



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112021002147-7 A2



(22) Data do Depósito: 15/08/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 11/05/2021

(54) Título: CONJUGADOS PARA USO EM MÉTODOS DE TRATAMENTO DE CÂNCER

(51) Int. Cl.: A61K 47/60; A61K 47/64; A61P 35/00.

(30) Prioridade Unionista: 17/08/2018 US 62/719,314.

(71) Depositante(es): ASTRAZENECA AB.

(72) Inventor(es): MARIANNE ASHFORD; SRIVIDYA BALACHANDER; DAVID OWEN; CHRISTOPHER JOHN HAMILTON PORTER.

(86) Pedido PCT: PCT IB2019056926 de 15/08/2019

(87) Publicação PCT: WO 2020/035816 de 20/02/2020

(85) Data da Fase Nacional: 04/02/2021

(57) Resumo: CONJUGADOS PARA USO EM MÉTODOS DE TRATAMENTO DE CÂNCER. A presente invenção refere-se a métodos de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I): (I) e seus sais farmacologicamente aceitáveis.

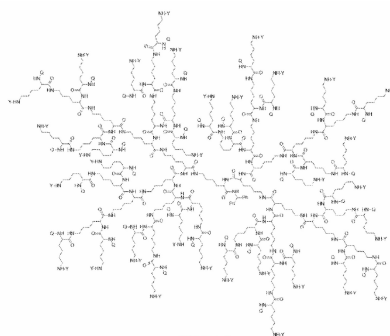


Figura 1

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
**"CONJUGADOS PARA USO EM MÉTODOS DE TRATAMENTO DE
CÂNCER".**

Pedidos Relacionados

[001] Este pedido reivindica o benefício de prioridade sob 35 U.S.C. §119(e) em relação ao Pedido de Patente Provisória dos E.U.A. No. 62/719,314 depositado a 17 de agosto, 2018, os conteúdos do qual são deste modo incorporados por referência em sua totalidade.

Antecedentes

[002] Bcl-2 e Bcl-XL são importantes membros antiapoptóticos da família BCL-2 de proteínas e principais reguladores da sobrevivência celular (Chipuk JE *et al.*, *The BCL-2 family reunion*, *Mol. Cell* 12 de fev de 2010; 37 (3): 299-310). A translocação gênica, amplificação e/ou sobre-expressão de proteínas destes fatores críticos de sobrevivência foram observadas em múltiplos tipos de câncer e estão amplamente implicadas no desenvolvimento e progressão do câncer (Yip *et al.*, *Bcl-2 family proteins and cancer*, *Oncogene* 2008 27, 6398-6406; e Beroukhim R. *et al.*, *The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers*, *Nature* 18 de fev de 2010; 463 (7283): 899-905). Em muitas malignidades foi também mostrado que BCL-2 e/ou BCL-XL medeiam a resistência a fármacos e a recidiva e estão fortemente associados a um mau prognóstico (Robertson LE *et al.* *Bcl-2 expression in chronic lymphocytic leukemia and its correlation with the induction of apoptosis and clinical outcome*, *Leukemia* março de 1996; 10 (3): 456-459; e Ilievska Poposka B. *et al.*, *Bcl-2 as a prognostic factor for survival in small-cell lung cancer*, *Makedonska Akademija na Naukite i Umetnostite Oddelenie Za Bioloshki i Meditsinski Nauki Prilozi* dez de 2008; 29 (2): 281-293).

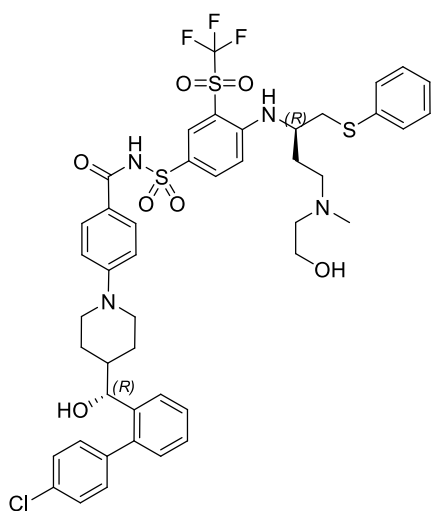
[003] As proteínas antiapoptóticas da família BCL2 promovem a sobrevivência de células cancerosas por ligação a proteínas pró-

apoptóticas como BIM, PUMA, BAK e BAX e neutralização de suas atividades indutoras de morte celular (Chipuk JE *et al.*, *infra*; e Yip *et al.*, *infra*). Portanto, o direcionamento terapêutico de BCL-2 e BCL-XL sozinho ou em combinação com outras terapias que influenciam o eixo da família BCL-2 de proteínas, tais como quimioterapêuticos citotóxicos, inibidores de proteassomo ou inibidores de cinase, é uma estratégia atraente que pode tratar o câncer e pode ultrapassar a resistência a fármacos em muitos cânceres humanos (Delbridge, ARD *et al.*, *The BCL-2 protein family, BH3-mimetics and cancer therapy, Cell Death & Differentiation* 2015 22, 1071-1080).

[004] Adicionalmente à potência celular, de modo a desenvolver um composto candidato em um produto de fármaco adequadamente aceitável, o composto necessita de possuir e exibir uma série de propriedades adicionais. Estas incluem propriedades físico-químicas adequadas para permitir a formulação em uma forma de dosagem adequada (por exemplo, solubilidade, estabilidade, manufaturabilidade), propriedades biofarmacêuticas adequadas (por exemplo, permeabilidade, solubilidade, absorção, biodisponibilidade, estabilidade sob condições biológicas, comportamento farmacocinético e farmacodinâmico) e um perfil de segurança adequado para proporcionar um índice terapêutico aceitável. A identificação de compostos, por exemplo, inibidores de Bcl-2 e/ou Bcl-XL que exibam algumas ou todas de tais propriedades é desafiante.

[005] Inibidores de Bcl-2 e/ou Bcl-XL à base de N-acilsulfonamida particulares e métodos para preparação dos mesmos são divulgados na Patente dos E.U.A. No. 9,018,381. A atividade e especificidade dos compostos que se ligam à e inibem a função de Bcl-2 em uma célula foram também divulgadas na Patente dos E.U.A. No. 9,018,381 por meio de ensaios de ligação e celulares *in vitro*. No entanto, a entrega destes inibidores de Bcl-2 e/ou Bcl-XL à base de N-acilsulfonamida

provou ser difícil devido a, por exemplo, baixa solubilidade e efeitos secundários relacionados com o alvo. Os requerentes desenvolveram dendrímeros ligados a um certo inibidor de Bcl-2/XL (Composto A, a síntese do qual é descrita na Patente dos E.U.A. No. 9,018,381) que conseguem ultrapassar os desafios de entrega enfrentados pelos inibidores de Bcl não conjugados:



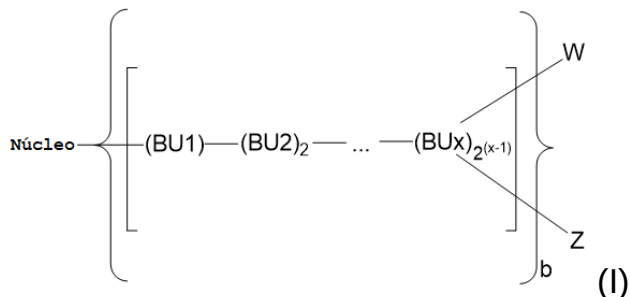
(Composto A).

Sumário

[006] É divulgado aqui método de tratamento de câncer compreendendo administração subcutânea de um dendrímero covalentemente anexado (por exemplo, conjugado ou ligado) a um inibidor de Bcl. Os dendrímeros exibem elevada solubilidade em comparação com o inibidor de Bcl não conjugado, e dados pré-clínicos sugerem que os dendrímeros conjugados com o inibidor de Bcl têm o potencial de melhorar a tolerabilidade *in vivo*, o que pode melhorar o índice terapêutico e reduzir os efeitos secundários, em conjunto com dosagem IV reduzida. A administração subcutânea parece diminuir a biodisponibilidade do conjugado de dendrímero enquanto mantém eficácia similar e captação hepática reduzida, o que pode resultar em um aumento do índice terapêutico do conjugado de dendrímero.

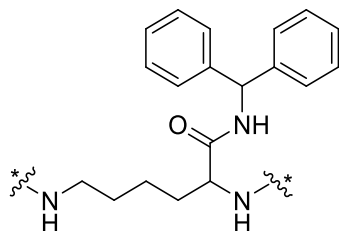
[007] Conformemente, em uma modalidade, é divulgado um método de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo

administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I):



ou um seu sal farmacologicamente aceitável, em que:

O Núcleo é

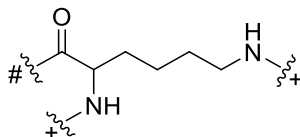


* indica anexação covalente a uma porção de carbonila de (BU1);

b é 2;

BU são unidades de construção;

BU_x são unidades de construção de geração x, em que o número total de unidades de construção na geração x do dendrímero da fórmula (I) é igual a 2^(x) e o número total de BU no dendrímero da fórmula (I) é igual a (2^x-1)b; em que BU tem a seguinte estrutura:



indica anexação covalente a uma porção de amina do Núcleo ou uma porção de amina de BU;

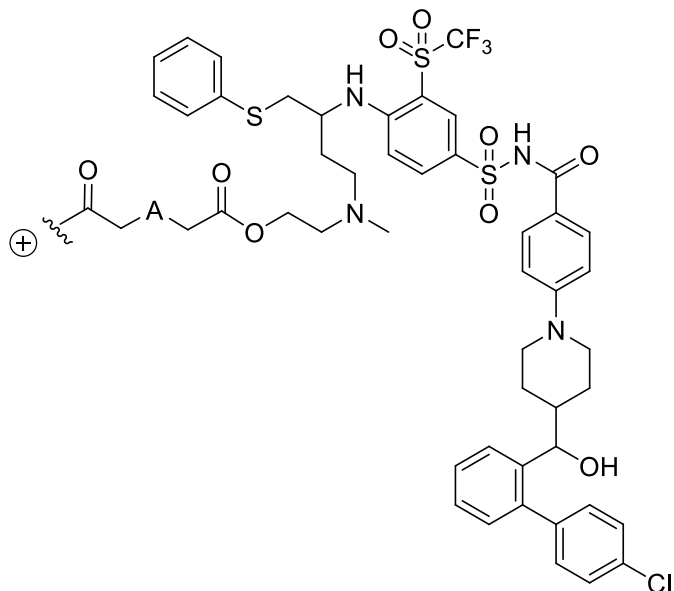
+ indica uma anexação covalente a uma porção de carbonila de BU ou uma anexação covalente a W ou Z;

W é independentemente (PM)_c ou (H)_e;

Z é independentemente (L-AA)_d ou (H)_e;

PM é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA é um ligante covalentemente anexado a um agente ativo; em que L-AA é da fórmula:



em que

A é $-\text{N}(\text{CH}_3)$;

$\oplus$ é o ponto de anexação a uma porção de amina de BUx;

desde que $(c+d) \leq (2^x)b$ e d seja ≥ 1 ; e

desde que, se $(c+d) < (2^x)b$, então quaisquer grupos W e Z restantes são (H)_e, em que e é $[(2^x)b] - (c+d)$.

[008] Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de dendrímero da fórmula (II):

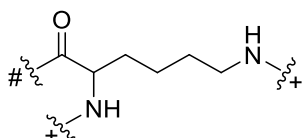


ou um seu sal farmacologicamente aceitável, em que

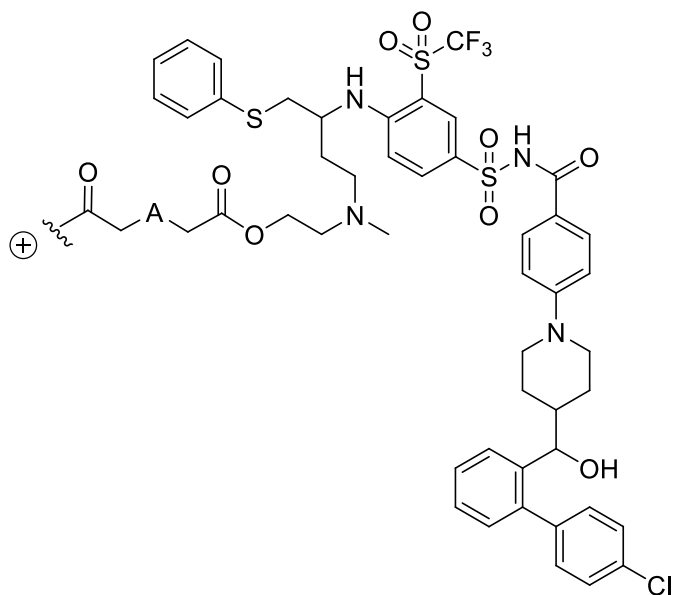
b é 2;

O Núcleo é

BU são unidades de construção e o número de BU é igual a 62; em que BU tem a seguinte estrutura:



L-AA é da fórmula:



A é $-N(CH_3)$, $-O-$, $-S-$ ou $-CH_2-$;

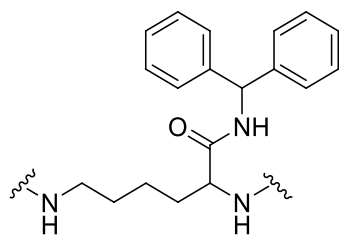
⊕ indica anexação covalente a uma porção de amina de BU5;
 desde que $(c+d)$ seja ≤ 64 e d seja ≥ 1 ; e
 desde que, se $(c+d) < 64$, então quaisquer grupos W e Z restantes são $(H)_e$, em que e é $64-(c+d)$.

[009] Em algumas modalidades é divulgado um método de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de um dendrímero da fórmula (III):

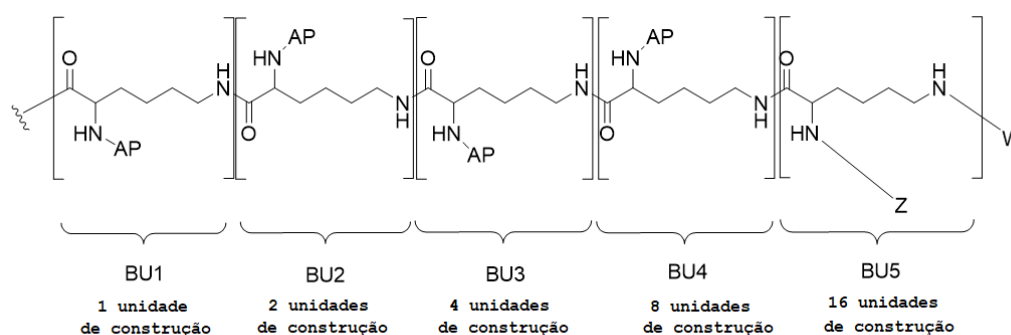
D-Núcleo-D (III)

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que

O Núcleo é



D é



AP é um ponto de anexação a outra unidade de construção;

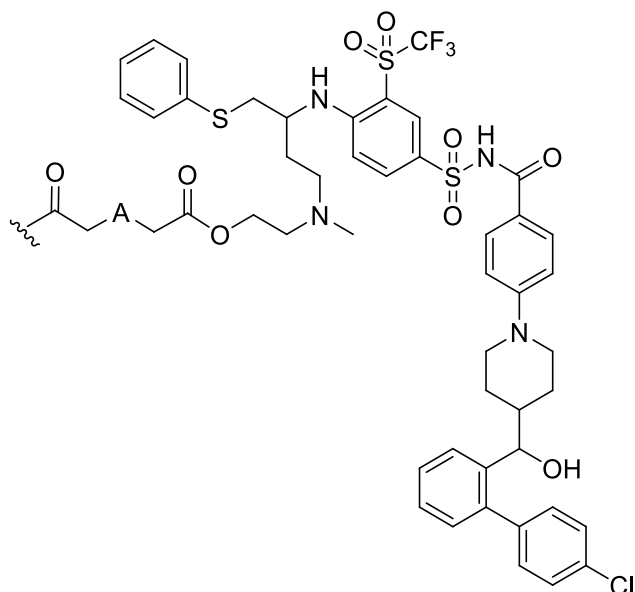
W é independentemente $(PM)_c$ ou $(H)_e$;

Z é independentemente $(L-AA)_d$ ou $(H)_e$;

PM é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA é um ligante covalentemente anexado a um agente ativo; em que

L-AA é da fórmula:

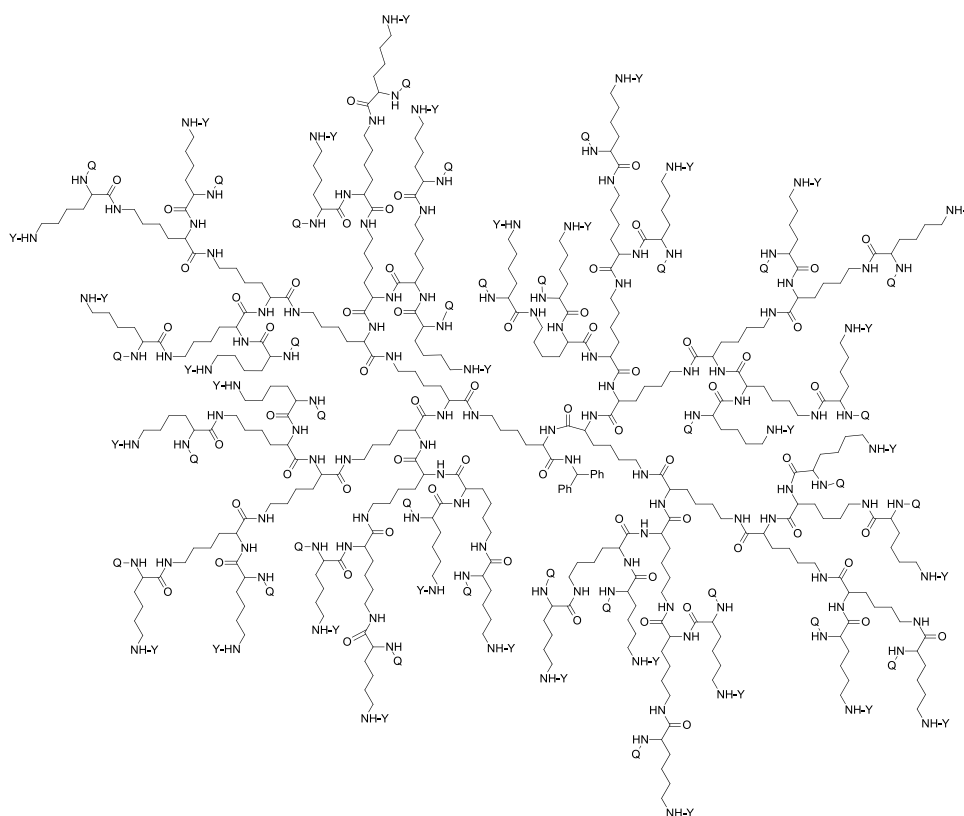


em que

A é $-N(CH_3)$;

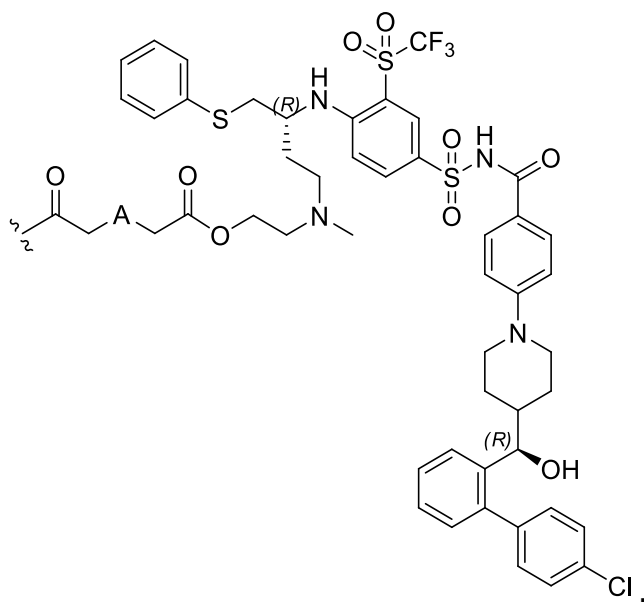
desde que, se $(c+d) < 64$, então quaisquer grupos W e Z restantes são $(H)_e$, em que e é $64-(c+d)$; e d é ≥ 1 .

[0010] Em algumas modalidades é divulgado um método de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (IV):



(IV),

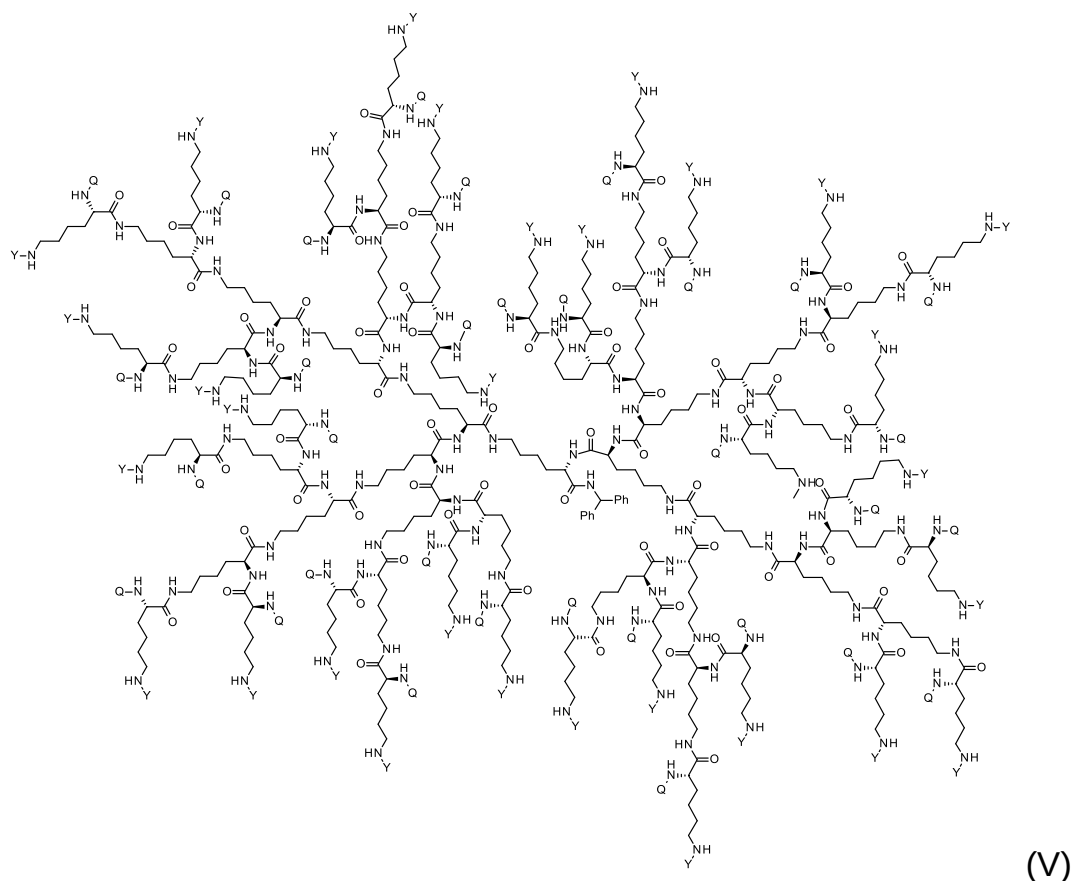
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que Y é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ ou H; Q é H ou L-AA, em que L-AA tem a estrutura:



A é -N(CH₃), desde que, se a soma de PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ e L-AA for menor do que 64, as porções Q e Y restantes são H, e desde que pelo menos um Q seja L-AA.

[0011] Em algumas modalidades é divulgado um método de

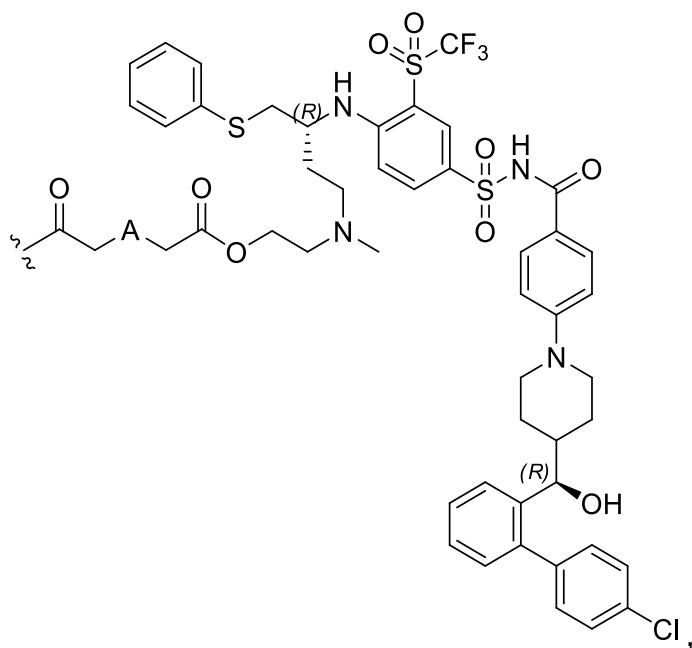
tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (V):



ou um seu sal farmacologicamente aceitável, em que

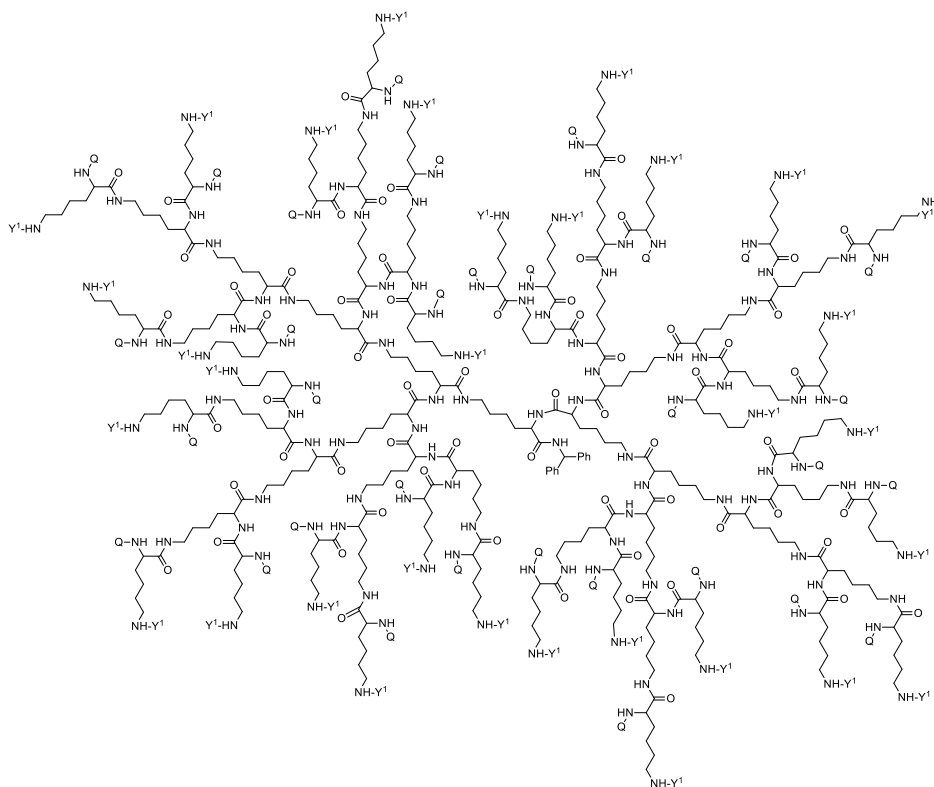
Y é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ ou H;

Q é H ou L-AA, em que L-AA tem a estrutura:



A é $-N(CH_3)$, desde que, se a soma de PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ e L-AA for menor do que 64, as porções Q e Y restantes são H, e desde que pelo menos um Q seja L-AA.

[0012] Em algumas modalidades são divulgadas composições farmacêuticas compreendendo um dendrímero liofilizado da fórmula (VI):

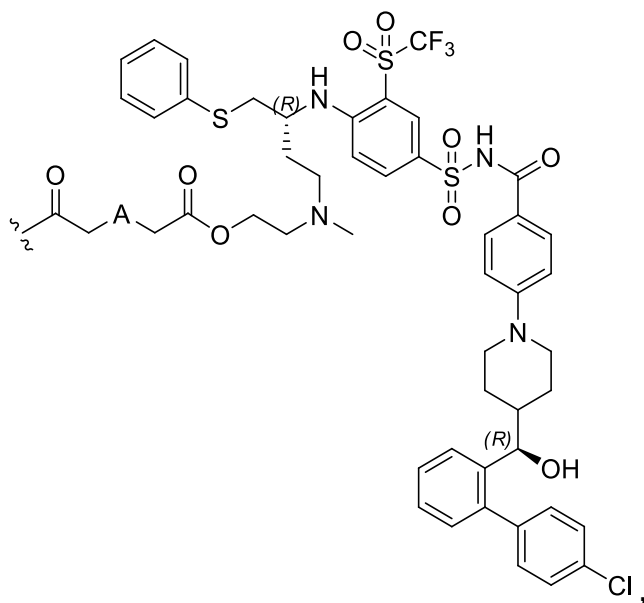


(VI), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que

Y^1 é $-C(=O)CH_2-(OCH_2CH_2)_x-OCH_3$ ou H;

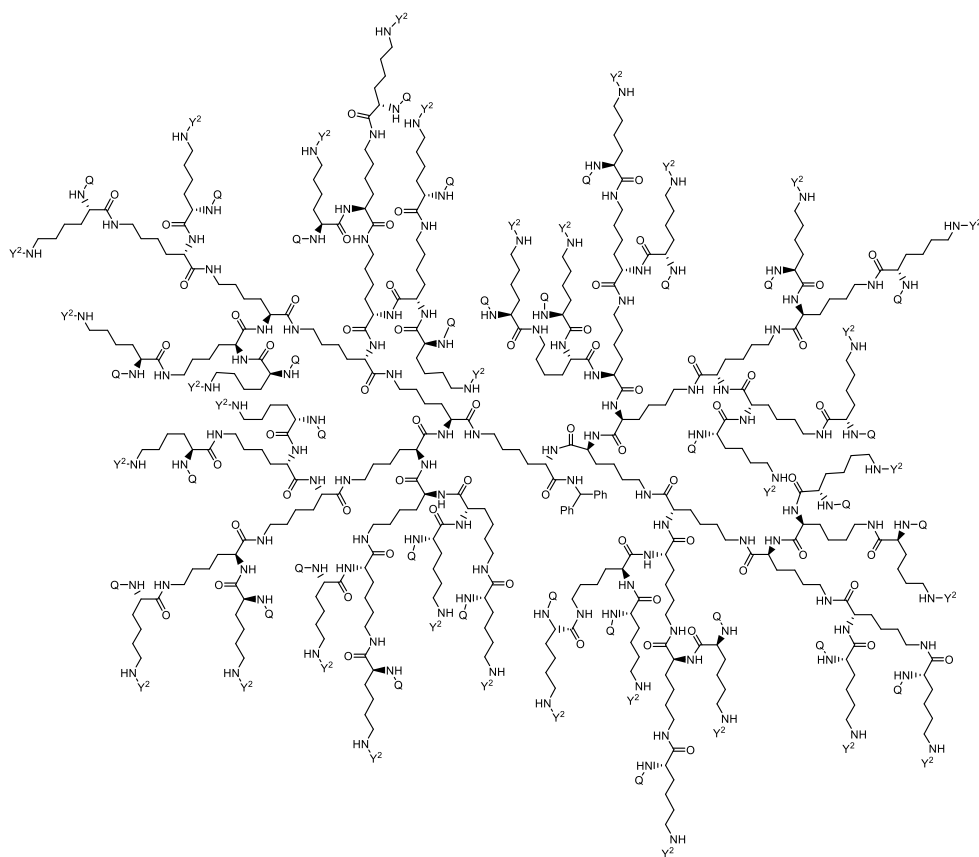
x é um número inteiro de entre 39 e 53; e

Q é H ou L-AA, no qual L-AA tem a estrutura:



A é $-N(CH_3)$, desde que, se a soma de Y^1 e L-AA for menor do que 64, as porções Q e Y^1 restantes são H, e desde que pelo menos um Q seja L-AA.

[0013] Em algumas modalidades são divulgadas composições farmacêuticas compreendendo um dendrímero liofilizado da fórmula (VII):



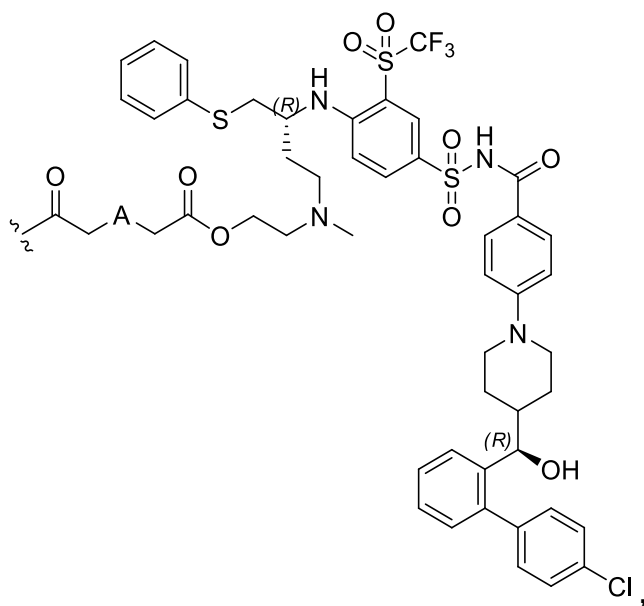
(VII)

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que

Y^2 é $-C(=O)CH_2-(OCH_2CH_2)_y-OCH_3$ ou H;

y é um número inteiro de entre 39 e 53; e

Q é H ou L-AA, no qual L-AA tem a estrutura:



A é $-N(CH_3)$, desde que, se a soma de Y^2 e L-AA for menor do que 64,

as porções Q e Y² restantes são H, e desde que pelo menos um Q seja L-AA.

[0014] Em algumas modalidades é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para o tratamento subcutâneo de câncer.

[0015] Em algumas modalidades é divulgado o uso de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, na fabricação de um medicamento para o tratamento subcutâneo de câncer, em que o medicamento é administrado subcutaneamente.

[0016] Em algumas modalidades é divulgada uma composição farmacêutica compreendendo um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para o tratamento subcutâneo de câncer.

Breve Descrição dos Desenhos

[0017] A **Figura 1** ilustra o dendrímero da fórmula (IV).

[0018] A **Figura 2** ilustra o dendrímero da fórmula (V).

[0019] A **Figura 3** ilustra a morte celular (apoptose), em vários pontos temporais após uma dose única do veículo (solução salina tamponada com fosfato), formulações do Composto A em HP- β -CD a 30% a 5 mg/kg e 10 mg/kg e o dendrímero do Composto 1 em PBS a 10 mg/kg de equivalente do Composto A. A resposta da poli ADP ribose polimerase (PARP) clivada foi usada como uma medida da morte celular.

[0020] A **Figura 4** ilustra a atividade antitumoral *in vivo* em um modelo tumoral de câncer de pulmão de células pequenas humano exibida pelo Composto 1 em combinação com o inibidor de mTOR AZD2014.

[0021] A **Figura 5** ilustra a atividade antitumoral *in vivo* em um modelo tumoral de DLBCL humano exibida pelo Composto 1 em

combinação com acalabrutinibe.

[0022] A **Figura 6** ilustra a regressão tumoral em um modelo de xenoenxerto de camundongo RS4;11 após administração do Composto 1 por administração subcutânea e intravenosa.

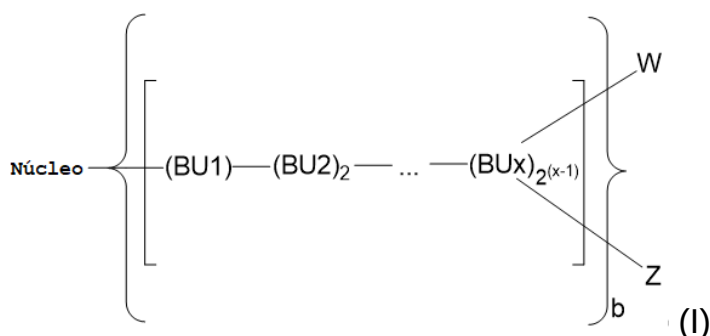
[0023] A **Figura 7** ilustra a concentração plasmática do Composto 1 após administração subcutânea e intravenosa em um modelo de xenoenxerto de camundongo RS4;11.

[0024] A **Figura 8** ilustra a concentração tumoral do Composto 1 após administração subcutânea e intravenosa em um modelo de xenoenxerto de camundongo RS4;11.

[0025] A **Figura 9** ilustra a percentagem de caspase clivada após administração subcutânea e intravenosa em um modelo de xenoenxerto de camundongo RS4;11.

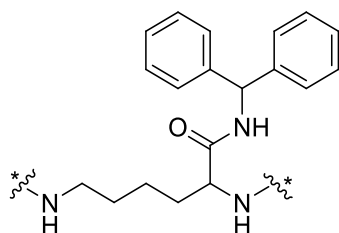
Descrição Detalhada

[0026] Em algumas modalidades é divulgado um método de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de um dendrímero da fórmula (I):



ou um seu sal farmacêuticamente aceitável, em que:

O Núcleo é

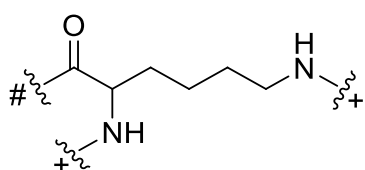


* indica anexação covalente a uma porção de carbonila de (BU1);

b é 2;

BU são unidades de construção;

BU_x são unidades de construção de geração x, em que o número total de unidades de construção na geração x do dendrímero da fórmula (I) é igual a $2^{(x)}$ e o número total de BU no dendrímero da fórmula (I) é igual a $(2^x - 1)b$; em que BU tem a seguinte estrutura:



indica anexação covalente a uma porção de amina do Núcleo ou uma porção de amina de BU;

+ indica uma anexação covalente a uma porção de carbonila de BU ou uma anexação covalente a W ou Z;

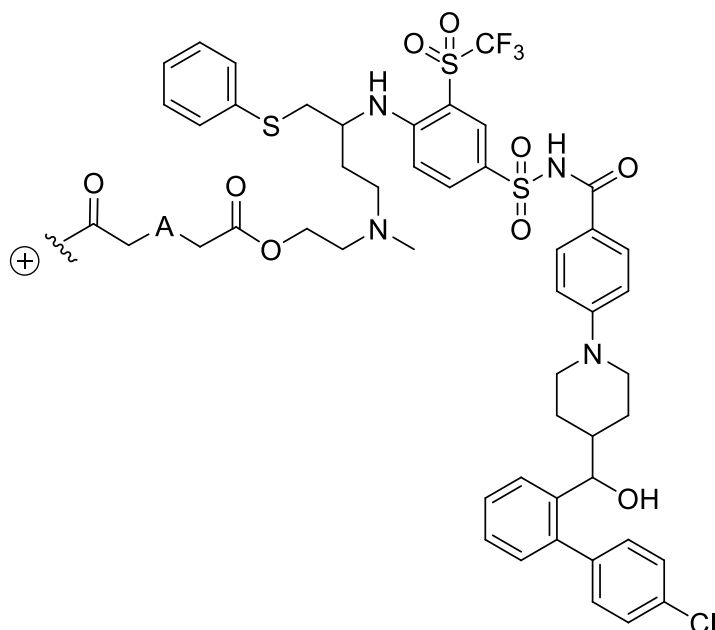
W é independentemente (PM)_c ou (H)_e;

Z é independentemente (L-AA)_d ou (H)_e;

PM é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA é um ligante covalentemente anexado a um agente ativo; em que

L-AA é da fórmula:



em que

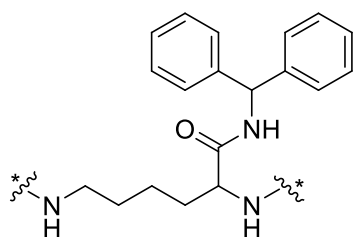
A é $-N(CH_3)$;

$\oplus$ é o ponto de anexação a uma porção de amina de BUx;

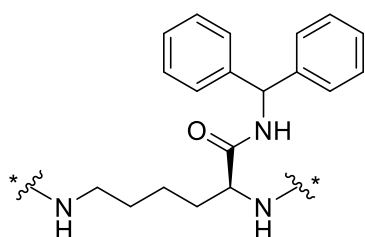
desde que $(c+d) \leq (2^x)b$ e d seja ≥ 1 ; e

desde que, se $(c+d) < (2^x)b$, então quaisquer grupos W e Z restantes são $(H)_e$, em que e é $[(2^x)b] - (c+d)$.

[0027] Será apreciado que o núcleo do dendrímero representa a unidade central a partir da qual o dendrímero é construído. A este respeito, o núcleo representa a unidade central a partir da qual a primeira geração e gerações subsequentes de unidades de construção são "crescidas". Em uma modalidade, o Núcleo em qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) é



em que * indica uma anexação covalente às unidades de construção do dendrímero. Em algumas modalidades, o Núcleo em qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) é



em que * indica uma anexação covalente às unidades de construção do dendrímero.

[0028] O termo "unidade de construção" ou "BU" inclui moléculas tendo pelo menos três grupos funcionais, um para anexação ao núcleo ou uma unidade de construção em uma geração (ou camada) prévia de unidades de construção e dois ou mais grupos funcionais para anexação às unidades construção na geração (ou camada) seguinte de unidades de construção. As unidades de construção são usadas para construir as camadas de dendrímeros, por adição ao núcleo ou camada prévia de unidades de construção. Em algumas modalidades, as unidades de construção têm três grupos funcionais.

[0029] O termo "geração" inclui o número de camadas de unidades de construção que constituem um dendrón ou dendrímero. Por exemplo, um dendrímero de geração um terá uma camada de unidades de construção anexada ao núcleo, por exemplo, Núcleo-[[unidade de construção] b], onde b é o número de dendróns anexados ao núcleo e a valência do núcleo. Um dendrímero de geração dois tem duas camadas de unidades de construção em cada dendrón anexadas ao núcleo. Por exemplo, quando a unidade de construção tem um ponto de ramificação bivalente, o dendrímero pode ser: Núcleo-[[unidade de construção][unidade de construção] 2] b , um dendrímero de geração três tem três camadas de unidades de construção em cada dendrón anexadas ao núcleo, por exemplo Núcleo-[[unidade de construção][unidade de construção] 2 [unidade de construção] 4] b , um dendrímero de geração cinco tem cinco camadas de unidades de construção em cada dendrón anexadas ao núcleo, por

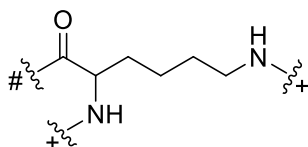
exemplo Núcleo-[[unidade de construção][unidade de construção]2[unidade de construção]4[unidade de construção]8[unidade de construção]16]b, um dendrímero de geração 6 tem seis camadas de unidades de construção anexadas ao núcleo, por exemplo, Núcleo-[[unidade de construção][unidade de construção]2[unidade de construção]4[unidade de construção]8[unidade de construção]16[unidade de construção]32]b e similares. A última geração de unidades de construção (a geração mais exterior) proporciona a funcionalização da superfície do dendrímero e o número de grupos funcionais de superfície disponíveis para ligação do grupo modificador farmacocinético (PM) e/ou ligante e agente ativo (L-AA).

[0030] O termo "grupos funcionais de superfície" se refere aos grupos funcionais não reagidos que são encontrados na geração final das unidades de construção. Em algumas modalidades, o número de grupos funcionais de superfície é igual a $(2^x)b$, no qual x é o número de gerações no dendrímero e b é o número de dendróns. Em algumas modalidades, os grupos funcionais de superfície são grupos funcionais amino primário.

[0031] O número total de unidades de construção em um dendrímero com unidades de construção tendo 3 grupos funcionais (por exemplo, um ponto de ramificação) é igual a $(2^x-1)b$, onde x é igual ao número de geração e b é igual ao número de dendróns. Por exemplo, em um dendrímero tendo um núcleo com dois dendróns anexados ($b = 2$), se cada unidade de construção tiver um ponto de ramificação e existirem 5 gerações, existirão 62 unidades de construção e a geração mais exterior terá 16 unidades de construção com 64 grupos funcionais de superfície. Em algumas modalidades, os grupos funcionais de superfície são porções de amina, por exemplo, aminas primárias ou secundárias. Em algumas modalidades, o

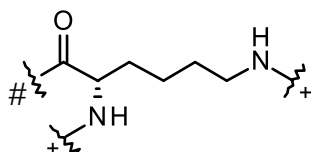
dendrímtero é um dendrímtero de quinta geração tendo um Núcleo bivalente, 62 unidades de construção e 64 grupos funcionais amino primário.

[0032] Em algumas modalidades, as unidades de construção em qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) têm a estrutura:



em que # indica anexação covalente a uma porção de amina do Núcleo ou uma porção de amina de uma unidade de construção, e + indica uma anexação covalente a uma porção de carbonila de uma unidade de construção ou anexação covalente a um grupo modificador farmacocinético, um ligante anexado a um agente ativo ou um hidrogênio. Em algumas modalidades, o dendrímtero tem 62 unidades de construção com 64 grupos funcionais amino primário.

[0033] Em algumas modalidades, as unidades de construção em qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) têm a estrutura:



em que # indica anexação covalente a uma porção de amina do Núcleo ou uma porção de amina de uma unidade de construção, e + indica uma anexação covalente a uma porção de carbonila de uma unidade de construção ou anexação covalente a um grupo modificador farmacocinético, um ligante anexado a um agente ativo ou um hidrogênio.

[0034] O termo "grupo modificador farmacocinético" ou "PM" inclui porções que podem modificar ou modular o perfil farmacocinético do

dendrúmero ou do agente ativo que está entregando. Em algumas modalidades, o PM pode modular a distribuição, metabolismo e/ou excreção do dendrúmero ou do agente ativo. Em algumas modalidades, o PM pode influenciar a taxa de liberação do agente ativo, por desaceleração ou aumento da taxa à qual o agente ativo é liberado a partir do dendrúmero por vias de degradação química (por exemplo, hidrólise) ou enzimática. Em algumas modalidades, o PM pode mudar o perfil de solubilidade do dendrúmero, aumentando ou diminuindo a solubilidade em um transportador farmacologicamente aceitável. Em algumas modalidades, o PM pode ajudar o dendrúmero na entrega do agente ativo a tecidos específicos (por exemplo, tumores).

[0035] Em algumas modalidades, em qualquer um dos dendrúmeros da fórmula (I), (II), (III), (IV) e (V), o PM é polietilenoglicol (PEG). Em algumas modalidades, o PEG tem um peso molecular entre cerca de 1800 e cerca de 2400 Da. Em algumas modalidades, o PEG tem um peso molecular médio de cerca de 2150 Da. Um perito na técnica entenderia prontamente que o termo "PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀" inclui PEG com um peso molecular médio de entre cerca de 1800 e cerca de 2400 Da.

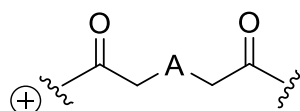
[0036] Em algumas modalidades, o PEG tem um índice de polidispersividade (PDI) de entre cerca de 1,00 e cerca de 2,00, entre cerca de 1,00 e 1,50, por exemplo entre cerca de 1,00 e cerca de 1,25, entre cerca de 1,00 e cerca de 1,10 ou entre cerca de 1,00 e cerca de 1,10. Em algumas modalidades, o PDI do PEG é cerca de 1,05. O termo "índice de polidispersividade" se refere a uma medida da distribuição da massa molecular em uma dada amostra de polímero. O PDI é igual ao peso molecular médio por peso (P_m) dividido pelo peso molecular médio por número (M_n) e indica a distribuição de massas moleculares individuais em um lote de polímeros. O PDI tem um valor

igual a ou maior do que 1 mas, à medida que o polímero se aproxima do comprimento uniforme da cadeia e peso molecular médio, o PD1 estará mais próximo de 1.

[0037] Em algumas modalidades, o dendrímero tem menos do que $(2^x)b$ grupos PEG, em que x é o número de gerações do dendrímero e b é o número de dendróns. Em algumas modalidades, todos os grupos funcionais de superfície estão covalentemente anexados a grupos PEG. Em algumas modalidades, quando x é 5, o dendrímero tem entre cerca de 25 e cerca de 60 grupos PEG. Em algumas modalidades, o dendrímero tem não mais do que 2^x grupos PEG. Em algumas modalidades, o dendrímero tem 2^x grupos PEG. Por exemplo, quando a unidade de construção do dendrímero tem um ponto de ramificação bivalente, um dendrímero de segunda geração teria não mais do que 4 grupos PEG, um dendrímero de terceira geração teria não mais do que 8 grupos PEG, um dendrímero de quarta geração teria não mais do que 16 grupos PEG, um dendrímero de quinta geração teria não mais do que 32 grupos PEG. Em algumas modalidades, o dendrímero tem menos do que 2^x grupos PEG. Em algumas modalidades, o dendrímero tem entre cerca de 25 e cerca de 64 grupos PEG. Em algumas modalidades, o dendrímero tem entre cerca de 25 e cerca de 40 grupos PEG. Em algumas modalidades, o dendrímero tem não mais do que 32 grupos PEG. Em algumas modalidades, o dendrímero tem entre cerca de 25 e cerca de 32 grupos PEG. Em algumas modalidades, o dendrímero tem cerca de 28 e cerca de 32 grupos PEG. Em algumas modalidades, o dendrímero tem 29 grupos PEG, 30 grupos PEG, 31 grupos PEG ou 32 grupos PEG.

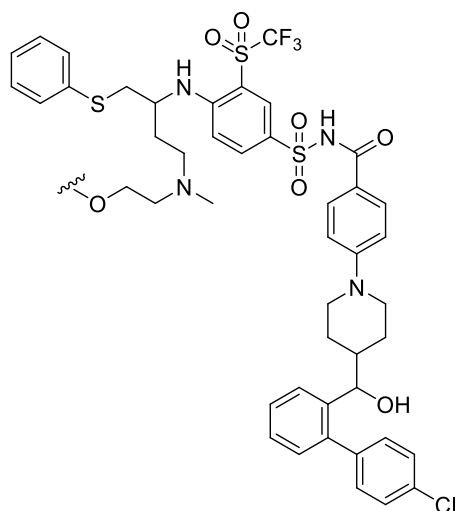
[0038] Os dendrímeros divulgados da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII) incluem um ligante covalentemente anexado a um agente ativo (L-AA), no qual o ligante (L) está covalentemente anexado aos grupos funcionais de superfície na geração final das unidades de

construção em uma extremidade do ligante e a um agente ativo (AA) na outra extremidade do ligante. Em algumas modalidades, o ligante em qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII) tem a estrutura:

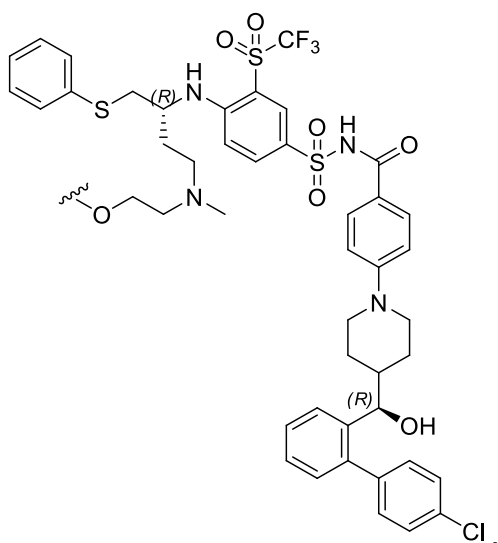


na qual $\oplus$ está covalentemente anexado aos grupos funcionais amino na geração final das unidades de construção, $\sim$ é um ponto de anexação covalente ao agente ativo (AA), e A é $-\text{N}(\text{CH}_3)$ ou

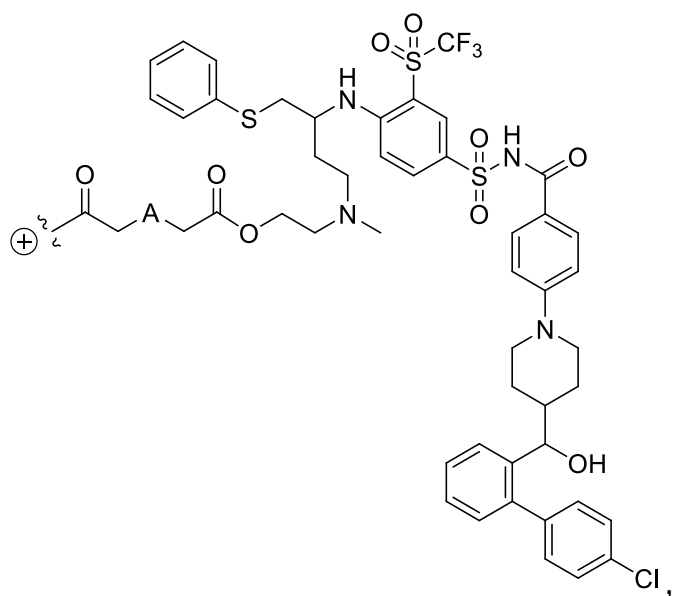
Em algumas modalidades, AA é um inibidor de Bcl. Em algumas modalidades, AA é um inibidor de Bcl-2 e/ou Bcl-XL. Em algumas modalidades, AA é um inibidor de Bcl-2 e/ou Bcl-XL divulgado na Patente dos E.U.A. No. 9,018,381. Em algumas modalidades, AA em qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) tem a estrutura:



em que $\sim$ é um ponto de anexação covalente ao ligante. Em algumas modalidades, AA em qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) tem a estrutura:

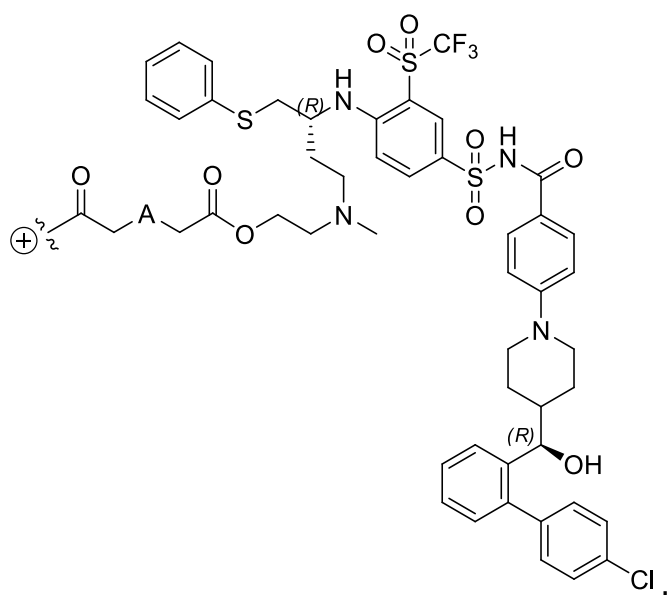


[0039] Em algumas modalidades, a estrutura de L-AA em qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) é:



na qual $\oplus$ está covalentemente anexado aos grupos funcionais amino na geração final das unidades de construção, e A é $-\text{N}(\text{CH}_3)$.

[0040] Em algumas modalidades, a estrutura de L-AA em qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) é:



na qual $\oplus$ está covalentemente anexado aos grupos funcionais amino na geração final das unidades de construção, e A é $-\text{N}(\text{CH}_3)$.

[0041] Em algumas modalidades, o dendrímero de qualquer uma das fórmulas (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII) tem menos do que $(2^x)b$ grupos L-AA, em que x é o número de gerações do dendrímero e b é o número de dendróns. Em algumas modalidades, todos os grupos funcionais de superfície estão covalentemente anexados a grupos L-AA. Em algumas modalidades, quando x é 5, o dendrímero tem entre cerca de 25 e cerca de 64 grupos L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero tem não mais do que 2^x grupos L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero tem 2^x grupos L-AA. Por exemplo, quando a unidade de construção do dendrímero tem um ponto de ramificação bifuncional, um dendrímero de segunda geração teria não mais do que 4 grupos L-AA, um dendrímero de terceira geração teria não mais do que 8 grupos L-AA, um dendrímero de quarta geração teria não mais do que 16 grupos L-AA, um dendrímero de quinta geração teria não mais do que 32 grupos L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero tem menos do que 2^x grupos L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero tem entre cerca de 25 e cerca de 64 grupos L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero tem entre cerca de 25 e cerca de

40 grupos L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero tem não mais do que 32 grupos L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero tem entre cerca de 25 e cerca de 32 grupos L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero tem entre cerca de 28 e cerca de 32 grupos L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero tem 29 grupos L-AA, 30 grupos L-AA, 31 grupos L-AA ou 32 grupos L-AA.

[0042] Em algumas modalidades, em qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII), a soma de grupos L-AA e grupos PEG pode ser igual a não mais do que 64. Em algumas modalidades, a soma de grupos L-AA e grupos PEG pode ser menor do que 64, desde que o dendrímero tenha pelo menos um grupo L-AA. Em algumas modalidades, a soma de grupos L-AA e grupos PEG pode estar entre cerca de 50 e cerca de 64. No caso em que a soma de grupos L-AA e grupos PEG é menor do que 64, as unidades funcionais de superfície não reagidas da geração final de unidades de construção permanecem grupos amino primário, desde que o dendrímero tenha pelo menos um grupo L-AA. Por exemplo, o número de grupos amino primário na geração final das unidades de construção é igual a 64 menos a soma dos grupos L-AA e PEG (por exemplo, $64 - (\text{L-AA} + \text{PEG})$), desde que o dendrímero tenha pelo menos um grupo L-AA. Por exemplo, se a soma de grupos L-AA e grupos PEG for 50, então 14 grupos funcionais de superfície permanecerão porções de amino primário, se a soma de grupos L-AA e grupos PEG for 51, 13 dos grupos funcionais de superfície permanecerão porções de amino primário, se a soma de grupos L-AA e grupos PEG for 52, então 12 dos grupos funcionais de superfície permanecerão porções de amino primário, se a soma de grupos L-AA e grupos PEG for 53, então 11 dos grupos funcionais de superfície permanecerão porções de amino primário, *etc.* Em algumas modalidades, o número de porções de amino primário no dendrímero é

entre cerca de 0 e cerca de 14. Em algumas modalidades, se a soma do número de grupos PEG e do número de grupos L-AA for menor do que $(2^x)b$, no qual x é o número de gerações do dendrímero e b é o número de dendróns, então os restantes grupos funcionais de superfície são iguais a 64 menos a soma dos grupos PEG e dos grupos L-AA, desde que o dendrímero tenha pelo menos um grupo L-AA.

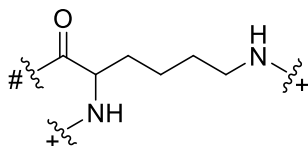
[0043] Em algumas modalidades, W é $(PM)_c$ ou $(H)_e$; Z é $(L-AA)_d$ ou $(H)_e$; desde que $(c+d) \leq (2^x)b$ e desde que d seja ≥ 1 ; em que x é o número de gerações e b é o número de dendróns; e desde que, se $(c+d) < (2^x)b$, então quaisquer grupos W e Z restantes são $(H)_e$, em que e é $[2^{(x+1)}] - (c+d)$. Por exemplo, quando b é 2 e x é 5, então $(c+d) \leq 64$. Em algumas modalidades, $(c+d) = 64$; isto é, a soma de $(PM)_c$ e $(L-AA)_d$ é igual a 64. Em algumas modalidades, quando b é 2 e x é 5, então $(c+d) < 64$; isto é, a soma de $(PM)_c$ e $(L-AA)_d$ é menor do que 64, desde que d seja ≥ 1 . Em algumas modalidades, $(c+d)$ é um número inteiro entre 50 e 64. Em algumas modalidades, $(c+d)$ é um número inteiro entre 58 e 64.

[0044] Em algumas modalidades, $(c+d) = (2^x)b$, caso em que não existe $(H)_e$ e e é 0. Por exemplo, se b for 2 e x for 5, e a soma de $(PM)_c$ e $(L-AA)_d$ for igual a 64, então não existem grupos funcionais de superfície não substituídos na quinta geração das unidades de construção no dendrímero e, portanto, e é 0. No entanto, $(c+d) < (2^x)b$, então $(H)_e$ é igual a $(2^x)b - (c+d)$. Por exemplo, se b for 2, x for 5 e a soma de $(PM)_c$ e $(L-AA)_d$ for menor que 64, então o número de grupos funcionais de superfície não substituídos na quinta geração dos blocos de construção é igual a 64 menos a soma de $(PM)_c$ e $(L-AA)_d$. Em este caso, e é igual a 64 menos a soma de $(PM)_c$ e $(L-AA)_d$. Em algumas modalidades, quando a soma de $(c+d)$ é um número inteiro entre 50 e 64, e é um número inteiro entre 0 e 14. Em algumas modalidades,

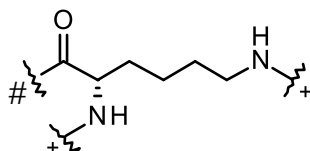
quando (c+d) é um número inteiro entre 58 e 64, e é um número inteiro entre 0 e 6. Em algumas modalidades, (c+d) é 58 e e é 6. Em algumas modalidades, (c+d) é 59 e e é 5. Em algumas modalidades, (c+d) é 60 e e é 4. Em algumas modalidades, (c+d) é 61 e e é 3. Em algumas modalidades, (c+d) é 62 e e é 2. Em algumas modalidades, (c+d) é 63 e e é 1. Em algumas modalidades, (c+d) é 60 e e é 0.

[0045] Em algumas modalidades, qualquer um dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII) tem um peso molecular de cerca de 90 a cerca de 120 KDa. Em algumas modalidades, o dendrímero tem um peso molecular de cerca de 100 a 115 Da. Em algumas modalidades, o dendrímero tem um peso molecular de cerca de 100 a cerca de 110 Da. Em algumas modalidades, o dendrímero tem um peso molecular de cerca de 100 a cerca de 105 Da. Em algumas modalidades, o peso molecular do dendrímero é cerca de 100 kDa, cerca de 101 kDa, cerca de 102 kDa, cerca de 103KDa, cerca de 104 kDa, cerca de 105 kDa, cerca de 106 KDa, cerca de 107 kDa, cerca de 108 kDa, cerca de 109 kDa ou cerca de 110 kDa.

[0046] Em algumas modalidades, quando BU é



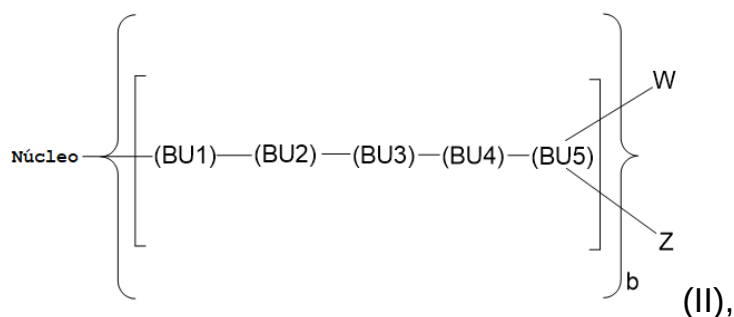
ou



o PEG está covalentemente anexado à funcionalidade de amino na posição ϵ da BU e o L-AA está covalentemente anexado à funcionalidade de amino na posição α da BU.

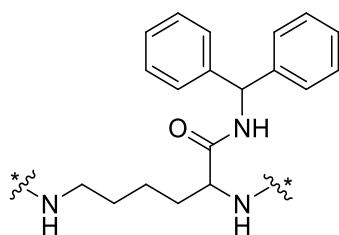
[0047] Em algumas modalidades são divulgados métodos de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração

subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (II):



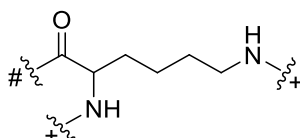
ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que b é 2;

O Núcleo é



* indica anexação covalente a uma porção de carbonila de (BU1);

BU são unidades de construção e o número de BU é igual a 62; em que BU tem a seguinte estrutura:



indica anexação covalente a uma porção de amina do Núcleo ou uma porção de amina de BU, e + indica uma anexação covalente a uma porção de carbonila de BU ou uma anexação covalente a W ou Z;

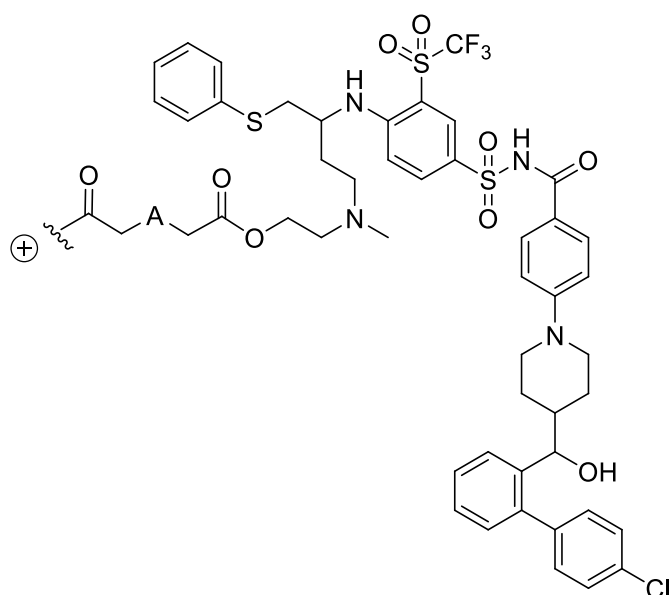
W é independentemente (PM)_c ou (H)_e;

Z é independentemente (L-AA)_d ou (H)_e;

PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA é um ligante covalentemente anexado a um agente ativo; em que

L-AA é da fórmula:



em que

A é $-\text{N}(\text{CH}_3)$;

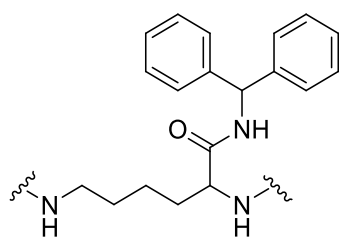
$\oplus$ indica anexação covalente a uma porção de amina de BU5;

desde que $(c+d)$ seja ≤ 64 e d seja ≥ 1 ; e

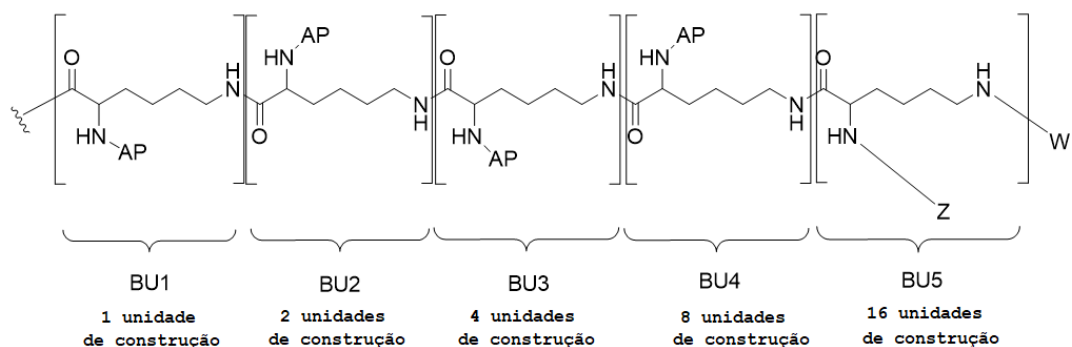
desde que, se $(c+d) < 64$, então quaisquer grupos W e Z restantes são $(\text{H})_e$, em que e é $64-(c+d)$.

[0048] Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), c é um número inteiro entre 25 e 32. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), c é um número inteiro entre 29 e 32. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), c é 29. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), c é 30. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), c é 31. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), c é 32.

[0049] Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), d é um número inteiro entre 25 e 32. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), d é um número inteiro entre 29 e 32. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), d é 29. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), d é 30. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), d é 31. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (II), d é 32.



D é



AP é um ponto de anexação a outra unidade de construção;

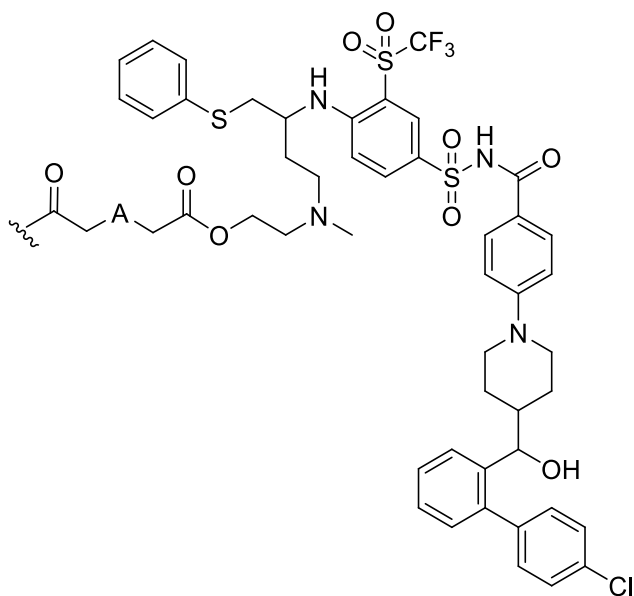
W é independentemente (PM)_c ou (H)_e;

Z é independentemente (L-AA)_d ou (H)_e;

PM é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA é um ligante covalentemente anexado a um agente ativo; em que

L-AA é da fórmula:



em que

A é $-N(CH_3)$;

desde que, se $(c+d) < 64$, então quaisquer grupos W e Z restantes são $(H)_e$, em que e é $64-(c+d)$; e d é ≥ 1 .

[0053] Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), c é um número inteiro entre 25 e 32. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), c é um número inteiro entre 29 e 32. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), c é 29. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), c é 30. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), c é 31. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), c é 32.

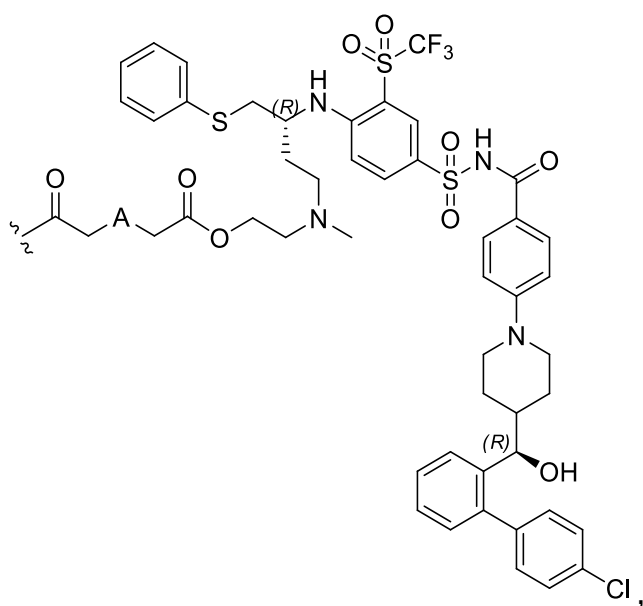
[0054] Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), d é um número inteiro entre 25 e 32. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), d é um número inteiro entre 29 e 32. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), d é 29. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), d é 30. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), d é 31. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), d é 32.

[0055] Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), e é um número inteiro entre 0 e 14. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), e é um número inteiro entre 0 e 6. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), e é 0. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), e é 1. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), e é 2. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), e é 3. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), e é 4. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), e é 5. Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), e é 6.

[0056] Em algumas modalidades do dendrímero da fórmula (III), L-AA do dendrímero da fórmula (III) é:

The chemical structure represents a branched poly(amide amine) with amide and amine end groups. The polymer backbone is formed by the condensation of diamine and diacid chloride monomers, resulting in a network of amide bonds. The structure shows a central core branching out into multiple chains, each terminating in either an amide group (NH-CO) or an amine group (NH₂). The repeating units are connected by amide bonds, and the terminal groups are either amide or amine, indicating the polymer's reactivity and potential for further functionalization.

Petição 870210012027, de 04/02/2021, pág. 40/153



A é $-N(CH_3)$, desde que, se a soma de $PEG_{1800-2400}$ e L-AA for menor do que 64, as porções Q e Y restantes são H, e desde que pelo menos um Q seja L-AA.

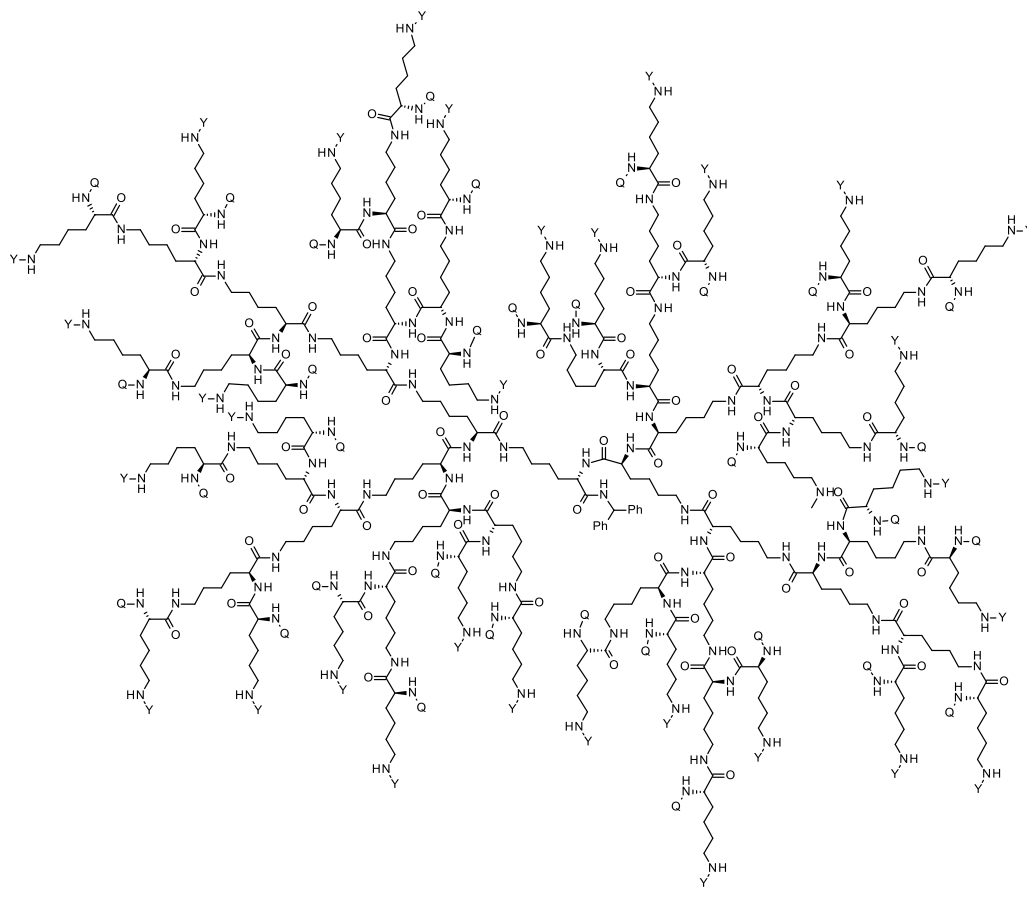
[0058] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem entre 25 e 32 $PEG_{1800-2400}$. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem entre 29 e 32 $PEG_{1800-2400}$. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 29 $PEG_{1800-2400}$. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 30 $PEG_{1800-2400}$. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 31 $PEG_{1800-2400}$. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 32 $PEG_{1800-2400}$.

[0059] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem entre 25 e 32 L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem entre 29 e 32 L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 29 L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 30 L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 31 L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 32 L-AA.

[0060] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem entre 0 e 14 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas

modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem entre 0 e 6 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 1 hidrogênio nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 2 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 3 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 4 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 5 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (IV) tem 6 hidrogênios nas posições Q e/ou Y.

[0061] Em algumas modalidades é divulgado um método de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (V):

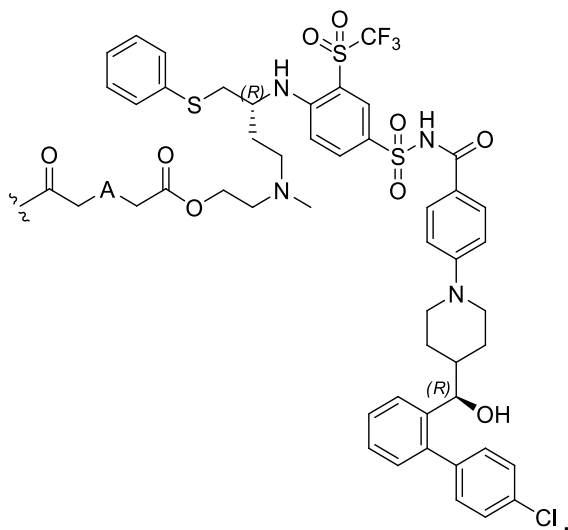


(V)

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que

Y é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ ou H;

Q é H ou L-AA, em que L-AA tem a estrutura:



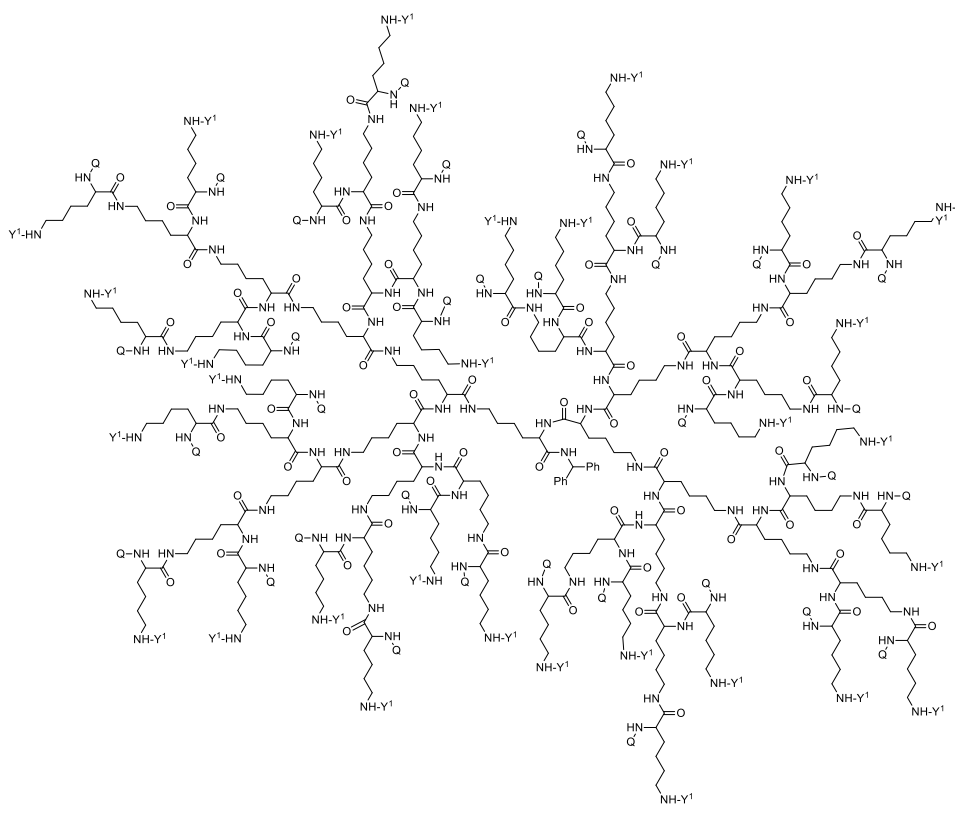
A é $-N(CH_3)$, desde que, se a soma de PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ e L-AA for menor do que 64, as porções Q e Y restantes são H, e desde que pelo menos um Q seja L-AA (Composto 1).

[0062] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem entre 25 e 32 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem entre 29 e 32 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 29 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 30 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 31 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 32 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀.

[0063] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem entre 25 e 32 L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem entre 29 e 32 L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 29 L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 30 L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 31 L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 32 L-AA.

[0064] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem entre 0 e 14 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem entre 0 e 6 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 1 hidrogênio nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 2 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 3 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 4 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 5 hidrogênios nas posições Q e/ou Y. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (V) tem 6 hidrogênios nas posições Q e/ou Y.

[0065] Em algumas modalidades são divulgadas composições farmacêuticas compreendendo um dendrímero liofilizado da fórmula (VI):



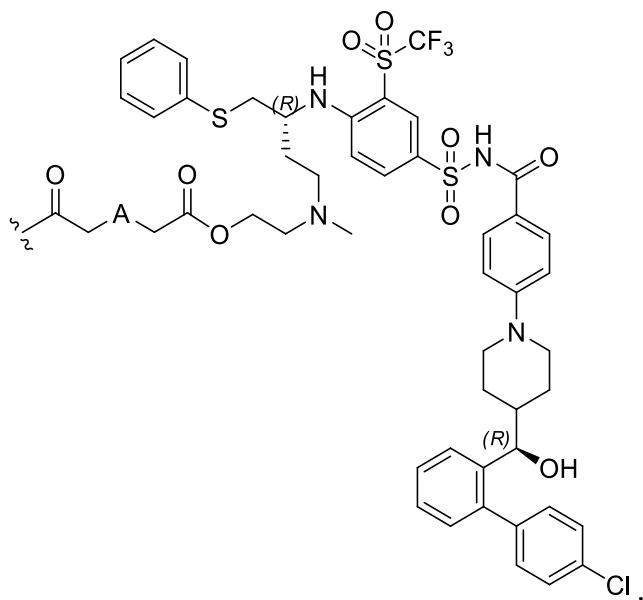
(VI),

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que

Y^1 é $-C(=O)CH_2-(OCH_2CH_2)_x-OCH_3$ ou H;

x é um número inteiro de entre 39 e 53; e

Q é H ou L-AA, no qual L-AA tem a estrutura:



A é $-N(CH_3)$, desde que, se a soma de Y^1 e L-AA for menor do que 64, as porções Q e Y^1 restantes são H, e desde que pelo menos um Q seja L-AA.

[0066] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem entre 25 e 32 porções Y^1 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem entre 29 e 32 porções Y^1 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 29 porções Y^1 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 30 porções Y^1 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 31 porções Y^1 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 32 porções Y^1 .

[0067] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem entre 25 e 32 porções L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem entre 29 e 32 porções L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 29 porções L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 30

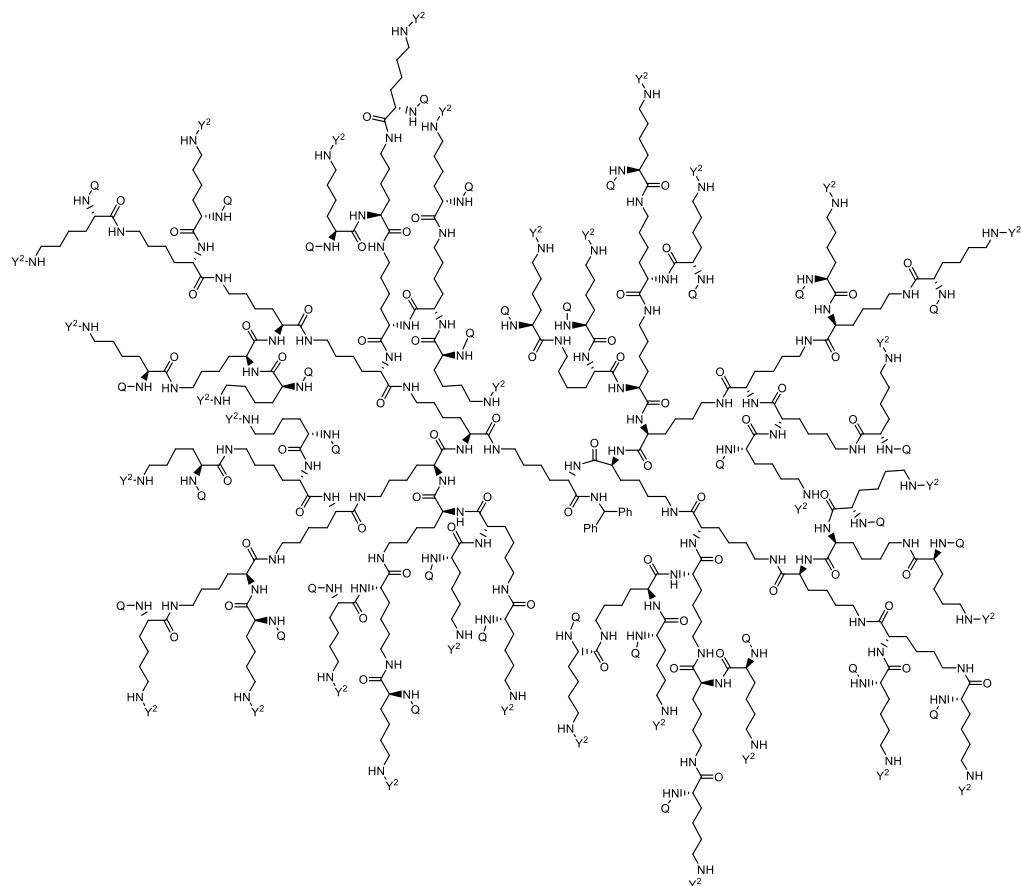
porções L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 31 porções L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 32 porções L-AA.

[0068] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem entre 0 e 14 hidrogênios nas posições Q e/ou Y¹. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem entre 0 e 6 hidrogênios nas posições Q e/ou Y¹. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 1 hidrogênio nas posições Q e/ou Y¹. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 2 hidrogênios nas posições Q e/ou Y¹. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 3 hidrogênios nas posições Q e/ou Y¹. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 4 hidrogênios nas posições Q e/ou Y¹. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 5 hidrogênios nas posições Q e/ou Y¹. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VI) tem 6 hidrogênios nas posições Q e/ou Y¹.

[0069] Em algumas modalidades, x é um número inteiro entre 39 e 53. Em algumas modalidades, x é um número inteiro entre 41 e 50. Em algumas modalidades, x é um número inteiro entre 44 e 48. Em algumas modalidades, x é um número inteiro selecionado de 45, 46 ou 47. Em algumas modalidades, x é 39. Em algumas modalidades, x é 40. Em algumas modalidades, x é 41. Em algumas modalidades, x é 42. Em algumas modalidades, x é 43. Em algumas modalidades, x é 44. Em algumas modalidades, x é 45. Em algumas modalidades, x é 46. Em algumas modalidades, x é 47. Em algumas modalidades, x é 48. Em algumas modalidades, x é 49. Em algumas modalidades, x é 50. Em algumas modalidades, x é 51. Em algumas modalidades, x é 52. Em algumas modalidades, x é 53.

[0070] Em algumas modalidades são divulgadas composições farmacêuticas compreendendo um dendrímero liofilizado da fórmula

(VII):



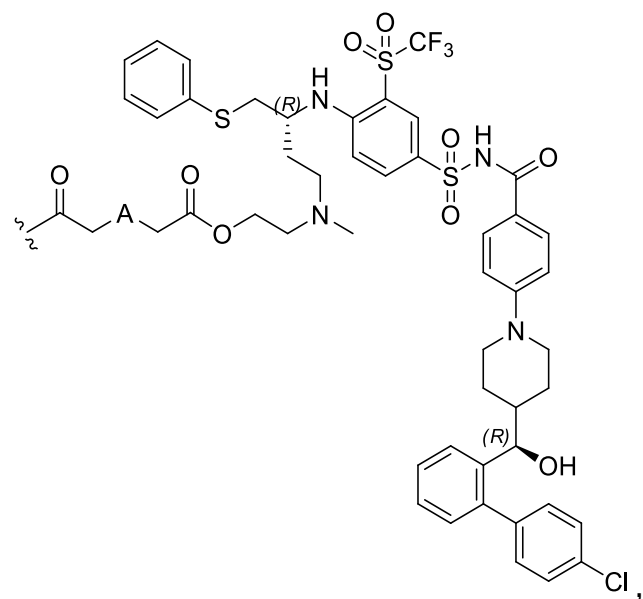
(VII)

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que

Y^2 é $-C(=O)CH_2-(OCH_2CH_2)_y-OCH_3$ ou H;

y é um número inteiro de entre 39 e 53; e

Q é H ou L-AA, no qual L-AA tem a estrutura:



A é $-N(CH_3)$, desde que, se a soma de Y^2 e L-AA for menor do que 64, as porções Q e Y^2 restantes são H, e desde que pelo menos um Q seja L-AA.

[0071] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem entre 25 e 32 porções Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem entre 29 e 32 porções Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 29 porções Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 30 porções Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 31 porções Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 32 porções Y^2 .

[0072] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem entre 25 e 32 porções L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem entre 29 e 32 porções L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 29 porções L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 30 porções L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 31 porções L-AA. Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 32 porções L-AA.

[0073] Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem entre 0 e 14 hidrogênios nas posições Q e/ou Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem entre 0 e 6 hidrogênios nas posições Q e/ou Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 1 hidrogênio nas posições Q e/ou Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 2 hidrogênios nas posições Q e/ou Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 3 hidrogênios nas posições Q e/ou Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 4 hidrogênios nas posições Q e/ou Y^2 . Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 5 hidrogênios nas posições Q e/ou Y^2 .

Em algumas modalidades, o dendrímero da fórmula (VII) tem 6 hidrogênios nas posições Q e/ou Y².

[0074] Em algumas modalidades, y é um número inteiro entre 39 e 53. Em algumas modalidades, y é um número inteiro entre 41 e 50. Em algumas modalidades, y é um número inteiro entre 44 e 48. Em algumas modalidades, y é um número inteiro selecionado de 45, 46 ou 47. Em algumas modalidades, y é 39. Em algumas modalidades, y é 40. Em algumas modalidades, y é 41. Em algumas modalidades, y é 42. Em algumas modalidades, y é 43. Em algumas modalidades, y é 44. Em algumas modalidades, y é 45. Em algumas modalidades, y é 46. Em algumas modalidades, y é 47. Em algumas modalidades, y é 48. Em algumas modalidades, y é 49. Em algumas modalidades, y é 50. Em algumas modalidades, y é 51. Em algumas modalidades, y é 52. Em algumas modalidades, y é 53.

[0075] A linguagem "sal farmaceuticamente aceitável" inclui sais de adição de ácidos ou básicos que retêm a eficácia biológica e propriedades dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VIII) e que tipicamente não são biologicamente ou de outro modo indesejáveis. Em muitos casos, os dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII) são capazes de formar sais de ácidos e/ou bases em virtude da presença de grupos básicos e/ou carboxila ou grupos similares a esses.

[0076] Os sais farmaceuticamente aceitáveis dos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII) podem ser sintetizados a partir de uma porção básica ou ácida, por métodos químicos convencionais. Geralmente, tais sais podem ser preparados por reação de formas de ácido livre destes compostos com uma quantidade estequiométrica da base apropriada ou por reação de formas de base livre destes compostos com uma quantidade estequiométrica do ácido apropriado. Tais reações são tipicamente levadas a cabo em água ou em um

solvente orgânico ou em uma mistura dos dois. Geralmente, o uso de meios não aquosos como éter, acetato de etila, etanol, isopropanol ou acetonitrila é desejável, onde praticável. Listas de sais adequados adicionais podem ser encontradas, por exemplo, em "*Remington's Pharmaceutical Sciences*", 20ª edição, Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); Berge *et al.*, "*J. Pharm. Sci.*", 1977, 66, 1-19 e em "*Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*" por Stahl e Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemanha, 2002).

[0077] Qualquer fórmula dada aqui pode também representar formas não marcadas bem como formas isotopicamente marcadas para os dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Os compostos isotopicamente marcados têm estruturas ilustradas pelas fórmulas dadas aqui exceto que um ou mais átomos estão substituídos por um átomo do mesmo elemento mas com número de massa diferente. Exemplos de isótopos que podem ser incorporados nos dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII) e seus sais incluem isótopos de hidrogênio, carbono, nitrogênio, oxigênio, fósforo, flúor e cloro, tais como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S e ^{125}I . Os dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, podem incluir vários compostos isotopicamente marcados nos quais estão presentes isótopos radioativos, tais como ^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{35}S e ^{36}Cl . Os dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VIII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, isotopicamente marcados podem ser geralmente preparados por técnicas convencionais conhecidas dos peritos na técnica ou por processos análogos àqueles descritos nos Exemplos acompanhantes usando reagentes isotopicamente marcados apropriados em vez dos reagentes não marcados previamente empregues.

[0078] Os dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e

(VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, podem ter diferentes formas isoméricas. A linguagem "isômero óptico" ou "estereoisômero" se refere a qualquer uma das várias configurações estereoisoméricas que podem existir para um dado dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em particular, os dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, possuem quiralidade e como tal podem existir como misturas de enantiômeros com excesso enantiomérico entre cerca de 0% e >98% de e.e. Quando um composto é um enantiômero puro, a estereoquímica em cada centro quiral pode ser especificada por *R* ou *S*. Tais designações podem ser também usadas para misturas que são enriquecidas em um enantiômero. Os compostos resolvidos cuja configuração absoluta é desconhecida podem ser designados (+) ou (-) dependendo da direção (dextro- ou levorrotatória) na qual rodam o plano de luz polarizada ao comprimento de onda da linha do sódio D. A presente divulgação se destina a incluir todos tais possíveis isômeros, incluindo misturas racêmicas, formas opticamente puras e misturas de intermediários. Os isômeros (*R*) e (*S*) opticamente ativos podem ser preparados usando síntons quirais, reagentes quirais ou catalisadores quirais ou resolvidos usando técnicas convencionais bem conhecidas na técnica, tais como HPLC quiral.

[0079] Em algumas modalidades são divulgados métodos de tratamento de câncer em um indivíduo compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de uma composição farmaceuticamente aceitável compreendendo um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em algumas modalidades são divulgados métodos de tratamento de câncer em um indivíduo compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma

composição farmacêutica compreendendo uma quantidade eficaz de um dendrímero liofilizado da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, reconstituído em um diluente farmaceuticamente aceitável.

[0080] A linguagem "composição farmaceuticamente aceitável" inclui compostos, materiais, diluentes, excipientes, composições e/ou formas de dosagem que são, dentro do escopo de avaliação médica fundamentada, adequados para uso em contato com tecidos de seres humanos e animais sem toxicidade, irritação, resposta alérgica ou outro problema ou complicação excessivo, como determinado pelo perito na técnica. Em algumas modalidades, a composição farmaceuticamente aceitável é uma composição liofilizada compreendendo um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em algumas modalidades, as composições liofilizadas compreendendo um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, são preparadas pelo processo compreendendo os passos de dissolução do composto da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em ácido acético glacial para formar uma solução, criodessecação da solução e sublimação do ácido acético a pressão reduzida.

[0081] As composições divulgadas podem ser obtidas por procedimentos convencionais usando excipientes farmacêuticos convencionais bem conhecidos na técnica, por exemplo, agentes de suspensão, agentes dispersantes ou molhantes, conservantes, antioxidantes, agentes emulsificantes, aglutinantes, desintegrantes, deslizantes, lubrificantes ou sorventes.

[0082] Em algumas modalidades, as composições farmacêuticas divulgadas são reconstituídas em um diluente farmaceuticamente

aceitável para formar uma solução injetável estéril em um ou mais sistemas de tampão, diluentes, agentes solubilizantes, cossolventes ou transportadores diluentes ou solvente aquosos ou não aquosos não tóxicos parenteralmente aceitáveis. Uma preparação injetável estéril pode ser também uma suspensão aquosa ou oleosa injetável estéril ou suspensão em um diluente, transportador ou cossolvente não aquoso, que pode ser formulada de acordo com procedimentos conhecidos usando um ou mais dos agentes dispersantes ou molhantes e agentes de suspensão apropriados. Em algumas modalidades, o diluente farmaceuticamente aceitável compreende uma solução de tampão de citrato. Em algumas modalidades, o tampão de citrato está a pH 5. Em algumas modalidades, o tampão de citrato compreende mono-hidrato de ácido cítrico, di-hidrato de citrato de sódio e dextrose anidra. Em algumas modalidades, o diluente é um tampão de citrato a 50 mM a pH 5 em dextrose a 5% (p/p). Em algumas modalidades, o diluente farmaceuticamente aceitável compreende uma solução de tampão de acetato. Em algumas modalidades, a solução de tampão de acetato está a pH 5. Em algumas modalidades, a solução de tampão de acetato compreende ácido acético, acetato de sódio anidro e dextrose. Em algumas modalidades, o tampão de acetato compreende tampão de acetato a 100 mM (pH 5) em dextrose a 2,5% (p/p). Em algumas modalidades, o diluente é um tampão de citrato/fosfato a pH 5 diluído 1 em 10 com glucose a 5% p/v.

[0083] As composições farmacêuticas poderiam ser reconstituídas para formar uma solução para injeção de bólus/infusão iv, dendrímero estéril para reconstituição com um sistema de tampão ou um sistema liofilizado (dendrímero sozinho ou com excipientes) para reconstituição com um sistema de tampão com ou sem outros excipientes. O material criodessecado liofilizado pode ser preparado a partir de solventes não aquosos ou solventes aquosos. A forma de dosagem também poderia

ser também um concentrado para diluição adicional para infusão subsequente.

[0084] A quantidade de ingrediente ativo que pode ser combinada com um ou mais excipientes para produzir uma única forma de dosagem irá necessariamente variar dependendo do hospedeiro tratado e da via de administração particular. Para informação adicional sobre Vias de Administração e Regimes de Dosagem, o leitor é remetido para o Capítulo 25.3 no Volume 5 de *Comprehensive Medicinal Chemistry* (Corwin Hansch; Presidente do Conselho Editorial), Pergamon Press 1990.

[0085] Os dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, podem ser administrados uma vez, duas vezes, três vezes por dia ou tantas vezes em um período de 24 horas como medicamento necessário. O perito na técnica seria prontamente capaz de determinar a quantidade de cada dose individual com base no indivíduo. Em algumas modalidades, os dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, são administrados em uma forma de dosagem. Em algumas modalidades, os dendrímeros da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) e (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, são administrados em múltiplas formas de dosagem.

[0086] Em algumas modalidades, o pH da composição farmacêutica está entre cerca de 4,0 e cerca de 6,0, por exemplo, entre cerca de 4,8 e cerca de 5,6.

[0087] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende entre cerca de 90-110% do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, quando avaliada contra um padrão de referência de pureza conhecida.

[0088] Em algumas modalidades, a pureza da composição

farmacêutica é não menor do que cerca de 75%, cerca de 80%, cerca de 85%, cerca de 90% ou cerca de 95% como medido por análise de cromatografia por exclusão de tamanhos-UV (SEC-UV). Em algumas modalidades, a pureza da composição farmacêutica é não menor do que cerca de 85% como medido por análise de SEC-UV.

[0089] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende menos do que cerca de 10% p/p de impurezas totais, por exemplo, cerca de 9%, cerca de 8%, cerca de 7%, cerca de 6%, cerca de 5%, cerca de 4%, cerca de 3%, cerca de 2% ou cerca de 1%. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende menos do que entre cerca de 1% e 10% p/p de impurezas totais. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende menos do que entre cerca de 1% e 5% p/p de impurezas totais. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende menos do que cerca de 3% p/p de impurezas totais.

[0090] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende menos do que cerca de 10%, cerca de 9%, cerca de 8%, cerca de 7%, cerca de 6%, cerca de 5%, cerca de 4%, cerca de 3%, cerca de 2% ou cerca de 1% p/p do Composto A livre.

[0091] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende menos do que cerca de 10%, cerca de 9%, cerca de 8%, cerca de 7%, cerca de 6%, cerca de 5%, cerca de 4%, cerca de 3%, cerca de 2%, cerca de 1% ou cerca de 0,5% p/p de qualquer impureza única não especificada. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende cerca de 0,5% p/p de qualquer impureza única não especificada.

[0092] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende menos do que cerca de 10%, cerca de 9%, cerca de 8%, cerca de 7%, cerca de 6%, cerca de 5%, cerca de 4%, cerca de 3%, cerca de 2% ou cerca de 1% p/p de impurezas livres totais.

[0093] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende não mais do que cerca de 10%, cerca de 9%, cerca de 8%, cerca de 7%, cerca de 6%, cerca de 5%, cerca de 4%, cerca de 3% cerca de 2% ou cerca de 1% p/p de ácido acético. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende não mais do que cerca de 1,5% p/p de ácido acético.

[0094] Em algumas modalidades, o ácido acético tem um baixo conteúdo de água, por exemplo, menos do que cerca de 1000 ppm, menos do que cerca de 900 ppm, menos do que cerca de 800 ppm, menos do que cerca de 700 ppm, menos do que cerca de 600 ppm, menos do que cerca de 500 ppm, menos do que cerca de 400 ppm, menos do que cerca de 300 ppm, menos do que cerca de 200 ppm, menos do que cerca de 100 ppm ou menos do que cerca de 50 ppm. Em algumas modalidades, o ácido acético tem um conteúdo de água de menos do que cerca de 10%, menos do que cerca de 5%, menos do que cerca de 4%, menos do que cerca de 3%, menos do que cerca de 2%, menos do que cerca de 1%, menos do que cerca de 0,5%, menos do que cerca de 0,1%, menos do que cerca de 0,09%, menos do que cerca de 0,08%, menos do que cerca de 0,07%, menos do que cerca de 0,06%, menos do que cerca de 0,05%, menos do que cerca de 0,04%, menos do que cerca de 0,03%, menos do que cerca de 0,02% ou menos do que cerca de 0,01%.

[0095] Em algumas modalidades é divulgada uma composição farmacêutica compreendendo um dendrímero liofilizado da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que a composição farmacêutica compreende não mais do que cerca de 2% de ácido acético. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreendendo um dendrímero liofilizado da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V) ou (VI), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, compreende não mais do que cerca de

2% de ácido acético, e em que o ácido acético compreende menos do que cerca de 200 ppm de água.

[0096] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica tem um tamanho médio de partículas determinado por dispersão dinâmica de luz (DLS) de entre cerca de 15 e cerca de 25 d.nm, por exemplo, entre cerca de 17 e cerca de 19 d.nm.

[0097] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica tem um PDI como determinado por dispersão dinâmica de luz (DLS) de entre cerca de 0,20 e cerca de 0,30.

[0098] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende não mais do que cerca de 10,000, cerca de 9,000, cerca de 8,000, cerca de 7,000, cerca de 6,000, cerca de 5,000, cerca de 4,000, cerca de 3,000, cerca de 2,000, cerca de 1,000 ou cerca de 500 particulados de mais do que ou iguais a cerca de 10 µm por recipiente de 50 mL após reconstituição em um diluente ou solvente farmaceuticamente aceitável. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende não mais do que cerca de 6,000 particulados de mais do que ou iguais a cerca de 10 µm por recipiente de 50 mL após reconstituição em um diluente ou solvente farmaceuticamente aceitável.

[0099] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende não mais do que cerca de 1,000, cerca de 900, cerca de 800, cerca de 700, cerca de 600, cerca de 500, cerca de 400, cerca de 300, cerca de 200, cerca de 100 ou cerca de 50 particulados de mais do que ou iguais a cerca de 25 µm por recipiente de 50 mL após reconstituição em um diluente ou solvente farmaceuticamente aceitável. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica compreende não mais do que cerca de 600 particulados de mais do que ou iguais a cerca de 25 µm por 50 mL após reconstituição em um diluente ou solvente farmaceuticamente aceitável.

[00100] Em algumas modalidades, a osmolalidade da composição farmacêutica está entre cerca de 200 e cerca de 400 mOsmol/kg, por exemplo entre cerca de 250 e cerca de 350 mOsmol/kg, entre cerca de 260 e cerca de 330 mOsmol/kg ou entre cerca de 270 e cerca de 328 mOsmol/kg após reconstituição em um diluente ou solvente farmaceuticamente aceitável.

[00101] Em algumas modalidades, a composição farmacêutica tem um limite de endotoxinas de não mais do que cerca de 0,1, cerca de 0,09, cerca de 0,08, cerca de 0,07, cerca de 0,06, cerca de 0,05, cerca de 0,04, cerca de 0,03, cerca de 0,02 ou cerca de 0,01 EU/mg.

[00102] Em uma modalidade é divulgado o uso de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para o tratamento subcutâneo de câncer.

[00103] Em uma modalidade é divulgado o uso de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, na fabricação de um medicamento para o tratamento subcutâneo de câncer.

[00104] Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para o tratamento subcutâneo de câncer.

[00105] Em uma modalidade é divulgada uma composição farmacêutica compreendendo um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para o tratamento subcutâneo de câncer.

[00106] A linguagem "tratar", "tratando" e "tratamento" inclui a redução ou inibição da atividade enzimática ou proteica relacionada com Bcl-2 e/ou Bcl-XL ou câncer em um indivíduo, melhoria de um ou mais sintomas de câncer em um indivíduo ou a desaceleração ou retardamento da progressão de câncer em um indivíduo. A linguagem "tratar", "tratando" e "tratamento" inclui também a redução ou inibição

do crescimento de um tumor ou proliferação de células cancerosas em um indivíduo.

[00107] O termo "câncer" inclui, mas não está limitado a, malignidades hematológicas (por exemplo, linfomas, leucemia) e sólidas. O termo "câncer" inclui, por exemplo, leucemias de células T, linfomas de células T, linfoma linfoblástico agudo (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfocítica crônica (CLL), linfoma linfocítico pequeno (SLL), leucemia mielógena crônica (CML), leucemia monocítica aguda (AML), mieloma múltiplo, linfoma de células do manto, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma de Burkitt, linfoma Não-Hodgkin, linfoma folicular e tumores sólidos, por exemplo, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC, por exemplo, NSCLC mutante de EGF, NSCLC mutante de KRAS), câncer de pulmão de células pequenas (SCLC), câncer de mama, neuroblastoma, câncer de ovário, câncer de próstata, melanoma (por exemplo, melanoma mutante de BRAF, melanoma mutante de KRAS), câncer pancreático, câncer uterino, endometrial e de cólon (por exemplo, câncer de cólon mutante de KRAS, câncer de cólon mutante de BRAF).

[00108] O termo "indivíduo" inclui mamíferos de sangue quente, por exemplo, primatas, cães, gatos, coelhos, ratos e camundongos. Em algumas modalidades, o indivíduo é um primata, por exemplo, um humano. Em algumas modalidades, o indivíduo está sofrendo de câncer ou uma disfunção imunitária. Em algumas modalidades, o indivíduo está com necessidade de tratamento (por exemplo, o indivíduo beneficiaria biologicamente ou medicamente do tratamento). Em algumas modalidades, o indivíduo está sofrendo de câncer. Em algumas modalidades, o indivíduo está sofrendo de um câncer positivo quanto a EGFR-M (por exemplo, câncer de pulmão de células não pequenas). Em algumas modalidades, o câncer positivo quanto a

EGFR-M tem uma mutação predominantemente positiva quanto T790M. Em algumas modalidades, o câncer positivo quanto a EGFR-M tem uma mutação predominantemente negativa quanto a T790M. Em algumas modalidades, o indivíduo está sofrendo de malignidade hematológica (por exemplo, linfomas, leucemia) ou sólida, tal como, por exemplo, linfoma linfoblástico agudo (ALL), leucemia mielógena aguda (LMA), leucemia linfocítica crônica (LLC), linfoma linfocítico (SLL), leucemia mielógena crônica (CML), leucemia monocítica aguda (AMoL), mieloma múltiplo, linfoma de células do manto, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma de Burkitt, linfoma Não-Hodgkin, linfoma folicular e tumores sólidos, por exemplo, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC), câncer de pulmão de células pequenas (CPPC), câncer de mama, neuroblastoma, câncer de próstata, melanoma, câncer pancreático, câncer uterino, endometrial e de cólon.

[00109] A linguagem "quantidade eficaz" inclui uma quantidade de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, que provocará uma resposta biológica ou médica em um indivíduo, por exemplo, a redução ou inibição da atividade enzimática ou proteica relacionada com Bcl-2 e/ou Bcl-XL ou câncer; melhoria dos sintomas de câncer; ou a desaceleração ou retardamento da progressão de câncer. Em algumas modalidades, a linguagem "quantidade eficaz" inclui a quantidade de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ou segundo agente anticanceroso, que, quando administrada a um indivíduo, é eficaz para aliviar, inibir e/ou melhorar pelo menos parcialmente o câncer ou inibir Bcl-2 e/ou Bcl-XL e/ou reduzir ou inibir o crescimento de um tumor ou proliferação de células cancerosas em um indivíduo.

[00110] Em algumas modalidades, uma quantidade eficaz de um

dendrímico da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmacologicamente aceitável, pode ser entre cerca de 1 e cerca de 500 mg/kg. Em algumas modalidades, uma quantidade eficaz de um dendrímico da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmacologicamente aceitável, pode ser entre cerca de 10 e cerca de 300 mg/kg. Em algumas modalidades, uma quantidade eficaz de um dendrímico da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmacologicamente aceitável, pode ser entre cerca de 10 e cerca de 100 mg/kg. Em algumas modalidades, uma quantidade eficaz de um dendrímico da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmacologicamente aceitável, pode ser entre cerca de 10 e cerca de 60 mg/kg. Em algumas modalidades, uma quantidade eficaz de um dendrímico divulgado de fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmacologicamente aceitável, pode ser entre cerca de 10 e cerca de 30 mg/kg. Em algumas modalidades, uma quantidade eficaz de um dendrímico da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmacologicamente aceitável, pode ser cerca de 20 a cerca de 100 mg/kg. Em algumas modalidades, uma quantidade eficaz de um dendrímico da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmacologicamente aceitável, pode ser cerca de 10 mg/kg, cerca de 30 mg/kg, cerca de 40 mg/kg, cerca de 50 mg/kg, cerca de 60 mg/kg, cerca de 70 mg/kg, cerca de 80 mg/kg, cerca de 90 mg/kg, cerca de 100 mg/kg, cerca de 300 mg/kg ou cerca de 145 mg/kg.

[00111] Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímico da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmacologicamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de linfoma em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de linfoma Não-Hodgkin em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de DLBCL em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de DLBCL de células B ativadas (ABC-DLBCL) em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de DLBCL sensível a BTK ou insensível a BTK em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma

quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em algumas modalidades é divulgado um método de tratamento de DLBCL OCI-LY10 em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de MCL em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de leucemia em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de CLL em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea a um indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe ou um seu sal farmaceuticamente

aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de AML em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de acalabrutinibe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de câncer em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e (ii) administração oral de acalabrutinibe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de linfoma não-Hodgkin em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de acalabrutinibe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de DLBCL em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de acalabrutinibe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para

tratamento de DLBCL de células B ativadas (ABC-DLBCL) em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de acalabrutinibe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de DLBCL sensível a BTK ou insensível a BTK em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de acalabrutinibe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de DLBCL OCI-LY10 em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de acalabrutinibe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de MCL em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de acalabrutinibe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para

tratamento de leucemia em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de acalabrutinibe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de CLL em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de acalabrutinibe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de AML em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de acalabrutinibe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado acalabrutinibe para tratamento de câncer em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de acalabrutinibe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado acalabrutinibe para tratamento de DLBCL em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de acalabrutinibe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um

seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado acalabrutinibe para tratamento de DLBCL de células B ativadas (ABC-DLBCL) em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de acalabrutinibe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado acalabrutinibe para tratamento de DLBCL sensível a BTK ou insensível a BTK em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de acalabrutinibe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado acalabrutinibe para tratamento de DLBCL OCI-LY10 em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de acalabrutinibe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado acalabrutinibe para tratamento de MCL em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de acalabrutinibe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado acalabrutinibe para tratamento de leucemia em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de acalabrutinibe e (ii) administração subcutânea

de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado acalabrutinibe para tratamento de CLL em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de acalabrutinibe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado acalabrutinibe para tratamento de AML em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de acalabrutinibe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo.

[00112] Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração intravenosa separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de rituximabe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de linfoma em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao referido indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração intravenosa separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de rituximabe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de linfoma Não-Hodgkin em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de

um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração intravenosa separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de rituximabe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de DLBCL em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração intravenosa separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de rituximabe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de DLBCL de células B do centro germinal ativadas (GCB-DLBCL) em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração intravenosa separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de rituximabe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de leucemia em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração intravenosa separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de rituximabe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de CLL em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração intravenosa separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de rituximabe ou um seu sal farmaceuticamente

aceitável. Em uma modalidade é divulgado um método de tratamento de AML em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração intravenosa separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de rituximabe ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de câncer em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração intravenosa de rituximabe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de linfoma em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração intravenosa de rituximabe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de linfoma não-Hodgkin em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração intravenosa de rituximabe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para

tratamento de DLBCL em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente: (ii) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração intravenosa de rituximabe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de DLBCL de células B do centro germinal (GCB-DLBCL) em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente: (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração intravenosa de rituximabe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de leucemia em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) rituximabe intravenoso, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de CLL em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração intravenosa de rituximabe, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de AML em um indivíduo, em que o referido tratamento

compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração intravenosa de rituximabe ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado rituximabe para tratamento de câncer em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração intravenosa de rituximabe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado rituximabe para tratamento de linfoma em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração intravenosa de rituximabe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado rituximabe para tratamento de linfoma não-Hodgkin em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração intravenosa de rituximabe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado rituximabe para tratamento de DLBCL em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração intravenosa de rituximabe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado rituximabe para tratamento de DLBCL de células B do centro germinal (GBC-DLBCL) em um

indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração intravenosa de rituximabe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado rituximabe para tratamento de leucemia em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração intravenosa de rituximabe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado rituximabe para tratamento de CLL em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração intravenosa de rituximabe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado rituximabe para tratamento de AML em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração intravenosa de rituximabe e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo.

[00113] Em uma modalidade são divulgados métodos de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de vistusertib (AZD2014) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma

modalidade são divulgados métodos de tratamento de câncer de pulmão de células pequenas em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e administração oral separada, sequencial ou simultânea de uma quantidade eficaz de vistusertib (AZD2014) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de câncer em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de vistusertib (AZD2014), ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de câncer de pulmão de células pequenas em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração subcutânea do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável; e (ii) administração oral de vistusertib (AZD2014), ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado vistusertib (AZD2014), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para tratamento de câncer em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de vistusertib (AZD2014); e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo. Em uma modalidade é divulgado vistusertib (AZD2014), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para

tratamento de câncer de pulmão de células pequenas em um indivíduo, em que o referido tratamento compreende separadamente, sequencialmente ou simultaneamente (i) administração oral de vistusertib, ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e (ii) administração subcutânea de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, ao referido indivíduo.

[00114] Em um aspecto são divulgados métodos para inibição de Bcl-2 e/ou Bcl-XL em um indivíduo com sua necessidade, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

[00115] Em um aspecto é divulgada uma composição farmacêutica compreendendo um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para uso na inibição subcutânea de Bcl-2 e/ou Bcl-XL.

[00116] Em um aspecto é divulgado o uso de um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, na fabricação de um medicamento para inibição subcutânea de Bcl-2 e/ou Bcl-XL.

[00117] Em um aspecto são divulgadas composições farmacêuticas compreendendo um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para uso na inibição subcutânea de Bcl-2 e/ou Bcl-XL.

[00118] O termo "Bcl-2" se refere a linfoma de células B 2 e o termo "Bcl-XL" se refere a linfoma de células B extragrande, que são membros antiapoptóticos da família Bcl-2 de proteínas.

[00119] Em algumas modalidades é divulgado um estojo de partes compreendendo um ou mais recipientes compreendendo um dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu

sal farmaceuticamente aceitável, e instruções para uso subcutâneo. Em algumas modalidades, o estojo compreende adicionalmente um ou mais recipientes de um diluente farmaceuticamente aceitável. O termo "recipiente" inclui qualquer recipiente adequado para encerramento do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e diluentes farmaceuticamente aceitáveis, por exemplo, frascos, latas, envelopes, garrafas, seringas e similares. Em algumas modalidades, os estojos compreendem adicionalmente componentes requeridos para administração do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) ou (VII) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, por exemplo, agulhas, seringas, tubos e similares.

[00120] A linguagem "diluente farmaceuticamente aceitável" inclui diluentes materiais que são, dentro do escopo de avaliação médica fundamentada, adequados para uso em contato com tecidos de seres humanos e animais sem toxicidade, irritação, resposta alérgica ou outro problema ou complicação excessivo, como determinado pelo perito na técnica. Em algumas modalidades, o diluente farmaceuticamente aceitável compreende uma solução de tampão de citrato. Em algumas modalidades, o tampão de citrato está a pH 5. Em algumas modalidades, o tampão de citrato compreende mono-hidrato de ácido cítrico, di-hidrato de citrato de sódio e dextrose anidra. Em algumas modalidades, o diluente é um tampão de citrato a 50 mM a pH 5 em dextrose a 5% (p/p). Em algumas modalidades, o diluente farmaceuticamente aceitável compreende uma solução de tampão de acetato. Em algumas modalidades, a solução de tampão de acetato está a pH 5. Em algumas modalidades, a solução de tampão de acetato compreende ácido acético, acetato de sódio anidro e dextrose. Em algumas modalidades, o tampão de acetato compreende tampão de acetato a 100 mM (pH 5) em dextrose a 2,5% (p/p).

Exemplos

[00121] Aspectos da presente divulgação podem ser adicionalmente definidos por referência aos seguintes exemplos não limitantes, que descrevem em detalhe a preparação de certos compostos e intermediários da presente divulgação e métodos para uso dos compostos da presente divulgação. Será aparente para os peritos na técnica que muitas modificações, tanto aos materiais como aos métodos, podem ser praticadas se afastar do escopo da presente divulgação.

[00122] A não ser que afirmado de outro modo:

- (i) todas as sínteses foram levadas a cabo à temperatura ambiente, *i.e.*, na gama 17 a 25°C e sob uma atmosfera de um gás inerte tal como nitrogénio a não ser que de outro modo afirmado;
- (ii) as evaporações foram levadas a cabo por evaporação rotativa sob pressão reduzida, usando equipamento da Buchi ou Heidolph;
- (iii) a liofilização foi levada a cabo usando um sistema de criodessecação FreeZone 6 Plus da Labconco;
- (iv) as purificações por cromatografia por exclusão de tamanhos foram realizadas usando colunas empacotadas com esférulas Sephadex LH-20;
- (v) a cromatografia preparativa foi realizada em um sistema Prep GX-271 da Gilson com coleta desencadeada por UV, usando uma coluna XBridge BEH C18 (5 µM, 30 x 150 mm) da Waters;
- (vi) as purificações por ultrafiltração foram realizadas usando um sistema de acionamento de bomba de engrenagem Cole-Parmer conectado a um cassete de membrana (Millipore Pellicon 3, 0,11 m², 10 kDa da Merck).
- (vii) a cromatografia analítica foi realizada em um Módulo de Separação Alliance 2695 da Waters com detecção de PDA;
- (viii) os rendimentos, onde presentes, não são necessariamente os

máximos alcançáveis;

(ix) em geral, as estruturas dos produtos finais dos dendrímeros foram confirmadas por espectroscopia de RMN; os valores dos desvios químicos de ^1H e ^{19}F RMN foram medidos na escala delta [os espectros de ressonância magnética de prótons foram determinados usando um instrumento Avance 300 (300 MHz) da Bruker]; as medições foram realizadas à temperatura ambiente a não ser que de outro modo especificado; a ^1H RMN usa o pico residual de solvente como o padrão interno e as seguintes abreviaturas: s, singlete; d, duplete; t, tripleto; q, quarteto; m, multiplete; dd, duplete de dupletos; ddd, duplete de dupletos de dupletos; dt, duplete de tripletos; br s, singlete largo.

(x) em geral, os produtos finais de dendrímero foram também caracterizados por HPLC, usando um Módulo de Separação Alliance 2695 da Waters com detecção de PDA, conectado a uma Coluna XBridge C8 (3,5 μm , 3 x 100 mm) da Waters ou uma Coluna Aeris C8 (3,6 μm , 2,1 x de 100 mm) da Phenomenex;

(xi) a pureza intermédia foi avaliada por espectroscopia de massa após cromatografia líquida (LC-MS); usando um UPLC da Waters equipado com um espectrômetro de massa SQ da Waters (Temp da coluna 40°C, UV = 220-300 nm ou 190-400 nm, Espec. de Massa = ESI com troca positiva/negativa) a um caudal de 1 mL/min usando um sistema solvente de A a 97% + B a 3% até A a 3% + B a 97% ao longo de 1,50 min (tempo de processamento total com equilíbrio de volta para as condições de partida, etc., 1,70 min), onde A = ácido fórmico a 0,1% ou ácido trifluoroacético a 0,05% em água (para processamento ácido) ou hidróxido de amônio a 0,1% em água (para processamento básico) e B = acetonitrila. Para a análise ácida, a coluna usada foi uma Acquity HSS T3 (1,8 μm , 2,1 x 50 mm) da Waters, para a análise básica, a coluna usada foi uma Acquity BEH C18 (1,7 μm , 2,1 x 50

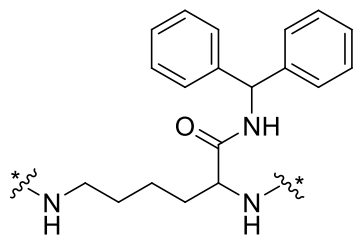
mm) da Waters. Alternativamente, a UPLC foi levada a cabo usando um UPLC da Waters equipado com um espectrômetro de massa SQ da Waters (Temp da coluna 30 °C, UV = 210-400 nm, Espec. de Massa = ESI com troca positiva/negativa) a um caudal de 1 mL/min usando um gradiente de solvente de B de 2 a 98% ao longo de 1,5 min (tempo de processamento total com equilíbrio de novo para as condições de partida 2 min), onde A = ácido fórmico a 0,1% em água e B = ácido fórmico a 0,1% em acetonitrila (para processamento ácido) ou A = hidróxido de amônio a 0,1% em água e B = acetonitrila (para processamento básico). Para a análise ácida, a coluna usada foi uma Acquity HSS T3 (1,8 µm, 2,1 x 30 mm) da Waters, para a análise básica, a coluna usada foi uma Acquity BEH C18 (1,7 µm, 2,1 x 30 mm) da Waters; O íon molecular relatado corresponde a $[M+H]^+$ a não ser que de outro modo especificado; para moléculas com múltiplos padrões isotópicos (Br, Cl, etc.), o valor relatado é aquele obtido com a intensidade mais elevada não ser que de outro modo especificado.

(xii) foram usadas as seguintes abreviaturas:

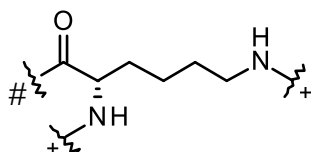
ACN	Acetonitrila
BHA	Benzidrilamina
BOC	<i>terc</i> -butiloxicarbonila
CoA	Certificado de Análise
DGA	Ácido diglicólico
DIPEA	Di-isopropiletilamina
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
FBA	Ácido 4-fluorobenzoico
Glu	Glutárico
HP-β-CD	hidroxipropil-beta-ciclodextrina
MeOH	Metanol
MIDA	Ácido metiliminodiacético

MSA	Ácido metanossulfônico
MTBE	Éter de metila e <i>terc</i> -butila
PM	Peso molecular
NMM	N-Metilmorfolina
PBS	Solução salina tamponado com fosfato
PEG	Polietilenoglicol
PTFE	Politetrafluoroetileno
PyBOP	Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfônio
<i>QS/qs Quantum sufficit</i> (a quantidade que é necessária)	
SBE- β -CD	Éter de sulfobutila de beta-ciclodextrina (Captisol [®])
TDA	Ácido tiodiglicólico
TFA	Ácido trifluoroacético
WFI	Água para injeção WFI

[00123] Como usado nos Exemplos, o termo "BHALys" se refere a 2,6-diamino-N-benzidril-hexanamida ligada a lisina. BHA tem a estrutura:



em que * indica uma anexação covalente aos blocos de construção de lisina. O termo "Lys" se refere às unidades de construção do dendrímero e tem a estrutura:



na qual # indica anexação covalente a uma porção de amina de BHALys ou uma porção de amino de uma unidade de construção de

Lys, e + indica uma anexação covalente a uma porção de carbonila de uma unidade de construção de Lys ou uma anexação covalente a PEG ou ao ligante anexado ao agente ativo.

[00124] Por conveniência, somente a geração de superfície das unidades de construção nos dendrímeros dos Exemplos está incluída no nome do dendrímero. Adicionalmente, o símbolo $\ddagger$ no nome se refere ao número teórico de grupos ϵ -amino disponíveis para conjugação a PEG e o símbolo $\dagger$ no nome se refere ao número teórico de grupos α -amino no dendrímero disponível para conjugação ao ligante anexado ao agente ativo, respectivamente. Como um exemplo, o nome "BHALys[Lys]₃₂ $\dagger$ [α -TDA-Composto A]₃₂[ϵ -PEG_{2100, 2200}]₃₂ $\ddagger$ " se refere a um dendrímero de quinta geração com o núcleo de BHALys, unidades de construção de Lys na (quinta) camada de superfície, aproximadamente 32 Compostos A conjugados aos grupos α -amino das unidades de construção de superfície de Lys com ligantes de ácido tiodiacético, aproximadamente 32 grupos PEG com um peso molecular médio de entre 2100 e 2200 conjugados aos grupos ϵ -amino das unidades de construção de superfície de Lys.

Exemplo 1: Preparação e Caracterização do Composto 1

1. Preparação e Caracterização de BHALys[Lys]₃₂[α -NH₂TFA]₃₂[ϵ -PEG~2000]₃₂ $\ddagger$

[00125] Nota: 32 $\ddagger$ se relaciona com o número teórico de grupos ϵ -amino disponíveis para substituição por PEG~2000. O número médio real de grupos PEG~2000 anexados ao BHALys[Lys]₃₂ foi determinado experimentalmente por ¹H RMN (ver seção em baixo no presente Exemplo intitulada Caracterização de BHALys[Lys]₃₂[α -NH₂-TFA]₃₂[ϵ -PEG~2000]₃₂ $\ddagger$).

(a) BHALys[Boc]₂

[00126] Éster de *p*-nitrofenol de α,ϵ -(*t*-Boc)₂-(L)-lisina sólido (2,787 kg, 5,96 mol) foi adicionado a uma solução de aminodifenilmetano

(benzidrilamina) (0,99 kg, 5,4 mol) em acetonitrila anidra (4,0 L), DMF (1,0 L) e trietilamina (1,09 kg) ao longo de um período de 15 min. A mistura reacional foi agitada a 20°C durante a noite. A mistura reacional foi depois aquecida até 35°C e hidróxido de sódio aquoso (0,5 N, 10 L) foi lentamente adicionado ao longo de 30 min. A mistura foi agitada durante 30 min adicionais, depois filtrada. O bolo sólido foi lavado com água e seco até um peso constante (2,76 kg, 5,4 mol) em rendimento de 100%. ^1H RMN (CD_3OD) δ 7,3 (m, 10H, Ph calculado 10H); 6,2 (s, 1H, CH-Ph₂ calculado 1H); 4,08 (m, α -CH, 1H), 3,18 (l, ϵ -CH₂) e 2,99 (m, ϵ -CH₂ 2H); 1,7-1,2 (l, β,γ,δ -CH₂) e 1,43 (s, tBu) total para β,γ,δ -CH₂ e tBu 25H calculado 24H. MS (ESI +ve) encontrado 534,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 534,7.

(b) *BHALys[HCl]₂*

[00127] Uma solução de HCl concentrado (1,5 L) em metanol (1,5 L) foi adicionada lentamente, em três porções, a uma suspensão agitada de BHALys[Boc]₂ (780,5 g, 1,52 mol) em metanol (1,5 L) a uma taxa para minimizar a formação excessiva de espuma. A mistura reacional foi agitada durante 30 min adicionais, depois concentrada sob vácuo a 35°C. O resíduo foi absorvido em água (3,4 L) e concentrado sob vácuo a 35°C duas vezes, depois armazenado sob vácuo durante a noite. Acetonitrila (3,4 L) foi depois adicionada e o resíduo foi novamente concentrado sob vácuo a 35 °C para dar BHALys[HCl]₂ como um sólido branco (586 g, 1,52 mol) em rendimento de 100%. ^1H RMN (D_2O) δ 7,23 (m l, 10H, Ph calculado 10H); 5,99 (s, 1H, CH-Ph₂ calculado 1H); 3,92 (t, J = 6,5 Hz, α -CH, 1H, calculado 1H); 2,71 (t, J = 7,8 Hz, ϵ -CH₂, 2H, calculado 2H); 1,78 (m, β,γ,δ -CH₂, 2H), 1,47 (m, β,γ,δ -CH₂, 2H), e 1,17 (m, β,γ,δ -CH₂, 2H, total 6H calculado 6H). MS (ESI +ve) encontrado 312 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 312.

(c) *BHALys[Lys]₂[Boc]₄*

[00128] A uma suspensão de BHALys[HCl]₂ (586 g, 1,52 mmol) em DMF anidro (3,8 L) foi adicionada trietilamina (1,08 kg) lentamente para manter a temperatura da reação abaixo de 30 °C. Éster de *p*-nitrofenol de α,ϵ -(*t*-Boc)₂-(L)-lisina sólido (1,49 kg) foi adicionado em três porções, lentamente e com agitação durante 2 horas entre adições. A reação foi deixada a agitar durante a noite. Uma solução aquosa de hidróxido de sódio (0,5 M, 17 L) foi lentamente adicionada à mistura bem agitada, e a agitação foi mantida até o precipitado sólido se mover livremente. O precipitado foi coletado por filtração, e o bolo sólido foi lavado bem com água (2 x 4 L), depois acetona/água (1:4, 2 x 4 L). O sólido foi empastado novamente com água, depois filtrado e seco sob vácuo durante a noite para dar BHALys[Lys]₂[Boc]₄ (1,51 kg) em rendimento de 100%. ¹H RMN (CD₃OD) δ 7,3 (m, 10H, Ph calculado 10H); 6,2 (s, 1H, CH-Ph₂ calculado 1H); 4,21 (m, α -CH), 4,02 (m, α -CH) e 3,93 (m, α -CH, total 3H, calculado 3H); 3,15 (m, ϵ -CH₂) e 3,00 (m, ϵ -CH₂ total 6H, calculado 6H); 1,7-1,3 (l, β,γ,δ -CH₂) e 1,43 (s, *t*Bu) total para β,γ,δ -CH₂ e *t*Bu 57H, calculado 54H. MS (ESI +ve) encontrado 868,6 [M-Boc]⁺; 990,7 [M+Na]⁺ calculado para C₅₁H₈₁N₇O₁₁Na [M+Na]⁺ 991,1.

(d) BHALys[Lys]₂[HCl]₄

[00129] BHALys[Lys]₂[Boc]₄ (1,41 kg, 1,46 mol) foi suspenso em metanol (1,7 L) com agitação a 35°C. Ácido clorídrico (1,7 L) foi misturado com metanol (1,7 L), e a solução resultante foi adicionada em quatro porções à suspensão de dendrímero e deixada a agitar durante 30 min. O solvente foi removido sob pressão reduzida e processado com duas tiras sucessivas de água (3,5 L) seguidas por duas tiras sucessivas de acetonitrila (4 L) para dar BHALys[Lys]₂[HCl]₄ (1,05 Kg, 1,46 mmol) em rendimento de 102%. ¹H RMN (D₂O) δ 7,4 (m l, 10H, Ph calculado 10H); 6,14 (s, 1H, CH-Ph₂ calculado 1H); 4,47 (t, J = 7,5 Hz, α -CH, 1H), 4,04 (t, J = 6,5 Hz, α -CH, 1H), 3,91 (t, J = 6,8 Hz,

α -CH, 1H, total 3H, calculado 3H); 3,21 (t, $J = 7,4$ Hz, ϵ -CH₂, 2H), 3,01 (t, $J = 7,8$ Hz, ϵ -CH₂, 2H) e 2,74 (t, $J = 7,8$ Hz, ϵ -CH₂, 2H, total 6H, calculado 6H); 1,88 (m, β,γ,δ -CH₂), 1,71 (m, β,γ,δ -CH₂), 1,57 (m, β,γ,δ -CH₂) e 1,35 (m, β,γ,δ -CH₂ total 19H, calculado 18H).

(e) *BHALys[Lys]₄[Boc]₈*

[00130] BHALys[Lys]₂[HCl]₄ (1,05 kg, 1,47 mol) foi dissolvido em DMF (5,6 L) e trietilamina (2,19 L). O éster de *p*-nitrofenol de α,ϵ -(*t*-Boc)₂-(L)-lisina (2,35 kg, 5,03 mol) foi adicionado em três porções e a reação agitada durante a noite a 25°C. Uma solução de NaOH (0,5 M, 22 L) foi adicionada e a mistura resultante filtrada, lavada com água (42 L) e depois seca ao ar. O sólido foi seco sob vácuo a 45°C para dar BHALys[Lys]₄[Boc]₈ (2,09 kg, 1,11 mol) em rendimento de 76%. ¹H RMN (CD₃OD) δ 7,3 (m, 10H, Ph calculado 10H); 6,2 (s, 1H, CH-Ph₂ calculado 1H); 4,43 (m, α -CH), 4,34 (m, α -CH), 4,25 (m, α -CH) e 3,98 (l, α -CH, total 7H, calculado 7H); 3,15 (l, ϵ -CH₂) e 3,02 (l, ϵ -CH₂ total 14H, calculado 14H); 1,9-1,2 (l, β,γ,δ -CH₂) e 1,44 (s l, tBu) total para β,γ,δ -CH₂ e tBu 122H, calculado 144H.

(f) *BHALys[Lys]₄[TFA]₈*

[00131] A uma suspensão agitada de BHALys[Lys]₄[Boc]₈ (4 g, 2,13 mmol) em DCM (18 mL) foi adicionado TFA (13 mL) a 0 °C. Os sólidos se dissolveram, e a solução foi agitada durante a noite sob uma atmosfera de árgon. Os solventes foram removidos sob vácuo, e o TFA residual foi removido por trituração com éter de dietila (100 mL). O produto foi redissolvido em água e depois criodessecado para dar BHALys[Lys]₄[TFA]₈ como um sólido esbranquiçado (4,27 g, 2,14 mmol) em rendimento de 101%. ¹H RMN (D₂O) δ 7,21 (m l, 10H, Ph calculado 10H); 5,91 (s, 1H, CH-Ph₂ calculado 1H); 4,17 (t, $J = 7,4$ Hz, α -CH, 1H), 4,09 (t, $J = 7,1$ Hz, α -CH, 1H), 4,02 (t, $J = 7,2$ Hz, α -CH, 1H), 3,84 (t, $J = 6,5$ Hz, α -CH, 2H), 3,73 (t, $J = 6,7$ Hz, α -CH, 1H), 3,67 (t, $J = 6,7$ Hz, α -CH, 1H, total 7H, calculado 7H); 3,0 (m, ϵ -CH₂), 2,93

(m, ϵ -CH₂) e 2,79 (l, ϵ -CH₂, total 15H, calculado 14H); 1,7 (l, β,γ,δ -CH₂), 1,5 (l, β,γ,δ -CH₂), 1,57 (m, β,γ,δ -CH₂) e 1,25 (l, β,γ,δ -CH₂ total 45H, calculado 42H). MS (ESI +ve) encontrado 541,4 [M+2H]²⁺; calculado para C₅₅H₉₉N₁₅O₇ [M+2H]²⁺ 541,2.

(g) *BHALys[Lys]₈[Boc]₁₆*

[00132] Uma solução de éster de *p*-nitrofenol de α,ϵ -(*t*-Boc)₂-(L)-lisina (1,89 g, 4,05 mmol) em DMF (25 mL) foi adicionada a uma solução de BHALys[Lys]₄[NH₂TFA]₈ (644 mg, 0,32 mmol) e trietilamina (0,72 mL, 5,2 mmol) em DMF (25 mL) e a reação foi deixada a agitar durante a noite sob uma atmosfera de árgon. A mistura reacional foi vertida em gelo/água (500 mL), depois filtrada e o sólido coletado foi seco durante a noite sob vácuo. O sólido seco foi lavado extensivamente com acetonitrila para dar BHALys[Lys]₈[Boc]₁₆ como um sólido esbranquiçado (0,82 g, 0,22 mmol) em rendimento de 68%. ¹H RMN (CD₃OD) δ 7,3 (m, 10H, Ph calculado 10H); 6,2 (s l, 1H, CH-Ph₂ calculado 1H); 4,48 (l, α -CH), 4,30 (l, α -CH) e 4,05 (l, α -CH, total 16H calculado 15H); 3,18 (l, ϵ -CH₂) e 3,02 (m, ϵ -CH₂ total 31H, calculado 30H); 1,9-1,4 (l, β,γ,δ -CH₂) e 1,47 (s l, *t*Bu) total para β,γ,δ -CH₂ e *t*Bu 240H, calculado 234H. MS (ESI+ve) encontrado 3509 [M+H-(Boc)₂]⁺ calculado para C₁₇₃H₃₀₆N₃₁O₄₃ [M+H-(Boc)₂]⁺ 3508,5; 3408 [M+H-(Boc)₃]⁺ calculado para C₁₆₈H₂₉₈N₃₁O₄₁ [M+H-(Boc)₃]⁺ 3408,4.

(h) *BHALys[Lys]₈[TFA]₁₆*

[00133] Uma solução de TFA/DCM (1:1, 19 mL) foi adicionada lentamente a uma suspensão agitada de BHALys[Lys]₈[Boc]₁₆ (800 mg, 0,22 mmol) em DCM (25 mL). Os sólidos foram dissolvidos, e a solução foi agitada durante a noite sob uma atmosfera de árgon. Os solventes foram removidos sob vácuo, e o TFA residual foi removido por criodessecação repetida do resíduo, para dar BHALys[Lys]₈[TFA]₁₆ como um liofilato esbranquiçado (848 mg, 0,22 mmol) em rendimento de 100%. ¹H RMN (D₂O) δ 7,3 (m l, 10H, Ph calculado 10H); 6,08 (s,

^1H , CH-Ph_2 calculado 1H); 4,3 (m, $\alpha\text{-CH}$), 4,18 (m, $\alpha\text{-CH}$), 4,0 (m, $\alpha\text{-CH}$) e 3,89 (m, $\alpha\text{-CH}$, total 16H, calculado 15H); 3,18 (l, $\epsilon\text{-CH}_2$) e 2,94 (m, $\epsilon\text{-CH}_2$ total 32H, calculado 30H); 1,9 (m, $\beta,\gamma,\delta\text{-CH}_2$), 1,68 (m, $\beta,\gamma,\delta\text{-CH}_2$) e 1,4 (m, $\beta,\gamma,\delta\text{-CH}_2$ total 99H, calculado 90H). MS (ESI +ve) encontrado 2106 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{103}\text{H}_{194}\text{N}_{31}\text{O}_{15}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 2106,9.

(i) *BHALys[Lys]₁₆[Boc]₃₂*

[00134] Uma solução de éster de *p*-nitrofenol de $\alpha,\epsilon\text{-(t-Boc)}_2\text{-(L)}$ -lisina (1,89 g, 4,05 mmol) em DMF (25 mL) foi adicionada a uma solução de BHALys[Lys]₈[TFA]₁₆ (644 mg, 0,32 mmol) e trietilamina (0,72 mL, 5,2 mmol) em DMF (25 mL) e a reação foi deixada a agitar durante a noite sob uma atmosfera de árgon. A reação foi vertida em gelo/água (500 mL), depois filtrada e o sólido coletado foi seco durante a noite sob vácuo. O sólido seco foi extensivamente lavado com acetonitrila para dar BHALys[Lys]₁₆[Boc]₃₂ como um sólido esbranquiçado (0,82 g, 0,22 mmol) em rendimento de 68%.

^1H RMN (CD_3OD) δ 7,28 (m, 9H, Ph calculado 10H); 6,2 (s l, 1H, CH-Ph_2 calculado 1H); 4,53 (l, $\alpha\text{-CH}$), 4,32 (l, $\alpha\text{-CH}$) e 4,05 (l, $\alpha\text{-CH}$, Total 35H, calculado 31H); 3,18 (l, $\epsilon\text{-CH}_2$) e 3,04 (m, $\epsilon\text{-CH}_2$ total 67H, calculado 62H); 1,9-1,5 (l, $\beta,\gamma,\delta\text{-CH}_2$) e 1,47 (s l, tBu) total para $\beta,\gamma,\delta\text{-CH}_2$ e tBu 474H calculado, 474H. MS (ESI+ve) encontrado 6963 $[\text{M}+\text{H}-(\text{Boc})_4]^+$ calculado para $\text{C}_{339}\text{H}_{610}\text{N}_{63}\text{O}_{87}$ $[\text{M}+\text{H}-(\text{Boc})_4]^+$ 6960,9; 6862 $[\text{M}+\text{H}-(\text{Boc})_5]^+$ calculado para $\text{C}_{334}\text{H}_{604}\text{N}_{63}\text{O}_{85}$ $[\text{M}+\text{H}-(\text{Boc})_5]^+$ 6860,8.

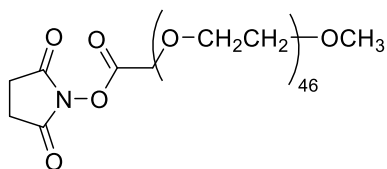
(j) *BHALys[Lys]₁₆[TFA]₃₂*

[00135] Uma solução de TFA/DCM (1:1, 19 mL) foi adicionada lentamente a uma suspensão agitada de BHALys[Lys]₁₆[Boc]₃₂ (800 mg, 0,11 mmol) em DCM (25 mL). Os sólidos foram dissolvidos, e a solução foi agitada durante a noite sob uma atmosfera de árgon. Os solventes foram removidos sob vácuo, e o TFA residual foi removido por criodessecação repetida do resíduo, para dar BHALys[Lys]₁₆[TFA]₃₂ como um liofilato esbranquiçado (847 mg, 0,11

mmol) em rendimento de 100%. ^1H RMN (D_2O) δ 7,3 (m l, 11H, Ph calculado 10H); 6,06 (s, 1H, CH-Ph₂ calculado 1H); 4,3 (m, α -CH), 4,19 (m, α -CH), 4,0 (m, α -CH) e 3,88 (m, α -CH, total 35H, calculado 31H); 3,15 (l, ϵ -CH₂) e 2,98 (m, ϵ -CH₂ total 69H, calculado 62H); 1,88 (m, β,γ,δ -CH₂), 1,7 (m, β,γ,δ -CH₂) e 1,42 (m, β,γ,δ -CH₂ total 215H, calculado 186H). MS (ESI+ve) encontrado 4158 $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{199}\text{H}_{386}\text{N}_{63}\text{O}_{31}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 4157,6

(k) *HO-Lys(α -BOC)(ϵ -PEG₂₁₀₀)*

[00136] DIPEA (0,37 mL, 2,10 mmol) foi adicionada a uma mistura resfriada em gelo de NHS-PEG₂₁₀₀ (por exemplo,



) (2,29 g, 1,05 mmol) e N- α -t-BOC-L-lisina (0,26 g, 1,05 mmol) em DMF (20 mL). A mistura agitada foi deixada a aquecer até à temperatura ambiente durante a noite, depois quaisquer sólidos restantes foram filtrados (acrodisc PALL de 0,45 μm) antes da remoção do solvente *in vacuo*. O resíduo foi absorvido em ACN/H₂O (1:3, 54 mL) e purificado por HPLC PREP (XBridge C18, 5 μm , 19 x 150 mm da Waters), ACN a 25 a 32% (5-15 min), ACN de 32 a 60% (15 a 20 min), sem tampão, 8 mL/min, TR = 17 min), proporcionando 1,41 g (56%) de HO-Lys(BOC)(PEG₂₁₀₀). ^1H RMN (CD_3OD) δ 3,96-4,09 (m, 1H), 3,34-3,87 (m, 188H); 3,32 (s, 3H), 3,15 (q, J = 6,0 Hz, 2H), 2,40 (t, J = 6,2 Hz, 2H), 1,28-1,88 (m, 6H), 1,41 (s, 9H).

(l) *BHALys[Lys]₃₂[α -BOC]₃₂[ϵ -PEG₂₁₀₀]₃₂*

[00137] A uma mistura agitada de BHALys[Lys]₁₆[TFA]₃₂ (0,19 g, 24 μmol) em DMF (20 mL) foi adicionada DIPEA (0,86 mL, 4,86 mmol). Esta mistura foi depois adicionada gota a gota a uma mistura agitada de PyBOP (0,62 g, 1,20 mmol) e Lys(BOC)(PEG₂₁₀₀) (2,94 g, 1,20 mmol) em DMF (20 mL) à temperatura ambiente. A mistura reacional foi deixada a agitar durante a noite, depois diluída com água (200 mL).

A mistura aquosa foi sujeita a uma filtração de centramato (membrana de 5 k, 20 L de água). O retentado foi criodessecado, proporcionando 1,27 g (73%) do dendrímero desejado. HPLC (C8 XBridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN a 5% (0-1 min), ACN/H₂O a 5-80%) (1-7 min), ACN a 80% (7-12 min), ACN a 80-5% (12-13 min), ACN a 5% (13-15 min), 214 nm, TFA a 0,1%) R_f (min) = 8,52. ¹H-rmn (300 MHz, D₂O) δ (ppm): 1,10-2,10 (m, Lys CH₂ (β, χ, δ) e BOC, 666H), 3,02-3,36 (m, Lys CH₂ (ε), 110H), 3,40 (s, PEG-OMe, 98H), 3,40-4,20 (m, PEG-OCH₂, 5750H + Lys CH de superfície, 32H), 4,20-4,50 (m, Lys, CH interno 32H), 7,20-7,54 (m, BHA, 8H). A ¹H RMN indica aproximadamente 29 PEGs.

(m) *BHALys[Lys]₃₂[α-TFA]₃₂[ε-PEG₂₁₀₀]₃₂*

[00138] 1,27 g (17,4 μmol) de BHALys[Lys]₃₂[α-BOC]₃₂[ε-PEG₂₁₀₀]₃₂ foram agitados em TFA/DCM (1:1, 20 mL) à temperatura ambiente durante a noite. Os voláteis foram removidos *in vacuo*, depois o resíduo foi absorvido em água (30 mL). A mistura foi depois concentrada. Este processo foi repetido duas vezes mais antes de ter sido criodessecado, proporcionando 1,35 g (106%) do produto desejado como um óleo viscoso incolor. HPLC (C8 XBridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN a 5% (0-1 min), ACN/H₂O a 5-80%) (1-7 min), ACN a 80% (7-12 min), ACN a 80-5% (12-13 min), ACN a 5% (13-15 min), 214 nm, TFA a 0,1%) R_f (min) = 8,51. ¹H-rmn (300 MHz, D₂O) δ (ppm): 1,22-2,08 (Lys CH₂ ((β, χ, δ), 378H), 3,00-3,26 (Lys CH₂ (ε), 129H), 3,40 (PEG-OMe, 96H), 3,45-4,18 (PEG-OCH₂, 5610H + Lys CH de superfície, 32H), 4,20-4,46 (Lys, CH interno, 33H), 7,24-7,48 (8H, BHA). A ¹H RMN indica aproximadamente 29 PEGs.

(n) *Caracterização de BHALys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG_{~2000}]₃₂*

[00139] A Tabela 1 ilustra os vários lotes de BHALys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG_{~2000}]₃₂ usados na síntese dos Compostos 1 e 2, em baixo, que têm comprimentos de PEG ligeiramente diferentes. O

número real de cadeias de PEG no dendrímero é também calculado por RMN de prótons.

Tabela 1. Vários Lotes de BHALys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG~2000]_{32±}

Lote	Escala	Comprimento de PEG a partir de CoA (Da)	Número de PEGs (x) em BHALys[Lys] ₃₂ [α-NH ₂ .TFA] ₃₂ [ε-PEG~2000] _x (a partir de RMN de prótons*)	PM Estimado** (kDa)
1	101 mg	2200	29	75,7
2	98 mg	2200	29	75,7
3	74,8 g	2100	29	72,8
4	137 mg	2200	29	75,7
5	1,19 g	2100	31	77,0
6	18,98 g	2100	29	72,8

* O número de PEGs é calculado a partir da RMN de prótons. Para o lote 1: No. de PEGs = Número (integração) de prótons na região de PEG de RMN (3,4-4,2 ppm)/Número médio (média) de prótons por cadeia de PEG (CoA PEG/44 Da x 4H)

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

$$= 28,53 \text{ (aprox. 29 unidades de PEG)}$$

** Peso Molecular estimado por adição de PM de vários componentes.

Para o lote 1:

$$\text{PM total} = \text{Pm do dendrímero} + \text{Pm de TFA} + \text{Pm de PEG}$$

$$= \text{BHALys[Lys]}_{32} + 32(\text{TFA}) + 29(\text{PEG})$$

$$= 8,258 + 3,648 + 63800$$

$$= \underline{\sim 75,7 \text{ kDa}}$$

[00140] A RMN de prótons para os vários lotes de BHALys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG~2000]_{32±} é apresentada na Tabela 2:

Tabela 2. Dados de RMN de Prótons para Vários Lotes de BHALys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG~2000]_{32±}

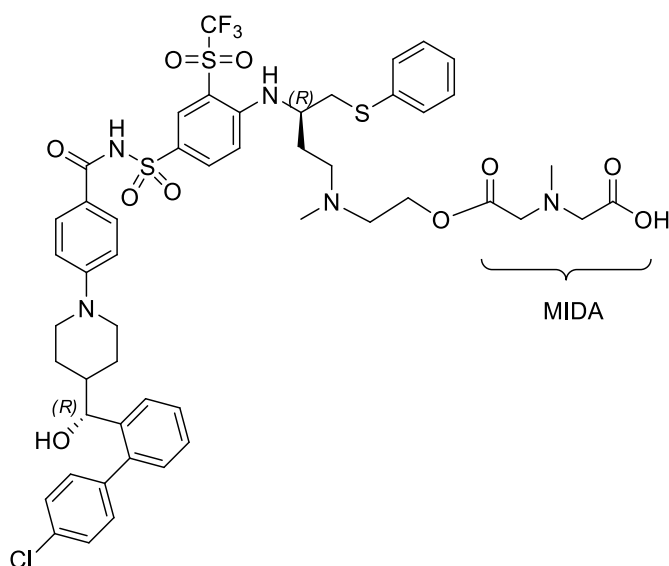
Lote	Escala	RMN de prótons de BHALys[Lys] ₃₂ [α-NH ₂ .TFA] ₃₂ [ε-PEG~2000] _x
1	101 mg	1,22-2,08 (Lys CH ₂ (β,χ,δ), 378H), 3,00-3,26 (Lys CH ₂ (α),

		129H), 3,40 (PEG-OMe, 96H), 3,45-4,18 (PEG-OCH ₂ , 5610H + Lys CH de superfície, 32H), 4,20-4,46 (Lys, CH interno, 33H), 7,24-7,48 (8H, BHA).
2	98 mg	Como para o lote 1
3	74,8 g	1,02-2,18 (Lys CH ₂ (β,χ,δ), 378H), 2,94-3,36 (Lys CH ₂ (α), 129H), 3,41 (PEG-OMe, 93H), 3,45-4,18 (PEG-OCH ₂ , 5432H + Lys CH de superfície, 32H), 4,18-4,50 (Lys, CH interno, 32H), 7,12-7,64 (9H, BHA).
4	137 mg	Como para o lote 1
5	1,19 g	1,02-2,16 (Lys CH ₂ (β,χ,δ), 378H), 2,93-3,36 (Lys CH ₂ (α), 129H), 3,41 (PEG-OMe, 101H), 3,45-4,18 (PEG-OCH ₂ , 5908H + Lys CH de superfície, 32H), 4,18-4,50 (Lys, CH interno, 33H), 7,21-7,54 (9H, BHA).
6	18,98 g	Como para o lote 3

2. Preparação do Composto 1: BHALys[Lys]₃₂[α-MIDA-Composto A]_{32†}[ε-PEG₂₁₀₀]_{32‡}

[00141] Nota: 32† se relaciona com o número teórico de grupos α-amino no dendrímero disponíveis para substituição por MIDA-Composto A. O número médio real de grupos MIDA-Composto A anexados a BHALys[Lys]₃₂ foi determinado experimentalmente por ¹⁹F RMN (ver Exemplo 2). 32‡ se relaciona com o número teórico de grupos ε-amino no dendrímero disponíveis para substituição por PEG₂₁₀₀. O número médio real de grupos PEG₂₁₀₀ anexados a BHALys[Lys]₃₂ foi determinado experimentalmente por ¹H RMN.

(a) *Preparação de MIDA-Composto A*



[00142] A uma suspensão magneticamente agitada do Composto A (200 mg, 0,21 mmol) em DCM (5 mL) à temperatura ambiente foram adicionados DIPEA (24 μ L, 0,14 mmol), NMM (72 μ L, 0,66 mmol) e 4-metilmorfolina-2,6-diona (33 mg, 0,26 mmol). A suspensão se dissolveu rapidamente e a mistura foi deixada a agitar à temperatura ambiente durante a noite. 4-Metilmorfolina-2,6-diona adicional foi adicionada ao longo das 24 horas seguintes até a reação ter sido considerada >80% completa por HPLC. Os voláteis foram depois removidos *in vacuo* e o resíduo purificado por HPLC preparativa (BEH 300 XBridge C18, 5 μ M, 30 x 150 mm da Waters), ACN/água a 50-70% (5-40 min), TFA a 0,1%, TR = 23 min) proporcionando 190 mg (84%) de produto como um sólido branco. LCMS (C18, gradiente: ACN/H₂O a 50-60% (1-10 min), ACN a 60% (10-11 min), ACN a 60-50% (11-13 min), ACN a 50% (13-15 min), ácido fórmico a 0,1%, 0,4 mL/min, R_f (min) = 2,55. ESI (+ve) observado [M + H]⁺ = 1074. calculado para C₅₀H₅₅ClF₃N₅O₁₀S₃ = 1073,28 Da. ¹H-RMN (300MHz, CD₃OD) δ (ppm): 0,86-1,07 (m, 1H), 1,08-1,37 (m, 2H), 1,72-1,88 (m, 1H), 1,96-2,09 (m, 1H), 2,10-2,24 (m, 1H), 2,24-2,38 (m, 1H), 2,66 (t, J = 12,3 Hz, 1H), 2,79 (t, J = 12,6 Hz, 1H), 2,92 (s, 3H), 3,00 (s, 3H), 3,14-3,28 (m, 2H), 3,33-3,43 (m, 2H), 3,47-3,57 (m, 2H), 3,72 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 3,89 (d, J = 12,6 Hz, 1H), 4,03-4,15 (m, 1H), 4,06 (s, 2H),

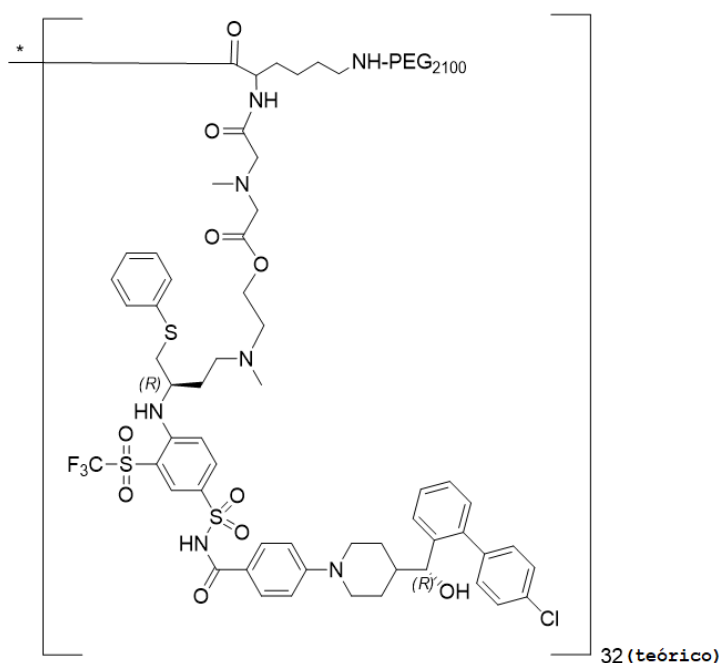
4,19 (s, 2H), 4,43 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 4,54-4,64 (m, 2H), 6,88 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 6,93 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 7,01 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,09-7,25 (m, 4H), 7,26-7,47 (m, 8H), 7,61 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,68 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 8,07 (dd, $J = 9,3, 2,1$ Hz, 1H), 8,31 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H).

Método alternativo de preparação

[00143] O composto A (28,00 g, $2,96 \times 10^{-2}$ mol) e 4-metilmorfolina-2,6-diona (7,24 g, $5,33 \times 10^{-2}$ mol, 1,80 equiv.) foram carregados em um vaso de reação de 3 tubuladuras com uma sonda de temperatura interna e funil de carga equalizador de pressão, sob uma atmosfera de N_2 . DCM (250 mL, 9 vol.) foi introduzido, e a suspensão resultante foi resfriada até 0°C . TEA (6,25 mL, $4,44 \times 10^{-2}$ mol., 1,5 equiv.) em DCM (50 mL, 1,8 vol.) foi adicionada gota a gota ao longo de um período de 10 minutos enquanto se mantinha a temperatura a 0°C . Controles da reação em processo foram feitos a cada hora. A reação foi considerada completa quando o Composto A era $<10\%$ por área de pico (tipicamente 4,5 h após o final da adição). A mistura reacional foi diluída com DCM (1,40 L, 50 vol.) e lavada duas vezes com Na_2CO_3 aq. a 1,6 M (1,60 L, 50 vol.). A camada orgânica foi seca sobre $MgSO_4$ (90 g, 5% p/v), filtrada através de um funil de vidro sinterizado e lavada com DCM (100 mL, 5 vol.) originando um sólido esbranquiçado após concentração *in vacuo* (0,2 bar, 30°C) (33,07 g, rendimento de 95%, 90,6% por HPLC).

(b) *Preparação de BHALys[Lys]₃₂[α -MIDA-Composto A]₃₂[ϵ -PEG2100]₃₂*

Método de preparação a pequena escala



* = BHALys[Lys]16

[00144] A uma mistura magneticamente agitada de Composto A-MIDA (730 mg, 0,68 mmol) e PyBOP (353 mg, 0,68 mmol) em DMF (10 mL) à temperatura ambiente foi adicionada uma mistura de BHALys[Lys]₃₂[α-NH₂TFA]₃₂[ε-PEG₂₁₀₀]₃₁ (934 mg, 12,1 μmol, Lote 5 do Exemplo 4) e NMM (255 μL, 2,32 mmol), também em DMF (10 mL). Após 16 horas à temperatura ambiente, os voláteis foram removidos e o resíduo purificado por cromatografia por exclusão de tamanhos (sephadex, LH20, ACN). As porções apropriadas, como avaliado por HPLC, foram combinadas e concentradas. O resíduo foi depois absorvido em água, filtrado (0,22 μm) e liofilizado, proporcionando 1,19 g (92%) do material desejado como um sólido rosa-pálido. HPLC (C8 Xbridge, 3 x 100 mm, gradiente: ACN/H₂O a 42-50%) (1-7 min), ACN a 50-80% (7-8 min), ACN a 80% (8-11 min), ACN a 80-42% (11-12 min), ACN a 42% (12-15 min), 214 nm, formato de amônio a 10 mM) R_f (min) = 10,80. ¹H-RMN (300MHz, CD₃OD) δ (ppm): 0,45-1,92 (m, 565H), 2,08-2,78 (m, 228H), 2,79-3,00 (m, 96H), 3,01-3,28 (m, 180H), 3,35 (s, 180H), 3,46-4,20 (m, 6164H), 4,20-4,68 (m, 139H), 6,40-8,52 (m, 680H).

Método (alternativo) de preparação a larga escala

[00145] DMF (225 mL, 16,5 vol.) foi adicionado a BHALys[Lys]₃₂[α -NH₂TFA]₃₂[ϵ -PEG₂₁₀₀]₂₉ (13,49 g, $1,72 \times 10^{-4}$ mol, Lote 6 do Exemplo 4) e Composto A-MIDA (8,50 g, $6,87 \times 10^{-3}$ mol, 40,2 equiv.) sob uma atmosfera de N₂. NMM (3,60 mL, $3,30 \times 10^{-2}$ mol, 192 equiv.) foi introduzido, e a mistura reacional foi aquecida até 30-35 °C para ajudar na dissolução (aproximadamente 5 minutos). A mistura foi depois resfriada de volta até 20°C, e PyBOP (4,13 g, $7,56 \times 10^{-3}$ mol, 44 equiv.) foi introduzido em duas porções iguais. A monitorização do controle do processo revelou completção da reação após 2 h. A mistura reacional foi diluída com ACN (225 mL, 16,5 volumes), filtrada através de um funil de sinterização e sujeita a 16 diavolumes (constantes) (200 mL, ACN) de ultrafiltração (Millipore Pellicon 3 da Merck, cassete de 0,11 m², 10 kDa), mantendo uma pressão transmembranar (TMP) de 25 PSI e 44 L/m²/hora (LMH). A concentração sob pressão reduzida (40 °C, 0,2 bar; 60 minutos), e secagem à temperatura ambiente durante 16 h adicionais, originou 23,5 g de material purificado como um xarope laranja-claro. O xarope foi dissolvido em THF (235 mL, 10 volumes) a 35-40°C (10 minutos) e filtrado através de uma membrana de PTFE de 0,45 microns, de 47 mm (Merck-Millipore Omnipore). O filtrado foi concentrado até metade de seu volume original (100 mL, 4,3 volumes) e carregado em um funil de carga equalizador de pressão após regresso até à temperatura ambiente.

[00146] MTBE (400 mL, 19,5 volumes) foi carregado em um BFR de 3 tubuladuras equipado com uma sonda de temperatura interna e resfriado até 0°C com a ajuda de um banho de gelo externo sob uma atmosfera de N₂. Após alcançar 0°C, a adição de dendrímero começou durando 15 minutos (temperatura interna máx. 5°C), enquanto a agitação continuou durante 45 minutos (a 0-5°C) para permitir o

amadurecimento do precipitado. A transferência da mistura resultante para um filtro de vácuo Buchner (diâmetro de 160 mm) sob N₂ originou o primeiro bolo úmido no espaço de 15 minutos. O bolo de filtração foi lavado duas vezes com 5 vol. de MTBE (100 mL por lavagem) e levado até à secura (sob N₂) durando um total de 15 minutos. O bolo de filtração foi transferido para um forno de vácuo onde a secagem teve lugar a (25°C, 0,2 bar) até ter sido alcançada massa constante (48 h), originando pó branco de fluxo livre em 18,98 g (rendimento de 102%). HPLC (C8 Aeris, 2,1 x 100 mm da Phenomenix, gradiente: ACN a 5% (0-1 min), ACN/H₂O a 5-45% (1-2 min), ACN a 45-60% (2-8 min), ACN a 60% (8-10 min), ACN a 60-90% (10-10,1 min), ACN a 90% (10,1-12 min), ACN a 90-5% (12-15 min), ACN a 5% (15-20 min), 272 nm, formato de amônio a 10 mM) R_f (min) = 14,94. ¹H-RMN (300MHz, CD₃OD) δ (ppm): 0,31-2,84 (m, 953H), 2,86-3,27 (m, 211H), 3,35 (s, 109H), 3,37-4,23 (m, 5734H), 4,24-4,64 (m, 95H), 6,26-8,41 (m, 632H). ¹⁹F-RMN (300MHz, DMSO-d₆) δ: -107,1 ppm (3,64 mg, FBA, integração do conjunto até 100), -79,1 ppm (31,2 mg de dendrímero, 108,82). Isto proporciona 8,91 mg de Composto A (ou carga de 28,6%).

Exemplo 2: Carga de fármaco do composto A de dendrímeros

[00147] A carga de fármaco do Composto A nos dendrímeros preparados acima foi determinada por RMN.

[00148] % de carga de Composto A por ¹H RMN: A carga de Composto A foi estimada através de integração da região aromática (6,5-8,5 ppm), que era representativa do Composto A, em comparação com a região de PEG (3,4-4,2 ppm), que é representativa do suporte do dendrímero.

[00149] % de carga de Composto A por ¹⁹F RMN: As cargas de Composto A foram calculadas por realização de uma ¹⁹F RMN do conjugado usando um padrão interno (Ácido 4-fluorobenzoico, FBA).

Uma experiência foi tipicamente realizada por pesagem precisa de uma massa conhecida de dendrímero e FBA em um único frasco. Este foi depois absorvido em DMSO, sonicado (2 min), depois analisado por RMN (100 varrimentos, de tempo de atraso de 30 s). Os picos de FBA e dendrímero foram depois integrados e a % de Composto A calculada usando razões molares (razão molar 3:1 entre Composto (3F) e FBA (1F)).

Tabela 3. Percentagem de Carga do Composto A em Dendrímero de Lys

Composto	Escala	Carga de Composto A (%)	PM* (kDa)	No. de Composto A por dendrímero
1	Pequena Escala (1,19 g)	23,6 (¹⁹ F RMN)	99,7	25
	Larga Escala (18,98 g)	28,6 (¹⁹ F RMN)	101,6	31

* O peso molecular total pode ser estimado usando os PM estimados do suporte do dendrímero, o PM do Composto A-ligante e a % de carga de Composto A a partir de RMN, i.e., por exemplo: $PM = PM \text{ do suporte do dendrímero} - 32(PM \text{ TFA}) / (100 - \% \text{ de carga de Composto A} ((Mr \text{ de Composto A-ligante} - \text{água}) / Mr \text{ de Composto A})) / 100$

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

$$(100 - 28,2((1058 - 18)/945))/100$$

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

$$(100 - 28,2(1,10))/100$$

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

$$0,6898$$

$$= \sim 104,5 \text{ kDa}$$

Exemplo 3: Estudos de Eficácia em Rato e Camundongo

[00150] As formulações usadas nos estudos de eficácia foram preparadas como se segue:

Preparação de formulações em PBS do Composto para estudo de

eficácia de dosagem de RS4;11: As quantidades apropriadas do Composto 1 foram pesadas em um frasco volumétrico. 10 mL de Solução Salina Tamponada com Fosfato (PBS) de Dulbecco foram adicionados e as formulações foram depois agitadas até o composto se ter dissolvido inteiramente.

[00151] Formulações de Composto 1 para estudo de eficácia de SuDHL-4: O Composto 1 foi formulado em um tampão de citrato/fosfato a pH 5 diluído 1:10 com glucose a 5% e contendo Kolliphor HS-15 a 1% p/v, a concentrações até 105 mg/mL do Composto 1 (equivalente a até 30 mg/mL da concentração de Composto A).

[00152] 100 mL de tampão de citrato/fosfato de McIlvane pH 5 foram preparados. 1,02 g de mono-hidrato de ácido cítrico e 3,69 g de dodeca-hidrato dibásico de fosfato de sódio foram pesados em um frasco e 95 mL de água para injeção foram adicionados. O veículo foi agitado (ou sonicado) para se dissolver. O pH foi depois medido e ajustado até pH 5, com HCl ou NaOH a 0,1M, como requerido. O veículo foi ajustado até ao volume (100 mL) com Água para Injeção.

[00153] Este tampão de McIlvane foi usado para preparar o veículo de tampão diluído (tampão de citrato/fosfato a pH 5 diluído 1:10 com glucose a 5% e contendo Kolliphor HS-15 a 1% p/v). A quantidade requerida de tampão de citrato/fosfato de McIlvanes, equivalente a 10% do volume alvo total a ser preparado, foi adicionada a um recipiente adequado. Solução de glucose a 5% comercialmente disponível foi adicionada até aproximadamente 90% do volume alvo. Kolliphor HS-15 equivalente a 1% p/v foi adicionado e o veículo agitado para dissolver o Kolliphor HS-15. O pH foi medido e ajustado até pH $5,0 \pm 0,05$ com HCl ou NaOH a 0,1M (se requerido). O veículo foi depois ajustado até ao volume com glucose a 5%. Foi esterilizado por filtração usando um filtro de seringa com tamanho de poros de

0,22 µm, se necessário.

[00154] Para preparar a formulação de Composto 1 para a dose mais elevada (Composto A a 10 mg/mL ou equivalente do Composto 1 de 37 mg/mL), 370 mg do Exemplo 9, equivalentes a 100 mg de Composto A, foram transferidos para um recipiente adequado com um agitador magnético. Enquanto o agitador magnético estava em operação, o veículo de tampão diluído (tampão de citrato/fosfato a pH 4 que havia sido diluído 1:10 com glucose a 5% contendo Kolliphor HS-15 a 1% p/v) foi adicionado a 95% do volume alvo (9,5 mL). Agitação continuada para ajudar a dissolução, evitando a geração de espuma excessiva, até uma solução límpida ter sido formada. A formulação foi depois ajustada até ao volume (0,5 mL) com veículo de tampão diluído e o pH verificado. A formulação foi avaliada visualmente para excluir a presença de partículas. 2 e 6 mg/mL foram preparados a partir da concentração mais elevada.

[00155] As formulações de Composto 1 foram preparadas à temperatura ambiente e doseadas no espaço de 5 minutos da preparação.

Formulação de Composto A em HP-β-CD a 30% p/v

[00156] Veículo de HP-β-CD a 30% p/v foi preparado. 3 g de HP-β-CD (Roquette Kleptose, grau parenteral) foram pesados em um frasco volumétrico de 10 mL e 8 mL de WFI adicionados e agitados (ou sonicados) para dissolver. Uma vez dissolvido, o volume foi completado até 10 mL com WFI.

[00157] A quantidade apropriada de Composto A foi pesada em um frasco volumétrico de 10 mL. 8 mL de veículo de HP-β-CD a 30% p/v foram depois adicionados e a formulação agitada. MSA a 1 M foi adicionado gota a gota até o pH ter sido reduzido até cerca de 2. A formulação foi depois agitada até o composto se ter dissolvido inteiramente. O pH foi medido e ajustado até pH 4 gota a gota usando

MSA ou NaOH a 1 M. A formulação foi depois agitada para garantir que uma solução límpida (com possível névoa) ter sido obtida. O volume foi depois completado até 10 mL com veículo de HP- β -CD a 30% p/v e agitado. O pH final foi medido e registrado e a formulação filtrada através de um filtro de 0,22 μ M antes da administração. Outras forças de formulação foram preparadas por diluição do Composto A em HP- β -CD a 30% p/v com uma quantidade apropriada de veículo de HP- β -CD a 30% p/v.

[00158] Eficácia do Composto 1 em Modelo de Xenoenxerto de RS4;11: 5 x 10⁶ células RS4;11 em um volume total de 100 μ L foram inoculadas subcutaneamente no flanco direito do camundongo. Quando o volume tumoral alcançou aproximadamente ~350 mm³, os camundongos portadores de tumor foram randomizados em grupos de 4 animais e tratados com Veículo de controle (PBS) ou tratamento. O Composto 1 a 10 mg/kg do Composto com dose IV única mostrou atividade similar ou ligeiramente melhor do que 10 mg/kg IV de Composto A HP- β -CD uma vez.

Tabela 4. Sumário dos dados de inibição e regressão para o Composto 1

Número do Grupo	Tratamento	Eficácia			
		% de Inibição Dia (47)	% de Regressão Dia (47)	Valor P Dia (47)	T-C (Dias)
1	Veículo				
2	Composto A 5 mg/kg	>100	90	<0,0001	
	Composto 1 equivalente a 10 mg/kg do Composto A (macromolécula a 37 mg/kg)	>100	98	0,0085	

[00159] Quando o volume tumoral RS4;11 alcançou

aproximadamente ~400-600 mm³, grupos de 3 camundongos portadores de tumores foram tratados com uma única dose de veículo (PBS) ou Exemplo 6 I.V a 10 e 30 mg/kg. Os tumores foram coletados em diferentes pontos temporais pós-dose e processados para análise. Os resultados mostram que o ligante induz resposta apoptótica comparável como indicado por Caspase 3 clivada, as respostas alcançaram um pico às 16-28 hr pós-dose. O Composto 1 doseado a equivalente de 20 mg/kg do Composto A (78 mg/kg do Composto 1) foi ligeiramente mais eficaz do que o Composto A na formulação de HP-β-CD a 10 mg/kg semanalmente.

[00160] Adicionalmente, a morte celular (apoptose) foi medida usando PARP clivada (**Figura 3**). O composto A na formulação de HP-β-CD (ver Exemplo 2) induziu PARP clivada imediatamente pós-tratamento 1 e 3 hr, enquanto o Exemplo 1 causou morte celular máxima às 20 hr pós-dose única.

[00161] O Composto 1 intensificou a inibição do crescimento tumoral por rituximabe em Modelo de Xenoenxerto de SuDHL-4 em Camundongos SCID: O modelo de xenoenxerto de SuDHL-4 foi usado para testar a capacidade do Composto 1 de intensificar a atividade de rituximabe na inibição do crescimento tumoral. Quando os tumores cresceram até aproximadamente 175-250 mm³, os camundongos foram randomizados nos seguintes grupos:

- (1) grupo de controle com veículo;
- (2) grupo de tratamento com Composto 1 (50 mg/kg, equivalente de Composto A, Composto 1 a 185 mg/kg, i.v. uma vez por semana durante 5 semanas);
- (3) grupo com rituximabe (10 mg/kg i.p. uma vez por semana durante 5 semanas);
- (4) Composto 1 (equivalente de 10 mg/kg do Composto A, Composto 1 a 37 mg/kg) mais rituximabe;

(5) Composto 1 (equivalente de 30 mg/kg do Composto A, Composto 1 a 111 mg/kg) mais rituximabe;

(6) Composto 1 (equivalente de 50 mg/kg do Composto A, Composto 1 a 185 mg/kg) mais rituximabe;

Os tamanhos tumorais foram medidos 2 vezes por semana e calculados como: $\text{Volume Tumoral} = (A \times B^2)/2$ onde A e B são o comprimento e a largura tumorais (em mm), respectivamente.

[00162] O Composto 1 a equivalente de 50 mg/kg do Composto A (185 mg/kg de dendrímero) inibiu significativamente o crescimento tumoral em comparação com o controle de veículo. A **Tabela 5** resume os valores de inibição do crescimento tumoral (TIC) e retardamento do crescimento tumoral (T-C) calculados como % de Inibição & % de Regressão. O cálculo é baseado na média geométrica do RTV em cada grupo.

[00163] No dia específico, para cada grupo tratado, calcular o valor de Inibição pela fórmula: $\% \text{ de Inibição} = (CG - TG) \times 100 / (CG - 1)$, em que "CG" significa a média geométrica do rtv do grupo de controle e "TG" significa a Média Geométrica do Volume Tumoral Relativo (rtv) do grupo tratado. "CG" deve usar o grupo de controle correspondente do grupo tratado quando calculado. Se a Inibição > 100%, então é necessário calcular a Regressão pela fórmula: $\text{Regressão} = 1 - TG$

[00164] O valor de TIC é 40,44% para equivalente de 50 mg/kg do Composto A (Composto 1 a 185 mg/kg) e 75,27% para rituximabe a 10 mg/kg. Assim, o Composto 1 doseado a equivalente de 50 mg/kg do Composto A estava significativamente ativo em este modelo. Mais significativamente, uma combinação do Composto 1 a equivalente de 10, 30 e 50 mg/kg do Composto A com rituximabe (10 mg/kg) resultou em regressão tumoral. Adicionalmente, o tratamento de combinação resultou em regressão tumoral completa na maioria dos animais ao passo que nenhuma foi vista com os tratamentos com fármaco único.

Tabela 5. Sumário dos dados de eficácia do Composto 1 em combinação com rituximabe

	Tratamento	Eficácia			
		% de Inibição (TIC) Dia (41)	% de Regressão Dia (41)	Valor P Dia (41)	T-C (Dias)
1	Veículo				
2	Composto 1 (equivalente de 50 mg/kg do Composto A, Composto 1 a 185 mg/kg)	40,44		0,0420	
3	rituximabe (10 mg/kg)	75,27		0,0010	>16
4	rituximabe (10 mg/kg) mais Composto 1 (equivalente de 10 mg/kg do Composto A, Composto 1 a 37 mg/kg)	>100	69	0,0230	>37
5	rituximabe (10 mg/kg) mais Composto 1 equivalente de 30 mg/kg do Composto A, Composto 1 a 111 mg/kg)	>100	100	<0,0001	>37
6	rituximabe (10 mg/kg) mais Composto 1 (equivalente de 50 mg/kg do Composto A, Composto 1 a 185 mg/kg)	>100	100	<0,0001	>37

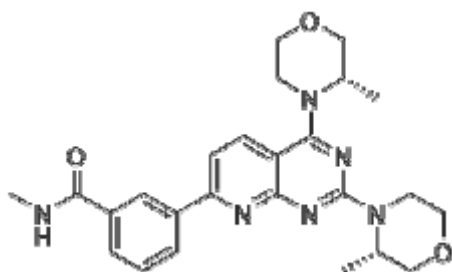
Exemplo 4: Atividade antitumoral *in vivo* de agente único e combinação em um modelo tumoral de câncer de pulmão de células pequenas humano

[00165] O Composto 1 e AZD2014 (vistusertib, um inibidor de mTOR mostrado em baixo) induziram a atividade antitumoral de agente único e combinação em camundongos portadores de tumor NCI-H1048 (**Figura 4**). Uma administração i.v. (qw) semanal do

Composto 1 a 103 mg/kg (equivalente a 30 mg/kg do Composto A) resultou em atividade antitumoral significativa de 76% de TGI ($p < 0,05$). A administração do inibidor de mTOR AZD2014 a 15 mg/kg diariamente (*qd*) resultou em atividade antitumoral significativa de 84% de TGI ($p < 0,05$). A combinação do Composto 1 com AZD2014 resultou em regressão tumoral de 91% ($p < 0,05$ em relação à atividade de agente único).

[00166] O Composto 1 foi formulado em tampão de citrato/fosfato a pH 5,0 contendo glucose a 4,5% p/v e doseado intravenosamente (i.v.) em um volume de 5 mL/kg. O AZD2014 foi formulado em metilcelulose de hidroxipropila a 0,5%/Tween 80 a 0,1% e doseado oralmente em um volume de 10 mL/kg.

[00167] 5×10^6 células tumorais NCI-H1048 foram injetadas subcutaneamente no flanco direito de camundongos fêmeas C.B-17 SCID em um volume de 0,1 mL contendo matrigel a 50%. O volume tumoral (medido com paquímetro) foi calculado usando a fórmula: comprimento (mm) x largura (mm)² x 0,52. Para estudos de eficácia, os camundongos foram randomizados com base no volume tumoral e a inibição do crescimento foi avaliada por comparação das diferenças no volume tumoral entre grupos de controle e tratados. A dosagem começou quando o volume tumoral médio alcançou aproximadamente 124 mm³.



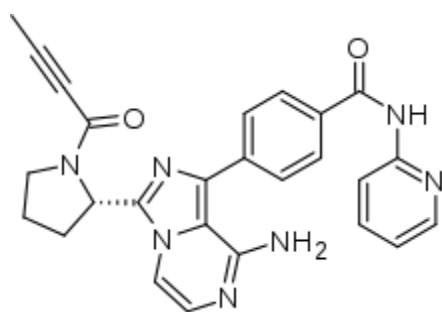
(vistusertib) AZD2014

Exemplo 5: Atividade antitumoral *in vivo* de agente único e combinação em um modelo de DLBCL humano

[00168] 5×10^6 células tumorais Ly10 foram injetadas

subcutaneamente no flanco direito de camundongos fêmeas C.B-17 SCID em um volume de 0,1 mL contendo matrigel a 50%. O Composto 1 foi formulado em tampão de citrato/fosfato a pH 5,0, diluído 1 para 10 com glucose a 5% contendo Kolliphor HS15 a 1% p/v e doseado como uma administração intravenosa (i.v.) semanal a um volume de 5 mL/kg a uma dose de 103 mg/kg (API a 30 mg/kg). O acalabrutinibe foi formulado em metilcelulose de hidroxipropila a 0,5%/Tween 80 a 0,2% e doseado duas vezes por dia (*bid*) como uma administração oral (*po*) a um volume de 10 mL/kg a uma dose de 12,5 mg/kg. Os volumes tumorais (medidos com paquímetro), peso corporal dos animais e condição tumoral foram registrados duas vezes semanalmente durante o estudo. O volume tumoral foi calculado usando a fórmula: comprimento (mm) x largura (mm)² x 0,52. No caso dos estudos de eficácia, a inibição do crescimento desde o início do tratamento foi avaliada por comparação das diferenças no volume tumoral entre grupos de controle e tratados. A dosagem começou quando o tamanho tumoral médio alcançou aproximadamente 166 mm³.

[00169] Como mostrado na **Figura 5**, a combinação do Composto 1 com acalabrutinibe resultou em atividade antitumoral *in vivo* significativa no modelo de xenoenxerto de DLBCL OCI-Ly10. A administração iv semanal de 103 mg/kg do Composto 1 (Composto a 30 mg/kg) em combinação com administração oral duas vezes por dia de 12,5 mg/kg de acalabrutinibe resultou em regressão completa em 8 de 8 camundongos portadores de tumor 10 dias após início do tratamento. As regressões completas foram mantidas mesmo após o final do tratamento (3 semanas de tratamento com 35 dias de acompanhamento). Em contraste, o agente único do Composto 1 ou acalabrutinibe mostrou atividade de agente único relativamente modesta, alcançando inibição do crescimento tumoral (TGI) de aproximadamente 64% e 58% respectivamente.



Acalabrutinibe

Exemplo 6: Investigações de Liofilização

[00170] O Composto 1 hidrolisa para liberar a porção ativa (Composto A) na presença de água e, portanto, têm de ser dados passos para minimizar a exposição à umidade e a taxa de hidrólise usando solventes alternativos, controlando a temperatura e o tempo durante a fabricação do líofilo. Vários solventes não aquosos foram investigados para uso na liofilização incluindo, por exemplo, cetona, ácido acético (glacial), acetonitrila, álcool *terc*-butílico, etanol, *n*-propanol, *n*-butanol, isopropanol, acetato de etila, carbonato de dimetila, diclorometano, cetona de metiletila, cetona de metilisobutila, 1-pentanol, acetato de metila, metanol, tetracloreto de carbono, sulfóxido de dimetila, hexafluoroacetona, clorobutanol, sulfona de dimetila, ácido acético, ciclo-hexano e ácido acético glacial.

[00171] Após investigação inicial, o ácido acético glacial e o álcool *terc*-butílico foram considerados candidatos potencialmente adequados. Estes dois solventes foram adicionalmente avaliados para determinar se ambos os compostos têm solubilidade suficiente para alcançar ≥ 100 mg/mL de concentração de solução por observações visuais. Em este método, aproximadamente 20 mg de composto foram adicionados a 200 μ L de cada solvente e a amostra foi sonicada para ajudar na dissolução.

[00172] Ambos o Composto 1 se dissolveram rapidamente em ácido acético glacial, mas não se dissolveram em álcool *terc*-butílico até sonicação prolongada. A sonicação prolongada resultou em temperatura aumentada o que pode ter também contribuído para a

dissolução de ambos os compostos em álcool *terc*-butílico. Uma vez resfriado até à temperatura ambiente, a precipitação foi observada em ambas a solução do composto em álcool *terc*-butílico indicando que mais provavelmente o efeito de aquecimento devido à sonicação prolongada resultou em solução supersaturada que não é estável à temperatura ambiente. Portanto foi concluído que ambos o Composto 1 tinham solubilidade aceitável em ácido acético glacial ao passo que a solubilidade era insuficiente em álcool *terc*-butílico para o processo de liofilização.

[00173] Vários solventes foram também avaliados em combinação com ácido acético glacial para uso no processo de liofilização, incluindo acetona, anisol, 1-butanol, 2-butanol, acetato de butila, éter de *terc*-butila e metila, DMSO, etanol, acetato de etila, éter de etila, formato de etila, ácido fórmico, heptano, acetato de isobutila, acetato de isopropila, acetato de metila, 3-metil-1-butanol, cetona de metiletila, cetona de metilisobutila, 2-metil-1-propanol, pentano, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol, acetato de propila. Nenhum destes solventes foi considerado adequado para criodessecação em combinação com ácido acético glacial. Portanto, somente o ácido acético glacial foi levado adiante para desenvolver o processo de liofilização de ambos os compostos.

[00174] Para a avaliação do processo de liofilização, o Composto 1 foi dissolvido em ácido acético glacial a concentração de aproximadamente 100 mg/mL e cheio em frascos de vidro tipo I de criodessecação de 10 mL com rolhas de liofilização e congelados até -40°C. Estas amostras foram liofilizadas usando uma temperatura de prateleira de em torno de -40°C a -35°C e uma pressão de aproximadamente 500 mTorr. A secagem secundária foi realizada por aquecimento até 20°C ao longo de 6 horas e manutenção desta temperatura durante 1 hora em torno de 500 mTorr. Os liófilos

resultantes tinham uma boa aparência por inspeção visual e foram adicionalmente testados quanto à estabilidade física e química.

[00175] Adicionalmente à estabilidade química do líofilo durante o processo de liofilização, a estabilidade química do Composto 1 em ácido acético glacial foi também testada em condições ambientais e congeladas por uso de HPLC de fase reversa com detecção de UV para determinar a concentração do Composto A nas formulações liofilizadas, de acordo com os seguintes parâmetros:

Fase Móvel A	ácido trifluoroacético a 0,07% em água		
Fase Móvel B	ácido trifluoroacético a 0,07% em acetonitrila		
Coluna	X Bridge Phenyl, 2,5 µm 30 x 3,0 mm da Waters		
Temperatura da coluna	60°C		
Caudal	1,0 ml/min		
Gradiente	Tempo	% de Fase Móvel A	% de Fase Móvel B
	0 min	60	40
	6,0	20	80
	6,5	20	80
	6,7	60	40
	8,0	60	40
Volume de injeção	4 µL		
Tempo de operação	8,0 min		
Modo/comprimento de onda do detector	UV a 332 nm		
T _r Composto A	Aproximadamente 2,5 min		
T _r Composto 1	Aproximadamente 5,0 min		

[00176] O Composto A foi usado para quantificar a quantidade livre do Composto A nas formulações liofilizadas do Composto 1. Para preparar a solução padrão contendo Composto A a 30 µg/mL, aproximadamente 15 mg do Composto A foram precisamente pesados em um frasco volumétrico de 50 mL com diluição até ao volume com dimetilacetamida. Uma quantidade de 5 mL da solução de calibração resultante foi adicionada a um balão volumétrico de 50 mL e diluída

até ao volume com dimetilacetamida.

Cálculo da % de Composto A Livre:

$$\text{Ensaio de Composto A (mg/mL)} = \frac{\text{Amostra de área do Composto A}}{\text{Área do pico média do Composto A em padrão de calibração}} \times \frac{\text{Peso (mg) do Composto A em padrão de calibração}}{\text{Volume (mL) do Composto A em padrão de calibração}} \times \frac{\text{Pureza do Composto A padrão de referência}}{100}$$

$$\% \text{ de Composto A livre} = \frac{\text{Ensaio de Composto A (mg/mL)}}{\left(\text{Concentração de amostra do Composto 1} \times \frac{\text{Amt Composto A no Composto 1}}{100} \right)} \times 100$$

[00177] Os resultados foram comparados com o Composto A (% p/p), como mostrado na **Tabela 6**.

Tabela 6: Percentagem de Composto A Livre por HPLC

Resultados analíticos da análise de lotes	Composto A Livre (%)
	0,19
Amostras liofilizadas	1,243
Solução de amostra em ácido acético glacial congelada	1,166
Solução de amostra em ácido acético glacial ambiente	4,621

[00178] A **Tabela 6** ilustra que existiu degradação significativa durante o processo de liofilização, à medida que a % de Composto A livre aumentava para ~ 1,2%. Este aumento foi equivalente à solução congelada, o que indica que a degradação ocorreu principalmente no processo de preparação da solução. A degradação na solução do Composto 1 em ácido acético glacial armazenado em condições ambiente foi muito mais elevada do que condições congeladas. Portanto foi concluído que as soluções do Composto 1 em ácido acético glacial foram estáveis durante o processo de liofilização e armazenamento em condições congeladas (-20°C).

Objetivo

[00179] O escopo dos estudos incluiu a formulação de uma solução

a granel compreendendo o Composto 1, o controle de parâmetros de processo críticos, compatibilidade de material e liofilização. Foram fabricados três lotes de laboratório à escala real de aproximadamente 160 frascos/1,77 kg por lote. O Composto 1 foi formulado como uma solução a 50 mg/mL em ácido acético glacial e cheio com um volume alvo nominal de 10,0 mL em um frasco de vidro transparente Tipo I de 50 mL para criodessecação para fabricar o produto fármaco um liófilo contendo 500 mg do Composto 1 em um frasco de 50 mL, sem outros excipientes.

Materiais

[00180] A **Tabela 7** lista os materiais usados nos estudos. Todos os materiais estavam dentro de suas datas de validade atribuídas.

Tabela 7: Lista de Materiais

Materiais	Dimensões	Vendedores
Composto 1	5 garrafas (80 g cada) 1 garrafa (50 g)	N/A
Ácido acético anidro	Garrafas de 1 L	Rathburn
Tubo de silicone curado com platina	ID de 0,125"	Saint-Gobain Performance Plastics
Tubo de silicone curado com platina	ID de 0,25"	Saint-Gobain Performance Plastics
Vedante de silicone curado com platina	ID de 3/4"	Precision Polymer Products
Nitrogênio ultrapuro	UN1066	Air-Gas
Bocal de Enchimento 316L SS	ID de 1/8"	Cole-Parmer (Overlook Industries)
Millipak 20 PVDF	tamanho de poros de 0,22 µm	Millipore
Saco de contenção 1 L TK8, BPV 2D	A-Flex 20", 1/4" x 1/4" x 1/8" Luer	ATMI/Pall Life Sciences

Equipamento

[00181] Os equipamentos listados na **Tabela 8** foram usados nos estudos, desde o desenvolvimento até os lotes técnicos à escala completa. A pesagem, mistura e elaboração foram conduzidas em um isolador purgado com nitrogênio para reduzir a umidade na atmosfera

e inibir a hidrólise do Composto A a partir do Composto 1. O vaso do composto foi controlado a $18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ para minimizar a hidrólise do Composto A a partir do Composto 1 em ácido acético durante a elaboração. Esta temperatura não pôde ser definida demasiado baixa devido ao risco de o ácido acético congelar. A filtragem e enchimento foram realizados na bancada do laboratório à temperatura ambiente.

Tabela 8: Lista de Equipamento

Equipamento
Vaso encamisado de vidro de 2 L & 3 L (Chemglass)
Barras de Agitação revestidas por Teflon, ID de 2" & 3"
Agitador magnético com visor digital da VWR
Unidade de resfriamento da VWR
Termômetro da Fisher
Isolador de Amostragem
Balança de Carga Superior
Balança analítica
Watson Marlow, Bomba de Filtro Peristáltica
Watson Marlow, Flexicon, Bomba de Enchimento Peristáltica
Lyo Star III, Criodessecador de Desenvolvimento

Fechos de Recipientes

[00182] Os frascos foram lavados à mão, enxaguados com água destilada e secos no forno a 130°C durante 6 horas. Estes foram equilibrados à temperatura ambiente antes de serem indivíduos ao enchimento. Rolhas e selos foram usados como tal sem tratamento adicional (**Tabela 9**).

Tabela 9: Fechos de Recipientes Primários

Componentes
Frasco de 50 mL, coroa de 20 mm, não estéril, vidro transparente, frasco de tipo I, Schott, p/n 1097603
Rolha de 20 mm Flurotec Iyo, West, pronta para esterilização, p/n 19700033 ou 19700041
Selo Superior <i>Flip-Off</i> Mate de 20 mm, West, Branco, p/n 54202047

Processo de Fabricação do Lote Final

[00183] A formulação compreendendo o Composto 1 foi elaborada à concentração de 50 mg/mL em ácido acético glacial de acordo com a fórmula principal na **Tabela 10**.

Cálculo

[00184] O peso final do Composto 1 foi corrigido quanto à pureza (98,9%) a partir do certificado de análise (CoA). O peso corrigido é calculado como se segue:

(a) Calcular o peso do Composto 1 requerido para o lote de acordo com a fórmula principal na **Tabela 10**.

(b) Para uma solução de 100 mL, peso do Composto 1 = 100 mL (4,75/100) = 4,75 g

(c) Correção quanto à pureza, peso do Composto 1 = 4,75 ÷ (98,9/100) = 4,8028 g.

Tabela 10: Distribuição da Fórmula Principal

Ingrediente	Concentração (mg/mL)	%p/p ¹
Composto 1	50 mg/mL	4,75
Ácido acético glacial ²	Qs até 1 mL	Qs até 100%

¹Densidade da formulação = 1,0531 g/mL @ 25°C.

²Densidade = 1,05 g/mL

Configuração do Equipamento

[00185] (a) Todo o equipamento (balança, recipiente, misturador) foi colocado dentro do isolador. Um tubo de silicone a partir do tanque de nitrogênio foi conectado à entrada do isolador. A válvula de nitrogênio foi ligada e ajustada o regulador para manter o fluxo de nitrogênio a aproximadamente 200 SCFH (pés cúbicos padrão por hora).

[00186] (b) O isolador foi purgado com gás de nitrogênio puro durante não menos do que 10 minutos e, preferencialmente, durante pelo menos 30 minutos e um fluxo constante de nitrogênio foi mantido

durante a duração da elaboração.

[00187] (c) O vaso de elaboração com camisa de vidro e o misturador foram configurados e conectados à unidade de resfriamento ao recipiente.

[00188] (c) A temperatura do refrigerador foi ajustada até 18°C e o enchimento alcançou 18°C antes de prosseguir.

Elaboração

[00189] (a) Uma quantidade de 90% do peso do lote de ácido acético glacial anidro foi distribuída no vaso de vidro.

[00190] (b) Foi iniciada uma mistura lenta entre 200 e 300 rpm.

[00191] (c) A solução de ácido acético foi resfriada até à temperatura de 18°C e a solução foi mantida a essa temperatura durante um mínimo de 5 minutos.

[00192] (d) A quantidade pré-pesada corrigida do Composto 1 foi distribuída no vaso com mistura contínua. Este ponto foi definido como tempo zero e o tempo alvo total para um lote desde a adição do Composto 1 ao ácido acético até à colocação das bandejas no criodessecador foi até 7 horas no máximo, para minimizar a geração do Composto A livre liberado.

[00193] (e) A velocidade de mistura foi aumentada como necessário para alcançar a dissolução completa do Composto 1.

[00194] (f) Foi adicionado ácido acético glacial ao peso do lote e a solução foi misturada durante 10 min adicionais.

[00195] (g) Em esta etapa, a amostra de tempo zero (2 x 10 mL) foi retirada para analisar a aparência, densidade, osmolalidade, ensaio e teste de impurezas. A amostra foi diluída até à concentração de 1 mg/mL em dimetilacetamida (DMA) conforme o método de HPLC descrito acima. Todas as amostras foram tapadas e armazenadas a -20°C.

Filtração

[00196] (a) A solução foi filtrada imediatamente após preparação.

[00197] (b) O tubo de silicone com ID de 0,25 " foi conectado a partir do vaso a 2 filtros Millipak 20 conectados em tandem. O tubo de silicone foi encaminhado através da cabeça da bomba peristáltica e conectou a saída do tubo a um saco de contenção (TK8) ou garrafa de pirex de vidro.

[00198] (c) A solução compreendendo o Composto 1 foi lentamente filtrada por bomba para o recipiente receptor descartando o volume inicial de 10 a 20 mL.

[00199] (d) uma amostra pós-filtração foi retirada para ensaio e testes de impureza. A amostra foi diluída até à concentração de 1 mg/mL em dimetilacetamida (DMA) conforme o método de HPLC descrito acima. A amostra foi tapada e armazenada a -20°C.

Enchimento do Produto

[00200] (a) A precisão do enchimento do produto foi determinada à temperatura ambiente usando a bomba peristáltica.

[00201] (b) A densidade da solução foi medida à temperatura ambiente e definiu o peso de enchimento com base em 10 mL nominais/frasco.

[00202] (c) Os frascos foram cheios no peso de enchimento alvo. Cada frasco foi parcialmente tapado e imediatamente carregado no criodessecador logo que a bandeja estivesse cheia.

[00203] (d) Dois frascos de amostra de 10 mL foram retirados no final do enchimento para ensaio e impurezas. A amostra foi extinta imediatamente com DMA (1 mg/mL) e armazenada a -20 °C.

Criodessecação

[00204] O processo final de criodessecação na Tabela 11 foi aplicado a três lotes técnicos. Os frascos de produto foram carregados à temperatura de prateleira de 5 °C. O congelamento foi conduzido a

uma taxa de rampa mais lenta de 0,2 °C/min. O ácido acético congelado foi sublimado usando uma rampa de -30 °C a -20 °C ao longo de 30 horas, depois estático a -20 °C durante 55 horas durante a secagem primária à pressão de vácuo de 100 mTorr. Qualquer solvente restante foi removido através de dessorção a 25 °C e pressão reduzida de 20 mTorr durante 12 horas de secagem secundária. Todos os frascos foram novamente cheios com nitrogênio antes de serem fechados a uma pressão de vácuo de 700 Torr e armazenados à temperatura de armazenamento recomendada de -20 °C. A pressão de enchimento novo (700 Torr) foi mantida próxima do nível atmosférico (760 Torr) para manter uma ligeira pressão de vácuo dentro do frasco de modo a assegurar a integridade do fecho do recipiente do frasco tapado. A configuração da pressão de vácuo (20 mTorr) antes do enchimento novo na **Tabela 11** se refere à pressão de vácuo em execução antes do início do processo de enchimento novo, que corresponde à pressão de vácuo de secagem secundária de 20 mTorr.

Tabela 11: Processo de Criodessecação

Fase de Carga do Produto		Ponto de Ajuste da Prateleira	5°C		
Fase de Tratamento Térmico					
Passo	Modo de Controle do Passo	Temperatura S.P. (°C)	Tempo de Rampa (Min)		Tempo de Embebição (Min)
1	Normal	-30	175		90
2	Normal	-5	50		240
3	Normal	-30	125		90
Condensador de Congelamento	Condensador SP	-50	N/A		N/A
Evacuar	Evacuar SP a 100 mT				
Fase Seca Primária					
Passo	Modo de Controle	Temperatura S.P. (°C)	Tempo de	Tempo de Embebição	Vác. Cont. SP

	do Passo		Rampa (Min)	o (Min)	(mT)
1	Normal	-30	0	60	100
2	Normal	-20	1800	3320	100
Teste de Aumento de Pressão				N/A	Não
Fase Seca Secundária					
Passo	Modo de Controle do Passo	Temperatura S.P. (°C)	Tempo de Rampa (Min)	Tempo de Embebição (Min)	Vác. Cont. SP (mT)
1	Normal	25	520	720	20
Teste de Aumento de Pressão				N/A	Não

Fase de Fecho		
Ponto de Ajuste da Prateleira	-20	°C
Vácuo Antes de Enchimento Novo	20	mT
Enchimento Novo antes do Fecho	Sim	
Modo de Fecho	Manual	

[00205] O líofilo final foi analisado quanto à aparência, ensaio, impurezas, conteúdo de água, solvente residual (ácido acético), reconstituição (tempo, aparência, pH, contagem de partículas e tamanho de partículas).

Resultados:

Lote Técnico 1

[00206] O tamanho do lote foi 1,770 kg de AZD0466. Uma retenção de cinco horas a 18°C foi conduzida antes de a solução ter sido filtrada, cheia e carregada no liofilizador para mimetizar o tempo de processamento esperado do lote de GMP (~ 23 kg). O tempo total do processo desde o início da adição do Composto 1 ao ácido acético foi seis horas e 38 minutos. O Composto 1 se dissolveu completamente no espaço de 12 minutos. A aparência do bolo lio era lisa, compacta e esbranquiçada. As **Tabelas 12-17** proporcionam a caracterização do

Lote Técnico 1.

[00207] O Lote Técnico 1 foi reconstituído em um tampão de citrato a 50 mM (pH 5) em dextrose a 5% (p/p) (mono-hidrato de ácido cítrico a 3,68 mg/mL, di-hidrato de citrato de sódio a 9,56 mg/mL e dextrose anidra a 50 mg/mL). Um diluente alternativo é um tampão de acetato a 100 mM (pH 5) em dextrose a 2,5% (p/p) (ácido acético a 1,76 mg/mL, acetato de sódio anidro a 5,78, dextrose anidra a 25 mg/mL).

Tabela 12: Dados de Reconstituição do Lote Técnico 1

No. do Frasco	Aparência	Volume (mL)	Tempo até à dissolução completa (min)	pH
1	Solução límpida, cor amarela-fraca, isenta de partículas visíveis	20	5,41	5,04
2	Solução límpida, cor amarela-fraca, isenta de partículas visíveis	20	5,23	5,04

Tabela 13: Impurezas do Lote Técnico 1 (% de área)

Amostra	% de Comp A Livre	Ensaio Comp A (% de marcador)	% de Imp. Totais	% de Imp. RRT-0,17	% de Imp. RRT-0,42	% de Imp. (AZD4320) RRT-0,53 ²	% de Imp RRT-0,58	% de Imp RRT-0,82	% de Imp RRT-0,89
T = 30 (pré-filtro)	ND	99,21	0,31					0,31	
Pós-filtro	0,24	99,86	0,59		0,10	0,21		0,28	
Final do enchimento (6 h, 14 min)	0,22	99,67	0,53		0,06	0,19		0,82	
Frasco Lio-1	0,28	106,29	0,62		0,09	0,25		0,28	
Frasco Lio-2	0,28	99,59	0,65		0,11	0,25		0,29	

Tabela 14: Umidade Residual no Lote Técnico 1

Amostra	Peso do bolo (g)	% de Água (p/p) (KF)	% Média de Água (p/p)
1	0,5230	0,0040	0,0031
2	0,5011	0,0021	

Tabela 15: Solvente Residual no Lote Técnico 1

Amostra	% de Ácido Acético (p/p) (HPLC)	% Média de Ácido Acético (p/p)
Fim da secagem primária-frasco 1	7,81	8,17
Fim da secagem primária-frasco 2	8,52	
Secagem secundária-frasco 1	0,05	0,05
Secagem secundária-frasco 2	0,04	
Frasco-lio 1	0,01	0,01
Frasco-lio 2	0,01	

Tabela 16: Contagens de Partículas do Lote Técnico 1 (USP <788>)¹

Especificação de USP (partículas/recipientes)	Partículas Médias cumulativas em 5 mL (n = 3)	Número de partículas/mL	Número de partículas/frasco
6000 partículas ≥ 10 µm	156,33	31,3	322
600 partículas ≥ 25 µm	0,67	0,1	1

¹2 frascos agrupados, 40 mL total**Tabela 17: Tamanho das Partículas do Lote Técnico 1 (ZetaSizer Nano-ZS90 da Malvern) a 25°C**

Amostra	Z-Média	PDI
	d.nm	
Bandeja Superior	18,87	0,281
	18,77	0,279

	18,57	0,280
Bandeja Inferior	18,20	0,234
	17,85	0,228
	18,57	0,280

Lote Técnico 2

[00208] Um lote de 1,681 L (1,77 kg) do Composto 1 foi elaborado, filtrado, cheio e liofilizado usando o mesmo processo e tempos como delineado acima para o Lote Técnico 1. O tempo total do processo desde a distribuição do Composto 1 até ao início da liofilização foi seis horas e 53 minutos. O tempo até à dissolução completa do Composto 1 foi no espaço de 15 minutos. O enchimento alvo para o lote foi 10,3 mL/frasco (10,85 g/frasco, densidade 1,0531). A aparência do bolo lio era suave, compacta, esbranquiçada e consistente com a aparência do Lote Técnico 1 e especificações. A **Tabela 18** resume as impurezas encontradas no Lote Técnico 2.

Tabela 18: Impurezas do Lote Técnico 2 (% de área)

Amostra	Ensaio Comp 1 (mg/mL)	Ensaio Comp 1 (% de marcador)	% de Comp A Livre	Imp. Totais (%)	% de Imp. RRT-0,42	% de Imp. RRT-054	% de Imp RRT-0,83
T = 30 (Pré-filtro)	49,5	99,1	ND	0,26			0,26
Pós-Filtro	50,2	100,5	0,09	0,39	0,05	0,09	0,25
Fim do Enchimento	50,5	101,4	0,12	0,42	0,06	0,11	0,25

Lote Técnico 3

[00209] Um tamanho de lote de 1,681 L (1,77 kg) do Composto 1 foi elaborado, filtrado, cheio e liofilizado usando o mesmo processo e tempos como delineado acima para os Lotes Técnicos 1 e 2. O tempo total do processo desde a distribuição do Composto 1 até ao início da

liofilização foi 6 horas e 47 minutos. O tempo até à dissolução completa do Composto 1 foi no espaço de 15 minutos. O enchimento alvo para o lote foi 10,3 mL/frasco (10,85 g/frasco, densidade 1,0531 g/mL). Os resultados foram quase 100% para o ensaio de todas as amostras com impurezas totais abaixo de 0,5%. A aparência do bolo liofilizado para o Lote Técnico 3 era suave, compacta e esbranquiçada consistente com a aparência dos Lotes Técnicos 1 e 2. A **Tabela 19** resume as impurezas do Lote Técnico 3.

Tabela 19: Impurezas do Lote Técnico 3 (% de área)

Amostra	Ensaio Comp 1 (mg/mL)	Ensaio Comp 1 (% de marcador)	Ensaio Comp A (mg/mL)	% de Comp A Livre	Imp. Totais (%)	% de Imp. RRT- 0,42	% de Imp. RRT- 054	% de Imp RRT- 0,83
T = 30 (Pré-filtro)	49,9	99,1	ND	ND	0,27			0,27
Pós-Filtro	49,4	99,8	0,02	0,15	0,46	0,07	0,13	0,26
Fim do Enchimento	50,0	100,1	0,02	0,15	0,47	0,08	0,13	0,26

Exemplo 7: Investigações subcutâneas usando o Composto 1

[00210] Os estudos preliminares investigando a farmacocinética do Composto 1 após administração subcutânea resultaram em biodisponibilidade diminuída do Composto A em comparação com a administração intravenosa do Composto 1. A eficácia de uma via de administração subcutânea do Composto 1 foi avaliada em modelos de xenoenxerto de camundongo RS4;11, como descrito em baixo.

[00211] 5×10^6 células tumorais RS4;11 foram injetadas subcutaneamente no flanco direito de camundongos fêmeas C.B-17 SCID em um volume de 0,1 mL contendo matrigel a 50%. Os volumes tumorais (medidos com paquímetro), peso corporal dos animais e condição tumoral foram registrados duas vezes semanalmente durante os estudos. O volume tumoral foi calculado usando a fórmula:

comprimento (mm) x largura (mm)² x 0,52. A dosagem começou quando o tamanho tumoral médio alcançou aproximadamente 500 mm³. O Composto 1 foi formulado em tampão de citrato/fosfato a pH 5 diluído 1 em 10 com glucose a 5% p/v e doseado semanalmente a 5 mL/kg. O Composto 1 foi doseado a (i) intravenosamente com Composto 1 suficiente para entregar Composto A (API) a 30 mg/kg; e subcutaneamente a duas doses com Composto 1 suficiente para entregar Composto A (API) a 30 mg/kg ou 100 mg/kg. Para os estudos de eficácia, a inibição do crescimento desde o início do tratamento foi avaliada por comparação das diferenças no volume tumoral entre grupos de controle e tratados. Os tumores e o plasma foram também coletados após uma dose única de uma coorte separada de camundongos portadores de tumor doseados com Composto 1 suficiente para entregar Composto A (API) a 30 mg/kg intravenosamente, com Composto 1 suficiente para entregar Composto A (API) a 30 mg/kg subcutaneamente; e Composto 1 suficiente para entregar 100 mg/kg subcutaneamente em vários pontos temporais e congelados. Estas amostras foram depois sujeitas a análises farmacocinéticas e farmacodinâmicas.

[00212] O Composto 1 entregando Composto A (API) a 30 mg/kg administrado por uma via intravenosa produziu regressões tumorais que foram sustentadas ao longo do decurso do estudo. Duas doses de Composto 1 entregando Composto A (API) a 30 mg/kg e 100 mg/kg administrado subcutaneamente resultaram em regressões tumorais em uma extensão similar em este modelo (**Figura 6**). Estes resultados indicam que para uma dada dose do Composto 1 a via de administração subcutânea foi tão eficaz como a via intravenosa.

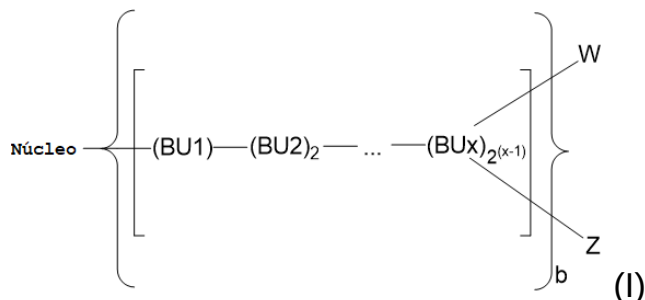
[00213] Os níveis de Composto A no plasma após administração subcutânea de Composto 1 entregando Composto A (API) a 30 mg/kg foram mais baixos do que após administração intravenosa (**Figura 7**).

Os níveis tumorais do Composto A foram inicialmente mais baixos após administração subcutânea mas alcançaram níveis similares à administração intravenosa em pontos temporais posteriores. (**Figura 8**). O Composto 1 entregando Composto A a 30 mg/kg através de administração intravenosa e entregando Composto A a 30 mg/kg e 100 mg/kg induziu subcutaneamente a indução de caspase clivada (**Figura 9**) em tumores.

[00214] Em conclusão, apesar da concentração plasmática reduzida, a entrega subcutânea demonstrou eficácia similar foi vista como a via intravenosa, estes resultados preliminares sugerem que uma via subcutânea poderia aumentar o índice terapêutico do Composto 1.

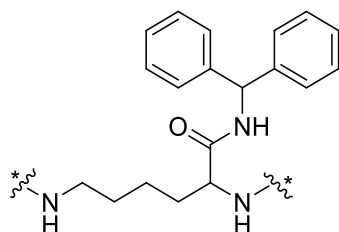
REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratamento de câncer em um indivíduo, caracterizado por compreender administração subcutânea de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I):



ou um seu sal farmacologicamente aceitável, em que:

O Núcleo é

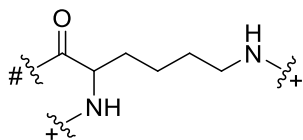


* indica anexação covalente a uma porção de carbonila de (BU1);

b é 2;

BU são unidades de construção;

BU_x são unidades de construção de geração x, em que o número total de unidades de construção na geração x do dendrímero da fórmula (I) é igual a 2^(x) e o número total de BU no dendrímero da fórmula (I) é igual a (2^x-1)b; em que BU tem a seguinte estrutura:



indica anexação covalente a uma porção de amina do Núcleo ou uma porção de amina de BU;

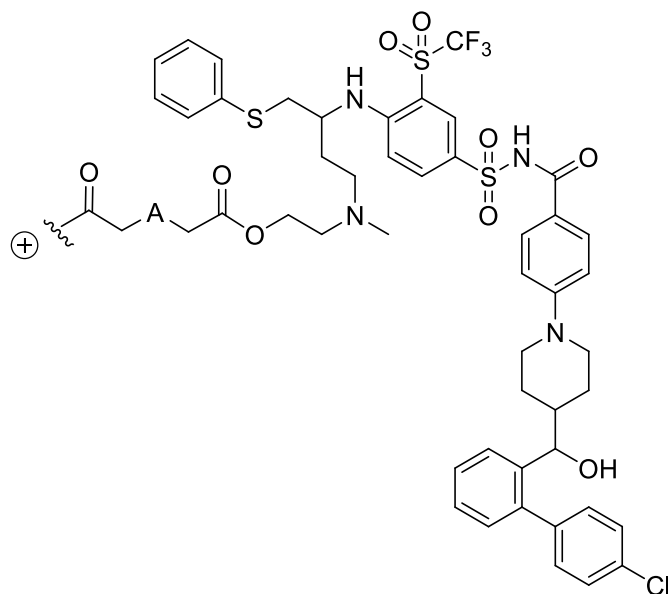
+ indica uma anexação covalente a uma porção de carbonila de BU ou uma anexação covalente a W ou Z;

W é independentemente (PM)_c ou (H)_e;

Z é independentemente (L-AA)_d ou (H)_e;

PM é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA é um ligante covalentemente anexado a um agente ativo; em que L-AA é da fórmula:



em que

A é -N(CH₃);

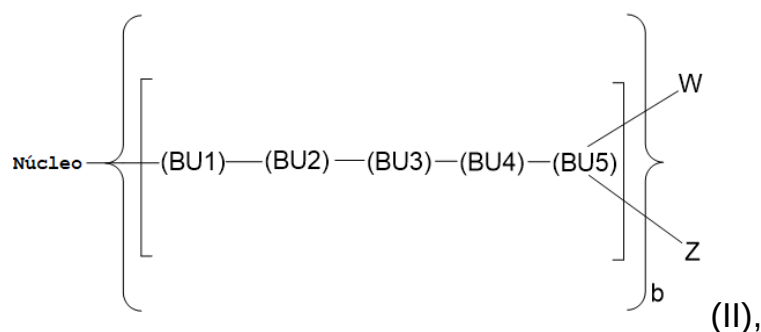
⊕ é o ponto de anexação a uma porção de amina de BUx;

desde que $(c+d) \leq (2^x)b$ e d seja ≥ 1 ; e

desde que, se $(c+d) < (2^x)b$, então quaisquer grupos W e Z restantes são (H)_e, em que e é $[(2^x)b] - (c+d)$.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por b ser 2 e x ser 5.

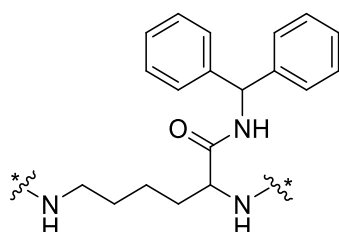
3. Método de tratamento de câncer em um indivíduo caracterizado por compreender administração subcutânea ao indivíduo de dendrímero da fórmula (II):



ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que

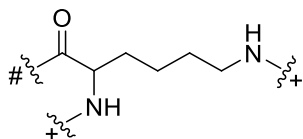
b é 2;

O Núcleo é



* indica anexação covalente a uma porção de carbonila de (BU1);

BU são unidades de construção e o número de BU é igual a 62; em que BU tem a seguinte estrutura:



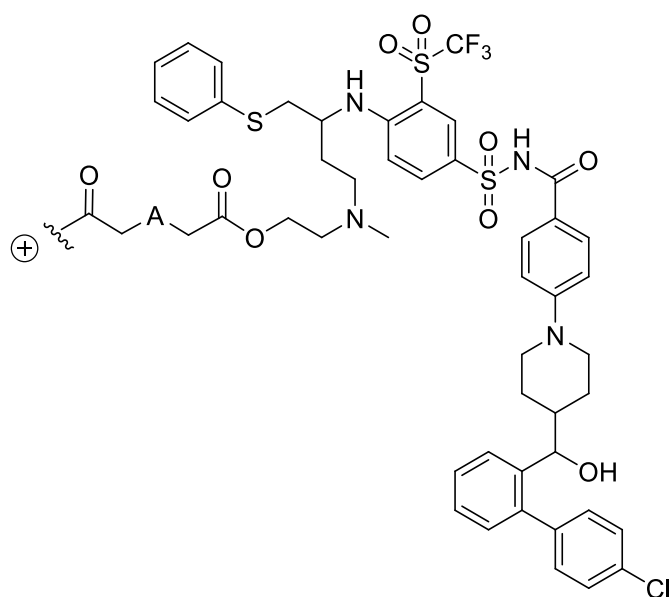
indica anexação covalente a uma porção de amina do Núcleo ou uma porção de amina de BU, e + indica uma anexação covalente a uma porção de carbonila de BU ou uma anexação covalente a W ou Z;

W é independentemente (PM)_c ou (H)_e;

Z é independentemente (L-AA)_d ou (H)_e;

PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA é um ligante covalentemente anexado a um agente ativo; em que L-AA é da fórmula:



em que

A é $-N(CH_3)$, $-O-$, $-S-$ ou $-CH_2-$;

$\oplus$ indica anexação covalente a uma porção de amina de BU5;

desde que $(c+d)$ seja ≤ 64 e d seja ≥ 1 ; e

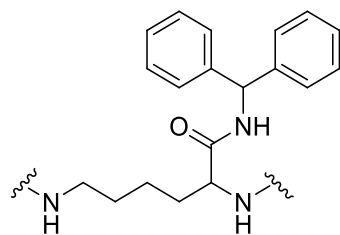
desde que, se $(c+d) < 64$, então quaisquer grupos W e Z restantes são $(H)_e$, em que e é $64-(c+d)$.

4. Método de tratamento de câncer em um indivíduo, caracterizado por compreender administração subcutânea ao indivíduo de um dendrímero da fórmula (III):

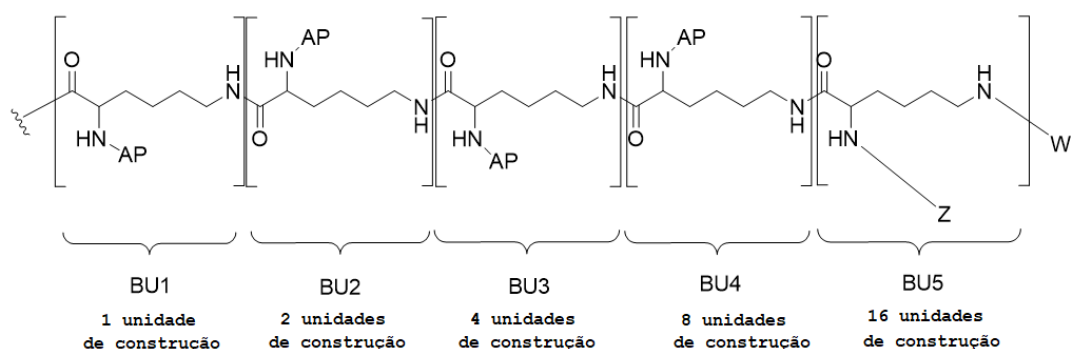
D-Núcleo-D (III)

ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que

O Núcleo é



D é



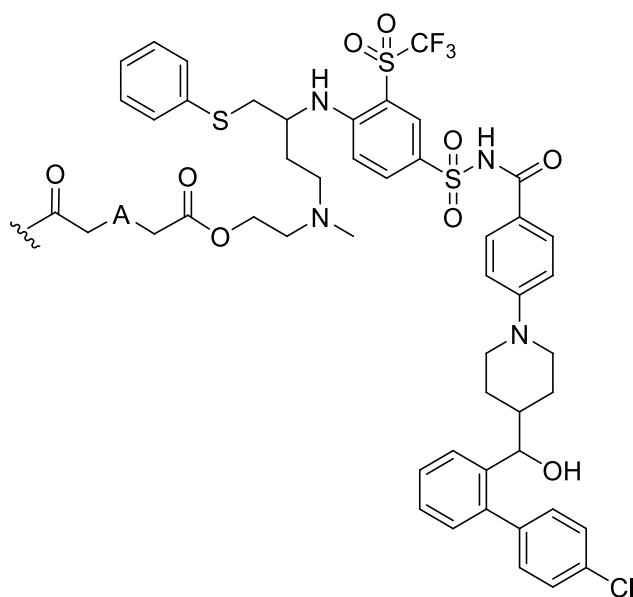
AP é um ponto de anexação a outra unidade de construção;

W é independentemente (PM)_c ou (H)_e;

Z é independentemente (L-AA)_d ou (H)_e;

PM é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀;

L-AA é um ligante covalentemente anexado a um agente ativo; em que L-AA é da fórmula:



em que

A é -N(CH₃);

desde que, se (c+d) < 64, então quaisquer grupos W e Z restantes são (H)_e, em que e é 64-(c+d); e d é ≥ 1.

5. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado por o PEG ter um peso molecular médio de entre cerca de 2000 e cerca de 2200 Da.

6. Método, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado

por o PEG ter um peso molecular médio de cerca de 2150 Da.

7. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado por c ser um número inteiro entre 25 e cerca de 32.

8. Método, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado por c ser um número inteiro entre 29 e 32.

9. Método, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado por c ser 29 ou 30.

10. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado por d ser um número inteiro entre 25 e 32.

11. Método, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado por d ser um número inteiro entre 29 e 32.

12. Método, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado por d ser 32.

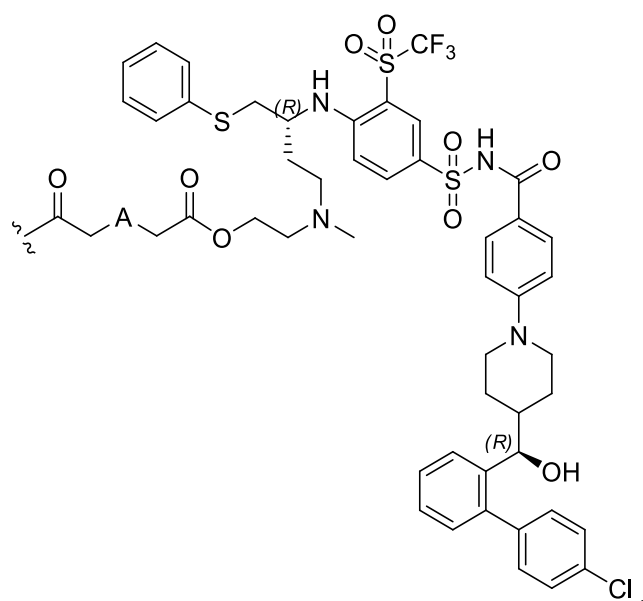
13. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado por (c+d) ser igual a um número inteiro entre 50 e 64.

14. Método, de acordo com a reivindicação 13, caracterizado por (c+d) ser igual a um número inteiro entre 58 e 64.

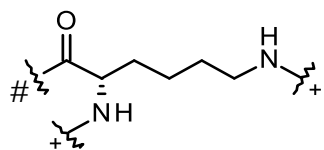
15. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado por e ser um número inteiro entre 0 e 14.

16. Método, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado por e ser um número inteiro entre 0 e 6.

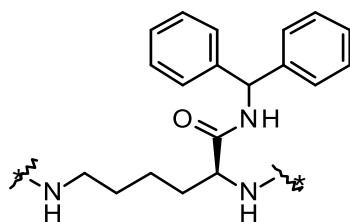
17. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado por L-AA ser



18. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 17, caracterizado por BU ser

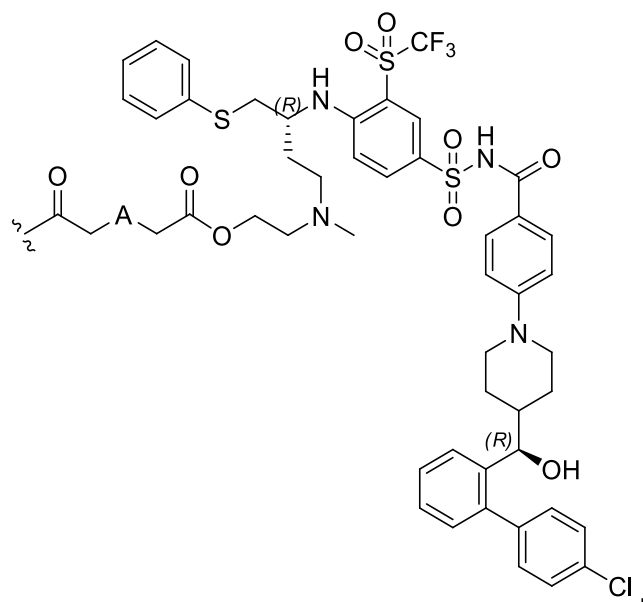


19. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, caracterizado por o Núcleo ser



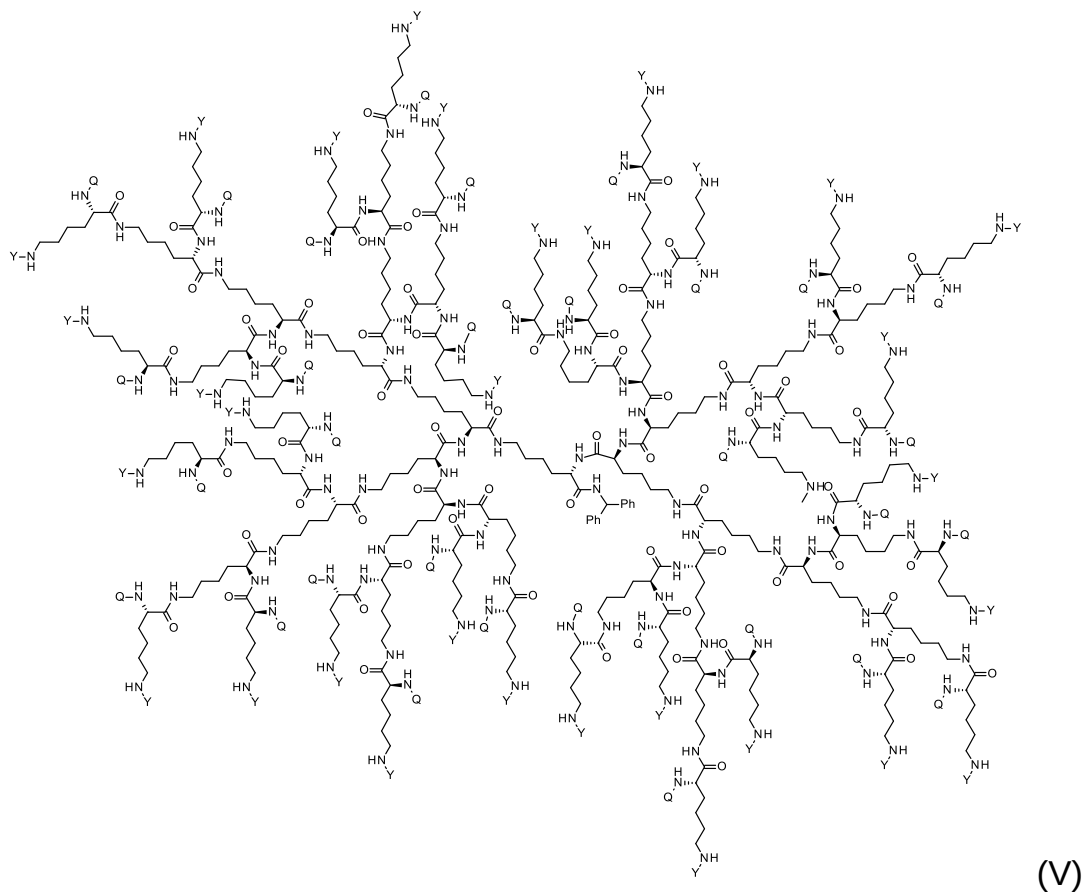
20. Método de tratamento de câncer em um indivíduo, caracterizado por compreender administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (IV):

ou um seu sal farmacologicamente aceitável, em que Y é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ ou H; Q é H ou L-AA, em que L-AA tem a estrutura:



Petição 870210012027, de 04/02/2021, pág. 129/153

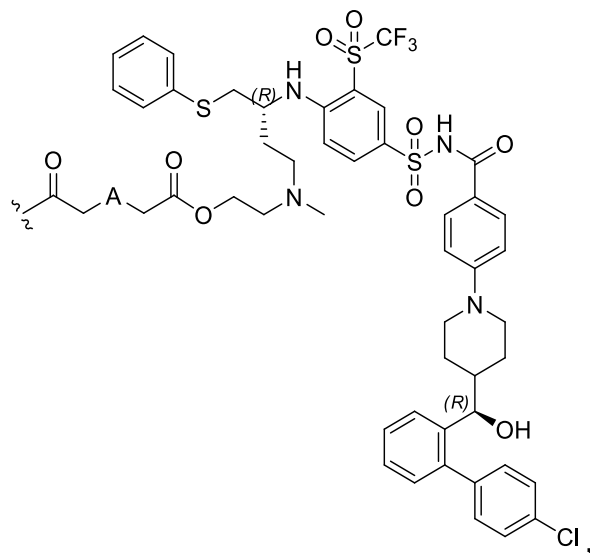
21. Método de tratamento de câncer em um indivíduo, caracterizado por compreender administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (V):



ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, em que

Y é PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ ou H;

Q é H ou L-AA, em que L-AA tem a estrutura:



A é $-N(CH_3)$, desde que, se a soma de PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ e L-AA for menor do que 64, as porções Q e Y restantes são H, e desde que pelo menos um Q seja L-AA.

22. Método, de acordo com a reivindicação 20 ou 21, caracterizado por a soma de PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ e L-AA ser um número inteiro entre 50 e 64.

23. Método, de acordo com a reivindicação 22, caracterizado por a soma de PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀ e L-AA ser um número inteiro entre 58 e 64.

24. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 23, caracterizado por o dendrímero ter entre 25 e 32 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀.

25. Método, de acordo com a reivindicação 24, caracterizado por o dendrímero ter entre 29 e 32 PEG₁₈₀₀₋₂₄₀₀.

26. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 25, caracterizado por o dendrímero ter entre 25 e 32 L-AA.

27. Método, de acordo com a reivindicação 26, caracterizado por o dendrímero ter entre 29 e 32 L-AA.

28. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 27, caracterizado por o dendrímero ter entre 0 e 14 hidrogênios nas posições Q e/ou Y.

29. Método, de acordo com a reivindicação 28, caracterizado por o dendrímero ter entre 0 e 6 hidrogênios nas posições Q e/ou Y.

30. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 29, caracterizado por o PEG ter um peso molecular médio de entre cerca de 2000 e 2200 Da.

31. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 30, caracterizado por o PEG ter um PDI de entre

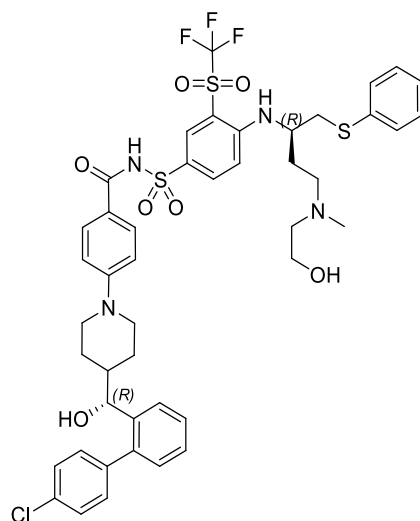
cerca de 1,00 e 1,10.

32. Método, de acordo com a reivindicação 31, caracterizado por o PEG ter um PDI de cerca de 1,05.

33. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 32, caracterizado por o dendrímero ter um peso molecular de entre cerca de 90 e 120 kDa.

34. Método, de acordo com a reivindicação 33, caracterizado por o dendrímero ter um peso molecular de entre cerca de 103 e 107 kDa.

35. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 34, caracterizado por AA ser o Composto A:



36. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 35, caracterizado por o dendrímero ser administrado como uma composição farmacêutica liofilizada reconstituída.

37. Método, de acordo com a reivindicação 36, caracterizado por a composição farmacêutica liofilizada ser liofilizada a partir de ácido acético.

38. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 ou 37, caracterizado por o pH da composição farmacêutica estar entre cerca de 4,0 e cerca de 6,0.

39. Método, de acordo com a reivindicação 38,

caracterizado por o pH da composição farmacêutica estar entre cerca de 4,8 e cerca de 5,6.

40. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 39, caracterizado por a composição farmacêutica liofilizada compreender entre cerca de 90-110% do dendrímero da fórmula (I), (II), (III), (IV) ou (V), quando avaliada contra um padrão de referência de pureza conhecida.

41. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 40, caracterizado por a pureza da composição farmacêutica ser não menor do que 85% como medido por SEC-UV.

42. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 41, caracterizado por a composição farmacêutica compreender menos do que cerca de 3% p/p de impurezas totais.

43. Método, de acordo com a reivindicação 42, caracterizado por a composição farmacêutica compreender $\leq 1,0\%$ p/p de Composto A livre.

44. Método, de acordo com a reivindicação 43, caracterizado por a composição farmacêutica compreender $\leq 0,5\%$ p/p de qualquer impureza única não especificada.

45. Método, de acordo com a reivindicação 44, caracterizado por a composição farmacêutica compreender $\leq 1,2\%$ p/p de impurezas livres totais.

46. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 45, caracterizado por a composição farmacêutica compreender não mais do que 1,5% p/p de ácido acético.

47. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 46, caracterizado por a composição farmacêutica ter um tamanho médio de partículas determinado por DLS de entre cerca de 15 e cerca de 25 d.nm.

48. Método, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 36 a 47, caracterizado por a composição farmacêutica ter um PDI como determinado por DLS de entre cerca de 0,20 e cerca de 0,30.

49. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 48, caracterizado por a composição farmacêutica compreender não mais do que cerca de 6000 particulados de mais do que ou iguais a cerca de 10 μm por recipiente de 50 mL.

50. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 49, caracterizado por a composição farmacêutica compreender não mais do que cerca de 600 particulados de mais do que ou iguais a cerca de 25 μm por recipiente de 50 mL.

51. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 50, caracterizado por a osmolalidade da composição farmacêutica estar entre cerca de 200 e cerca de 400 mOsmol/kg.

52. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 51, caracterizado por a composição farmacêutica ser não mais do que cerca de 0,06 EU/mg.

53. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 52, caracterizado por a composição farmacêutica ser preparada pelo processo compreendendo os passos de dissolução do composto da fórmula (I), (II), (III), (IV) ou (V) em ácido acético glacial para formar uma solução, criodessecação da solução e sublimação do ácido acético a pressão reduzida.

54. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 36 a 53, caracterizado por a composição farmacêutica liofilizada ser reconstituída em um diluente farmacêuticamente aceitável selecionado de um tampão de citrato ou um tampão de acetato.

55. Método, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 36 a 54, caracterizado por a composição farmacêutica liofilizada ter um ácido acético não mais do que cerca de 5%.

56. Método, de acordo com a reivindicação 55, caracterizado por o ácido acético ter um conteúdo de água de menos do que cerca de 500 ppm.

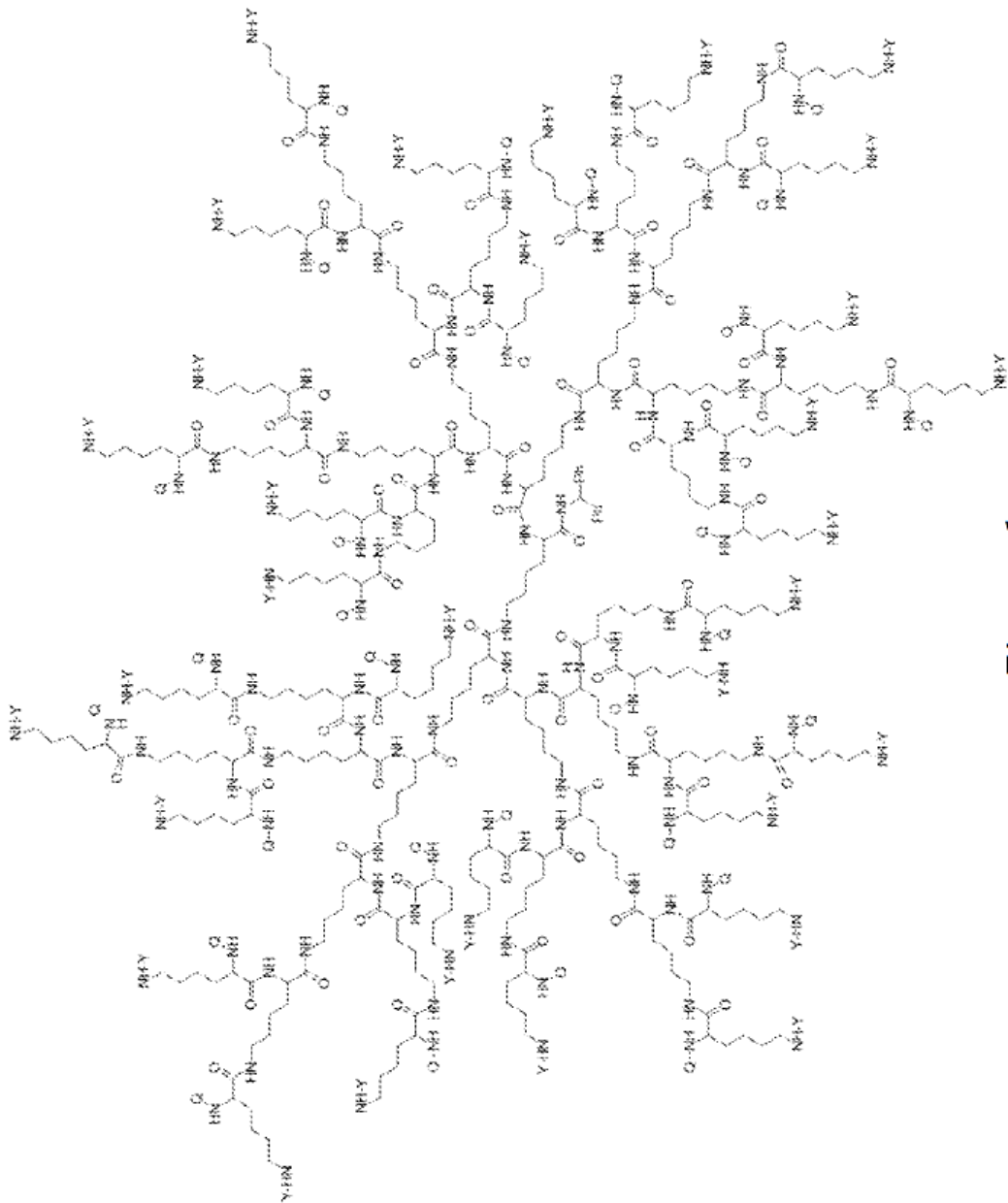


Figura 1

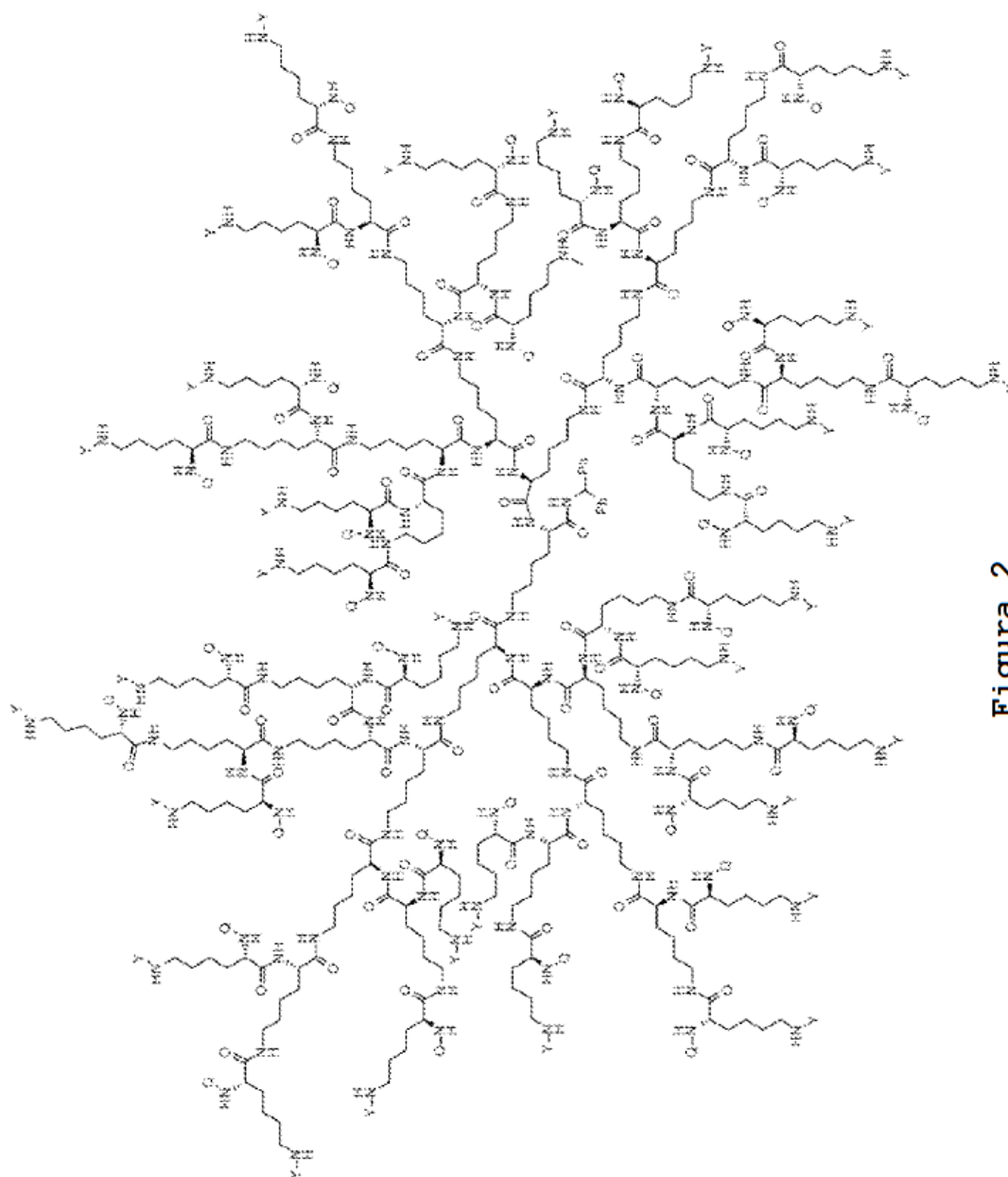


Figura 2

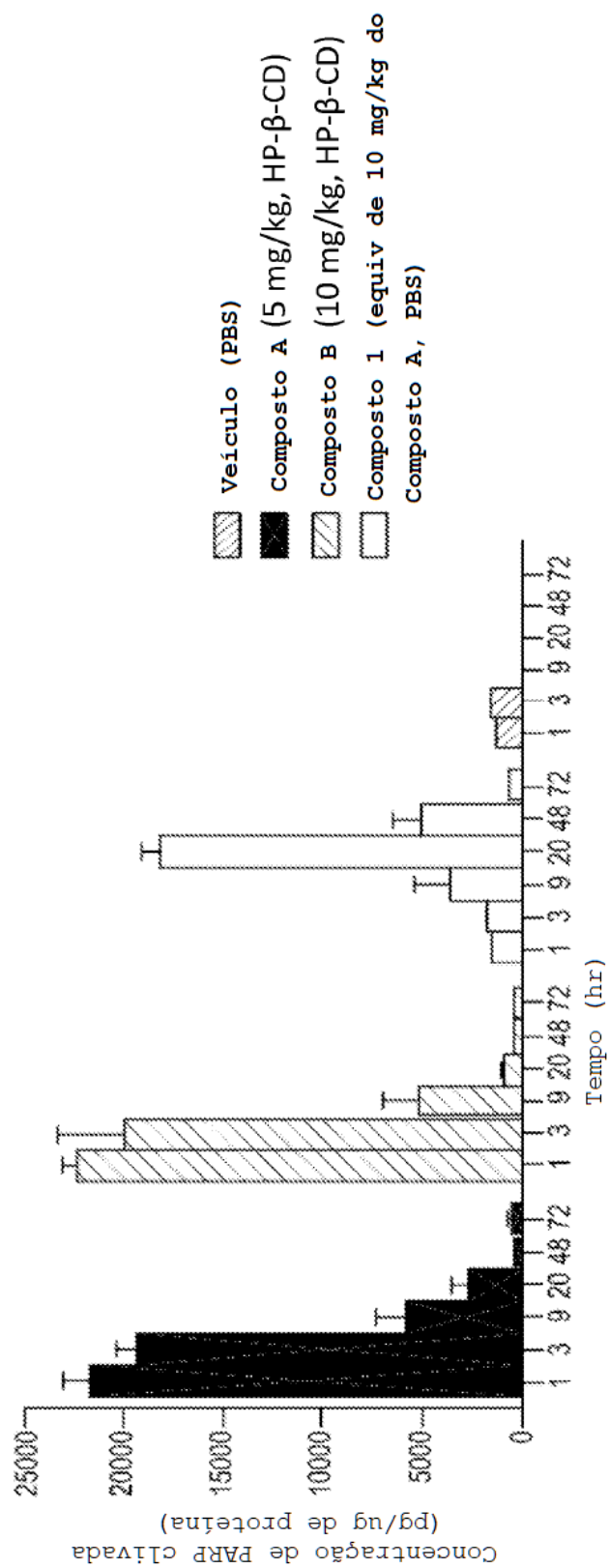


Figura 3

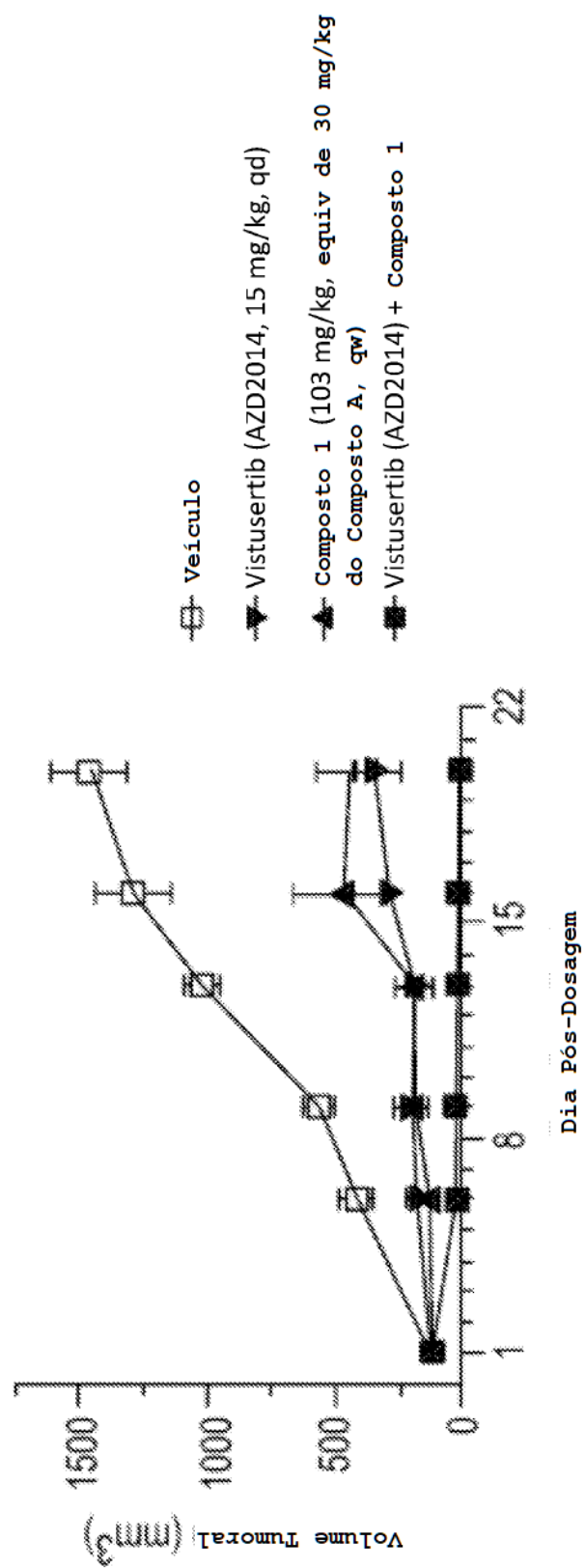


Figura 4

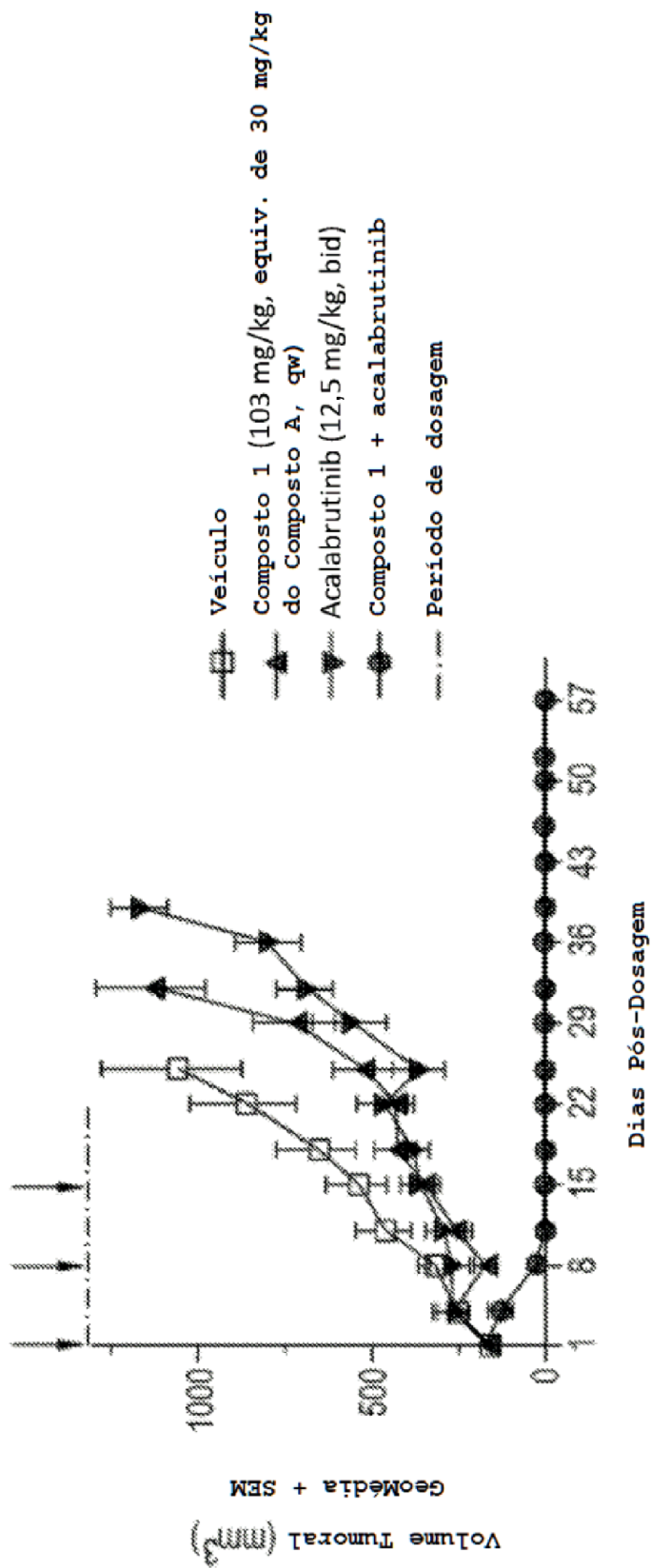


Figura 5

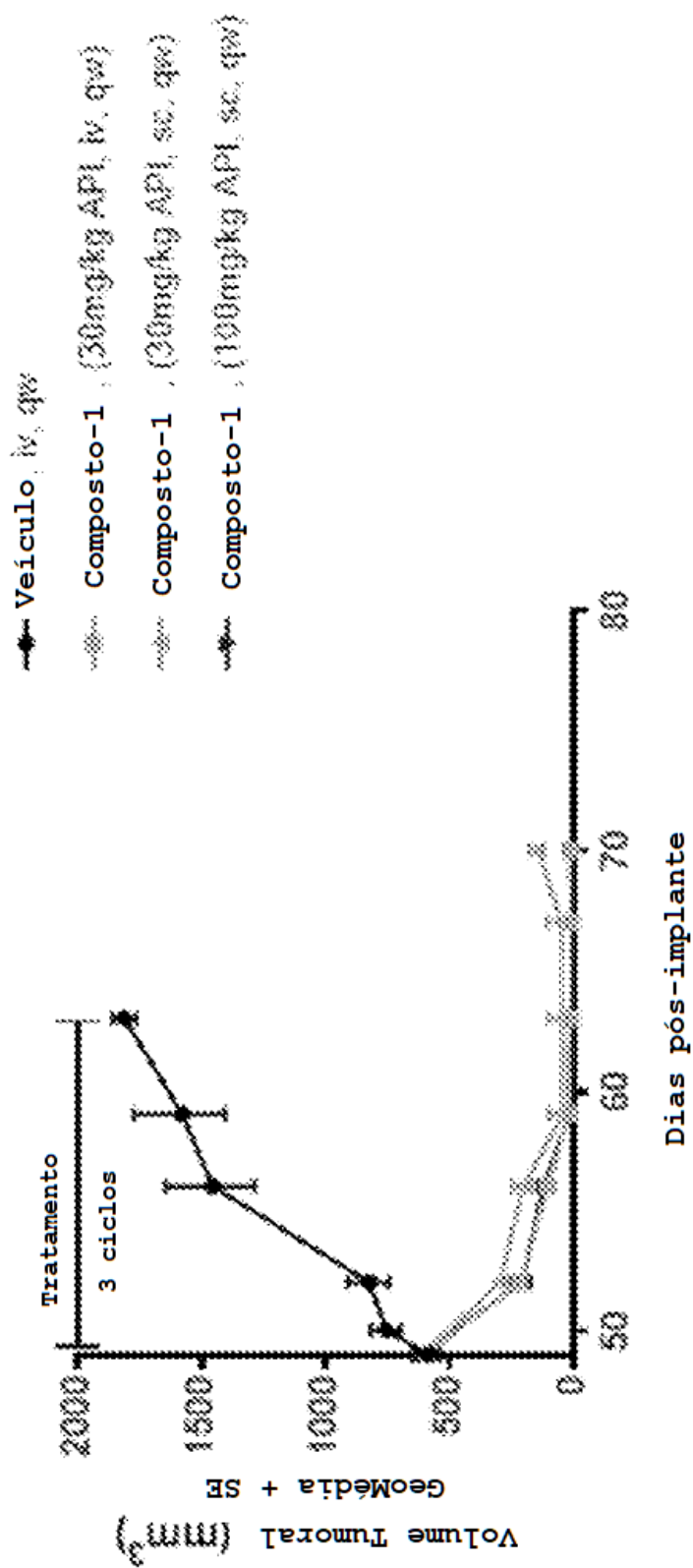


Figura 6

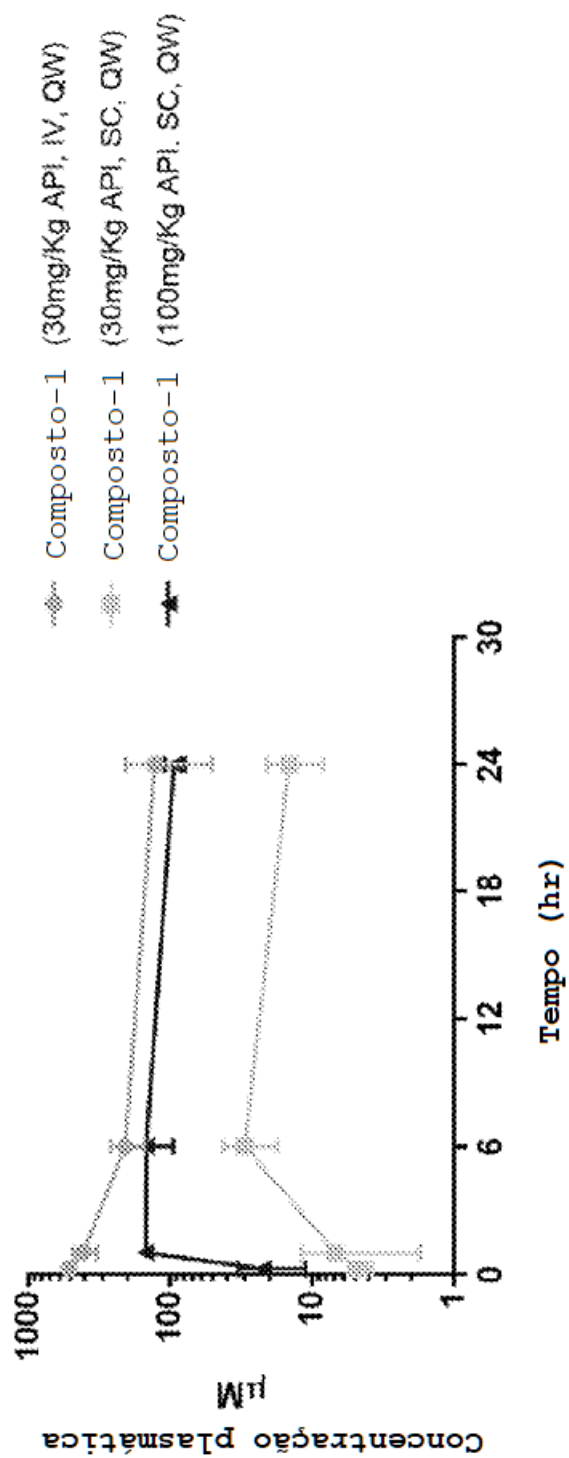


Figura 7

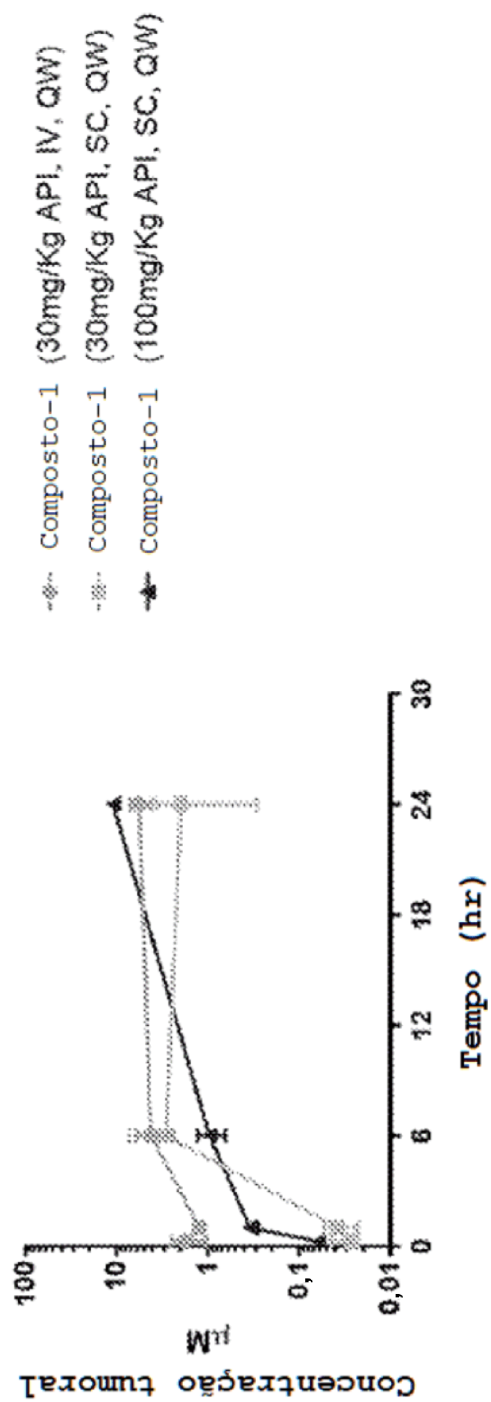


Figura 8

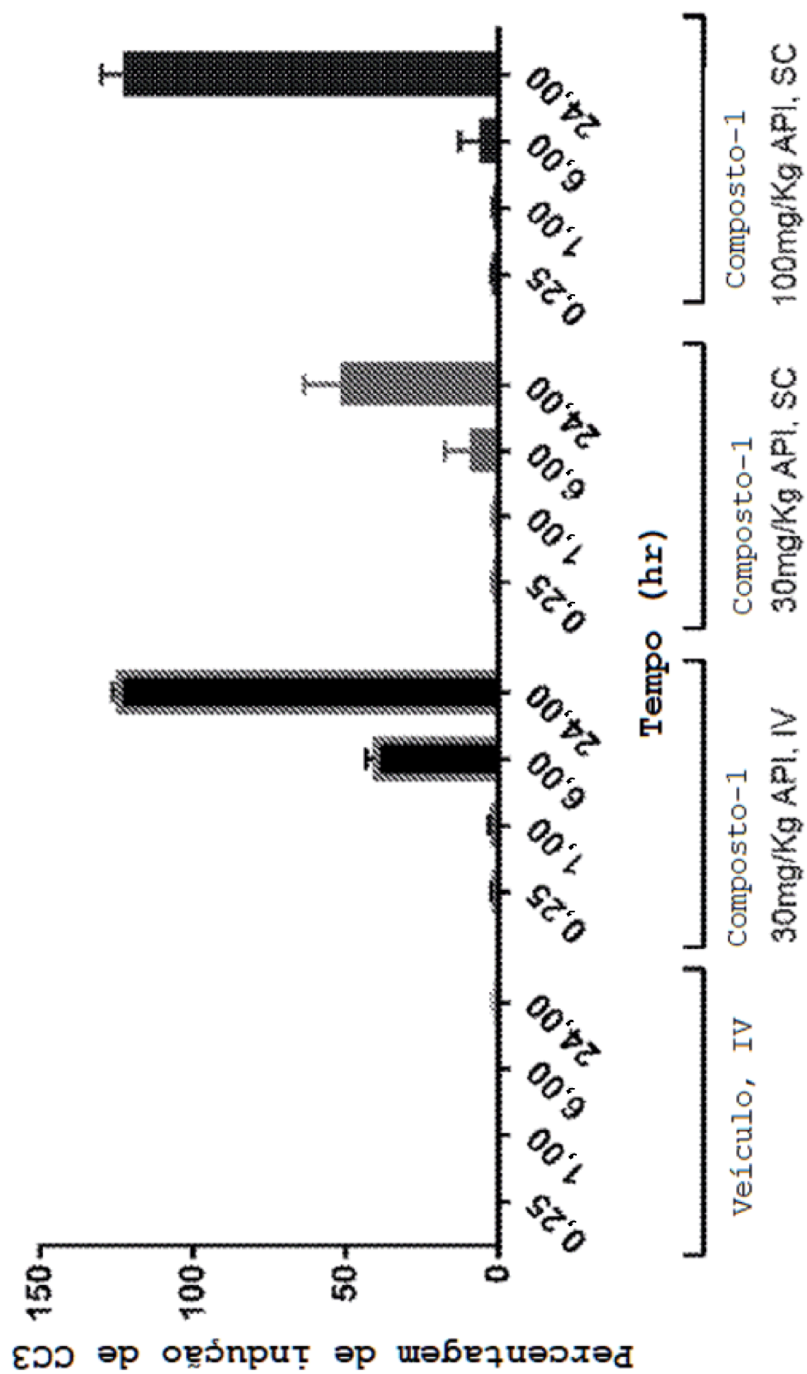
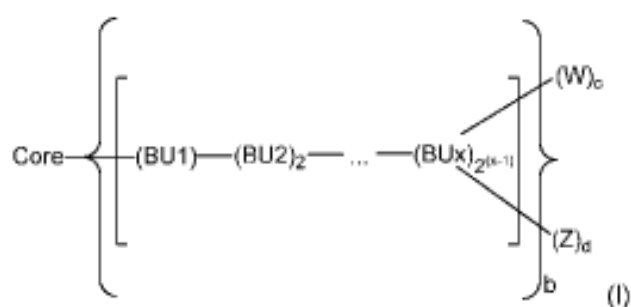


Figura 9

RESUMO

Patente de Invenção: **"CONJUGADOS PARA USO EM MÉTODOS DE TRATAMENTO DE CÂNCER"**.

A presente invenção refere-se a métodos de tratamento de câncer em um indivíduo, compreendendo administração subcutânea ao indivíduo de uma quantidade eficaz de um dendrímero da fórmula (I):



(I) e seus sais farmacologicamente aceitáveis.