

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 969 743**

51 Int. Cl.:

A61P 37/06 (2006.01)

A61K 36/31 (2006.01)

G01N 33/94 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.09.2016** **PCT/US2016/050495**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.03.2017** **WO17044453**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.09.2016** **E 16844955 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.10.2023** **EP 3347099**

54 Título: **Análogos de la ciclofosfamida para uso como inmunógenos y conjugados en un inmunoensayo para la ciclofosfamida y la ifosfamida**

30 Prioridad:

10.09.2015 US 201562216943 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.05.2024

73 Titular/es:

BECTON, DICKINSON AND COMPANY (100.0%)
1 Becton Drive
Franklin Lakes, NJ 07417, US

72 Inventor/es:

DWYER, BRIAN, P.

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 969 743 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Análogos de la ciclofosfamida para uso como inmunógenos y conjugados en un inmunoensayo para la ciclofosfamida y la ifosfamida

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

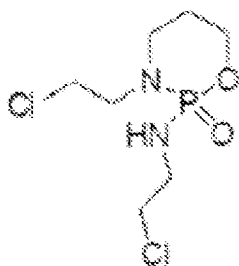
[La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad con respecto a la solicitud provisional estadounidense n.º 62/216.943, presentada el 10 de septiembre de 2015.

CAMPO

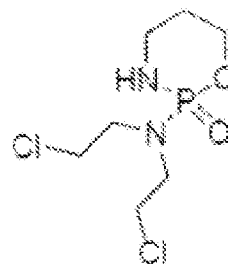
La presente solicitud hace referencia al campo de los anticuerpos que se unen a moléculas de bajo peso molecular, como la ciclofosfamida, la ifosfamida y sus análogos, y a ensayos inmunológicos para determinar la presencia y/o cuantificar la cantidad de ciclofosfamida y/o ifosfamida en una muestra. A modo de ejemplo, estos anticuerpos y/o ensayos inmunológicos se pueden utilizar para análisis medioambientales.

ANTECEDENTES

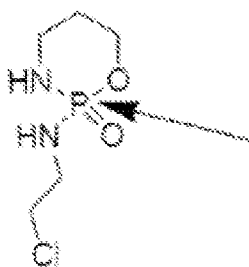
La ciclofosfamida es un profármaco de una mostaza nitrogenada alquilante, en el que la reactividad del grupo *bis*(2-cloroetil)amino es menor. Tras la oxidación *in vivo*, el anillo de seis eslabones se abre, lo que aumenta la reactividad de la mostaza nitrogenada, que luego actúa para reticular el DNA. La ciclofosfamida tiene efectos adversos graves y potencialmente mortales, como la leucemia mieloide aguda, el cáncer de vejiga, la cistitis hemorrágica y la infertilidad permanente, en especial a dosis más elevadas. La ifosfamida es también una mostaza nitrogenada alquilante que se usa en el tratamiento del cáncer. La ifosfamida puede causar encefalopatía, afecta a los nervios periféricos e interfiere con el desarrollo neurológico en niños.



Ifosfamida



Ciclofosfamida



Centro quiral

Estructura base común

Hasta la fecha, no hay un kit comercial de inmunoensayo para la detección de ciclofosfamida o ifosfamida. Además, no hay anticuerpos disponibles en el mercado que se unan a la ciclofosfamida o la ifosfamida. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar inmunoensayos para el análisis de estos compuestos citotóxicos.

En la patente WO2010/085377A2 se da a conocer una nueva clase de derivados del ácido hidroxámico de fármacos usados convencionalmente en quimioterapia, como alquilantes del DNA y antimetabolitos, en donde los derivados poseen actividades antitumorales superiores a la de los fármacos a partir de los que se obtienen. Cox et al. (1976*) demostraron que las vías metabólicas de tres derivados alquilados de la ciclofosfamida eran las mismas vías metabólicas que actúan sobre la ciclofosfamida. El análisis de los datos también mostró que la actividad antitumoral de estos derivados era similar a lo que cabría esperar al seguir la pauta metabólica de la ciclofosfamida. En la patente WO2006/020263A2 se da a conocer una nueva clase de anticuerpos, producidos para que reaccionen de manera selectiva frente a las formas estables de metabolitos específicos de la ciclofosfamida, de modo que los anticuerpos tampoco reaccionen sustancialmente con la ciclofosfamida ni con sus análogos. Estos anticuerpos son para usarlos

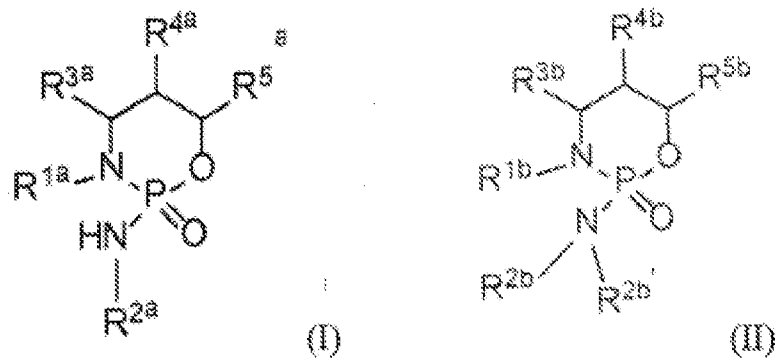
en un inmunoensayo para el análisis de dichos metabolitos de la ciclofosfamida con el fin de vigilar las concentraciones de dichos metabolitos y controlar el tratamiento en pacientes que siguen un tratamiento con ciclofosfamida.

La invención se define en las reivindicaciones. Toda divulgación o ejemplo que quede fuera del alcance de las reivindicaciones no forma parte de la invención, sino que se facilita con fines comparativos.

RESUMEN

Las realizaciones de la presente solicitud están dirigidas a una familia de análogos de la ciclofosfamida que se pueden usar como inmunógenos para generar anticuerpos que reconozcan la ciclofosfamida y/o la ifosfamida. Estos análogos de la ciclofosfamida también se pueden usar para generar conjugados que se pueden usar en un inmunoensayo para la detección de ciclofosfamida y/o ifosfamida. Cada uno de los análogos contiene los grupos funcionales con el fin de lograr la conjugación, pero conservan el anillo de seis eslabones como epítipo importante para la generación de los anticuerpos y el reconocimiento de los fármacos.

Algunas realizaciones de la presente solicitud están destinadas a análogos de la ciclofosfamida que comprenden una estructura con la Fórmula (I) o (II):



en donde R^{1a} se selecciona de entre hidrógeno o $-(CH_2)_m-X$; R^{2a} es $-(CH_2)_n-Y$; R^{1b} es $-(CH_2)_m-X$; cada uno de R^{2b} y $R^{2b'}$ se seleccionan de forma independiente de entre $-(CH_2)_k-Z$; cada R^{3a} , R^{4a} , R^{5a} , R^{3b} , R^{4b} y $*Cox$, P.J., Farmer, P.B. y Jarman, M. (1976). *The use of cyclophosphamide analogues in mechanistic studies of the metabolism of cyclophosphamide* (Uso de análogos de la ciclofosfamida en estudios sobre el mecanismo del metabolismo de la ciclofosfamida). Actas del II Simposio Internacional de Espectrometría de Masas en Bioquímica y Medicina, Instituto Mario Negri de Investigación Farmacológica, junio de 1974. 1(1): 59-71. R^{5b} se selecciona de forma independiente de entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C_1-C_6 , alquenoilo de C_2-C_6 , cicloalquilo de C_3-C_7 , heterociclo de 5-10 eslabones, arilo, aralquilo, heteroarilo de 5-10 eslabones, alcoxi de C_1-C_6 , alcoxi(C_1-C_6)alquilo de C_1-C_6 , ariloxi, halo(C_1-C_6)alquilo, halo(C_1-C_6)alcoxi, alquiltio de C_1-C_6 , ariltio, amino(C_1-C_6)alquilo, nitro, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, S-sulfonamido, N-sulfonamido, C-carboxi, O-carboxi, acilo y oxo ($=O$); X es un grupo funcional seleccionado de entre amino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino; Y es un grupo funcional seleccionado de manera independiente de entre halógeno, hidroxilamino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino; Z se selecciona de entre halógeno o hidroxilo; y cada m, n y k es de manera independiente un número entero del 2 al 10.

En algunos aspectos de la descripción, los compuestos con la Fórmula (I), R^{1a} es hidrógeno y R^{2a} es $-(CH_2)_n-Y$, en donde Y se selecciona de entre un grupo funcional que puede formar un conjugado con una proteína transportadora, por ejemplo, amino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino. En algunas de estas descripciones, Y se selecciona de entre tiol o ácido carboxílico. En algunas de estas descripciones, n es un número entero de 2.

Se da a conocer que, en algunas alternativas de los compuestos con la fórmula (I), R^{1a} es $-(CH_2)_m-X$, en donde X se selecciona de entre un grupo funcional que puede formar un conjugado con una proteína transportadora, por ejemplo, amino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino. En algunas de estas descripciones, X se selecciona de entre tiol o ácido carboxílico. En algunas de estas realizaciones, R^{2a} es $-(CH_2)_n-Y$, en donde Y se selecciona de entre halógeno (p. ej., cloro) o hidroxilo. En algunas de estas descripciones, m es un número entero de 3 y n es un número entero de 2.

En algunas realizaciones de los compuestos con la fórmula (II), R^{1b} es $-(CH_2)_m-X$, en donde X se selecciona de entre un grupo funcional que puede formar un conjugado con una proteína transportadora, por ejemplo, amino, tiol, ácido

carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino. En algunas de estas realizaciones, X se selecciona de entre tiol o ácido carboxílico. En algunas de estas realizaciones, R^{2b} y $R^{2b'}$ es $-(CH_2)_k-Z$ y Z se selecciona de entre halógeno (p. ej., cloro) o hidroxilo. En algunas de estas realizaciones, m es un número entero de 2. En algunas realizaciones, al menos una k es un número entero de 2.

En algunos aspectos, en donde la fórmula (I) se da a conocer a título informativo, al menos uno de R^{3a} , R^{4a} , R^{5a} con la fórmula (I) y al menos uno de R^{3b} , R^{4b} , R^{5b} con la fórmula (II) es hidrógeno. En algunas realizaciones adicionales, cada R^{3a} , R^{4a} , R^{5a} con la fórmula (I) y R^{3b} , R^{4b} , R^{5b} con la fórmula (II) es hidrógeno, en donde la fórmula (I) se da a conocer a título informativo.

Algunas realizaciones de la presente solicitud están destinadas a un inmunógeno que comprende un análogo de la ciclofosfamida según se describe en la presente memoria enlazado por enlace covalente a un polímero o vehículo inmunógenos a través de los grupos funcionales X o Y del compuesto análogo. En algunos tipos de realización, el polímero o vehículo inmunógeno se seleccionan de entre una proteína o polipéptido con actividad inmunitaria.

Algunas realizaciones de la presente solicitud están destinadas a un anticuerpo que se une de manera sustancialmente selectiva a la ciclofosfamida, la ifosfamida, o la ciclofosfamida y la ifosfamida. En algunas realizaciones, el anticuerpo se obtiene a partir de un inmunógeno que se describe en la presente memoria. Como tal, según algunas descripciones, el anticuerpo se une a la ciclofosfamida, la ifosfamida, o la ciclofosfamida y la ifosfamida, y además se une a un compuesto con la Fórmula (I), en el que un vehículo está unido a X o Y por enlace covalente, y en el que el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a la ciclofosfamida, la ifosfamida, o la ciclofosfamida y la ifosfamida, y además se une a un compuesto con la Fórmula (II), en el que un vehículo está unido a X por enlace covalente, en el que el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a la ciclofosfamida y el vehículo comprende KLH. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a la ifosfamida y el vehículo comprende KLH. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a la ciclofosfamida y la ifosfamida, y el vehículo comprende KLH. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende un anticuerpo policlonal.

[Algunas realizaciones de la presente solicitud están destinadas a un inmunoensayo para detectar la presencia de ciclofosfamida y/o ifosfamida en una muestra, que comprende un conjugado para ensayo, en donde el conjugado para ensayo comprende un análogo de la ciclofosfamida según se describe en la presente memoria enlazado por enlace covalente a un vehículo a través de los grupos funcionales X o Y del compuesto análogo. En algunas realizaciones, el vehículo se selecciona de entre una proteína o un polipéptido. En algunas realizaciones, el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida.

Algunas realizaciones de la presente solicitud están destinadas a un kit que comprende reactivos para detectar la presencia de ciclofosfamida y/o ifosfamida en una muestra, siendo uno de los reactivos un conjugado de un vehículo enlazado por enlace covalente a un análogo de la ciclofosfamida según se describe en la presente memoria a través de los grupos funcionales X o Y del compuesto análogo. En algunas realizaciones, el vehículo se selecciona de entre una proteína o un polipéptido. En algunas realizaciones, el kit además comprende un anticuerpo según se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a la ciclofosfamida y/o la ifosfamida según se describe en la presente memoria.

En algunas realizaciones, un análogo de la ciclofosfamida según se describe en la presente memoria además comprende un vehículo unido a X por enlace covalente, en donde el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida. En algunas realizaciones, un análogo de la ciclofosfamida según se describe en la presente memoria además comprende un vehículo unido a Y por enlace covalente, en donde el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida.

Algunas realizaciones de la presente solicitud están destinadas a un anticuerpo que se une de manera específica a un análogo de la ciclofosfamida según se describe en la presente memoria, por ejemplo, un análogo de la

ciclofosfamida que además comprende un vehículo unido a X por enlace covalente, y/o que además comprende un vehículo unido a Y según se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a una ciclofosfamida cíclica con una afinidad de unión (K_d) que es numéricamente inferior a 1/10 de la afinidad de unión a la ciclofosfamida acíclica con la fórmula (III). En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a una ciclofosfamida cíclica con una afinidad de unión (K_d) que es numéricamente inferior a 1/1000 de la afinidad de unión a la ciclofosfamida acíclica con la fórmula (III). En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende un anticuerpo policlonal.

Algunas realizaciones de la presente solicitud están destinadas a métodos para producir un anticuerpo que se une de manera específica a la ciclofosfamida. El método puede comprender la administración a un organismo hospedador, un inmunógeno según se describe en la presente memoria o, a título informativo, un compuesto con la fórmula (I) (en el que un vehículo está unido a X o Y por enlace covalente, en el que el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida), o un compuesto con la Fórmula (II) (en el que un vehículo está unido a X por enlace covalente, en el que el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida. En algunas realizaciones, el vehículo comprende KLH. El método puede comprender el aislamiento de células productoras de anticuerpos o anticuerpos a partir del organismo hospedador. El método puede comprender la selección de los anticuerpos obtenidos a partir de las células productoras de anticuerpos o los anticuerpos procedentes del organismo hospedador atendiendo a su afinidad por la ciclofosfamida. En algunas realizaciones, el organismo hospedador está constituido por un ratón, una rata, un hámster, una cobaya, un conejo, un burro o una cabra. En algunas realizaciones, el vehículo comprende KLH. En algunas realizaciones, se aíslan las células productoras de anticuerpos y los anticuerpos obtenidos a partir de las células productoras de anticuerpos se seleccionan atendiendo a su afinidad por la ciclofosfamida, y el anticuerpo que se une de manera específica a la ciclofosfamida es monoclonal. En algunas realizaciones, el método además comprende la generación de hibridomas a partir de las células productoras de anticuerpos aisladas. En algunas realizaciones, el método además comprende la selección de ácidos nucleicos procedentes de las células productoras de anticuerpos aisladas mediante expresión en fagos. En algunas realizaciones, el método además comprende la selección de anticuerpos que se unen de manera específica a la ciclofosfamida en comparación con un metabolito acíclico con la fórmula (III). En algunas realizaciones, los anticuerpos procedentes del organismo hospedador se seleccionan atendiendo a su afinidad por la ciclofosfamida, y el anticuerpo que se une de manera específica a la ciclofosfamida es policlonal.

Algunas realizaciones de la presente solicitud están destinadas a métodos para producir un anticuerpo que se une de manera específica a la ifosfamida. El método puede comprender la administración a un organismo hospedador, un inmunógeno según se describe en la presente memoria o, a título informativo, un compuesto con la fórmula (I) (en el que un vehículo está unido a X o Y por enlace covalente, en el que el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida), o un compuesto con la fórmula (II) (en el que un vehículo está unido a X por enlace covalente, en el que el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida. En algunas realizaciones, el vehículo comprende KLH. El método puede comprender el aislamiento de células productoras de anticuerpos o anticuerpos a partir del organismo hospedador. El método puede comprender la selección de los anticuerpos obtenidos a partir de las células productoras de anticuerpos o los anticuerpos procedentes del organismo hospedador atendiendo a su afinidad por la ifosfamida. En algunas realizaciones, el organismo hospedador está constituido por un ratón, una rata, un hámster, una cobaya, un conejo, un burro o una cabra. En algunas realizaciones, el vehículo comprende KLH. En algunas realizaciones, se aíslan las células productoras de anticuerpos y los anticuerpos obtenidos a partir de las células productoras de anticuerpos se seleccionan atendiendo a su afinidad por la ifosfamida, y el anticuerpo que se une de manera específica a la ifosfamida es monoclonal. En algunas realizaciones, el método además comprende la generación de hibridomas a partir de las células productoras de anticuerpos aisladas. En algunas realizaciones, el método además comprende la selección de ácidos nucleicos procedentes de las células productoras de anticuerpos aisladas mediante expresión en fagos. En algunas realizaciones, el método además comprende la selección de anticuerpos que se unen de manera específica a la ifosfamida en comparación con un metabolito acíclico con la fórmula (III). En algunas realizaciones, los anticuerpos procedentes del organismo hospedador se seleccionan atendiendo a su afinidad por la ifosfamida, y el anticuerpo que se une de manera específica a la ifosfamida es policlonal.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES

Definiciones

A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que un experto en la técnica entiende comúnmente.

- 5 En el caso de que exista una pluralidad de definiciones para un término utilizado en la presente memoria, las definiciones que se aporten en este apartado prevalecerán, a menos que se indique lo contrario. Tal y como se utiliza en la especificación y las reivindicaciones anexas, las formas singulares «un», «uno» y «una» incluyen referencias al plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. A menos que se indique lo contrario, se emplean métodos convencionales de espectroscopia de masas, NMR, HPLC, química de proteínas, bioquímica, técnicas de
- 10 DNA recombinante y farmacología. El uso de «o» o «y» significa «y/o», a menos que se indique lo contrario. Además, el uso del término «incluido» o «incluida», así como otras formas, como «incluye», «incluidos» o «incluidas», no es limitante. Tal y como se utiliza en esta especificación, ya sea en una frase de transición o en el cuerpo de la reivindicación, los términos «comprender», «comprende», «comprenden» y «comprendiendo» se deben interpretar con un significado ilimitado. Es decir, los términos se deben interpretar como sinónimos de las frases «como mínimo tiene» o «al menos incluye». Cuando se utiliza en el contexto de un proceso, el término «comprende» significa que el proceso incluye al menos los pasos mencionados, pero puede incluir pasos adicionales. Cuando se utiliza en el contexto de un compuesto, composición o dispositivo, el término «comprender» significa que el compuesto, composición o dispositivo incluyen al menos las características o componentes mencionados, pero también puede incluir características o componentes adicionales.

- 20 Los encabezados de los apartados utilizados en la presente memoria tienen solo fines organizativos y no se deben interpretar como limitativo de la materia descrita.

- 25 Tal y como se utiliza en la presente memoria, los términos «amina» o grupo «amino» hacen referencia a un grupo «-NR_AR_B» en el que R_A y R_B se seleccionan cada uno de manera independiente de entre hidrógeno, alquilo de C₁₋₆, alqueno de C₂₋₆, alquino de C₂₋₆, carbociclilo de C₃₋₇, arilo de C₆₋₁₀, heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones. Un ejemplo no limitativo incluye el amino libre (es decir, -NH₂).

- 30 El término «halógeno», tal y como se utiliza en la presente memoria, hace referencia a cualquiera de los átomos radioestables de la columna 7 de la tabla periódica de los elementos, p. ej., flúor, cloro, bromo o yodo, siendo los preferidos el flúor y el cloro.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «ácido carboxílico» hace referencia a un grupo «-(C=O)-OH».

- 35 Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «hidrazido» hace referencia a un grupo «-(C=O)-NH-NH₂».

Tal y como se usa en la presente memoria, el término «hidrazino» hace referencia a un grupo «-NH-NH₂».

- 40 Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «oximo» hace referencia a un grupo «-RC=N-OH», en el que R se selecciona de entre hidrógeno, alquilo de C₁₋₆, alqueno de C₂₋₆, alquino de C₂₋₆, carbociclilo de C₃₋₇, arilo de C₆₋₁₀, heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «tiol» hace referencia a un grupo «-SH».

- 45 Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «alquilo» hace referencia a una cadena hidrocarbonada ramificada o lineal que está completamente saturada (es decir, no contiene enlaces dobles ni triples). El grupo alquilo puede tener de 1 a 20 átomos de carbono (cuando aparezca en la presente memoria, un intervalo numérico como «de 1 a 20» hace referencia a cada número entero en el intervalo dado; p. ej., «de 1 a 20 átomos de carbono» significa que el grupo alquilo puede consistir en 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta
- 50 20 átomos de carbono inclusive, aunque la presente definición también abarca la aparición del término «alquilo» para el que no se especifica ningún intervalo numérico). El grupo alquilo también puede ser un alquilo de cadena media con 1 a 9 átomos de carbono. El grupo alquilo también podría ser un alquilo de cadena corta con 1 a 4 átomos de carbono. El grupo alquilo se puede denominar «alquilo de C₁₋₄» o denominaciones similares. A modo de ejemplo únicamente, «alquilo de C₁₋₄» indica que hay de uno a cuatro átomos de carbono en la cadena alquílica, es decir, la
- 55 cadena alquílica se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo y *t*-butilo. Entre los grupos alquilo habituales se incluyen, entre otros, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, *tert*-butilo, pentilo, hexilo y similares.

- 60 Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «alcoxi» hace referencia a la fórmula -OR, en donde R es un alquilo según se define anteriormente, como «alcoxi de C₁₋₉», incluidos, entre otros, metoxi, etoxi, *n*-propoxi, 1-metiletoxi (isopropoxi), *n*-butoxi, isobutoxi, *sec*-butoxi y *tert*-butoxi y similares.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «alquiltio» hace referencia a la fórmula -SR, en donde R es un alquilo según se define anteriormente, como «alquiltio de C₁₋₉» y similares, incluidos, entre otros, metilmercapto,

etilmercapto, *n*-propilmercapto, 1-metilmercapto (isopropilmercapto), *n*-butilmercapto, isobutilmercapto, sec-butilmercapto, *tert*-butilmercapto y similares.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «alquenilo» hace referencia a una cadena hidrocarbonada ramificada o lineal que contiene uno o más enlaces dobles. El grupo alquenilo puede tener de 2 a 20 átomos de carbono, aunque la presente definición también abarca la aparición del término «alquenilo» para el que no se especifica ningún intervalo numérico. El grupo alquenilo también puede ser un alquenilo de cadena media que tenga de 2 a 9 átomos de carbono. El grupo alquenilo también podría ser un alquenilo de cadena corta que tenga de 2 a 4 átomos de carbono. El grupo alquenilo se puede denominar «alquenilo de C₂₋₄» o denominaciones similares. A título de ejemplo únicamente, «alquenilo de C₂₋₄» indica que hay de dos a cuatro átomos de carbono en la cadena de alquenilo, es decir, la cadena de alquenilo se selecciona del grupo que consiste en etenilo, propen-1-ilo, propen-2-ilo, propen-3-ilo, buten-1-ilo, buten-2-ilo, buten-3-ilo, buten-4-ilo, 1-metilpropen-1-ilo, 2-metilpropen-1-ilo, 1-etilen-1-ilo, 2-metilpropen-3-ilo, buta-1,3-dienilo, buta-1,2,-dienilo y buta-1,2-dien-4-ilo. Entre los grupos alquenilo habituales se incluyen, entre otros, etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo y hexenilo, y similares.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «alquinilo» hace referencia a una cadena hidrocarbonada ramificada o lineal que contiene uno o más enlaces triples. El grupo alquinilo puede tener de 2 a 20 átomos de carbono, aunque la presente definición también abarca la aparición del término «alquinilo» para el que no se especifica ningún intervalo numérico. El grupo alquinilo también puede ser un alquinilo de cadena media que tenga de 2 a 9 átomos de carbono. El grupo alquinilo también podría ser un alquinilo de cadena corta que tenga de 2 a 4 átomos de carbono. El grupo alquinilo se puede denominar «alquinilo de C₂₋₄» o designaciones similares. A título de ejemplo únicamente, «alquinilo de C₂₋₄» indica que hay de dos a cuatro átomos de carbono en la cadena de alquinilo, es decir, la cadena de alquinilo se selecciona del grupo que consiste en etinilo, propin-1-ilo, propin-2-ilo, butin-1-ilo, butin-3-ilo, butin-4-ilo y 2-butinilo. Entre los grupos alquinilo habituales se incluyen, entre otros, etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo y hexinilo, y similares.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «arilo» hace referencia a un anillo aromático o sistema anular (es decir, dos o más anillos fusionados que comparten dos átomos de carbono adyacentes) que contienen solo carbono en el esqueleto del anillo. Cuando el arilo es un sistema anular, cada uno de los anillos en el sistema es aromático. El grupo arilo puede tener de 6 a 18 átomos de carbono, aunque la presente definición también abarca la aparición del término «arilo» para el que no se especifica ningún intervalo numérico. En algunas realizaciones, el grupo arilo tiene de 6 a 10 átomos de carbono. El grupo arilo se puede designar como «arilo de C₆₋₁₀», «arilo de C₆ o C₁₀» o designaciones similares. Algunos ejemplos de grupos arilo incluyen, entre otros, fenilo, naftilo, azuleno y antraceno.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, los términos «ariloxi» y «ariltio» hacen referencia a RO- y RS-, en donde R es un arilo según se define anteriormente, como «ariloxi de C₆₋₁₀» o «ariltio de C₆₋₁₀» y similares, incluido, entre otros, feniloxi.

Un «aralquilo» o «arilalquilo» es un grupo arilo conectado, como sustituyente, a través de un grupo alquileo, como «aralquilo de C₇₋₁₄» y similares, incluidos, entre otros, bencilo, 2-feniletilo, 3-fenilpropilo y naftilalquilo. En algunos casos, el grupo alquileo es un grupo alquileo de cadena corta (es decir, un grupo alquileo de C₁₋₄).

Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «heteroarilo» hace referencia a un anillo aromático o sistema anular (es decir, dos o más anillos fusionados que comparten dos átomos adyacentes) que contienen uno o más heteroátomos, es decir, un elemento distinto del carbono, incluidos, entre otros, el nitrógeno, el oxígeno y el azufre, en el esqueleto del anillo. Cuando el heteroarilo es un sistema anular, cada uno de los anillos en el sistema es aromático. El grupo heteroarilo puede tener 5-18 eslabones en el anillo (es decir, el número de átomos que componen el esqueleto del anillo, incluidos los átomos de carbono y los heteroátomos), aunque la presente definición también abarca la aparición del término «heteroarilo» para el que no se especifica ningún intervalo numérico. En algunas realizaciones, el grupo heteroarilo tiene de 5 a 10 eslabones en el anillo, o de 5 a 7 eslabones en el anillo. El grupo heteroarilo se puede designar como «heteroarilo de 5-7 eslabones», «heteroarilo de 5-10 eslabones» o designaciones similares. Entre los ejemplos de anillos heteroarílicos se incluyen, entre otros, furilo, tienilo, ftalazinilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, triazolilo, tiadiazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, benzimidazolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, indolilo, isoindolilo y benzotienilo.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «cicloalquilo» hace referencia a un anillo carbocíclico o sistema anular completamente saturados. Algunos ejemplos son el ciclopropilo, el ciclobutilo, el ciclopentilo y el ciclohexilo.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, por «heterociclilo» se entiende un anillo cíclico o sistema anular alifáticos que contienen al menos un heteroátomo en el esqueleto del anillo. Los heterociclilos pueden estar fusionados, conectados por medio de un puente o conectados a través de un átomo espiránico. Los heterociclilos pueden presentar cualquier grado de saturación, siempre que al menos uno de los anillos del sistema anular no sea aromático. En el sistema anular, los heteroátomos pueden estar presentes en un anillo alifático o en un anillo aromático. El grupo heterociclilo puede tener de 3 a 20 eslabones en el anillo (es decir, el número de átomos que componen el esqueleto

del anillo, incluidos los átomos de carbono y los heteroátomos), aunque la presente definición también abarca la aparición del término «heterociclilo» para el que no se especifica ningún intervalo numérico. El grupo heterociclilo también puede ser un heterociclilo de tamaño medio con 3 a 10 eslabones en el anillo. El grupo heterociclilo también podría ser un heterociclilo que tenga de 3 a 6 eslabones en el anillo. El grupo heterociclilo se puede designar como «heterociclilo de 3-6 eslabones» o designaciones similares. En el caso de los heterociclos monocíclicos de seis eslabones preferidos, el heteroátomo o los heteroátomos se seleccionan de entre uno a tres de O, N o S, y en el caso de los heterociclos monocíclicos de cinco eslabones preferidos, el heteroátomo o los heteroátomos se seleccionan de entre uno o dos heteroátomos seleccionados de entre O, N o S. Entre los ejemplos de anillos de heterociclilo se incluyen, entre otros, azepinilo, acridinilo, carbazolilo, cinolinilo, dioxolanilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, morfolinilo, oxiranilo, oxepanilo, tiepanilo, piperidinilo, piperazinilo, dioxopiperazinilo, pirrolidinilo, pirrolidionilo, pirrolidionilo, 4-piperidonilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, 1,3-dioxinilo, 1,3-dioxanilo, 1,4-dioxinilo, 1,4-dioxanilo, 1,3-oxatianilo, 1,4-oxatiinilo, 1,4-oxatianilo, 2*H*-1,2-oxazinilo, trioxanilo, hexahidro-1,3,5-triazinilo, 1,3-dioxolilo, 1,3-dioxolanilo, 1,3-ditiolilo, 1,3-ditiolanilo, isoxazolinilo, isoxazolidinilo, oxazolinilo, oxazolidinilo, oxazolidinonilo, tiazolinilo, tiazolidinilo, 1,3-oxatiolanilo, indolinilo, isoindolinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiopiranilo, tetrahidro-1,4-tiazinilo, tiamorfolinilo, dihidrobenzofuranilo, benzimidazolidinilo y tetrahidroquinolina.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «acilo» hace referencia a $-C(=O)R$, en donde R es hidrógeno, alquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , carbociclilo de C_{3-7} , arilo de C_{6-10} , heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria. Entre los ejemplos no limitantes se incluyen el formilo, el acetilo, el propanoilo, el benzoilo y el acrilo.

Un grupo «O-carboxi» hace referencia a un grupo « $-OC(=O)R$ » en el que R se selecciona de entre hidrógeno, alquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , carbociclilo de C_{3-7} , arilo de C_{6-10} , heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria.

Un grupo «C-carboxi» hace referencia a un grupo « $-C(=O)OR$ » en el que R se selecciona de entre hidrógeno, alquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , carbociclilo de C_{3-7} , arilo de C_{6-10} , heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria. Un ejemplo no limitante incluye carboxilo (es decir, $-C(=O)OH$).

Un grupo «ciano» hace referencia a un grupo « $-CN$ ».

Un grupo «S-sulfonamido» hace referencia a un grupo « $-SO_2NR_AR_B$ » en el que R_A y R_B se seleccionan cada uno de manera independiente de entre hidrógeno, alquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , carbociclilo de C_{3-7} , arilo de C_{6-10} , heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria.

Un grupo «N-sulfonamido» hace referencia a un grupo « $-N(R_A)SO_2R_B$ » en el que R_A y R_B se seleccionan cada uno de manera independiente de entre hidrógeno, alquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , carbociclilo de C_{3-7} , arilo de C_{6-10} , heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria.

Un grupo «O-carbamilo» hace referencia a un grupo « $-OC(=O)NR_AR_B$ » en el que R_A y R_B se seleccionan cada uno de manera independiente de entre hidrógeno, alquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , carbociclilo de C_{3-7} , arilo de C_{6-10} , heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria.

Un grupo «N-carbamilo» hace referencia a un grupo « $-N(R_A)OC(=O)R_B$ » en el que R_A y R_B se seleccionan cada uno de manera independiente de entre hidrógeno, alquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , carbociclilo de C_{3-7} , arilo de C_{6-10} , heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria.

Un grupo «O-tiocarbamilo» hace referencia a un grupo « $-OC(=S)NR_AR_B$ » en el que R_A y R_B se seleccionan cada uno de manera independiente de entre hidrógeno, alquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , carbociclilo de C_{3-7} , arilo de C_{6-10} , heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria.

Un grupo «N-tiocarbamilo» hace referencia a un grupo « $-N(R_A)OC(=S)R_B$ » en el que R_A y R_B se seleccionan cada uno de manera independiente de entre hidrógeno, alquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , carbociclilo de C_{3-7} , arilo de C_{6-10} , heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria.

Un grupo «C-amido» hace referencia a un grupo « $-C(=O)NR_AR_B$ » en el que R_A y R_B se seleccionan cada uno de manera independiente de entre hidrógeno, alquilo de C_{1-6} , alquenilo de C_{2-6} , alquinilo de C_{2-6} , carbociclilo de C_{3-7} , arilo de C_{6-10} , heteroarilo de 5-10 eslabones y heterociclilo de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria.

Un grupo «*N*-amido» hace referencia a un grupo «-N(R_A)C(=O)R_B» en el que R_A y R_B se seleccionan cada uno de manera independiente de entre hidrógeno, alquilo de C₁₋₆, alquienilo de C₂₋₆, alquinilo de C₂₋₆, carbocíclico de C₃₋₇, arilo de C₆₋₁₀, heteroarilo de 5-10 eslabones y heterocíclico de 5-10 eslabones, según se describe en la presente memoria.

- 5 Un grupo «aminoalquilo» hace referencia a un grupo amino conectado a través de un grupo alquileo.

Un grupo «alcoxialquilo» hace referencia a un grupo alcoxi conectado a través de un grupo alquileo, como un «alcoxialquilo de C₂₋₈» y similares.

- 10 Cuando los compuestos dados a conocer en la presente memoria tienen al menos un centro quiral, pueden existir en forma de enantiómeros y diastereoisómeros individuales, o en forma de mezclas de dichos isómeros, incluidas mezclas racémicas. La separación de los isómeros individuales o la síntesis selectiva de los isómeros individuales se consigue mediante la aplicación de diversos métodos que son bien conocidos por los expertos en la materia. A menos que se indique lo contrario, todos estos isómeros y mezclas de los mismos se incluyen en el alcance de los compuestos dados a conocer en la presente memoria.

El término «inmunógeno» hace referencia a sustancias que pueden provocar, producir o desencadenar una respuesta inmunitaria en un organismo.

- 20 El término «conjugado» hace referencia a cualquier sustancia formada mediante conexión de dos partes. Los conjugados representativos de acuerdo con algunas de las realizaciones de la presente memoria incluyen aquellos formados mediante conexión de una molécula de bajo peso molecular, como el compuesto con la fórmula (I) o (II), y una molécula de elevado peso molecular, como un vehículo o un polímero poliamínico, en particular, una proteína. En el conjugado, la molécula de bajo peso molecular se puede conectar a uno o más sitios activos de la molécula de elevado peso molecular.

- 25 Los «haptenos» son antígenos parciales o incompletos. Son sustancias sin proteínas, principalmente sustancias de bajo peso molecular, que no pueden estimular la producción de anticuerpos, pero que sí reaccionan con anticuerpos. Estos últimos se producen mediante el acoplamiento de un hapteno a un vehículo inmunógeno de elevado peso molecular y la inyección posterior de este producto acoplado, es decir, el inmunógeno, a un sujeto humano o animal.

- 30 El término «anticuerpo» hace referencia a una proteína específica que se une a un antígeno y es cualquier sustancia o grupo de sustancias que tiene una afinidad de unión específica frente a un antígeno, con exclusión de otras sustancias. El término genérico «anticuerpo» incorpora anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales y fragmentos de anticuerpos.

- 35 Un «vehículo inmunógeno», tal y como se utiliza en la presente memoria, es una sustancia inmunógena, comúnmente una proteína, que se puede conectar a un hapteno, lo que permite que estos derivados del hapteno induzcan una respuesta inmunitaria y desencadenen la producción de anticuerpos que pueden unirse de manera específica a estos haptenos. Entre las sustancias inmunógenas utilizadas como vehículo se encuentran las proteínas, glucoproteínas, poliamino-polisacáridos complejos, partículas y ácidos nucleicos que se reconocen como foráneos y, por lo tanto, provocan una respuesta inmunitaria en el hospedador. Los poliamino-polisacáridos se pueden sintetizar a partir de polisacáridos mediante cualquiera de los medios convencionales conocidos para esto.

- 40 También se pueden emplear varios tipos de proteínas como vehículo inmunógeno de poli(aminoácido). Entre estos tipos se encuentran las albúminas, las proteínas séricas, las lipoproteínas, etc. Entre los ejemplos de proteínas se incluyen la seroalbúmina bovina (BSA), la hemocianina de lapa (KLH), la ovoalbúmina de huevo, la tiroglobulina bovina (BTG), etc. Como alternativa, se pueden utilizar poliaminoácidos sintéticos. En algunas realizaciones, la KLH se utiliza como vehículo inmunógeno.

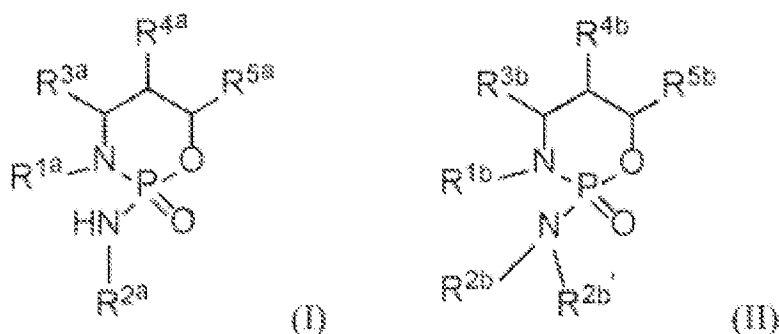
- 45 Los vehículos inmunógenos también pueden incluir poliaminopolisacáridos, que son polímeros de peso molecular elevado formados por condensaciones repetidas de monosacáridos. Ejemplos de polisacáridos son los almidones, el glucógeno, la celulosa, los hidratos de carbono que son gomas, como la goma arábiga, el agar, etc. Los polisacáridos también pueden contener restos de poliaminoácidos y/o restos lipídicos.

- 50 El vehículo inmunógeno también puede ser un poli(ácido nucleico) solo o conjugado a uno de los poli(aminoácidos) o polisacáridos mencionados anteriormente.

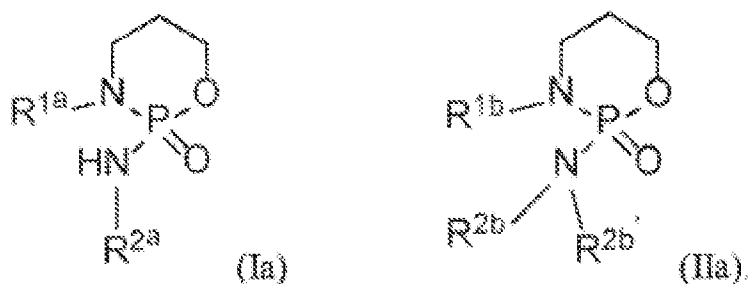
- 55 El vehículo inmunógeno también puede incluir partículas sólidas. Las partículas por lo general tienen un diámetro de al menos aproximadamente 0,02 micrómetros (μm) y no más de aproximadamente 100 μm, y por lo general de aproximadamente 0,05 μm a 10 μm.

Análogos de la ciclofosfamida

Algunas realizaciones de la presente solicitud están destinadas a un análogo de la ciclofosfamida que comprende una estructura con la fórmula (I) o (II):



- 5 en donde R^{1a} se selecciona de entre hidrógeno o $-(CH_2)_m-X$;
 R^{2a} es $-(CH_2)_n-Y$;
 R^{1b} es $-(CH_2)_m-X$;
cada uno de R^{2b} y $R^{2b'}$ se seleccionan de manera independiente de entre $-(CH_2)_k-Z$;
cada R^{3a} , R^{4a} , R^{5a} , R^{3b} , R^{4b} y R^{5b} se seleccionan de manera independiente de entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo,
10 amino, ciano, alquilo de C_{1-6} , alqueno de C_{2-6} , alquino de C_{2-6} , cicloalquilo de C_{3-7} , heterociclilo de 5-10 eslabones,
arilo, aralquilo, heteroarilo de 5-10 eslabones, alcoxi de C_{1-6} , alcoxi(C_{1-6})alquilo de C_{2-6} , ariloxi, halo(C_{1-6})alquilo,
halo(C_{1-6})alcoxi, alquiltio de C_{1-6} , ariltio, amino(C_{1-6})alquilo, nitro, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-
tiocarbamilo, C-amido, N-amido, S-sulfonamido, N-sulfonamido, C-carboxi, O-carboxi, acilo y oxo (=O);
X es un grupo funcional seleccionado de entre amino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o
15 hidroxilamino;
Y es un grupo funcional seleccionado de manera independiente de entre halógeno, hidroxilo, amino, tiol, ácido
carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino;
Z se selecciona de entre halógeno o hidroxilo; y
cada m, n y k es de manera independiente un número entero que va del 2 al 10.
- 20 Según algunas descripciones de los compuestos con la fórmula (I), R^{1a} es hidrógeno y R^{2a} es $-(CH_2)_n-Y$. En algunas
de estas descripciones, Y es un grupo funcional seleccionado de entre amino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido,
hidrazino, oximo o hidroxilamino. En una descripción, Y es tiol. En otra descripción, Y es ácido carboxílico.
- 25 Según algunas descripciones de los compuestos con la fórmula (I), R^{1a} es $-(CH_2)_m-X$ y X se selecciona de entre amino,
tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino. En una descripción, X es tiol. En otra descripción, X
es ácido carboxílico. En algunas de estas descripciones, R^{2a} es $-(CH_2)_n-Y$ y Y se selecciona de entre cloruro o hidroxilo.
- En algunas realizaciones de los compuestos con la fórmula (II), R^{1b} es $-(CH_2)_m-X$ y X es un grupo funcional
30 seleccionado de entre amino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino. En una realización, Y
es tiol. En otra forma de realización, Y es ácido carboxílico. En algunas de estas realizaciones, cada R^{2b} y $R^{2b'}$
es $-(CH_2)_k-Z$ y Z se selecciona de entre cloruro o hidroxilo.
- En algunas realizaciones de los compuestos con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), m es un número
35 entero de 2. En otras realizaciones, m es un número entero de 3.
- En algunas realizaciones de los compuestos con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), n es un número
entero de 2.
- En algunas realizaciones de los compuestos con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), k es un número
40 entero de 2.
- En algunas realizaciones de los compuestos con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), cada uno de los
grupos conectores $-(CH_2)_m$, $-(CH_2)_n$, $-(CH_2)_k$ pueden opcionalmente estar sustituidos. Como alternativa, uno o más
45 átomos de carbono se pueden reemplazar con uno o más heteroátomos, como O, S o N.
- En algunas realizaciones de los compuestos con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), al menos uno de
 R^{3a} , R^{4a} , R^{5a} , R^{3b} , R^{4b} y R^{5b} es hidrógeno. En algunas realizaciones preferidas, cada uno de R^{3a} , R^{4a} , R^{5a} , R^{3b} , R^{4b} y
50 R^{5b} es hidrógeno y las fórmulas (I) y (II) están representadas por las fórmulas (Ia) y (IIa):



15 Anticuerpos

Algunas realizaciones incluyen anticuerpos y/o métodos para producir anticuerpos. Tal y como se utiliza en la presente memoria, el término «anticuerpo» hace referencia a anticuerpos completos y, a menos que se indique lo contrario, a fragmentos de unión al antígeno de los mismos. Los fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos se pueden producir en diversos formatos de proteínas de acuerdo con las realizaciones de la presente memoria. Los fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos, o «fragmentos de anticuerpos» según se utilizan en la presente memoria incluyen una porción de un anticuerpo inalterado que comprende el sitio de unión al antígeno o región variable del anticuerpo inalterado. Algunos fragmentos de anticuerpos no tienen los dominios constantes de la cadena pesada (es decir, C_{H2}, C_{H3} y H4, dependiendo del isotipo del anticuerpo) de la región Fc del anticuerpo inalterado o una porción del mismo. Entre los ejemplos de fragmentos de anticuerpos se incluyen, entre otros, fragmentos Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab').sub2 y Fv; minicuerpos; diacuerpos; cualquier fragmento de anticuerpo que sea un polipéptido con una estructura primaria que consista en una secuencia ininterrumpida de restos aminoácídicos contiguos (que en la presente memoria se denomina «fragmento de anticuerpo monocatenario» o «polipéptido monocatenario»), incluidas, entre otras, (1) moléculas de fragmentos Fv monocatenario (scFv) (2) polipéptidos monocatenarios que contienen solo un dominio variable en la cadena ligera, o un fragmento de los mismos que contenga las tres CDR del dominio variable de la cadena ligera, sin un resto de cadena pesada asociado y (3) polipéptidos monocatenarios que contienen una sola región variable en la cadena pesada, o un fragmento de los mismos que contenga las tres CDR de la región variable de la cadena pesada, sin un resto de cadena ligera asociado, y estructuras multiespecíficas o multivalentes formadas a partir de fragmentos de anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos biespecíficos. En algunas realizaciones, el anticuerpo es monoclonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo es quimérico. En algunas realizaciones, el anticuerpo es murino. En algunas realizaciones, el anticuerpo es de conejo. En algunas realizaciones, el anticuerpo es de rata. En algunas realizaciones, el anticuerpo es de cabra. En algunas realizaciones, el anticuerpo es de cobaya. En algunas realizaciones, el anticuerpo es de burro. En algunas realizaciones, el anticuerpo es humanizado. En algunas realizaciones, el anticuerpo es humano.

Los anticuerpos se pueden producir en condiciones *in vivo*, *ex vivo* y/o *in vitro*. La estructura general de los anticuerpos se ha descrito, por ejemplo, en la patente de EE. UU. n.º 6.156.878.

Los anticuerpos o inmunoglobulinas de origen natural por lo general son tetrámeros de cuatro cadenas peptídicas unidas por enlace covalente. Por ejemplo, un anticuerpo que sea una IgG tiene dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas. Cada cadena ligera está unida a una cadena pesada por enlace covalente. A su vez, cada cadena pesada está conectada por un enlace covalente a la otra formando una configuración en «Y», también conocida como conformación de inmunoglobulina. Los fragmentos de estas moléculas, o incluso solo las cadenas pesadas o ligeras, pueden unirse al antígeno. En la presente memoria, los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos y cadenas individuales también se denominan inmunoglobulinas.

Una cadena ligera o pesada de un anticuerpo de origen natural normal tiene una región variable (V) en el extremo aminoterminal (NH₂) y una región constante (C) en el extremo carboxiterminal (-COOH). La región variable de la cadena pesada se denomina V_H (incluido, por ejemplo, V_{gamma}) y la región variable de la cadena ligera se denomina V_L (incluidos V_{kappa} o V_{lambda}). La región variable es la parte de la molécula que se une al antígeno que reconoce al anticuerpo, mientras que la región Fc (el segundo y tercer dominios de la región C) determina la función efectora del anticuerpo (p. ej., fijación del complemento). La inmunoglobulina completa o las «cadenas ligeras» del anticuerpo (por lo general, unos 25 kDa, aproximadamente 214 aminoácidos) están codificadas por un gen de la región variable en el extremo aminoterminal (por lo general, unos 110 aminoácidos) y un gen de la región constante kappa o lambda en el extremo carboxiterminal (-COOH). La inmunoglobulina completa o las «cadenas pesadas» del anticuerpo (por lo general, unos 50 kDa, aproximadamente 446 aminoácidos) están codificadas de forma similar por un gen de la región variable (por lo general, codifica unos 116 aminoácidos) y uno de los genes de la región constante, por ejemplo, gamma (codifica unos 330 aminoácidos). Normalmente, «V_L» incluye la porción de la cadena ligera codificada por los segmentos de genes de V_L y/o J_L (J o región de conexión), y «V_H» incluye la porción de la cadena pesada codificada

por los segmentos de genes de V_H y/o D_H (D o región de diversidad) y J_H . Véase, en general, Roitt et al., Immunology (2d ed. 1989), capítulo 6, y Paul, Fundamental Immunology (Raven Press, 2ª ed., 1989).

Una región variable de una cadena ligera o una cadena pesada de una inmunoglobulina consiste en una región «estructural» («FR», que también se denomina en la presente memoria «FWR») interrumpida por tres regiones hipervariables, también denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR). Las CDR normalmente se denominan CDR1, CDR2 y CDR3, y están numeradas secuencialmente empezando por el extremo aminoterminal. Desde el extremo aminoterminal hasta el extremo carboxiterminal, las cadenas ligeras y pesadas incluyen los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Los dominios de la cadena pesada en la presente memoria se pueden denominar HFR1, HCDR1, HFR2, HCDR2, HFR3, HCDR3 y HFR4. Los dominios de la cadena ligera en la presente memoria se pueden denominar LFR1, LCDR1, LFR2, LCDR2, LHFR3, LCDR3 y LFR4. Se ha definido el alcance de la región estructural y las CDR (véase Kabat y cols. (1987), «Sequences of Proteins of Immunological Interest», Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE. UU.; Chothia y cols., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987).

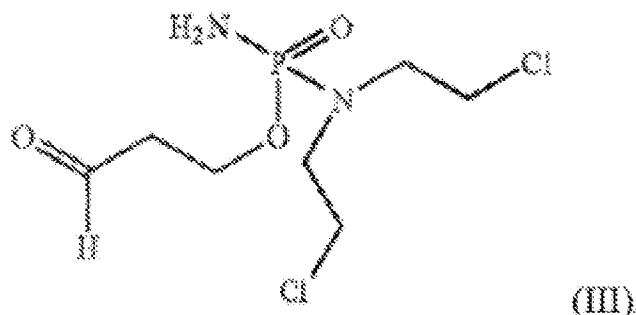
Las secuencias de las regiones estructurales de diferentes cadenas ligeras o pesadas están relativamente conservadas dentro de una misma especie. La región estructural de un anticuerpo, es decir, las regiones de entramado combinadas de las cadenas ligeras y pesadas constituyentes, sirve para situar y alinear las CDR en un espacio tridimensional. Las CDR son las principales responsables de la unión de un antígeno a un epítipo.

La región constante de la cadena pesada, también conocida como C_H , determina el isotipo del anticuerpo. Los anticuerpos se denominan IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, dependiendo del isotipo de la cadena pesada. Los isotipos se codifican en los segmentos μ , δ , γ , α y ϵ de la región constante de la cadena pesada, respectivamente. Además, existen varios subtipos de γ . Hay dos tipos de cadenas ligeras: κ y λ . Los determinantes de estos subtipos normalmente están situados en la región constante de la cadena ligera, también denominada C_L en general, y C_{κ} o C_{λ} en particular.

Los isotipos de la cadena pesada pueden determinar diferentes funciones efectoras del anticuerpo, como la opsonización o la fijación del complemento. Además, el isotipo de la cadena pesada determina la forma secretada del anticuerpo. Los isotipos de IgG, IgD e IgE secretados se encuentran normalmente en forma unitaria o monomérica. El isotipo de IgM secretada se encuentra en forma pentamérica; la IgA secretada se puede encontrar tanto en forma monomérica como dimérica. En algunas realizaciones, un anticuerpo como el que se describe en la presente memoria, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, tiene un isotipo de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgE o IgM.

Tal y como se utiliza en la presente memoria, los términos «de manera específica», «de manera selectiva» y similares, incluidas variaciones de estos términos básicos, hacen referencia a un anticuerpo que se une en mayor grado al epítipo indicado que al menos otra sustancia a la que el anticuerpo está expuesto. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el anticuerpo se puede unir de manera específica a la ciclofosfamida o la ifosfamida, pero no a un metabolito acíclico de los mismos. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une de manera selectiva a la ciclofosfamida o la ifosfamida según se describe en la presente memoria con una K_d numéricamente inferior a aproximadamente 10^{-6} M (en donde una K_d inferior indica una unión más estrecha), por ejemplo, inferior a aproximadamente 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M o 10^{-13} , incluidos los intervalos entre dos valores cualesquiera de los enumerados, por ejemplo, 10^{-6} M a 10^{-13} M, 10^{-6} M a 5×10^{-13} M, 10^{-7} M a 10^{-13} M, 10^{-7} M a 5×10^{-13} M, 10^{-8} M a 10^{-13} M, 10^{-8} M a 5×10^{-13} M, 10^{-9} M a 10^{-13} M o 10^{-9} M a 5×10^{-13} M. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a la ciclofosfamida o la ifosfamida con una K_d numéricamente inferior a aproximadamente 10^{-6} M según se describe en la presente memoria, y también se une a un conjugado con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), según se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, el anticuerpo se une de manera específica a la ciclofosfamida con una K_d numéricamente inferior a aproximadamente 10^{-6} M, por ejemplo, inferior a aproximadamente 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M o 10^{-13} M, incluidos los intervalos entre dos valores cualesquiera de los enumerados y también se une a un conjugado con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), según se describe en la presente memoria, con una K_d numéricamente inferior a aproximadamente 10^{-6} M.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se une de manera específica a la ciclofosfamida con una afinidad de unión (K_d) más elevada que a un metabolito acíclico de la ciclofosfamida, en donde la K_d correspondiente a la ciclofosfamida es numéricamente inferior a aproximadamente 1/10 de la K_d correspondiente a un metabolito acíclico de la ciclofosfamida, por ejemplo, inferior a 1/10, 1/20, 1/50, 1/100, 1/500, 1/1000, 1/5000, 1/10000, 1/50000 o 1/100000, incluidos los intervalos entre dos valores cualesquiera de los enumerados. En una realización preferida, el metabolito acíclico de la ciclofosfamida tiene la fórmula (III):



De acuerdo con algunas descripciones, el anticuerpo además se une a un compuesto con la fórmula (I) que comprende un vehículo unido a Y por enlace covalente según se describe en la presente memoria. Según algunas descripciones, el anticuerpo además se une a un compuesto con la fórmula (I) que comprende un vehículo unido a X por enlace covalente según se describe en la presente memoria. En algunas otras realizaciones, el anticuerpo además se une a un compuesto con la fórmula (II) que comprende un vehículo unido a X por enlace covalente según se describe en la presente memoria.

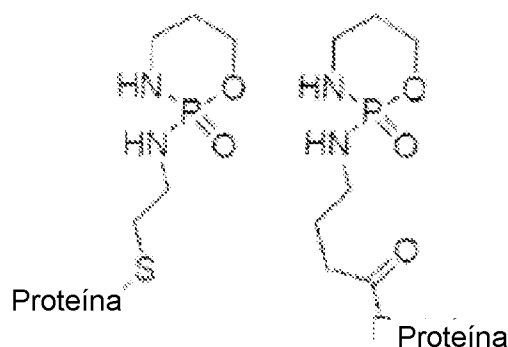
En algunas realizaciones, el anticuerpo se une de manera específica a la ciclofosfamida con una afinidad de unión (K_d) más elevada que a un metabolito acíclico de la ciclofosfamida, en donde la K_d correspondiente a la ciclofosfamida es numéricamente inferior a aproximadamente 1/10 de la K_d correspondiente a un metabolito acíclico de la ciclofosfamida, por ejemplo, inferior a 1/10, 1/20, 1/50, 1/100, 1/500, 1/1000, 1/5000, 1/10000, 1/50000 o 1/100000, incluidos los intervalos entre dos valores cualesquiera de los enumerados, y en los que el metabolito acíclico de la ciclofosfamida tiene la fórmula (III). Según algunas descripciones, el anticuerpo además se une a un compuesto con la fórmula (I) que comprende un vehículo enlazado a Y por enlace covalente según se describe en la presente memoria. Según algunas descripciones, el anticuerpo además se une a un compuesto con la fórmula (I) que comprende un vehículo unido a X por enlace covalente según se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, el anticuerpo además se une a un compuesto con la fórmula (II) que comprende un vehículo enlazado a X por enlace covalente según se describe en la presente memoria.

Inmunógeno/conjugado para ensayos

Según ya se ha comentado, los grupos funcionales X o Y del análogo de la ciclofosfamida con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), pueden estar enlazados por enlace covalente a un vehículo polimérico inmunógeno para formar un inmunógeno. Como alternativa, estos grupos funcionales pueden estar enlazados por enlace covalente al mismo polímero o vehículo para formar un conjugado, con la excepción de que estos polímeros o vehículos no tienen por qué producir una respuesta inmunitaria como la necesaria para el inmunógeno. En una realización, X o Y es un grupo ácido carboxílico o ésteres reactivos del mismo que se pueden enlazar a un grupo amino de la proteína transportadora. En otra realización, X o Y es un grupo tiol. En algunas realizaciones, el vehículo polimérico está unido por enlace covalente al análogo de la ciclofosfamida con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), mediante una unión amídica. La unión amídica se puede formar activando un grupo ácido carboxílico de X o Y mediante reacción del grupo ácido carboxílico con un reactivo que sea un grupo saliente (p. ej., *N*-hidroxisuccinimida, 1-hidroxibenzotriazol, *p*-nitrofenol y similares). Se puede utilizar un reactivo activador como la dicitclohexilcarbodiimida, la diisopropilcarbodiimida o similares. La forma activada del grupo carboxilo puede entonces reaccionar con una solución amortiguadora que contiene el vehículo polimérico, por ejemplo, un polipéptido. Como alternativa, la unión amídica se puede formar mediante reacción del grupo amino de X o Y con un grupo ácido carboxílico activado del vehículo polimérico.

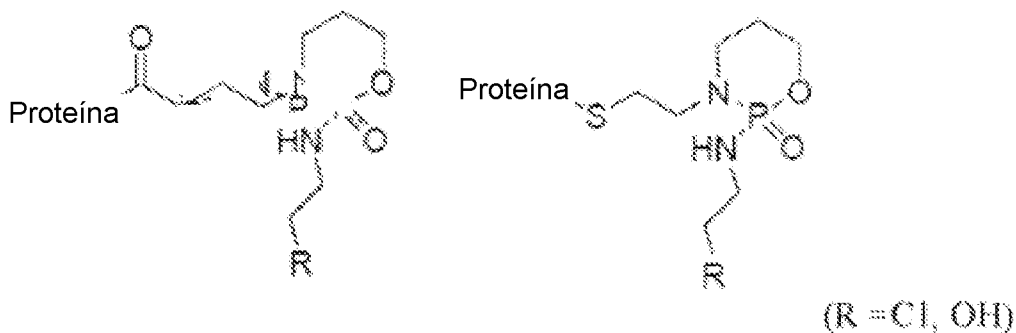
En algunas realizaciones, el vehículo polimérico está unido por enlace covalente al análogo de la ciclofosfamida con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), mediante una unión de tioéter (-S-). La unión de tioéter se puede formar mediante reticulación del grupo tiol de X o Y con un grupo amino activado o modificado del vehículo polimérico, por ejemplo, los que contienen un resto de maleimida o de yodoacetamida. Como alternativa, la unión de tioéter se puede formar mediante reacción del grupo tiol de X o Y con un grupo ácido carboxílico activado o modificado del vehículo polimérico para formar el tioéster. En la reacción se puede utilizar un reactivo de acoplamiento habitual, como la *N,N*-dicitclohexilcarbodiimida (DCC). En algunas realizaciones, un vehículo polipeptídico está enlazado por enlace covalente al análogo de la ciclofosfamida con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), mediante una reacción química con maleimida, en la que uno o más restos de lisina del vehículo se transforman en restos de maleimida que pueden reaccionar con grupos sulfhidrilo, y el vehículo polipeptídico está enlazado al análogo de la ciclofosfamida a través de un grupo sulfhidrilo (-SH).

A continuación, se ilustran ejemplos no limitantes de inmunógenos o conjugados producidos a partir de análogos de la ciclofosfamida con la fórmula (I):



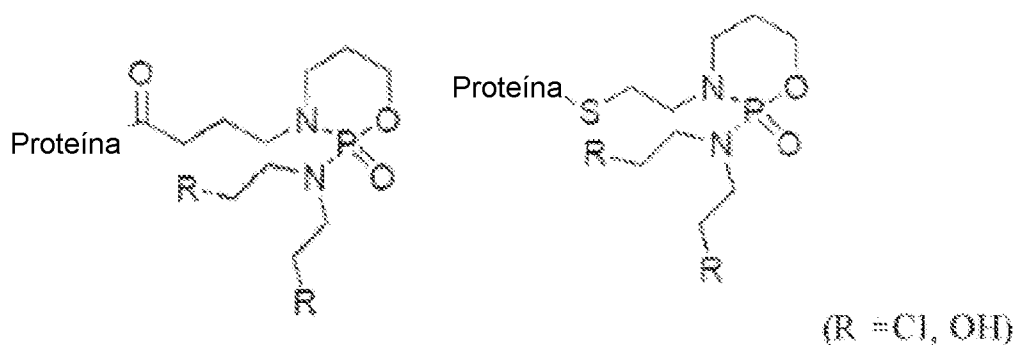
Donde, con referencia a la fórmula (I) o (Ia), R^{1a} es hidrógeno, e Y (con referencia a R^{2a}) es tiol o ácido carboxílico conjugado a una proteína transportadora, o

20



Donde, con referencia a la fórmula (I) o (Ia), X (con referencia a R^{1a}) es tiol o ácido carboxílico conjugado a una proteína transportadora, y R^{2a} es $-(CH_2)_2R$, (en donde R corresponde a Y en la definición de R^{2a} en la fórmula (1) o (Ia), y R se puede seleccionar de entre cloro o hidroxilo).

Además, a continuación, se ilustran ejemplos no limitantes de inmunógenos o conjugados producidos a partir de análogos de la ciclofosfamida con la fórmula (II):



Donde, con referencia a la fórmula (II) o (IIa), X (con referencia a R^{1b}) es tiol o ácido carboxílico conjugado a una proteína transportadora, y cada R^{2b} y $R^{2b'}$ es de manera independiente $-(CH_2)_2R$ (en donde R corresponde a Z en la definición de R^{2b} y $R^{2b'}$ en la fórmula (II) o (IIa), y R se puede seleccionar de entre cloro o hidroxilo).

De acuerdo con algunas descripciones, el compuesto con la fórmula (I) está conjugado a un vehículo que comprende, consiste o consiste esencialmente en: una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida (dicho compuesto conjugado a un vehículo en la presente memoria también se puede denominar «conjugado», incluidas las variaciones de este término básico). El vehículo puede estar enlazado a

Y o X por enlace covalente, según se describe en la presente memoria. Según algunas descripciones, el compuesto con la fórmula (I) está conjugado a un vehículo que comprende, consiste o consiste esencialmente en KLH:

En algunas realizaciones, el compuesto con la Fórmula (II) está conjugado a un vehículo que comprende, consiste o consiste esencialmente en: una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido, o una partícula sólida (dicho compuesto conjugado a un vehículo en la presente memoria también se puede denominar «conjugado», incluidas las variaciones de este término básico). El vehículo puede estar unido a X por enlace covalente. En algunas realizaciones, el compuesto con la fórmula (II) está conjugado a un vehículo que comprende, consiste o consiste esencialmente en KLH.

En algunas realizaciones, el conjugado del vehículo con el compuesto con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), solo o en combinación con el anticuerpo generado a partir de los inmunógenos formados a partir de las proteínas inmunógenas conjugadas al compuesto con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), se pueden utilizar como reactivos de inmunoensayo para determinar la presencia de ciclofosfamida y/o ifosfamida en una muestra.

Además, los componentes del ensayo de la presente solicitud se pueden suministrar en un kit. El kit también puede contener como reactivo adicional y/o aditivos dichos reactivos auxiliares, por ejemplo, estabilizantes, soluciones amortiguadoras y similares. Las cantidades relativas de los diversos reactivos pueden variar ampliamente para proporcionar concentraciones en solución de los reactivos que optimicen sustancialmente la sensibilidad del ensayo. Los reactivos se pueden suministrar en solución o en forma de polvo seco, por lo general liofilizado, incluidos excipientes que al disolverse proporcionan una solución de reactivo con las concentraciones adecuadas para realizar el ensayo.

Métodos para producir anticuerpos

En algunas realizaciones se describen métodos para producir anticuerpos que se unen a la ciclofosfamida o la ifosfamida. El método puede comprender proporcionar un inmunógeno que comprende un compuesto con la Fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), conjugado a un vehículo como el que se describe en la presente memoria. El método puede comprender la inmunización de un organismo hospedador con el inmunógeno. El método puede comprender el aislamiento de células productoras de anticuerpos a partir del organismo hospedador. El método puede comprender el análisis de las células productoras de anticuerpos procedentes del organismo hospedador para detectar anticuerpos que se unan de manera específica a un compuesto con la fórmula (II) o, a título informativo, la fórmula (I), por ejemplo, ciclofosfamida o ifosfamida.

Se pueden producir anticuerpos adecuados mediante diversas técnicas. En algunas realizaciones, un hospedador no humano, por ejemplo, un ratón, una rata, una cobaya, un conejo, una cabra, una oveja, un burro, un caballo o un camello, se inmuniza con un antígeno como la ciclofosfamida o ifosfamida conjugadas según se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, el organismo hospedador comprende sus genes de inmunoglobulinas endógenas. En algunas realizaciones, el organismo hospedador está modificado genéticamente para que comprenda uno o más genes de inmunoglobulinas de un organismo diferente, por ejemplo, un ser humano. En algunas realizaciones, los organismos hospedadores están genéticamente modificados para comprender uno o más genes de inmunoglobulinas humanas y, además, la actividad de los genes de inmunoglobulinas del hospedador no sea sustancial (por ejemplo, si al hospedador se le han eliminado, silenciado transcripcionalmente, mutado o inactivado de otra manera sus genes de inmunoglobulinas). En algunas realizaciones, el antígeno se administra mediante al menos una de las formas por vía intravenosa, subcutánea o intramuscular descritas en la presente memoria. En algunas realizaciones, el antígeno se administra siguiendo una pauta posológica.

En algunas realizaciones, por ejemplo, cuando los anticuerpos monoclonales son de interés, un animal hospedador se inmuniza con un inmunógeno según se describe en la presente memoria, y las células productoras de anticuerpos se pueden recuperar del animal hospedador, immortalizar y analizar para detectar anticuerpos que se unan de manera específica a la ciclofosfamida o la ifosfamida (véase, Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual Second Edition (C.S.H.P. Nueva York, EE. UU., 2014).

Normalmente, las células productoras de anticuerpos comprenden linfocitos B, aunque otro tipo de célula productora de anticuerpos, el linfocito V, también se ha descrito en la patente WO 2010/002883, y también se considera una célula productora de anticuerpos adecuada en algunas realizaciones. De acuerdo con algunas descripciones, el inmunógeno comprende el compuesto con la Fórmula (I) conjugado a un vehículo que comprende, consiste o consiste esencialmente en: una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliaminopolisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida. El vehículo puede estar unido a Y por enlace covalente. De acuerdo con algunas descripciones, el compuesto con la fórmula (I) está conjugado a un vehículo que comprende, consiste o consiste esencialmente en KLH,

y está enlazado a Y por enlace covalente. De acuerdo con algunas descripciones, el compuesto con la fórmula (I) está conjugado a un vehículo que comprende, consiste o consiste esencialmente en KLH, y está enlazado a X por enlace covalente. En algunas realizaciones, el inmunógeno comprende el compuesto con la Fórmula (II) conjugado a un vehículo que comprende, consiste o consiste esencialmente en: una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida. El vehículo puede estar unido a X por enlace covalente. En algunas realizaciones, el compuesto con la fórmula (II) está conjugado a un vehículo que comprende, consiste o consiste esencialmente en KLH y está enlazado a Y por enlace covalente. En algunas realizaciones, el organismo hospedador recibe una dosis de refuerzo con una o más administraciones adicionales del compuesto, por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4 o 5 administraciones adicionales, incluidos los intervalos entre dos valores cualesquiera de los enumerados.

Las células productoras de anticuerpos se pueden extraer del organismo hospedador y aislar por medios convencionales, como, por ejemplo, citometría de flujo o clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS™). En algunas realizaciones, las células productoras de anticuerpos aisladas se immortalizan, según se describe en la presente memoria, por ejemplo, mediante tecnología de generación de hibridomas. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos que codifican anticuerpos se aíslan de las células productoras de anticuerpos y se analizan para detectar anticuerpos con una afinidad adecuada por la ciclofosfamida y/o la ifosfamida.

En algunas realizaciones, las células hospedadoras productoras de anticuerpos se immortalizan mediante tecnología de generación de hibridomas. Las técnicas de generación de hibridomas se conocen bien en la técnica. Por lo general, el antígeno se inyecta a un animal hospedador y, después de un período de tiempo, se puede aislar la célula productora de anticuerpos, normalmente a partir del bazo. La célula productora de anticuerpos se puede fusionar con células de mieloma (u otra célula immortalizada) para proporcionar células fusionadas, que se denominan hibridomas. Los hibridomas se pueden separar de las células de mieloma y las células productoras de anticuerpos sin fusionar. Los hibridomas específicos se pueden aislar y analizar para confirmar que el hibridoma aislado produce anticuerpos específicos frente al antígeno utilizado en el paso de inmunización. El hibridoma así producido combina la capacidad de la célula productora del anticuerpos original de producir un único anticuerpo específico con la capacidad de su célula de mieloma original (u otra célula immortalizada) para crecer y dividirse continuamente, ya sea *in vitro* en un cultivo celular o *in vivo* en un tumor después de la inyección en la cavidad peritoneal de un animal. Las líneas de hibridoma se pueden utilizar, por ejemplo, para producir anticuerpos monoclonales. Las células productoras de anticuerpos immortalizadas se pueden analizar para detectar anticuerpos que se unan de manera específica a la ciclofosfamida o la ifosfamida, según se describe en la presente memoria. Por ejemplo, los sobrenadantes de las células productoras de anticuerpos immortalizadas se pueden analizar para detectar la presencia de anticuerpos que se unan a la ciclofosfamida o la ifosfamida. En algunas realizaciones, los sobrenadantes se analizan mediante un ensayo inmunoenzimático (ELISA). Por ejemplo, la ciclofosfamida o la ifosfamida se pueden inmovilizar en un sustrato, incubarse con el sobrenadante de la célula productora de anticuerpos immortalizada, el sustrato se puede retirar del sobrenadante, y se puede detectar la presencia de anticuerpo unido a la ciclofosfamida o la ifosfamida inmovilizadas, por ejemplo, mediante un ensayo secundario. En algunas realizaciones, los sobrenadantes se analizan mediante un ensayo sin lavado. Por ejemplo, la ciclofosfamida o la ifosfamida se pueden marcar directa o indirectamente, por ejemplo, con un primer fluoróforo de un par de FRET, en contacto con el sobrenadante, y la presencia de anticuerpos unidos a la ciclofosfamida o la ifosfamida se puede detectar en solución, por ejemplo, mediante un anticuerpo secundario que comprende un marcador como el segundo fluoróforo de un par de FRET (de tal manera que se detecte la proximidad del anticuerpo secundario a la ciclofosfamida o la ifosfamida). En algunas realizaciones, los anticuerpos se seleccionan adicionalmente atendiendo a una mayor afinidad por la ciclofosfamida o la ifosfamida con respecto a un metabolito acíclico de los mismos, por ejemplo, un metabolito acíclico de la ciclofosfamida con la fórmula (III) (por ejemplo, una afinidad (K_d) más elevada se puede identificar como una afinidad a la ciclofosfamida o la ifosfamida que es numéricamente inferior a aproximadamente 1/10 de la K_d correspondiente al metabolito acíclico).

Otro método, de acuerdo con algunas realizaciones, consiste en aislar secuencias de ácidos nucleicos, como secuencias de DNA o secuencias de RNA, de una célula productora de anticuerpos y, a continuación, analizarlas para seleccionar un anticuerpo que se una a la ciclofosfamida o la ifosfamida de manera adecuada, según se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos se clonan y a continuación, los clones se analizan para seleccionar ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo que tenga un perfil de unión a la ciclofosfamida o la ifosfamida adecuado, según se describe en la presente memoria. En Huse y cols., Science 246:1275-1281 (1989) se describe un ejemplo de protocolo analítico para la selección de ácidos nucleicos de linfocitos B humanos. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos de interés se identifican mediante tecnología de expresión en fagos. Véase, p. ej., Dower y cols., WO 91/17271 y McCafferty y cols., WO 92/01047. La tecnología de expresión en fagos también se puede utilizar para mutar regiones variables (o porciones de las mismas, como CDR) de anticuerpos que previamente habían demostrado tener afinidad por la ciclofosfamida o la ifosfamida, y seleccionar los anticuerpos con una mayor afinidad de unión. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos se secuencian.

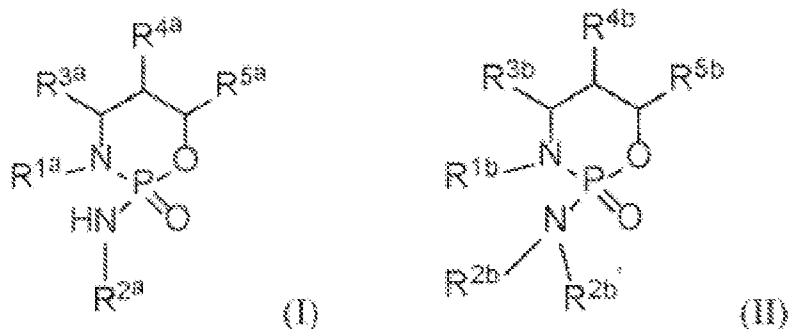
Los oligonucleótidos aislados que codifican un anticuerpo de interés deseado se pueden expresar en un sistema de expresión, por ejemplo, un sistema de expresión celular o un sistema sin células. Ejemplos de sistemas de expresión

en células son las levaduras (p. ej., células de mamíferos, *E. coli*, células de insectos, *Saccharotnyces*, *Pichia*) transformadas con vectores de expresión en levaduras recombinantes que contienen secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos, sistemas de células de insectos infectados con vectores de expresión víricos recombinantes (p. ej., baculovirus) que contienen secuencias que codifican anticuerpos, sistemas de células vegetales infectadas con vectores de expresión víricos recombinantes (p. ej., virus del mosaico de la coliflor, CaMV, virus del mosaico del tabaco, TMV) o transformados con vectores de expresión plasmídicos recombinantes (p. ej., plásmido Ti) que contienen secuencias nucleotídicas que codifican anticuerpos, sistemas de células de mamíferos (p. ej., COS, CHO, BI-1K, 293, 3T3) que contienen constructos de expresión recombinantes que contienen promotores obtenidos a partir del genoma de células de mamíferos (p. ej., promotor de la metalotioneína) o de virus de mamíferos. Algunos ejemplos de sistemas sin células son los extractos de *E. coli* y los extractos de levaduras. Los extractos pueden ser lisados. Los extractos se pueden purificar, por ejemplo, para aumentar la concentración de ribosomas y/o eliminar materiales no deseados, como residuos o DNA genómico del hospedador. Los ácidos nucleicos que codifican anticuerpos en sistemas sin células pueden incluir DNA plasmídico, DNA lineal o RNA.

En algunas realizaciones, por ejemplo, cuando los anticuerpos policlonales son de interés, un animal hospedador se inmuniza con un inmunógeno según se describe en la presente memoria, y se obtiene suero del animal hospedador, y los anticuerpos policlonales que se unen a la ciclofosfamida o la ifosfamida se purifican por afinidad, por ejemplo, mediante cromatografía de afinidad. Por ejemplo, en la cromatografía de afinidad, el antígeno de interés, como la ciclofosfamida o la ifosfamida, puede estar unido a un sustrato en una columna, y el suero puede pasar a través de la columna, de manera que el anticuerpo con afinidad por la ciclofosfamida o la ifosfamida queda inmovilizado en la columna. La columna se puede lavar una o más veces para eliminar anticuerpos no específicos y otras sustancias, y a continuación, el anticuerpo con afinidad por la ciclofosfamida o la ifosfamida puede eluir de la columna (véase, p. ej., Harlow & Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual Second Edition* (C.S.H.P. Nueva York, EE. UU., 2014)).

Además de los elementos anteriores, a continuación se presentan una serie de opciones:

La opción 1 comprende un compuesto que comprende una estructura con la Fórmula (I) o (II):



en donde R^{1a} se selecciona de entre hidrógeno o -(CH₂)_m-X; R^{2a} es -(CH₂)_n-Y; R^{1b} es -(CH₂)_m-X; cada R^{2b} y R^{2b'} se selecciona de manera independiente de entre es -(CH₂)_k-Z; cada R^{3a}, R^{4a}, R^{5a}, R^{3b}, R^{4b} y R^{5b} se selecciona de manera independiente de entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C₁-C₆, alqueno de C₂-C₆, alquino de C₂-C₆, cicloalquilo de C₃-C₇, heterocíclico de 5-10 eslabones, arilo, aralquilo, heteroarilo de 5-10 eslabones, alcoxi de C₁-C₆, alcoxi(C₁-C₆)alquilo de C₁-C₆, arilo, halo(C₁-C₆)alquilo, halo(C₁-C₆)alcoxi, alquiltio de C₁-C₆, ariltio, amino(C₁-C₆)alquilo, nitro, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, S-sulfonamido, N-sulfonamido, C-carboxi, O-carboxi, acilo y oxo (=O); X es un grupo funcional seleccionado de entre amino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino; Y es un grupo funcional seleccionado de manera independiente de entre halógeno, hidroxilo, amino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino; Z se selecciona de entre halógeno o hidroxilo; y cada uno de m, n y k es de manera independiente un número entero del 2 al 10. La opción 2 comprende el compuesto de la opción 1, en donde R^{1a} es hidrógeno. La opción 3 comprende el compuesto de la opción 2, en donde Y se selecciona de entre amino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino. La opción 4 comprende el compuesto de la opción 1, en donde R^{1a} es -(CH₂)_m-X. La opción 5 comprende el compuesto de la opción 4, en donde Y se selecciona de entre cloruro o hidroxilo. La opción 6 comprende el compuesto de la opción 1, en donde cada R^{2b} y R^{2b'} es -(CH₂)_k-Z y Z se selecciona de entre cloruro o hidroxilo. La opción 7 comprende el compuesto de cualquiera de las opciones 1 a 6, en donde m es un número entero de 2. La opción 8 comprende el compuesto de cualquiera de las opciones 1 a 6, en donde m es un número entero de 3. La opción 9 comprende el compuesto de cualquiera de las opciones 1 a 6, en donde cada n y k es un número entero de 2. La opción 10 comprende el compuesto de cualquiera de las opciones 1 a 9, en donde cada R^{3a}, R^{4a}, R^{5a}, R^{3b}, R^{4b}, R^{5b} es hidrógeno. La opción 11 comprende un inmunógeno que comprende un compuesto de cualquiera de las opciones 1 a 10 enlazado por enlace covalente a un polímero o vehículo inmunógenos a través de los grupos funcionales X o Y del compuesto. La opción 12 comprende el inmunógeno de la opción 11, en donde el polímero o vehículo inmunógenos se seleccionan de entre una proteína o polipéptido con actividad inmunitaria. La opción 13

comprende un anticuerpo que se une de manera sustancialmente selectiva a la ciclofosfamida y/o la ifosfamida. La opción 14 comprende el anticuerpo de la opción 13, en donde dicho anticuerpo se obtiene a partir de un inmunógeno de las opciones 11 o 12.

5 La opción 15 comprende un inmunoensayo para detectar la presencia de ciclofosfamida o ifosfamida en una muestra, que comprende un conjugado para ensayo, en donde dicho conjugado para ensayo comprende un compuesto de cualquiera de las opciones 1 a 10 enlazado por enlace covalente a un vehículo a través de los grupos funcionales X o Y del compuesto. La opción 16 comprende un inmunoensayo de la opción 15, en donde el vehículo se selecciona de entre una proteína o un polipéptido.

10 La opción 17 comprende un inmunoensayo para detectar la presencia de ciclofosfamida y/o ifosfamida en una muestra, que comprende el anticuerpo de la opción 13 o 14.

15 La opción 18 comprende un kit para detectar la presencia de ciclofosfamida y/o ifosfamida en una muestra que comprende reactivos, siendo uno de los reactivos un conjugado de un vehículo enlazado por enlace covalente a un compuesto de cualquiera de las opciones 1 a 10 a través de los grupos funcionales X o Y del compuesto. La opción 19 comprende el kit de la opción 18, en donde el vehículo se selecciona de entre una proteína o un polipéptido. La opción 20 comprende el kit de la opción 18 o 19, que además comprende el anticuerpo de la opción 13 o 14. La opción 21 comprende el compuesto de cualquiera de las opciones 1-10, que además comprende un vehículo unido a X por enlace covalente, en donde el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliamino-polisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida.

25 La opción 22 comprende el compuesto de cualquiera de las opciones 1-10 o 21, que además comprende un vehículo unido a Y por enlace covalente, en donde el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliaminopolisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida.

30 La opción 23 comprende un anticuerpo que se une de manera específica al compuesto de cualquiera de las opciones 21-22. La opción 24 comprende un anticuerpo de la opción 23, en donde el anticuerpo se une a una ciclofosfamida cíclica con una afinidad de unión (K_d) que es numéricamente menor que 1/10 de la afinidad de unión correspondiente a la ciclofosfamida acíclica con la fórmula (III). La opción 25 comprende el anticuerpo de la opción 24, en donde el anticuerpo se une a una ciclofosfamida cíclica con una afinidad de unión (K_d) que es numéricamente menor que 1/1000 de la afinidad de unión correspondiente a la ciclofosfamida acíclica con la fórmula (III). La opción 26 comprende el anticuerpo de cualquiera de las opciones 23-25, en donde el anticuerpo comprende un anticuerpo monoclonal. La opción 27 comprende el anticuerpo de cualquiera de las opciones 23-25, en donde el anticuerpo comprende un anticuerpo policlonal.

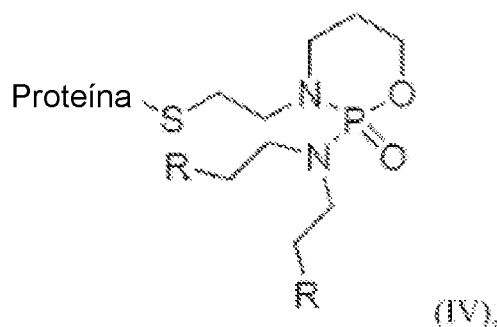
40 La opción 28 comprende un método para producir un anticuerpo que se une de manera específica a la ciclofosfamida, comprendiendo el método: administrar el inmunógeno de cualquiera de las opciones 11-12 o el compuesto de cualquiera de las opciones 21-22 a un organismo hospedador; y seleccionar los anticuerpos obtenidos a partir de las células productoras de anticuerpos o los anticuerpos procedentes del organismo hospedador atendiendo a su afinidad por la ciclofosfamida. La opción 29 comprende el método de la opción 28, en donde el organismo hospedador comprende un ratón, una rata, un hámster, una cobaya, un conejo, un burro o una cabra. La opción 30 comprende el método de cualquiera de las opciones 28-29, en donde el vehículo comprende KLH. La opción 31 comprende el método de cualquiera de las opciones 28-29, en donde se aíslan las células productoras de anticuerpos, en donde los anticuerpos obtenidos a partir de las células productoras de anticuerpos se seleccionan atendiendo a su afinidad por la ciclofosfamida, y en donde el anticuerpo que se une de manera específica a la ciclofosfamida es monoclonal. La opción 32 comprende el método de la opción 31, que además comprende generar hibridomas a partir de las células productoras de anticuerpos aisladas. La opción 33 comprende el método de la opción 31 o 32, que además comprende la selección de ácidos nucleicos procedentes de las células productoras de anticuerpos aisladas mediante expresión en fagos. La opción 34 comprende el método de cualquiera de las opciones 28-33, que además comprende seleccionar los anticuerpos que se unen de manera específica a la ciclofosfamida en comparación con un metabolito acíclico con la fórmula (III). La opción 35 comprende el método de cualquiera de las opciones 31-34, que además comprende expresar un ácido nucleico que codifica el anticuerpo en una célula hospedadora. La opción 36 comprende el método de cualquiera de las opciones 28-29, en donde los anticuerpos del organismo hospedador se seleccionan atendiendo a su afinidad por la ciclofosfamida, y en donde el anticuerpo que se une de manera específica a la ciclofosfamida es policlonal.

60 La opción 37 comprende el método para producir un anticuerpo que se une de manera específica a la ifosfamida, comprendiendo el método: administrar el inmunógeno de cualquiera de las opciones 11-12 o el compuesto de cualquiera de las opciones 21-22 a un organismo hospedador; y seleccionar los anticuerpos obtenidos a partir de las células productoras de anticuerpos o los anticuerpos procedentes del organismo hospedador atendiendo a su afinidad

por la ifosfamida. La opción 38 comprende el método de la opción 37, en donde el organismo hospedador comprende un ratón, una rata, un hámster, una cobaya, un conejo, un burro o una cabra. La opción 39 comprende el método de cualquiera de las opciones 37-38, en donde el vehículo comprende KLH. La opción 40 comprende el método de cualquiera de las opciones 37-39, en donde se aíslan las células productoras de anticuerpos, en donde los anticuerpos obtenidos a partir de las células productoras de anticuerpos se seleccionan atendiendo a su afinidad por la ifosfamida, y en donde el anticuerpo que se une de manera específica a la ciclofosfamida es monoclonal. La opción 41 comprende el método de la opción 40, que además comprende generar hibridomas a partir de las células productoras de anticuerpos aisladas. La opción 42 comprende el método de la opción 40 o 41, que además comprende la selección de ácidos nucleicos procedentes de las células productoras de anticuerpos aisladas mediante expresión en fagos. La opción 43 comprende el método de cualquiera de las opciones 37-42, que además comprende seleccionar los anticuerpos que se unen de manera específica a la ciclofosfamida en comparación con un metabolito acíclico con la fórmula (III). La opción 44 comprende el método de cualquiera de las opciones 40-43, que además comprende expresar un ácido nucleico que codifica el anticuerpo en una célula hospedadora. La opción 45 comprende el método de cualquiera de las opciones 37-39, en donde los anticuerpos del organismo hospedador se seleccionan atendiendo a su afinidad por la ciclofosfamida, y en donde el anticuerpo que se une de manera específica a la ciclofosfamida es policlonal.

Ejemplo I

Para producir un conjugado, se sintetiza un compuesto con la fórmula (II) en el que X está enlazado por enlace covalente a KLH, según se muestra:

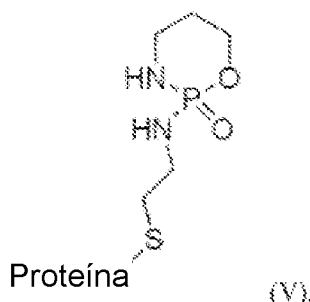


en el que la proteína es KLH. En particular, una proteína KLH activada por maleimida está enlazada por enlace covalente al grupo tiol de R^{1b} para formar el conjugado que se muestra en la Fórmula (IV) en el que la «proteína» comprende KLH.

El conjugado se inyecta en un ratón hospedador BALB/c mediante inyección intramuscular y se incuba durante 5 días. A continuación, el ratón hospedador recibe una dosis de refuerzo con una segunda administración del conjugado. Se extraen los linfocitos B del ratón hospedador y los clones de linfocitos B se fusionan con células de mieloma para generar hibridomas. Los hibridomas se cultivan y los sobrenadantes se recogen. Los sobrenadantes se analizan mediante un ensayo de ELISA para identificar los hibridomas con afinidad por la ifosfamida. Estos hibridomas se expanden y los DNA que codifican las regiones variables de los anticuerpos se secuencian de manera que se obtengan las secuencias de las regiones variables de los anticuerpos monoclonales con afinidad por la ciclofosfamida. Se producen anticuerpos monoclonales y se seleccionan adicionalmente atendiendo a su especificidad frente a la ciclofosfamida con respecto al metabolito acíclico con la fórmula (III).

Ejemplo II

Para producir un conjugado, se sintetiza un compuesto con la fórmula (I), en el que Y está unido por enlace covalente a seroalbúmina humana mediante una reacción de acoplamiento selectiva para tioles, según se muestra:



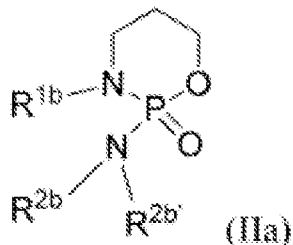
en el cual la proteína es seroalbúmina humana.

5 El conjugado se inyecta a un conejo hospedador mediante inyección intramuscular y se incuba durante 7 días. A continuación, el conejo hospedador recibe una dosis de refuerzo con una segunda administración del conjugado. A continuación, se recoge el suero inmunizante del conejo. El suero se purifica por afinidad para aislar las inmunoglobulinas que se unen de manera específica a la ifosfamida mediante cromatografía de afinidad en donde la ifosfamida queda inmovilizada en la fase sólida. La columna se lava y, a continuación, el anticuerpo con afinidad por la ifosfamida eluye de la columna, de manera que se obtiene un anticuerpo policlonal con afinidad por la ifosfamida.

10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende una estructura con la Fórmula (IIa):



en donde

R^{1b} es $-(CH_2)_m-X$;

cada R^{2b} y $R^{2b'}$ se selecciona de manera independiente de entre $-(CH_2)_k-Z$;

X es un grupo funcional seleccionado de entre amino, tiol, ácido carboxílico, hidrazido, hidrazino, oximo o hidroxilamino;

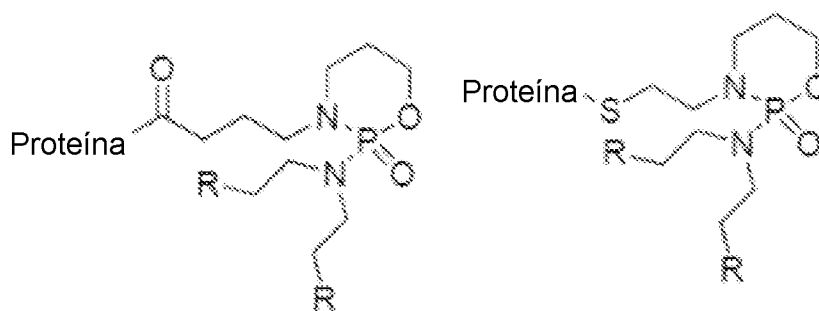
Z se selecciona de entre halógeno o hidroxilo; y

cada m y k es de manera independiente un número entero que va del 2 al 10;

en donde el compuesto está enlazado por enlace covalente a un polímero o vehículo inmunógenos a través del grupo funcional X del compuesto, o

en donde un vehículo está enlazado por enlace covalente al compuesto a través del grupo funcional X del compuesto.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde cada R^{2b} y $R^{2b'}$ es $-(CH_2)_k-Z$ y Z se selecciona de entre cloruro o hidroxilo.
3. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde m es un número entero de 2 o 3.
4. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde k es un número entero de 2.
5. El compuesto de la reivindicación 1, en donde Z se selecciona de entre flúor y cloro.
6. El compuesto de la reivindicación 1, en donde X es un grupo ácido carboxílico o ésteres reactivos del mismo que se pueden enlazar a un grupo amino del vehículo.
7. El compuesto de la reivindicación 1 que comprende la estructura:



en donde R se selecciona de entre cloro o hidroxilo.

8. Un inmunógeno que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el compuesto está enlazado por enlace covalente a un polímero o vehículo inmunógenos a través del grupo funcional X del compuesto.
9. Un kit para detectar la presencia de ciclofosfamida y/o ifosfamida en una muestra que comprende reactivos, siendo uno de los reactivos el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde un conjugado de un vehículo está enlazado por enlace covalente a un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 a través del grupo funcional X del compuesto.
10. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el compuesto comprende:

- 5 un vehículo unido a X por enlace covalente, en donde el vehículo comprende al menos uno de una albúmina o un fragmento de la misma, una proteína sérica, una lipoproteína, seroalbúmina bovina (BSA), hemocianina de lapa (KLH), ovoalbúmina de huevo, tiroglobulina bovina (BTG), un poliaminoácido o poliaminoácidos sintéticos, un poliaminopolisacárido, un poli(ácido nucleico), un poliaminoácido, un polisacárido o una partícula sólida.
11. Un anticuerpo que se une de manera específica al compuesto de la reivindicación 10.
- 10 12. El anticuerpo de la reivindicación 11, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
13. Un método para producir un anticuerpo que se une de manera específica a la ciclofosfamida, comprendiendo el método:
- 15 la administración del inmunógeno de la reivindicación 8 o el compuesto de la reivindicación 10 a un organismo hospedador;
el aislamiento de células productoras de anticuerpos o anticuerpos del organismo hospedador; y
la selección de anticuerpos obtenidos a partir de las células productoras de anticuerpos o los anticuerpos procedentes del organismo hospedador atendiendo a su afinidad por la ciclofosfamida.
- 20 14. El método de la reivindicación 13, en donde las células productoras de anticuerpos se aíslan, en donde los anticuerpos obtenidos a partir de las células productoras de anticuerpos se seleccionan atendiendo a su afinidad por la ciclofosfamida, y en donde el anticuerpo que se une de manera específica a la ciclofosfamida es monoclonal.