

NUEVO COMPLEJO DE FÁRMACOS

CAMPO TÉCNICO

5 La presente invención se refiere a un copolímero novedoso útil para la tecnología de administración de fármacos. Más específicamente, la presente invención se refiere a un copolímero para un portador de administración de fármacos dirigido a tumores, una composición farmacéutica en la cual una sustancia fisiológicamente activa tal como un agente anticanceroso se transporta en un copolímero y un medicamento que contiene la composición.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

En los últimos años, se han llevado a cabo intensas investigaciones sobre sistemas de administración de fármacos (DDS, por sus siglas en inglés) como una técnica para administrar fármacos de forma eficiente y segura a los sitios de enfermedad. Entre ellos, existe una creciente demanda de DDS que empleen nanopartículas como portadores de administración de fármacos como una técnica para mejorar la selectividad de la acumulación de fármacos mediante la utilización de las características estructurales del sitio de enfermedad.

15

Por ejemplo, en tejido canceroso sólido, dado que la estructura de un vaso neovascular (vaso sanguíneo tumoral) es inmadura en comparación con un vaso sanguíneo normal, se genera un espacio celular de unos cientos de nm en el endotelio vascular, lo cual permite la permeación de una gran cantidad de sustancia. Debido a esta característica estructural, se sabe que un compuesto polimérico que contiene nanopartículas permea selectivamente un vaso sanguíneo tumoral y se acumula en el tejido canceroso sólido. Además, en el tejido canceroso sólido, un sistema linfático involucrado en la excreción de polímeros funciona mal, de manera que las nanopartículas permeadas se retienen continuamente en el tejido (efecto de permeabilidad y retención mejoradas, efecto EPR). Dado que un fármaco de bajo peso molecular general se filtra de un vaso sanguíneo debido a la permeación de membrana de las células vasculares, se distribuye de forma no selectiva en el tejido y no se acumula en el tejido canceroso sólido. De conformidad con la metodología del efecto EPR, la administración de fármacos basada en nanopartículas da como resultado una selectividad de tejido mejorada para el cáncer sólido en la distribución de un fármaco, ya que la distribución al tejido está regida por la permeabilidad de espacios celulares endoteliales vasculares. Por lo tanto, el efecto EPR es un apoyo académico prometedor en el desarrollo de medicamentos aplicados a la nanotecnología (nanomedicina) dirigidos al cáncer sólido.

30

Se cree que un proceso de administración de fármacos en el efecto EPR ocurre a través del flujo sanguíneo y que el proceso de extravasación de nanopartículas es pasivo. Por lo tanto, para maximizar

35

la acumulación de nanopartículas en cáncer sólido, es importante impartir un diseño molecular que pueda soportar la retención sanguínea a largo plazo a los componentes constituyentes de las nanopartículas utilizadas como portadores de administración de fármacos. Los portadores de administración de fármacos por lo tanto requieren que tengan la capacidad de evitar barreras tales como interacciones no específicas con componentes sanguíneos, reconocimiento de cuerpos extraños por el sistema reticuloendotelial (RES, por sus siglas en inglés) en el hígado, bazo y pulmones, y filtración glomerular en los riñones. Además, se sabe que estas barreras se pueden superar al optimizar las propiedades de las partículas tales como el diámetro de las partículas y la modificación de la superficie con un polímero biocompatible. Por ejemplo, es deseable que el diámetro de partículas del portador de administración de fármacos sea mayor que aproximadamente 6 nm, el cual es el umbral para la depuración renal, y menor que 200 nm, lo cual puede evitar el reconocimiento por el RES.

También se sabe que el diámetro de las partículas del portador de administración de fármacos afecta la permeación de tejido en un sitio de enfermedad. Por ejemplo, se ha comparado y estudiado la actividad anticancerígena de nanopartículas encapsulantes de fármacos con diámetros de partícula de 30 nm, 50 nm, 70 nm y 100 nm, las cuales presentan retención sanguínea equivalente, y se ha revelado que las nanopartículas encapsulantes de fármacos con un diámetro de partícula de 30 nm alcanzan las partes profundas de un sitio de enfermedad y de esa forma presentan el mayor efecto terapéutico (Literatura de No Patente 1). Por lo tanto, sería deseable para el diámetro de partícula de las nanopartículas para un portador de administración de fármacos dirigido al cáncer sólido al ser lo más pequeño posible dentro del rango que evite la depuración renal.

A medida que las nanopartículas para portadores de administración de fármacos, se han desarrollado métodos que utilizan dispersiones coloidales tal como liposomas, emulsiones o nanopartículas, métodos que utilizan materias primas derivadas biológicamente tal como albúmina, métodos que utilizan polímeros naturales tal como polisacáridos naturales o métodos que utilizan polímeros sintéticos. Entre ellos, los polímeros sintéticos se utilizan ampliamente como constituyentes de portadores de administración de fármacos porque es posible para preparar nanopartículas cuyo diámetro de partícula se controla con precisión seleccionando apropiadamente monómeros como componentes constituyentes y métodos de síntesis.

Por ejemplo, se describe un método para utilizar un copolímero de bloque anfifílico compuesto de un segmento hidrófilo y un segmento hidrófobo como portador de administración de fármacos. El copolímero de bloque se asocia espontáneamente en un medio acuoso mediante, por ejemplo, interacción hidrófoba entre moléculas como una fuerza impulsora para formar nanopartículas de tipo núcleo-capa (micelas poliméricas). Se sabe que es posible encapsular un fármaco de bajo peso molecular en o unirlo al segmento hidrófobo de la micela polimérica, y la micela polimérica encapsulante de fármacos obtenida exhibe alta estabilidad sanguínea, y debido a la acumulación selectiva en cáncer

sólido a través del efecto EPR, alta actividad anticancerígena en comparación con la administración de una solución de un fármaco de bajo peso molecular (Literatura de Patente 1). Sin embargo, dado que la micela polimérica es un ensamblaje de moléculas múltiples, un diámetro de partícula de aproximadamente 30 nm es el valor límite más bajo que puede prepararse, y esto puede dificultar al

5 controlar finamente el tamaño en la vecindad de un diámetro de partícula de 10 nm que puede evitar la influencia de aclaramiento renal.

Mientras tanto, entre las nanopartículas formadas a partir de un polímero sintético, se sabe que las que forman partículas mediante, por ejemplo, reticulación química, interacción hidrófoba o unión iónica dentro de una sola cadena como una fuerza impulsora (en lo sucesivo abreviadas como nanopartículas

10 de cadena única (SCNP, por sus siglas en inglés)) al formar nanopartículas que tienen un diámetro de partícula pequeño de 20 nm o menos (Literatura de No Patente 2). Por lo tanto, aunque se espera que las SCNP sean útiles como portadores de administración de fármacos, hasta el momento no se ha encontrado una técnica para controlar con precisión su diámetro de partícula.

Otra tecnología de administración de fármacos es un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC, por sus siglas

15 en inglés) que permite la administración dirigida de un agente citotóxico (fármaco) a células tumorales que expresan antígenos (Literatura de No Patente 3 a 5). El ADC tiene tres componentes: un anticuerpo (Ab), un enlazador y un fármaco. Con el fin de lograr la administración tópica al objetivo, el fármaco se enlaza o conjuga con el anticuerpo. Un método de conjugación general involucra una modificación química a través de un grupo amino de una cadena lateral de lisina del anticuerpo o un grupo sulfhidrilo

20 de cisteína obtenido mediante la reducción de un enlace disulfuro entre cadenas. El diseño del ADC sigue siendo un desafío y una pluralidad de elementos (por ejemplo, selección de anticuerpos, estabilidad del enlazador, fármaco/toxina (carga útil) y cinética de escisión de los mismos) debe controlarse. Aquí, un parámetro importante es el número de cargas útiles para un solo anticuerpo (relación fármaco-anticuerpo (DAR, por sus siglas en inglés)). Un anticuerpo al cual se unen muchas moléculas de

25 fármaco/toxina exhibe una unión deficiente a un antígeno objetivo o una eliminación rápida in vivo del torrente sanguíneo, y generalmente únicamente un número limitado de moléculas de fármaco/toxina se pueden unir a un anticuerpo (típicamente, la DAR es de 4 a 6). Como un resultado, se debe utilizar un agente altamente tóxico con una IC₅₀ de menos de 1 nM (por ejemplo, caliqueamicina o éster monometílico de auristatina (MMAE, por sus siglas en inglés)) para obtener una eficacia suficiente para

30 matar o dañar las células objetivo (Literaturas de No Patente 6 y 7). Por consiguiente, si una pequeña parte del conjugado actúa sobre células no objetivo, puede aparecer una toxicidad grave fuera del objetivo. De esta forma, se ha deseado una nueva aproximación que combine una alta eficacia con tolerabilidad mejorada.

Lista de Citas

Literatura de Patente

Literatura de Patente 1: JP 3270592 B2

Literatura de No Patente

- 5 Literatura de No Patente 1: H. Cabral et al., Nat. Nanotechnol. 6 815-823 (2011)
- Literatura de No Patente 2: Jose A. Pomposo, Single-Chain Polymer Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Simulations, and Applications (2017)
- Literatura de No Patente 3: Chari, R.V. et al., Angew.Chem.Int.Ed. 53, 3796-3827 (2014)
- Literatura de No Patente 4: Jagadeesh, D., Smith, M.R., Curr.Treat.Options Oncol. 17, 55 (2016)
- 10 Literatura de No Patente 5: Ducry, L., Stump, B., Bioconjugate Chem. 21, 5-13 (2010)
- Literatura de No Patente 6: Casi, G., Neri, D., J.Controlled Release 161, 422-428 (2012)
- Literatura de No Patente 7: Wu, A. M., Senter, P.D., Nat.Biotechnol. 23, 1137-1146 (2005)

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

15

Problema Técnico

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un copolímero para un portador de administración de fármacos dirigido a tumores. Más específicamente, es un objetivo de la presente invención proporcionar un copolímero para un portador de administración de fármacos que pueda mejorar la retención sanguínea y/o la acumulación tumoral de un fármaco.

20

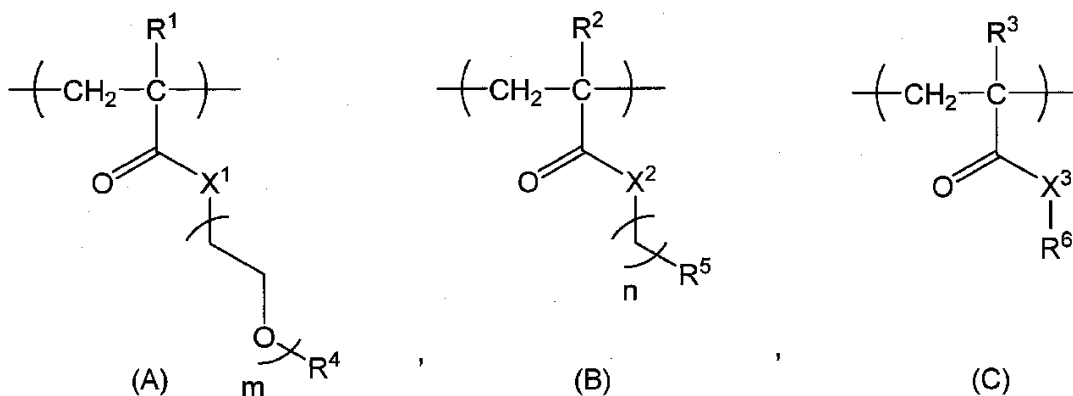
Solución al Problema

Para lograr los objetivos mencionados anteriormente, los presentes inventores llevaron a cabo una investigación exhaustiva y descubrieron que un terpolímero de un derivado de ácido acrílico tiene la propiedad de formar SCNP en agua. Además, los presentes inventores lograron crear un polímero novedoso para un portador de administración de fármacos, el cual es capaz de controlar con precisión el diámetro de partícula de las SCNP a una escala diminuta de 20 nm o menos y aproximadamente 10 nm, y tiene una alta acumulación tumoral. Cuando se administró un complejo farmacológico en el que un agente anticanceroso se transportaba o se unía al polímero a un modelo de ratón con un cáncer implantado subcutáneamente, mostró un excelente efecto antitumoral.

25

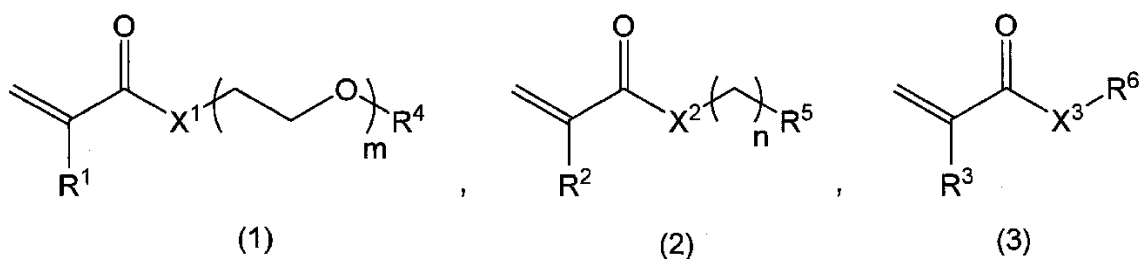
30 La presente invención se refiere a las siguientes invenciones:

[1] Un copolímero en el cual una molécula de reconocimiento objetivo está unida a un copolímero X que comprende unidades estructurales representadas por las siguientes fórmulas (A), (B) y (C):



en donde, R^1 , R^2 y R^3 son iguales o diferentes y representan un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, R^4 representa un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, R^5 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo adamantilo, un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, X^1 , X^2 y X^3 son los mismos o diferentes y representan un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o N- R^7 , R^6 representa un átomo de hidrógeno, un grupo saliente o un enlazador; R^7 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, m representa un número entero de 1 a 100 y n representa un número entero de 0 a 3.

[2] El copolímero de conformidad con [1], en donde el copolímero X es un copolímero formado por polimerización de tres tipos de monómeros representados por las siguientes fórmulas generales (1) a (3):



en donde R^1 , R^2 y R^3 son los mismos o diferentes y representan un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, R^4 representa un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, R^5 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo adamantilo, un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, X^1 , X^2 y X^3 son los mismos o diferentes y representan un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o N- R^7 , R^6 representa un átomo de hidrógeno, un grupo

saliente o un enlazador, R^7 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, m representa un número entero de 1 a 100 y n representa un número entero de 0 a 3.

[3] El copolímero de conformidad con [1] o [2], en donde R^1 es un átomo de hidrógeno.

[4] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [3], en donde R^2 es un átomo de hidrógeno.

5 [5] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [4], en donde R^3 es un átomo de hidrógeno.

[6] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [5], en donde R^4 es un grupo metilo.

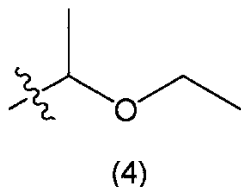
[7] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [6], en donde R^5 es un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente.

[8] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [7], en donde R^5 es un grupo fenilo.

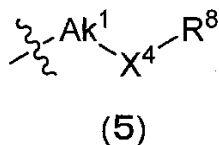
10 [9] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [8], en donde R^6 es un átomo de hidrógeno.

[10] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [8], en donde el grupo saliente de R^6 es un grupo representado por la siguiente fórmula (4).

15



[11] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [8], en donde el enlazador de R^6 es un grupo representado por la siguiente fórmula (5):



20

en donde, R^8 representa un átomo de hidrógeno o un fármaco, Ak^1 representa un enlace de alquileo de 1 a 7 átomos de carbono y X^4 representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o $-N(R^7)-$ (R^7 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono).

[12] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [11], en donde X^1 es un átomo de oxígeno.

25 [13] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [12], en donde X^2 es un átomo de oxígeno.

[14] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [13], en donde X^3 es un átomo de oxígeno o NH.

[15] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [14], en donde m es un número entero de 4 a 22.

30 [16] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [15], en donde n es 1.

[17] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [16], en donde una relación de unidades estructurales (A), (B) y (C) está compuesta de 0.01 a 100 partes en masa de (B) y de 0.1 a 100 partes

en masa de (C) con respecto a 1 parte en masa de (A).

[18] El copolímero de conformidad con cualquiera de [2] a [16], en donde de 0.01 a 100 partes en masa de monómero (2) y de 0.1 a 100 partes en masa de monómero (3) se polimerizan con respecto a 1 parte en masa de monómero (1).

5 [19] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [18], en donde el copolímero tiene un peso molecular promedio en número de 5 000 a 150 000.

[20] El copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [19], en donde la molécula de reconocimiento objetivo es un anticuerpo.

10 [21] El copolímero de conformidad con [20], en donde el anticuerpo es un anticuerpo anti-EGFR, un anticuerpo anti-Her2, un anticuerpo anti-CD20, un anticuerpo anti-CD276, un anticuerpo anti-MUC1, un anticuerpo anti-PD-L1 o un anticuerpo anti-TROP-2.

[22] El copolímero de conformidad con [20], en donde el anticuerpo es cetuximab, panitumumab, necitumumab, amivantamab, panitumumab, trastuzumab, pertuzumab, margetuximab, rituximab, ibritumomab, tositumomab, ofatumumab, obinutuzumab, clivatuzumab, gatipotuzumab, ifinatamab, 15 mirzotamab, vobramitamab, atezolizumab, avelumab, durvalumab, sacituzumab o fragmentos funcionales de los mismos.

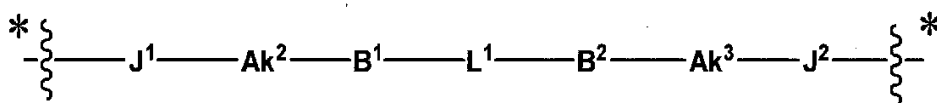
[23] Un complejo de fármaco que incluye el copolímero de conformidad con cualquiera de [1] a [22] y un fármaco.

20 [24] El complejo de fármaco de conformidad con [23], en donde el fármaco es un antimetabolito, un agente alquilante, una antraciclina, un antibiótico, un inhibidor mitótico, un inhibidor de la topoisomerasa, un inhibidor del proteasoma o un agente antihormonal.

[25] El complejo de fármaco de conformidad con [23], en donde el fármaco es DM0, DM1, DM2, DM3, DM4, emtansina, auristatina E, auristatina fenilalanina fenilendiamina (AFP), monometil auristatina E, monometil auristatina D, monometil auristatina F, paclitaxel, docetaxel, irinotecán, topotecán, nogitecán, 25 amsacrina, etopósido, tenipósido, mizantrona, SN-38, exatecán o deruxtecán.

[26] El complejo de fármaco de conformidad con cualquiera de [23] a [25], en donde un enlace de la molécula de reconocimiento objetivo o el fármaco al copolímero X es un enlace covalente o un enlace no covalente.

30 [27] Complejo de fármaco de conformidad con cualquiera de [23] a [26], en donde el enlace de la molécula de reconocimiento objetivo o el fármaco al copolímero X está representado por la siguiente fórmula (a):



(a)

en donde, J¹ es un enlace a la molécula de reconocimiento objetivo o al fármaco, J² es un enlace al copolímero X, Ak² y Ak³ representan cada uno independientemente un enlace individual o un enlace de alquileo de 1 a 7 átomos de carbono, B¹ y B² cada uno representan independientemente un enlace individual, un enlace de amida o un enlace de éster, L¹ representa un enlace individual, - (CH₂CH₂O)_oCH₂CH₂-, fenileno, ciclohexileno, -NH-péptido-CO- o fenileno-NH-péptido-CO-, y o representa un número entero de 0 a 100.

[28] Una nanopartícula de cadena individual que incluye el copolímero o el complejo de fármaco de conformidad con cualquiera de [1] a [27].

[29] Una composición farmacéutica que incluye el copolímero o el complejo de fármaco de conformidad con cualquiera de [1] a [28].

Efectos Ventajosos de la Invención

Como será evidente a partir de los ejemplos descritos a continuación, un SCNP obtenido por autoasociación del copolímero de la presente invención que lleva o se une a un agente anticanceroso, exhibió un efecto supresor del crecimiento de tumor en un modelo de ratón portador de tumores, y por lo tanto se puede aplicar como un agente terapéutico para tumores malignos. Dado que el SCNP obtenido por autoasociación del copolímero de la presente invención que lleva o se une al agente anticanceroso tiene un DAR alto en comparación con un ADC existente, y tiene un alto efecto supresor del crecimiento tumoral a una dosis baja, es posible proporcionar un agente terapéutico para tumores malignos capaz de lograr tanto la mejora de una acción farmacológica como la supresión de efectos secundarios. Entonces, el copolímero al cual la molécula de reconocimiento objetivo de la presente invención está unida es útil como un agente de administración de fármacos que utiliza una molécula de reconocimiento objetivo específica objetivo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es un diagrama que muestra un espectro de ¹H-NMR de un copolímero obtenido en el Ejemplo 1 medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR, por sus siglas en inglés).

La Figura 2 es un diagrama que muestra un cromatograma de un copolímero obtenido en el Ejemplo 1 obtenido mediante cromatografía de permeación en gel (GPC , por sus siglas en inglés).

La Figura 3 es un diagrama que muestra un resultado de medición de diámetro de partícula (distribución de intensidad de dispersión) en dispersión de luz dinámica (DLS, por sus siglas en inglés) para un copolímero antes de encapsular DACHPt (Ejemplo 69) y un SCNP que encapsula DACHPt (Ejemplo 70).

La Figura 4 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de N_3 -poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metil éter)-co-(ácido acrílico)] obtenido en el Ejemplo 71, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 5 es un diagrama que muestra un cromatograma obtenido por cromatografía de permeación en gel (GPC) para N_3 -poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metiléter)-co-(ácido acrílico)] obtenido en el Ejemplo 71.

La Figura 6 es un diagrama que muestra un espectro UV de N_3 -poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metiléter)-co-(ácido acrílico)]-isobutironitrilo obtenido en el Ejemplo 92, medido al usar medición del espectro de UV (UV).

La Figura 7 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a DM1-cisteamina obtenido en el Ejemplo 96, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 8 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a DM1-N-4-APM obtenido en el Ejemplo 108, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 9 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a 1,4-diaminobutano obtenido en el Ejemplo 109, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 10 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a DM1-MHA-1,4-diaminobutano obtenido en el Ejemplo 117, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 11 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a DM1-SPDP-1,4-diaminobutano obtenido en el Ejemplo 118, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 12 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a DM1-SMCC-1,4-diaminobutano obtenido en el Ejemplo 122, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 13 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a DM1-CL-031-1,4-diaminobutano obtenido en el Ejemplo 124, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 14 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a DM1-CL-018-1,4-diaminobutano obtenido en el Ejemplo 125, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 15 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a DM1-CL-038-1,4-diaminobutano obtenido en el Ejemplo 126, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 16 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a DM1-CL-047-1,4-diaminobutano obtenido en el Ejemplo 127, medido al usar la resonancia magnética nuclear

(NMR).

La Figura 17 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a SN-38-CO-1,4-diaminobutano obtenido en el Ejemplo 128, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 18 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a deruxotecan-SPDP-1,4-diaminobutano obtenido en el Ejemplo 129, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 19 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a 4-hidroxibutilamina obtenido en el Ejemplo 130, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 20 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a estaurosporina (STS, por sus siglas en inglés) obtenido en el Ejemplo 131, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 21 es un diagrama que muestra un espectro de ^1H -NMR de un copolímero unido a exatecan-PAB-Cit-Val-Ahx obtenido en el Ejemplo 158, medido al usar la resonancia magnética nuclear (NMR).

La Figura 22 es un diagrama que muestra un cambio en el volumen tumoral relativo cuando se administró una solución de oxaliplatino o el SCNP que encapsula DACHPt (Ejemplo 70) 3 veces cada dos días a un ratón modelo que tiene una espalda trasplantada subcutáneamente con una línea celular de cáncer de colon de ratón (C26).

La Figura 23 es un diagrama que muestra un cambio en el volumen de tumor cuando se administró solución salina fisiológica o complejo de fármaco micelar unido a cetuximab (Ejemplo 138) a un ratón modelo que tiene una porción ventral derecha trasplantada subcutáneamente con una línea celular de cáncer de colon humano HT-29 EGFR-positiva de ratón.

La Figura 24 es un diagrama que muestra un cambio en el volumen de tumor cuando se administró solución salina fisiológica o complejo de fármaco micelar unido a trastuzumab (Ejemplo 151) a un ratón modelo que tiene una porción ventral derecha trasplantada subcutáneamente con una línea celular de cáncer gástrico humano HER2-positiva de ratón NCI-N87.

La Figura 25 es un diagrama que muestra un cambio en el volumen de tumor cuando se administró solución salina fisiológica o complejo de fármaco micelar unido a cetuximab (Ejemplo 160 o Ejemplo 161) a un ratón modelo que tiene una porción ventral derecha trasplantada subcutáneamente con una línea celular de cáncer de mama humano de ratón EGFR-positiva MDA-MB-468.

La Figura 26 es un diagrama que muestra un cambio en el volumen de tumor cuando se administró solución salina fisiológica o complejo de fármaco micelar unido a cetuximab (Ejemplo 162 o Ejemplo 163) a un ratón modelo que tiene una porción ventral derecha trasplantada subcutáneamente con una línea celular de cáncer de colon humano EGFR-positiva HCT-116 que tiene mutación KRAS (G13D).

Los términos de la presente descripción se utilizan en los significados comúnmente utilizados en el campo a menos que se especifique de otra forma. A continuación, la presente invención se describirá con más detalle.

- 5 En la presente descripción, el término "nanopartícula" se refiere a una estructura que muestra un diámetro de partícula de 100 nm o menos.

En la presente descripción, el término "nanopartícula de cadena individual (SCNP)" se refiere a una nanopartícula formada mediante uso, por ejemplo, de reticulación química, interacción hidrofóbica o enlace iónico en una cadena individual como una fuerza impulsora. La SCNP frecuentemente indica una nanopartícula que tiene un diámetro de partícula relativamente pequeño de 20 nm o menos entre nanopartículas.

En la presente descripción, el término "iniciador" significa un iniciador para la polimerización radical térmica, tal como un compuesto azo o un peróxido.

- 15 En la presente descripción, el término "agente de transferencia de cadena" se refiere a un compuesto que causa una reacción de transferencia de cadena en la polimerización radical, y es preferiblemente un compuesto que tiene un grupo tiocarbonilo.

En la presente descripción, el término "grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono" significa un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 3 átomos de carbono, y ejemplos del mismo incluyen un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo y un grupo isopropilo.

- 20 En la presente descripción, el término "grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono" significa un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 18 átomos de carbono, y ejemplos del mismo incluyen un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo, un grupo isopropilo, un grupo n-butilo, un grupo isobutilo, un grupo sec-butilo, un grupo terc-butilo, un grupo pentilo, un grupo hexilo, un grupo heptilo, un grupo octilo, un grupo nonilo, un grupo decilo, un grupo undecilo, un grupo dodecilo, un grupo tridecilo, un grupo tetradecilo, un grupo pentadecilo, un grupo hexadecilo, un grupo heptadecilo y un grupo octadecilo.

- En la presente descripción, el término "grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente" significa un grupo alquilo cíclico que tiene de 3 a 8 átomos de carbono, y ejemplos del mismo incluyen un grupo ciclopropilo, un grupo ciclobutilo, un grupo ciclopentilo, un grupo ciclohexilo, un grupo cicloheptilo y un grupo ciclooctilo. El sustituyente no está particularmente limitado, y los ejemplos del mismo incluyen un átomo de halógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquenilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo alquinilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo alquilamino que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo di-alquilamino que
- 35 tiene de 1 a 6 átomos de carbono en el que los grupos alquilo son iguales o diferentes, un grupo tiol,

un grupo alquiltio que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo carboxilo, un grupo alcoxicarbonilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono y un grupo carbamoilo.

En la presente descripción, el término "grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente" significa un grupo de hidrocarburo aromático condensado monocíclico o policíclico,

5 y ejemplos del mismo incluyen un grupo fenilo, un grupo naftilo, un grupo antracenilo, un grupo fenantrenilo, un grupo trifenilenilo, un grupo pirenilo, un grupo crisenilo y un grupo naftacenilo. Además, un "grupo arilo de 6 a 14 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente" significa un grupo hidrocarburo aromático condensado monocíclico o policíclico, y ejemplos del mismo incluyen un grupo fenilo, un grupo naftilo, un grupo antracenilo y un grupo fenantrenilo. El sustituyente no está
10 particularmente limitado, y ejemplos del mismo incluyen un átomo de halógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquenilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo alquinilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo alquilamino que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo di-alquilamino que tiene de 1 a 6 átomos de carbono en el que los grupos alquilo son iguales o
15 diferentes, un grupo tiol, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo carboxilo, un grupo alcoxicarbonilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono y un grupo carbamoilo.

En la presente descripción, el término "grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente" significa un grupo heterocíclico aromático monocíclico de 5 a 10 miembros o un grupo heterocíclico aromático condensado que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de un átomo de

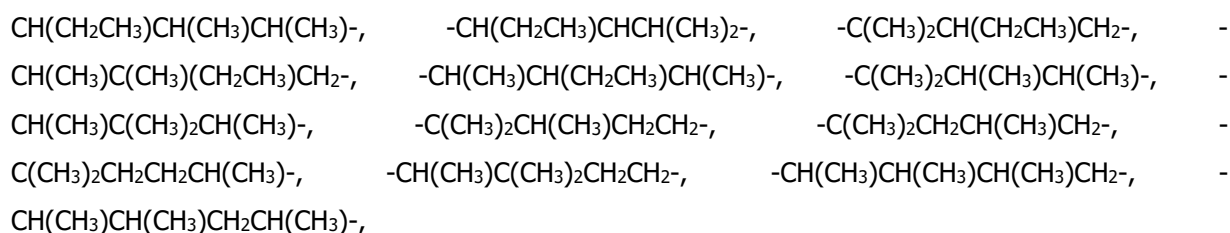
20 nitrógeno, un átomo de oxígeno y un átomo de azufre, distinto de un átomo de carbono, como átomos que constituyen el anillo. Los ejemplos del grupo heterocíclico aromático monocíclico incluyen un grupo furilo, un grupo tienilo, un grupo pirrolilo, un grupo piridinilo, un grupo pirazinilo, un grupo pirimidinilo, un grupo piridazinilo, un grupo imidazolilo, un grupo pirazilo, un grupo tialilo, un grupo oxazolilo, un grupo isoxazolilo, un grupo 1,3,4-tiadiazolilo, un grupo 1,2,3-triazolilo, un grupo 1,2,4-triazolilo y un
25 grupo tetrazolilo. Los ejemplos del grupo heterocíclico aromático condensado incluyen un grupo benzofuranilo, un grupo benzotiofenilo, un grupo quinoxalinilo, un grupo indolilo, un grupo isoindolilo, un grupo isobenzofuranilo, un grupo cromanilo, un grupo bencimidazolilo, un grupo benzotiazolilo, un grupo benzoxazolilo, un grupo quinolilo y un grupo isoquinolinilo. El término "grupo heteroarilo de 6 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente" significa un grupo heterocíclico aromático
30 monocíclico de 6 a 10 miembros o un grupo heterocíclico aromático condensado que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre un átomo de nitrógeno, un átomo de oxígeno y un átomo de azufre, distinto de un átomo de carbono, como los átomos que constituyen el anillo. Los ejemplos del grupo heterocíclico aromático monocíclico incluyen un grupo piridinilo, un grupo pirazinilo, un grupo pirimidinilo y un grupo piridazinilo. Los ejemplos del grupo heterocíclico aromático condensado incluyen un grupo
35 benzofuranilo, un grupo benzotiofenilo, un grupo quinoxalinilo, un grupo indolilo, un grupo isoindolilo,

un grupo isobenzofuranilo, un grupo cromanilo, un grupo bencimidazolilo, un grupo benzotiazolilo, un grupo benzoxazolilo, un grupo quinolilo y un grupo isoquinolinilo. El sustituyente no está particularmente limitado, y los ejemplos del mismo incluyen un átomo de halógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquenilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo alquinilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo alquilamino que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo dialquilamino que tiene de 1 a 6 átomos de carbono en el que los grupos alquilo son iguales o diferentes, un grupo tiol, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo carboxilo, un grupo alcóxicarbonilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono y un grupo carbamoilo.

10 En la presente descripción, los ejemplos del "átomo de halógeno" incluyen un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo y un átomo de yodo.

En la presente descripción, el término “enlace de alquileo de 1 a 7 átomos de carbono” significa un grupo alquileo lineal o ramificado que tiene de 1 a 7 átomos de carbono, que puede estar sustituido, y los ejemplos del mismo incluyen un grupo metileno, un grupo etileno, un grupo propileno, un grupo

15 butileno, un grupo pentileno, un grupo hexileno, un grupo heptileno, -CH(CH₃)-, -C(CH₃)₂-, -CH(CH₂CH₃)-,
-, -CH(CH₃)CH₂-, -CH(CH₂CH₂CH₃)-, -CH(CH₂(CH₃)₂)-, -C(CH₃)(CH₂CH₃)-, -C(CH₃)₂CH₂-, -CH(CH₂CH₃)CH₂-,
-, -CH(CH₃)CH(CH₃)-, -CH(CH₃)CH₂CH₂-, -CH₂CH(CH₃)CH₂-, -CH(CH₂CH₂CH₂CH₃)-, -C(CH₃)(CH₂CH₂CH₃)-, -
-, C(CH₂CH₃)₂-, -CH(CH₂CH₂CH₃)CH₂-, -CH(CH₂(CH₃)₂)CH₂-, -C(CH₃)(CH₂CH₃)CH₂-, -C(CH₃)₂CH(CH₃)-, -
-, CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)-, -C(CH₃)₂CH₂CH₂-, -CH(CH₂CH₃)CH₂CH₂-, -CH₂CH(CH₂CH₃)CH₂-, -
20 CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂-, -CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃)-, -C(CH₃)(CH₂CH₂CH₂CH₃)-, -
-, C(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃)-, -C(CH₂CH₃)(CH₂(CH₃)₂)-, -CH(CH₂CH₂CH₂CH₃)CH₂-, -CH(CH(CH₃)CH₂CH₃)CH₂-,
-, -CH(CH₂CH(CH₃)CH₃)CH₂-, -CH(CH₂CH₂(CH₃)₂)CH₂-, -C(CH₃)(CH₂CH₂CH₃)CH₂-, -C(CH₂CH₃)₂CH₂-, -
-, CH(CH₂(CH₃)₂)CH₂-, -C(CH₃)(CH₂CH₃)CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)C(CH₃)₂-, -CH(CH₂CH₃)CH(CH₂CH₃)-, -
-, C(CH₃)₂C(CH₃)₂-, -CH(CH₂CH₂CH₃)CH₂CH₂-, -CH(CH₂(CH₃)₂)CH₂CH₂-, -CH₂CH(CH₂CH₂CH₃)CH₂-, -
25 CH₂CH(CH₂(CH₃)₂)CH₂-, -C(CH₃)(CH₂CH₃)CH₂CH₂-, -CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)CH₂-, -CH(CH₂CH₃)CH₂CH(CH₃)-,
-, -CH₂CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)-, -CH(CH₃)CH(CH₃)CH(CH₃)-, -C(CH₃)₂CH(CH₃)CH₂-, -C(CH₃)₂CH₂CH(CH₃)-, -
-, CH(CH₂CH₃)CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH(CH₂CH₃)CH₂CH₂-, -C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₂-, -CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₂-, -
-, CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)CH₂-, -CH(CH₃)CH₂CH₂CH(CH₃)-, -CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₂-, -
-, CH₂CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH(CH₃)CH₂CH₂-, -C(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₂CH₃)-, -C(CH₂CH₂CH₃)₂-, -
30 C(CH₃)(CH₂CH₂CH₂CH₃)CH₂-, -C(CH₃)(CH(CH₃)CH₂CH₃)CH₂-, -C(CH₃)(CH₂CH(CH₃)CH₃)CH₂-, -
-, C(CH₃)(CH₂CH₂(CH₃)₂)CH₂-, -CH(CH₂CH₂CH₂CH₃)CH(CH₃)-, -CH(CH(CH₃)CH₂CH₃)CH(CH₃)-, -
-, CH(CH₂CH(CH₃)CH₃)CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₂(CH₃)₂)CH(CH₃)-, -C(CH₃)(CH₂CH₂CH₃)CH(CH₃)-, -
-, C(CH₂CH₃)₂CH(CH₃)-, -CH(CH₂(CH₃)₂)CH(CH₃)-, -C(CH₃)(CH₂CH₃)C(CH₃)₂-, -C(CH₃)(CH₂CH₂CH₃)CH₂CH₂-
-, -CH(CH₂CH₂CH₃)CH(CH₃)CH₂-, -CH(CH₂CH₂CH₃)CH₂CH(CH₃)-, -CH₂CH(CH₂CH₂CH₃)CH(CH₃)-, -
35 C(CH₃)(CH₂CH₃)CH(CH₃)CH₂-, -C(CH₃)(CH₂CH₃)CH₂CH(CH₃)-, -CH(CH₂CH₃)C(CH₃)₂CH₂-,



$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, y $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$. El sustituyente no está particularmente limitado y puede sustituir a cualquier átomo de hidrógeno, y ejemplos del mismo incluyen un grupo fenoxi, un ácido carboxílico, un ácido sulfónico, un ácido fosfórico, un grupo hidroxilo y un grupo tiol.

En la presente descripción, el término "molécula de reconocimiento objetivo" significa una molécula que reconoce y se une específicamente a un marcador o un receptor (por ejemplo, una proteína de transmembrana, una proteína insolubilizada de superficie o un proteoglicano) expresado en una superficie celular. La molécula de reconocimiento objetivo es una molécula que reconoce específicamente un objetivo específico a o sobreexpresada en células cancerosas necesaria para el crecimiento o la metástasis del cáncer, y ejemplos del mismo incluyen anticuerpos, lipocalinas (por ejemplo, anticalinas), proteínas (por ejemplo, interferones, linfocinas, factores de crecimiento o factores estimulantes de colonias), péptidos (por ejemplo, un péptido dirigido al receptor de LHRH o un péptido EC-1) y peptidomiméticos. Además de tener una especificidad de enlace, la molécula de reconocimiento objetivo también puede tener ciertos efectos terapéuticos, tal como una actividad antiproliferativa (inhibición de proliferación celular y/o citotoxicidad), sobre una célula o vía objetivo. La molécula de reconocimiento objetivo puede transportarse en el copolímero por una acción tal como interacción electrostática, enlace de hidrógeno, interacción hidrófoba o enlace covalente al copolímero X de la presente invención. La molécula de reconocimiento objetivo puede modificarse hasta el punto de que se mantenga la especificidad de unión, y puede unirse al copolímero X a través de un grupo químicamente reactivo (por ejemplo, ácido carboxílico, amina primaria, amina secundaria o tiol), un residuo de aminoácido químicamente reactivo o una cadena lateral del mismo (por ejemplo, tirosina, histidina, cisteína, lisina). En lo sucesivo, el copolímero X de la presente invención unido a o transportado con la molécula de reconocimiento objetivo puede denominarse "copolímero reconocible por objetivo".

En la presente descripción, el término "anticuerpo" es una molécula que tiene una característica de unirse inmuno-específicamente a un antígeno objetivo y que tiene una secuencia derivada de una inmunoglobulina tal como IgG, IgM, IgA, IgD o IgE, o fragmentos funcionales de la misma. Se incluyen anticuerpos monoclonales, anticuerpos quiméricos, anticuerpos recombinantes o anticuerpos humanizados. El anticuerpo puede tener un idiotipo, y los ejemplos de un fragmento de unión a antígeno incluyen una región Fab, un fragmento $\text{F}(\text{ab}')_2$, un fragmento pFc' y un fragmento Fab' . La región Fab

incluye un dominio constante y un dominio variable derivados de cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo. El fragmento Fc y el fragmento Fab son fragmentos derivados de una inmunoglobulina escindida por una enzima papaína. El fragmento F(ab')₂ y el fragmento pFc' son fragmentos derivados de una inmunoglobulina escindida por una enzima pepsina. El fragmento Fab' se obtiene reduciendo el

5 fragmento F(ab')₂ en condiciones suaves. Como otra forma adicional, también es posible utilizar una proteína fusionada a Fc en la que se fusionan una proteína funcional, tal como un dominio extracelular del receptor y un dominio Fc de la inmunoglobulina. También es posible utilizar un anticuerpo biespecífico capaz de unirse a dos tipos de antígenos o un anticuerpo multiespecífico que tenga un sitio de unión al antígeno adicional. Además, también se puede realizar una modificación química o biológica. Cuando se

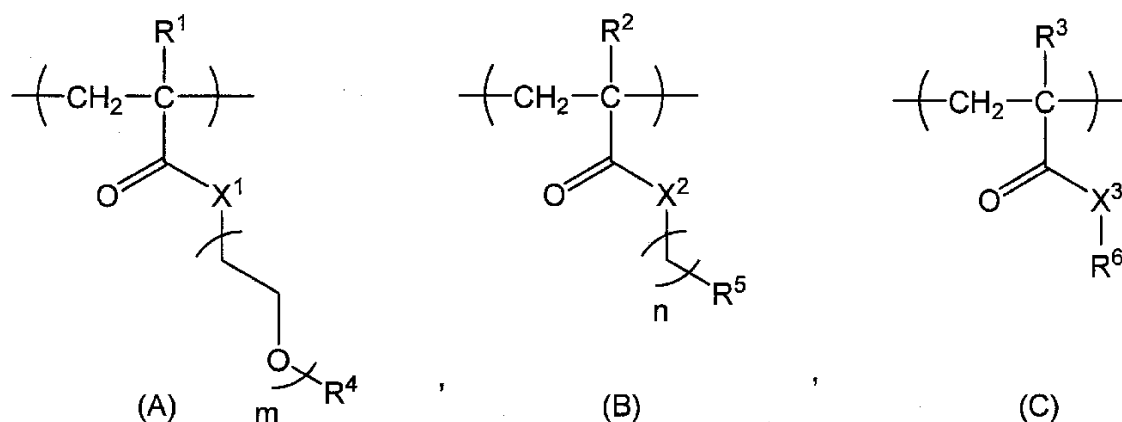
10 utiliza la tecnología de recombinación génica, es suficiente que se mantengan las características de una secuencia de aminoácidos original, y se permite la eliminación, sustitución, inserción o adición de uno o más aminoácidos de forma simultánea o por separado. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos es una secuencia de aminoácidos que tiene una homología del 80% o más, preferiblemente del 90% o más, y más preferiblemente, una secuencia de aminoácidos que tiene una homología del 95% o más.

15 En la presente descripción, el término "composición farmacéutica" significa una en la cual los ingredientes activos (fármaco, sustancia fisiológicamente activa) que puede utilizarse para el diagnóstico, prevención o tratamiento de una enfermedad se transportan en el copolímero X, el copolímero reconocible objetivo o el complejo farmacológico de la presente invención por una acción tal como interacción electrostática, enlace de hidrógeno, interacción hidrófoba o enlace covalente. Ejemplos

20 de la forma de transporte incluyen una forma en la cual el fármaco está presente en la superficie de partícula, una forma en la cual el fármaco está contenido en la nanopartícula y una forma de combinación de las mismas en donde el copolímero X, el copolímero reconocible por objetivo o el complejo farmacológico forman la nanopartícula.

Una modalidad de la presente invención es un copolímero o un complejo de fármaco en el cual una

25 molécula de reconocimiento objetivo está unida a un copolímero X que comprende unidades estructurales representadas por las siguientes fórmulas (A), (B) y (C).



en donde, R^1 , R^2 y R^3 son los mismos o diferentes y representan un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, R^4 representa un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, R^5 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo adamantilo, un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, X^1 , X^2 y X^3 son los mismos o diferentes y representan un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o N- R^7 , R^6 representa un átomo de hidrógeno, un grupo saliente o un enlazador, R^7 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, m representa un número entero de 1 a 100, y n representa un número entero de 0 a 3.

En el copolímero X de la presente invención, la unidad estructural (A) funciona como una unidad que imparte hidrofiliidad, y la unidad estructural (B) funciona como una unidad que imparte hidrofobicidad. Además, la unidad estructural (C) funciona como un andamio en el cual el ingrediente activo (fármaco o sustancia fisiológicamente activa) está unido al copolímero X o al copolímero reconocible por objetivo.

Tener estas tres unidades estructurales sirve para impartir al copolímero X, al copolímero reconocible por objetivo o el complejo farmacológico de la presente invención una propiedad de formar SCNP en agua, y para facilitar que el SCNP formado para controlar con precisión el diámetro de partícula a una escala diminuta de 20 nm o menos, y para funcionar como un portador de suministro de fármaco que tiene una alta acumulación tumoral.

R^1 en la unidad estructural (A) representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, y es preferiblemente un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, preferiblemente un átomo de hidrógeno, un grupo etilo o un grupo propilo, y más preferiblemente un átomo de hidrógeno.

X^1 representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o N- R^7 , y es preferiblemente un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o NH, y más preferiblemente un átomo de oxígeno.

m representa un número entero de 1 a 100, es preferiblemente un número entero de 3 a 100, y desde un punto de vista de impartir buena hidrofiliidad, preferiblemente de 3 a 80, más preferiblemente de 4

a 60, aún más preferiblemente de 4 a 40, e incluso más preferiblemente de 4 a 22.

R⁴ representa un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, específicamente un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo o un grupo isopropilo, preferiblemente un grupo metilo o un grupo etilo, y más preferiblemente un grupo metilo.

- 5 R² en la unidad estructural (B) representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, y es preferiblemente un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, preferiblemente un átomo de hidrógeno, un grupo etilo o un grupo propilo, y más preferiblemente un átomo de hidrógeno.

X² representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o N-R⁷, y es preferiblemente un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o NH, y más preferiblemente un átomo de oxígeno.

- 10 n representa un número entero de 0 a 3, preferiblemente un número entero de 1 a 3, y más preferiblemente 1.

R⁵ representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo adamantilo, un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo heteroarilo de

- 15 5 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, y desde un punto de vista de impartir la hidrofobicidad a la unidad estructural (B), preferiblemente un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo adamantilo, un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, más preferiblemente un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo adamantilo, un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, y aún más preferiblemente un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros, un grupo adamantilo o un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono.

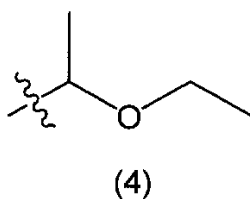
- 25 Mientras tanto, también es preferible un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo adamantilo, un grupo arilo de 6 a 14 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 6 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente. Aquí, el sustituyente es preferiblemente uno o más tipos seleccionados de un átomo de halógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alqueno que tiene de 2 a 6 átomos de carbono y un grupo alquino que tiene de 2 a 6 átomos de carbono.

R³ en la unidad estructural (C) representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, y es preferiblemente un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, preferiblemente un átomo de hidrógeno, un grupo etilo o un grupo propilo, y más preferiblemente un átomo de hidrógeno.

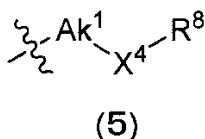
- 35 X³ representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o N-R⁷, y es preferiblemente un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o NH, y más preferiblemente un átomo de oxígeno o NH.

R⁶ representa un átomo de hidrógeno, un grupo saliente o un enlazador. El grupo saliente es un grupo que puede desprenderse cuando la unidad estructural (C) se une al fármaco (sustancia fisiológicamente activa), y el enlazador es un grupo que puede usarse para la reticulación cuando la unidad estructural (C) se une al fármaco (sustancia fisiológicamente activa). A medida que el grupo saliente o enlazador, un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente o un grupo aralquilo de 7 a 19 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente es preferible. Aquí, los ejemplos del sustituyente incluyen un átomo de halógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alquenilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo alquinilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo alquilamino que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo di-alquilamino que tiene de 1 a 6 átomos de carbono en el cual los grupos alquilo son los mismos o diferentes, un grupo tiol, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo carboxilo, un grupo alcoxycarbonilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, y un grupo carbamoil. Entre estos grupos, el enlazador es preferiblemente un grupo que tiene un grupo funcional tal como un grupo hidroxil, un grupo amino, un grupo tiol, o un grupo carboxil como un sustituyente.

Ejemplos específicos preferidos del grupo saliente de R⁶ incluye un grupo representado por la siguiente fórmula (4):



Los ejemplos específicos preferidos del enlazador de R⁶ incluyen un grupo representado por la siguiente fórmula (5):

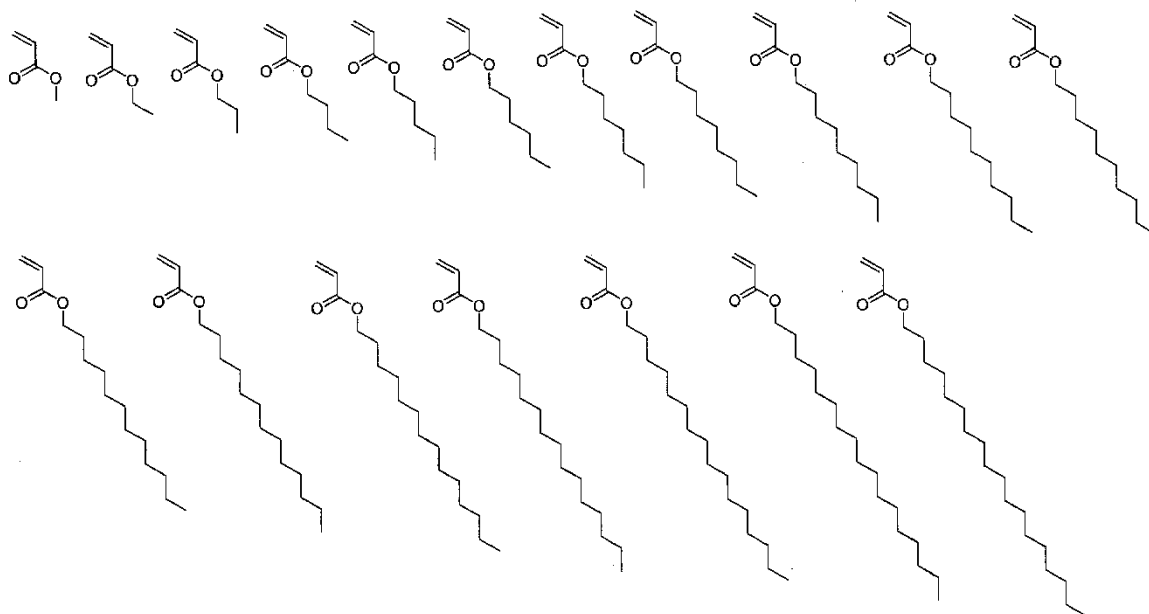


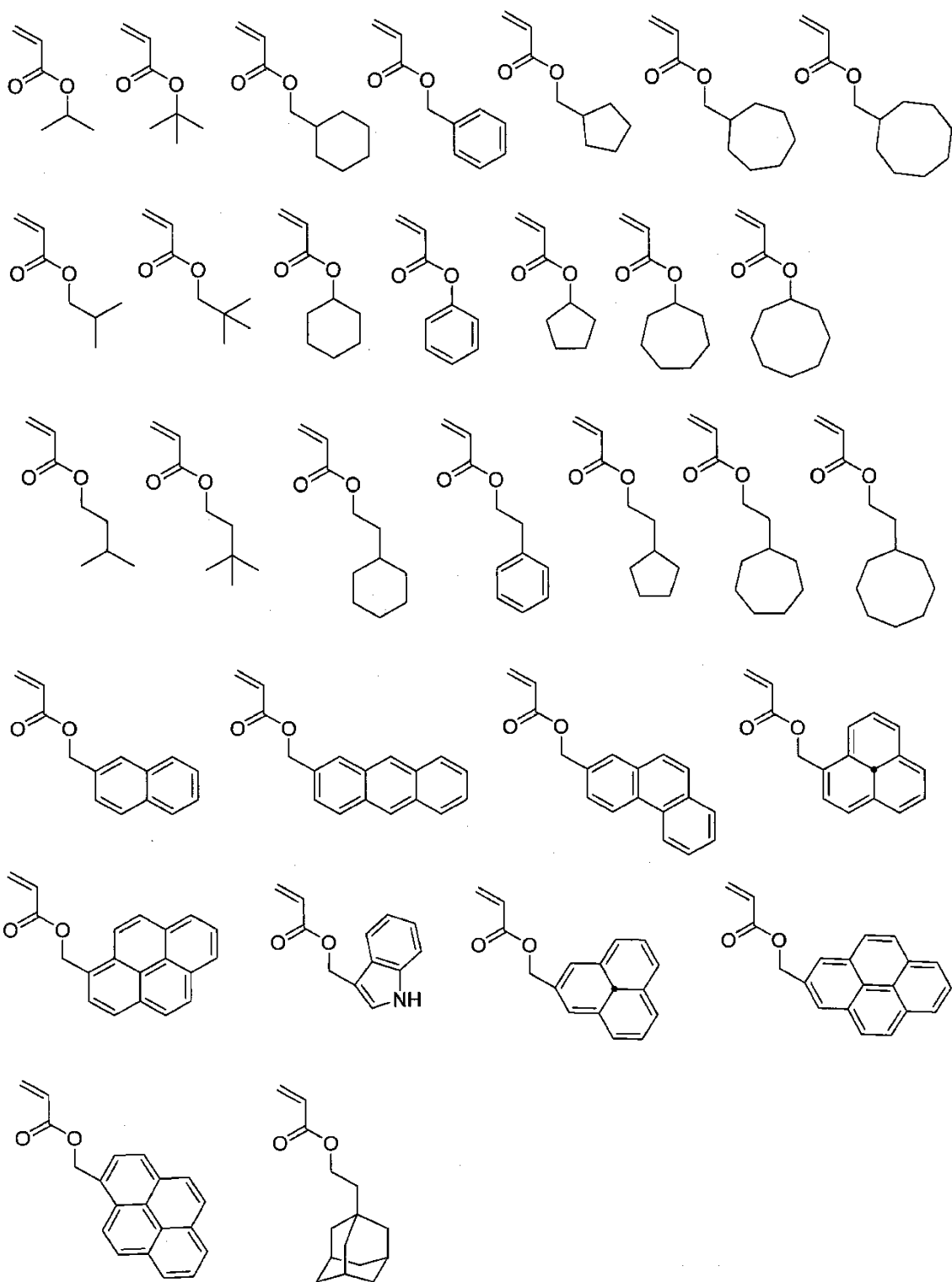
en donde, R⁸ representa un átomo de hidrógeno o un fármaco, Ak¹ representa un enlace alquilenos de 1 a 7 átomos de carbono, y X⁴ representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre, o -N(R⁷)- (R⁷ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilado de 1 a 3 átomos de carbono). Un grupo representado por la fórmula (5) en donde X⁴ representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o NH es más preferible.

El copolímero X de la presente invención es el copolímero que tiene las unidades estructurales

representadas por las fórmulas (A), (B) y (C). El copolímero X puede ser un copolímero aleatorio o un copolímero de bloque, y es preferiblemente un copolímero aleatorio. En cuanto a la proporción de composición de cada unidad estructural en una molécula, cuando (A) es 1 parte en masa, preferiblemente (B) es de 0.01 a 100 partes en masa y (C) es de 0.1 a 100 partes en masa; más
 5 preferiblemente (B) es de 0.05 a 18 partes en masa y (C) es de 0.1 a 20 partes en masa, y particularmente preferiblemente (B) es de 0.05 a 4 partes en masa y (C) es de 0.1 a 16 partes en masa. Un grado de polimerización del copolímero X de la presente invención no está particularmente limitado, y es preferiblemente de 5 000 a 150 000, y más preferiblemente de 8 000 a 150 000 como peso molecular promedio en número.

- 10 En el copolímero de la presente invención, como se describió anteriormente, el monómero representado por la fórmula general (1) funciona como una unidad que imparte la hidrofiliicidad, y el monómero representado por la fórmula general (2) funciona como una unidad que imparte la hidrofobicidad. Además, el monómero representado por la fórmula general (3) funciona como un armazón al cual se unen el fármaco y el copolímero. Los ejemplos del monómero que funciona como la unidad hidrófoba
 15 representada por la fórmula general (2) incluyen monómeros representados por las siguientes fórmulas.





En la fórmula general (1), R^1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, y es preferiblemente un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, preferiblemente un átomo de hidrógeno, un grupo etilo o un grupo propilo, y más preferiblemente un átomo de hidrógeno.

En la fórmula general (2), R^2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, y es preferiblemente un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, preferiblemente un átomo de hidrógeno, un grupo etilo o un grupo propilo, y más preferiblemente un átomo de hidrógeno.

En la fórmula general (3), R^3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, y es preferiblemente un átomo de hidrógeno o un grupo metilo, preferiblemente un átomo de hidrógeno, un grupo etilo o un grupo propilo, y más preferiblemente un átomo de hidrógeno.

En la fórmula general (1), R^4 representa un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, específicamente un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo o un grupo isopropilo, preferiblemente un grupo metilo o un grupo etilo, y más preferiblemente un grupo metilo.

En la fórmula general (1), X^1 representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre, o $N-R^7$, y es preferiblemente un átomo de oxígeno, un átomo de azufre, o NH , y más preferiblemente un átomo de oxígeno.

En la fórmula general (1), m representa un número entero de 1 a 100, y es preferiblemente un número entero de 3 a 100, y preferiblemente de 3 a 80, más preferiblemente de 4 a 60, aún más preferiblemente de 4 a 40, y aún más preferiblemente de 4 a 22 desde el punto de vista de impartir buena hidrofiliidad.

En la fórmula general (2), R^5 representa un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo adamantilo, un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, y desde el punto de vista de impartir hidrofobicidad a la unidad estructural (B), un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo adamantilo, un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente es preferible, un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo adamantilo, es más preferible un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, y es más preferible un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros, un grupo adamantilo o un grupo arilo de 6 a 18 átomos de carbono. Además, también se prefiere un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tenga un sustituyente, un grupo adamantilo, un grupo arilo de 6 a 14 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente o un grupo heteroarilo de 6 a 10 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente.

En este caso, el sustituyente es preferiblemente uno o dos o más seleccionados entre un átomo de

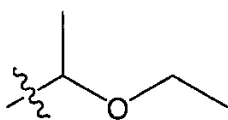
halógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alqueno que tiene de 2 a 6 átomos de carbono y un grupo alquino que tiene de 2 a 6 átomos de carbono.

En la fórmula general (2), X^2 representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o $N-R^7$, y es preferiblemente un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o NH, y más preferiblemente un átomo de oxígeno.

En la fórmula general (2), n representa un número entero de 0 a 3, preferiblemente un número entero de 1 a 3, y más preferiblemente 1.

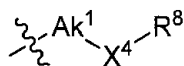
En la fórmula general (3), R^6 representa un átomo de hidrógeno, un grupo saliente o un enlazador. A medida que el grupo saliente o enlazador, es preferible un grupo alquilo de 1 a 18 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente, un grupo cicloalquilo de 3 a 8 miembros que opcionalmente tiene un sustituyente, o un grupo aralquilo de 7 a 19 átomos de carbono que opcionalmente tiene un sustituyente. En este caso, los ejemplos del sustituyente incluyen un átomo de halógeno, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo alqueno que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo alquino que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo amino, un grupo alquilamino que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo di-alquilamino que tiene de 1 a 6 átomos de carbono en el cual los grupos alquilo son iguales o diferentes, un grupo tiol, un grupo alquiltio que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo carboxilo, un grupo alcocarbonilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono y un grupo carbamoilo. Entre estos grupos, como el enlazador, es preferible un grupo que tiene un grupo funcional tal como un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo tiol o un grupo carboxilo como sustituyente.

Los ejemplos específicos preferidos del grupo saliente de R^6 incluyen un grupo representado por la siguiente fórmula (4):



(4)

Ejemplos específicos preferidos del enlazador de R^6 incluyen un grupo representado por la siguiente fórmula (5):



(5)

en donde, R^8 representa un átomo de hidrógeno o un fármaco, Ak^1 representa un enlace alqueno de 1 a 7 átomos de carbono, y X^4 representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre, o $-N(R^7)-$ (R^7

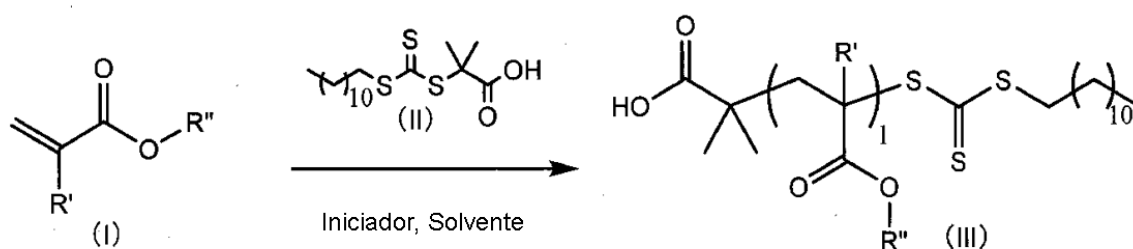
representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono). Es preferible un grupo representado por la fórmula (5) en donde X^4 representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre, o NH.

En la fórmula general (3), X^3 representa un átomo de oxígeno, un átomo de azufre, o $N-R^7$, y es preferiblemente un átomo de oxígeno, un átomo de azufre, o NH, y más preferiblemente un átomo de oxígeno o NH.

El copolímero X de la presente invención se forma al copolimerizar tres monómeros representados por las fórmulas generales (1) a (3). La copolimerización puede ser una copolimerización aleatoria o una copolimerización de bloque, y aquellas formadas por copolimerización aleatoria son preferibles. En cuanto a la proporción de mezcla de los tres monómeros, es preferible que se polimericen de 0.01 a 100 partes en masa de monómero (2) y de 0.1 a 100 partes en masa de monómero (3), es más preferible que se polimericen de 0.05 a 18 partes en masa de monómero (2) y de 0.1 a 20 partes en masa de monómero (3), y es particularmente preferible que se polimericen de 0.05 a 4 partes en masa de monómero (2) y de 0.1 a 16 partes en masa de monómero (3), con respecto a 1 parte en masa de monómero (1).

Además, los "solvatos" en los cuales se coordinan varios disolventes también se incluyen en el copolímero X de la presente invención. En la presente descripción, los ejemplos del "solvato" incluyen un hidrato y un etanolato. El disolvente puede coordinarse con el copolímero X de la presente invención en cualquier número.

El copolímero X de la presente invención puede producirse mediante varios métodos conocidos. El método de producción no está particularmente limitado y, por ejemplo, el copolímero X puede producirse de conformidad con un método básico de síntesis de polímeros descrito a continuación.



donde R' representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, y R'' representa el grupo representado por R^4 , R^5 o R^6 .

Esta reacción muestra una etapa de producción de un polímero (III) mediante la reacción de un monómero (I) con un agente de transferencia de cadena (II) y un iniciador. Esta reacción puede realizarse en la ausencia de un disolvente o en un disolvente como alcoholes como metanol, etanol, 1-propanol y 2-propanol; éteres tal como éter dietílico, tetrahidrofurano y 1,4-dioxano; hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados como diclorometano, cloroformo

y 1,2-dicloroetano; N,N-dimetilformamida; N,N-dimetilacetamida; N-metilpirrolidona; acetonitrilo; y acetato de etilo, y es preferible utilizar hidrocarburos aromáticos como tolueno y xileno como disolvente. Como el agente de transferencia de cadena, es posible utilizar ácido 2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropiónico (DDMAT), dodeciltitricarbonato de cianometilo (CDTTC), tritocarbonato de 2-ciano-2-propildodecilo (CPDTTC), ácido 4-ciano-4-[(dodecilsulfanil-tiocarbonil)sulfanil]pentanoico (CDSPA), éster 3-azido-1-propanol del ácido 2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropiónico (N₃-CTA), éster N₃-PEG_m-CTA (m es como se definió anteriormente), por ejemplo, éster 2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etílico del ácido 2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropiónico (N₃-PEG2Ester-CTA), éster de ácido 2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropiónico 17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1-ol (N₃-PEG5Ester-CTA), éster de ácido 2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropiónico 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxatricosan-1-ol (N₃-PEG7Ester-CTA), N₃-PEG_mAmide-CTA (m es como se describió anteriormente), por ejemplo, N-(8-azido-3,6-dioxaoctan-1-il)-2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropanamida (N₃-PEG2Amide-CTA), N-(17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1-il)-2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropanamida (N₃-PEG5Amide-CTA), o N-(23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxatricosan-1-il)-2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropanamida (N₃-PEG7Amide-CTA), y es preferible utilizar DDMAT o N₃-CTA, y más preferiblemente N₃-CTA. Donde la polimerización se lleva a cabo utilizando un agente de transferencia de cadena, el copolímero X de la presente invención tiene una estructura en la que una parte o la totalidad de una estructura del agente de transferencia de cadena está parcialmente unida. Cuando el copolímero X incluye una estructura de un agente de transferencia de cadena, la estructura puede eliminarse mediante un método adecuado.

A medida que un iniciador puede utilizarse, un iniciador de polimerización azo, como 2,2'-azobisisobutironitrilo (AIBN), 1,1'-azobis(ciclohexanocarbonitrilo) (ACHN), 2,2'-azobis-2-metilbutironitrilo (AMBN), 2,2'-azobis-2,4-dimetilvaleronitrilo (ADVN) o dimetil 2,2'-azobis(2-metilpropionato) (MAIB), y AIBN preferiblemente es utilizado.

La temperatura de reacción es de 0 a 300°C, preferiblemente de 0 a 150°C y, más preferiblemente, de 1 a 100°C, y el tiempo de reacción es de 1 minuto a 48 horas y, preferiblemente, de 5 minutos a 24 horas. En esta reacción, se puede producir un copolímero copolimerizado aleatorio X llevando a cabo la reacción en coexistencia de monómeros (I) que tienen diferentes estructuras.

Por ejemplo, si se utiliza el N₃-CTA que tiene un grupo azida como el agente de transferencia de cadena, se obtendrá el copolímero X que tiene un extremo en el que está presente el grupo azida, lo cual es ventajoso para la producción del copolímero reconocible por objetivo mediante una reacción de clic descrita más adelante.

A medida que molécula de reconocimiento objetivo que se une al copolímero X, es preferible un anticuerpo que reconoce un marcador o un receptor expresado en la superficie celular, una forma mutante (modificada) del mismo o un fragmento funcional (anticuerpo fragmentado) del mismo, y

específicamente, ejemplos de la molécula de reconocimiento objetivo pueden incluir anticuerpos o cuerpos mutantes (modificados) o fragmentos funcionales de los mismos que se dirigen a uno o más de BCMA, BlyS, CA-125, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD22, CD25, CD30, CD33, CD38, CD40L, CD52, CD74, CD79b, CEACAM5, CEACAM6, CSAP, CTLA-4, CXCR4, EGFR, EpCAM, ErbB2(HER2), GD2, gp100, HLA-DR, IGF-1R, IL-6R, cMET, MUC1, Nectin-4, PD-1, PD-L1, PDGFR, SLAMF7, PSMA, TAG-72, TF, TNF- α , TROP-2(EGP-1), VEGF, VEGFR1, VEGFR2, integrina α 4, α fetoproteína (AFP), fibrina, CAIX, A33, B7, CA125, CCL19, CD2, CD4, CD8, CD11A, CD14, CD15, CD16, CD18, CD23, CD32b, CD37, CD40, CD44, CD45, CD54, CD55, CD59, CD64, CD66, CD70, CD80, CD95, CD138, CD147, CD154, CD276, EGFRvIII, FGF, Flt-1, FR α , HMGB-1, IL-4R, IL-12, IL-15, IGF-1, IGF-2, MIF, TRAG-3, MCP-1, CD67, CD70L, CD79a, CD132, CD133, CDC27, CDK-4/m, CDKN2A, CXCR7, CXCL12, HIF-1 α , EGP-2, ILGF-1R, SAGE, S100, survivina, survivina-2B, TAC, tenascina, TRAIL-R, antígeno Tn, antígeno Thomsen-Friedenreich, WT-1, bcl-2, bcl-6 o Kras.

Aquí, los ejemplos de objetivo preferibles pueden incluir anticuerpos dirigidos a uno o más seleccionados del grupo que consiste en CD20, CD276, MUC1, EGFR, HER2, PD-L1 y TROP-2, o formas mutantes (modificadas) o fragmentos funcionales de los mismos.

Ejemplos de anticuerpos individuales preferibles incluyen alemtuzumab (anti-CD52), bevacizumab (anti-VEGF), ramucirumab (anti-VEGFR2), cetuximab (anti-EGFR), gemtuzumab (anti-CD33), panitumumab (anti-EGFR), necitumumab (anti-EGFR), amivantamab (anti-EGFR/cMET), rituximab (anti-CD20), ibritumomab (anti-CD20), tositumomab (anti-CD20), ofatumumab (anti-CD20), mosunetuzumab (anti-CD20/CD3), trastuzumab (anti-ErbB2), pertuzumab (anti-HER2), margetuximab (anti-HER2), patritumab (anti-HER3), lambrolizumab (anti-PD-1), nivolumab (anti-PD-1), pembrolizumab (anti-PD-1), cemiplimab (anti-PD-1), dostarlimab (anti-PD-1), toripalimab (anti-PD-1), atezolizumab (anti-PD-L1), avelumab (anti-PD-L1), durvalumab (anti-PD-L1), Ipilimumab (anti-CTLA-4), abagovomab (anti-CA-125), adecatumumab (anti-EpCAM), belantamab (anti-BCMA), mogamulizumab (anti-CCR4), catumaxomab (anti-CD3/EpCAM), edrecolomab (anti-EpCAM), blinatumomab (anti-CD19/CD3), tafasitamab (anti-CD19), loncastuximab (anti-CD19), inotuzumab (anti-CD22), moxetumomab (anti-CD22), brentuximab (anti-CD30), polatuzumab (anti-CD79b), dinutuximab (anti-GD2), naxitamab (anti-GD2), tebentafusp (anti-gp100/CD3), enfortumab (anti-Nectin-4), olaratumab (anti-PDGFR), elotuzumab (anti-SLAMF7), tisotumab (anti-TF), sacituzumab (anti-TROP-2), tocilizumab (también conocido como atlizumab: anti-receptor de IL-6), obinutuzumab (también conocido como GA101: anti-CD20), CC49 (anti-TAG-72), AB-PG1-XG1-026 (anti-PSMA, US 8,114,965, depositado como ATCC PTA-4405 y PTA-4406), D2/B (anti-PSMA, WO 2009/130575 A), daclizumab (anti-CD25), muromonab-CD3 (anti-CD3), natalizumab (integrina anti- α 4), infliximab (anti-TNF- α), certolizumab pegol (anti-TNF- α), adalimumab (anti-TNF- α), dapirolizumab pegol (anti-CD40L), letolizumab (anti-CD40L), ruplizumab (anti-CD40L), belimumab (anti-BlyS), 59D8 (anti-fibrina), biciromab (también conocido como T2G1s: anti-fibrina), MH1 (anti-fibrina),

felzartamab (anti-CD38), isatuximab (anti-CD38), daratumumab (anti-CD38), hR1 (anti-IGF-1R, publicación de EE.UU. No. 2010/226,884), clivatuzumab (anti-MUC1), gatipotuzumab (anti-MUC1), veltuzumab (también conocido como hA20: anti-CD20, EE.UU. 7,151,164), hA19 (anti-CD19, EE.UU. 7,109,304), hIMMU31 (anti-AFP, EE.UU. 7,300,655), milatuzumab (también conocido como hLL1 (anti-CD74, EE.UU. 7,312,318), epratuzumab (también conocido como hLL2: anti-CD22, EE.UU. 7,074,403), hMu-9 (anti-CSAp, EE.UU. 7,387,773), hL243 (anti-HLA-DR, EE.UU. 7,612,180), labetuzumab (también conocido como hMN-14: anti-CEACAM5, EE.UU. 6,676,924), hMN-3 y hMN-15 (anti-CEACAM6, US 7 541 440), Ab124 y Ab125 (anti-CXCR4, US 7,138,496), G250 (anti-CAIX), A33 (anti-A33), galiximab (anti-B7), OC125 (anti-CA125), abagovomab (anti-CA125), CAP-100 (anti-CCL19), TRX-3 (anti-CD2), IT-1208 (anti-CD4), zanolimumab (anti-CD4), crefmirlimab (anti-CD8), afelimomab (anti-CD11A), citolina (anti-CD11A), efalizumab (anti-CD11A), odulimomab (anti-CD11A), atibuclimab (anti-CD14), fanolesomab (anti-CD15), GTB-4550 (anti-CD16), erenumab (anti-CD18), odulimomab (anti-CD18), rovelizumab (anti-CD18), lumiliximab (anti-CD23), obexelimab (anti-CD32b), BI-1206 (anti-CD32b), HuMax-CD32b (anti-CD32b), NVS-32b (anti-CD32b), NNV-003 (anti-CD37), lilotomab (anti-CD37), K7153A (anti-CD37), iscalimab (anti-CD40), ChiLob7/4 (anti-CD40), CDX-1140 (anti-CD40), TNX-1500 (anti-CD40L), TES-23 (anti-CD44), bivatuzumab (anti-CD44), actimab-B (anti-CD45), BI-505 (anti-CD54), enlimomab (anti-CD54), MOR-101 (anti-CD54), MOR-102 (anti-CD54), Onyvax-105 (anti-CD55), GB-262 (anti-CD55), PAT-SC1 (anti-CD55), VG-102 (anti-CD55), AR36A36.11.1 (anti-CD59), KNP-302 (anti-CD59), MDX-210 (anti-CD64), MDX-220 (anti-CD64), tinurilimab (anti-CD66c), cusatuzumab (anti-CD70), MDX-1411 (anti-CD70), cosibelimab (anti-PD-L1), galiximab (anti-CD80), novotarg (anti-CD95), DOM-1112 (anti-CD138), indatuximab (anti-CD138), gavilimomab (anti-CD147), letolizumab (anti-CD154), ABI-793 (anti-CD154), DOM-0800 (anti-CD154), ifinatumab (anti-CD276), mirzotamab (anti-CD276), vobramitamab (anti-CD276), AMG-596 (anti-EGFRvIII), bemarituzumab (anti-FGF), burosumab (anti-FGF), U3-1784 (anti-FGF), aprutumab (anti-FGF), icrucumab (anti-Flt-1/VEGFR), farletuzumab (anti-FR α), mirvetuximab (anti-FR α), girentuximab (anti-CAIX), MEDI-541 (anti-HMGB-1), dupilumab (anti-IL-4R), levilimab (anti-IL-6R), SANT-7 (anti-IL-6R), vobarilizumab (anti-IL-6R), sarilumab (anti-IL-6R), clazakizumab (anti-IL-6R), TZLS-501 (anti-IL-6R), ustekinumab (anti-IL-12), briakinumab (anti-IL-12), ordesekimab (anti-IL-15), cixutumumab (anti-IGF-1), figitutumumab (anti-IGF-1), teprotumumab (anti-IGF-1), dalotuzumab (anti-IGF-1), ganitumab (anti-IGF-1), robatumumab (anti-IGF-1), AVE1642 (anti-IGF-1), dusigitumab (anti-IGF-1/2), istiratumab (anti-IGF-1), xentuzumab (anti-IGF-1), imalumab (anti-MIF), relatlimab (anti-TRAG-3), carlumab (anti-MCP-1), alacizumab pegol (anti-VEGFR-2), brolucizumab (anti-VEGFR), gentuximab (anti-VEGFR) y olinvacimab (anti-VEGFR-2).

El enlazador el cual se une al copolímero X puede ser cualquier enlazador siempre que enlace (interactúe con) el copolímero X con el fármaco o la molécula de reconocimiento objetivo, y puede ser un residuo de aminoácido, un derivado bifuncional, un enlace que utiliza una reacción bioortogonal, un enlace de

alquileo, un enlace de polietilenglicol (PEG, por sus siglas en inglés), un enlace disulfuro o un enlace de tioéter.

Ejemplos del enlazador que tiene un sitio de escisión (por ejemplo, un sitio de escisión de catepsina B, un sitio de escisión de catepsina C o un sitio de escisión de catepsina D) por una proteasa incluyen

5 péptidos en los cuales los residuos de aminoácidos son, por ejemplo, alanina, fenilalanina, glicina, valina, lisina, citrulina, serina, un ácido glutámico y un ácido aspártico. Por ejemplo, los enlaces incluyen dipéptido, tripéptido, tetrapéptido o pentapéptido, y el residuo de aminoácido puede ser un residuo de aminoácido natural o no natural. Ejemplos de los mismos incluyen valina-citrulina (ve o val-cit), valina-

10 alanina (va o val-ala), valina-lisina (val-lys), fenilalanina-alanina (phe-ala), fenilalanina-lisina (fk o phe-lys), fenilalanina-citrulina (phe-cit), fenilalanina-fenilalanina-lisina (phe-phe-lys), alanina-fenilalanina (af o ala-phe), alanina-lisina (ala-lys), glicina-glicina (gly-gly), glicina-alanina-fenilalanina (gly-ala-phe), glicina-valina-citrulina (gly-val-cit), glicina-glicina-glicina (gly-gly-gly), glicina-fenilalanina-lisina (gly-phe-lys), glicina-fenilalanina-leucina-glicina (gly-phe-leu-gly), glicina-glicina-fenilalanina-glicina (gly-gly-phe-gly), leucina-citrulina (leu-cit), isoleucina-citrulina (ile-cit), triptófano-citrulina (trp-cit) o alanina-leucina-

15 alanina-leucina (ala-leu-ala-leu).

Ejemplos del enlazador que forma un grupo carbamato/grupo carbonato con el fármaco o el anticuerpo a través del alcohol de péptido-p-aminobencílico ("péptido-PAB") incluyen carbamato de valina-citrulina-p-aminobencilo, carbamato de maleimidocaproil-p-aminobencilo, carbamato de maleimidocaproil-fenilalanina-lisina-p-aminobencilo o carbamato de maleimidocaproil-valina-citrulina-p-aminobencilo.

20 Ejemplos del derivado bifuncional incluyen éster de N-[β-maleimidopropiloxi]succinimida (BMPS), éster de [N-ε-maleimidocaproiloxi]succinimida (EMCS), éster de N-[γ-maleimidobutiriloxi]succinimida (GMBS), éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida (MBS), éster de [N-ε-maleimidocaproiloxi]sulfosuccinimida (sulfo-EMCS), éster de N-[γ-maleimidobutiriloxi]sulfosuccinimida (sulfo-GMBS), éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxisulfosuccinimida (sulfo-MBS), N-succinimidil-3-(2-piridilditio)propionato (SPDP), succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC), N-succinimidil-4-(2-piridiltio)pentanoato (SPP), iminotiolano (IT), imidoésteres (por ejemplo, dimetiladipimidato HCl), ésteres activos (por ejemplo, sulfato de disuccinimidil), aldehídos (por ejemplo, glutaraldehído), compuestos de bis-azida (por ejemplo, bis(p-azidobenzoil)hexanodiamina), derivados de bis-diazonio (por ejemplo, bis-(p-diazoniobenzoil)-etilendiamina), diisocianatos (por ejemplo, tolueno

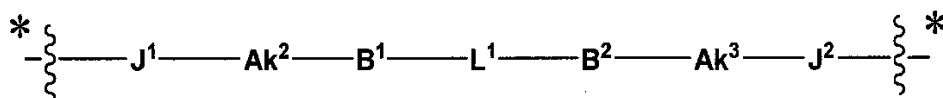
25 2,6-diisocianato), compuestos de flúor his-activos (por ejemplo, 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno), éster DBCO-NHS, éster DBCO-C6-NHS, éster DBCO-Sulfo-NHS, éster DBCO-PEG4-NHS, éster DBCO-PEG5-NHS Éster, éster sulfo DBCO-TFP, éster sulfo DBCO-PEG4-TFP, éster DBCO-PEG5-TFP, éster DBCO-STP, ácido DBCO, ácido DBCO-C6, ácido DBCO-PEG5, amina DBCO, amina DBCO-PEG4, amina sulfo DBCO, maleimida DBCO, maleimida sulfo DBCO, maleimida DBCO-PEG4, BCN-PEG3-Val-Cit, DBCO-PEG4-Val-

30 Cit-PAB-PNP o TCO-PEG4-Val-Cit-PAB-PNP.

Ejemplos de los mismos incluyen un enlace de triazol y oxima/hidrazona formado por la reacción bioortogonal, por ejemplo, una reacción de Huisgen entre la azida y el alquino.

Además, por ejemplo, se pueden utilizar un enlace alquileno, un enlace polietilenglicol (PEG), un enlace disulfuro o un enlace tioéter de forma individual o en combinación.

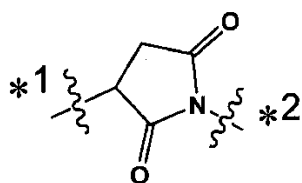
- 5 Una combinación preferible está representada por la siguiente fórmula (a):



(a)

- 10 en donde, J^1 es un enlace para la molécula de reconocimiento objetivo o el fármaco, J^2 es un enlace para el copolímero X, Ak^2 y Ak^3 representan cada uno de manera independiente un enlace individual o un enlace de alquileno de 1 a 7 átomos de carbono, B^1 y B^2 representan cada uno de manera independiente un enlace individual, un enlace amida o un enlace éster, L^1 representa un enlace individual, $-(CH_2CH_2O)_oCH_2CH_2-$, fenileno, ciclohexileno, $-NH$ -péptido-CO-, o fenileno-NH-péptido-CO-, y o representa un número entero de 0 a 100.

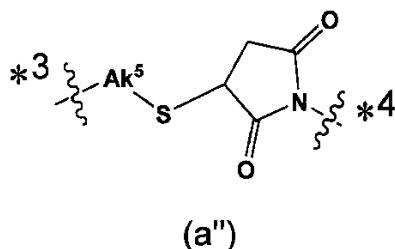
En la fórmula general (a), J^1 es un enlace para la molécula de reconocimiento objetivo o el fármaco, y los ejemplos del mismo pueden incluir $-CO-$, $-S-$, $-CO-O-$, $-CO-Ak^4-O-$, o la siguiente fórmula (a'):



(a')

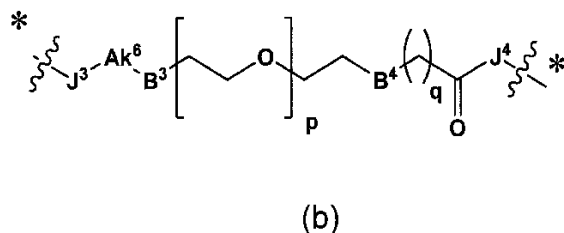
- 15 en donde, $*1$ representa un enlace a la molécula de reconocimiento objetivo o el fármaco, y $*2$ representa un enlace a Ak^2 .
- En la fórmula general (a), Ak^2 , Ak^3 y Ak^4 representan cada uno de manera independiente un enlace individual o un enlace alquileno de 1 a 7 átomos de carbono.
- 20 En la fórmula general (a), B^1 y B^2 representan cada uno de manera independiente un enlace individual, un enlace amida o un enlace éster.
- En la fórmula general (a), L^1 representa un enlace individual, $-(CH_2CH_2O)_oCH_2CH_2-$, fenileno, ciclohexileno, $-NH$ -péptido-CO- o fenileno-NH-péptido-CO-, y o representa un número entero de 0 a 100. El péptido contiene de 2 a 5 residuos de aminoácidos.
- 25 En la fórmula general (a), J^2 es el enlace para el copolímero X, y representa un enlace individual, un

enlace que contiene triazol formado, por ejemplo, por la reacción de Huisgen entre una azida y un grupo funcional que contiene un alquino, o la siguiente fórmula (a''):

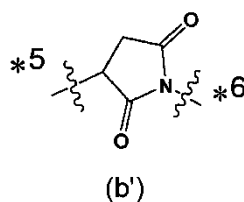


en donde, $*_3$ representa un enlace al copolímero X y $*_4$ representa un enlace a Ak^3 .

- 5 Como una combinación más preferible, el enlace del anticuerpo al copolímero X incluye "el enlace que contiene triazol formado, por ejemplo, por la reacción de Huisgen entre la azida y el grupo funcional que contiene alquino", y ejemplos del mismo pueden incluir la siguiente fórmula (b):



- en donde, J^3 es un enlace para la molécula de reconocimiento objetivo, Ak^6 representa un enlace individual o un enlace de alquino de 1 a 7 átomos de carbono, B^3 representa un enlace individual, un enlace amida o un enlace éster, J^4 representa un enlace que contiene triazol formado, por ejemplo, por la reacción de Huisgen entre una azida y un grupo funcional que contiene alquino, y p y q representan cada uno independientemente un número entero de 0 a 100.
- En la fórmula general (b), J^3 es un enlace para la molécula de reconocimiento objetivo, y representa -
- 15 CO-, o la siguiente fórmula (b'):



en donde, $*_5$ representa un enlace para la molécula de reconocimiento objetivo y $*_6$ representa un enlace a Ak^6 .

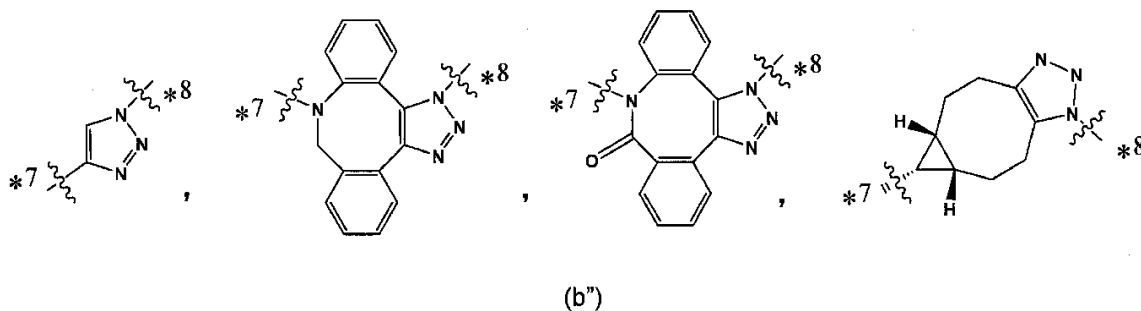
- En la fórmula general (b), Ak^6 representa un enlace individual o un enlace alquino de 1 a 7 átomos de carbono.
- 20

En la fórmula general (b), B^3 y B^4 representan cada uno de manera independiente un enlace individual,

un enlace amida o un enlace éster.

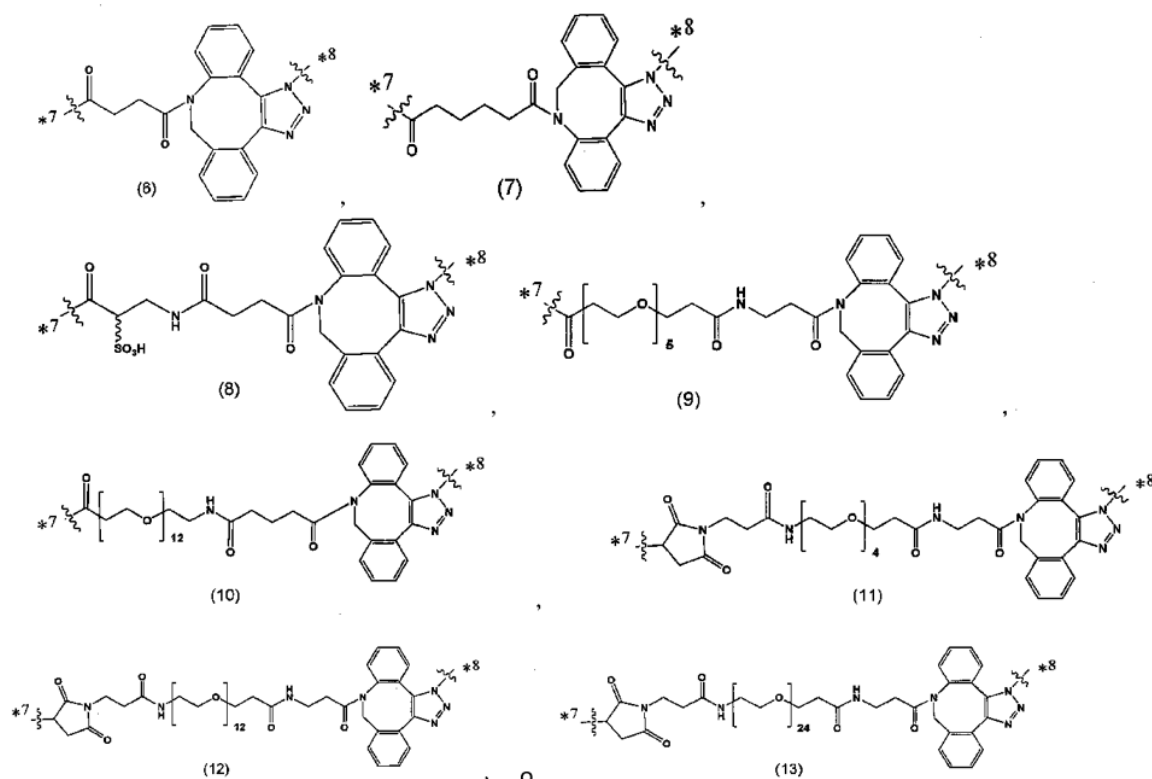
En la fórmula general (b), p y q representan cada uno de manera independiente un número entero de 0 a 100, preferiblemente un número entero de 1 a 50, y más preferiblemente un número entero de 2 a 25.

- 5 En la fórmula general (b), J⁴ es el enlace al copolímero X, y representa el enlace que contiene triazol formado, por ejemplo, por la reacción de Huisgen entre la azida y el alquino que contiene un grupo funcional, y ejemplos de la misma pueden incluir la siguiente fórmula (b''):



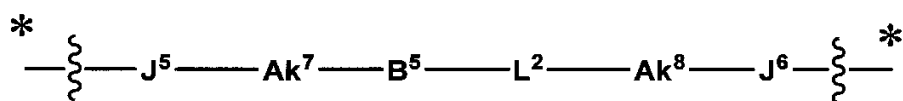
en donde, *⁷ representa un enlace a -CO- de fórmula general (b) y *⁸ representa un enlace al copolímero X.

Además, los ejemplos de enlaces más preferibles de la molécula de reconocimiento objetivo para el copolímero X pueden incluir un enlazador representado por las siguientes fórmulas (6) a (13):



en donde, *7 representa un enlace para la molécula de reconocimiento objetivo y *8 representa un enlace al copolímero X.

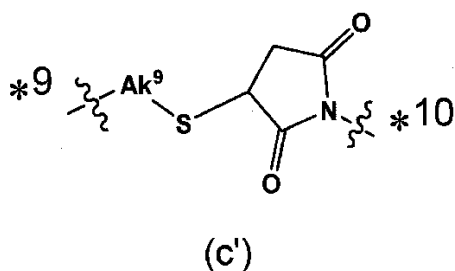
Además, ejemplos de una combinación preferible del enlace del fármaco al copolímero X pueden incluir la siguiente fórmula (c):



(c)

en donde, J^5 es un enlace para el copolímero X, J^6 es un enlace al fármaco, Ak^7 y Ak^8 representan cada uno de manera independiente un enlace individual o un enlace alquileo de 1 a 7 átomos de carbono, B^5 representa un enlace individual, un enlace amida o un enlace éster, y L^2 representa un enlace individual, fenileno, ciclohexileno, -CO-péptido-NH-, o -CO-péptido-NH-fenileno.

En la fórmula general (c), J^5 es el enlace al copolímero X, y representa un enlace individual o la siguiente fórmula (c'):



en donde, $*_9$ representa un enlace al copolímero X y $*_{10}$ representa un enlace a Ak^7 .

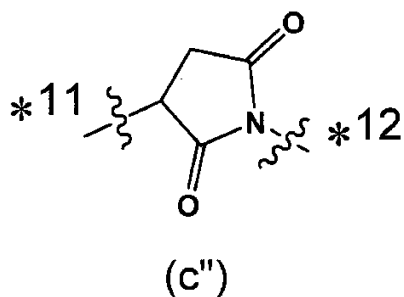
En la fórmula general (c), Ak^7 , Ak^8 , Ak^9 y Ak^{10} representan cada uno de manera independiente un enlace individual o un enlace alquileo de 1 a 7 átomos de carbono.

- 5 En la fórmula general (c), B^5 representa un enlace individual, un enlace amida o un enlace éster.

En la fórmula general (c), L^2 representa un enlace individual, fenileno, ciclohexileno, -CO-péptido-NH-, o -CO-péptido-NH-fenileno. El péptido contiene de 2 a 5 residuos de aminoácidos.

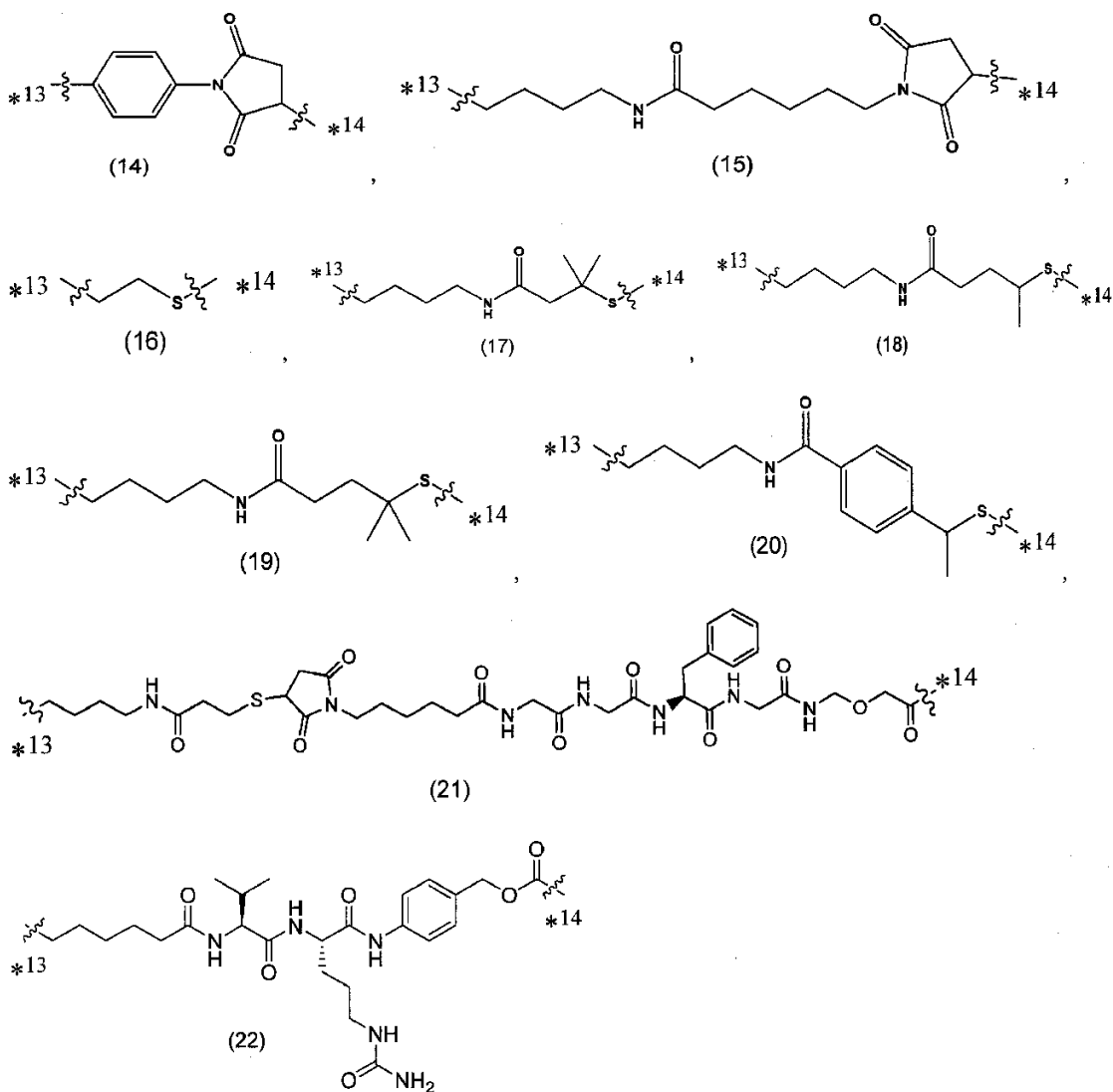
En la fórmula general (c), J^6 es un enlace para el fármaco, representa -CO-, -S-, -O-CO-, -O- Ak^{10} -CO-, o la siguiente fórmula (c''), e incluye preferiblemente un átomo de azufre derivado del fármaco y un "enlace

- 10 disulfuro",



en donde, $*_{11}$ representa un enlace para el fármaco y $*_{12}$ representa un enlace a Ak^8 .

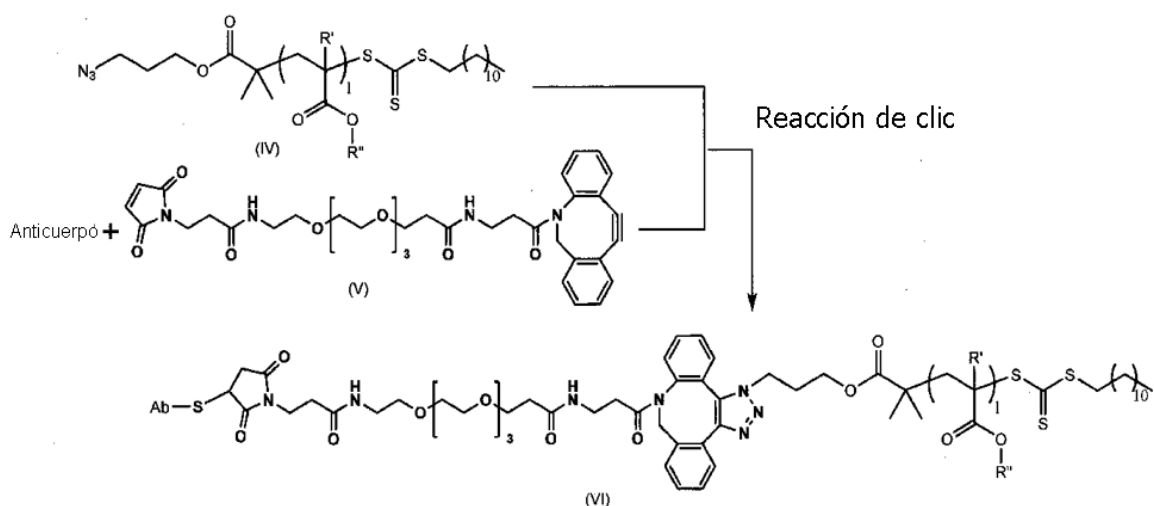
Además, los ejemplos de un enlace más preferible entre el fármaco y el copolímero X incluyen un enlazador representado por las siguientes fórmulas (14) a (22):



en donde ^{*13} representa un enlace al copolímero X y ^{*14} representa un enlace al fármaco.

En donde existen isómeros geométricos o isómeros ópticos presentes en los compuestos de la presente invención, las mezclas o separaciones de esos isómeros también se incluyen en el alcance de la presente invención. La separación de los isómeros se puede realizar mediante un método convencional.

El copolímero reconocible objetivo de la presente invención se puede producir mediante varios métodos conocidos. El método de producción no está particularmente limitado y, por ejemplo, el copolímero reconocible objetivo se puede producir de conformidad con un método de síntesis a través de la reacción de clic descrita a continuación.



en donde R' representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, R'' representa un grupo representado por R^4 , R^5 o R^6 , y Ab representa la molécula de reconocimiento objetivo.

- 5 Un grupo SH de la molécula de reconocimiento objetivo se obtiene al reducir un enlace de disulfuro entre residuos de cisteína que conectan cadenas. Ejemplos de un agente reductor incluyen tricarboxietilfosfina (TCEP, por sus siglas en inglés), 2-mercaptoetanol, 2-mercaptoetilamina, clorhidrato de cisteína, ditiotreitól y sales de los mismos (por ejemplo, clorhidrato). En este método, se puede
- mezclar una solución que contiene la molécula de reconocimiento objetivo y una solución que contiene
- 10 el agente reductor. Además de generar un anticuerpo parcialmente reducido, es posible realizar una reacción con un enlazador que tiene un grupo funcional que reacciona con el grupo SH de la molécula de reconocimiento objetivo para generar una molécula de reconocimiento objetivo unida al enlazador (modificada). Una concentración de la molécula de reconocimiento objetivo en esta reacción es, por ejemplo, 1 mg/mL a 100 mg/mL. Una concentración del agente reductor es, por ejemplo, de 1 mM a
- 15 100 mM, y se puede mezclar en una cantidad excesiva con respecto a la molécula de reconocimiento objetivo. El agente reductor se puede utilizar en un intervalo de 1 a 50 equivalentes molares, por ejemplo, de 2 a 30 equivalentes molares, de 5 a 20 equivalentes molares, de 7 a 13 equivalentes molares o de 10 equivalentes molares con respecto a la molécula de reconocimiento objetivo. Además, la reacción se puede realizar al calentar hasta un punto en el que la proteína no se desnaturalice, por ejemplo, en
- 20 un intervalo de 1 a 37°C, y el tiempo de reacción se puede ajustar de conformidad con una cantidad del agente reductor. Por ejemplo, el tiempo de reacción es de aproximadamente varios segundos a 5 minutos, aproximadamente varios segundos a 2 minutos, preferiblemente aproximadamente 1 minuto a 5 minutos y, más preferiblemente, aproximadamente 1 minuto a 2 minutos.

Para formar complejos de la molécula de reconocimiento objetivo y la SCNP mediante el enlace covalente, se introduce un grupo funcional para una reacción de formación de complejos sobre una

superficie de SCNP, y la formación de complejos se puede realizar a través de una reacción con el grupo SH, el grupo amino o el grupo carboxilo en los extremos o cadenas laterales de las moléculas de reconocimiento objetivo que pueden reaccionar con el grupo funcional. También es posible introducir un espaciador en los extremos o las cadenas laterales de la molécula de reconocimiento objetivo con un reactivo de reticulación adecuado (reticulante) para formar un enlace covalente con la SCNP como una molécula de reconocimiento objetivo modificada. Los ejemplos de tal formación de enlaces incluyen la química de clic entre un grupo azida y un alquino, una reacción entre un grupo sulfhidrilo y un grupo maleimida, y una reacción entre un grupo amino y un grupo succinimidilo.

La "química de clic" se clasifica como reacciones similares a reacciones bioquímicas naturales, que tienen los siguientes atributos y características. La química de clic es una reacción muy eficiente que se desarrolla rápidamente para obtener altos rendimientos, y es una reacción muy selectiva que no produce (o produce pocos) subproductos y permite grupos polifuncionales. Además, la química de clic se desarrolla bajo condiciones de reacción suaves, tal como una temperatura baja (o temperatura ambiente) o en una solución acuosa. Esta reacción se puede realizar en agua o en un disolvente tal como un alcohol tal como metanol, etanol, 1-propanol o 2-propanol; un éter tal como éter dietílico, tetrahidrofurano o 1,4-dioxano; un hidrocarburo aromático tal como benceno, tolueno o xileno; un hidrocarburo halogenado tal como diclorometano, cloroformo o 1,2-dicloroetano; N,N-dimetilformamida; N,N-dimetilacetamida; N-metilpirrolidona; acetonitrilo; o acetato de etilo. Es preferible utilizar agua o N,N-dimetilformamida como disolvente. En algunos aspectos, el ciclooctino es dibenzociclooctino (DBCO, por sus siglas en inglés), difluorobenzociclooctino (DIFBO, por sus siglas en inglés), biarilazaciclooctinona (BARAC, por sus siglas en inglés), dibenzociclooctino (DIBO, por sus siglas en inglés), ciclooctino difluorado (DIFO, por sus siglas en inglés), ciclooctino monofluorado (MOFO, por sus siglas en inglés), dimetoxiazaciclooctino (DIMAC, por sus siglas en inglés) u octino sin arilo (ALO, por sus siglas en inglés), utilizándose preferiblemente dibenzociclooctino (DBCO). En algunos aspectos, el alquino es alquino alifático y la etapa de reacción se realiza en presencia de un catalizador de cobre (I). En algunos aspectos, el alquino es ciclooctino y la etapa de reacción se realiza en condiciones libres de cobre. La temperatura de reacción es de 0 a 300°C, preferiblemente de 0 a 150°C, y más preferiblemente de 1 a 100°C, y el tiempo de reacción es de 1 minuto a 48 horas, y preferiblemente de 5 minutos a 24 horas. Reacción de la fórmula de reacción es cicloadición de Huisgen, el cual es un tipo de reacción de clic, y es una reacción de cicloadición 1,3-dipolar en la cual se forma 1,2,3-triazol a partir de la azida y el alquino.

El polímero X producido, el copolímero reconocible objetivo y el complejo de fármaco micelar reconocible objetivo de la presente invención se pueden purificar mediante un método de aislamiento y purificación de polímeros generalmente conocidos en el campo de la química de polímeros. Ejemplos específicos de los mismos incluyen operaciones de tratamiento tales como extracción, recristalización, precipitación con

sal utilizando, por ejemplo, sulfato de amonio o sulfato de sodio, centrifugación, diálisis, ultrafiltración, cromatografía de adsorción, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía hidrófoba, cromatografía de fase normal, cromatografía de fase inversa, cromatografía de columna de desalinización, filtración en gel, cromatografía de permeación en gel, cromatografía de afinidad, electroforesis, distribución en contracorriente y combinaciones de las mismas. En particular, en la cromatografía hidrófoba, dado que el tiempo de retención varía de conformidad con el número de SCNP unidos a una molécula de reconocimiento objetivo, es posible recolectar una fracción que satisface cualquier DAR mediante fraccionamiento.

El copolímero X y el copolímero reconocible objetivo de la presente invención se pueden utilizar como un portador para el transporte de varias sustancias fisiológicamente activas (fármacos). Por ejemplo, una composición farmacéutica en la cual un agente terapéutico para tumores se transporta en (encapsulada en) el copolímero X, el copolímero reconocible objetivo o el complejo de fármaco micelar reconocible objetivo de la presente invención se puede utilizar como un agente profiláctico y/o terapéutico para varias enfermedades cancerosas, tales como cáncer de colon, cáncer de duodeno, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de útero y cáncer de ovario, debido a que la composición farmacéutica suprime el crecimiento de tumores, como se confirma en los ejemplos de prueba descritos más adelante. Además, con una alta capacidad de acumulación tumoral, la composición farmacéutica se puede utilizar como un agente de diagnóstico o un agente de contraste para tumores.

Cuando el copolímero y el copolímero reconocible objetivo de la presente invención se utilizan como un portador de transporte de fármacos, la dosis y el número de dosis se pueden seleccionar apropiadamente en consideración de, por ejemplo, la forma de administración, la edad y el peso corporal de un paciente, y la naturaleza o gravedad de un síntoma a tratar, y la dosis y el número de dosis no deben limitarse. Sin embargo, cuando un polímero que encapsula un fármaco o el complejo de fármaco micelar reconocible por el objetivo se inyecta de manera intravenosa mediante una inyección, por ejemplo, para un adulto (60 kg), se administra preferiblemente una dosis única en una cantidad de 0.12 mg a 12 000 000 mg, más preferiblemente de 1.2 mg a 1 200 000 mg, y particularmente preferiblemente de 12 a 120 000 mg.

La composición farmacéutica de la presente invención se puede producir al mezclar el fármaco con el copolímero X, el copolímero reconocible objetivo o el complejo de fármaco micelar reconocible objetivo de la presente invención. Preferiblemente, el copolímero, el copolímero reconocible objetivo o el complejo de fármaco micelar reconocible objetivo de la presente invención se pueden mezclar con el fármaco para producir la nanopartícula de cadena individual, o la nanopartícula de cadena individual del copolímero X, el copolímero reconocible objetivo o el complejo de fármaco micelar reconocible objetivo de la presente invención se puede producir y después mezclar con el fármaco. La nanopartícula de

cadena sencilla se puede producir mediante un método conocido.

En la composición farmacéutica de la presente invención, el fármaco se puede transportar sobre el copolímero X, el copolímero reconocible objetivo o el complejo de fármaco micelar reconocible objetivo mediante la acción tal como interacción electrostática, enlace de hidrógeno, interacción hidrófoba o enlace covalente.

El fármaco es preferiblemente un agente anticanceroso, más preferiblemente un agente anticanceroso que actúa sobre las células cancerosas para suprimir la proliferación de las células cancerosas, y los ejemplos del mismo incluyen un antimetabolito, un agente alquilante, una antraciclina, un antibiótico, un inhibidor mitótico, un inhibidor de la topoisomerasa, un inhibidor del proteasoma y un agente antihormonal.

Ejemplos del antimetabolito incluyen azatioprina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, fludarabina, pentostatina, cladribina, 5-fluorouracilo (5FU), floxuridina (FUDR), arabinósido de citosina (citarabina), metotrexato, trimetoprima, pirimetamina y pemetrexed. Ejemplos de agentes alquilantes se incluyen ciclofosfamida, mecloretamina, uramustina, melfalán, clorambucilo, tiotepa/clorambucilo, ifosfamida, carmustina, lomustina, estreptozocina, busulfán, dibromomanitol, cisplatino, carboplatino, nedaplatino, oxaliplatino, miriplatino, satraplatino, tetranitrato de triplatina, procarbazona, altretamina, dacarbazina, mitozolomida, trabectedina y temozolomida. Ejemplos de antraciclina se incluyen daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina, idarrubicina, valrubicina, aclarrubicina, amrubicina y pirarubicina. Los ejemplos del antibiótico incluyen dactinomicina, bleomicina, mitramicina, antramicina, estreptozotocina, gramicidina D, estaurosporina, mitomicinas (por ejemplo, mitomicina C), duocarmicinas (por ejemplo, CC-1065) y caliqueamicinas. Ejemplos de inhibidores mitóticos se incluyen maitansinoides (por ejemplo, DM0, mertansina (también conocida como DM1), DM2, DM3, DM4 o emtansina), auristatinas (por ejemplo, auristatina E, auristatina fenilalanina fenilendiamina (AFP), monometil auristatina E, monometil auristatina D o monometil auristatina F), dolastatinas, criptoficinas, alcaloides de la vinca (por ejemplo, vincristina, vinblastina, vindesina o vinorelbina), taxanos (por ejemplo, paclitaxel o docetaxel) y colchicinas. Ejemplos de inhibidores de la topoisomerasa se incluyen irinotecán, topotecán, nogitecán, amsacrina, etopósido, tenipósido, mizantrona, mitoxantrona, SN-38, exatecán y deruxtecán.

Ejemplos del inhibidor de proteasoma pueden incluir un ácido peptidil borónico, carfilzomib y bortezomib. Ejemplos del agente antihormonal pueden incluir fulvestrant, tamoxifeno y toremifeno. Cuando estos fármacos se preparan en la composición farmacéutica de la presente invención, uno o más de los fármacos también se pueden utilizar en combinación, y los fármacos se pueden transportar en el copolímero como una forma libre.

Una vía de administración de la composición farmacéutica de la presente invención es deseablemente la más eficaz para el tratamiento, y la composición farmacéutica se puede administrar mediante una preparación de administración parenteral, tal como una preparación de administración oral, una

inyección o una preparación de administración transdérmica. Por ejemplo, la administración parenteral, tal como inyección intraarterial, inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intramuscular o inyección intraperitoneal, es preferible, y la inyección intraarterial e inyección intravenosa son más preferibles. El número de dosis no debe limitarse, y los ejemplos de las mismas incluyen de una a varias

5 dosis por semana en promedio.

Se pueden producir varias preparaciones adecuadas para la vía de administración mediante un método convencional que selecciona apropiadamente los aditivos de preparación tales como excipientes, extensores, aglutinantes, agentes humectantes, desintegrantes, lubricantes, surfactantes, dispersantes, tampones, conservantes, agentes solubilizantes, antisépticos, agentes aromatizantes, agentes

10 calmantes, estabilizadores y agentes isotónicos utilizados convencionalmente en la formulación.

Los aditivos de preparación que pueden contenerse en las varias preparaciones descritas anteriormente no están particularmente limitadas siempre que los aditivos de preparación sean farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de tales aditivos de preparación incluyen agua purificada, agua para inyección, agua destilada para inyección, disolventes orgánicos farmacéuticamente aceptables, colágeno, alcohol

15 polivinílico, polivinilpirrolidona, polímero de carboxivinilo, alginato de sodio, dextrano soluble en agua, carboximetilalmidón de sodio, pectina, goma de xantano, goma arábiga, caseína, gelatina, agar, glicerina, propilenglicol, polietilenglicol, vaselina, parafina, alcohol estearílico, ácido esteárico, albúmina sérica humana, manitol, sorbitol y lactosa. Los aditivos que se van a utilizar se seleccionan adecuadamente de acuerdo con las diversas preparaciones y se pueden utilizar solos o en combinación.

La inyección también puede prepararse como un diluyente no acuoso (por ejemplo, polietilenglicol, aceites vegetales tal como aceite de oliva y alcoholes tal como etanol), una suspensión o una emulsión. La esterilización de la inyección se puede realizar mediante esterilización por filtración que utiliza un filtro y que mezcla de, por ejemplo, un microbicida. Además, la inyección se puede producir en una forma de preparación antes de uso. Es decir, la inyección se puede formar en una composición sólida estéril

20 mediante, por ejemplo, liofilización, y se puede disolver en agua para inyección, agua destilada para inyección u otro disolvente antes de uso.

EJEMPLOS

30 A continuación, la presente invención se describirá más específicamente con referencia a los ejemplos. Estos ejemplos se proporcionan para propósitos de ejemplificación y no pretenden limitar las modalidades de la invención.

EJEMPLO 1**Producción de poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metil éter)-co-(acrilato de 1-etoxietilo)]**

5 (1) Síntesis de acrilato de 1-etoxietilo (EEA)

Se pesó éter de vinilo etílico (28,725 ml) bajo una atmósfera de argón y se añadió ácido fosfórico (50 mg) bajo enfriamiento con hielo. Se añadió ácido acrílico (17.15 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 48 horas. Se añadió hidrotalcita (3 g) y se agitó la mezcla durante 2 horas y se detuvo la reacción. Después de la filtración con celita, se eliminó el éter de vinilo etílico que no reaccionó por evaporación. A esto se le añadió fenotiazina (hasta 500 ppm) como un inhibidor de polimerización y la mezcla se purificó por destilación bajo presión reducida junto con hidruro de calcio (temperatura de destilación de 28 a 32°C). El acrilato de 1-etoxietilo obtenido se dispensó en un vial de vidrio y se almacenó a -30°C.

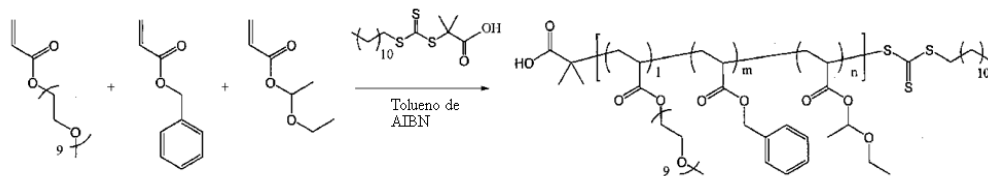
10 ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3), δ , ppm: 15.29 (-OCH₂CH₃), 21.16 (-COOCH(CH₃)), 64.98 (-OCH₂-), 96.73 (-COOCH(CH₃)), 128.84 (CH₂CH-), 131.43 (CH₂CH-), 166.00 (-COO).

(2) Síntesis de poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol) metil éter)-co-(acrilato de 1-etoxietilo)]

Se pesaron 100 mg de ácido 2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropiónico (DDMAT) y se disolvieron en 17.3 mL de tolueno para preparar una DDMAT/solución madre de tolueno (5.78 mg/mL como concentración de DDMAT). De manera similar, se pesaron 22 mg de 2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo) (AIBN) y se disolvieron en 17.3 mL de tolueno para preparar una AIBN/solución madre de tolueno (concentración de AIBN: 1.27 mg/mL). Por separado, se añadieron 1.296 g de acrilato de metil éter de polietilenglicol (mPEGA, el valor promedio (n) de los números de repeticiones de etilenglicol es 9), 0.394 g de acrilato de bencilo (BnA), 0.039 g de acrilato de 1-etoxietilo, 1.73 mL de una solución madre de DDMAT/tolueno y 1.73 mL de una AIBN/solución madre de tolueno, y se realizó la polimerización en un baño de aceite a 70°C. Después de un lapso de 90 minutos, se detuvo la polimerización y, después la solución de reacción se sometió a un método de reprecipitación o se dializó contra metanol para recuperar el copolímero. Desde que el copolímero básicamente obtuvo un cuerpo viscoso, en el método de reprecipitación se realizó una operación de goteo de la solución de reacción en un tubo de centrifuga al que se le añadió un disolvente pobre (hexano/acetato de etilo = 7/3 [v/v]) y se recuperó la solución por centrifugación ($2\,000 \times g$, 5 min) se repitió 3 veces, y finalmente se realizó un secado al vacío para obtener 1.223 g de poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol) metil éter)-co-(acrilato de 1-etoxietilo)].

35 Como un resultado de analizar el grado de polimerización de cada monómero y del peso molecular promedio en número ($M_{n,NMR}$) a partir de un espectro de ^1H -NMR del copolímero obtenido medido

utilizando NMR, el grado de polimerización de mPGEA ($n = 9$) fue 102, el grado de polimerización de BnA fue 94, el grado de polimerización de EEA fue 9 y $M_{n,NMR}$ fue 65 900. La dispersión de peso molecular (M_w/M_n) del copolímero obtenido se midió utilizando GPC y, como resultado, se encontró que era 1.53.



5 [Aparato de medición y condiciones]

(1) Medición de $^1\text{H-NMR}$

Aparato: JNM-ECX 400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03 % de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

10 Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

Resultado: Figura 1

(2) Medición de GPC

Aparato: Sistema HPLC-Prominence/SHIMADZU CORPORATION

15 Detector: detector de índice Refractivo RID-10A/SHIMADZU CORPORATION

Columna: columna TSKgel α -2500/Tosoh Corporation

(Tamaño de la columna: 7.8 mm x 300 mm, tamaño de partícula: 7 μm ,

peso molecular límite de exclusión: 5×10^3)

TSKgel Columna α -4000/Tosoh Corporation

20 (Tamaño de la columna: 7.8 mm x 300 mm, tamaño de partícula: 10 μm ,

peso molecular de límite de exclusión: 4×10^5)

Columna de protección TSKgel/Tosoh Corporation

Fase móvil: N,N-dimetilformamida (DMF) que contiene 10 mmol/L de bromuro de litio

Temperatura: 40°C

25 Velocidad de flujo: 0.5 mL/min

Concentración de muestra: 6 mg/mL

Sustancia estándar: Conjunto ReadyCal estándar de Poli(metacrilato de metilo), M_p 800 - 2 200 000 Da/SIGMA

Resultado: Figura 2

CUADRO 1

Ejemplo	Relación de composición (relación molar con el agente de transferencia de cadena)					Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de polimerización (min)	Grado de polimerización			$M_{n,NMR}$	M_w/M_n
	Agente de Transferencia de Cadena	Iniciador	Monómero										
	DDMAT	AIBN	mPEGA	BnA	EEA								
			n=9										
1	1	0.5	100	90	10	Tolueno	70	90	102	94	9	65 900	1.53

EJEMPLOS 2 A 68

- 5 Los polímeros que tienen diferentes relaciones de composición y pesos moleculares promedio que se muestran en el siguiente cuadro se produjeron al cambiar apropiadamente el tipo, la cantidad cargada, la temperatura de reacción y el tiempo de polimerización de los monómeros (mPEGA, BnA y EEA) utilizados en el Ejemplo 1, y que utiliza el mismo método como en el Ejemplo 1.

10

CUADRO 2

Ejemplo	Relación de composición (relación molar con el agente de transferencia de cadena)											Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de polimerización (min)
	Agente de transferen- cia de cadena	Iniciador		Monómero										
		DDMAT	AIBN	ACHN	mPEGA			BnA	EEA	2-Hidroxi etil acrilato	4-Hidroxi butil acrilato			
n=4	n=9				n=22									
2	1	2	-	255	-	-	15	30	-	-	-	Tolueno	70	90
3	1	2	-	160	-	-	20	20	-	-	-	Tolueno	70	60
4	1	2	-	240	-	-	30	30	-	-	-	Tolueno	70	60
5	1	2	-	170	-	-	10	20	-	-	-	Tolueno	70	60
6	1	2	-	255	-	-	15	30	-	-	-	Tolueno	70	60
7	1	0.5	-	-	16	-	16	8	-	-	-	Tolueno	70	90
8	1	0.5	-	-	18	-	14	8	-	-	-	Tolueno	70	90
9	1	0.5	-	-	20	-	12	8	-	-	-	Tolueno	70	90
10	1	0.5	-	-	20	-	12	8	-	-	-	Tolueno	70	90
11	1	0.5	-	-	20	-	12	8	-	-	-	Tolueno	70	90
12	1	0.5	-	-	20	-	16	4	-	-	-	Tolueno	70	10
13	1	0.5	-	-	20	-	16	4	-	-	-	Tolueno	70	30
14	1	0.5	-	-	20	-	16	4	-	-	-	Tolueno	70	50
15	1	0.5	-	-	20	-	16	4	-	-	-	Tolueno	70	70
16	1	0.5	-	-	20	-	16	4	-	-	-	Tolueno	70	90
17	1	0.5	-	-	22	-	10	8	-	-	-	Tolueno	70	90
18	1	0.5	-	-	24	-	8	8	-	-	-	Tolueno	70	90
19	1	0.5	-	-	24	-	8	8	-	-	-	Tolueno	70	90

20	1	0.5	-	-	28	-	4	8	-	-	-	Tolueno	70	90
21	1	0.5	-	-	10	-	25	15	-	-	-	Tolueno	70	90
22	1	0.5	-	-	17	-	25	8	-	-	-	Tolueno	70	90
23	1	0.5	-	-	22.5	-	12.5	15	-	-	-	Tolueno	70	90
24	1	0.5	-	-	25	-	20	5	-	-	-	Tolueno	70	90
25	1	0.5	-	-	29.5	-	12.5	8	-	-	-	Tolueno	70	90
26	1	0.5	-	-	30	-	24	6	-	-	-	Tolueno	70	90
27	1	0.5	-	-	35	-	28	7	-	-	-	Tolueno	70	90
28	1	0.5	-	-	50	-	40	10	-	-	-	Tolueno	70	90
29	1	0.5	-	-	10	-	10	180	-	-	-	Tolueno	70	90
30	1	0.5	-	-	30	-	30	140	-	-	-	Tolueno	70	90
31	1	0.5	-	-	30	-	70	100	-	-	-	Tolueno	70	90
32	1	0.5	-	-	30	-	110	60	-	-	-	Tolueno	70	90
33	1	0.5	-	-	50	-	10	140	-	-	-	Tolueno	70	90
34	1	0.5	-	-	50	-	50	100	-	-	-	Tolueno	70	90
35	1	0.5	-	-	50	-	90	60	-	-	-	Tolueno	70	90
36	1	0.5	-	-	50	-	130	20	-	-	-	Tolueno	70	90
37	1	0.5	-	-	70	-	30	100	-	-	-	Tolueno	70	90
38	1	0.5	-	-	70	-	70	60	-	-	-	Tolueno	70	90
39	1	0.5	-	-	70	-	110	20	-	-	-	Tolueno	70	90
40	1	0.5	-	-	80	-	80	40	-	-	-	Tolueno	70	90
41	1	0.5	-	-	80	-	100	20	-	-	-	Tolueno	70	90
42	1	0.5	-	-	90	-	10	100	-	-	-	Tolueno	70	90
43	1	0.5	-	-	90	-	50	60	-	-	-	Tolueno	70	90
44	1	0.5	-	-	90	-	90	20	-	-	-	Tolueno	70	90
45	1	0.5	-	-	100	-	20	80	-	-	-	Tolueno	70	90
46	1	0.5	-	-	100	-	40	60	-	-	-	Tolueno	70	90
47	1	0.5	-	-	100	-	50	50	-	-	-	Tolueno	70	90
48	1	0.5	-	-	100	-	60	40	-	-	-	Tolueno	70	90
49	1	0.5	-	-	100	-	70	30	-	-	-	Tolueno	70	90
50	1	0.5	-	-	100	-	80	20	-	-	-	Tolueno	70	90
51	1	0.5	-	-	110	-	30	60	-	-	-	Tolueno	70	90
52	1	0.5	-	-	110	-	70	20	-	-	-	Tolueno	70	90
53	1	0.5	-	-	130	-	10	60	-	-	-	Tolueno	70	90
54	1	0.5	-	-	130	-	50	20	-	-	-	Tolueno	70	90
55	1	0.5	-	-	150	-	30	20	-	-	-	Tolueno	70	90
56	1	0.5	-	-	170	-	10	20	-	-	-	Tolueno	70	90
57	1	0.5	-	-	200	-	160	40	-	-	-	Tolueno	70	90
58	1	0.5	-	-	300	-	240	60	-	-	-	Tolueno	70	90
59	1	0.5	-	-	400	-	320	80	-	-	-	Tolueno	70	90
60	1	2	-	-	-	105	155	40	-	-	-	Tolueno	70	90
61	1	2	-	-	-	120	240	40	-	-	-	Tolueno	70	90
62	1	2	-	-	-	140	210	50	-	-	-	Tolueno	70	90
63	1	2	-	-	-	140	220	40	-	-	-	Tolueno	70	90
64	1	0.1	-	-	100	-	80	-	20	-	-	1,4-dioxano	70	90

65	1	-	0.5	-	100	-	50	-	-	50	-	1,4-dioxano	70	180
66	1	-	0.5	-	100	-	80	-	-	20	-	1,4-dioxano	70	180
67	1	0.1	-	-	130	-	65	-	-	-	65	1,4-dioxano	70	90
68	1	0.1	-	-	130	-	104	-	-	-	26	1,4-dioxano	70	90

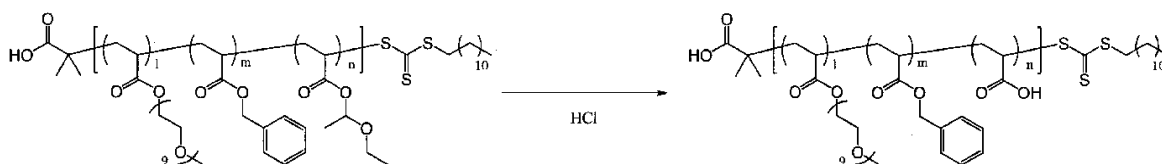
CUADRO 3

Ejemplo	Grado de polimerización								$M_{n,NMR}$	M_w/M_n
	mPEGA			BnA	EEA	2-Hidroxi etil acrilato	4-Hidroxi butil acrilato	2-Hidroxi- 3-fenoxi propil acrilato		
	n=4	n=9	n=22							
2	250	-	-	18	31	-	-	-	62 400	1.37
3	155	-	-	22	20	-	-	-	39 200	1.23
4	211	-	-	29	29	-	-	-	53 100	1.32
5	162	-	-	11	20	-	-	-	39 000	1.22
6	227	-	-	15	28	-	-	-	54 300	1.33
7	-	16	-	16	8	-	-	-	11 800	1.20
8	-	18	-	14	8	-	-	-	12 400	1.20
9	-	13	-	8	5	-	-	-	8 600	1.46
10	-	20	-	13	8	-	-	-	13 400	1.30
11	-	18	-	11	7	-	-	-	11 700	1.33
12	-	8	-	7	1	-	-	-	5 300	1.51
13	-	16	-	13	3	-	-	-	10 800	1.30
14	-	19	-	15	3	-	-	-	12 200	1.28
15	-	20	-	16	4	-	-	-	13 300	1.39
16	-	24	-	19	4	-	-	-	15 700	1.29
17	-	21	-	10	8	-	-	-	13 200	1.20
18	-	13	-	5	4	-	-	-	8 000	1.44
19	-	24	-	8	8	-	-	-	14 300	1.21
20	-	26	-	4	8	-	-	-	14 600	1.20
21	-	7	-	17	9	-	-	-	8 100	1.41
22	-	11	-	17	5	-	-	-	9 200	1.39
23	-	15	-	9	10	-	-	-	10 700	1.30
24	-	26	-	21	5	-	-	-	16 900	1.31
25	-	20	-	10	6	-	-	-	12 400	1.33
26	-	33	-	27	6	-	-	-	21 500	1.34
27	-	39	-	30	7	-	-	-	25 000	1.36
28	-	39	-	4	8	-	-	-	20 200	1.25
29	-	10	-	10	159	-	-	-	29 700	1.19
30	-	27	-	27	122	-	-	-	35 600	1.27
31	-	30	-	66	91	-	-	-	38 600	1.17

32	-	27	-	91	52	-	-	-	35 800	1.20
33	-	45	-	10	123	-	-	-	41 000	1.31
34	-	44	-	45	86	-	-	-	41 100	1.20
35	-	45	-	79	54	-	-	-	42 700	1.24
36	-	43	-	111	19	-	-	-	42 000	1.28
37	-	60	-	28	87	-	-	-	46 500	1.24
38	-	55	-	57	49	-	-	-	43 000	1.27
39	-	56	-	89	18	-	-	-	44 300	1.30
40	-	79	-	80	36	-	-	-	56 400	1.43
41	-	81	-	106	17	-	-	-	58 900	1.51
42	-	81	-	12	93	-	-	-	54 600	1.27
43	-	71	-	42	51	-	-	-	48 600	1.30
44	-	70	-	73	18	-	-	-	48 400	1.32
45	-	84	-	19	72	-	-	-	54 200	1.33
46	-	80	-	35	52	-	-	-	51 900	1.35
47	-	84	-	45	44	-	-	-	54 200	1.33
48	-	82	-	52	35	-	-	-	53 100	1.36
49	-	94	-	68	26	-	-	-	60 100	1.50
50	-	104	-	83	20	-	-	-	66 700	1.52
51	-	93	-	30	55	-	-	-	57 700	1.33
52	-	84	-	56	18	-	-	-	52 400	1.35
53	-	105	-	10	52	-	-	-	60 000	1.35
54	-	102	-	42	18	-	-	-	58 900	1.37
55	-	111	-	25	18	-	-	-	60 100	1.40
56	-	131	-	10	18	-	-	-	67 400	1.43
57	-	129	-	108	31	-	-	-	84 100	1.51
58	-	170	-	144	40	-	-	-	111 200	1.61
59	-	221	-	191	50	-	-	-	144 700	1.68
60	-	-	58	102	78	-	-	-	91 200	1.71
61	-	-	62	143	21	-	-	-	93 100	1.68
62	-	-	59	105	93	-	-	-	95 000	1.82
63	-	-	60	106	18	-	-	-	85 400	1.68
64	-	75	-	66	-	19	-	-	49 400	1.46
65	-	67	-	37	-	-	39	-	44 300	1.40
66	-	61	-	56	-	-	20	-	41 600	1.43
67	-	75	-	42	-	-	-	42	52 300	1.61
68	-	75	-	68	-	-	-	18	51 400	1.56

EJEMPLO 69**Producción de poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metiléter)-co-(ácido acrílico)]**

- 5 Al tratar el poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metiléter)-co-(acrilato de 1-etoxietilo)] obtenido en el Ejemplo 1 con HCl de 0.5N a temperatura ambiente, se eliminó un grupo etoxietilo para obtener un terpolímero que tenía un grupo carboxilo (1.176 g). Se midieron un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del terpolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS, por sus siglas en inglés) y, como un resultado, el diámetro de partícula
- 10 promedio Z fue de 8.5 nm (índice de polidispersidad: 0.14).



[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición DLS

Aparato: Zetasizer NanoZS/Malvern Instruments Ltd.

- 15 Temperatura de medición: 25°C
 Concentración de la muestra: 10 mg/mL
 Resultados: Figura 3

EJEMPLO 70**Método para producir SCNP encapsulante de (1,2-diaminociclohexano)platino(II)**

- Se disolvieron 65.28 mg de una forma $\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})$ de (1,2-diaminociclohexano)platino(II) (en adelante, abreviado como DACHPt) ($\text{DACHPt} \cdot \text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$) en 20 mL de agua purificada y se agitó a 70°C durante 2 horas. A 5 mL de esta solución, se añadieron 287.4 mg del terpolímero obtenido en el Ejemplo 69, y la
- 25 mezcla se agitó a 50°C durante la noche. Después de completar la agitación, la solución de reacción se dializó y se purificó utilizando agua purificada como solución externa para obtener 5 mL de un SCNP encapsulante de DACHPt. El contenido de Pt del SCNP encapsulante de DACHPt obtenido después de la purificación se midió mediante espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) y se encontró que era de 720 $\mu\text{g/mL}$ (1.14 mg/mL como DACHPt). Por separado, se liofilizaron
- 30 200 μL del SCNP encapsulante de DACHPt, y se calculó la concentración de contenido sólido, luego se tomó la relación con el contenido de Pt, y se calculó la cantidad de unión de Pt por polímero. Como un resultado, la cantidad de unión de Pt fue de 3.4 mol/mol. Además, se midieron el diámetro de partícula

promedio Z y el índice de polidispersidad de las SCNP encapsulantes de DACHPt obtenidas mediante dispersión de luz dinámica (DLS) y, como resultado, se encontró que el diámetro de partícula promedio Z era de 8.7 nm (índice de polidispersidad: 0.14). El diámetro de partícula de las SCNP antes y después de la encapsulación de DACHPt se muestra en la Figura 3. El diámetro de partícula de las SCNP apenas varió antes y después de la encapsulación de DACHPt. Los resultados se resumen en el siguiente cuadro. [Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición ICP-AES

Aparato: Aparato emisor de luz de plasma de alta frecuencia secuencial ICPE-9000/SHIMADZU CORPORATION

10 Aparato de pretratamiento: Aparato de pretratamiento de muestras por microondas ETHOS EASY/Milestone General

Longitud de onda de medición: 214 nm

Solución estándar: Solución estándar de platino (Pt1000) para análisis ICP/FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

15 2) Medición DLS

Aparato: Zetasizer NanoZS/Malvern Instruments Ltd.

Temperatura de medición: 25°C

Concentración de la muestra: 10 mg/mL

Resultados: Figura 3

20

CUADRO 4

Ejemplo	Rendimiento (mL)	Contenido Pt (µg/mL)	Cantidad de unión de Pt por polímero (mol/mol)	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
70	5	720	3.4	8.7	0.14

EJEMPLO 71

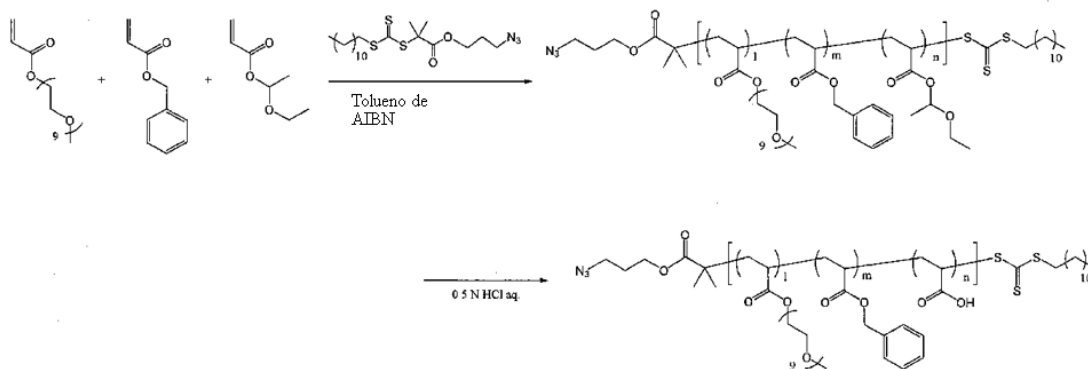
Producción de N₃-poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metil éter)-co-(ácido acrílico)]

25

La síntesis se realizó en una forma similar al Ejemplo 1 y Ejemplo 69 al utilizar N₃-CTA en lugar del agente de transferencia de cadena DDMAT utilizado en el Ejemplo 1. En tolueno (17.3 mL), se disolvió éster 3-azido-1-propanol del ácido 2-(dodeciltiocarbonotioilto)-2-metilpropiónico (N₃-CTA) (100 mg) después de pesarlo para obtener una N₃-CTA/solución madre de tolueno (concentración de N₃-CTA: 5.78 mg/mL). De manera similar, se pesó 2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo) (AIBN) (10 mg) y se disolvió en tolueno (7.87 mL) para obtener una AIBN/solución madre de tolueno (concentración de AIBN: 1.27 mg/mL). De manera separada, se añadieron acrilato de poli(etilenglicol)metil éter (mPEGA, el valor

30

- medio (n) del número de veces de repetición del etilenglicol es 9) (2.592 g), acrilato de bencilo (BnA) (0.684 g), acrilato de 1-etoxietilo (0.172 g), la N₃-CTA/solución madre de tolueno (4.15 mL) y la AIBN/solución madre de tolueno (3.46 mL), y se realizó la polimerización en un baño de aceite a 70°C. Después de un lapso de 90 minutos, se detuvo la polimerización y después se recuperó un copolímero
- 5 sometiendo la solución de reacción a reprecipitación o diálisis contra metanol. Para la reprecipitación, se repitió tres veces una operación de dejar caer la solución de reacción en un tubo de centrifuga al que se añadió el disolvente pobre (hexano/acetato de etilo = 7/3 [v/v]) y se recuperó la solución por centrifugación (2 000 x g, 5 min) y, finalmente, se realizó el secado al vacío. Al tratar el copolímero
- 10 obtenido con HCl de 0.5 N a temperatura ambiente, se eliminó un grupo etoxietilo para obtener N₃-poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metil éter)-co-(ácido acrílico)] (2.455 g).
- Como un resultado del análisis del grado de polimerización de cada uno de los monómeros y del peso molecular promedio numérico (M_{n,NMR}) del copolímero obtenido a partir de un espectro de ¹H-NMR medido mediante NMR, el grado de polimerización de mPEGA (n = 9) fue 70, el grado de polimerización de BnA fue 56, el grado de polimerización de EEA fue 15 y el M_{n,NMR} fue 44 000. Además, se midió la
- 15 dispersión de peso molecular (M_w/M_n) del copolímero obtenido mediante GPC y el resultado fue 1.32.



[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de ¹H-NMR

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

- 20 Disolvente: dimetilsulfóxido-d₆ que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 4

- 25 (2) Medición de GPC

Aparato: Sistema HPLC-Prominence/SHIMADZU CORPORATION

Detector: Detector de índice de refracción RID-10A/SHIMADZU CORPORATION

Columna: Columna TSKgel α -2500/Tosoh Corporation

(Tamaño de la columna: 7.8 mm x 300 mm, tamaño de partícula: 7 μ m y peso molecular límite de exclusión: 5×10^3)

Columna TSKgel α -4000/Tosoh Corporation

- 5 (Tamaño de la columna: 7.8 mm x 300 mm, tamaño de partícula: 10 μ m y peso molecular límite de exclusión: 4×10^5)

Columna de protección TSKgel/Tosoh Corporation

Fase móvil: N,N-dimetilformamida (DMF) que contiene 10 mmol/L de bromuro de litio

Temperatura: 40°C

- 10 Velocidad de flujo: 0.5 mL/min

Concentración de la muestra: 6 mg/mL

Sustancia estándar: conjunto ReadyCal estándar de poli(metilmacrilato), M_p 800 - 2 200 000 Da/SIGMA

Resultados: Figura 5

15

CUADRO 5

Ejemplo	Relación de composición (relación molar con el agente de transferencia de cadena)					Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de polimerización (min)	Grado de polimerización			$M_{n,NMR}$	M_w/M_n
	Agente de transferencia de cadena	Iniciador	Monómero						mPEG A	BnA	EEA		
			mPEGA	BnA	EEA								
71	1	0.5	100	80	20	Toluene	70	90	70	56	15	44 000	1.32

EJEMPLOS 72 A 85

- 20 Los polímeros que tienen diferentes relaciones de composición y pesos moleculares promedio, como se muestra en el siguiente cuadro se produjeron al cambiar de forma apropiada las cantidades cargadas y los tiempos de polimerización de los monómeros (mPEGA, BnA y EEA) utilizados en el Ejemplo 71, y utilizando el mismo método que en el Ejemplo 71.

CUADRO 6

Ejemplo	Relación de composición (relación molar con el agente de transferencia de cadena)					Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de polimerización (min)
	Agente de transferencia de cadena	Iniciador	Monómero					
			mPEGA (n=9)	BnA	EEA			
72	1	0.5	100	90	10	Tolueno	70	90
73	1	0.5	100	80	20	Tolueno	70	90

74	1	0.5	100	88	12	Tolueno	70	90
75	1	0.5	100	88	12	Tolueno	70	90
76	1	0.5	100	80	20	Tolueno	70	90
77	1	0.5	100	70	30	Tolueno	70	90
78	1	0.5	100	70	30	Tolueno	70	90
79	1	0.5	100	70	30	Tolueno	70	90
80	1	0.5	100	80	20	Tolueno	70	90
81	1	0.5	100	80	20	Tolueno	70	90
82	1	0.5	100	80	20	Tolueno	70	90
83	1	0.5	100	78	22	Tolueno	70	90
84	1	0.5	100	62	38	Tolueno	70	90
85	1	0.5	100	38	62	Tolueno	70	90

CUADRO 7

Ejemplo	Grado de polimerización			$M_{n,NMR}$	M_w/M_n
	Monómero				
	mPEGA	BnA	EEA (Ácido acrílico)		
	(n=9)				
72	72	69	9	46 900	1.47
73	79	65	18	49 800	1.38
74	77	75	12	50 500	1.34
75	73	68	12	47 200	1.34
76	77	66	20	49 600	1.34
77	74	55	26	46 700	1.34
78	75	55	26	47 100	1.28
79	85	61	26	52 900	1.33
80	82	69	16	52 300	1.32
81	82	67	16	51 600	1.32
82	77	64	15	48 600	1.34
83	65	52	16	41 300	1.31
84	70	45	30	43 300	1.35
85	75	31	50	45 100	1.29

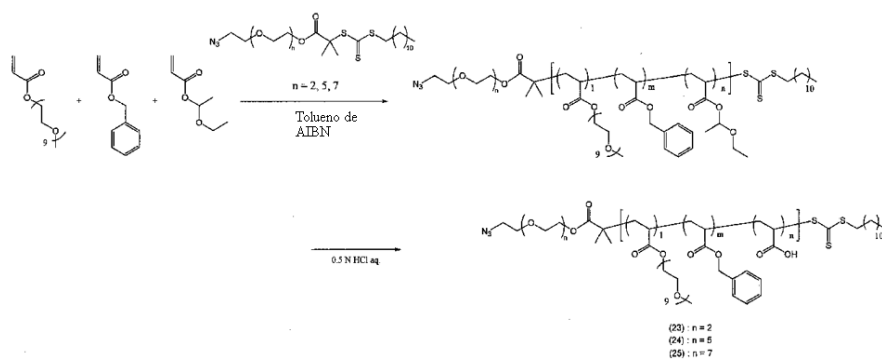
EJEMPLOS 86 A 88

5 **Producción de N₃(PEG_m éster)-poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metil éter)-co-(ácido acrílico)]**

En lugar del agente de transferencia de cadena N₃-CTA utilizado en el Ejemplo 71, la síntesis se realizó utilizando ácido 2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropiónico 2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etílico (N₃-PEG2-Ester CTA), ácido 2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropiónico 17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1-ol éster (N₃-PEG5-Ester CTA), o ácido 2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropiónico Éster de 23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxatricosan-1-ol (N₃-PEG7-Ester CTA) en condiciones similares (relación de composición) como en el Ejemplo 83.

CUADRO 8

Ejemplo	Composición (relación molar con el agente de transferencia de cadena)					Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de polimerización (mn)	Grado de polimerización			M_n NMR	M_w/M_n	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidiversidad
	Agente de transferencia de cadena	Iniciador	Monómero						mPEGA	BnA	EEA				
			mPEGA	BnA	EEA										
	N ₃ -Éster CTA	AIBN	n=9	BnA	EEA				n=9	BnA	EEA				
86	1 (PEG2)	0.5	100	78	22	Tolueno	70	90	83	68	19	52 500	1.32	10	0.27
87	1 (PEG5)	0.5	100	78	22	Tolueno	70	90	72	60	19	46 100	1.33	9	0.22
88	1 (PEG7)	0.5	100	78	22	Tolueno	70	90	75	63	20	48 200	1.33	10	0.25

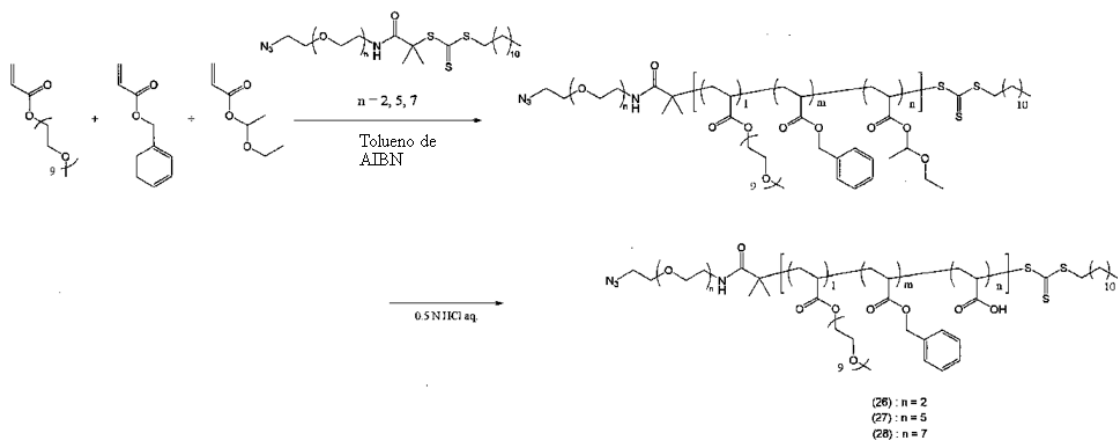


EJEMPLOS 89 A 91**Producción de N₃(PEG_m amida)-poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metil éter)-co-(ácido acrílico)]**

- 5 En lugar del agente de transferencia de cadena N₃-CTA utilizado en el Ejemplo 71, la síntesis se realizó al utilizar N-(8-azido-3,6-dioxaoctan-1-il)-2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropanamida (N₃-PEG2-Amida CTA), N-(17-azido-3,6,9,12,15-pentaoxaheptadecan-1-il)-2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropanamida (N₃-PEG5-Amida CTA), o N-(23-azido-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxatricosan-1-il)-2-(dodeciltiocarbonotioiltio)-2-metilpropanamida (N₃-PEG7-Amid CTA) en las mismas condiciones (relación de composición) que en el Ejemplo 83.

CUADRO 9

Ejemplo	Relación de composición (relación molar con el agente de transferencia de cadena)					Disolvente	Temperatura (°C)	Tiempo de polimerización (min)	Grado de polimerización			M_n , NMR	M_w/M_n	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
	Agente de transferencia de cadena	Iniciador	Monómero						mPEGA	BnA	EEA				
			mPEGA	BnA	EEA										
	N ₃ -Amida CTA	AIBN		BnA	EEA				n=9						
89	1 (PEG2)	0.5	100	78	22	Tolueno	70	90	72	60	19	45 900	1.46	10	0.24
90	1(PEG5)	0.5	100	78	22	Tolueno	70	90	68	58	19	44 000	1.47	9	0.23
91	1(PEG7)	0.5	100	78	22	Tolueno	70	90	70	59	20	45 200	1.49	9	0.23



15

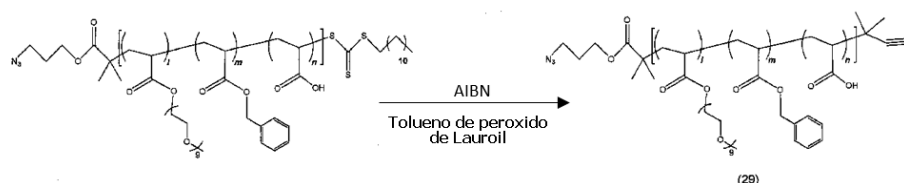
EJEMPLO 92**Producción de N₃-poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de poli(etilenglicol)metil éter)-co-(ácido acrílico)]-isobutironitrilo**

En tolueno (32 mL), se disolvió el copolímero obtenido en el Ejemplo 71 (2.40 g) después de pesarlo. A

esta solución, se añadieron AIBN (170 mg) y peróxido de lauroilo (62 mg), y la mezcla se agitó en un baño de aceite a 80°C durante 20 horas. Después de detener la reacción enfriando con hielo, se recuperó el copolímero sometiendo la solución de reacción a reprecipitación o diálisis contra metanol. Desde que el copolímero obtenido era básicamente una forma viscosa, en la reprecipitación, se realizó una

5 operación de goteo de la solución de reacción en un tubo de centrifuga al cual se añadió el disolvente pobre (hexano/acetato de etilo = 7/3 [v/v]) y se recuperó la solución por centrifugación (2 000 x g, 5 min) que se repitió 3 veces, y finalmente, se realizó el secado al vacío para obtener N₃-poli[(acrilato de bencilo)-co-(acrilato de metil éter de poli(etilenglicol))-co-(ácido acrílico)]-isobutironitrilo (2.21 g) que tenía una estructura final convertida. Se evaluó una proporción residual de la estructura final del

10 copolímero obtenido a partir de un espectro UV medido con un espectrofotómetro ultravioleta-visible, y el resultado fue 0.0%.



[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de espectro UV

15 Aparato: Espectrofotómetro Hitachi U-9300/Hitachi, Ltd.

Disolvente: agua purificada

Concentración de la muestra: 4 mg/mL

Longitud de onda de medición: 250 a 500 nm

Resultados: Figura 6

20

CUADRO 10

Ejemplo	Copolímero utilizado	Compuesto Azo utilizado en reacción	Relación residual de estructura final (%)
92	Ejemplo 71	AIBN	0.0

EJEMPLOS 93 A 95

25 Se sintetizaron copolímeros que tienen diferentes estructuras finales, como se muestra en el siguiente cuadro, al modificar apropiadamente un tipo y una cantidad de carga del compuesto azo para los copolímeros obtenidos en los Ejemplos 84 y 85 y utilizando el mismo método como en el Ejemplo 92.

CUADRO 11

Ejemplo	Copolímero utilizado	Compuesto Azo utilizado en reacción	Relación residual de estructura final (%)
93	Ejemplo 84	AIBN	0.0
94	Ejemplo 84	MAIB	0.0
95	Ejemplo 85	AIBN	0.0

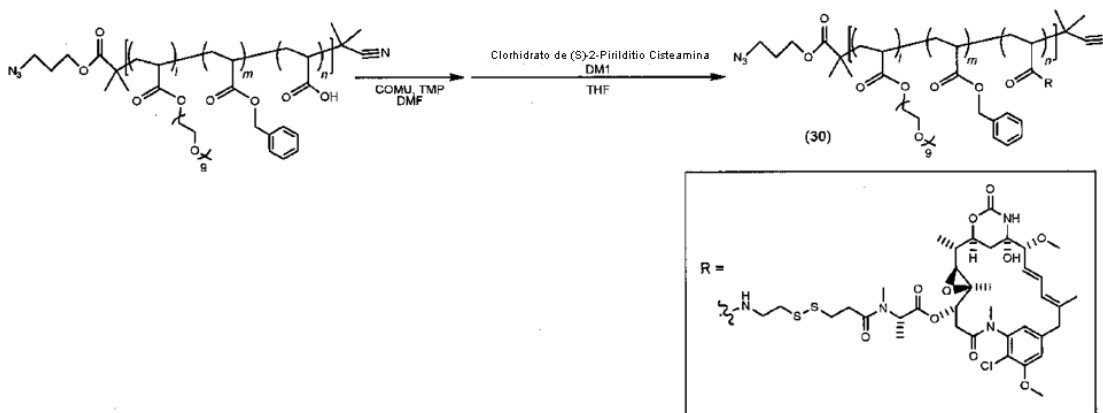
EJEMPLO 96**Producción de copolímero unido a DM1-cisteamina**

5

A una solución del copolímero obtenido en el Ejemplo 92 (200 mg) en DMF (2 mL), se añadieron hexafluorofosfato de (1-ciano-2-etoxi-2-oxoetilidenamino)dimetilaminomorfolinocarbenio (COMU) (59 mg) y 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TMP) (23.2 μ L), y la mezcla se agitó a 30°C durante 2 horas. Por separado, a una solución de mertansina (DM1) (101 mg) y clorhidrato de S-(2-piridil)tio)cisteamina (18 mg) en THF (3 mL) se añadió DIPEA (35.9 μ L) y la mezcla se agitó a 30°C durante 2 horas. Los líquidos de reacción respectivos se mezclaron y la solución de reacción obtenida se agitó a 30 °C durante 24 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Spectra/Por membrana de celulosa regenerada 6, corte molecular: 3.5 kDa y líquido externo: metanol), entonces el disolvente se removió por destilación bajo presión reducida y se secó al vacío, y se recuperó el copolímero al obtener el copolímero unido a cisteamina DM1 (222 mg). Además, se midió un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua por dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 11 nm (índice de polidispersidad: 0.32).

10

15



20

Para el copolímero unido a cisteamina-DM1, se analizó el número de DM1 introducida en una molécula del copolímero a partir de un espectro de $^1\text{H-NMR}$ medido mediante NMR, y el resultado del mismo fue 13 mol/mol.

[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de $^1\text{H-NMR}$

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03 % de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

5 Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 7

CUADRO 12

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducidos en una molécula de copolímero (mol/mol)
96	Ejemplo 92	13

10

EJEMPLOS 97 A 107

Para los copolímeros obtenidos en los Ejemplos 79, 85 a 91 y 93 a 95, los copolímeros que tienen diferentes cantidades de DM1 introducido a una molécula de cada uno de los copolímeros como se muestra en el siguiente cuadro se sintetizaron al modificar apropiadamente las cantidades de carga del enlazador y DM1 y utilizando el mismo método como en el Ejemplo 96.

15

Para los copolímeros obtenidos en los Ejemplos 79, 85 a 91 y 93 a 95, se sintetizaron copolímeros que tienen números diferentes de DM1 introducido a una molécula de cada uno de los copolímeros como se muestra en el siguiente cuadro que modifica apropiadamente las cantidades de carga del enlazador y DM1 y que utiliza el mismo método como en el Ejemplo 96.

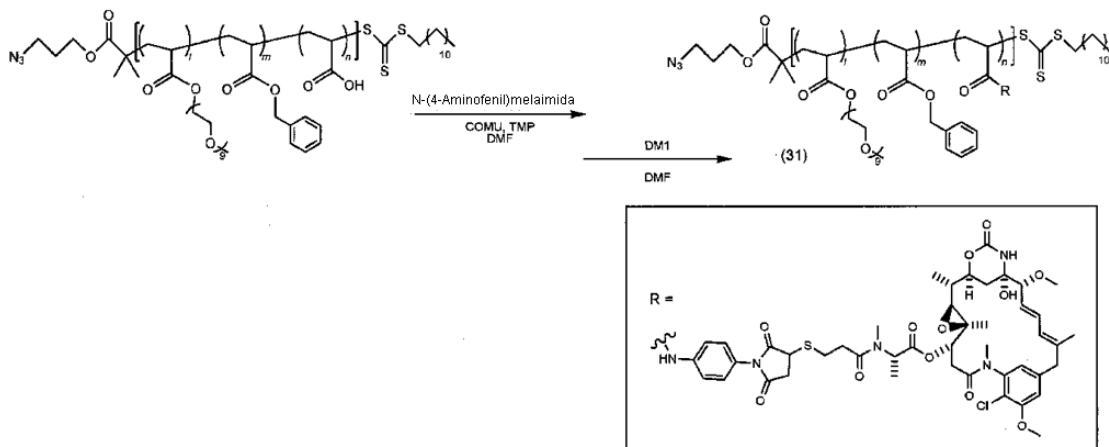
20

CUADRO 13

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducidos a una molécula de copolímero (mol/mol)
97	Ejemplo 93	20
98	Ejemplo 94	26
99	Ejemplo 95	20
100	Ejemplo 85	26
101	Ejemplo 79	19
102	Ejemplo 86	13
103	Ejemplo 87	13
104	Ejemplo 88	12
105	Ejemplo 89	13
106	Ejemplo 90	12
107	Ejemplo 91	15

EJEMPLO 108**Producción de copolímero unido a DM1-N-4-APM**

Para una solución de copolímero obtenido en el Ejemplo 72 (509 mg) en DMF (10 mL), se añadieron COMU (84 mg) y TMP (33 μ L), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. A esto se añadió N-(4-aminofenil)maleimida (N-4-APM) (55 mg), y la mezcla se agitó a 30°C durante 3 días. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3,5 kDa, y líquido externo: metanol), y después el disolvente se removió por destilación a presión reducida y secado al vacío para obtener un copolímero unido a N-4-APM (475 mg). El copolímero unido a N-4-APM (475 mg) obtenido se disolvió en DMF (10 mL), se añadió DM1 (102 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3,5 kDa y líquido externo: metanol) y después, se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío para obtener el copolímero unido a DM1-N-4-APM (458 mg). Se midieron el diámetro de partícula promedio Z y el índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 11 nm (índice de polidispersidad: 0.9).



Para el copolímero unido a DM1-N-4-APM, se analizó la cantidad de DM1 introducido en una molécula del copolímero a partir de un espectro de ^1H -NMR medido al utilizar el NMR, y el resultado fue 7 mol/mol. [Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de ^1H -NMR

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetil sulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 8

5

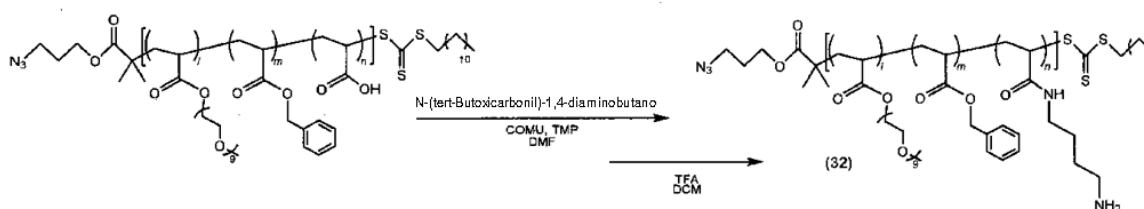
CUADRO 14

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducidos a una molécula de copolímero (mol/mol)
108	Ejemplo 72	7

EJEMPLO 109

Síntesis de un copolímero unido a 1,4-diaminobutano

- 10 Para una solución del copolímero obtenido en el Ejemplo 74 (810 mg) en DMF (16 mL), se añadieron COMU (164.9 mg) y TMP (78 µL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. A esto se añadió N-(terc-butoxicarbonil)-1,4-diaminobutano (735 µL), y la mezcla se agitó a 30°C durante 3 días. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa, y líquido externo: metanol), y después se eliminó el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío para recuperar el copolímero. Se
- 15 disolvió un copolímero de N-Boc-1,4-diaminobutano obtenido en una mezcla de solución de DCM y TFA [DCM/TFA = 5/3 (v/v), 32 mL] y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche para realizar la desprotección, y luego se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida y secado al vacío para obtener el copolímero unido a 1,4-diaminobutano (643 mg).



20

Para el copolímero unido a 1,4-diaminobutano, se analizó la cantidad de 1,4-diaminobutano introducido a una molécula del copolímero a partir de un espectro de $^1\text{H-NMR}$ medido mediante NMR, y el resultado fue 12 mol/mol.

[Aparatos y condiciones de medición]

25

(1) Medición de $^1\text{H-NMR}$

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetil sulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 9

5

CUADRO 15

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de 1,4-diaminobutano introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
109	Ejemplo 74	12

EJEMPLOS 110 A 116

Para los copolímeros obtenidos en los Ejemplos 73, 75 a 78 y 80 a 81, se sintetizaron copolímeros que tenían diferentes cantidades de 1,4-diaminobutano introducido a una molécula de cada uno de los copolímeros como se muestra en el siguiente cuadro, modificando apropiadamente una cantidad de carga de N-(terc-butoxicarbonil)-1,4-diaminobutano, y utilizando el mismo método que en el Ejemplo 109.

15

CUADRO 16

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de 1,4-diaminobutano introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
110	Ejemplo 73	18
111	Ejemplo 75	12
112	Ejemplo 76	20
113	Ejemplo 77	26
114	Ejemplo 78	26
115	Ejemplo 80	16
116	Ejemplo 81	16

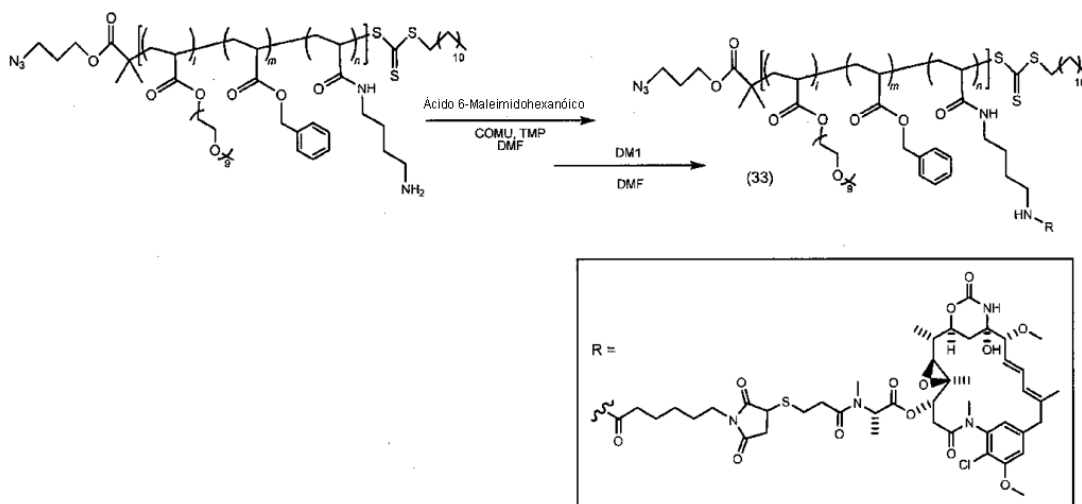
EJEMPLO 117

Producción de copolímero unido a DM1-MHA-1,4-diaminobutano

En DMF (6 mL), se disolvió el copolímero obtenido en el Ejemplo 109 (295 mg), y se le añadieron COMU (59,3 mg) y TMP (28 µL), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se le añadió ácido 6-maleimidohexanoico (MHA) (293 mg), y la mezcla se agitó a 30°C durante 3 días. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa, y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente

20

mediante destilación a presión reducida y secado al vacío para obtener un copolímero unido a MHA-1,4-diaminobutano (313 mg). El copolímero unido a MHA-1,4-diaminobutano obtenido se disolvió en DMF (10 mL), se añadió DM1 (80 mg) y la mezcla se agitó a 30 °C durante 24 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente por destilación a presión reducida y secado al vacío para obtener el copolímero unido a DM1-MHA-1,4-diaminobutano (321 mg). Se midieron un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 10 nm (índice de polidispersidad: 0.21).



Para el copolímero DM1-MHA-1,4-diaminobutano unido, se analizó la cantidad de DM1 introducido a una molécula del copolímero a partir de un espectro de $^1\text{H-NMR}$ medido mediante NMR, y el resultado del mismo fue 12 mol/mol.

[Aparatos y condiciones de medición]

15 (1) Medición de RMN de ^1H

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

20 Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 10

CUADRO 17

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
117	Ejemplo 109	12

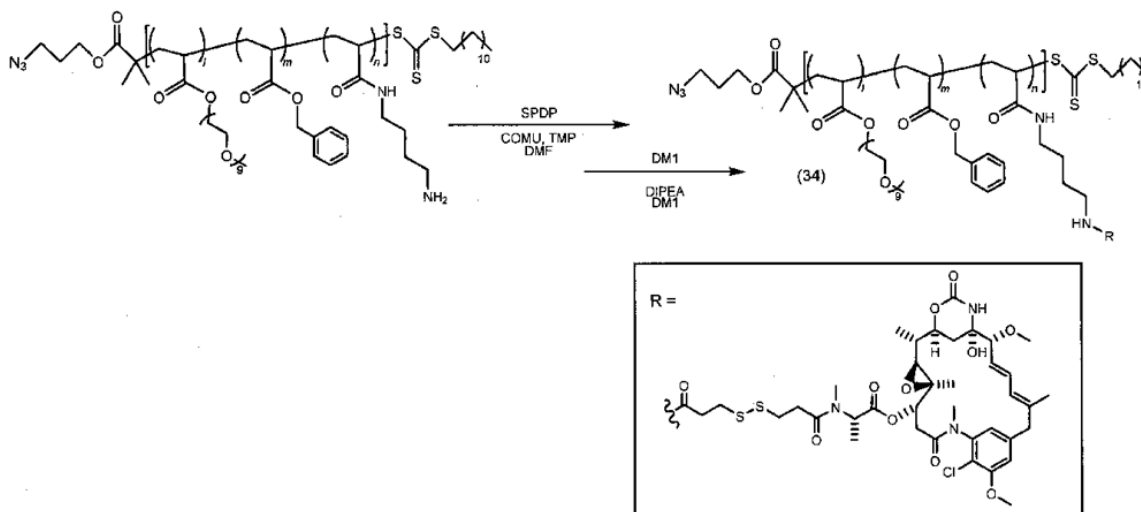
EJEMPLO 118**Producción de copolímero unido a DM1-SPDP-1,4-diaminobutano**

5

Para una solución de DM1 (81 mg) y 2,5-dioxopirrolidin-1-il 3-(piridin-2-ildisulfanil)propanoato (SPDP) (29 mg) en DCM (1 mL) se añadió N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) (16 µL), y la mezcla se agitó a 30°C durante 3 horas. A la solución de reacción se añadió una solución del copolímero obtenido en el Ejemplo 110 (200 mg) en DCM (4 mL), y el líquido de reacción obtenido se agitó a 30°C durante 24 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío, y se recuperó el copolímero para obtener el copolímero unido a DM1-SPDP-1,4-diaminobutano (189 mg). Se midieron un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 13 nm (índice de polidispersidad: 0,23).

10

15



Para el copolímero unido a DM1-SPDP-1,4-diaminobutano, se analizó la cantidad de DM1 introducida a una molécula del copolímero a partir de un espectro de ^1H -NMR medido mediante NMR, y el resultado del mismo fue de 18 mol/mol.

20

[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de ^1H -NMR

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

5 Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 11

CUADRO 18

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
118	Ejemplo 110	18

10

EJEMPLOS 119 A 121

Para los copolímeros obtenidos en los Ejemplos 112 a 114, se sintetizaron copolímeros que tenían diferentes cantidades de DM1 introducido a una molécula de cada uno de los copolímeros, como se muestra en el siguiente cuadro, modificando apropiadamente la cantidad de carga de DM1 y utilizando el mismo método que en el Ejemplo 118.

15

CUADRO 19

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
119	Ejemplo 112	16
120	Ejemplo 113	20
121	Ejemplo 114	26

EJEMPLO 122

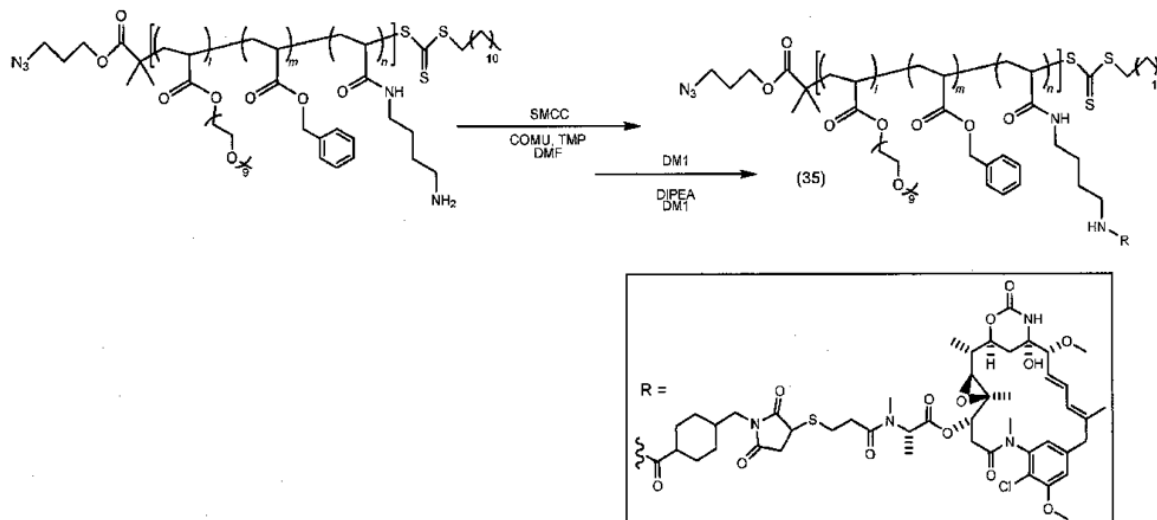
20

Producción de copolímero unido a DM1-SMCC-1,4-diaminobutano

Para una solución de DM1 (39 mg) y 4-(N-maleimidometil)ciclohexanocarboxilato de N-succinimidilo (SMCC) (15 mg) en DCM (1 mL), se añadió DIPEA (7.8 μ L), y la mezcla se agitó a 30°C durante 3 horas. Una solución del copolímero obtenido en el Ejemplo 110 (96 mg) en DCM (4 mL), se añadió a la solución de reacción, y el líquido de reacción obtenido se agitó a 30°C durante 48 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío, y se recuperó el copolímero para obtener el copolímero unido a

25

DM1-SMCC-1,4-diaminobutano (122 mg). Se midieron un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 12 nm (índice de polidispersidad: 0.29).



- 5 Para el copolímero unido a DM1-SMCC-1,4-diaminobutano, se analizó la cantidad de DM1 introducida en una molécula del copolímero a partir de un espectro de ^1H -NMR medido mediante NMR, y el resultado del mismo fue de 18 mol/mol.

[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de ^1H -NMR

- 10 Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

- 15 Resultados: Figura 12

CUADRO 20

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
122	Ejemplo 110	18

EJEMPLO 123

20

Para el copolímero obtenido en el Ejemplo 111, se sintetizaron copolímeros que tienen diferentes

cantidades de DM1 introducidas a una molécula del copolímero, como se muestra en el siguiente cuadro, modificando apropiadamente la cantidad de carga de DM1 y utilizando el mismo método que en el Ejemplo 122.

5

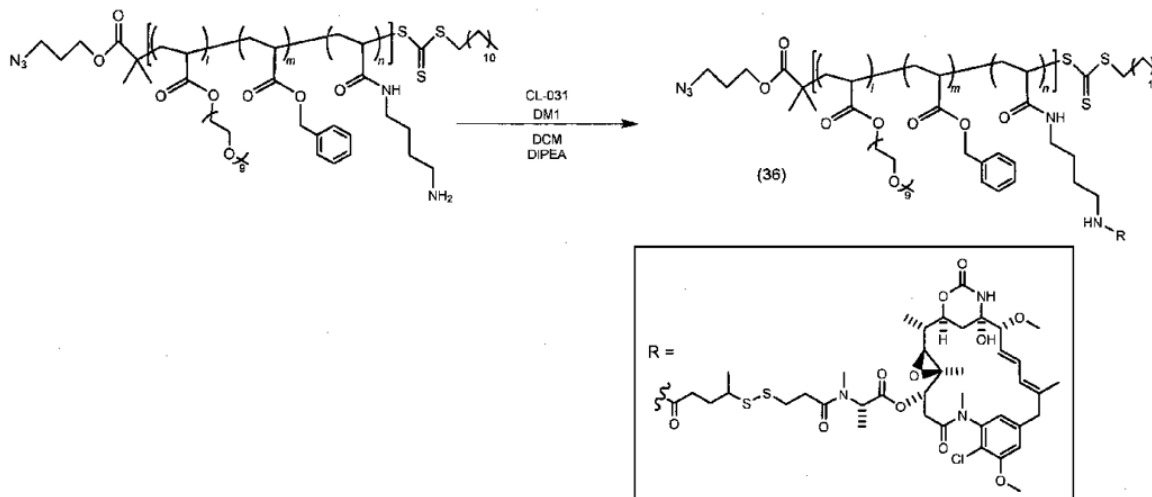
CUADRO 21

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
123	Ejemplo 111	7

EJEMPLO 124

Producción de copolímero unido a DM1-CL-031-1,4-diaminobutano

- 10 Para una solución de DM1 (81 mg) y 4-(piridin-2-ildisulfanil)pentanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (CL-031) (32 mg) en DCM (1 mL), se añadió DIPEA (16 μ L), y la mezcla se agitó a 30°C durante 3 horas. Una solución del copolímero obtenido en el Ejemplo 110 (200 mg) en DCM (4 mL), se añadió a la solución de reacción, y el líquido de reacción obtenido se agitó a 30°C durante 24 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío, y se recuperó el copolímero para obtener el copolímero DM1-CL-031-1,4-diaminobutano-unido (222 mg). Se midió un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 13 nm (índice de polidispersidad: 0.34).



20

Para el copolímero DM1-CL-031-1,4-diaminobutano unido, se analizó la cantidad de DM1 introducido a una molécula del copolímero a partir de un espectro de ¹H-NMR medido mediante NMR, y el resultado

del mismo fue 17 mol/mol.

[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de $^1\text{H-NMR}$

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

5 Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 13

10

CUADRO 22

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
124	Ejemplo 110	17

EJEMPLO 125

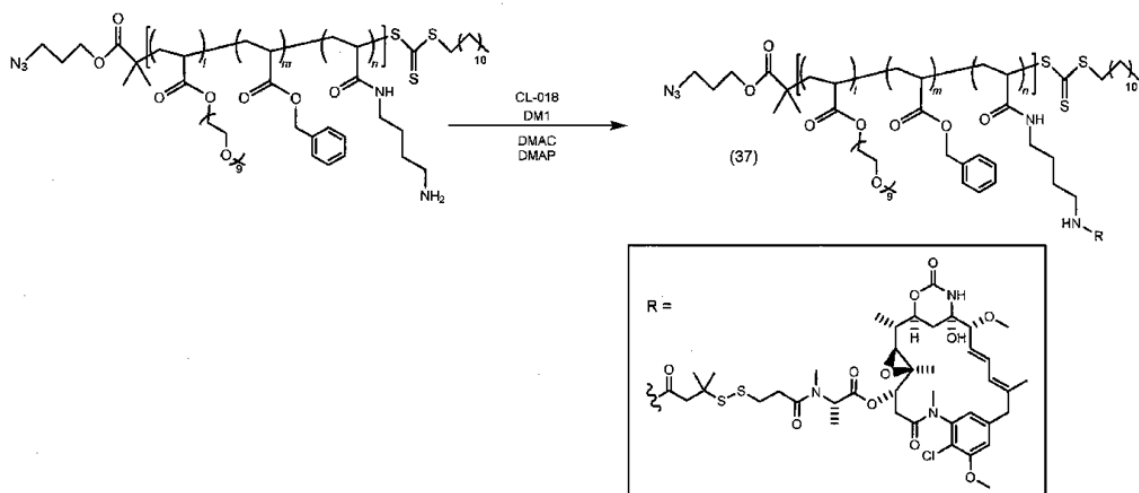
Producción de copolímero unido a DM1-CL-018-1,4-diaminobutano

15

Para una solución de DM1 (114 mg) y 3-metil-3-(piridin-2-ildisulfanil)butanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (CL-018) (43 mg) en N,N-dimetilacetamida (DMAC) (1 mL), se añadió 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (8,4 mg), y la mezcla se agitó a 50°C durante 2 horas. Una solución del copolímero obtenido en el Ejemplo 115 (150 mg) en DMAC (4 mL) se añadió a la solución de reacción, y el líquido de reacción

20 obtenido se agitó a 50°C durante 24 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío, y se recuperó el copolímero para obtener el copolímero DM1-CL-018-1,4-diaminobutano-unido (156 mg).

25 Se midieron un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 13 nm (índice de polidispersidad: 0.23).



Para el copolímero DM1-CL-018-1,4-diaminobutano unido, se analizó la cantidad de DM1 introducido a una molécula del copolímero a partir de un espectro de ¹H-NMR medido mediante NMR, y el resultado del mismo fue 16 mol/mol.

5 [Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de ¹H-NMR

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido-d₆ que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

10 Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 14

CUADRO 23

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
125	Ejemplo 115	16

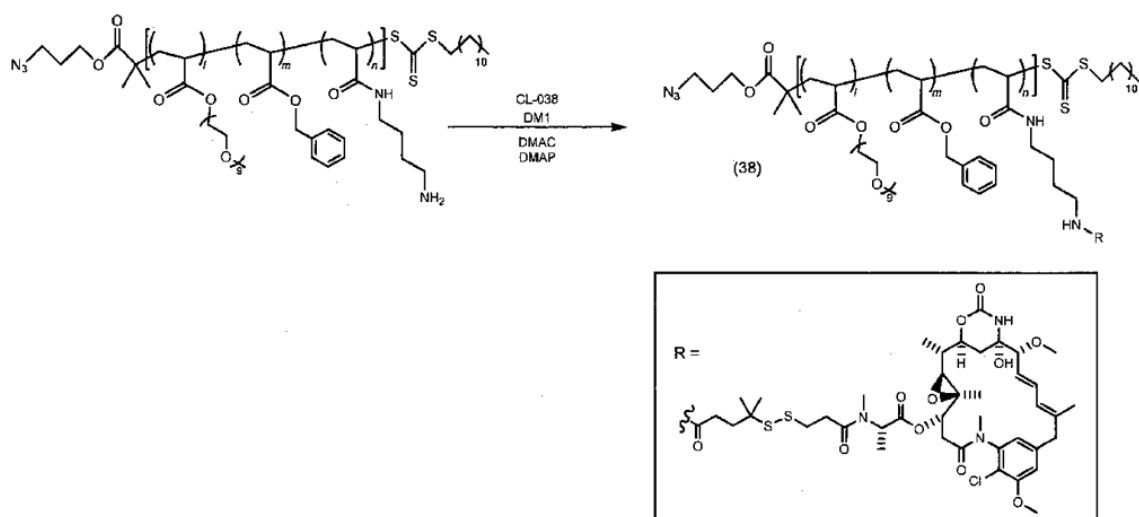
15

EJEMPLO 126

Producción de copolímero unido a DM1-CL-038-1,4-diaminobutano

Para una solución de DM1 (76 mg) y 4-metil-4-(piridin-2-ildisulfanil)pentanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (CL-038) (29 mg) en DMAC (1 mL), se añadió DMAP (6 mg), y la mezcla se agitó a 50°C durante 2 horas. A la solución de reacción se añadió una solución del copolímero obtenido en el Ejemplo 115 (100

- mg) en DMAC (4 mL), y la mezcla se agitó a 50°C durante 24 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío, y se recuperó el copolímero para obtener el copolímero DM1-CL-038-1,4-diaminobutano-unido (56 mg). Se midieron un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 11 nm (índice de polidispersidad: 0.32).



- Para el copolímero DM1-CL-038-1,4-diaminobutano unido, se analizó la cantidad de DM1 introducido en una molécula del copolímero a partir de un espectro de $^1\text{H-NMR}$ medido mediante NMR, y el resultado del mismo fue 8 mol/mol.

[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de $^1\text{H-NMR}$

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

- Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

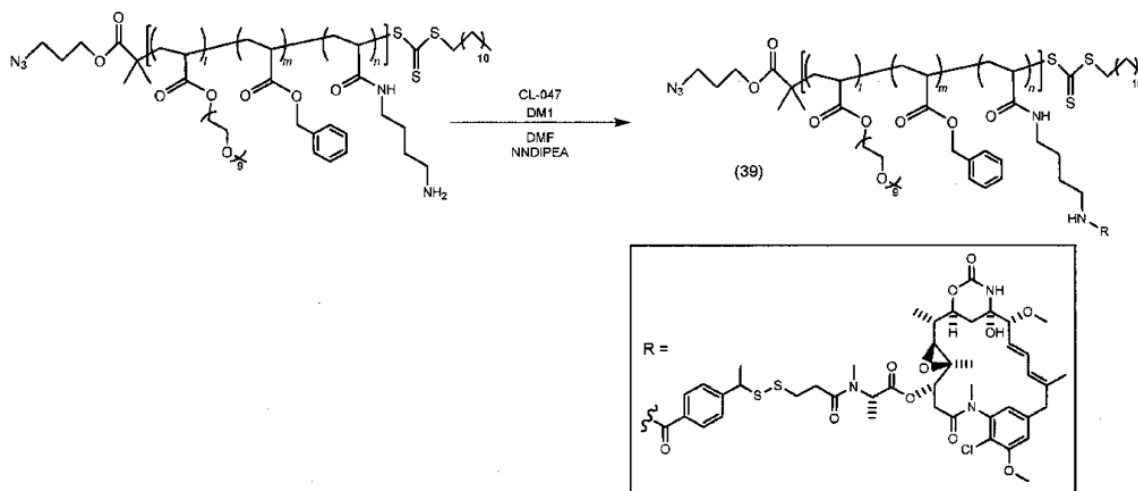
Resultados: Figura 15

CUADRO 24

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
126	Ejemplo 115	8

EJEMPLO 127**Producción de copolímero unido a DM1-CL-047-1,4-diaminobutano**

- Para una solución de 4-succinimidiloxycarbonil- α -metil- α -(2-piridilditio)tolueno (CL-047) (21.2 mg) en DMF (3 mL), se añadieron el copolímero obtenido en el Ejemplo 113 (100 mg) y DIPEA (10 μ L), y la mezcla se agitó a 30°C durante 24 horas. Al líquido de reacción, se añadió DM1 (40 mg), y la mezcla se agitó a 30°C durante 24 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío, y se recuperó el copolímero para obtener el copolímero DM1-CL-047-1,4-diaminobutano-unido (153 mg). Se midieron un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 12 nm (índice de polidispersidad: 0.18).



- Para el copolímero DM1-CL-047-1,4-diaminobutano unido, se analizó la cantidad de DM1 introducido en una molécula del copolímero a partir de un espectro de ^1H -NMR medido mediante NMR, y el resultado del mismo fue 20 mol/mol.

[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de ^1H -NMR

- Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

- Resultados: Figura 16

CUADRO 25

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de DM1 introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
127	Ejemplo 113	20

EJEMPLO 128**Producción de copolímero unido a SN-38-CO-1,4-diaminobutano**

5

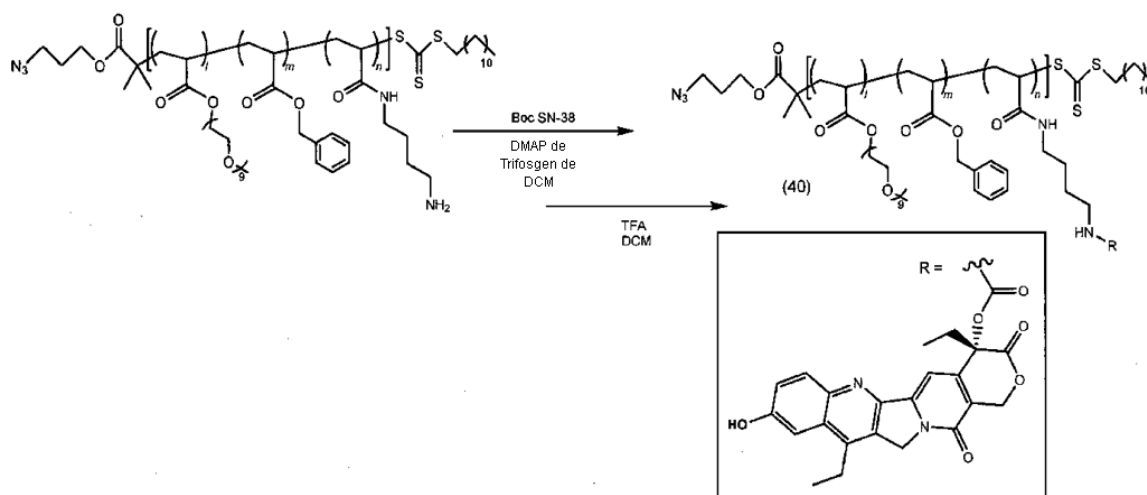
En una solución de SN-38 (0.5 g) en DCM (50 mL), se añadieron dicarbonato de di-terc-butilo (353 mg) y piridina (3 mL), y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El líquido de reacción se transfirió a un embudo de decantación y se lavó 3 veces con una solución acuosa de HCl 0.5 N (150 mL) seguida de una vez con una solución acuosa saturada de NaHCO₃. La capa orgánica se recuperó, el DCM se destiló a presión reducida con un evaporador y después se secó al vacío para obtener Boc-SN-38 (0.586 g).

10

A continuación, el copolímero obtenido en el Ejemplo 115 (200 mg) se disolvió en benceno y se liofilizó. En atmósfera de argón, se disolvió en THF, se añadieron Boc-SN-38 (27.6 mg), 1,1'-carbonildiimidazol (12 mg) y DMAP (15 mg) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3,5 kDa y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío para recuperar un copolímero unido a Boc-SN-38-CO-1,4-diaminobutano. El copolímero unido a Boc-SN-38-CO-1,4-diaminobutano obtenido se disolvió en la mezcla de solución de DCM y TFA [DCM/TFA = 5/3 (v/v)] (32 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche para realizar la desprotección, y después se removió el disolvente por destilación a presión reducida y secado al vacío para obtener el copolímero unido a SN-38-CO-1,4-diaminobutano (220 mg). Se midió un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua por dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 8 nm (índice de polidispersidad: 0.23).

15

20



Para el copolímero unido a SN-38-CO-1,4-diaminobutano, se analizó la cantidad de SN-38 introducido en una molécula del copolímero a partir de un espectro de $^1\text{H-NMR}$ medido mediante NMR, y el resultado fue 13 mol/mol.

5 [Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de $^1\text{H-NMR}$

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

10 Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 17

CUADRO 26

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de SN-38 introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
128	Ejemplo 115	13

15

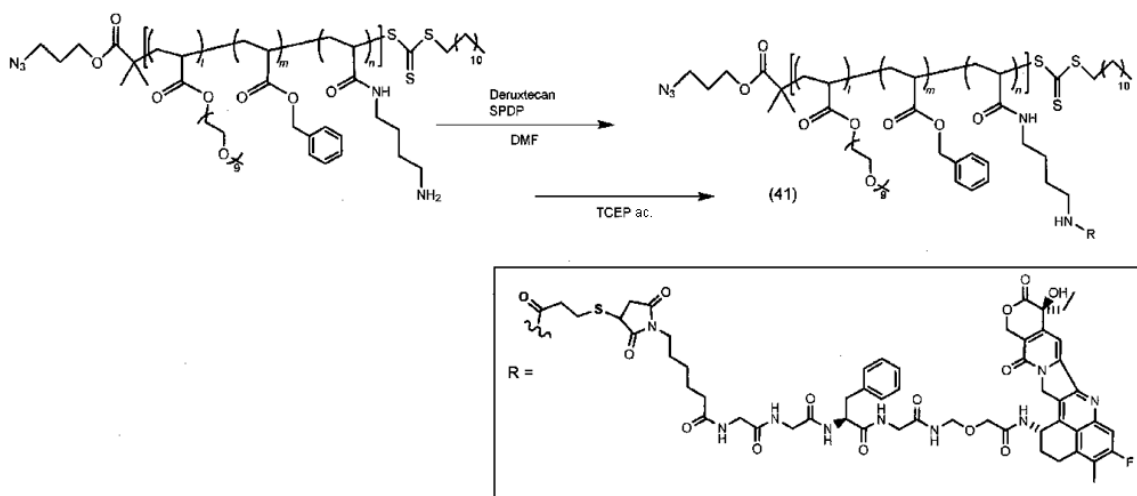
EJEMPLO 129

Producción de copolímero unido a deruxotecan-SPDP-1,4-diaminobutano

En DMF (4 mL), se disolvieron el copolímero obtenido en el Ejemplo 116 (200 mg), 2,5-dioxopirrolidin-1-il 3-(piridin-2-ildisulfanil)propanoato (SPDP) (14.2 mg) y deruxotecan (51.4 mg), y la mezcla se agitó a 30°C durante 2 horas. A continuación, se añadió gota a gota una solución acuosa de tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) (1 mL) al líquido de reacción mientras se agitaba, y la mezcla se agitó durante

20

- la noche a 30°C. El líquido de reacción obtenido se agitó a 30°C durante 24 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa, y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío, y se recuperó el copolímero para obtener el copolímero unido a deruxtecan-SPDP-1,4-diaminobutano (enlace tioéter) (205 mg). Se midió un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 12 nm (índice de polidispersidad: 0.23).



- 10 Para el copolímero unido a deruxtecan-SPDP-1,4-diaminobutano, se analizó la cantidad de deruxtecan introducido en una molécula del copolímero a partir de un espectro de $^1\text{H-NMR}$ medido mediante NMR, y el resultado fue 16 mol/mol.

[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de $^1\text{H-NMR}$

- 15 Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

- 20 Resultados: Figura 18

CUADRO 27

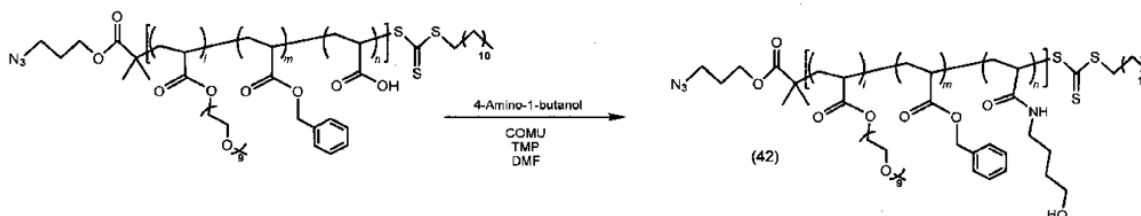
Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de deruxtecan introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
129	Ejemplo 116	16

EJEMPLO 130**Producción de copolímero unido a 4-hidroxibutilamina**

5

En DMF (4 mL), se disolvió el copolímero obtenido en el Ejemplo 82 (200 mg) después de pesarlo, se añadieron COMU (64.4 mg) y TMP (31 μ L) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 horas. A continuación, se añadió 4-amino-1-butanol (73 μ L) y se agitó la mezcla durante la noche a 30°C. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa y líquido externo: metanol), después se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío para obtener el copolímero unido a 4-hidroxibutilamina (205 mg).

10



Para el copolímero unido a 4-hidroxibutilamina, se analizó la cantidad de 4-amino-1-butanol introducido en una molécula del copolímero a partir de un espectro de $^1\text{H-NMR}$ medido mediante NMR, y el resultado fue 15 mol/mol.

15

[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de $^1\text{H-NMR}$

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

20

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 19

25

CUADRO 28

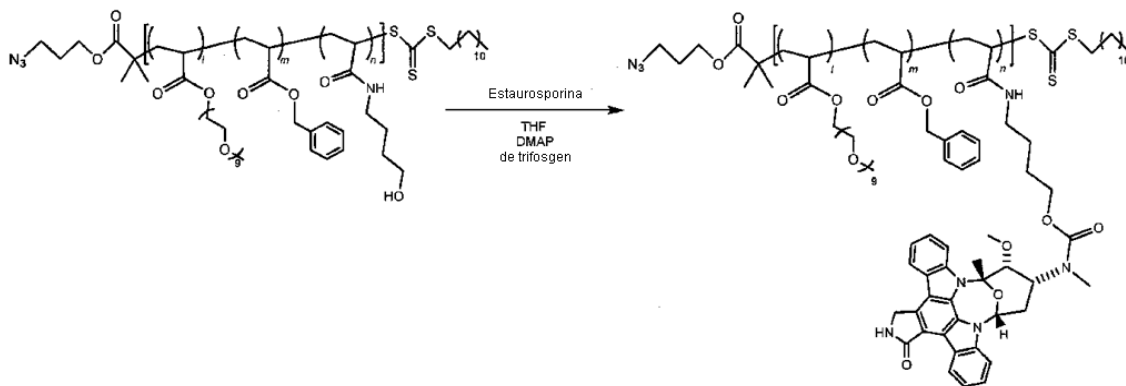
Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de 4-amino-butanol introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
130	Ejemplo 82	15

EJEMPLO 131**Síntesis de un copolímero unido a estaurosporina (STS, por sus siglas en inglés)**

5

En THF, se disolvió el copolímero obtenido en el Ejemplo 130 (200 mg), se añadieron trifosgeno (7,2 mg) y DMAP (22.1 mg) y la mezcla se agitó a 10°C durante 30 minutos. A continuación, se añadió estaurosporina (28.2 mg) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La solución de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa y líquido externo: metanol) y, después se removió el disolvente mediante destilación a presión reducida y secado al vacío para obtener el copolímero unido a estaurosporina (233 mg). Se midieron un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 10 nm (índice de polidispersidad: 0.21).

10



15

Para el copolímero unido a STS, se analizó la cantidad de STS introducidos en una molécula del copolímero a partir de un espectro de $^1\text{H-NMR}$ medido mediante NMR, y el resultado del mismo fue de 13 mol/mol.

[Aparatos y condiciones de medición]

20

(1) Medición de $^1\text{H-NMR}$

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/mL

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 256 veces

Resultados: Figura 20

CUADRO 29

Ejemplo	Copolímero utilizado	Número de STS introducido a una molécula de copolímero (mol/mol)
131	Ejemplo 130	13

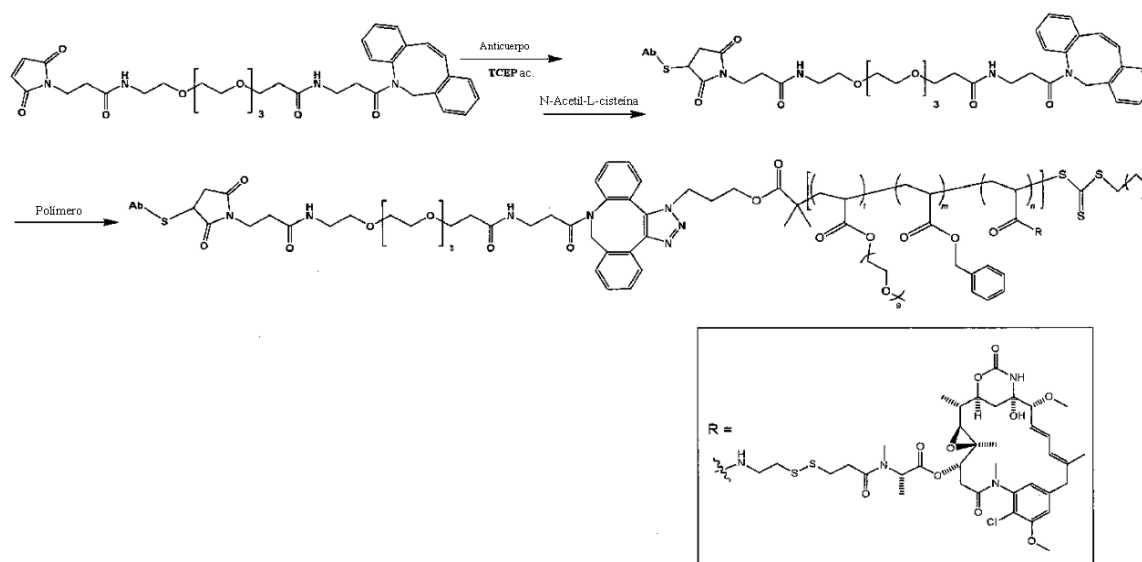
5

EJEMPLO 132

Producción de complejo de fármaco micelar unido a cetuximab-maleimida-PEG4-DBCO

Para un vial de vidrio en el cual se dispensó una solución madre de anticuerpo cetuximab (Erbix, Merck Biopharma) (10 mg/mL, 3 mL) y PBS (9 mL), se añadió 10 mM de tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) (42 µL) disuelto en PBS y la mezcla se agitó a 37°C durante 15 minutos. Después, se añadió 10 mM de DBCO-PEG4-maleimida (99 µL) disuelto en DMSO, se agitó a 37°C durante 15 minutos y se hizo reaccionar con un residuo de cisteína del anticuerpo. A esto, se le añadió una solución acuosa (10 mg/mL, 20 µL) obtenida disolviendo L-cisteína (168149, Sigma-Aldrich) en PBS, y la mezcla se agitó a 37°C durante 1 minuto para detener la reacción. El líquido de reacción se recuperó, se dializó frente a agua purificada durante la noche (casete de diálisis Slide-A-Lyzer™, corte molecular: 20 K, 7736, Thermo Fisher Scientific), y después se sometió a ultrafiltración (Vivaspin Turbo 15, corte molecular: 100 K) para eliminar un reactivo modificador que no reaccionó. La dilución se realizó en un matraz de medición hasta exactamente 5 mL con PBS, y la solución (1 mL) se dispensó en viales de vidrio. A continuación, se añadió el copolímero obtenido en el Ejemplo 99 (10 mg) y se dejó reposar en BICELL™ a -20°C durante 1 día. Después, se recuperó la solución obtenida por descongelación a 4°C. Después de que un anticuerpo unido al copolímero y un anticuerpo no unido se separaron por cromatografía hidrofóbica debido a la diferencia en el tiempo de retención, se recuperaron cada una de las fracciones objetivo y se lavaron por ultrafiltración (Vivaspin Turbo 15, corte molecular: 100 K) con PBS para obtener el complejo de fármaco micelar unido a cetuximab-maleimida-PEG4-DBCO como un objeto.

Se midió un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del complejo de fármaco micelar unido a cetuximab-maleimida-PEG4-DBCO por dispersión de luz dinámica (DLS). Además, se midió el peso molecular promedio en número (Mn, MALS) del complejo en agua mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) equipada con un detector de dispersión de luz multiángulo (MALS) para calcular el peso molecular absoluto, y el número de copolímeros unidos a un anticuerpo y una relación de unión de anticuerpo-fármaco (DAR) se calcularon a partir de un peso molecular del copolímero en combinación con el peso molecular del anticuerpo.



[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición SEC-MALS

Aparato: Waters Alliance/Waters

5 Detector: Detector PDA 2998/Detector de índice de refracción Waters 2414/Waters DAWN HELEOSII 8+/WYATT

Columna: TSKgel G-3000PWL/Tosoh Corporation

(Tamaño de columna: 7.8 mm × 300 mm, tamaño de partícula: 7 µm y peso molecular límite de exclusión: 2 × 10⁵)

10 TSKgel guardcolumn/Tosoh Corporation

Fase móvil: Solución acuosa de cloruro de sodio de 100 mmol/L

Temperatura: 25°C

Caudal: 0.8 mL/min

Concentración de la muestra: 10 mg/mL

15

CUADRO 30

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
132	Ejemplo 99	Cetuximab	DM1	1	20	1.2	24	14	0.13
				2		2.0	40	18	0.11

EJEMPLOS 133 A 134

En lugar de DBCO-PEG4-maleimida utilizada en el Ejemplo 132, la síntesis se realizó al utilizar DBCO-PEG12-maleimida en el Ejemplo 133, o DBCO-PEG24-maleimida en el Ejemplo 134 mediante el mismo método de preparación que en el Ejemplo 132.

CUADRO 31

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
133	Ejemplo 99	Cetuximab	DM1	-	20	1.9	38	19	0.20
134	Ejemplo 99	Cetuximab	DM1	-	20	2.1	42	20	0.22

EJEMPLOS 135 A 144

Para los copolímeros obtenidos en los Ejemplos 83, 96, 100, 101, 120, 121, 122, 124, 125 y 128, la síntesis se realizó modificando apropiadamente las cantidades de carga y utilizando el mismo método que en el Ejemplo 132.

CUADRO 32

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
135	Ejemplo 100	Cetuximab	DM1	1	26	1.0	26	14	0.17
				2		1.6	42	15	0.19
136	Ejemplo 125		DM1	1	16	1.2	18	17	0.08
				2		1.6	24	18	0.08
137	Ejemplo 124		DM1	1	17	1.6	27	21	0.30
				2		1.8	31	17	0.15
138	Ejemplo 120		DM1	-	20	1.9	38	18	0.11
139	Ejemplo 121		DM1	1	26	1.2	31	17	0.32
				2		2.0	52	18	0.25
				3		3.3	85	25	0.25
140	Ejemplo 101		DM1	-	19	1.9	36	16	0.10
141	Ejemplo 128		SN-38	-	13	1.8	23	14	0.13
142	Ejemplo 125		STS	-	13	2.1	27	14	0.09
143	Ejemplo 83		SCNP	-	0	1.9	0	15	0.07
144	Ejemplo 122		DM1	1	18	1.4	25	17	0.08
				2		2.1	38	17	0.07

EJEMPLO 145**Producción de complejo de fármaco micelar unido a cetuximab-NHS-DBCO**

El copolímero obtenido en el Ejemplo 118 y cetuximab se complejaron. A un vial de vidrio en el cual se
 5 dispensó una solución de PBS de cetuximab (2.07 mg/mL, 14.5 mL), se añadió Éster Sulfo DBCO-NHS
 (0.5 mL) disuelto en PBS a 1.22 mg/mL. La mezcla se agitó durante 3 horas, con lo cual se hizo reaccionar
 un residuo de lisina del anticuerpo. Después, el reactivo de modificación que no reaccionó se removió
 mediante la purificación por diálisis (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada
 Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa, y líquido externo: agua purificada) y la ultrafiltración (Vivaspin
 10 Turbo 15, corte molecular: 100 K). La dilución se realizó en un matraz de medición hasta exactamente
 5 ml con PBS. En un vial de vidrio, se dispensó la solución (1 ml) (anticuerpo: 6 mg/vial) y se recuperó
 por liofilización. Después, el complejo de fármaco micelar unido a cetuximab-NHS-DBCO, que es un
 objeto, se recuperó mediante la misma operación que en el Ejemplo 132.

Se midieron un diámetro de partícula promedio Z y un índice de polidispersidad del complejo de fármaco
 15 micelar unido a cetuximab-NHS-DBCO mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del
 diámetro de partícula promedio Z fue de 32 nm (índice de polidispersidad: 0.47). Además, el peso
 molecular absoluto se calculó mediante la medición MALS, y el número de copolímeros unidos a un
 anticuerpo calculado a partir del peso molecular del copolímero en combinación con el peso molecular
 del anticuerpo fue 1.9, y la relación de unión al fármaco del anticuerpo (DAR) fue 34.

CUADRO 33

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
145	Ejemplo 118	Cetuximab	DM1	-	18	1.9	34	32	0.47

EJEMPLOS 146 A 148

25 En lugar del éster Sulfo DBCO-NHS utilizado en el Ejemplo 145, la síntesis se realizó utilizando el éster
 DBCO-NHS utilizado en el Ejemplo 146, el éster DBCO-PEG5-NHS utilizado en el Ejemplo 147 o el éster
 DBCO-PEG13-NHS utilizado en el Ejemplo 148 mediante el mismo método de preparación que en el
 Ejemplo 145.

CUADRO 34

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
146	Ejemplo 118	Cetuximab	DM1	-	18	1.5	27	26	0.34
147	Ejemplo 118	Cetuximab	DM1	-	18	1.8	32	27	0.21
148	Ejemplo 118	Cetuximab	DM1	-	18	1.9	34	27	0.22

EJEMPLOS 149 A 152**Producción de complejo farmacológico de micela unida a trastuzumab**

5

Se llevó a cabo el mismo procedimiento establecido en el Ejemplo 132, en donde se utilizó trastuzumab (Herceptin, Chugai Pharmaceutical CO., LTD.) como anticuerpo.

CUADRO 35

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
149	Ejemplo 119	Trastuzumab	DM1	1	16	1.1	18	17	0.21
				2		1.6	26	26	0.23
				3		2.4	38	28	0.19
150	Ejemplo 123		DM1	-	7	3.3	23	23	0.25
151	Ejemplo 120		DM1	-	20	2.0	40	26	0.23
152	Ejemplo 129		Deruxtecan	-	16	1.6	26	19	0.26

10

EJEMPLO 153**Producción de complejo farmacológico micelar unido a Rituximab-S**

Se llevó a cabo el mismo procedimiento establecido en el Ejemplo 132, en donde se utilizó Rituximab (Rituxan, Zenyaku Kogyo Co., Ltd.) como anticuerpo.

15

CUADRO 36

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
153	Ejemplo 119	Rituximab	DM1	1	16	1.7	27	21	0.22
				2		2.6	42	16	0.20

EJEMPLO 154**Producción de complejo de fármaco micelar unido a NH-rituximab**

- 5 Se llevó a cabo el mismo procedimiento establecido en el Ejemplo 146, en donde se utilizó Rituximab (Rituxan, Zenyaku Kogyo Co., Ltd.) como anticuerpo.

CUADRO 37

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
154	Ejemplo 119	Rituximab	DM1	1	16	1.5	24	20	0.20
				2		2.5	40	18	0.24

EJEMPLO 155

- 10 **Producción de complejo de fármaco micelar unido a panitumumab**

Se llevó a cabo el mismo procedimiento establecido en el Ejemplo 132, en donde se utilizó panitumumab (Vectibix™, Takeda Pharmaceutical Company Limited) como anticuerpo.

15

CUADRO 38

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
155	Ejemplo 121	Panitumumab	DM1	1	26	0.8	21	13	0.11
				2		1.5	39	18	0.22
				3		2.6	69	17	0.22

EJEMPLO 156**Producción de complejo de fármaco micelar unido a IgG**

- 20 Se llevó a cabo el mismo procedimiento establecido en el Ejemplo 132, en donde se utilizó IgG (IgG humana normal, molécula completa, producto purificado, 143-09501, FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation) como anticuerpo.

CUADRO 39

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
156	Ejemplo 121	IgG	DM1	-	26	1.8	47	17	0.20

EJEMPLO 157**Producción de complejo de fármaco micelar unido a cetuximab-Fab**

5

Se preparó un anticuerpo fragmentado (Fab) de cetuximab utilizando un kit de purificación disponible comercialmente (Fab Preparation Kit, Pierce, #44985) y se realizó el mismo procedimiento que en el Ejemplo 145.

10

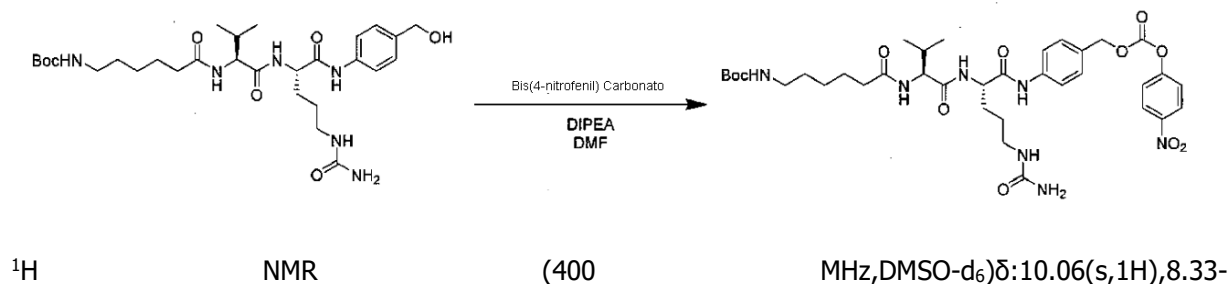
CUADRO 40

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
157	Ejemplo 121	Cetuximab-Fab	DM1	1	26	1.0	26	15	0.13
				2		1.4	35	14	0.12

EJEMPLO 158**Producción de copolímero unido a exatecan-PAB-Cit-Val-Ahx**

15 Paso 1: síntesis de Boc-Ahx-Val-Cit-PAB-PNP

Parea una solución de Boc-Ahx-Val-Cit-PAB-OH (compuesto HDP 30.1267 descrito en WO 2016/142049 A) (239 mg) y bis(4-nitrofenil)carbonato (362 mg) en DMF (1,5 mL), se añadió N,N-diisopropiletilamina (207 µL), y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El líquido de reacción se destiló a presión reducida con el evaporador y después se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (CHCl₃/MeOH = 100/0 a 85/15) para obtener Boc-Ahx-Val-Cit-PAB-PNP (241 mg).

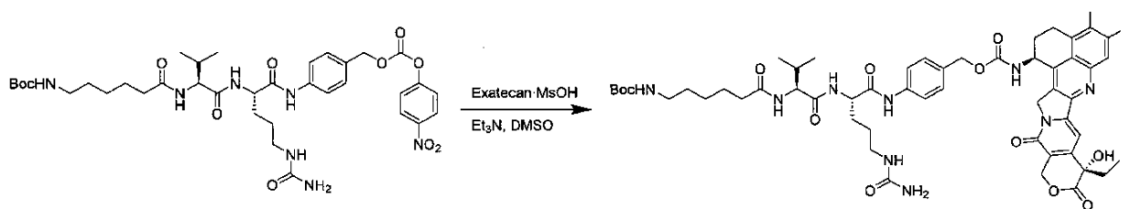


8.29(m,2H),8.11(d,J=7.6Hz,1H),7.80(d,J=8.5Hz,1H),7.65(d,J=9.0 Hz,2H),7.57(dt,J=10.0,2.7Hz,2H),7.41(d,J=8.8Hz,2H),6.75(t,J=5.6Hz,1H),5.97(t,J=5.8Hz,1H),5.42(s,2 H),5.24(s,2H),4.41-4.34(m,1H),4.20(dd,J=8.8,7.6Hz,1H),3.07-2.92(m,2H),2.90-2.85(m,2H),2.23-2.08(m,2H),2.01-1.91(m,1H),1.75-1.32(m,17H),1.25-

5 1.17(m,2H),0.87(d,J=6.8Hz,3H),0.83(d,J=6.8Hz,3H).MS(ESI)m/z:758.2[M+H]⁺

Paso 2: síntesis de Boc-Ahx-Val-Cit-PAB-exatecan

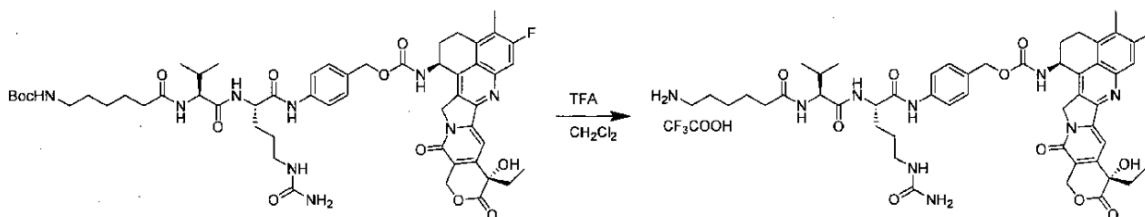
Para una solución de Boc-Ahx-Val-Cit-PAB-PNP (240 mg) y mesilato de exatecan (168 mg) en DMSO (6.33 mL), se añadió trietilamina (88.2 μ L) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió agua al líquido de reacción y, a continuación, se recogió el precipitado generado mediante
10 filtración con succión. El producto filtrado se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (CHCl₃/MeOH = 100/0 a 85/15) para obtener el Boc-Ahx-Val-Cit-PAB-exatecan (202 mg).



¹H NMR(400 MHz,DMSO-d₆) δ :9.98(s,1H),8.09-8.04(m,2H),7.81-7.76(m,2H),7.61(d,J=8.5Hz,2H),7.36(d,J=8.5Hz,2H),7.31(s,1H),6.74(t,J=5.6Hz,1H),6.52(s,1H),5.97(t, J=5.8Hz,1H),5.45(s,2H),5.41(s,2H),5.34-5.23 (m,3H),5.08 (s,2H),4.40-4.33 (m,1H),4.19 (dd,J = 8.5,6.7 Hz,1H),3.30-3.06 (m,2H),3.05-2.84 (m,4H),2.37 (s,3H),2.24-2.08 (m,4H),2.03-1.80 (m,3H),1.74-1.31 (m,17H),1.21-1.18 (m,2H),0.89-0.82 (m,9H).MS(ESI)m/z:1054.5[M+H]⁺

Paso 3: síntesis de trifluoroacetato de H-Ahx-Val-Cit-PAB-exatecan

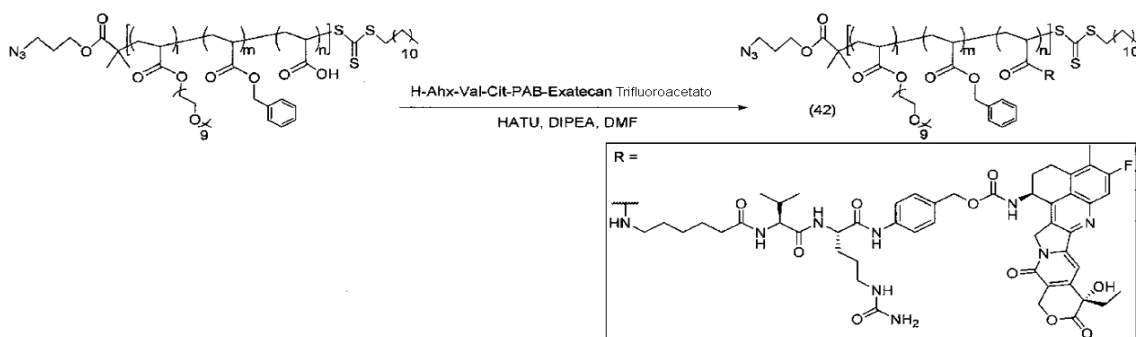
Para una solución de Boc-Ahx-Val-Cit-PAB-exatecan (100 mg) en DCM (3 mL), se añadió ácido trifluoroacético (0.3 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. El líquido de
20 reacción se destiló a presión reducida con el evaporador y luego se purificó por cromatografía de fase inversa (solución acuosa de TFA al 0.1 %/MeCN = 100/0 a 60/40) con una columna ODS para obtener el trifluoroacetato de H-Ahx-Val-Cit-PAB-exatecan (63.7 mg).



25 MS(ESI)m/z: 954.5 [M+H]⁺

Paso 4: síntesis de un copolímero unido a exatecan-PAB-Cit-Val-Ahx

En DMF (1 mL), se disolvió un copolímero obtenido por el mismo método de preparación como en el Ejemplo 72 (100 mg), se añadieron trifluoroacetato de H-Ahx-Val-Cit-PAB-exatecan (25,4 mg), N,N-diisopropiletilamina (15,5 µL) y HATU (11,3 mg) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El líquido de reacción se dializó y se purificó (membrana de diálisis: Membrana de Celulosa Regenerada Spectra/Por 6, corte molecular: 3.5 kDa, y líquido externo: metanol), después se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida y secado al vacío, y se recuperó el copolímero para obtener el copolímero unido a exatecan-PAB-Cit-Val-Ahx (106 mg). Se midieron el diámetro de partícula promedio Z y el índice de polidispersidad del copolímero obtenido en agua mediante dispersión de luz dinámica (DLS), y el resultado del diámetro de partícula promedio Z fue de 8,5 nm (índice de polidispersidad: 0.129).



Para el copolímero unido a exatecan-PAB-Cit-Val-Ahx, se analizó la cantidad de exatecan introducido en una molécula del copolímero a partir de un espectro de ^1H NMR medido mediante NMR, y el resultado del mismo fue de 9.4 mol/mol.

[Aparatos y condiciones de medición]

(1) Medición de ^1H NMR

Aparato: JNM-ECX400 (400 MHz)/JEOL Ltd.

Disolvente: dimetilsulfóxido- d_6 que contiene 0.03% de tetrametilsilano/KANTO CHEMICAL CO., INC.

Concentración de la muestra: 20 mg/ml

Temperatura de medición: 25°C

Número de veces de integración: 399 veces

Resultados: Figura 21

EJEMPLOS 159 A 163

Para el copolímero obtenido en el Ejemplo 158, la síntesis se realizó modificando apropiadamente la cantidad de carga y utilizando el mismo método que en el Ejemplo 132. Además, para los copolímeros obtenidos de manera similar a los Ejemplos 72, 79, 82 y 84, la síntesis se realizó al realizar

secuencialmente el mismo método de preparación que en los Ejemplos 94, 96 y 132 mientras se modificando los importes de los cargos.

CUADRO 41

Ejemplo	Copolímero utilizado	Anticuerpo	Fármaco	Fracción	Número de fármacos unidos a una molécula de copolímero (mol/mol)	Número de copolímeros unidos a un anticuerpo (mol/mol)	DAR	Diámetro de partícula promedio Z (nm)	Índice de polidispersidad
159	Ejemplo 158	Cetuximab	Exatecan	-	9.4	2.3	21	13	0.13
160	Ejemplo 82	Cetuximab	DM1	-	12	2.1	25	27	-
161	Ejemplo 84	Cetuximab	DM1	-	24	1.7	41	27	-
162	Ejemplo 72	Cetuximab	DM1	-	10	2.0	20	27	-
163	Ejemplo 79	Cetuximab	DM1	-	24	1.8	43	27	-

5

EJEMPLO COMPARATIVO 1

Preparación de una solución de oxaliplatino

Para 5.58 mL de una solución de glucosa al 5.9 (p/v)% se añadió 1 mL de solución de I.V. de ELPLAT de 50 mg (Yakult Honsha Co., Ltd.) para preparar una solución de glucosa al 5 (p/v)% que contenía 760 µg de oxaliplatino.

10

EJEMPLO COMPARATIVO 2

Preparación de una solución de cetuximab

15

Se diluyó cetuximab (Erbix™ Injection 100 mg, Merck Biopharma Co., Ltd.) con solución salina fisiológica (solución salina fisiológica Otsuka) para preparar una solución de cetuximab a 2 mg/mL, que se utilizó para administración intravenosa (dosis de 10 mg/kg corporal). Además, mediante una dilución similar con RPMI1640 (en lo sucesivo, medio RPMI1640) que contiene 10% de suero bovino fetal (Merck KGaA), se evaluaron los efectos citotóxicos a concentraciones finales de cetuximab de 66 nmol/L, 20 nmol/L, 6.6 nmol/L, 2.0 nmol/L, 0.66 nmol/L, 0.20 nmol/L, 0.066 nmol/L o 0.020 nmol/L.

20

EJEMPLO COMPARATIVO 3

Preparación de una solución de trastuzumab

25

En agua para inyección (3.0 mL) de conformidad con la Farmacopea Japonesa, se disolvió trastuzumab (Herceptin™ para infusión intravenosa 60, Chugai Pharmaceutical CO., LTD.) (60 mg) para preparar una solución a 20 mg/mL. A continuación, al diluir esta solución con el medio RPMI1640, se evaluaron los efectos citotóxicos a concentraciones finales de trastuzumab de 20 nmol/L, 6.8 nmol/L, 2.0 nmol/L, 0.68 nmol/L, 0.20 nmol/L, 0.068 nmol/L, 0.020 nmol/L, 0.0068 nmol/L o 0.0020 nmol/L.

30

EJEMPLO COMPARATIVO 4

Preparación de una solución de rituximab

- 5 Al diluir rituximab (Rituxan™ Intravenous Infusion 100 mg, Zenyaku Kogyo Co., Ltd.) con el medio RPMI1640, se evaluaron los efectos citotóxicos a una concentración final de rituximab de 69 nmol/L, 21 nmol/L, 6.9 nmol/L, 2.1 nmol/L, 0.69 nmol/L, 0.21 nmol/L, 0.069 nmol/L o 0.021 nmol/L.

EJEMPLO DE PRUEBA 1

Prueba de eficacia de fármacos

10 Se utilizó un modelo portador de tumor obtenido mediante el trasplante subcutáneo de una línea celular de cáncer de colon de ratón C26 (American Type Culture Collection) en un ratón desnudo hembra (BALB/c-nu/nu, 7 semanas de edad; Charles River Laboratories Japan, Inc.) para una prueba de eficacia de fármacos.

15 Se suspendió una línea celular de cáncer de colon de ratón C26 subcultivada en una incubadora de CO₂ en un medio líquido (Dulbecco's Modified Eagle's Medium-high glycoside, Sigma-Aldrich Co. LLC), y se inyectó subcutáneamente en la espalda de ratones desnudos de manera que el número de células por ratón fuera $1 \times 10^6/100 \mu\text{L}$. Por lo tanto, los ratones desnudos se criaron durante aproximadamente 1 semana, y se inició la administración de un fármaco cuando el valor promedio del volumen del tumor había crecido a aproximadamente 30 mm³. Se administró un SCNP encapsulante de DACHPt (SCNP encapsulante de DACHPt preparado utilizando el copolímero del Ejemplo 70) en la vena de la cola (3 veces cada dos días) y se evaluó el efecto antitumoral en función del volumen del tumor (de 4 a 5 ratones por 1 grupo). Como comparación, se utilizó una solución de oxaliplatino (Ejemplo comparativo 20 1) y se administró de la misma forma. La dosis de cada preparación fue de 8 mg/kg (3.9 mg/kg en términos de Pt) como dosis máxima administrable para la solución de oxaliplatino y de 3 mg/kg en términos de Pt para el SCNP encapsulante de DACHPt.

25 En la Figura 22 se muestra un cambio en el volumen del tumor a lo largo del tiempo. Para el SCNP encapsulante de DACHPt, T/C fue de 0.4 después de 14 días desde la administración [T/C: relación del volumen del tumor del grupo de administración del fármaco (T) con el del grupo de control (C)]. En el caso de la solución de oxaliplatino (Ejemplo Comparativo 1), la T/C fue de 1.1 después de 14 días desde la administración. Además, después de 14 días desde la administración, se confirmó que el SCNP que encapsula DACHPt suprimió significativamente el crecimiento de un tumor en comparación con el control (prueba t del Estudiante). Los resultados anteriores indican que el SCNP que encapsula DACHPt tiene 30 un excelente efecto antitumoral en comparación con la solución de oxaliplatino.

EJEMPLO DE PRUEBA 2

Prueba citotóxica

- 5 Se ajustaron una línea celular de cáncer de mama humano con antígeno EGFR positivo MDA-MB-468 (American Type Culture Collection) y una línea celular de cáncer de mama humano con antígeno EGFR negativo MDA-MB-453 (RIKEN BRC CELL BANK) a una concentración celular de 2.0×10^4 células/ml y 4.0×10^4 células/ml con el medio RPMI1640, respectivamente, y se añadieron 100 μ L de cada una a una microplaca de 96 pocillos para cultivo celular y se cultivaron durante la noche. Al día siguiente, se
- 10 añadieron por separado a la microplaca 100 μ L de la muestra de evaluación diluida con el medio RPMI, y las células se cultivaron durante 4 días a 37°C bajo un 5 % de CO₂. Después del cultivo, se añadió el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo™ (Promega Corporation) a la microplaca y se agitó la mezcla y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 10 minutos. A continuación, se midió la cantidad de emisión de luz con un lector de placas (Molecular Devices, LLC). La viabilidad celular se
- 15 calculó mediante la siguiente ecuación.
- $$\text{Viabilidad Celular (\%)} = a/b \times 100$$
- En la ecuación, a representa un valor promedio (n = 3) de las cantidades de emisión de luz de los pocillos de muestra, y b representa un valor promedio (n = 3) de las cantidades de emisión de luz de los pocillos de muestra no añadidos.
- 20 Se calculó un valor de IC₅₀, que es una concentración de agente en la que la viabilidad celular es del 50%, con el software SAS™ 9.4 (SAS Institute Japan Ltd.).

CUADRO 42

Ejemplo	Fracción	Alta expression de EGFR	EGFR negativo
		IC ₅₀ (nmol/L)	
		MDA-MB-468	MDA-MB-453
Ejemplo comparativo 2	-	>20	>66
134	1	0.034	0.225
	2	0.028	0.081
135	1	0.147	22.1
	2	0.112	2.38
132	1	0.042	4.09
133	1	0.047	6.52
136	-	0.017	4.14
137	1	0.014	6.56
	2	0.006	1.52
	3	0.005	0.48
139	-	0.015	>20
150	1	0.014	12.4
	2	0.010	4.06

	3	0.006	3.41
152	1	0.070	7.16

159	—	0.121	>20
-----	---	-------	-----

[Ejemplo de Prueba 3] Prueba citotóxica

Se ajustó una línea celular de cáncer gástrico humano con antígeno HER2 NCI-N87 (American Type Culture Collection) o una línea celular de cáncer de mama humano con antígeno HER2 negativo MDA-MB-468 a una concentración celular de 2.0×10^4 células/ml con el medio RPMI1640, y se añadieron 100 μ l de cada una a la microplaca de 96 pocillos para el cultivo celular y se cultivaron durante la noche. Al día siguiente, se añadieron por separado a la microplaca 100 μ l de la muestra de evaluación diluida con el medio RPMI, y las células se cultivaron durante 4 días a 37°C bajo un 5% de CO₂. Después del cultivo, se añadió a la microplaca el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo™ (Promega Corporation) y la mezcla se agitó y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Luego se midió la cantidad de emisión de luz con un lector de placas (Molecular Devices, LLC.). Se calcularon la viabilidad celular y el valor IC₅₀.

CUADRO 43

Ejemplo	Fracción	Alta expresión de HER2	HER2 negativo
		IC ₅₀ (nmol/L)	
		NCI-N87	MDA-MB-468
Ejemplo Comparativo 3	-	>20	>20
144	3	0.10	3.8
145	-	4.60	-
146	-	0.38	2.3
147	-	2.30	>20

15

EJEMPLO DE PRUEBA 4

Prueba citotóxica

Las células Raji derivadas de linfoma de células B humanas positivas al antígeno CD20 o las células MOLT-4 derivadas de leucemia linfoblástica T humana negativas al antígeno CD20 se ajustaron a una concentración celular de 5.0×10^4 células/ml con el medio RPMI1640, y se añadieron 50 μ L de cada una a la microplaca de 96 pocillos para el cultivo celular, y luego se cultivaron durante la noche. Al día siguiente, se añadieron por separado a la microplaca 50 μ L de la muestra de evaluación diluida con el medio RPMI, y las células se cultivaron durante 4 días a 37°C bajo un 5% de CO₂. Después del cultivo, se añadió a la microplaca el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo™ (Promega Corporation), y la mezcla se agitó y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Luego se midió la cantidad de emisión de luz con un lector de placas (Molecular Devices, LLC.). Se calcularon

la viabilidad celular y el valor IC_{50} .

CUADRO 44

Ejemplo	Fracción	Alta expression de CD20	CD20 negativo
		$IC_{50}(\text{nmol/L})$	
		Raji	MOLT-4
Ejemplo comparativo 4	-	>69	>69
148	1	1.0	13
	2	0.50	6.9
149	1	0.60	20
	2	0.41	9.9

5

EJEMPLO DE PRUEBA 5

Prueba para confirmar efectos antitumorales

Se suspendió una línea celular de cáncer de colon humano HT-29 con EGFR positivo en PBS y se ajustó a una concentración de 2.5×10^7 células/ml. Después, se trasplantaron 5×10^6 células (0.2 ml) por vía subcutánea a las porciones ventrales derechas de ratones desnudos (hembras, 6 semanas de edad) después de ponerlos en cuarentena, y los ratones se dividieron aleatoriamente en grupos (12 ratones por grupo) 8 días después del trasplante celular subcutáneo. El complejo farmacológico micelar unido a cetuximab (Ejemplo 138, DAR = 38) se administró a través de las venas de la cola de los ratones en dosis de 1.8 y 5.5 mg/kg (dosis para la fracción de anticuerpo: 1.0 y 3.0 mg de anticuerpo/kg, y la dosis para la fracción DM1: 0.18 y 0.55 mg de DM1/kg) o la micela unida a DM1 (Ejemplo 120, anticuerpo no unido) se administró a través de las venas de la cola de los ratones en una dosis de 2.5 mg/kg (cantidad de la fracción DM1: 0.55 mg de DM1/kg), respectivamente. Se estableció un grupo de administración de solución salina fisiológica como grupo de control. Los resultados se muestran en la Figura 23. La muestra de evaluación mostró efectos antitumorales en función de las dosis. Además, no se confirmó ninguna pérdida de peso de los ratones por la administración.

EJEMPLO DE PRUEBA 6**Prueba para confirmar los efectos antitumorales**

Se suspendió una línea celular de cáncer gástrico humano HER2-positiva NCI-N87 en PBS para preparar una concentración de 5×10^7 células/ml, y se trasplantaron 1×10^7 células (0.2 ml) por vía subcutánea a las porciones ventrales derechas de ratones desnudos (hembras, 6 semanas de edad; Charles River Laboratories Japan, Inc.).

7 días después del trasplante subcutáneo de células, los ratones se dividieron aleatoriamente en grupos (12 ratones por grupo). El complejo farmacológico micelar unido a trastuzumab (Ejemplo 151, DAR = 40) se administró a través de las venas de la cola de los ratones en dosis de 1.9 y 5.7 mg/kg (dosis para la fracción de anticuerpo: 1.0 y 3.0 mg de anticuerpo/kg, y la dosis para la fracción DM1: 0.20 y 0.60 mg de DM1/kg) o la micela unida a DM1 (Ejemplo 120, anticuerpo no unido) se administró a través de las venas de la cola de los ratones en una dosis de 0.70 mg/kg (dosis para la fracción DM1: 0.20 mg de DM1/kg), respectivamente. Se estableció un grupo de administración de solución salina fisiológica como grupo de control. Los resultados se muestran en la Figura 24. La muestra de evaluación mostró efectos antitumorales en función de las dosis. Además, no se confirmó ninguna pérdida de peso de los ratones por la administración.

EJEMPLO DE PRUEBA 7**Prueba para confirmar los efectos antitumorales**

Se suspendió una línea celular de cáncer de mama humano EGFR-positiva MDA-MB-468 en PBS y se ajustó a una concentración de 5×10^7 células/mL, y se trasplantaron subcutáneamente 1×10^7 células (0.2 ml) a porciones ventrales derechas de ratones desnudos (hembras, 6 semanas de edad; Jackson Laboratory Japan, Inc.).

27 días después del trasplante subcutáneo de células, los ratones se dividieron aleatoriamente en grupos (10 ratones por grupo). El complejo de fármaco micelar unido a cetuximab (Ejemplo 160, DAR = 25) se administró a través de las venas de la cola de los ratones a una dosis de 3.0 mg/kg (dosis para la fracción de anticuerpo: 1.6 mg de anticuerpo/kg y la dosis para la fracción DM1: 0.20 mg de DM1/kg) o el complejo de fármaco micelar unido a cetuximab (Ejemplo 161, DAR = 41) se administró a través de las venas de la cola de los ratones a una dosis de 1.8 mg/kg (dosis para la fracción de anticuerpo: 1.0 mg de anticuerpo/kg y la dosis para la fracción DM1: 0.20 mg de DM1/kg), respectivamente. Se estableció un grupo de administración de solución salina fisiológica como grupo de control. Los resultados se muestran en la Figura 25. La muestra de evaluación mostró efectos antitumorales. Además, no se confirmó ninguna pérdida de peso de los ratones por la administración.

EJEMPLO DE PRUEBA 8**Prueba para confirmar los efectos antitumorales**

5 Se suspendió una línea celular de cáncer de colon humano EGFR-positiva HCT-116 que tiene la mutación KRAS (G13D) en PBS para preparar una concentración de 5×10^7 células/ml, y se trasplantaron 1×10^7 células (0.2 ml) por vía subcutánea a las porciones ventrales derechas de ratones desnudos (hembras, 6 semanas de edad; Jackson Laboratory Japan, Inc.).

7 días después del trasplante subcutáneo de células, los ratones se dividieron aleatoriamente en grupos (10 ratones por grupo). El complejo de fármaco micelar unido a cetuximab (Ejemplo 162, DAR = 20) se administró a través de las venas de la cola de los ratones a una dosis de 5.5 mg/kg (dosis para la fracción de anticuerpo: 3.1 mg de anticuerpo/kg y dosis para la fracción DM1: 0.30 mg de DM1/kg) o el complejo de fármaco micelar unido a cetuximab (Ejemplo 163, DAR = 43) se administró a través de las venas de la cola de los ratones a una dosis de 2.6 mg/kg (dosis para la fracción de anticuerpo: 1.4 mg de anticuerpo/kg y dosis para la fracción DM1: 0.30 mg de DM1/kg), respectivamente. Se estableció un grupo de administración de solución salina fisiológica como grupo de control. Los resultados se muestran en la Figura 26. La muestra de evaluación mostró efectos antitumorales. Además, no se confirmó ninguna pérdida de peso de los ratones por la administración.

Se midieron los diámetros largos y cortos de los tumores dos veces por semana con un calibrador digital (número de producto: 19975, Shinwa Rules Co., Ltd.), y los volúmenes tumorales se calcularon mediante la siguiente ecuación.

$$\text{Volumen del tumor (mm}^3\text{)} = a \times b^2/2$$

En la ecuación, a representa el diámetro largo (mm) y b representa el diámetro corto (mm).