con vehículo tamponado diluido y se comprobó el pH. La formulación se evaluó visualmente para

descartar la presencia de partículas. Se prepararon 2 y 6 mg/ml a partir de la concentración más elevada.

Las formulaciones del ejemplo 9 se prepararon a temperatura ambiente y se dosificaron en los 5 minutos posteriores a su preparación.

Eficacia de los ejemplos 6 y 9 en el modelo de xenoinjerto de RS4;11: Se inocularon  $5 \times 10^6$  células RS4;11 en un volumen total de 100  $\mu$ l por vía subcutánea en el flanco derecho del ratón. Cuando el volumen tumoral alcanzó aproximadamente  $\sim 350 \text{ mm}^3$ , se asignaron aleatoriamente los ratones portadores de tumores a grupos de 4 animales y se trataron con vehículo de control (PBS) o con tratamiento. **La figura 9** muestra que con diferentes velocidades de liberación, los dendrímeros muestran una eficacia diferente. El ejemplo 6 a 30 mg/kg de equivalente de Compuesto A y el ejemplo 9 a 10 mg/kg de equivalente de Compuesto A con una sola dosis IV han demostrado una actividad similar o ligeramente mejor que el Compuesto A en HP- $\beta$ -CD a 10mg/kg IV una vez, (regresión del 100%, 98% frente al 90%, respectivamente).

**Tabla 16. Resumen de los datos de inhibición y regresión para los ejemplos 6 y 9**

| Número<br>de<br>grupo | Tratamiento                                                                                         | Eficacia                          |                            |                              |               |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------|
|                       |                                                                                                     | %<br>de<br>inhibición<br>Día (47) | % de regresión<br>Día (47) | Valor<br>de p<br>Día<br>(47) | T-C<br>(Días) |
| 1                     | Vehículo                                                                                            |                                   |                            |                              |               |
| 2                     | Compuesto A 5<br>mg/kg                                                                              | >100                              | 90                         | <0.00<br>01                  |               |
| 3                     | <b>Ejemplo 6</b> 10<br>mg/kg de<br>equivalente de<br>Compuesto A (39<br>mg/kg de<br>macromolécula)  | >100                              | 56                         | <0.00<br>01                  |               |
| 4                     | <b>Ejemplo 6</b> 30<br>mg/kg de<br>equivalente de<br>Compuesto A (117<br>mg/kg de<br>macromolécula) | >100                              | 100                        | <0.00<br>01                  | >32           |

|   |                         |     |      |       |   |
|---|-------------------------|-----|------|-------|---|
| 5 | <b>Ejemplo 9</b>        | 10  |      |       |   |
|   | mg/kg                   | de  |      |       |   |
|   | equivalente             | de  |      | 0.008 |   |
|   | Compuesto A             | (37 | >100 | 98    | 5 |
|   | mg/kg de macromolécula) |     |      |       |   |

Cuando el volumen tumoral de RS4;11 alcanzó

aproximadamente ~400-600mm<sup>3</sup>, se trató a grupos de 3 ratones portadores de tumores con una sola dosis de vehículo (PBS) o ejemplo 6 I.V a 10 y 30mg/kg. Los tumores se recogieron en diferentes momentos después de la dosis y se procesaron para su análisis. Los resultados demuestran que el enlazador induce una respuesta apoptótica comparable, según se indica por la caspasa 3 escindida, las respuestas alcanzaron un máximo a las 16-28 h después de la dosis (**figura 10**). El ejemplo 6 a 30 mg/kg de equivalente de Compuesto A (117 mg/kg de ejemplo 6) indujo la mayor respuesta de CC3.

La **figura 11** muestra que el ejemplo 9 y el ejemplo 6 dosificados a 20 mg/kg de equivalente de Compuesto A (74 y 78 mg/kg de dendrímero, respectivamente) fueron ligeramente más eficaces que el Compuesto A en la formulación en HP-β-CD (véase el ejemplo 2) a 10 mg/kg semanalmente.

Además, se midió la muerte celular (apoptosis) usando PARP escindida (**figura 12**). La formulación de Compuesto A en HP- $\beta$ -CD (véase el ejemplo 2) indujo PARP escindida 1 h y 3 h inmediatamente después del tratamiento, mientras que el ejemplo 9 provocó un máximo de muerte celular a las 20 h después de una sola dosis.

Eficacia de los ejemplos 5, 7 y 8 en el modelo de xenoinjerto de RS4;11 en ratones: Los ejemplos 5, 7 y 8 se formularon en PBS y se dosificaron a razón de 10 mg/kg de equivalente de Compuesto A en el modelo de xenoinjerto de RS4;11 en ratones. La **figura 13** demuestra que el ejemplo 7 dosificado a razón de 10 mg/kg de equivalente de compuesto A induce regresión tumoral, mientras que los ejemplos 5 y 8 dosificados a razón de 10 mg/kg de equivalente de compuesto A no mostraron una actividad antitumoral significativa.

Eficacia del ejemplo 6 en el modelo de xenoinjerto de RS4;11 en ratas Rag2-/-: La **figura 14** muestra que el ejemplo 6 dosificado a 30 mg/kg de equivalente de Compuesto A (117 mg/kg de macromolécula) provoca la regresión del tumor de RS4;11. Una sola dosis de 10mg/kg de equivalente de Compuesto A (39 mg/kg de ejemplo 6) del ejemplo 6 inhibió el crecimiento tumoral (estasis).

Los ejemplos 6 y 9 potencian la inhibición del crecimiento tumoral de rituximab en el modelo de xenoinjerto de SuDHL-4 en ratones SCID:

Se usó el modelo de xenoinjerto de SuDHL-4 para probarla capacidad de los ejemplos 6 y 9 para potenciar la actividad de rituximab para inhibir el crecimiento tumoral. Cuando los tumores crecieron hasta aproximadamente 175-250 mm<sup>3</sup>, se asignó aleatoriamente a los ratones a los siguientes grupos:

(1) grupo de control de vehículo;

(2) grupo de tratamiento con ejemplo 6 (50 mg/kg de equivalente de Compuesto A, 195 mg/kg de ejemplo 6, i.v. una vez a la semana durante 5 semanas);

(3) grupo de tratamiento con ejemplo 9 (50 mg/kg de equivalente de Compuesto A, 185 mg/kg de ejemplo 9, i.v. una vez a la semana durante 5 semanas);

(4) grupo de rituximab (10 mg/kg i.p. una vez a la semana durante 5 semanas);

(5) ejemplo 6 (10 mg/kg de equivalente de Compuesto A, 39 mg/kg de ejemplo 6) más rituximab;

(6) ejemplo 6 (30 mg/kg de equivalente de Compuesto A, 117 mg/kg de ejemplo 6) más rituximab;

(7) ejemplo 6 (50 mg/kg de equivalente de Compuesto A, 195 mg/kg de ejemplo 6) más rituximab.

(8) ejemplo 9 (10 mg/kg de equivalente de Compuesto A, 37 mg/kg de ejemplo 9) más rituximab;

(9) ejemplo 9 (30 mg/kg de equivalente de Compuesto A, 111 mg/kg de ejemplo 9) más rituximab;

5 (10) ejemplo 9 (50 mg/kg de equivalente de Compuesto A, 185 mg/kg de ejemplo 9) más rituximab;

Los tamaños tumorales se midieron 2 veces a la semana y se calcularon como:  $\text{Volumen tumoral} = (A \times B^2)/2$  donde A y B son la longitud y el ancho del tumor (en mm), respectivamente.

10 Los resultados se muestran en la **figura 15**. Los ejemplos 6 y 9 a 50 mg/kg de equivalente de Compuesto A (195 y 185 mg/kg de dendrímero, respectivamente) inhibieron significativamente el crecimiento tumoral en comparación con el control de vehículo, siendo las macromoléculas del ejemplo 6 ligeramente más eficaces como monoterapia que las macromoléculas del ejemplo 9 a 50 mg/kg de Compuesto A (185 mg/kg de ejemplo 9). La **tabla 17** resume los valores de inhibición del crecimiento tumoral (TIC) y de retraso del crecimiento tumoral (T-C) calculados como % de inhibición y % de regresión. El cálculo se basa en la media geométrica de RTV en cada grupo.

En el día específico, para cada grupo tratado, se calcula el valor de inhibición mediante la fórmula: % de

inhibición =  $(CG - TG) * 100 / (CG - 1)$ , en la que "CG" significa la media geométrica de rtv del grupo de control y "TG" significa la media geométrica del volumen tumoral relativo (rtv) del grupo tratado. "CG" debe usar el grupo de control correspondiente del grupo tratado cuando se calcula. En caso de una inhibición > 100%, es necesario calcular la regresión mediante la fórmula: Regresión = 1 - TG

El valor de la TIC es del 63.5% para 50 mg/kg de equivalente de Compuesto A (195 mg/kg de ejemplo 6), del 40.44% para 50 mg/kg de equivalente de Compuesto A (185 mg/kg de ejemplo 9) y del 75.27% para 10 mg/kg de rituximab. Por lo tanto, el ejemplo 6 y el ejemplo 9, dosificados a 50 mg/kg de equivalente de Compuesto A, son significativamente activos en este modelo. De manera más significativa, una combinación de los ejemplos 6 y 9 a 10, 30 y 50 mg/kg de equivalente de Compuesto A con rituximab (10 mg/kg) dio como resultado regresión tumoral. Además, el tratamiento combinado dio como resultado una regresión tumoral completa en la mayoría de los animales, mientras que esta no se observó con los tratamientos con un solo fármaco.

**Tabla 17. Resumen de los datos de eficacia de los ejemplos 6 y 9 en combinación con rituximab**

5

10

15

20

|   | Tratamiento                                                                                  | Eficacia                       |                               |                     |            |
|---|----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------|------------|
|   |                                                                                              | % de inhibición (TIC) Día (41) | % de regresión en el día (41) | Valor de p Día (41) | T-C (Días) |
| 1 | Vehículo                                                                                     |                                |                               |                     |            |
| 2 | <b>Ejemplo 6</b><br>(50 mg/kg de equivalente de Compuesto A, 195 mg/kg de <b>ejemplo 6</b> ) | 63.5                           |                               | 0.0002              |            |
| 3 | <b>Ejemplo 9</b><br>(50 mg/kg de equivalente de Compuesto A, 185 mg/kg de <b>ejemplo 6</b> ) | 40.44                          |                               | 0.0420              |            |
| 4 | rituximab (10 mg/kg)                                                                         | 75.27                          |                               | 0.0010              | >16        |

|    |   |                                                                                                                                   |      |     |                 |     |
|----|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----|-----------------|-----|
| 5  | 5 | rituximab<br>(10 mg/kg) más<br><b>ejemplo 6</b> (10 mg/kg de<br>equivalente de Compuesto<br>A,<br>39 mg/kg de <b>ejemplo 6</b> )  | >100 | 97  | 0.0<br>005      | >37 |
| 10 | 6 | rituximab<br>(10 mg/kg) más<br><b>Ejemplo 6</b><br>(30 mg/kg de equivalente<br>de Compuesto A, 117<br>mg/kg de <b>ejemplo 6</b> ) | >100 | 100 | <0.<br>000<br>1 | >37 |
| 15 | 7 | rituximab<br>(10 mg/kg) más<br><b>Ejemplo 6</b><br>(50 mg/kg de equivalente<br>de Compuesto A,<br>195 mg/kg de <b>ejemplo 6</b> ) | >100 | 100 | <0.<br>000<br>1 | >37 |

|    |    |                                                                                                                                   |      |     |                 |     |
|----|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----|-----------------|-----|
| 5  | 8  | rituximab<br>(10 mg/kg) más<br><b>ejemplo 9</b> (10 mg/kg de<br>equivalente de Compuesto<br>A,<br>37 mg/kg de <b>ejemplo 9</b> )  | >100 | 69  | 0.0<br>230      | >37 |
| 10 | 9  | rituximab<br>(10 mg/kg) más<br><b>Ejemplo 9</b><br>30 mg/kg de equivalente<br>de Compuesto A,<br>111 mg/kg de <b>ejemplo 9</b> )  | >100 | 100 | <0.<br>000<br>1 | >37 |
| 15 | 10 | rituximab<br>(10 mg/kg) más<br><b>Ejemplo 9</b><br>(50 mg/kg de equivalente<br>de Compuesto A,<br>185 mg/kg de <b>ejemplo 9</b> ) | >100 | 100 | <0.<br>000<br>1 | >37 |

**Ejemplo 19: Estudios de telemetría cardiovascular en**

20 **ratas**

Para evaluar los efectos del Compuesto A y los ejemplos 5, 6, 8 y 9 en la presión sanguínea arteria, la frecuencia cardíaca, el intervalo QA y el electrocardiograma, se

implantó quirúrgicamente bajo anestesia transmisores de telemetría para roedor de Sciences International a ratas Han Wistar macho. Los transmisores de telemetría se implantaron en el músculo abdominal y el catéter para la presión sanguínea arterial se colocó en la aorta abdominal. Los  
5 electrodos para el ECG se suturaron en la superficie dorsal del apófisis xifoides y en el mediastino anterior.

Tras implantar el transmisor de telemetría, se administró una sola infusión intravenosa de 30 minutos a  
10 través de la vena caudal de Compuesto A o de ejemplo 5, 6 u 8 a grupos de ratas individuales (8 machos/grupo para el Compuesto A y 3 machos/grupo para cada dendrímero). El ejemplo 9 se administró a un grupo individual de ratas (3 machos/grupo) en forma de una sola inyección embolada a  
15 través de la vena caudal. El Compuesto A se administró a niveles de dosis de 0 y 10 mg/kg. El ejemplo 6 se administró a niveles de dosis de 0, 35, 70 y 105 mg/kg (10, 20 y 30 mg/kg de equivalente de Compuesto A) y los ejemplos 5 y 8 se administraron a niveles de 0, 35 y 105 mg/kg (10 y 30 mg/kg  
20 de equivalente de Compuesto A) y el ejemplo 9 se administró a niveles de dosis de 0, 37 y 112 mg/kg (10 y 30 mg/kg de equivalente de Compuesto A).

Los parámetros cardiovasculares se registraron de manera continua mediante receptores ubicados debajo de la jaula durante al menos 1 hora antes de la dosis y hasta 72 horas después de la dosis. Se tomaron muestras de sangre para  
5 determinar el nivel de exposición en plasma del Compuesto A y todos los dendrímeros, tomándose muestras de histopatología de patología clínica y tejidos limitados para órganos diana de animales a los que se dosificaron únicamente las construcciones de macromolécula.

10 No se toleró una infusión de Compuesto A y se hallaron muertas tres ratas hasta 5 horas después del inicio de la infusión. Todos animales a los que se dosificaron los dendrímeros sobrevivieron hasta la terminación programada. Después de la administración de Compuesto A, se observó una  
15 reducción bifásica de la presión sanguínea arterial media sistólica entre 1.5 y 16 horas después del inicio de la infusión, que fue acompañada por aumentos en la frecuencia cardíaca entre las 2 y las 10 horas posteriores al inicio de la infusión. También se observó una reducción en la amplitud  
20 de QRS desde 1 hora después del inicio de la infusión, que seguía presente al final del periodo de registro. Los cambios cardiovasculares para el ejemplo 6 se limitaron a una reducción transitoria en la amplitud de QRS entre las 2 y las

8 horas posteriores a la dosis en los animales a los que se dosificaron 120 mg/kg, con una recuperación completa a las 22 horas después de la dosis. El ejemplo 6 y todos los demás dendrímeros no mostraron cambios cardiovasculares hasta 80 y  
5 120 mg/kg, respectivamente.

Las transaminasas plasmáticas se encontraban elevadas en los animales a los que se administraron  $\geq 80$  mg/kg de ejemplo 6. No se observaron cambios en las transaminasas en las ratas a las que se dosificaron hasta 120 mg/kg de ejemplo 5, 8 y 9.  
10 Todos los dendrímeros mostraron trombocitopenia, lo que es coherente con la farmacología primaria.

Los hallazgos histopatológicos a  $\geq 80$  mg/kg de ejemplo 6 incluyeron una degeneración/necrosis muscular esquelética mínima, con hallazgos en el corazón (apoptosis de células  
15 endoteliales mínima) y el hígado (apoptosis hepatocelular mínima), también observada en los animales a los que se dosificaron 120 mg/kg. El ejemplo 9 mostró hallazgos histopatológicos en el músculo esquelético (degeneración de  
músculo esquelético mínima) a  $\geq 40$  mg/kg, observándose una  
20 apoptosis hepatocelular mínima únicamente a 120 mg/kg. El ejemplo 5 no mostró histopatología relacionada con el tratamiento hasta 120 mg/kg, limitándose los hallazgos

histopatológicos para el ejemplo 8 a una necrosis hepatocelular mínima únicamente a 120 mg/kg.

En conclusión, estos datos ilustran los perfiles histopatológicos cardiovasculares y hepáticos mejorados de los ejemplos 5, 6, 8 y el ejemplo 9, en comparación con el Compuesto A.

**Tabla 18. Resumen de los estudios de telemetría en ratas después de la dosificación intravenosa de Compuesto A y los ejemplos 6 y 9**

| Parámetro            | Compuesto A        | Ejemplo 6 <sup>a</sup>         |          |          | Ejemplo 9 <sup>a</sup>         |          |
|----------------------|--------------------|--------------------------------|----------|----------|--------------------------------|----------|
|                      |                    | 10 mg/kg                       | 20 mg/kg | 30 mg/kg | 10 mg/kg                       | 30 mg/kg |
| <b>En vida</b>       | 3 halladas muertas | Todas las dosis bien toleradas |          |          | Todas las dosis bien toleradas |          |
| <b>Plaquetas</b>     | No evaluado        | ↓                              | ↓        | ↓        | ↓                              | ↓        |
| <b>Transaminasas</b> | No evaluado        | NAD                            | ↑        | ↑        | NAD                            | NAD      |

|    |                       |                                                                                      |     |     |                             |     |     |
|----|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----------------------------|-----|-----|
| 5  | <b>Cardiovascular</b> | ↓<br>Amplitud<br>de QRS<br>↓ presión<br>sanguínea<br>↑<br>frecuenci<br>a<br>cardíaca | NAD | NAD | ↓<br>Amplitu<br>d de<br>QRS | NAD | NAD |
| 10 | <b>Histopatología</b> | No                                                                                   |     |     |                             |     |     |
|    | Músculo               | evaluado                                                                             | 0/3 | 2/3 | 2/3                         | 1/3 | 1/3 |
|    | esquelético -         |                                                                                      | 0/3 | 0/3 | 1/3                         | 0/3 | 0/3 |
|    | degeneración/necro    |                                                                                      | 0/3 | 0/3 | 3/3                         | 0/3 | 1/3 |
|    | sis                   |                                                                                      |     |     |                             |     |     |
| 15 | Corazón -             |                                                                                      |     |     |                             |     |     |
|    | apoptosis de          |                                                                                      |     |     |                             |     |     |
|    | células               |                                                                                      |     |     |                             |     |     |
|    | endoteliales          |                                                                                      |     |     |                             |     |     |
|    | Hígado - apoptosis    |                                                                                      |     |     |                             |     |     |
| 20 | hepatocelular         |                                                                                      |     |     |                             |     |     |

<sup>a</sup> los niveles de dosis se expresan como equivalente de  
Compuesto A

NAD = ninguna anomalía detectada

**Ejemplo 20: Estudios de toxicidad de dosis máxima tolerada en rata y perro**

Se llevaron a cabo estudios de dosis máxima tolerada (MTD) con el ejemplo 6 en ratas y perros. El ejemplo 6 se administró a grupos individuales de ratas Han Wistar macho o hembra (hasta 4/grupo) mediante bolo intravenoso a niveles de dosis de 125, 200, 225 y 250 mg/kg (31, 50, 56 y 62 mg/kg de equivalente de Compuesto A). La MTD de ejemplo 6 en ratas fue de 225 mg/kg (56 mg/kg de equivalente de Compuesto A), que es una mejora de 5 veces en comparación con el Compuesto A solo.

Se administró el ejemplo 6 a un macho y a una hembra de perro de raza Beagle mediante bolo intravenoso a dosis semanales ascendentes de 4, 8, 12, 20, 30 y 45 mg/kg (1, 2, 3, 5, 7.5 y 11 mg/kg de equivalente de Compuesto A). La MTD de ejemplo 6 en perros es de 45 mg/kg (11 mg/kg de equivalente de Compuesto A), que es una mejora de 11 veces en comparación con el Compuesto A.

Se llevó a cabo un estudio de dosis máxima tolerada con el ejemplo 9 en ratas. El ejemplo 9 se administró a grupos individuales de ratas Han Wistar macho (3/grupo) mediante bolo intravenoso a niveles de dosis de 125, 250, 500, 1000 y 1500 mg/kg (9, 72, 145, 290 y 435 mg/kg de equivalente de Compuesto A). La MTD de ejemplo 9 en ratas es de 1000 mg/kg

(290 mg/kg de equivalente de Compuesto A), que es una mejora de 29 veces en comparación con el Compuesto A.

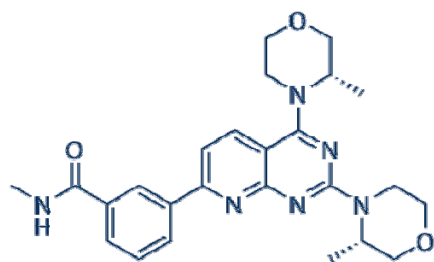
En conclusión, estos datos ilustran una mejora de la dosis máxima tolerada de del ejemplo 6 y el ejemplo 9, en comparación con el Compuesto A solo.

**Ejemplo 21: Actividad antitumoral *in vivo* de un solo agente y de una combinación en un modelo de tumor de cáncer de pulmón microcítico humano**

El ejemplo 9 y AZD2014 (vistusertib, un inhibidor de mTOR mostrado a continuación) indujeron actividad antitumoral de un solo agente y de combinación en ratones portadores de tumores NCI-H1048 (figura 18). Una administración iv semanal (qw) de ejemplo 9 a 103 mg/kg (equivalente a 30 mg/kg de Compuesto A) dio como resultado una actividad antitumoral significativa de un 76% de TGI ( $p < 0.05$ ). La administración del inhibidor de mTOR, AZD2014 a 15 mg/kg al día (qd) dio como resultado una actividad antitumoral significativa de un 84% de TGI ( $p < 0.05$ ). La combinación del ejemplo 9 con AZD2014 dio como resultado una regresión tumoral del 91% ( $p < 0.05$  en relación con la actividad de un solo agente).

El ejemplo 9 se formuló en tampón de citrato/fosfato a pH 5.0 que contenía glucosa al 4.5% p/v y se dosificó por vía intravenosa (iv) en un volumen de 5 ml/kg. AZD2014 se formuló

en hidroxipropilmetilcelulosa al 0.5%/Tween 80 al 0.1% y se dosificó por vía oral en un volumen de 10 ml/kg. Se inyectaron  $5 \times 10^6$  células tumorales NCI-H1048 por vía subcutánea en el flanco derecho de ratones C.B.-17 SCID hembra en un volumen de 0.1 ml que contenía un 50% de matrigel. El volumen tumoral (medido con un calibre) se calculó usando la fórmula: longitud (mm) x anchura (mm)<sup>2</sup> x 0.52. Para los estudios de eficacia, se asignaron aleatoriamente los ratones basándose en el volumen tumoral y se evaluó la inhibición del crecimiento mediante comparación de las diferencias en el volumen tumoral entre los grupos de control y los tratados. La dosificación comenzó cuando el volumen tumoral alcanzó aproximadamente 124 mm<sup>3</sup>.



AZD2014

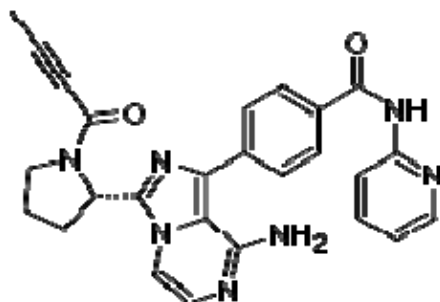
**Ejemplo 22: Actividad antitumoral in vivo de un solo agente y de una combinación en un modelo de DLBCL humano**

Se inyectaron  $5 \times 10^6$  células tumorales OCI-Ly10 por vía subcutánea en el flanco derecho de ratones C.B.-17 SCID hembra en un volumen de 0.1 ml que contenía un 50% de

matrigel. El ejemplo 9 se formuló en tampón de citrato/fosfato a pH 5.0, diluido a razón de 1 a 10 con glucosa al 5% que contenía Kolliphor HS15 al 1% p/v y se dosificó en forma de una administración intravenosa (iv) 5 semanal en un volumen de 5 ml/kg a una dosis de 103 mg/kg (30 mg/kg de API). Se formuló acalabrutinib en hidroxipropilmetilcelulosa al 0.5%/Tween 80 al 0.2%, y se dosificó dos veces al día (bid) en forma de una administración oral (po) en un volumen de 10 ml/kg a una 10 dosis de 12.5 mg/kg. Los volúmenes tumorales (medidos mediante un calibre), el peso corporal y el estado del tumor se registraron dos veces a la semana durante la duración del estudio. El volumen tumoral se calculó usando la fórmula: longitud (mm) x anchura (mm)<sup>2</sup> x 0.52. Para los estudios de 15 eficacia, se evaluó la inhibición del crecimiento desde el inicio del tratamiento comparando las diferencias en el volumen tumoral entre los grupos de control y tratados. La dosificación comenzó cuando el tamaño tumoral medio alcanzó aproximadamente 166 mm<sup>3</sup>.

20 Tal como se muestra en la figura 19, la combinación del ejemplo 9 con acalabrutinib dio como resultado una actividad antitumoral *in vivo* significativa en el modelo de xenoinjerto de DLBCL de OCI-Ly10. La administración iv semanal de 103

mg/kg de ejemplo 9 (30 mg/kg de Compuesto A) en combinación con la administración oral dos veces al día de 12.5 mg/kg de acalabrutinib, dio como resultado una regresión completa en 8 de 8 ratones portadores de tumores a los 10 días después del inicio del tratamiento. La regresión completa se mantuvo incluso después del final del tratamiento (3 semanas de tratamiento con 35 días de seguimiento). Por el contrario, el ejemplo 9 o acalabrutinib como agentes individuales mostraron una actividad de agente individual relativamente modesta, alcanzando una inhibición del crecimiento tumoral (TGI) de aproximadamente el 64% y el 58%, respectivamente.



Acalabrutinib