

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 983 582**

51 Int. Cl.:

A61K 47/54 (2007.01)
A61K 47/69 (2007.01)
C07D 295/185 (2006.01)
C07H 5/04 (2006.01)
C07C 271/24 (2006.01)
C07D 295/13 (2006.01)
C07K 5/062 (2006.01)
C08L 5/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.04.2018** **PCT/US2018/026551**
87 Fecha y número de publicación internacional: **11.10.2018** **WO18187740**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.04.2018** **E 18721547 (0)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2024** **EP 3606559**

54 Título: **Composiciones bioortogonales**

30 Prioridad:

07.04.2017 US 201762483163 P
07.04.2017 US 201762483081 P
07.04.2017 US 201762483121 P
18.05.2017 US 201762507973 P
06.06.2017 US 201762515948 P
05.10.2017 US 201762568586 P
22.12.2017 US 201762609943 P
29.01.2018 US 201862623245 P
29.01.2018 US 201862623329 P
06.02.2018 US 201862626978 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.10.2024

73 Titular/es:

TAMBO, INC. (50.0%)
665 3rd St., Suite 250
San Francisco, CA 94107-1926, US y
THE RESEARCH FOUNDATION FOR THE STATE
UNIVERSITY OF NEW YORK (50.0%)

72 Inventor/es:

MEJIA ONETO, JOSE MANUEL;
YEE, NATHAN;
ROYZEN, MAKSIM;
SRINIVASAN, SANGEETHA y
MILLER, ETHAN

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 983 582 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

Composiciones bioortogonales

5 REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica prioridad sobre la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/483.163, presentada el 7 de abril de 2017, la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/483.081, presentada el 7 de abril de 2017, la Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/483.121, presentada el 7 de abril de 2017, Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/507.973, presentada el 18 de mayo de 2017, Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/515.948, presentada el 6 de junio de 2017, Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/568.586, presentada el 5 de octubre de 2017, Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/609.943, presentada el 22 de diciembre de 2017, Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/623.245, presentada el 29 de enero de 2018, Solicitud de Patente Provisional de EE. UU. N.º 62/623.329, presentada el 29 de enero de 2018, y la solicitud de patente provisional de EE. UU. N.º 62/626.978, presentada el 6 de febrero de 2018.

CAMPO TÉCNICO

La presente descripción proporciona composiciones bioortogonales, y las composiciones bioortogonales para uso en métodos para administrar agentes a un sujeto. También se describen aquí aspectos de las composiciones bioortogonales, así como métodos para producir las composiciones bioortogonales.

TÉCNICA ANTERIOR

Normalmente, los médicos dependen de medicamentos sistémicos para el tratamiento de diversas afecciones médicas. El uso de sistemas físicos de administración de fármacos puede ayudar al médico a optimizar la administración de agentes terapéuticos a sitios específicos del cuerpo, así como a facilitar la administración de agentes terapéuticos en momentos o intervalos deseados. Sin embargo, después de la intervención inicial, los médicos todavía dependen de medicamentos sistémicos que necesitan dosis frecuentes y pueden tener efectos secundarios nocivos. Los biomateriales existentes pueden servir como depósitos para agentes terapéuticos, que pueden liberarse al cuerpo mediante difusión o degradación. Sin embargo, la mayoría de los biomateriales no pueden modularse ni modificarse después de la implantación, y por lo general exhiben un estallido inicial de actividad poco después de la implantación. Estos problemas pueden limitar la aplicación de biomateriales para afecciones médicas que requieren un régimen de dosificación particular, tales como dosis que deben administrarse en diferentes momentos, o para afecciones médicas en las que el agente terapéutico más eficaz se identifica horas o días después de la implantación del biomaterial, por ejemplo después de que se obtengan los resultados del cultivo o de la patología.

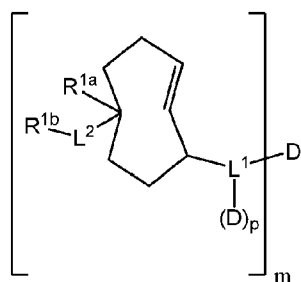
La conjugación bioortogonal o reacciones de clic son funcionalidades selectivas y ortogonales (que no interactúan con) que se encuentran en sistemas biológicos, y han encontrado uso en diversas aplicaciones en los campos de la química, la biología química, el diagnóstico molecular, y la medicina, en los que pueden usarse para facilitar la manipulación selectiva de moléculas, células, partículas y superficies, y el etiquetado y seguimiento de biomoléculas *in vitro* e *in vivo*. Estas reacciones incluyen la ligación de Staudinger, la cicloadición azida-ciclooctina, y la reacción de Diels-Alder con demanda inversa de electrones.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La presente descripción proporciona composiciones bioortogonales para administrar agentes en un sujeto. La descripción también proporciona métodos para producir las composiciones, así como métodos para usar las mismas. La invención proporciona nuevas composiciones de carga útil funcionalizadas con solubilidad acuosa mejorada.

La presente invención está definida por las reivindicaciones adjuntas.

En un aspecto, la invención proporciona compuestos de fórmula (IA), o una sal de los mismos,

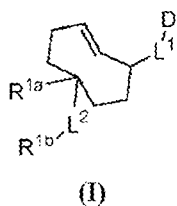


(I-A)

en la que

- 5 R^{1a} se selecciona del grupo que consiste en alquilo de C_{1-4} , haloalquilo de C_{1-4} y alcoxi de C_{1-4} ;
- R^{1b} se selecciona del grupo que consiste en OH, $-NR^{1c}$ -alquilenos $C_{1-4}-N(R^{1d})_2$, $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$, $-N(R^{1c})$ -alquilenos $C_{1-6}-CO_2H$, $-N(R^{1f})$ -alquilenos $C_{2-4}-(N(\text{alquilenos } C_{1-4}-CO_2H)\text{-alquilenos } C_{2-4})_n-N(\text{alquilenos } C_{1-4}-CO_2H)_2$, $-N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)O$ alquilo de C_{1-6} , $-N(R^{1c})$ -alquilenos $C_{1-6}-C(O)O$ alquilo de C_{1-6} , y $-N(R^{1f})$ -alquilenos $C_{2-4}-(N(\text{alquilenos } C_{1-4}-C(O)O\text{alquilo } C_{1-6})\text{-alquilenos } C_{2-4})_n-N(\text{alquilenos } C_{1-4}-C(O)O\text{alquilo } C_{1-6})_2$;
- 10 R^{1c} y R^{1d} , en cada aparición, son independientemente hidrógeno o alquilo de C_{1-4} ;
- R^{1e} es -alquilenos $C_{1-4}-CO_2H$, -alquilenos $C_{1-4}-CONH_2$ o -alquilenos $C_{1-4}-OH$;
- 15 R^{1f} es hidrógeno, alquilo de C_{1-6} o alquilenos $C_{1-4}-CO_2H$;
- D, en cada aparición, es independientemente un agente terapéutico o de diagnóstico;
- 20 $-L^1$ - es un enlazador;
- $-L^2$ - es $-C(O)-$;
- m es 1, 2 o 3;
- 25 n es 0, 1, 2 o 3; y
- p es 0, 1 o 2.

30 En otro aspecto, la invención proporciona compuestos de fórmula (I), o una sal de los mismos,



(I)

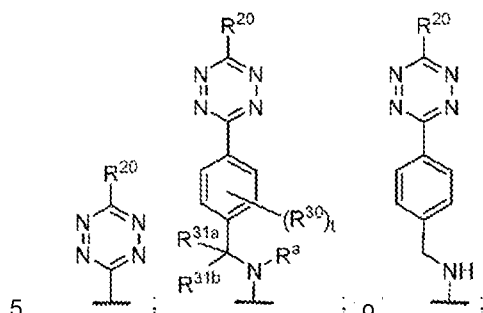
en la que

- 35 R^{1a} se selecciona del grupo que consiste en alquilo de C_{1-4} , haloalquilo de C_{1-4} y alcoxi de C_{1-4} ; $-L^2$ - es $-C(O)-$;
- 40 R^{1b} se selecciona del grupo que consiste en OH y $-NR^{1c}$ -alquilenos $C_{1-4}-N(R^{1d})_2$; y R^{1c} y R^{1d} , en cada aparición, son independientemente hidrógeno o alquilo de C_{1-4} .

En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que D es un agente terapéutico, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

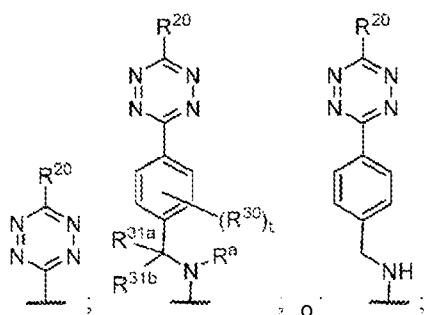
45 En otro aspecto, la invención proporciona una composición de diagnóstico que comprende un compuesto de fórmula (I) o (IA), o una sal del mismo, en la que D es un agente de diagnóstico, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

También se describe aquí una composición de soporte terapéutico que comprende: un grupo que contiene tetrazina de fórmula:



en la que R^{20} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, alquilo, alquenoilo, alquiniilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo, cicloalquenoilo, CF_3 , CF_2-R' , NO_2 , OR' , SR' , $C(=O)R'$, $C(=S)R'$, $OC(=O)R''$, $SC(=O)R''$, $OC(=S)R''$, $SC(=S)R''$, $S(=O)R'$, $S(=O)_2R''$, $S(=O)_2NR'R''$, $C(=O)O-R'$, $C(=O)S-R'$, $C(=S)O-R'$, $C(=S)S-R'$, $C(=O)NR'R''$, $C(=S)NR'R''$, $NR'R''$, $NR'C(=O)R''$, $NR'C(=S)R''$, $NR'C(=O)OR''$, $NR'C(=S)OR''$, $NR'C(=O)SR''$, $NR'C(=S)SR''$, $OC(=O)NR'R''$, $SC(=O)NR'R''$, $OC(=S)R'R''$, $SC(=S)R'R''$, $NR'C(=O)NR'R''$, y $NR'C(=S)NR'R''$; R' y R'' , en cada aparición, se seleccionan independientemente de hidrógeno, arilo y alquilo; y R'' , en cada aparición, se selecciona independientemente de arilo y alquilo; R^{30} es halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo, haloalquilo; alquenoilo, alquiniilo, alcoxi; haloalcoxi; heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo o cicloalquenoilo; R^a , R^{31a} y R^{31b} son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C_1-C_6 o haloalquilo de C_1-C_6 ; y t es 0, 1, 2, 3 o 4; en la que el grupo que contiene tetrazina está unido o enlazado directamente a un ácido hialurónico.

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o (IA), o una sal o composición farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para tratar o prevenir una afección o trastorno en combinación con una composición de soporte terapéutico, comprendiendo la composición de soporte terapéutico un soporte biocompatible y un grupo que contiene tetrazina de fórmula



en la que

R^{20} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, alquilo, alquenoilo, alquiniilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo, cicloalquenoilo, CF_3 , CF_2-R' , NO_2 , OR' , SR' , $C(=O)R'$, $C(=S)R'$, $OC(=O)R''$, $SC(=O)R''$, $OC(=S)R''$, $SC(=S)R''$, $S(=O)R'$, $S(=O)_2R''$, $S(=O)_2NR'R''$, $C(=O)O-R'$, $C(=O)S-R'$, $C(=S)O-R'$, $C(=S)S-R'$, $C(=O)NR'R''$, $C(=S)NR'R''$, $NR'R''$, $NR'C(=O)R''$, $NR'C(=S)R''$, $NR'C(=O)OR''$, $NR'C(=S)OR''$, $NR'C(=O)SR''$, $NR'C(=S)SR''$, $OC(=O)NR'R''$, $SC(=O)NR'R''$, $OC(=S)R'R''$, $SC(=S)R'R''$, $NR'C(=O)NR'R''$, y $NR'C(=S)NR'R''$;

R' y R'' , en cada aparición, se seleccionan independientemente de hidrógeno, arilo y alquilo;

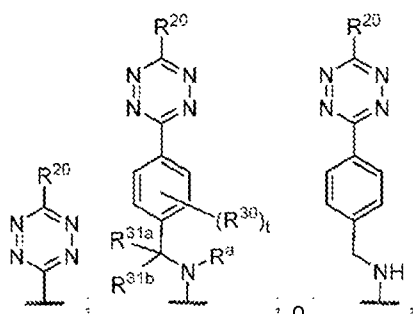
R'' , en cada aparición, se selecciona independientemente de arilo y alquilo;

R^{30} es halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo, haloalquilo; alquenoilo, alquiniilo, alcoxi; haloalcoxi; heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo o cicloalquenoilo;

R^a , R^{31a} y R^{31b} son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C_1-C_6 o haloalquilo de C_1-C_6 ; y t es 0, 1, 2, 3 o 4.

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o (IA), o una sal o composición farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para mejorar o provocar una respuesta inmune en un sujeto, en la que D es un agente terapéutico, y la cantidad terapéuticamente eficaz potencia o provoca una respuesta inmune contra un cáncer en el sujeto.

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable, o una composición del mismo, en la que D es un agente terapéutico; y una composición de soporte terapéutico, comprendiendo la composición de soporte terapéutico un soporte biocompatible y un grupo que contiene tetrazina de fórmula



como se define aquí para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno, tal como cáncer, infecciones, lesión tisular, estenosis, isquemia, revascularización, infarto de miocardio, arritmias, oclusión vascular, inflamación, trastornos autoinmunes, rechazo de trasplantes, degeneración macular, artritis reumatoide, osteoartritis, infecciones periprotésicas, y sinovitis vellonodular pigmentada.

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o (IA), o una sal farmacéuticamente aceptable, o una composición del mismo, en la que D es un agente terapéutico, para uso en la mejora o provocación de una respuesta inmune.

Aspectos de la presente descripción incluyen una composición de soporte que incluye un soporte, en la que el soporte es un polímero, un material líquido viscoso o no viscoso, un gel, un soporte de hidrogel, o una partícula de soporte. La composición de soporte también incluye un primer agente de unión unido al soporte y que comprende un primer grupo funcional bioortogonal que es miembro de un primer par de unión complementario. Además, si el soporte comprende la partícula de soporte, entonces la composición de soporte puede comprender un agente de direccionamiento unido a la partícula de soporte. En algunas realizaciones, el soporte es un soporte de hidrogel. En algunas realizaciones, el soporte es una partícula de soporte, y la composición de soporte incluye el agente de direccionamiento unido a la partícula de soporte. En algunas realizaciones, la composición de soporte incluye un primer enlazador que enlaza covalentemente el primer agente de unión al soporte. En algunas realizaciones, el primer grupo funcional bioortogonal es una tetrazina. En algunas realizaciones, la partícula de soporte es una nanopartícula o una micropartícula.

En algunas realizaciones, la carga útil funcionalizada comprende un primer agente de unión complementario que se une selectivamente al primer agente de unión, una primera carga útil y un enlazador que enlaza covalentemente el primer agente de unión complementario a la primera carga útil. En algunas realizaciones, la primera carga útil incluye un agente terapéutico, un agente de diagnóstico o un agente de direccionamiento. En algunas realizaciones, el enlazador comprende un enlazador liberable.

Aspectos de la presente descripción incluyen una composición de soporte para uso en un método para administrar una cantidad eficaz de una carga útil a una ubicación diana en un sujeto. La composición de soporte incluye un soporte, en la que el soporte es un polímero, un material líquido viscoso o no viscoso, un gel, un soporte de hidrogel, o una partícula de soporte. La composición de soporte también incluye un primer agente de unión unido al soporte y que comprende un primer grupo funcional bioortogonal que es miembro de un primer par de unión complementario. Además, si el soporte comprende la partícula de soporte, entonces la composición de soporte puede comprender además un agente de direccionamiento unido a la partícula de soporte. El método también incluye administrar al sujeto una primera carga útil funcionalizada que comprende un primer agente de unión complementario que se une selectivamente al primer agente de unión, una primera carga útil, y un enlazador que enlaza covalentemente el primer agente de unión complementario a la primera carga útil, de modo que la primera la carga útil funcionalizada se une a la composición de soporte.

En algunas realizaciones, el enlazador incluye un enlazador liberable, y el método también incluye liberar la primera carga útil, administrando así la primera carga útil a la ubicación diana en el sujeto.

Los aspectos de la presente descripción también incluyen un kit. El kit incluye una composición de soporte que incluye un soporte, en la que el soporte es un polímero, un material líquido viscoso o no viscoso, un gel, un soporte de hidrogel, o una partícula de soporte. La composición de soporte también incluye un primer agente de unión unido al soporte y que comprende un primer grupo funcional bioortogonal que es miembro de un primer par de unión complementario. Además, si el soporte comprende la partícula de soporte, entonces la composición de soporte comprende además un agente de direccionamiento unido a la partícula de soporte. El kit también incluye un envase que contiene la composición de soporte.

En algunas realizaciones, el kit incluye una primera carga útil funcionalizada. En algunas realizaciones, la primera carga útil funcionalizada comprende un primer agente de unión complementario que se une selectivamente al primer agente de unión, una primera carga útil, y un enlazador que enlaza covalentemente el primer agente de unión complementario a la primera carga útil.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 muestra datos de solubilidad.

La FIG. 2 muestra la inmovilidad del gel después de la inyección. Se inyectó por vía subcutánea hidrogel modificado con Tz (HMT) modificado covalentemente con Cianina 5.5, un fluoróforo, en el flanco de un ratón (100 μ l de disolución al 2,5 % p/p). Se tomaron imágenes del animal en diferentes momentos (tiempo 0, 4 horas y 2 semanas) confirmando la ubicación del hidrogel.

La FIG. 3 muestra imágenes representativas de prueba *in vivo* de concepto de captura y liberación con HNT implantado y un fluoróforo TCO.

Las FIG. 4A, 4B y 4C muestran los efectos terapéuticos del profármaco doxorubicina en un modelo de xenoinjerto de sarcoma de tejido blando (HT1080). En la FIG. 4A, a ratones NCR/nu:nu se les inyectaron células de fibrosarcoma humano HT-1080 el día 0. Después, se inyectó a los tumores un gel activador modificado con tetrazina (TAG) de alginato, y se les administraron dosis intravenosas de profármaco de doxorubicina (TCO-Dox) o una dosis máxima tolerable de doxorubicina o controles negativos. Los tamaños de los tumores se monitorizaron durante más de 16 semanas (n=4-10). La FIG. 4B muestra la evaluación de los recuentos de reticulocitos como sustituto de la supresión de la médula ósea en un modelo de xenoinjerto de sarcoma de tejido blando. Los ratones recibieron vehículo, doxorubicina, o profármaco de doxorubicina después de la inyección de TAG de alginato. Las muestras se recogieron 3 días después del último tratamiento. Los datos son medias $\pm$ DE (n=2). La FIG. 4C muestra cambios de peso corporal en respuesta a la terapia. Los datos son cambios medios de peso corporal como porcentaje del peso inicial $\pm$ DE (n=5-10). Los valores de P se determinaron mediante la prueba de la t no apareada.

La FIG. 5 muestra la síntesis del profármaco inhibidor de CSF1R TCO-PLX3397 (3A y 3B).

La FIG. 6 muestra que la modificación estructural aumenta la solubilidad acuosa de TCO-dox. TCO-dox modificado con un grupo morfolina (MO) es más de 70 veces más soluble en disolución salina que el TCO-dox normal.

La FIG. 7 muestra la síntesis de TCO-daptomicina (3) que porta múltiples grupos carboxilo.

Las FIG. 8A-8D muestran química bioortogonal *in vivo* para la concentración y activación de profármacos sistémicos. La FIG. 8A muestra un ácido hialurónico modificado con Tz (HAT) inyectado en el área en la que se necesitan los fármacos, usado como recubrimiento en un dispositivo médico implantado o permanente, o coimplantado con un dispositivo médico implantado o permanente. En la FIG. 8B, se administra al paciente un fármaco modificado covalentemente con un carbamato de TCO (profármaco). En la FIG. 8C, cuando el profármaco y el material entran en contacto, la rápida reacción de cicloadición aumenta la cantidad de fármaco presente en la ubicación deseada, con la liberación concomitante de nitrógeno. En la FIG. 8D, el cicloaducto resultante se isomeriza *in vivo* provocando la descomposición del enlazador de carbamato autoinmolable, liberando un equivalente de dióxido de carbono, y lo más importante, el fármaco en el sitio local para realizar su función terapéutica.

Las FIG. 9A-9C comparan los efectos antibacterianos de la vacomicina y la TCO-vancomicina, con o sin modificación del alginato con tetrazina. La FIG. 9A muestra las concentraciones inhibitorias mínimas de tres tratamientos sobre *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina luminiscente (MSSA) *in vitro*. En la FIG. 9B, el TAG de alginato + TCO-vancomicina fue eficaz para exterminar MSSA a una MIC de 2,0 nmoles/ml, mientras que el control negativo no inhibió el crecimiento bacteriano a estas concentraciones. La luminiscencia se midió 16 horas después de la adición de las bacterias según protocolos estándar. En la FIG. 9C, los resultados se confirman mediante microcalorimetría isotérmica,

en la que TCO-vancomicina y TAG de alginato tuvieron un efecto antibacteriano significativamente mayor en comparación con los controles con gel de alginato no modificado o ningún tratamiento.

La FIG. 10A-10D es un esquema que muestra una estrategia basada en química bioortogonal para la concentración y activación de profármacos antibióticos administrados sistémicamente. En la FIG. 10A, se inyecta un hidrogel modificado con tetrazina (HMT) en las proximidades del área infectada. En la FIG. 10B, se administra al paciente un antibiótico modificado covalentemente con un TCO (profármaco). En la FIG. 10C, cuando el profármaco y el material entran en contacto, la reacción inversa de Diels-Alder con demanda de electrones aumenta la cantidad de antibiótico presente cerca del sitio infectado. En la FIG. 10D, el producto de cicloadición resultante se isomeriza espontáneamente, liberando un equivalente de dióxido de carbono, y lo más importante, el antibiótico activo.

La FIG. 11 es un esquema que muestra el mecanismo molecular subyacente de una estrategia de "Captura y Liberación".

La FIG. 12 es un esquema que muestra que las tetrazinas 1, 2 y 3 se pueden usar para modificar el hidrogel de alginato, H. Se pueden sintetizar tres hidrogeles diferentes modificados con una tetrazina, HMT 1, HMT 2 y HMT 3.

La FIG. 13 muestra compuestos que pueden usarse durante estudios preliminares: vancomicina modificada con un TCO liberable, Vanco-R-TCO, 4; daptomicina modificada con un TCO liberable, Dapto-R-TCO, 5; rodamina modificada con un TCO liberable, Rh-R-TCO, 6; y fluoresceína modificada con un TCO no liberable, FL-NR-TCO, 7.

La FIG. 14A es la caracterización ^1H RMN de HMT 1.

La FIG. 14B muestra las pruebas del proceso de "captura y liberación" *in vitro* que convierte Vanco-R-TCO en vancomicina y Dapto-R-TCO en daptomicina. Los experimentos *in vitro* se realizaron por triplicado.

La FIG. 15 muestra el protocolo de síntesis y ensayo para determinar la estabilidad funcional de HMT 1 en PBS durante 14 días a 37 °C.

La FIG. 16 muestra los resultados de la administración guiada de material de vancomicina contra la infección bacteriana por MRSA. Las imágenes *in vivo* muestran que el TAG de alginato con Cy5 + TCO-vanco (Shasqi Tx) y el TAG de alginato + vanco modificado con Cy5 (control positivo) eliminan las bacterias luminiscentes en 24 h, mientras que el control de vehículo no lo hace, y confirma la presencia de TAG en el sitio de infección. El cultivo de tejido infectado confirma que vanco y TCO-vanco reducen la carga bacteriana mucho más que el control (** $p < 0,005$). No se observaron diferencias entre vanco y TCO-vanco en cuanto a eficacia.

La FIG. 17 muestra que TCO-Dapto + TAG (Shasqi Tx) reduce la infección por MRSA *in vivo* en una articulación de rodilla. La FIG. 17 muestra la carga bacteriana de la articulación de la rodilla recolectada de ratas inyectadas con bacterias MRSA y TAG (rodilla derecha) o gel de control de alginato no modificado (rodilla izquierda). El profármaco TCO-Dapto se administró sistémicamente a través de la vena de la cola. Media $\pm$ SEM de $n=3$, prueba de la t de Welch de dos colas no apareada, * $p < 0,05$.

Las FIG. 18A y 18B son un conjunto de gráficos que muestran que Shasqi Tx (gel modificado con tetrazina inyectado localmente; seguido de profármaco TCO-doxorrubicina inyectado por vía intravenosa) reduce la exposición sistémica a la quimioterapia citotóxica. Los ratones inyectados con gel modificado con tetrazina reciben TCO-Dox o doxorrubicina por vía intravenosa. El suero y los tejidos se recolectan 5 minutos después de la inyección para reflejar la Cmax analizada mediante LC-MS/MS. La FIG. 20A muestra la concentración de TCO-Dox y Dox en suero después del tratamiento con Shasqi Tx o Doxorrubicina. Shasqi Tx, $n=1$; Dox, la barra de error representa la DE de $n=2$. La FIG. 20B muestra la concentración de Doxorrubicina activa en corazón, hígado y gel en ratones tratados con Shasqi Tx o Doxorrubicina. Media $\pm$ SEM de $n=2$.

La FIG. 19 es un conjunto de gráficos que muestran el porcentaje de gel restante determinado por la intensidad de fluorescencia del sitio de inyección con respecto al valor posterior a la inyección del día 7, media $\pm$ SEM de $n=3$, prueba de la t de una cola pareada, * $p < 0,05$, ** $p < 0,005$.

La FIG. 20 es un conjunto de gráficos que muestran la señal de fluorescencia absoluta del tejido del sitio de inyección del gel y los órganos recogidos después de la necropsia.

La FIG. 21 es un conjunto de gráficos que muestran la señal de fluorescencia por gramo de tejido del sitio de inyección de gel tisular y órganos recogidos después de la necropsia por gramo de tejido.

La FIG. 22 es un gráfico que muestra el % de cambio de peso corporal después del tratamiento con TAG de alginato y TCO-Dox-Ácido. 50 mg/kg y 75 mg/kg administrados una vez al día los días 1-5. 100 mg/kg administrados el día 1. 125 mg/kg administrados una semana después.

La FIG. 23 es un gráfico que muestra la MTD de TCO-Dox-Ácido (SQP-101) en ratones NSG a los que se les inyectó TAG de alginato. Doxorubicina (DOX) o TCO-Dox-Ácido administrados según los regímenes indicados. Dosificación en ratones atímicos reproducida de Albright, et al., *Mol. Cancer Ther.* 2005, 4 (5) 751-760.

La FIG. 24A-24C es un conjunto de gráficos que muestran que Shasqi Tx (gel modificado con tetrazina inyectado localmente, seguido de profármaco TCO-doxorrubicina inyectado por vía intravenosa) es más seguro y más eficaz que la doxorubicina en un canino. Un perro con tumor recibió múltiples tratamientos con doxorubicina y Shasqi Tx (gel y profármaco de doxorubicina). La FIG. 24A muestra la respuesta del tumor al tratamiento con ciclos de Dox y Shasqi Tx. Diámetro tumoral más largo determinado mediante tomografías computarizadas. La FIG. 24B muestra el porcentaje de cambio de peso corporal después del ciclo de tratamiento con Dox (día 52) y TCO-Dox (día 131). La FIG. 24C muestra que Shasqi Tx permite administrar alrededor de 15 veces la dosis máxima de por vida de Dox sin efectos secundarios importantes (Matus, et al. *J. Vet. Int. Med.*, 1992, 6, 82-88).

FIG. 25 muestra el espectro ^1H RMN de la Morfolina-TCO-Doxorrubicina del Ejemplo 1.

La FIG. 26 muestra el espectro ^1H RMN del Ácido-TCO-Doxorrubicina del Ejemplo 3.

La FIG. 27 muestra el espectro ^1H RMN para la N-Methylpiperazinyethyl-TCO-doxorrubicina del Ejemplo 4.

La FIG. 28 muestra el espectro ^1H RMN para el diol 3 del Ejemplo 6.

La FIG. 29 muestra el espectro ^1H RMN del alcohol tosílico 4 del Ejemplo 6.

La FIG. 30 muestra el espectro ^1H RMN para el Alcohol 2 del Ejemplo 6.

La FIG. 31 muestra diferentes ubicaciones para la sustitución de un grupo TCO en daptomicina.

Las FIG. 32A y 32B muestran protocolos sintéticos para preparar profármacos de TCO-daptomicina solubles de la FIG. 31.

La FIG. 33A muestra diversos profármacos de TCO-daptomicina con diferentes enlazadores.

La FIG. 33B muestra el mecanismo para la liberación de daptomicina a partir de profármacos en la FIG. 33A.

La FIG. 34 es un esquema que muestra la síntesis de los conjugados de daptomicina en la FIG. 33A: (a) cloroformiato de p-nitrofenilo, trietilamina; (b) daptomicina; (c) trietilamina; (d) Amberlyst 15, seguido de cloroformiato de p-nitrofenilo; (e) daptomicina; (f) trietilamina; (g) Amberlyst 15, seguido de cloroformiato de p-nitrofenilo; (h) daptomicina.

La FIG. 35 muestra un mecanismo de activación local de profármacos de daptomicina.

La FIG. 36A muestra profármacos de TCO-daptomicina solubles alternativos.

La FIG. 36B muestra una síntesis de profármacos en la FIG. 36A.

La FIG. 37 muestra parámetros de dosificación y eventos adversos de la administración de TCO-dox en un perro.

La FIG. 38 muestra que la TCO-doxorrubicina es significativamente menos tóxica que las formulaciones de doxorubicina existentes en un modelo canino. Se administró TCO-doxorrubicina a un perro a una dosis 18 veces mayor que la dosis única MTD para la doxorubicina normal, sin efectos adversos observables. Esto también representa una mejora significativa con respecto al Dox-péptido de Merck descrito por DeFeo-Jones et al. in *Mol. Cancer Therap.* 2002, 451-459 y *Nat. Med.*, 2000, 1248-1252, basado en el uso informado de 3 veces la MTD de doxorubicina en perros. Los datos presentados se extrapolan de la MTD publicada.

La FIG. 39 muestra que un perro tratado con TCO-doxorrubicina o doxorrubicina a las dosis indicadas en la FIG. 38 experimentó una caída en el peso corporal del 3,5 % durante el tratamiento con doxorrubicina. Posteriormente, el mismo animal ganó 3,6 % de peso corporal después del tratamiento con TCO-doxorrubicina. La FIG. 39 también muestra el recuento de neutrófilos y los niveles de plaquetas después del tratamiento. Las líneas discontinuas representan el límite superior e inferior de los valores normales. Las marcas de tiempo de tratamiento se indican mediante barras debajo del gráfico.

La FIG. 40 muestra efectos sobre leucocitos, linfocitos, monocitos y eosinófilos en un perro después de la administración de TCO-doxorrubicina o doxorrubicina.

La FIG. 41A muestra la liberación de daptomicina del conjugado de daptomicina-TCO-glicina del Ejemplo 13B tras el contacto con TAG de alginato en PBS después de tres dosis separadas.

La FIG. 41B muestra la liberación de vancomicina del conjugado Vanco-Bis-TCO-glicina del Ejemplo 13C tras el contacto con TAG de alginato en PBS después de tres dosis separadas.

La FIG. 42 muestra los resultados in vivo para el tratamiento de dosis única o múltiple de infección por MRSA con daptomicina o la daptomicina-TCO-glicina del Ejemplo 13B.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La información técnica expuesta a continuación puede en algunos aspectos ir más allá del alcance de la invención actualmente reivindicada, que se define en las reivindicaciones adjuntas. La información técnica adicional se proporciona para ubicar la actual invención en un contexto técnico más amplio e ilustrar posibles desarrollos técnicos relacionados. Esta información técnica adicional que no cae dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas no forma parte de la invención que se reivindica actualmente.

La presente descripción proporciona composiciones bioortogonales para administrar agentes en un sujeto. La descripción también proporciona métodos para producir las composiciones, así como métodos para usar las mismas. Las realizaciones de cada uno se describen con más detalle en las secciones siguientes.

Las composiciones bioortogonales de la presente descripción se pueden usar para administrar una carga útil a una ubicación diana en un sujeto, tal como administrar selectivamente una carga útil a una ubicación diana específica en el sujeto. En ciertas realizaciones, las composiciones bioortogonales incluyen una composición de soporte que tiene diferentes grupos funcionales bioortogonales, que pueden administrarse a un sujeto (por ejemplo, inyectarse o implantarse) en una ubicación diana deseada en el sujeto, o pueden administrarse sistémicamente y dirigirse a una ubicación específica o dirigirse a células específicas en el sujeto a través de un agente de direccionamiento.

La presente descripción también proporciona composiciones de carga útil funcionalizadas que incluyen una carga útil unida a un grupo funcional bioortogonal, que es complementario a uno de los grupos funcionales bioortogonales de la composición de soporte. Tras la administración de la carga útil funcionalizada al sujeto (por ejemplo, administración sistémica), puede producirse la unión selectiva entre parejas de unión bioortogonales complementarias (por ejemplo, entre un grupo funcional bioortogonal de la composición de soporte y su grupo funcional bioortogonal complementario de una carga útil funcionalizada), localizando así la carga útil en la ubicación o células diana deseadas en el sujeto.

1. Definiciones

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados aquí tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica. En caso de conflicto, prevalecerá el presente documento, incluidas las definiciones. Los métodos y materiales preferidos se describen a continuación, aunque en la práctica o en las pruebas de la presente invención se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos aquí. Los materiales, métodos y ejemplos descritos aquí son únicamente ilustrativos, y no pretenden ser limitativos.

Los términos "comprende o comprenden", "incluye o incluyen", "que tiene", "tiene", "puede", "contiene o contienen", y variantes de los mismos, como se usan aquí, pretenden ser frases, términos o palabras de transición abiertos que no excluyen la posibilidad de actos o estructuras adicionales. Las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. La presente descripción también contempla otras realizaciones "que comprenden", "que consisten en" y "que consisten esencialmente en" las realizaciones o elementos presentados aquí, ya sea que se expongan explícitamente o no.

El modificador "alrededor de", usado en relación con una cantidad, incluye el valor declarado, y tiene el significado dictado por el contexto (por ejemplo, incluye al menos el grado de error asociado con la medida de la

cantidad particular). También se debe considerar que el modificador "alrededor de" describe el intervalo definido por los valores absolutos de los dos puntos finales. Por ejemplo, la expresión "de alrededor de 2 a alrededor de 4" también describe el intervalo "de 2 a 4". El término "alrededor de" puede referirse a más o menos 10 % del número indicado. Por ejemplo, "alrededor de 10 %" puede indicar un intervalo de 9 % a 11 %, y "alrededor de 1" puede significar de 0,9 a 1,1. Otros significados de "alrededor de" pueden resultar evidentes a partir del contexto, tal como redondear, por lo que, por ejemplo, "alrededor de 1" también puede significar de 0,5 a 1,4.

El término conjuntivo "o" incluye todas y cada una de las combinaciones de uno o más elementos enumerados asociados por el término conjuntivo. Por ejemplo, la frase "un aparato que comprende A o B" puede referirse a un aparato que incluye A en el que B no está presente, un aparato que incluye B en el que A no está presente, o un aparato en el que A y B están presentes. Las frases "al menos uno de A, B,... y N" o "al menos uno de A, B,... N, o combinaciones de los mismos" se definen en el sentido más amplio para significar uno o más elementos seleccionados del grupo que comprende A, B, . . . y N, es decir, cualquier combinación de uno o más de los elementos A, B,... o N, incluyendo cualquier elemento solo o en combinación con uno o más de los otros elementos que también pueden incluir, en combinación, elementos adicionales no listados.

Las definiciones de grupos funcionales específicos y términos químicos se describen con más detalle a continuación. Para los fines de esta descripción, los elementos químicos se identifican según la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75.^a edición, cubierta interior, y los grupos funcionales específicos se definen generalmente como se describe allí. Además, los principios generales de la química orgánica, así como los restos funcionales específicos y la reactividad, se describen en Organic Chemistry, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito, 1999; Smith y March's Advanced Organic Chemistry, 5.^a edición, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 2001; Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., Nueva York, 1989; Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 3.^a edición, Cambridge University Press, Cambridge, 1987.

El término "alcoxi", como se usa aquí, se refiere a un grupo alquilo, como se define aquí, unido al resto molecular original a través de un átomo de oxígeno. Ejemplos representativos de alcoxi incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, 2-propoxi, butoxi y terc-butoxi.

El término "alquilo", como se usa aquí, significa una cadena hidrocarbonada saturada, lineal o ramificada, que contiene de 1 a 30 átomos de carbono. La expresión "alquilo inferior" o "alquilo de C₁-C₆" significa un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 6 átomos de carbono. La expresión "alquilo de C₁-C₃" significa un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 3 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, *iso*-butilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo, isopentilo, neopentilo, *n*-hexilo, 3-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, *n*-heptilo, *n*-octilo, *n*-nonilo, y *n*-decilo.

El término "alqueno", como se usa aquí, significa una cadena hidrocarbonada que contiene de 2 a 30 átomos de carbono con al menos un doble enlace carbono-carbono. El grupo alqueno puede estar sustituido o no sustituido. Por ejemplo, el grupo alqueno puede estar sustituido con un grupo arilo, tal como fenilo.

El término "alquino", como se usa aquí, se refiere a grupos hidrocarbilo monovalentes lineales o ramificados que tienen de 2 a 30 átomos de carbono, tales como 2 a 20, o 2 a 10 átomos de carbono, y que tienen al menos 1 sitio de insaturación de triple enlace. El término "alquino" también incluye grupos cicloalquilo no aromáticos de 5 a 20 átomos de carbono, tales como de 5 a 10 átomos de carbono, que tienen anillos sencillos o múltiples, y que tienen al menos un triple enlace. Los ejemplos de dichos grupos alquino incluyen, pero no se limitan a, acetileno (-C≡CH) y propargilo (-CH₂C≡CH), y restos de cicloalquino, tales como, pero no se limitan a, restos de ciclooctino sustituidos o no sustituidos.

El término "alcoxialquilo", como se usa aquí, se refiere a un grupo alcoxi, como se define aquí, unido al resto molecular original a través de un grupo alquilo, como se define aquí.

El término "alqueno", como se usa aquí, se refiere a un grupo divalente derivado de un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada de 1 a 30 átomos de carbono, por ejemplo de 2 a 10 átomos de carbono. Los ejemplos representativos de alqueno incluyen, pero no se limitan a, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂CH₂-, y -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-.

El término "aminoácido" se refiere tanto a aminoácidos naturales como a aminoácidos no naturales. También incluye aminoácidos naturales y no naturales protegidos.

El término "arilo", como se usa aquí, se refiere a un grupo fenilo o sistemas anulares condensados arílicos bicíclicos o arílicos tricíclicos. Los sistemas anulares condensados bicíclicos se ejemplifican mediante un grupo fenilo unido al resto molecular original y condensado con un grupo fenilo. Los sistemas anulares condensados tricíclicos se ejemplifican mediante un grupo fenilo unido al resto molecular original y condensado con otros dos grupos fenilo. Ejemplos representativos de arilos bicíclicos incluyen, pero no se limitan a, naftilo. Ejemplos

representativos de arilos tricíclicos incluyen, pero no se limitan a, antracenilo. Los arilos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos están conectados al resto molecular original a través de cualquier átomo de carbono contenido dentro de los anillos, y pueden estar sustituidos o no sustituidos.

5 El término "azida", como se usa aquí, se refiere al grupo funcional $-N_3$.

10 El término "cicloalquilo", como se usa aquí, se refiere a un sistema anular carbocíclico que contiene tres a diez átomos de carbono, ningún heteroátomo y ningún doble enlace. Los ejemplos representativos de cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclononilo y ciclodecilo. "Cicloalquilo" también incluye sistemas anulares carbocíclicos en los que un grupo cicloalquilo está unido al resto molecular original y está condensado con un grupo arilo como se define aquí, un grupo heteroarilo como se define aquí, o un heterociclo como se define aquí.

15 El término "cicloalquenilo", como se usa aquí, significa un sistema anular monocíclico o multicíclico no aromático que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono, y que tiene preferiblemente de 5-10 átomos de carbono por anillo. Los anillos cicloalquenilo monocíclicos ejemplares incluyen ciclopentenilo, ciclohexenilo o cicloheptenilo.

20 El término "cicloocteno", como se usa aquí, se refiere a un grupo alquilo cíclico no aromático sustituido o no sustituido de 8 átomos de carbono, que tiene un anillo sencillo con un doble enlace. Ejemplos de tales grupos cicloocteno incluyen, pero no se limitan a, transcicloocteno (TCO) sustituido o no sustituido.

25 El término "fluoroalquilo", como se usa aquí, significa un grupo alquilo, como se define aquí, en el que uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho átomos de hidrógeno están reemplazados por flúor. Los ejemplos representativos de fluoroalquilo incluyen, pero no se limitan a, 2-fluoroetilo, 2,2,2-trifluoroetilo, trifluorometilo, difluorometilo, pentafluoroetilo y trifluoropropilo, tal como 3,3,3-trifluoropropilo.

30 El término "alcoxilfluoroalquilo", como se usa aquí, se refiere a un grupo alcoxi, como se define aquí, unido al resto molecular original a través de un grupo fluoroalquilo, como se define aquí.

El término "fluoroalcoxi", como se usa aquí, significa que al menos un grupo fluoroalquilo, como se define aquí, está unido al resto molecular original a través de un átomo de oxígeno. Ejemplos representativos de fluoroalquiloxi incluyen, pero no se limitan a, difluorometoxi, trifluorometoxi y 2,2,2-trifluoroetoxi.

35 El término "halógeno" o "halo", como se usa aquí, significa Cl, Br, I, o F.

El término "haloalquilo", como se usa aquí, significa un grupo alquilo, como se define aquí, en el que uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho átomos de hidrógeno están reemplazados por un halógeno.

40 El término "haloalcoxi", como se usa aquí, significa que al menos un grupo haloalquilo, como se define aquí, está unido al resto molecular original a través de un átomo de oxígeno.

45 El término "heteroalquilo", como se usa aquí, significa un grupo alquilo, como se define aquí, en el que uno o más de los átomos de carbono se han reemplazado por un heteroátomo seleccionado de S, Si, O, P y N. El heteroátomo puede estar oxidado. Ejemplos representativos de heteroalquilos incluyen, pero no se limitan a, éteres alquílicos, alquilaminas secundarias y terciarias, y sulfuros de alquilo.

50 El término "heteroarilo", como se usa aquí, se refiere a un anillo monocíclico aromático o un sistema anular bicíclico aromático o un sistema anular tricíclico aromático. Los anillos monocíclicos aromáticos son anillos de cinco o seis miembros que contienen al menos un heteroátomo seleccionado independientemente del grupo que consiste en N, O y S (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados independientemente de O, S y N). Los anillos monocíclicos aromáticos de cinco miembros tienen dos dobles enlaces, y los anillos monocíclicos aromáticos de seis miembros tienen tres dobles enlaces. Los grupos heteroarilo bicíclicos se ejemplifican mediante un anillo heteroarilo monocíclico unido al resto molecular original y condensado con un grupo cicloalquilo monocíclico, como se define aquí, un grupo arilo monocíclico, como se define aquí, un grupo heteroarilo monocíclico, como se define aquí, o un heterociclo monocíclico, como se define aquí. Los grupos heteroarilo tricíclicos se ejemplifican mediante un anillo heteroarilo monocíclico unido al resto molecular original y condensado con dos de un grupo cicloalquilo monocíclico, como se define aquí, un grupo arilo monocíclico, como se define aquí, un grupo heteroarilo monocíclico, como se define aquí, o un heterociclo monocíclico, como se define aquí. Los ejemplos representativos de heteroarilo monocíclico incluyen, pero no se limitan a, piridinilo (incluyendo piridin-2-ilo, piridin-3-ilo, piridin-4-ilo), pirimidinilo, pirazinilo, tienilo, furilo, tiazolilo, tiadiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, y 2-oxo-1,2-dihidropiridinilo. Los ejemplos representativos de heteroarilo bicíclico incluyen, pero no se limitan a, cromenilo, benzotienilo, benzodioxolilo, benzotriazolilo, quinolinilo, tienopirrolilo, tienotienilo, imidazotiazolilo, benzotiazolilo, benzofuranilo, indolilo, quinolinilo, imidazopiridina, benzoaxadiazolilo, y benzopirazolilo. Ejemplos representativos de heteroarilo tricíclico incluyen, pero no se limitan a, dibenzofuranilo y dibenzotienilo. Los heteroarilos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos están conectados al resto molecular original a

través de cualquier átomo de carbono o cualquier átomo de nitrógeno contenido en los anillos, y pueden estar sustituidos o no sustituidos.

El término "heterociclo" o "heterocíclico", como se usa aquí, significa un heterociclo monocíclico, un heterociclo bicíclico, o un heterociclo tricíclico. El heterociclo monocíclico es un anillo de tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho miembros que contiene al menos un heteroátomo seleccionado independientemente del grupo que consiste en O, N y S. El anillo de tres o cuatro miembros contiene ningún doble enlace o un doble enlace, y un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en O, N y S. El anillo de cinco miembros contiene ningún doble enlace o un doble enlace, y uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S. El anillo de seis miembros contiene ningún doble enlace, uno o dos dobles enlaces, y uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S. Los anillos de siete y ocho miembros contienen ningún doble enlace, uno, dos o tres dobles enlaces, y uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S. Los ejemplos representativos de heterociclos monocíclicos incluyen, pero no se limitan a, azetidino, azepano, aziridino, diazepano, 1,3-dioxano, 1,3-dioxolano, 1,3-ditiano, 1,3-ditiano, 1,3-dimetilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona, imidazolinilo, imidazolidinilo, isotiazolinilo, isotiazolidinilo, isoxazolinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, oxadiazolinilo, oxadiazolidinilo, oxazolinilo, oxazolidinilo, oxetano, piperazinilo, piperidinilo, pirano, pirazolinilo, pirazolidinilo, pirrolinilo, pirrolidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirano, tetrahidropiridinilo, tetrahidrotienilo, tiadiazolinilo, tiadiazolidinilo, 1,2-tiazinano, 1,3-tiazinano, tiazolinilo, tiazolidinilo, tiomorfolinilo, 1,1-dioxidotiomorfolinilo (tiomorfolinsulfona), tiopirano, y tritiano. El heterociclo bicíclico es un heterociclo monocíclico condensado con un grupo fenilo, o un heterociclo monocíclico condensado con un cicloalquilo monocíclico, o un heterociclo monocíclico condensado con un cicloalqueno monocíclico, o un heterociclo monocíclico condensado con un heterociclo monocíclico, o un grupo espiroheterociclo, o un sistema anular anular heterocíclico monocíclico con puente en el que dos átomos no adyacentes del anillo están unidos por un puente de alqueno de 1, 2, 3 o 4 átomos de carbono, o un puente de alqueno de dos, tres o cuatro átomos de carbono. Los ejemplos representativos de heterociclos bicíclicos incluyen, pero no se limitan a, benzopirano, benzotiopirano, cromano, 2,3-dihidrobenzofuranilo, 2,3-dihidrobenzotienilo, 2,3-dihidroisoquinolina, 2-azaespiro[3,3]heptan-2-ilo, azabicyclo[2.2.1]heptilo (incluyendo 2-azabicyclo[2.2.1]hept-2-ilo), 2,3-dihidro-1H-indolilo, isoindolilo, octahidrociclopenta[c]pirrolilo, octahidropirrolpiridinilo, y tetrahidroisoquinolinilo. Los heterociclos tricíclicos se ejemplifican mediante un heterociclo bicíclico condensado con un grupo fenilo, o un heterociclo bicíclico condensado con un cicloalquilo monocíclico, o un heterociclo bicíclico condensado con un cicloalqueno monocíclico, o un heterociclo bicíclico condensado con un heterociclo monocíclico, o un heterociclo bicíclico en el que dos átomos no adyacentes del anillo bicíclico están unidos por un puente de alqueno de 1, 2, 3 o 4 átomos de carbono, o un puente de alqueno de dos, tres o cuatro átomos de carbono. Los ejemplos de heterociclos tricíclicos incluyen, pero no se limitan a, octahidro-2,5-epoxipentaleno, hexahidro-2H-2,5-metanociclopenta[b]furano, hexahidro-1H-1,4-metanociclopenta[c]furano, aza-adamantano (1-azabicyclo[3.3.1.1^{3,7}]decano) y oxa-adamantano (2-oxabicyclo[3.3.1.1^{3,7}]decano). Los heterociclos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos están conectados al resto molecular original a través de cualquier átomo de carbono o cualquier átomo de nitrógeno contenido en los anillos, y pueden estar sustituidos o no sustituidos.

El término "hidroxilo", como se usa aquí, significa un grupo -OH.

El término "hidroxialquilo", como se usa aquí, significa un grupo alquilo, como se define aquí, en el que uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho átomos de hidrógeno están reemplazados por un grupo hidroxilo.

En algunos casos, el número de átomos de carbono en un sustituyente hidrocarbilo (por ejemplo, alquilo o cicloalquilo) se indica mediante el prefijo "C_x-C_y" o "C_{x-y}", en el que x es el número mínimo e y es el número máximo de átomos de carbono en el sustituyente. Así, por ejemplo, "alquilo de C₁-C₃" y "alquilo de C₁₋₃" se refieren a un sustituyente alquilo que contiene de 1 a 3 átomos de carbono. Las dos convenciones "C_x-C_y" y "C_{x-y}" se usan indistintamente y tienen el mismo significado.

En algunos casos, el número de átomos de carbono en un sustituyente hidrocarbilo (por ejemplo, alquilo o cicloalquilo) se indica mediante el prefijo "C_x-C_y", en el que x es el número mínimo e y es el número máximo de átomos de carbono en el sustituyente. Así, por ejemplo, "alquilo de C₁-C₃" se refiere a un sustituyente alquilo que contiene de 1 a 3 átomos de carbono.

El término "sustituido" se refiere a un grupo que puede estar además sustituido con uno o más grupos sustituyentes distintos de hidrógeno. Los grupos sustituyentes incluyen, pero no se limitan a, halógeno, =O, =S, ciano, nitro, fluoroalquilo, alcóxifluoroalquilo, fluoroalcoxi, alquilo, alqueno, alquino, haloalquilo, haloalcoxi, heteroalquilo, cicloalquilo, cicloalqueno, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilalquilo, heteroarilalquilo, arilalquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcóxialquilo, alqueno, arilo, fenilo, bencilo, amino, alquilamino, acilamino, aminoalquilo, arilamino, sulfonilamino, sulfinilamino, sulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, aminosulfonilo, sulfinilo, -COOH, cetona, amida, carbamato y acilo.

El término "tetrazina" se refiere a un grupo cíclico aromático sustituido o no sustituido de 2 átomos de carbono y 4 átomos de nitrógeno, que tiene un único anillo con tres dobles enlaces. Ejemplos de grupos tetrazina incluyen 1,2,3,4-tetrazina y 1,2,4,5-tetrazina. Como se usa aquí, la 1,2,4,5-tetrazina se denomina grupo "Tz".

La expresión "administrar selectivamente" se refiere a administrar un agente (por ejemplo, una carga útil) a un órgano o tejido (o parte del mismo) que necesita tratamiento o diagnóstico, sin unión significativa a otros órganos o tejidos (o partes de los mismos) no diana.

La expresión "carga útil" se refiere a un agente para su administración a un sitio diana en un sujeto. Las cargas útiles incluyen agentes terapéuticos, agentes de diagnóstico, agentes de direccionamiento, y similares.

La expresión "agente terapéutico" se refiere a un agente capaz de tratar y/o mejorar una afección o enfermedad, o uno o más síntomas de la misma, en un sujeto. Los agentes terapéuticos de la presente descripción también incluyen formas profármaco de agentes terapéuticos.

La expresión "agente de diagnóstico" se refiere a agentes que ayudan en el diagnóstico de afecciones o enfermedades. Los agentes de diagnóstico representativos incluyen agentes de formación de imágenes, tales como agentes paramagnéticos, sondas ópticas, radionucleidos, y similares. Los agentes paramagnéticos son agentes de formación de imágenes que son magnéticos bajo un campo aplicado externamente. Los ejemplos de agentes paramagnéticos incluyen, pero no se limitan a, partículas de hierro, incluidas nanopartículas y micropartículas de hierro. Las sondas ópticas son compuestos fluorescentes que pueden detectarse mediante excitación en una longitud de onda de radiación y detección en una segunda longitud de onda de radiación diferente. Las sondas ópticas de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, Cy5.5, Alexa 680, Cy5, DiD (perclorato de 1,1'-dioctadecil-3,3,3',3'-tetrametilindodicarbocianina) y DiR (1, yoduro de 1'-dioctadecil-3,3,3',3'-tetrametilindodicarbocianina). Otras sondas ópticas incluyen puntos cuánticos. Los radionucleidos son elementos que sufren una desintegración radiactiva detectable. Los radionucleidos útiles en realizaciones de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, ^3H , ^{11}C , ^{13}N , ^{18}F , ^{19}F , ^{60}Co , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{68}Ga , ^{82}Rb , ^{90}Sr , ^{90}Y , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I , ^{131}I , ^{137}Cs , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{211}At , Rn, Ra, Th, U, Pu y ^{241}Am .

La expresión "agente de direccionamiento" se refiere a un agente químico o biológico que se une específicamente a una diana (por ejemplo, un órgano o tejido diana), formando así una asociación estable entre el agente de direccionamiento y la diana específica. Por "asociado establemente" o "asociación estable" se entiende que un resto está unido a, o asociado de otro modo con, otro resto o estructura en condiciones fisiológicas estándar. Los enlaces pueden incluir enlaces covalentes e interacciones no covalentes, tales como, pero no se limitan a, enlaces iónicos, interacciones hidrófobas, enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals (por ejemplo, fuerzas de dispersión de London), interacciones dipolo-dipolo, y similares. Un agente de direccionamiento puede ser un miembro de un par de unión específico, tal como, pero no se limitan a: un miembro de un par receptor/ligando; una porción de un receptor que se une a un ligando; un miembro de un par anticuerpo/antígeno; un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo; un hapteno; un miembro de un par lectina/hidrato de carbono; un miembro de un par enzima/sustrato; biotina/avidina; biotina/estreptavidina; digoxina/antidigoxina; un miembro de un par de unión de aptámeros de ADN o ARN; un miembro de un par de unión a aptámero peptídico; y similares.

La expresión "órgano o tejido diana" se refiere a un órgano o tejido que está siendo seleccionado para la administración de la carga útil. Los órganos y tejidos representativos para el direccionamiento incluyen aquellos a los que pueden dirigirse agentes de direccionamiento químicos o biológicos, así como aquellos órganos y tejidos a los que no pueden dirigirse agentes de direccionamiento químicos o biológicos.

El término "implantación" se refiere a la implantación quirúrgica en el cuerpo de un sujeto.

La expresión "soporte biocompatible" se refiere a un material de soporte capaz de implantarse en el cuerpo de un sujeto y soportar agentes de unión, así como cargas útiles después de que los agentes de unión se conjugan. El soporte es compatible con el cuerpo del sujeto. Los soportes biocompatibles representativos incluyen, pero no se limitan a, polímeros, materiales líquidos viscosos o no viscosos, geles, hidrogeles tales como hidrogeles de polisacáridos, alginato, celulosa, quitosano, ácido hialurónico, sulfato de condroitina, heparina, y similares. Los soportes biocompatibles también incluyen partículas, tales como nanopartículas, micropartículas, y similares.

La expresión "poner en contacto" o "contacto" se refiere al proceso de poner en contacto al menos dos especies distintas de modo que puedan interactuar entre sí, tal como en una interacción o reacción de unión covalente o no covalente. Debe apreciarse, sin embargo, que el complejo o producto de reacción resultante se puede producir directamente a partir de una interacción o reacción entre los reactivos añadidos o a partir de un intermedio de uno o más de los reactivos o restos añadidos, que se puede producir en la mezcla de puesta en contacto.

El término "enlazador", "enlazado" o "enlazando" se refiere a un resto químico que une dos restos entre sí, tal como un compuesto de la presente descripción a un material biológico que se dirige contra un tipo específico de célula, tal como una célula cancerosa, otro tipo de célula enferma, o un tipo de célula normal. La unión puede realizarse mediante enlaces covalentes, enlaces iónicos, interacciones hidrófobas, enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals (por ejemplo, fuerzas de dispersión de London), interacciones dipolo-dipolo, y similares. El

enlace puede ser un enlace directo entre los dos restos que se unen, o indirectamente, tal como a través de un enlazador. Los enlazadores útiles en realizaciones de la presente descripción incluyen enlazadores que tienen 30 átomos de carbono o menos de longitud. En algunas realizaciones, los enlazadores tienen una longitud de 1-15 átomos de carbono, tales como 1-12 átomos de carbono, o 1-10 átomos de carbono, o 5-10 átomos de carbono de longitud. Los tipos de enlaces usados para unir el enlazadores al compuesto y molécula biológica de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, amidas, aminas, ésteres, carbamatos, ureas, tioéteres, tiocarbamatos, tiocarbonato y tioureas. También se pueden usar otros tipos de enlaces en realizaciones de la presente descripción. Se definen aquí específicamente enlazadores particulares tales como L¹ y L².

La expresión "agente de unión" se refiere a un agente que tiene un grupo funcional capaz de formar un enlace covalente con un grupo funcional complementario de otro agente de unión en un entorno biológico. La unión entre agentes de unión en un entorno biológico también puede denominarse bioconjugación. Los agentes de unión representativos incluyen, pero no se limitan a, una amina y un éster activado, una amina y un isocianato, una amina y un isotiocianato, tioles para la formación de disulfuros, un aldehído y una amina para la formación de enaminas, una azida para la formación de un amida mediante ligación de Staudinger. Los agentes de unión también incluyen agentes de unión bioortogonales, que son agentes de unión que tienen grupos funcionales bioortogonales. Los grupos funcionales bioortogonales de agentes de unión bioortogonales reaccionan selectivamente con un grupo funcional bioortogonal complementario de otra pareja de unión bioortogonal. La reacción selectiva entre parejas de unión bioortogonales puede minimizar las reacciones secundarias con otros agentes de unión, compuestos biológicos, u otros agentes de unión bioortogonales no complementarios o grupos funcionales bioortogonales no complementarios. Los grupos funcionales bioortogonales de agentes de unión bioortogonales incluyen, pero no se limitan a, una azida y un alquino para la formación de un triazol mediante reacciones de química Click, transcicloocteno (TCO) y tetrazina (Tz) (por ejemplo, 1,2,4, 5-tetrazina), y otros. Los agentes de unión útiles en la presente descripción pueden tener una alta reactividad con el agente de unión correspondiente, de modo que la reacción sea rápida.

El término "funcionalizado" se refiere a un resto que tiene un grupo funcional unido al resto, tal como, por ejemplo, un resto que tiene un grupo funcional de agente de unión (por ejemplo, un grupo funcional bioortogonal) unido al mismo.

El término "administrar" se refiere a cualquier vía de administración adecuada a un sujeto, tal como, pero no se limita a, administración oral, administración como supositorio, contacto tópico, administración parenteral, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intralesional, intranasal o subcutánea, administración intratecal, o la implantación de un dispositivo de liberación lenta, por ejemplo una minibomba osmótica, al sujeto.

El término "parenteral", como se usa aquí, se refiere a modos de administración que incluyen inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intraesternal, subcutánea e intraarticular.

La expresión "grupo saliente" se refiere a un átomo (o un grupo de átomos) con capacidad de extraer electrones que puede desplazarse como una especie estable, llevándose consigo los electrones de enlace. Ejemplos de grupos salientes adecuados incluyen haluros (por ejemplo, Br, Cl, I), ésteres de sulfonato (por ejemplo, triflato, mesilato, tosilato, y brosilato), y nitrofenoles.

La expresión "cantidad farmacéuticamente eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz" se refieren a una cantidad de un compuesto suficiente para tratar un trastorno o enfermedad específica o uno o más de sus síntomas, y/o para prevenir o reducir el riesgo de aparición o recurrencia de la enfermedad o trastorno o síntoma síntomas de los mismos. En referencia a los trastornos proliferativos tumorigénicos, una cantidad farmacéutica o terapéuticamente eficaz comprende una cantidad suficiente para, entre otros, hacer que el tumor se reduzca o disminuir la tasa de crecimiento del tumor.

Como se usa aquí, el término "sujeto", "paciente" u "organismo" incluye seres humanos y mamíferos (por ejemplo, ratones, ratas, cerdos, gatos, perros, y caballos). Los sujetos típicos a los que se les puede administrar uno o más agentes de la presente descripción pueden incluir mamíferos, particularmente primates, especialmente seres humanos. Para aplicaciones veterinarias, los sujetos adecuados pueden incluir, por ejemplo, ganado tal como ganado vacuno, ovino, caprino, vacuno, porcino, y similares; aves de corral tales como pollos, patos, gansos, pavos, y similares; y animales domesticados, particularmente mascotas tales como perros y gatos. Para aplicaciones de diagnóstico o investigación, los sujetos adecuados pueden incluir mamíferos, tales como roedores (por ejemplo, ratones, ratas, hámsteres), conejos, primates, y cerdos, tales como cerdos endogámicos y similares.

El término "tratar" o "tratamiento", como se usa aquí, significa el tratamiento de una enfermedad o afección médica o uno o más síntomas de la misma en un paciente, tal como un mamífero (particularmente un ser humano) que incluye: (a) mejorar la enfermedad o condición médica o sus síntomas, tal como eliminar o causar la regresión de la enfermedad o condición médica o sus síntomas en un paciente; (b) suprimir la enfermedad o afección médica o sus síntomas, por ejemplo retardando o deteniendo el desarrollo de la enfermedad o afección

médica o sus síntomas en un paciente; o (c) aliviar un síntoma de la enfermedad o condición médica o sus síntomas en un paciente.

La expresión "condiciones fisiológicas" pretende abarcar aquellas condiciones compatibles con las células vivas, por ejemplo condiciones predominantemente acuosas de temperatura, pH, salinidad, etc., que son compatibles con las células vivas.

El término "partícula", como se usa aquí, se usa en su sentido más amplio, y puede tomar la forma de cualquier material fabricado, un polímero, una proteína, un hidrogel sintético, un hidrogel biológico, un organogel, una cerámica, un compuesto, un metal, una madera, o un material de vidrio, una molécula, criptofano, un virus, un fago, etc. Además, una partícula puede tener cualquier forma, por ejemplo esferas, varillas, formas no simétricas, etc. En algunos ejemplos, las partículas pueden ser magnéticas, y pueden estar formadas de un material paramagnético, superparamagnético o ferromagnético o cualquier otro material que responda a un campo magnético. Las partículas, o un grupo de varias partículas en un complejo, pueden funcionalizarse con un receptor que tiene una afinidad específica para unirse o interactuar con un sustrato clínicamente relevante. El receptor puede ser inherente a la propia partícula. Por ejemplo, la propia partícula puede ser un virus o un fago con una afinidad inherente por ciertos sustratos. Adicional o alternativamente, las partículas pueden funcionalizarse uniendo o asociando covalentemente o de otro modo un receptor que se une específicamente o reconoce de otro modo un sustrato clínicamente relevante particular. El receptor funcionalizado puede ser un anticuerpo, péptido, ácido nucleico, fago, bacteria, virus, o cualquier otra molécula con una afinidad definida por un sustrato diana. Ejemplos de material que se pueden usar para las "partículas" y/o "portador" incluyen ácido poliláctico, ácido poliglicólico, polímeros de PLGA, alginatos y derivados de alginato, gelatina, colágeno, fibrina, ácido hialurónico, geles ricos en laminina, agarosa, polisacáridos naturales y sintéticos, poliaminoácidos, polipéptidos, poliésteres, polianhídridos, polifosfazinas, poli(alcoholes vinílicos), poli(óxidos de alquileño), poli(alilaminas) (PAM), poli(acrilatos), polímeros de estireno modificados, polioles plurónicos, polioxámeros, poli(ácidos urónicos), poli(vinilpirrolidona), y copolímeros o copolímeros de injerto de cualquiera de los anteriores. Estos ejemplos no limitan su concentración, su reticulación con diferentes agentes, su método de administración, sus perfiles de degradación personalizados, y otras características conocidas por los expertos en la técnica.

Para los compuestos descritos aquí, los grupos y sustituyentes de los mismos pueden seleccionarse según la valencia permitida de los átomos y los sustituyentes, de modo que las selecciones y sustituciones den como resultado un compuesto estable, por ejemplo que no experimente transformación espontánea tal como mediante reordenamiento, ciclación, eliminación, etc.

Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor declarado o intermedio en ese intervalo indicado, está abarcado dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse independientemente en los intervalos más pequeños, y también están abarcados dentro de la invención, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, también se incluyen en la invención intervalos que excluyen uno o ambos de los límites incluidos.

Para la recitación de intervalos numéricos aquí, se contempla explícitamente cada número intermedio con el mismo grado de precisión. Por ejemplo, para el intervalo 6-9, se contemplan los números 7 y 8 además de 6 y 9, y para el intervalo 6,0-7,0, el número 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9, y 7,0 están contemplados explícitamente.

Se aprecia que ciertas características de la invención, que, para mayor claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización. Por el contrario, diversas características de la invención, que, por brevedad, se describen en el contexto de una única realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada. Todas las combinaciones de las realizaciones pertenecientes a la invención están específicamente abarcadas por la presente invención y se describen aquí como si todas y cada una de las combinaciones se describieran individual y explícitamente, en la medida en que tales combinaciones abarquen materia objeto que son, por ejemplo, compuestos que son compuestos estables (es decir, compuestos que pueden prepararse, aislarse, caracterizarse y probarse para determinar su actividad biológica). Además, todas las subcombinaciones de las diversas realizaciones y elementos de las mismas (por ejemplo, elementos de los grupos químicos enumerados en las realizaciones que describen dichas variables) también están específicamente abarcadas por la presente invención y se describen aquí como si todas y cada una de dichas subcombinaciones se describió individual y explícitamente aquí.

2. Composiciones

La presente descripción proporciona composiciones para administrar agentes en un sujeto. Las composiciones pueden incluir una composición de carga útil funcionalizada y una composición de soporte. En ciertas realizaciones, la composición se usa para administrar selectivamente uno o más agentes a una ubicación

específica en un sujeto, por ejemplo un órgano o tejido diana (o parte del mismo) en un sujeto. La administración dirigida del agente puede ser tal que se administre una cantidad eficaz del agente al órgano o tejido diana para producir un efecto deseado en el órgano o tejido diana (o la porción objetivo del mismo). Como tales, las composiciones de la presente descripción facilitan el direccionamiento selectivo y el tratamiento de un órgano o tejido diana (o parte del mismo) en un sujeto.

A. Cargas útiles funcionalizadas

Como se describió anteriormente, las cargas útiles funcionalizadas de la presente descripción incluyen una carga útil, un agente de unión complementario, y opcionalmente un enlazador que une la carga útil al agente de unión complementario. Una carga útil es un agente capaz de producir un efecto deseado en un sujeto. Por ejemplo, las cargas útiles de la presente descripción incluyen agentes terapéuticos, agentes de diagnóstico, agentes de direccionamiento, y similares.

Un agente terapéutico es un agente capaz de tratar y/o mejorar una afección o enfermedad en un sujeto. El agente terapéutico incluido en la presente descripción puede ser cualquier agente terapéutico deseado. La selección de un agente terapéutico puede depender de varios factores, por ejemplo la enfermedad o afección que se va a tratar en el sujeto, los grupos funcionales del agente terapéutico que se pueden usar para unir un enlazador o agente de unión, la compatibilidad con otros componentes de las composiciones (por ejemplo, baja reactividad cruzada con agentes de unión o agentes de unión complementarios), y similares.

Los agentes terapéuticos representativos incluyen, pero no se limitan a, agentes terapéuticos para tratar el cáncer (por ejemplo, paclitaxel, doxorrubicina, daunorrubicina, etopósido, irinotecán, SN-38, docetaxel, paclitaxel, gemcitabina, podofilotoxina, carmustina, ixabepilona, patupilona (clase de epotelona), medicamentos de platino, y similares), inmunosupresores (por ejemplo, ciclosporina A, rapamicina, y similares), agentes antifúngicos (por ejemplo, anfotericina, y similares), antibióticos (por ejemplo, vancomicina, daptomicina, doxiciclina, ceftriaxona, trimetoprima, sulfametoxazol, aciclovir, nistatina, anfotericina B, flucitosina, emtricitabina, gentamicina, colistina, y similares), etc. Aún otros agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de metaloproteinasas de la matriz (MMP), L-dopa, oseltamivir, cefalexina, ácido 5-aminolevulínico, cisteína, celecoxib, nimodipina, entre otros. En algunas realizaciones, el agente terapéutico es vancomicina. En algunas realizaciones, el agente terapéutico es daptomicina. En algunas realizaciones, el agente terapéutico es doxorrubicina. En algunas realizaciones, el agente terapéutico es gemcitabina. En algunas realizaciones, el agente terapéutico es docetaxel. En algunas realizaciones, el agente terapéutico es adenosina monofosfatidilo cíclico (c-AMP).

Los agentes terapéuticos de la presente descripción también incluyen formas profármaco del agente terapéutico. En algunos casos, el agente terapéutico puede incluir un grupo funcional para la unión del agente terapéutico a un enlazador o agente de unión. Por ejemplo, el agente terapéutico puede estar unido al enlazador o al agente de unión a través de un enlace covalente, tal como una amida, amina, éster, carbonato, carbamato, urea, tioéter, tiocarbamato, tiocarbonato, tiourea, etc., En algunos casos, el agente terapéutico está unido covalentemente al enlazador o agente de unión a través de un enlace de amida; por ejemplo, el agente terapéutico puede ser un agente terapéutico que contiene amina para la unión del agente terapéutico a un grupo carboxilo del enlazador o agente de unión, o, en otros casos, el agente terapéutico puede ser un agente terapéutico que contiene carboxilo para la unión del agente terapéutico a un grupo amino del enlazador o agente de unión. En algunos casos, el agente terapéutico está unido covalentemente al enlazador o agente de unión a través de un grupo carbamato; por ejemplo, el agente terapéutico puede ser un agente terapéutico que contiene amina para la unión del agente terapéutico a un grupo aciloxi del enlazador o agente de unión.

Los agentes de diagnóstico adecuados para realizaciones de la presente descripción son agentes que facilitan el diagnóstico de afecciones o enfermedades en un sujeto. Los agentes de diagnóstico representativos incluyen agentes de formación de imágenes, tales como agentes paramagnéticos, sondas ópticas, radionucleidos, y similares. Los agentes paramagnéticos son agentes de formación de imágenes que son magnéticos bajo un campo aplicado externamente. Por ejemplo, los agentes paramagnéticos pueden producir un campo magnético detectable bajo un campo magnético aplicado externamente. Los ejemplos de agentes paramagnéticos incluyen, pero no se limitan a, partículas de hierro, incluidas nanopartículas y micropartículas de hierro. Las sondas ópticas son compuestos fluorescentes que pueden detectarse mediante excitación en una longitud de onda de radiación y detección en una segunda longitud de onda de radiación diferente. Las sondas ópticas de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, fluoresceína, rodamina, Cy5.5, Alexa 680, Cy5, DiD (perclorato de 1,1'-diocetadecil-3,3',3'-tetrametilindodicarbocianina) y DiR (yoduro de 1,1'-diocetadecil-3,3',3'-tetrametilindodicarbocianina). Otras sondas ópticas incluyen puntos cuánticos. Los radionucleidos son elementos que sufren una desintegración radiactiva detectable. Los radionucleidos útiles en realizaciones de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a, ^3H , ^{11}C , ^{13}N , ^{18}F , ^{19}F , ^{60}Co , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{68}Ga , ^{82}Rb , ^{90}Sr , ^{90}Y , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I , ^{131}I , ^{137}Cs , ^{177}Lu , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{211}At , $^{\text{Rn}}$, $^{\text{Ra}}$, $^{\text{Th}}$, $^{\text{U}}$, $^{\text{Pu}}$ y ^{241}Am . Otros agentes radionucleídicos que pueden usarse incluyen, por ejemplo, DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético) y TETA (ácido 1,4,8,11-tetraazaciclodecatriaceno-1,4,8,11-tetraacético); por ejemplo, DOTA- ^{64}Cu , TETA- ^{64}Cu , DOTA- ^{111}In , y similares. Los agentes de diagnóstico también incluyen marcadores detectables, que pueden ser detectables por sí mismos o pueden provocar la acumulación de compuestos detectables en un

sitio diana. Por ejemplo, los marcadores detectables incluyen fluoróforos o marcadores autofluorescentes o luminiscentes. Un ejemplo de un marcador detectable que provoca la acumulación de compuestos detectables en un sitio diana es el ácido 5-aminolevulínico, que provoca la acumulación de porfirinas fluorescentes (por ejemplo, protoporfirina IX) en tejidos neoplásicos.

Un agente de direccionamiento es un agente de direccionamiento químico o biológico que se une específicamente a una diana (por ejemplo, un órgano o tejido diana), formando así una asociación estable entre el agente de direccionamiento y la diana específica. Las asociaciones estables entre un agente de direccionamiento y su diana pueden incluir enlaces covalentes e interacciones no covalentes, tales como, pero no se limitan a, enlaces iónicos, interacciones hidrófobas, enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals (por ejemplo, fuerzas de dispersión de London), interacciones dipolo-dipolo, y similares. Los agentes de direccionamiento pueden incluir miembros de pares de unión específicos, tales como, pero no se limitan a: un miembro de un par receptor/ligando; una porción de un receptor que se une a ligando; un miembro de un par anticuerpo/antígeno; un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo; un hapteno; un miembro de un par lectina/hidrato de carbono; un miembro de un par enzima/sustrato; biotina/avidina; biotina/estreptavidina; digoxina/antidigoxina; un miembro de un par de unión de aptámeros de ADN o ARN; un miembro de un par de unión a aptámero peptídico; y similares.

Los agentes de direccionamiento incluyen ligandos que se unen específicamente (o se unen sustancialmente de manera específica) a un receptor diana o una diana de superficie celular clínicamente relevante particular. El ligando puede ser un anticuerpo, péptido, ácido nucleico, fago, bacteria, virus, u otra molécula con una afinidad específica por un receptor diana o una diana de superficie celular. Ejemplos de receptores y dianas de superficie celular incluyen, pero no se limitan a, PD-1, CTLA-4, HER2/neu, HER1/EGFR, VEGFR, BCR-ABL, SRC, JAK2, MAP2K, EML4-ALK, BRAF V600E, 4-1BB, GITR, GSK3beta, u otros receptores celulares o dianas de la superficie celular.

Como se describió anteriormente, la carga útil puede unirse al agente de unión complementario a través de un enlazador. Puede usarse cualquier enlazador adecuado para unir la carga útil al agente de unión complementario. Los enlazadores representativos pueden tener 1 a 100 átomos de enlace, y pueden incluir grupos funcionales etilenoxy, aminas, ésteres, amidas, carbamatos, carbonatos y cetonas. Por ejemplo, los enlazadores pueden tener de 1 a 50 átomos de enlace, o de 5 a 50 átomos de enlace, o de 10 a 50 átomos de enlace.

En algunas realizaciones, el enlazador entre la carga útil y el agente de unión complementario es un enlazador no liberable. Un enlazador no liberable es un enlazador que forma una unión entre al menos dos restos, en el que la unión no se interrumpe significativamente en las condiciones en que se usan las composiciones que usan el enlazador no liberable (por ejemplo, los enlaces covalentes en el enlazador permanecen intactos y no se escinden). Por ejemplo, un enlazador no liberable puede incluir uno o más enlaces covalentes entre al menos dos restos, de modo que los restos estén unidos covalentemente entre sí y permanezcan unidos covalentemente entre sí en las condiciones en que se usan las composiciones. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, se puede usar un enlazador no liberable con una carga útil, tal como una carga útil que tiene una forma profármaco de un agente terapéutico, en el que la liberación del agente terapéutico del profármaco proporciona la administración del agente terapéutico al sitio diana en el sujeto.

En algunas realizaciones, el enlazador entre la carga útil y el agente de unión complementario es un enlazador liberable. Un enlazador liberable es un enlazador que forma una unión entre al menos dos restos, en el que la unión puede interrumpirse en condiciones de liberación tales que los restos ya no están unidos entre sí (por ejemplo, uno o más enlaces covalentes en el enlazador pueden escindirse). Los enlazadores liberables pueden tener la unión entre los restos interrumpida por la exposición del enlazador liberable a condiciones de liberación, tales como, pero no se limitan a, luz, calor, sonido, un agente liberador (por ejemplo, un agente liberador químico (por ejemplo, un ácido, un base, un agente oxidante, un agente reductor), un disolvente, una enzima, etc.), combinaciones de los mismos, y similares. En algunas realizaciones, el enlazador liberable puede no requerir la aplicación de un estímulo externo o contacto con condiciones de liberación para interrumpir la unión entre los restos. Por ejemplo, un enlazador liberable puede incluir uno o más enlaces inestables o grupos funcionales en el enlazador que pueden escindirse espontáneamente sin contacto con un estímulo externo o condiciones de liberación, liberando así la carga útil de la composición de soporte. Ejemplos de enlaces o grupos funcionales que pueden escindirse espontáneamente como se describe anteriormente incluyen, pero no se limitan a, carbamatos, que liberan dióxido de carbono tras la escisión espontánea. Las cargas útiles funcionalizadas de la presente descripción que incluyen un enlazador liberable pueden facilitar la administración de una carga útil a una ubicación diana en un sujeto.

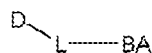
En algunos casos, la carga útil se puede liberar como se describe anteriormente poniendo en contacto el enlazador liberable con las condiciones de liberación. Las condiciones de liberación pueden ser específicas de la diana, tales como condiciones de liberación que se aplican directamente a una ubicación diana deseada en un sujeto (por ejemplo, una ubicación diana en la que está presente la composición de soporte). En algunas realizaciones, las condiciones de liberación pueden ser no específicas, tal como por exposición del enlazador

liberable a un mecanismo extracelular (por ejemplo, pH bajo en tejido tumoral, hipoxia, enzimas, y similares). En otros casos, la liberación de la carga útil se puede lograr a través de mecanismos de liberación intracelulares, tales como lisosomales (por ejemplo, glutatona, proteasas (por ejemplo, catepsina), catabolismo, y similares). En estos casos, la composición de soporte puede internalizarse dentro de una célula y posteriormente exponerse a las condiciones de liberación presentes dentro de la célula. Las condiciones de liberación intracelular (por ejemplo, glutatona, catepsina, y similares) pueden dar como resultado la liberación de la carga útil de la composición de soporte de manera que la carga útil pueda dispersarse fuera de la célula y proporcionar un efecto terapéutico en las células vecinas. Ejemplos de estos tipos de enlazadores liberables incluyen, pero no se limitan a, hidrazonas (lábil a los ácidos), enlazadores peptídicos (escindibles con catepsina B), restos de disulfuro (escindibles con tior), y similares. Este tipo de mecanismo de acción de liberación puede facilitar el tratamiento de enfermedades o afecciones, tales como tumores (por ejemplo, tumores con expresión heterogénea de receptores, o con escasa penetración de mAb).

En algunas realizaciones, el enlazador entre la carga útil y el agente de unión complementario es un enlazador inmolable.

En algunas realizaciones, el enlazador entre la carga útil y el agente de unión complementario es un enlazador ajustable por pH.

Las composiciones de carga útil funcionalizadas descritas aquí tienen la fórmula:



(I)

en la que

D es una carga útil como se define aquí;

L es un enlazador como se define aquí; y

BA es un agente de unión complementario como se define aquí.

El experto en la técnica reconocerá que una carga útil D enlazada a un enlazador no se refiere a una molécula de carga útil per se, sino que se refiere a la porción de la molécula de carga útil enlazada al enlazador. La liberación de la carga útil D de un compuesto aquí libera la carga útil per se.

Las composiciones de carga útil funcionalizadas comprenden un transcicloocteno (TCO) como agente de unión complementario. Los compuestos pueden incluir uno o más agentes terapéuticos. Los compuestos pueden incluir uno o más agentes de permeación celular. Los compuestos pueden incluir uno o más agentes de diagnóstico. Los compuestos pueden incluir opcionalmente un grupo enlazador (por ejemplo, un enlazador autoinmolable) que une el uno o más agentes al transcicloocteno.

En un aspecto, la carga útil funcionalizada es un compuesto de fórmula (IA), en la que D, R^{1a}, R^{1b}, L¹, L², m y p son como se definen aquí.

En algunas realizaciones, R^{1b} se selecciona del grupo que consiste en G¹, OH, -NR^{1c}-alquilen^{1c}-alquilen^{1c}-C₁₋₄-G¹, -NR^{1c}-alquilen^{1c}-alquilen^{1c}-C₁₋₄-N(R^{1d})₂, -N(R^{1c})CHR^{1e}CO₂H, -N(R^{1c})CH₂CO₂H, y -N(R^{1f})-CH₂CH₂-(N(CH₂CO₂H)CH₂CH₂)_n-N(CH₂CO₂H)₂; R^{1e} es -CH₂CO₂H, -CH₂CH₂CO₂H, -CH₂CONH₂, -CH₂CH₂CONH₂, -CH₂OH, y -CH(CH₃)OH; y R^{1f} es hidrógeno o CH₂CO₂H, en el que n, G¹ y R^{1c} son como se definen anteriormente.

En algunas realizaciones, R^{1a} es alquilo de C₁₋₄; R^{1b} se selecciona del grupo que consiste en G¹, OH, -NR^{1c}-C₁₋₄-alquilen^{1c}-G¹, -NR^{1c}-alquilen^{1c}-C₁₋₄-N(R^{1d})₂, -N(R^{1c})CHR^{1e}CO₂H, -N(R^{1c})CH₂CO₂H, y -N(R^{1f})-CH₂CH₂-(N(CH₂CO₂H)CH₂CH₂)_n-N(CH₂CO₂H)₂; R^{1e} es -alquilen^{1c}-CO₂H; R^{1f} es hidrógeno o alquilen^{1c}-CO₂H; G¹ es un heterociclilo monocíclico de 4 a 8 miembros que contiene un primer nitrógeno y opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado entre nitrógeno, oxígeno y azufre, estando G¹ unido al primer nitrógeno y opcionalmente sustituido con 1-4 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste de alquilo de C₁₋₄, haloalquilo de C₁₋₄, halo, ciano, OH, -alquilo de OC₁₋₄ y oxo; y n es 0, 1 o 2, en los que R^{1c} y R^{1d} son como se definen anteriormente.

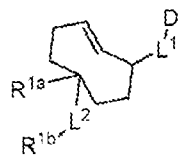
En algunas realizaciones, R^{1a} es CH₃; R^{1e} es -CH₂CO₂H; R^{1f} es hidrógeno o CH₂CO₂H; y G¹ es un piperazinilo (por ejemplo, piperazin-1-ilo), morfolinilo (por ejemplo, morfolin-4-ilo), piperidinilo (por ejemplo, piperidin-1-ilo), azepanilo (por ejemplo, azepan-1-ilo) o pirrolidinilo. (por ejemplo, pirrolidin-1-ilo), unido a través de un átomo de

nitrógeno del anillo y opcionalmente sustituido con 1-4 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en alquilo de C₁₋₄, haloalquilo de C₁₋₄, halo, ciano, OH, -alquilo de OC₁₋₄, y oxo.

En algunas realizaciones, -L²- es -C(O)-.

En algunas realizaciones, R^{1b} se selecciona del grupo que consiste en OH, N(H)CH₂CO₂H, -N(H)CHR^{1e}CO₂H, -N(H)-CH₂CH₂-(N(CH₂CO₂H)CH₂CH₂)_n-N(CH₂CO₂H)₂, y -N(CH₂CO₂H)-CH₂CH₂-N(CH₂CO₂H)₂; y R^{1e} es -CH₂CO₂H.

En ciertas realizaciones, las composiciones de carga útil funcionalizadas tienen la fórmula (I),



(I),

en la que

D es una carga útil como se define aquí;

L¹ es un enlazador como se define aquí;

R^{1a} se selecciona del grupo que consiste en alquilo de C₁₋₄, haloalquilo de C₁₋₄ y Oalcoxi de C₁₋₄;

L² se selecciona del grupo que consiste en -C(O)- y alquilenos de C₁₋₃ (por ejemplo, -CH₂-); y

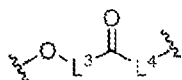
R^{1b} se selecciona del grupo que consiste en G¹, OH, -NR^{1c}-alquilenos C₁₋₄-G¹, y -NR^{1c}-alquilenos C₁₋₄-N(R^{1d})₂;

G¹ es un heterociclilo opcionalmente sustituido; y

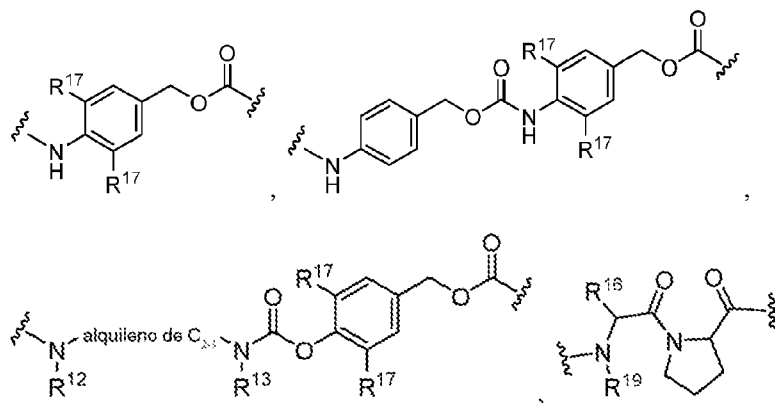
R^{1c} y R^{1d}, en cada aparición, son independientemente hidrógeno o alquilo de C₁₋₄.

En algunas realizaciones, G¹ es morfolino o piperazinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, N-metilpiperazina).

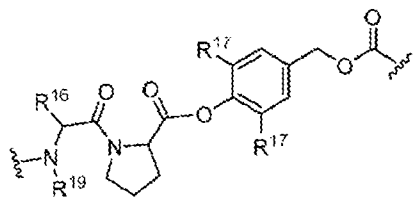
En algunas realizaciones, -L¹- es



or -O-; -L³- es un enlace o alquilenos de C₁₋₆; -L⁴- es un enlace, -NHN-, -N(R¹⁰)-alquilenos C₂₋₆-N(R¹¹)-, -N(R¹²)-alquilenos C₂₋₃-N(R¹³)C(O)-, -N(R¹⁰)-alquilenos C₁₋₆-C(O)NHN-, -NHNHC(O)alquilenos C₁₋₆-C(O)NHN-, -CH(NHC(O)R¹⁴)alquilenos C₁₋₄-S-S-alquilenos C₁₋₄-OC(O)-, -NHNHC(O)CH(NHC(O)R¹⁵)CH₂C(O)-, -alquilenos C₁₋₆-CH(G^x)OC(O)-,



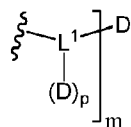
o



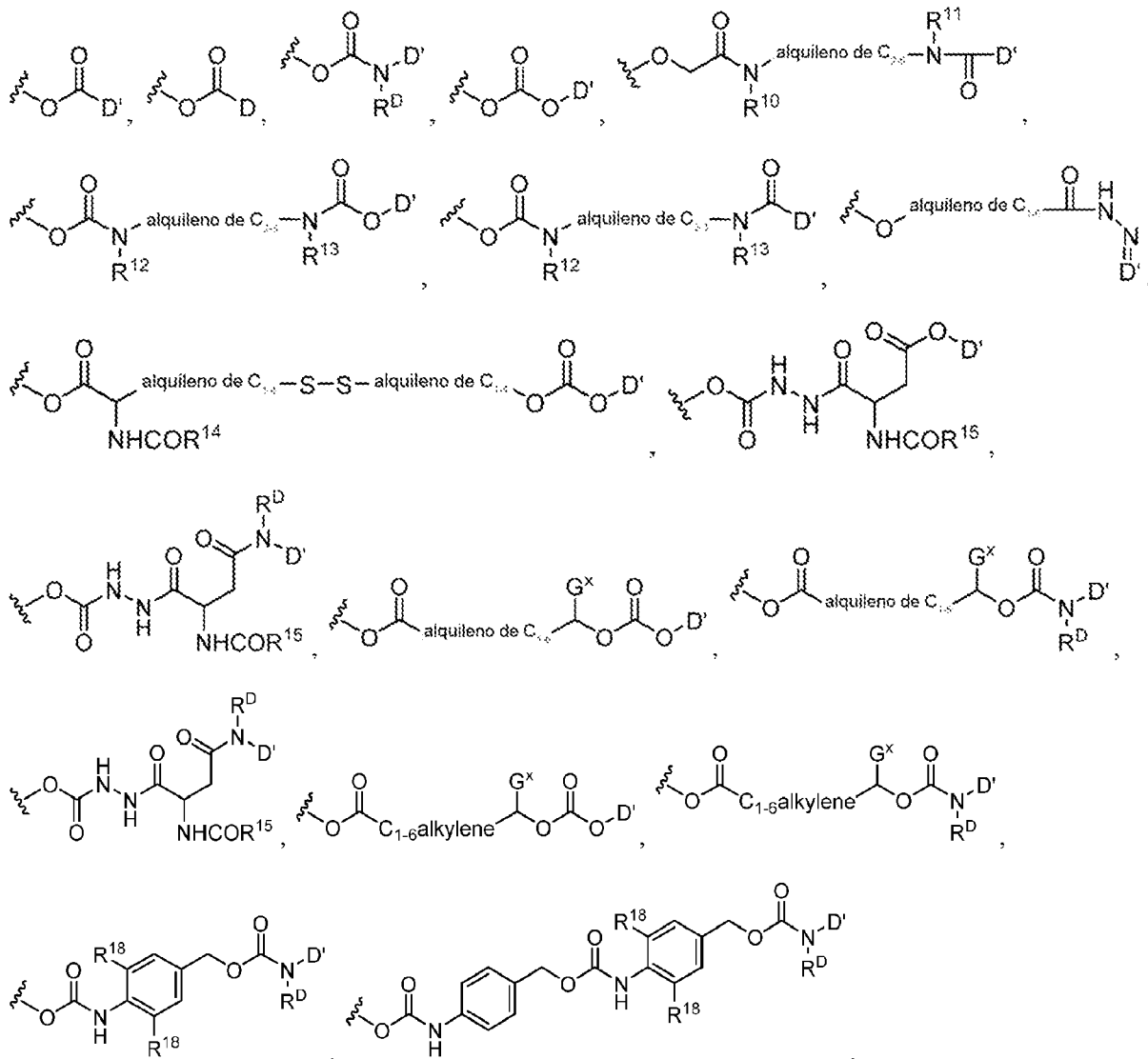
- 5 R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} , y R^{19} son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo de C_{1-4} ; R^{16} es hidrógeno, alquilo de C_{1-4} , -alquileo C_{1-4} -OH, -alquileo C_{1-4} -OC(=O)-alquileo C_{1-4} , -alquileo C_{1-4} -CO₂H o -alquileo C_{1-4} -CONH₂; R^{17} , en cada aparición, es independientemente hidrógeno o -CH₂OC(=O)-; y G^x es fenilo opcionalmente sustituido con 1-5 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alquilo de C_{1-4} , haloalquilo de C_{1-4} , alcoxi de C_{1-4} , ciano y nitro.

10

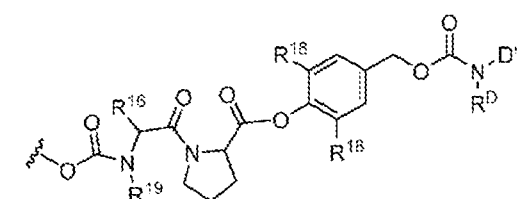
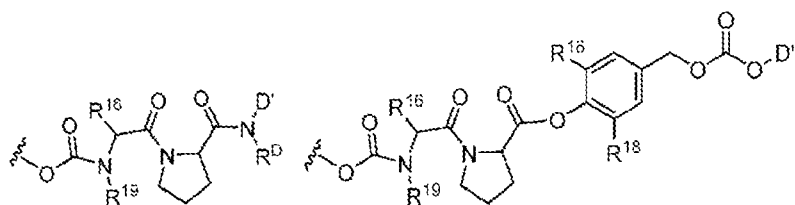
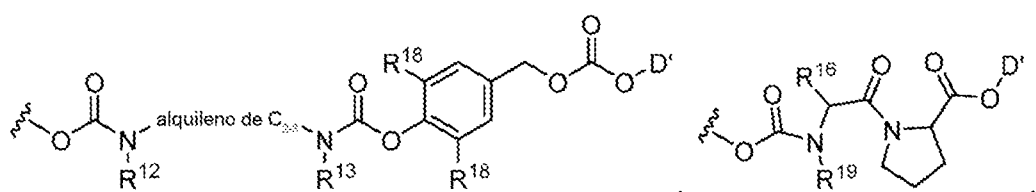
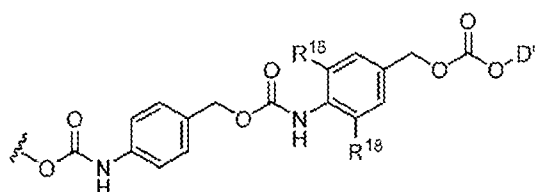
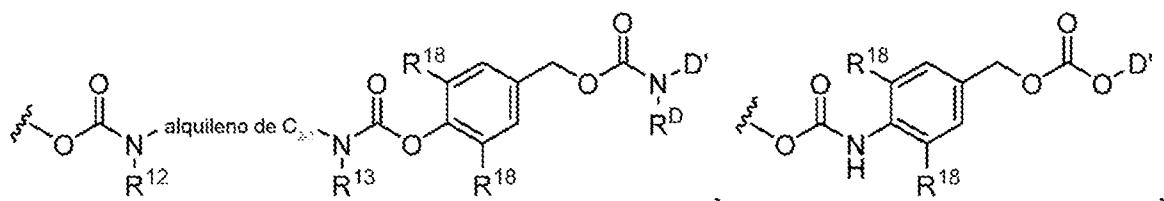
En algunas realizaciones, m es 1. En algunas realizaciones en las que m es 1,



15 es

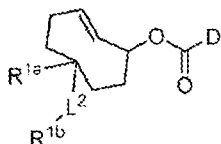


25

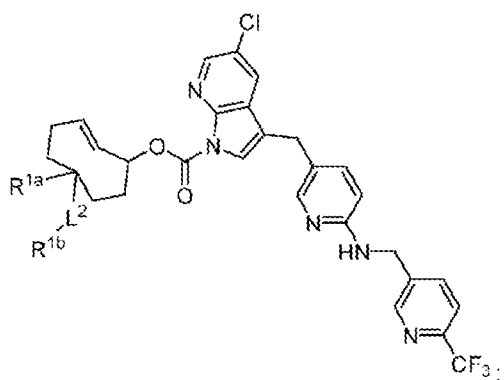


R^{18} , en cada aparición, es independientemente hidrógeno o $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{NHD}'$; R^D es hidrógeno o alquilo de C_{1-4} en un átomo de nitrógeno de la carga útil; y D' es un resto de carga útil.

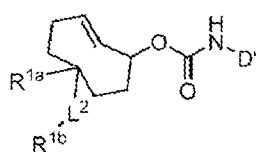
- 15 Un "resto de carga útil", como se usa aquí, se refiere a una carga útil D menos su grupo nucleofílico, tal como NH , Nalquilo de C_{1-4} , O o S , que se une a un enlazador, o menos su grupo electrofílico, tal como $\text{C}(\text{O})$, que se une a un enlazador, es decir, el resto de la carga útil. Por ejemplo, un compuesto de fórmula



incluye un compuesto como

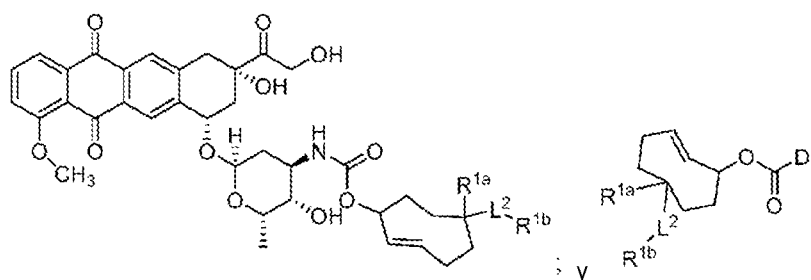


un compuesto



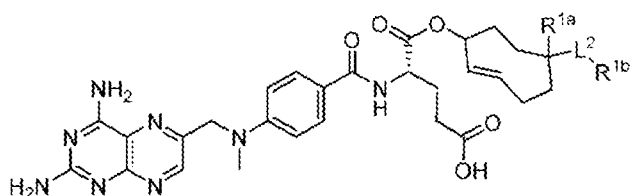
5

incluye un compuesto como



10

incluye un compuesto como



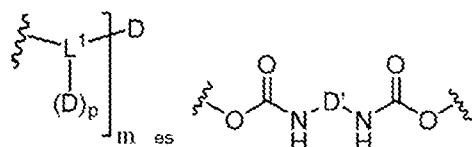
15

La liberación de DH, NH₂-D' o HOOC-D' libera la molécula de carga útil per se.

En algunas realizaciones, p es 0.

En algunas realizaciones, m es 2 o 3. En algunas realizaciones en las que m es 2 y

20



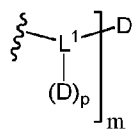
En estas realizaciones, la carga útil puede ser vancomicina.

25

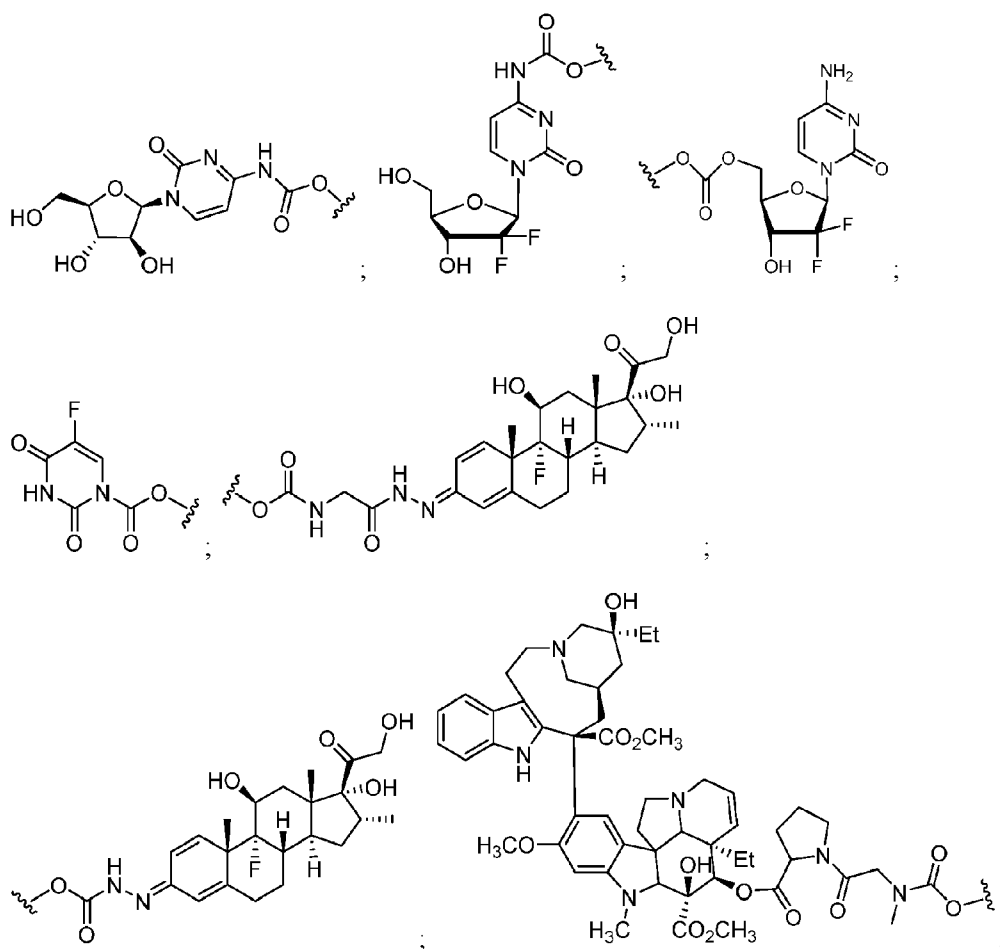
En algunas realizaciones, la carga útil es un agente terapéutico, tal como un agente antibiótico, agente antifúngico, agente antiviral, agente anticancerígeno, agente cardiovascular, agente del SNC, agente antiinflamatorio/antiartrítico, agente anti-TB/antilepra, agente anti-histamínico/trastorno respiratorio, un agente corticosteroide, agente inmunosupresor, o agente antiulceroso. Agentes terapéuticos particulares incluyen paclitaxel, doxorubicina, daunorubicina, etopósido, irinotecán, SN-38, docetaxel, gemcitabina, podofilotoxina,

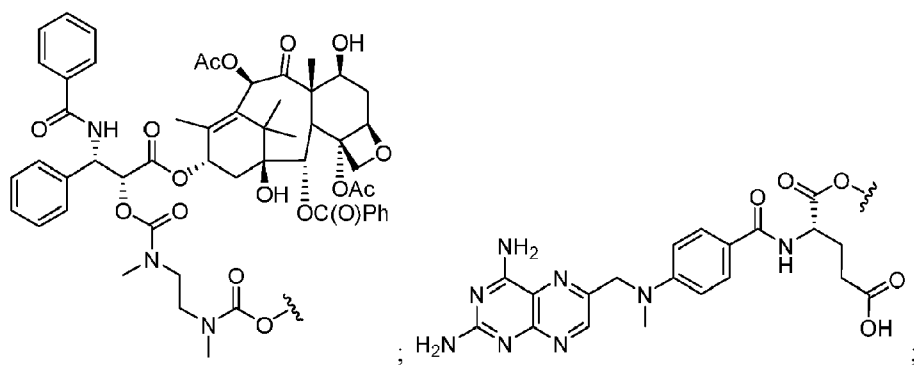
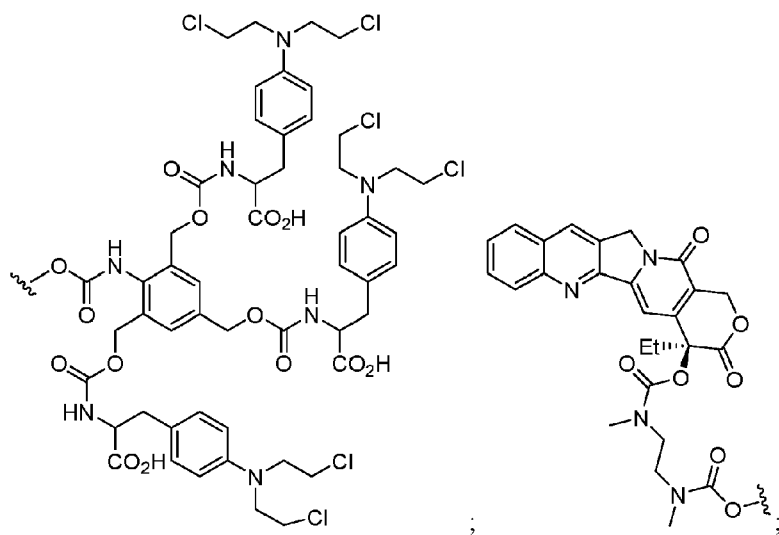
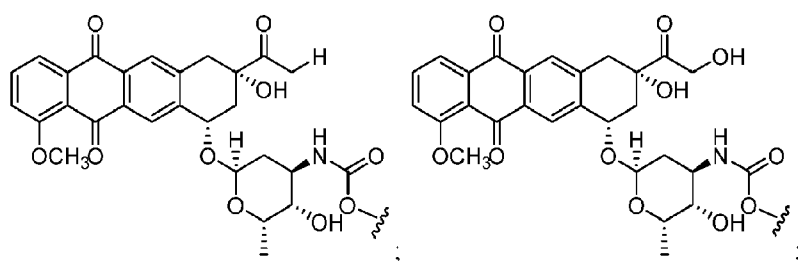
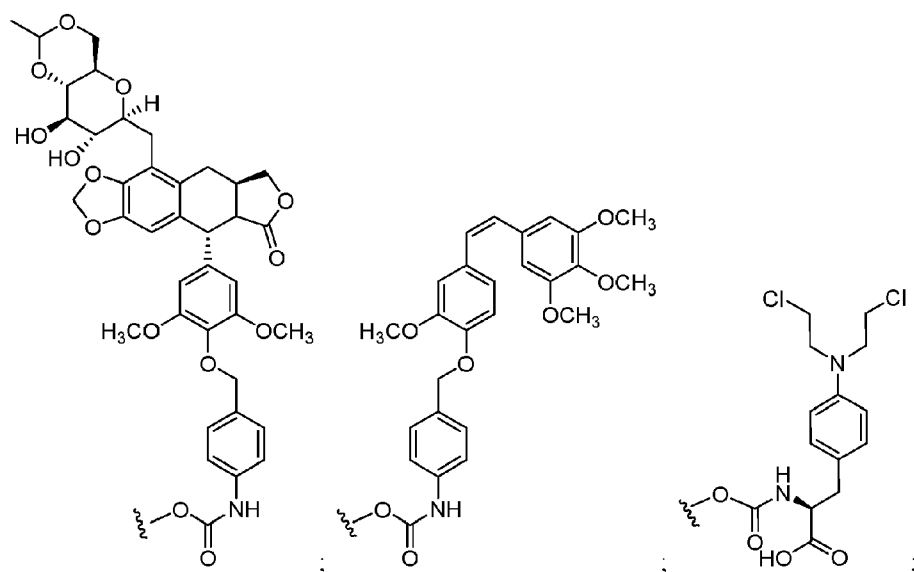
carmustina, ixabepilona, patupilona, ciclosporina A, rapamicina, anfotericina, vancomicina, daptomicina, doxiciclina, ceftriaxona, trimetoprima, sulfametoxazol, aciclovir, nistatina, anfotericina B, flucitosina, emtricitabina, gentamicina, colistina, L-dopa, oseltamivir, cefalexina, ácido 5-aminolevulínico, cisteína, celecoxib, y nimodipino.

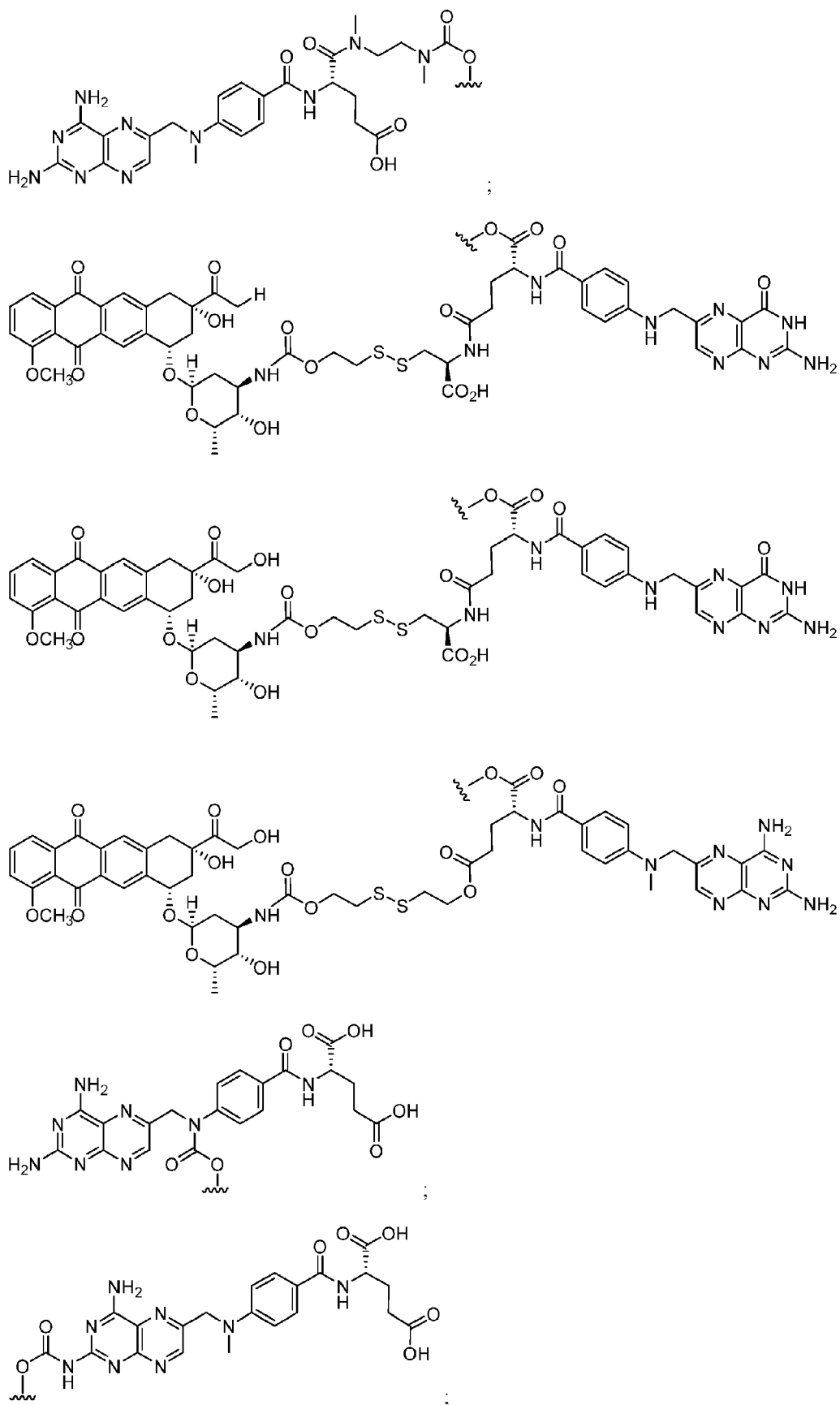
5 Particular

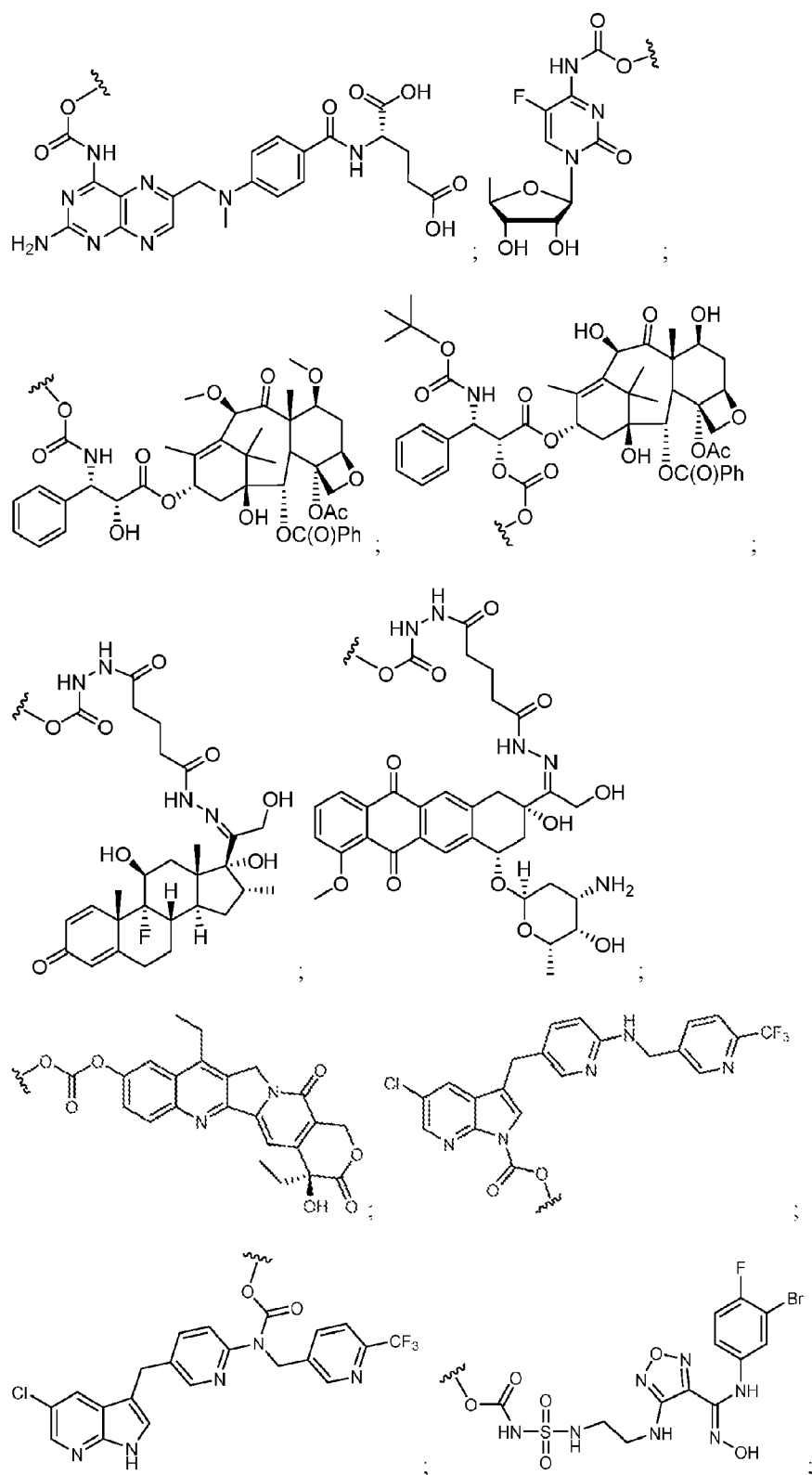


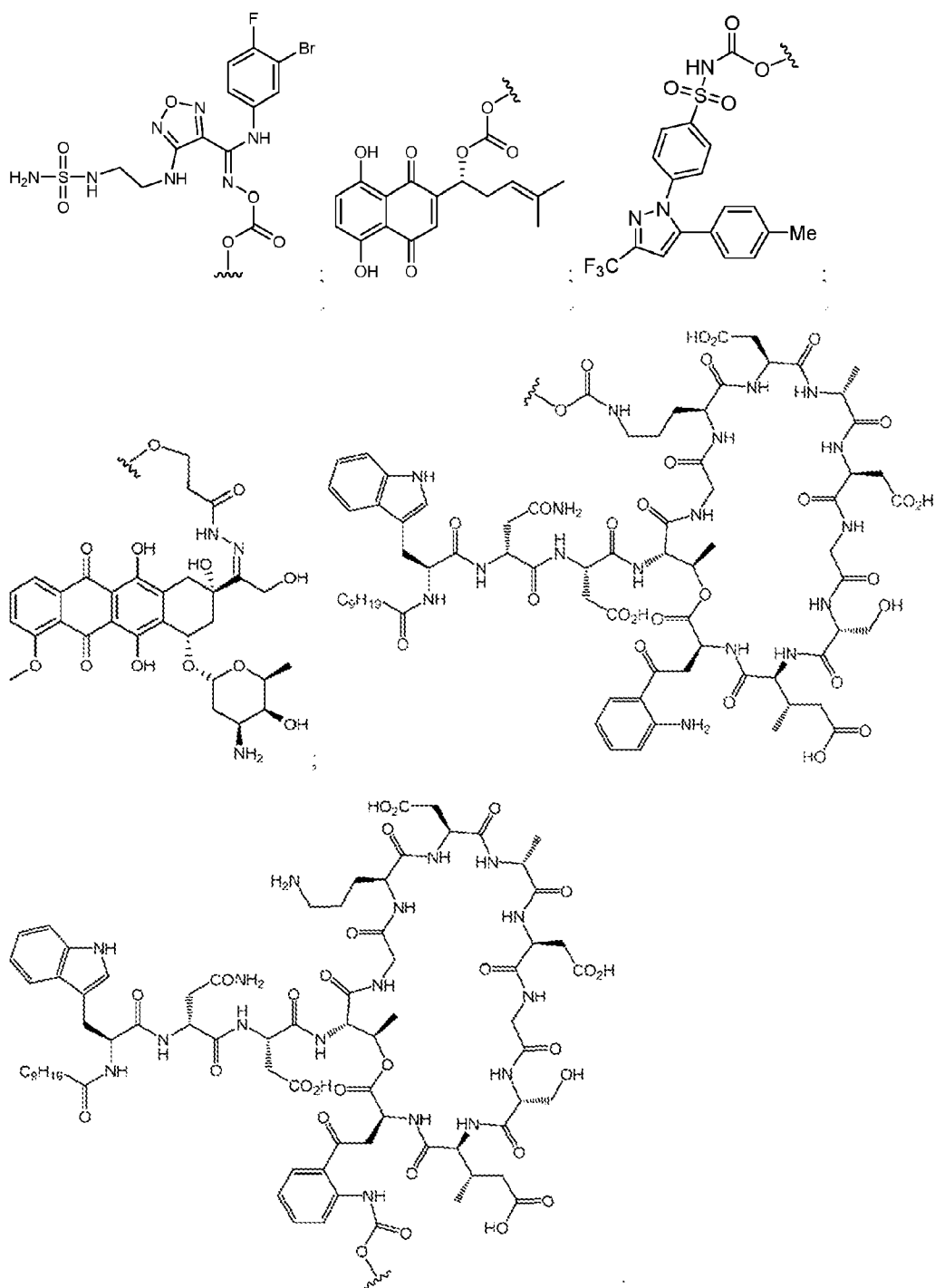
incluye

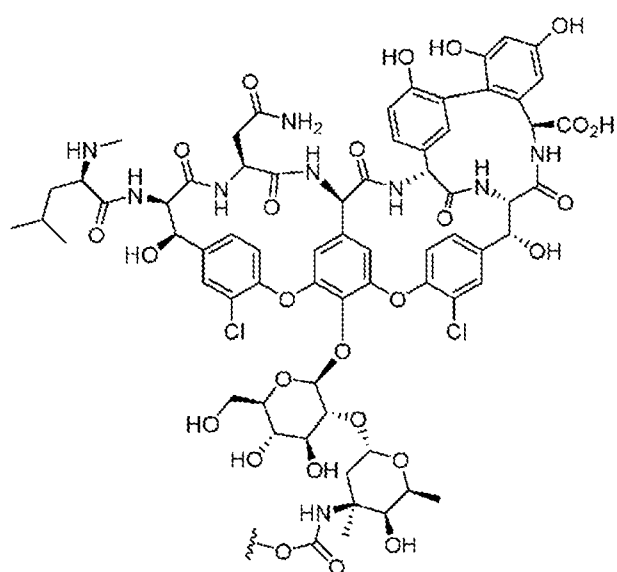
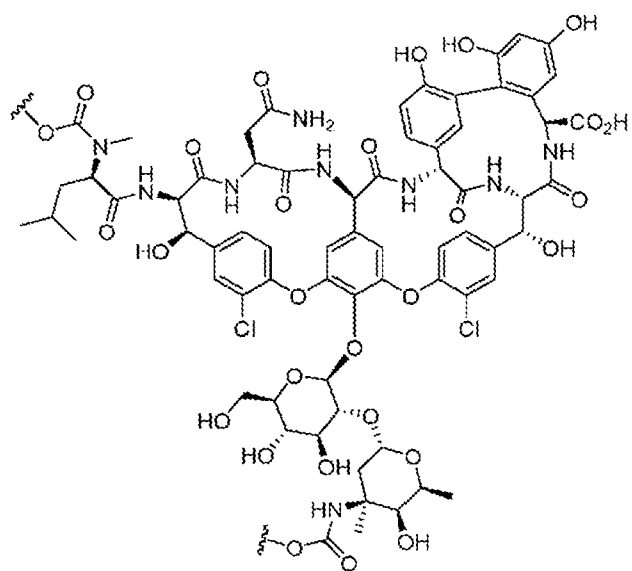
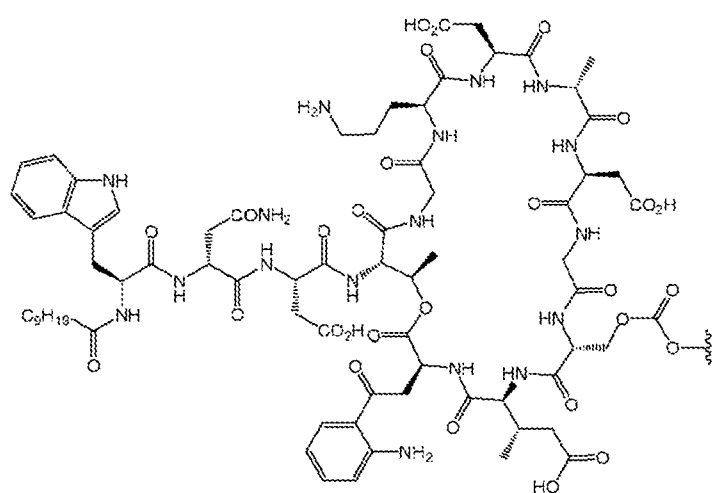


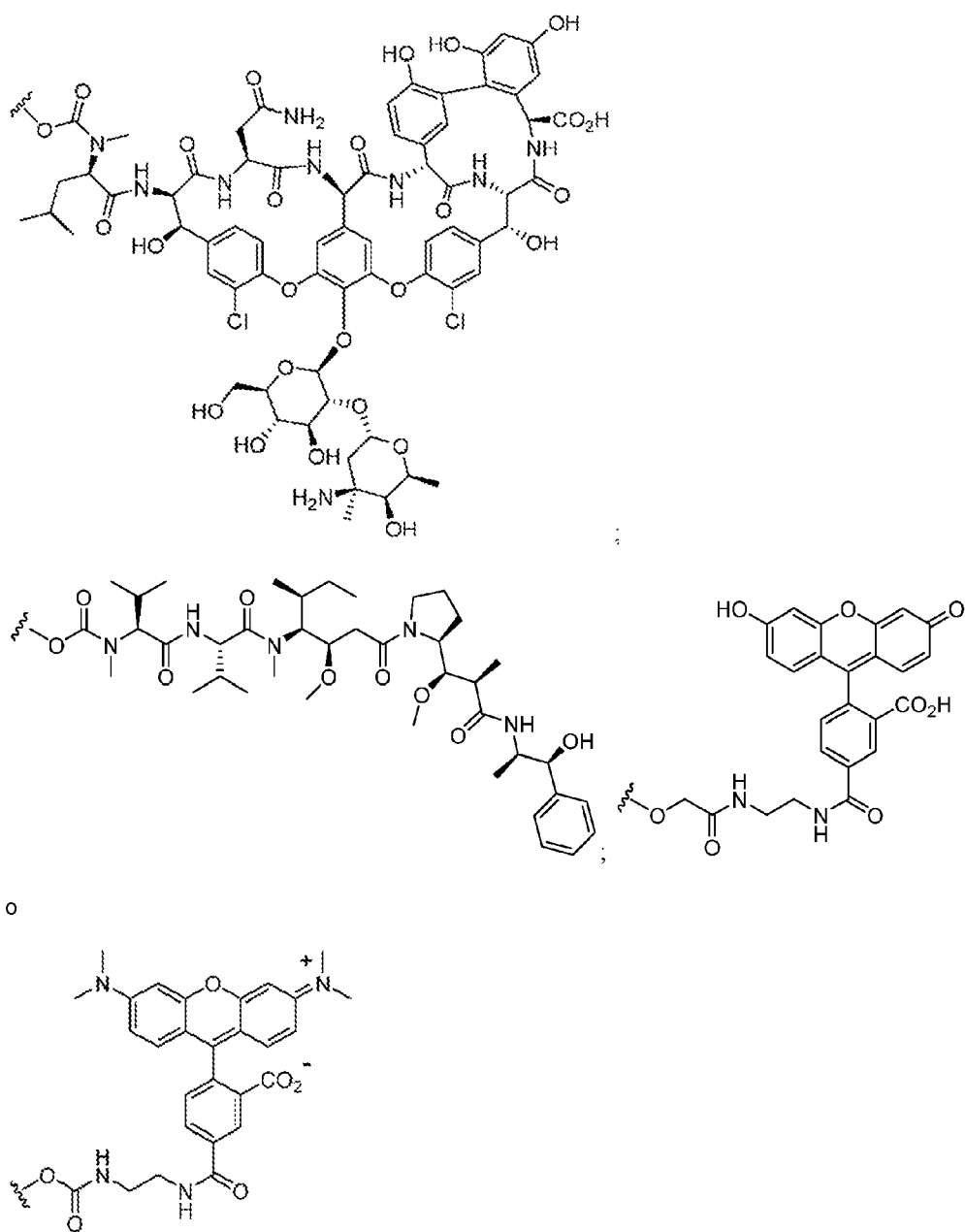




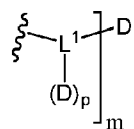




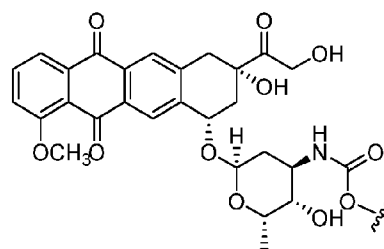
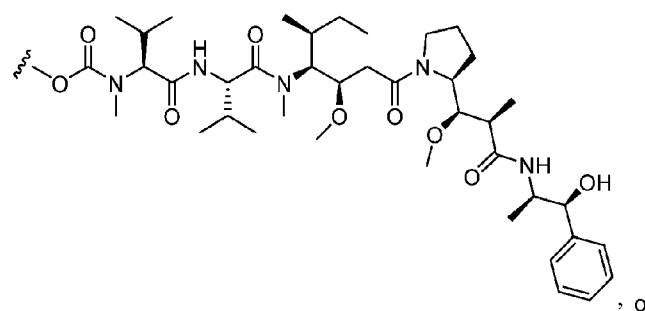
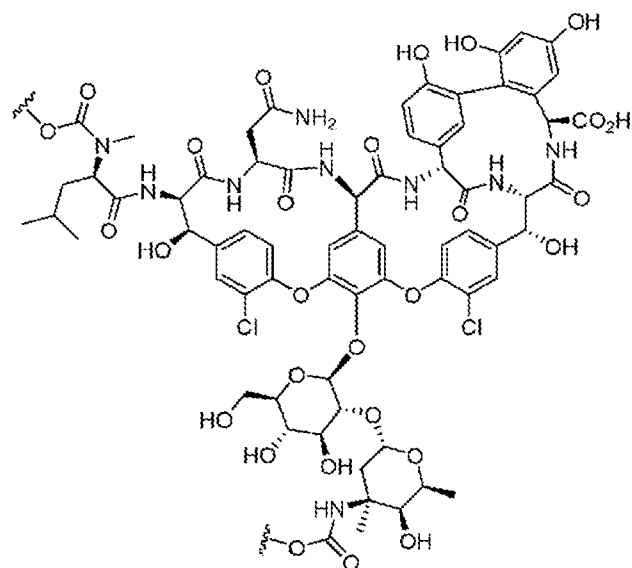
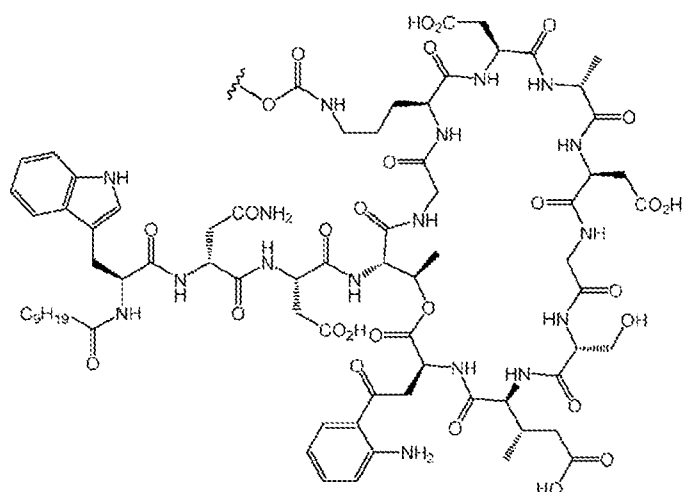




En cualquiera de las realizaciones descritas aquí hay realizaciones adicionales en las que



es

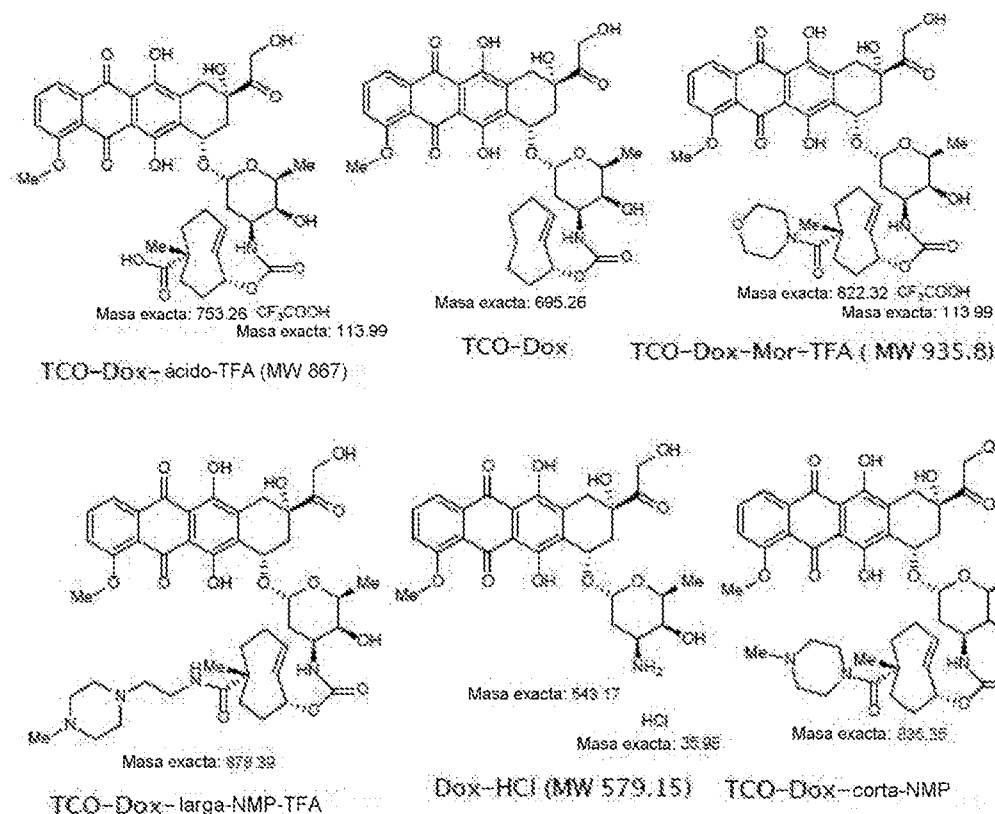


5

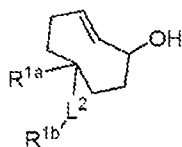
Las cargas útiles funcionalizadas según la invención tienen una solubilidad acuosa mejorada en comparación con las cargas útiles unidas a un cicloocteno no sustituido, y por lo tanto se formulan y administran más fácilmente según los métodos descritos aquí. Las estructuras de cargas útiles funcionalizadas se muestran a continuación. Los datos de solubilidad se muestran en la FIG. 1. Los valores numéricos para ratones y perros muestran las dosis calculadas posibles en función de un volumen de inyección típico para cada especie y la solubilidad termodinámica de cada fármaco.

15

Derivados de amidas de doxorubicina ácido, morfolínico y piperazínico



- 5 La invención proporciona además ciclooctenos sustituidos de la siguiente fórmula para uso en la preparación de cargas útiles funcionalizadas, en las que R^{1a} , R^{1b} , y L^2 son como se definen anteriormente.



- 10 En algunas realizaciones, D es un agente antibiótico, agente antifúngico, agente antiviral, agente anticancerígeno, agente cardiovascular, agente del SNC, agente antiinflamatorio/antiartrítico, agente anti-TB/antilepra, agente antihistamínico/para trastornos respiratorios, un agente corticosteroide, un agente inmunosupresor, o un agente antiulceroso.
- 15 En algunas realizaciones, D es un antibiótico. Los antibióticos adecuados incluyen, pero no se limitan a, β -lactamas, incluidas penicilinas y cefalosporinas, tales como tienamicinas, monobactamas, inhibidores de β -lactamasas y metoxipenicilinas; aminoglicósidos, incluyendo estreptomina, gentamicina, kanamicina, tobramicina, amikacina, neomicina, ribostamicina, micronomicina y astromicina; tetraciclinas, incluyendo tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina y doxiciclina; cloranfenicoles, incluidos cloranfenicol y tiamfenicol; macrólidos, incluyendo eritromicina, albomicina, estolato de eritromicina, etilsuccinato de eritromicina, azitromicina, acetilspiramicina, midecamicina y josamicina; otros antibióticos que actúan sobre bacterias grampositivas, tales como lincomicina, clindamicina, vancomicina y bacitracina; otros antibióticos que actúan sobre las bacterias Gram, tales como polimixina, fosfomicina, ciramicina, cicloserina y rifampicina; antibióticos antimicóticos, tales como griseofulvina; antibióticos anticancerígenos, tales como mitomicina, actinomicina D, bleomicina y adriamicina; y antibióticos inmunosupresores, tal como ciclosporina.
- 20
- 25

- En algunas realizaciones, D es un fármaco anticancerígeno, un anticoagulante, un fármaco inmunosupresor microbiano, o un fármaco antirrestenosis. El fármaco anticancerígeno puede ser uno o más seleccionados de metotrexato, purinas, pirimidinas, alcaloides vegetales, epotilonas, compuestos triptólicidos, antibióticos (en particular actinomicina D), hormonas y anticuerpos. Entre los alcaloides vegetales, se pueden citar en particular paclitaxel, doxorubicina, maitansina, auristatina, caliqueamicina, duocarmicina, tubulicina y camptotecina. El anticoagulante puede ser uno o más seleccionados de heparina, aspirina, hirudina, colchicina y antagonistas del receptor GPIIb/IIIa de plaquetas. Los antagonistas del receptor GPIIb/IIIa de plaquetas pueden ser uno o más seleccionados de tirofiban, abciximab y eptifibatida. El fármaco inmunosupresor microbiano puede ser uno o más
- 30

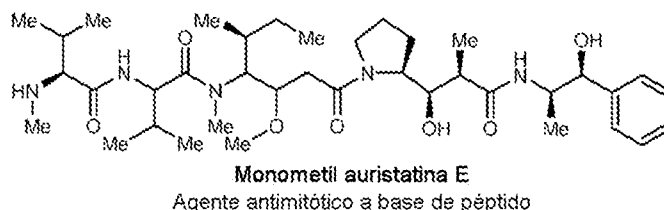
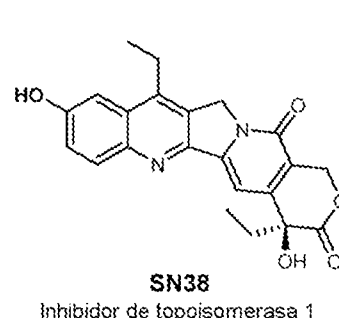
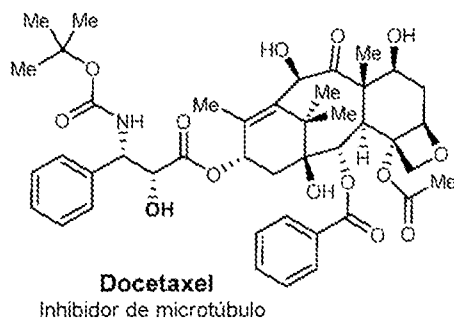
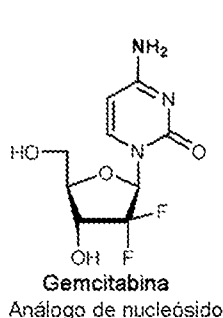
seleccionados de ciclosporina A, tacrolimus y sus análogos, despergualina, ésteres de micofenolato, rapamicina y sus derivados, sustancia FR-900520 de cepas de *Streptomyces*, sustancia FR-900523 de cepas de *Streptomyces*, daclizumab, pentanamida, kanglemicina C, espergualina, prodigiosina-25C, tranilast, miriocina, ciclosporina C, bredinina, ácido micofenólico, brefeldina A y cetosteroides. El fármaco anti-restenosis puede ser uno o más seleccionados de batimastat, inhibidores de metaloproteinasas, 17 β -estradiol, donantes de NO, 2-clorodesoxiadenosina, 2-desoxicoformicina, fingolimod, micofenolato de sodio, ISA_{TX}247 (un derivado de ciclosporina A), elsibucol, daclizumab, basiliximab, globulina antitímocítica, everolimus, metotrexato, neoral, ciclofosfamida, brequinar sódico, leflunomida y mizoribina.

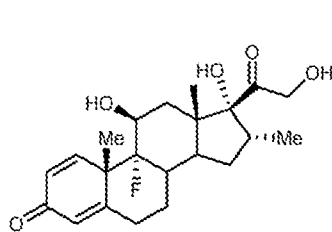
En algunas realizaciones, D es un fármaco anticancerígeno. Los fármacos anticancerígenos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, Acetato de Abiraterona, Abitrexato (Metotrexato), Abraxano (Formulación de Nanopartículas de Paclitaxel estabilizada con Albúmina), ABVD, ABVE, ABVE-PC, AC, AC-T, Adcetris (Brentuximab Vedotin), ADE, Ado-Trastuzumab Emtansina, Adriamicina (Hidrocloruro de Doxorrubicina), Aducril (Fluorouracilo), Dimaleato de Afatinib, Afinitor (Everolimus), Aldara (Imiquimod), Aldesleukin, Alemtuzumab, Alimta (Pemetrexed Disódico), Aloxi (Hidrocloruro de Palonosetron), Amboclorin (Clorambucilo), Amboclorina (Clorambucilo), Ácido Aminolevulínico, Anastrozol, Aprepitant, Aredia (Pamidronato Disódico), Arimidex (Anastrozol), Aromasin (Exemestano), Arranon (Nelarabina), Trióxido de Arsénico, Arzerra (Ofatumumab), Asparaginasa *Erwinia chrysanthemi*, Avastina (Bevacizumab), Axitinib, Azacitidina, BEACOPP, Hidrocloruro de Bendamustina, BEP, Bevacizumab, Bexaroteno, Bexxar (Tositumomab e I 131 Yodo Tositumomab), Bicalutamida, Bleomicina, Bortezomib, Bosulif (Bosutinib), Bosutinib, Brentuximab Vedotin, Busulfán, Busulfex (Busulfán), Cabazitaxel, Cabozantinib-S-Malato, CAF, Campath (Alemtuzumab), Camptosar (Hidrocloruro de Irinotecán), Capecitabina, CAPOX, Carboplatino, Carboplatino-Taxol, Carfilzomib, Casodex (Bicalutamida), CeeNU (Lomustina), Cerubidina (Hidrocloruro de Daunorrubicina), Cervarix (Vacuna Bivalente de VPH Recombinante), Cetuximab, Clorambucilo, Clorambucilo-Prednisona, CHOP, Cisplatino, Clafen (Ciclofosfamida), Clofarabina, Clofarex (Clofarabina), Clolar (Clofarabina), CMF, Cometriq (Cabozantinib-S-Malato), COPP, COPP-ABV, Cosmegen (Dactinomicina), Crizotinib, CVP, Ciclofosfamida, Cyfos (Ifosfamida), Citarabina, Citarabina Liposomal, Cytosar-U (Citarabina), Citoxano (Ciclofosfamida), Dabrafenib, Dacarbazina, Dacogen (Decitabina), Dactinomicina, Dasatinib, Hidrocloruro de Daunorrubicina, Decitabina, Degarelix, Denileukin Diftitox, Denosumab, DepoCyt (Citarabina Liposomal), DepoFoam (Citarabina Liposomal), Hidrocloruro de Dextrazoxano, Docetaxel, Doxil (Liposoma de Hidrocloruro de Doxorrubicina), Hidrocloruro de Doxorrubicina, Liposoma de Hidrocloruro de Doxorrubicina, Dox-SL (Liposoma de Hidrocloruro de Doxorrubicina), DTIC-Dome (Dacarbazina), Efudex (Fluorouracilo), Elitek (Rasburicasa), Ellence (Hidrocloruro de Epirubicina), Eloxatin (Oxaliplatino), Eltrombopag Olamina, Emend (Aprepitant), Enzalutamida, Hidrocloruro de Epirubicina, EPOCH, Erbitux (Cetuximab), Mesilato de Eribulina, Erivedge (Vismodegib), Hidrocloruro de Erlotinib, Erwinaze (Asparaginasa *Erwinia chrysanthemi*), Etopophos (Fosfato de Etopósido), Etopósido, Fosfato de Etopósido, Evacet (Liposoma de Hidrocloruro de Doxorrubicina), Everolimus, Evista (Hidrocloruro de Raloxifeno), Exemestano, Fareston (Toremifeno), Faslodex (Fulvestrant), FEC, Femara (Letrozol), Filgrastim, Fludara (Fosfato de Fludarabina), Fosfato de Fludarabina, Fluoroplex (Fluorouracilo), Fluorouracilo, Folex (Metotrexato), Folex PFS (Metotrexato), Folfiri, Folfiri-Bevacizumab, Folfiri-Cetuximab, Folfirinox, Folfox (Leucovorina, Fluorouracilo, Oxaliplatino), Folutina (Pralatrexato), FU-LV, Fulvestrant, Gardasil (Vacuna Tetravalente de VPH Recombinante), Gazyva (Obinutuzumab), Gefitinib, Hidrocloruro de Gemcitabina, Gemcitabina-Cisplatino, Gemcitabina-Oxaliplatino, Gemtuzumab Ozogamicina, Gemzar (Hidrocloruro de Gemcitabina), Gilotrif (Dimaleato de Afatinib), Gleevec (Mesilato de Imatinib), Glucapridasa, Acetato de Goserelina, Halaven (Mesilato de Eribulina), Herceptina (Trastuzumab), Vacuna Bivalente de VPH Recombinante, Vacuna Tetravalente de VPH Recombinante, Hicamtina (Hidrocloruro de Topotecán), Hyper-CVAD, Ibritumomab Tiuxetan, Ibrutinib, ICE, Iclusig (Hidrocloruro de Ponatinib), Ifex (Ifosfamida), Ifosfamida, Ifosfamidum (Ifosfamida), Mesilato de Imatinib, Imbruvica (Ibrutinib), Imiquimod, Inlyta (Axitinib), Intron A (Interferón Alfa-2b Recombinante), Yodo 131 Tositumomab y Tositumomab, Iplimumab, Iressa (Gefitinib), Hidrocloruro de Irinotecán, Istodax (Romidepsina), Ixabepilona, Ixemprea (Ixabepilona), Jakafi (Fosfato de Ruxolitinib), Jevtana (Cabazitaxel), Kadcyla (Ado-Trastuzumab Emtansina), Keoxifeno (Hidrocloruro de Raloxifeno), Kepivance (Palifermina), Kyprolis (Carfilzomib), Ditosilato de Lapatinib, Lenalidomida, Letrozol, Leucovorina Calcio, Leukeran (Clorambucilo), Acetato de Leuprolida, Levulan (Ácido Aminolevulínico), Linfolizin (Clorambucilo), LipoDox (Liposoma de Hidrocloruro de Doxorrubicina), Citarabina Liposomal, Lomustina, Luprón (Acetato de Leuprolida), Luprón Depot (Acetato de Leuprolida), Luprón Depot-Ped (Acetato de Leuprolida), Luprón Depot- 3 Meses (Acetato de Leuprolida), Luprón Depot-4 Meses (Acetato de Leuprolida), Marqibo (Liposoma de Sulfato de Vincristina), Matulane (Hidrocloruro de Procarbazona), Hidrocloruro de Mecloretamina, Megace (Acetato de Megestrol), Acetato de Megestrol, Mekinist (Trametinib), Mercaptopurina, Mesna, Mesnex (Mesna), Metazolastona (Temozolomida), Metotrexato, Metotrexato LPF (Metotrexato), Mexate (Metotrexato), Mexate-AQ (Metotrexato), Mitomicina C, Mitozytex (Mitomicina C), MOPP, Mozobil (Plerixafor), Mustargen (Hidrocloruro de Mecloretamina), Mutamicina (Mitomicina C), Myleran (Busulfán), Mylosar (Azacitidina), Mylotarg (Gemtuzumab Ozogamicina), Paclitaxel en Nanopartículas (Formulación de Nanopartículas de Paclitaxel estabilizada con Albúmina), Navelbina (Tartato de Vinorelbina), Nelarabina, Neosar (Ciclofosfamida), Neupogen (Filgrastim), Nexavar (Tosilato de Sorafenib), Nilotinib, Nolvadex (Citrato de Tamoxifeno), Nplate (Romiplostim), Obinutuzumab, Ofatumumab, Mepesuccinato de Omacetaxina, Oncaspar (Pegaspargasa), Ontak (Denileukin Diftitox), OEPA, OPPA, Oxaliplatino, Paclitaxel, Formulación de Nanopartículas de Paclitaxel estabilizada con Albúmina, Palifermina, Hidrocloruro de Palonosetron, Pamidronato Disódico, Panitumumab, Paraplat (Carboplatino), Paraplatino (Carboplatino), Hidrocloruro de Pazopanib, Pegaspargasa, Peginterferón Alfa-2b,

PEG-Intron (Peginterferón Alfa-2b), Pemetrexed Disódico, Perjeta (Pertuzumab), Pertuzumab, Platinol (Cisplatino), Platinol-AQ (Cisplatino), Plerixafor, Pomalidomida, Pomalyst (Pomalidomida), Hidrocloruro de Ponatinib, Pralatrexato, Prednisona, Hidrocloruro de Procarbazona, Proleukina (Aldesleukina), Prolia (Denosumab), Promacta (Eltrombopag Olamina), Provenge (Sipuleucel-T), Purinethol (Mercaptopurina), Dicloruro de Radio 223, Hidrocloruro de Raloxifeno, Rasburicasa, R-CHOP, R-CVP, Vacuna Bivalente de VPH Recombinante, Vacuna Tetravalente de VPH Recombinante, Interferón Alfa-2b Recombinante, Regorafenib, Revlimid (Lenalidomida), Rheumatrex (Metotrexato), Rituxan (Rituximab), Rituximab, Romidepsina, Romiplostim, Rubidomicina (Hidrocloruro de Daunorrubicina), Fosfato de Ruxolitinib, Sclerosol Intrapleural Aerosol (Talco), Sipuleucel-T, Tosilato de Sorafenib, Sprycel (Dasatinib), Stanford V, Polvo de Talco Estéril (Talco), Steritalc (Talco), Stivarga (Regorafenib), Malato de Sunitinib, Sutent (Malato de Sunitinib), Sylatron (Peginterferón Alfa-2b), Synovir (Talidomida), Synribo (Mepesuccinato de Omacetaxina), Tafinlar (Dabrafenib), Talco, Citrato de Tamoxifeno, Tarabina PFS (Citarabina), Tarceva (Hidrocloruro de Erlotinib), Targretin (Bexaroteno), Tassigna (Nilotinib), Taxol (Paclitaxel), Taxotere (Docetaxel), Temodar (Temozolomida), Temozolomida, Temsirolimus, Talidomida, Thalomid (Talidomida), Toposar (Etopósido), Hidrocloruro de Topotecán, Toremifeno, Torisel (Temsirrolimus), Tositumomab y 1 131 Yodo Tositumomab, Totecl (Hidrocloruro de Dexrazoxano), Trastuzumab, Treanda (Hidrocloruro de Bendamustina), Trisenox (Trióxido de Arsénico), Tykerb (Ditosilato de Lapatinib), Vandetanib, VAMP, Vectibix (Panitumumab), Velp, Velban (Sulfato de Vinblastina), Velcade (Bortezomib), Velsar (Sulfato de Vinblastina), Vemurafenib, VePesid (Etopósido), Viadur (Acetato de Leuprolida), Vidaza (Azacitidina), Sulfato de Vinblastina, Vincasar PFS (Sulfato de Vincristina), Sulfato de Vincristina, Liposoma de Sulfato de Vincristina, Tartrato de Vinorelbina, Vismodegib, Voraxaze (Glucarpidasa), Vorinostat, Votrient (Hidrocloruro de Pazopanib), Wellcovorin (Leucovorina Cálcica), Xalkori (Crizotinib), Xeloda (Capecitabina), Xelox, Xgeva (Denosumab), Xofigo (Dicloruro de Radio 223), Xtandi (Enzalutamida), Yervoy (Ipilimumab), Zaltrap (Ziv-Aflibercept), Zelboraf (Vemurafenib), Zevalin (Ibritumomab Tiuxetán), Zinecard (Hidrocloruro de Dexrazoxano), Ziv-Aflibercept, Zoladex (Acetato de Goserelina), Ácido Zoledrónico, Zolinza (Vorinostat), Zometa (Ácido Zoledrónico), y Zytiga (Acetato de Abiraterona).

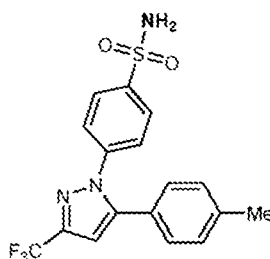
En algunas realizaciones, D es un dímero de PBD, caliqueamicina, esperomicina, tubulisina B, rizoxina, dolastatina, didemnina B, camptotecina, CBI, temsirolimus, actinomicina D, epotilona B, taxol, criptoficina, SN38, velcade, bruceantina, DAVLBH, DM1, Phyllanthoside, Alimta, toxina T2, MMC, vantalán, vinorelbina, brefeldina, sunitinib, daunomicina, semaxanib, tarceva, iressa, irinotecán, LY-541503, geldanomicina, gemcitabina, metotrexato, gleevec, topotecán, bleomicina, doxorubicina, cisplatino, mostazas de N, etopósido, o 5-FU.

En algunas realizaciones, D es una antraciclina. En algunas realizaciones, D es un taxano. En algunas realizaciones, D es gemcitabina. En algunas realizaciones, D es doxorubicina. En algunas realizaciones, D es docetaxel. En algunas realizaciones, D es SN38. En algunas realizaciones, D es monometil auristatina E. En algunas realizaciones, D es dexametasona. En algunas realizaciones, D es celecoxib. En algunas realizaciones, D es gentamicina.

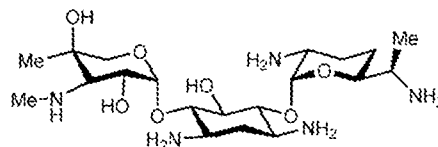




Dexametasona
Corticosteroide



Celecoxib
Inhibidor de COX-2



Gentamicina
Antibiótico contra bacterias Gram (-)

En algunas realizaciones, D es un agente potenciador de la permeación intracelular. Por ejemplo, D puede ser un cetoácido funcionalizado, ácido 6-oxo-6-fenilhexanoico, ácido 8-oxo-8-feniloctanoico, ácido 8-(2,5-diclorofenil)-8-oxooctanoico, un cetoéster o aldehído funcionalizado, un aminoácido modificado, aminoácidos modificados, ácido N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]octanoico, ácido N-[8-(2-hidroxibenzoil)amino]decanoico, ácido N-(5-clorosaliciloil)-8-aminocaprílico, ácido N-[4-(4-cloro-2hidroxibenzoil)amino]butanoico, 2-hidroxibenzoato de 2-etilhexilo, ácido 5-ciclohexil-5-oxovalérico, ácido 6-ciclohexil-6-oxohexanoico, ácido 7-ciclohexil-7-oxoheptanoico, ácido 8-ciclohexil-8-oxooctanoico, ácido 4-ciclopentil-4-oxobutírico, ácido 5-ciclopentil-5-oxovalérico, ácido 6-ciclopentil-6-oxohexanoico, ácido 7-ciclopentil-7-oxoheptanoico, ácido 8-ciclopentil-8-oxooctanoico, ácido 4-ciclobutil-4-oxobutírico, ácido 5-ciclobutil-5-oxovalérico, ácido 6-ciclobutil-6-oxohexanoico, ácido 7-ciclobutil-7-oxoheptanoico, ácido 8-ciclobutil-8-oxooctanoico, ácido 4-ciclopropil-4-oxobutírico, ácido 5-ciclopropil-5-oxovalérico, ácido 6-ciclopropil-6-oxohexanoico, ácido 7-ciclopropil-7-oxoheptanoico, ácido 8-ciclopropil-8-oxooctanoico, ácido 8-[(3-metilciclohexil)oxi]octanoico, ácido 7-[(3-metilciclohexil)oxi]heptanoico, ácido 6-[(3-metilciclohexil)oxi]hexanoico, ácido 5-[(3-metilciclohexil)oxi]pentanoico, ácido 4-[(3-metilciclohexil)oxi]butanoico, ácido 3-[(3-metilciclohexil)oxi]propanoico, octisalato, dicetopiperazinas, saponina, una acilcarnitina, una alcanoilcolina, un taurodihidrofusidato, un sulfóxido, una oxazolidinona, una pirrolidona, un alcohol o alcanol, un ácido benzoico, un glicol, un tensioactivo, un terpeno, una sal funcionalmente eficaz de cualquiera de los anteriores, un derivado de cualquiera de los anteriores, o combinaciones de los mismos.

Los compuestos pueden existir como estereoisómeros en los que están presentes centros asimétricos o quirales. Los estereoisómeros son "R" o "S", dependiendo de la configuración de los sustituyentes alrededor del átomo de carbono quiral. Los términos "R" y "S" usados aquí son configuraciones como se definen en las Recomendaciones IUPAC 1974 para la Sección E, Estereoquímica Fundamental, en Pure Appl. Química, 1976, 45: 13-30. La descripción contempla diversos estereoisómeros y mezclas de los mismos, y estos se incluyen específicamente dentro del alcance de esta invención. Los estereoisómeros incluyen enantiómeros y diastereómeros, y mezclas de enantiómeros o diastereómeros. Los estereoisómeros individuales de los compuestos se pueden preparar sintéticamente a partir de materiales de partida disponibles comercialmente, que contienen centros asimétricos o quirales, o mediante la preparación de mezclas racémicas, seguido de métodos de resolución bien conocidos por los expertos en la técnica. Estos métodos de resolución se ejemplifican mediante (1) unión de una mezcla de enantiómeros a un auxiliar quiral, separación de la mezcla resultante de diastereómeros mediante recristalización o cromatografía, y liberación opcional del producto ópticamente puro del auxiliar como se describe en Furniss, Hannaford, Smith, and Tatchell, "Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry", 5.ª edición (1989), Longman Scientific & Technical, Essex CM20 2JE, Inglaterra, o (2) separación directa de la mezcla de enantiómeros ópticos en columnas cromatográficas quirales, o (3) métodos de recristalización fraccionada.

Debe entenderse que los compuestos pueden poseer formas tautoméricas así como isómeros geométricos, y que éstos también constituyen un aspecto de la invención.

La presente descripción también incluye compuestos marcados isotópicamente, que son idénticos a los mencionados aquí, excepto por el hecho de que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico diferente de la masa atómica o el número másico que se encuentra generalmente en naturaleza. Ejemplos de isótopos adecuados para su inclusión en los compuestos de la invención son hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, y cloro, tales como, pero no se limitan a, ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , y ^{36}Cl , respectivamente. La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo una mayor vida media *in vivo* o requisitos de dosificación reducidos, y, por lo tanto, puede ser preferida en algunas circunstancias. El compuesto puede incorporar isótopos emisores de positrones para formación de imágenes médicas y estudios de tomografía emisora de positrones (PET), para determinar la distribución de los receptores. Los isótopos emisores de positrones adecuados que pueden incorporarse en compuestos de fórmula (I) son ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , y ^{18}F . Los compuestos marcados isotópicamente descritos aquí generalmente se pueden preparar mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos

en la técnica o mediante procedimientos análogos a los descritos en los Ejemplos adjuntos, usando un reactivo marcado isotópicamente apropiado en lugar de un reactivo no marcado isotópicamente.

B. Composiciones de soporte

En algunas realizaciones, la composición es una composición de soporte. La composición de soporte puede ser una composición de soporte biocompatible. Las composiciones de soporte biocompatibles son compatibles con el cuerpo del sujeto. En algunos casos, una composición de soporte biocompatible no es tóxica para el sujeto y no reacciona sustancialmente con tejidos o compuestos biológicos en el sujeto. Puede usarse cualquier soporte biocompatible adecuado. Por ejemplo, el soporte biocompatible puede ser un hidrogel, una matriz polimérica reticulada, un metal, una cerámica, un plástico, un material de injerto óseo, entre otros.

Los hidrogeles incluyen, pero no se limitan a, hidrogeles de polisacáridos, alginato, celulosa, ácido hialurónico, quitosano, quitosina, quitina, ácido hialurónico, sulfato de condroitina, heparina, y similares. Otros biomateriales a base de azúcar adecuados incluyen los descritos en Polymer Advanced Technology, 2014, 25, 448-460. Los polímeros que pueden usarse como soporte biocompatible pueden incluir, pero no se limitan a, polifosfacenos, polianhídridos, poliacetales, poli(ortoésteres), polifosfoésteres, policaprolactonas, poliuretanos, polilactidas, policarbonatos, poliamidas, y poliéteres, y mezclas/compuestos/copolímeros de los mismos. Los poliéteres representativos incluyen, pero no se limitan a, poli(etilenglicol) (PEG), polipropilenglicol (PPG), Pluronic tribloques ([PEG]_n-[PPG]_m-[PEG]_n), diacrilato de PEG (PEGDA), y dimetacrilato de PEG (PEGDMA). El soporte biocompatible también puede incluir proteínas y otros poli(aminoácidos), tales como colágeno, gelatina, elastina y polipéptidos similares a elastina, albúmina, fibrina, poli(ácido gamma-glutámico), poli(L-lisina), poli(ácido L-glutámico), poli(ácido aspártico), y similares.

En algunas realizaciones, el soporte es un hidrogel. En algunas realizaciones, el soporte es alginato. En algunas realizaciones, el soporte es quitina. En algunas realizaciones, el soporte es ácido hialurónico. En algunas realizaciones, el soporte es quitosina.

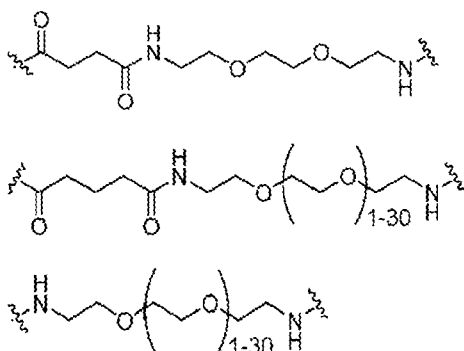
En algunas realizaciones, el soporte es una partícula. Las partículas de la presente descripción pueden tener un diámetro de 2 cm o menos, tal como 1,5 cm o menos, o 1 cm o menos, o 0,5 cm o menos. Por ejemplo, las partículas pueden ser nanopartículas o micropartículas. Las nanopartículas incluyen partículas que tienen dimensiones promedio en la escala nanométrica (por ejemplo, 1000 nm o menos). Las micropartículas son partículas que tienen dimensiones promedio en la escala micrométrica (por ejemplo, 1000 μm o menos). Por "promedio" se entiende la media aritmética. En algunas realizaciones, las nanopartículas tienen un diámetro que oscila de 1 nm a 1 μm, tal como de 10 nm a 1 μm, o 25 nm a 1 μm, o 50 nm a 1 μm, o 75 nm a 1 μm, o 100 nm a 1 μm, o 150 nm a 1 μm, o 200 nm a 1 μm, o 250 nm a 1 μm, o 300 nm a 1 μm, o 350 nm a 1 μm, o 400 nm a 1 μm, o 450 nm a 1 μm, o 500 nm a 1 μm. En otras realizaciones, las micropartículas tienen un diámetro que oscila de 1 μm a 1 mm, tal como de 10 μm a 1 mm, o 25 μm a 1 mm, o 50 μm a 1 mm, o 75 μm a 1 mm, o 100 μm a 1 mm, o 150 μm a 1 mm, o 200 μm a 1 mm, o 250 μm a 1 mm, o 300 μm a 1 mm, o 350 μm a 1 mm, o 400 μm a 1 mm, o 450 μm a 1 mm, o 500 μm a 1 mm. En realizaciones adicionales, se pueden ensamblar partículas pequeñas del orden de 10-100 nm de diámetro para formar complejos más grandes, tales como agrupamientos o conjuntos del orden de 1-10 μm. Las partículas de la presente descripción pueden ser sustancialmente esféricas, de modo que las partículas tengan una sección transversal sustancialmente circular. También se pueden usar otras formas de partículas, tales como, pero no se limitan a, elipsoide, cúbica, cilíndrica, cónica, de aguja, u otras formas irregulares.

Una "partícula" puede tomar la forma de cualquier material fabricado, una molécula, criptofano, un virus, un fago, etc. La partícula puede estar compuesta de un material, tal como, pero no se limita a, un metal, una cerámica, un plástico, un polímero, un hidrogel, y similares. Por ejemplo, las partículas pueden estar hechas de un material inerte, tal como alginato u óxido de hierro. En algunos ejemplos, las partículas pueden ser magnéticas, y pueden estar formadas de un material paramagnético, superparamagnético o ferromagnético, u otro material que responda a un campo magnético.

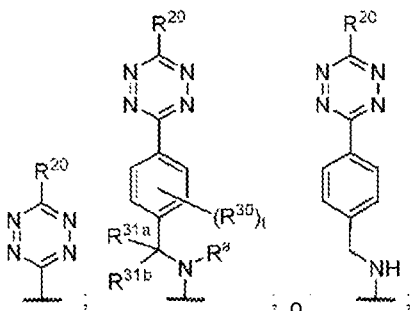
Las partículas, o un grupo de varias partículas en un complejo, pueden funcionalizarse con un agente de direccionamiento (por ejemplo, un ligando o anticuerpo) que se une específicamente (o se une sustancialmente de forma específica) a una diana (por ejemplo, un receptor diana o una diana de la superficie celular), tal como un receptor o una diana de la superficie celular clínicamente relevante (por ejemplo, antígeno). El agente de direccionamiento puede estar unido directamente a la propia partícula. El agente de direccionamiento puede ser un anticuerpo, péptido, ácido nucleico, fago, bacteria, virus, o cualquier otra molécula con una afinidad específica por un receptor diana o una diana de la superficie celular. En algunos casos, el receptor o diana de la superficie celular es PD-1, CTLA-4, HER2/neu, HER1/EGFR, VEGFR, BCR-ABL, SRC, JAK2, MAP2K, EML4-ALK, BRAF V600E, 4-1BB, GITR, GSK3beta, u otros receptores celulares o dianas de la superficie celular. También se pueden unir a las partículas otros compuestos o moléculas, tales como fluoróforos o marcadores autofluorescentes o luminiscentes, que pueden ayudar a detectar las partículas (por ejemplo, detección *in vivo*). Los ligandos y/o marcadores detectables pueden unirse directamente a la partícula, o unirse a la partícula a través de grupos funcionales bioortogonales como se describe aquí.

En algunas realizaciones, el soporte es un material de injerto óseo, tal como un material sustituto de injerto óseo. Un material sustituto de injerto óseo es un material biocompatible estructuralmente similar al hueso. En algunos casos, un material sustituto de injerto óseo es bioabsorbible, de modo que el material sustituto de injerto óseo puede disolverse o absorberse en el cuerpo con el tiempo. Un material sustituto de injerto óseo puede ser osteoconductor, de modo que facilite la formación de vasos sanguíneos y hueso nuevo en el material sustituto del injerto óseo. En algunos casos, el material sustituto de injerto óseo es osteoinductor, de modo que facilita la formación de hueso nuevo mediante el reclutamiento activo de células madre mesenquimatosas del tejido circundante. Por ejemplo, en el material sustituto de injerto óseo se pueden incluir factores de crecimiento, tales como proteínas morfogenéticas óseas. Los materiales sustitutos de injerto óseo incluyen, pero no se limitan a, hidroxiapatita, fosfato tricálcico, matriz ósea desmineralizada, colágeno bovino, sulfato de calcio, fosfato de calcio, virutas de hueso esponjoso, y similares, y combinaciones de los mismos.

Como se describió anteriormente, las composiciones de soporte de la presente descripción incluyen un soporte y un primer agente de unión unido covalentemente al soporte. El agente de unión se puede unir al soporte sobre una superficie del soporte, tal como una superficie del soporte accesible al disolvente (por ejemplo, una superficie del soporte que está en contacto con el disolvente circundante). En algunos casos, el agente de unión se une directamente al soporte. Por ejemplo, el agente de unión se puede unir covalentemente a la superficie del soporte, por ejemplo a través de un enlace covalente, tal como una amida, amina, éster, carbamato, urea, tioéter, tiocarbamato, tiocarbonato, tiourea, etc. En algunos casos, el agente de unión se une covalentemente al soporte a través de un enlace de amida. En otros casos, el agente de unión se puede unir al soporte mediante un enlazador. Puede usarse cualquier enlazador adecuado para unir el agente de unión al soporte. Los enlazadores representativos pueden tener de 1 a 100 átomos de enlace, y pueden incluir grupos funcionales etilenoxi, aminas, ésteres, amidas, carbamatos, carbonatos y cetonas. Por ejemplo, los enlazadores pueden tener de 1 a 50 átomos de enlace, o de 5 a 50 átomos de enlace, o de 10 a 50 átomos de enlace. Los enlazadores representativos incluyen, pero no se limitan a, los que se muestran a continuación:

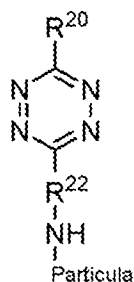


En algunas realizaciones, las composiciones de soporte comprenden un grupo que contiene tetrazina de fórmula:



en la que R^{20} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, alquilo, alquénilo, alquinilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo, cicloalquénilo, CF_3 , CF_2-R' , NO_2 , OR' , SR' , $C(=O)R'$, $C(=S)R'$, $OC(=O)R''$, $SC(=O)R''$, $OC(=S)R''$, $SC(=S)R''$, $S(=O)R'$, $S(=O)_2R''$, $S(=O)_2NR'R''$, $C(=O)O-R'$, $C(=O)S-R'$, $C(=S)O-R'$, $C(=S)S-R'$, $C(=O)NR'R''$, $C(=S)NR'R''$, $NR'R''$, $NR'C(=O)R''$, $NR'C(=S)R''$, $NR'C(=O)OR''$, $NR'C(=S)OR''$, $NR'C(=O)SR''$, $NR'C(=S)SR''$, $OC(=O)NR'R''$, $SC(=O)NR'R''$, $OC(=S)R'R''$, $SC(=S)R'R''$, $NR'C(=O)NR'R''$, y $NR'C(=S)NR'R''$; R' y R'' , en cada aparición, se seleccionan independientemente de hidrógeno, arilo y alquilo; y R'' , en cada aparición, se selecciona independientemente entre arilo y alquilo; R^{30} es halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo, haloalquilo, alquénilo, alquinilo, alcoxi, haloalcoxi, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo o cicloalquénilo; R^a , R^{31a} y R^{31b} son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C_1-C_6 o haloalquilo de C_1-C_6 ; y t es 0, 1, 2, 3 o 4.

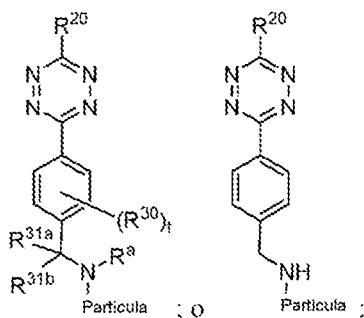
En algunas realizaciones, las composiciones de soporte tienen la fórmula:



5 en la que

R^{20} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, alquilo, alquenilo, alquinilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo, cicloalquenilo, CF_3 , CF_2-R' , NO_2 , OR' , SR' , $C(=O)R'$, $C(=S)R'$, $OC(=O)R''$, $SC(=O)R''$, $OC(=S)R''$, $SC(=S)R''$, $S(=O)R'$, $S(=O)_2R''$, $S(=O)_2NR'R''$, $C(=O)O-R'$, $C(=O)S-R'$, $C(=S)O-R'$, $C(=S)S-R'$, $C(=O)NR'R''$, $C(=S)NR'R''$, $NR'R''$, $NR'C(=O)R''$, $NR'C(=S)R''$, $NR'C(=O)OR''$, $NR'C(=S)OR''$, $NR'C(=O)SR''$, $NR'C(=S)SR''$, $OC(=O)NR'R''$, $SC(=O)NR'R''$, $OC(=S)R'R''$, $SC(=S)R'R''$, $NR'C(=O)NR'R''$, y $NR'C(=S)NR'R''$; R' y R'' , en cada aparición, se seleccionan independientemente de hidrógeno, arilo y alquilo; R'' , en cada aparición, se selecciona independientemente de arilo y alquilo; y R^{22} es un enlazador de 1 a 100 átomos enlazadores, y puede incluir grupos etileno-oxi, aminas, ésteres, amidas, carbamatos, carbonatos y grupos funcionales cetonas. Por ejemplo, los enlazadores pueden tener de 1 a 50 átomos de enlace, o de 5 a 50 átomos de enlace, o de 10 a 50 átomos de enlace.

En algunas realizaciones, las composiciones de soporte tienen la fórmula:

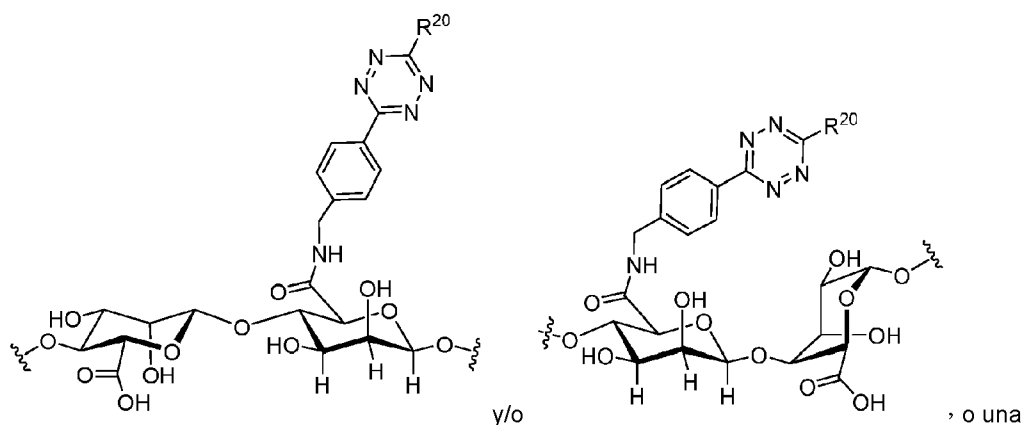


20

en la que

R^{20} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, alquilo, alquenilo, alquinilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo, cicloalquenilo, CF_3 , CF_2-R' , NO_2 , OR' , SR' , $C(=O)R'$, $C(=S)R'$, $OC(=O)R''$, $SC(=O)R''$, $OC(=S)R''$, $SC(=S)R''$, $S(=O)R'$, $S(=O)_2R''$, $S(=O)_2NR'R''$, $C(=O)O-R'$, $C(=O)S-R'$, $C(=S)O-R'$, $C(=S)S-R'$, $C(=O)NR'R''$, $C(=S)NR'R''$, $NR'R''$, $NR'C(=O)R''$, $NR'C(=S)R''$, $NR'C(=O)OR''$, $NR'C(=S)OR''$, $NR'C(=O)SR''$, $NR'C(=S)SR''$, $OC(=O)NR'R''$, $SC(=O)NR'R''$, $OC(=S)R'R''$, $SC(=S)R'R''$, $NR'C(=O)NR'R''$, y $NR'C(=S)NR'R''$; R' y R'' , en cada aparición, se seleccionan independientemente de hidrógeno, arilo y alquilo; R'' , en cada aparición, se selecciona independientemente entre arilo y alquilo; R^{30} es halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo, haloalquilo; alquenilo, alquinilo, alcoxi; haloalcoxi; heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo o cicloalquenilo; R^a , R^{31a} y R^{31b} son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C_1-C_6 o haloalquilo de C_1-C_6 ; y t es 0, 1, 2, 3 o 4.

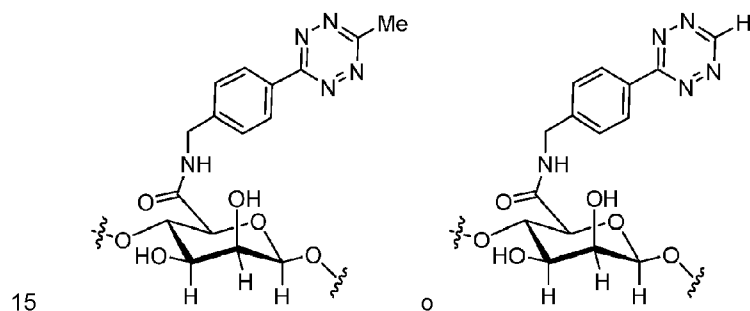
En ciertas realizaciones, las composiciones de soporte comprenden alginato sustituido que tiene unidades de fórmula:



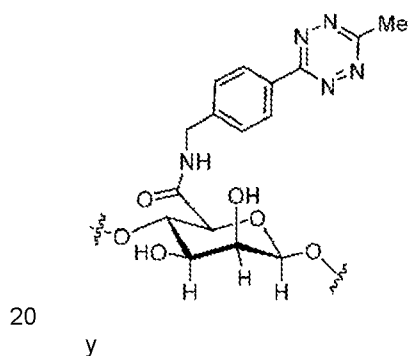
sal del mismo,

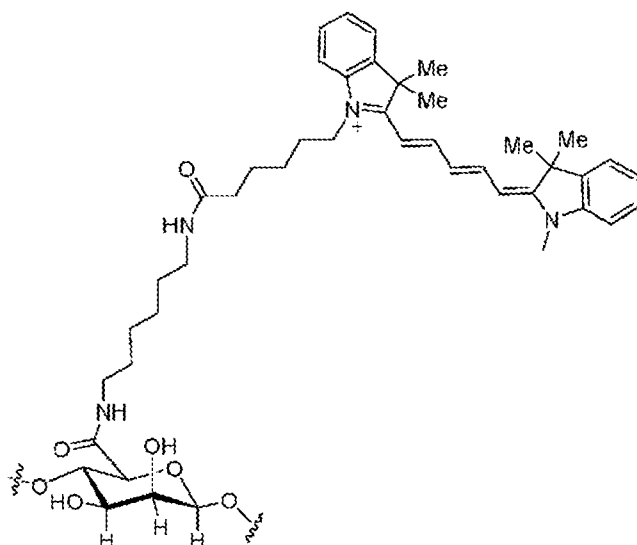
- 5 en la que R^{20} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, alquilo, alquenoilo, alquiniilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo, cicloalquenoilo, CF_3 , CF_2-R' , NO_2 , OR' , SR' , $C(=O)R'$, $C(=S)R'$, $OC(=O)R''$, $SC(=O)R''$, $OC(=S)R''$, $SC(=S)R''$, $S(=O)R'$, $S(=O)_2R''$, $S(=O)_2NR'R''$, $C(=O)O-R'$, $C(=O)S-R'$, $C(=S)O-R'$, $C(=S)S-R'$, $C(=O)NR'R''$, $C(=S)NR'R''$, $NR'R''$, $NR'C(=O)R''$, $NR'C(=S)R''$, $NR'C(=O)OR''$, $NR'C(=S)OR''$, $NR'C(=O)SR''$, $NR'C(=S)SR''$, $OC(=O)NR'R''$, $SC(=O)NR'R''$, $OC(=S)R'R''$, $SC(=S)R'R''$, $NR'C(=O)NR'R''$, y $NR'C(=S)NR'R''$; R' y R'' , en cada aparición, se seleccionan independientemente de hidrógeno, arilo y alquilo; y R'' , en cada aparición, se selecciona independientemente de arilo y alquilo.

En algunas realizaciones, las composiciones de soporte comprenden unidades de fórmula:

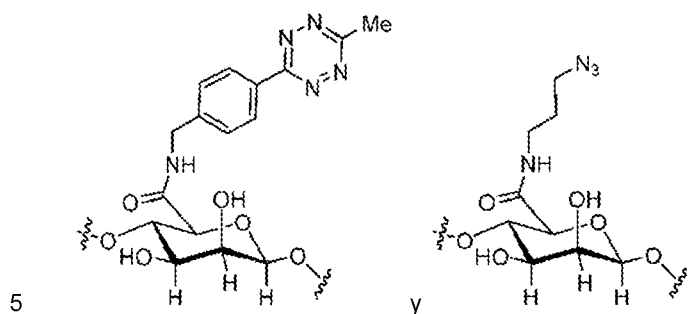


En algunas realizaciones, las composiciones de soporte comprenden unidades de fórmula:

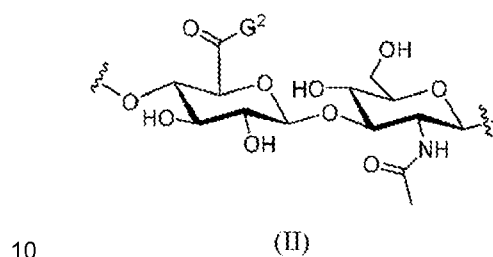




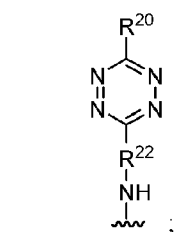
En algunas realizaciones, las composiciones de soporte comprenden unidades de fórmula:



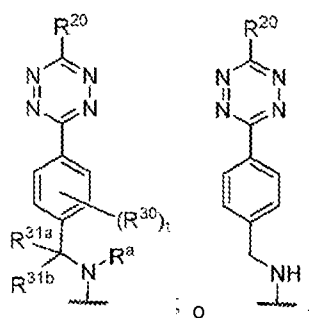
En algunas realizaciones, las composiciones de soporte comprenden ácido hialurónico sustituido que tiene unidades de fórmula (II):



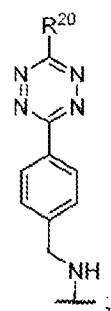
en la que G^2 es



R^{22} es un enlazador de 1 a 100 átomos de enlace; y R^{20} es como se define aquí. En realizaciones adicionales, G^2 es

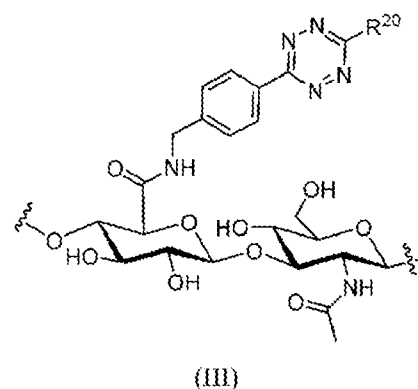


En aún otras realizaciones, G^2 es



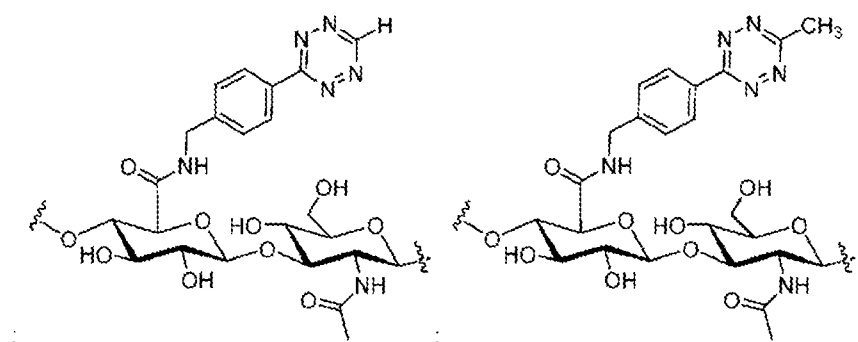
y R²⁰ es hidrógeno o alquilo de C₁₋₄.

Los compuestos de fórmula (II) incluyen compuestos de fórmula (III):

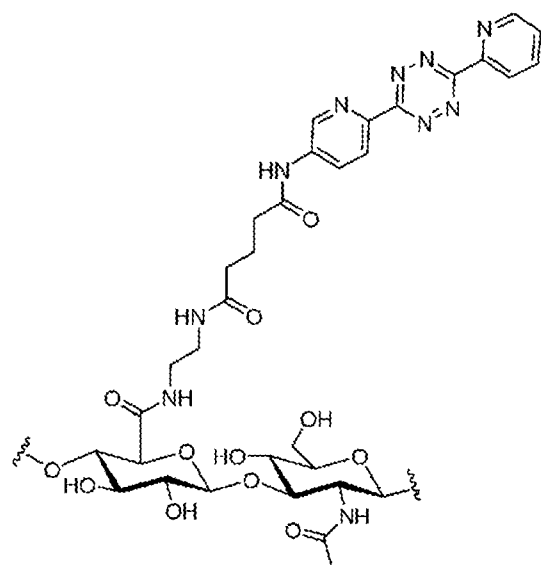


en la que R^{20} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, alquilo, alquenoilo, alquinilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo, cicloalquenoilo, CF_3 , CF_2-R' , NO_2 , OR' , SR' , $C(=O)R'$, $C(=S)R'$, $OC(=O)R''$, $SC(=O)R'''$, $OC(=S)R'''$, $SC(=S)R'''$, $S(=O)R'$, $S(=O)_2R'''$, $S(=O)_2NR'R''$, $C(=O)O-R'$, $C(=O)S-R'$, $C(=S)O-R'$, $C(=S)S-R'$, $C(=O)NR'R''$, $C(=S)NR'R''$, $NR'R''$, $NR'C(=O)R''$, $NR'C(=S)R''$, $NR'C(=O)OR''$, $NR'C(=S)OR''$, $NR'C(=O)SR''$, $NR'C(=S)SR''$, $OC(=O)NR'R''$, $SC(=O)NR'R''$, $OC(=S)R'R''$, $SC(=S)R'R''$, $NR'C(=O)NR'R''$, y $NR'C(=S)NR'R''$; R' y R'' , en cada aparición, se seleccionan independientemente de hidrógeno, arilo y alquilo; y R''' , en cada aparición, se selecciona independientemente de arilo y alquilo. En realizaciones adicionales según la fórmula (III), R^{20} es hidrógeno o alquilo de C_{1-4} .

En algunas realizaciones, las composiciones de soporte comprenden unidades de fórmula:



o



5

Composiciones de soporte adicionales se ejemplifican en los documentos WO2017/044983, WO/2015/139025A1, y WO/2014/205126A1.

El derivado de ácido hialurónico incluye un ácido hialurónico que tiene una pluralidad de unidades de ácido glucurónico y un grupo que contiene tetrazina unido o directamente enlazado a una unidad de ácido glucurónico del ácido hialurónico. El ácido hialurónico puede presentar también varias unidades de N-acetilglucosamina. En algunas realizaciones, las unidades de N-acetilglucosamina del ácido hialurónico no están unidas ni conjugadas con el grupo que contiene tetrazina.

El grupo que contiene tetrazina puede estar unido o directamente enlazado a través de un ácido carboxílico de una unidad de ácido glucurónico. El grupo que contiene tetrazina se puede incorporar al ácido hialurónico de alrededor de 0,1 % a alrededor de 80 %, medido por el % de ácidos carboxílicos que están unidos o conjugados con el grupo que contiene tetrazina, tal como alrededor de 1 % alrededor de 75 %, alrededor de 5 % a alrededor de 75 %, alrededor de 10 % a alrededor de 50 %, o alrededor de 40 % a alrededor de 75 %, medido por el % de ácidos carboxílicos que están unidos o conjugados con el grupo que contiene tetrazina.

3. Métodos sintéticos

Los compuestos de la presente descripción pueden entenderse mejor en relación con los siguientes esquemas y métodos sintéticos que ilustran un medio por el cual se pueden preparar los compuestos.

En otro aspecto, se describen métodos para preparar las composiciones descritas.

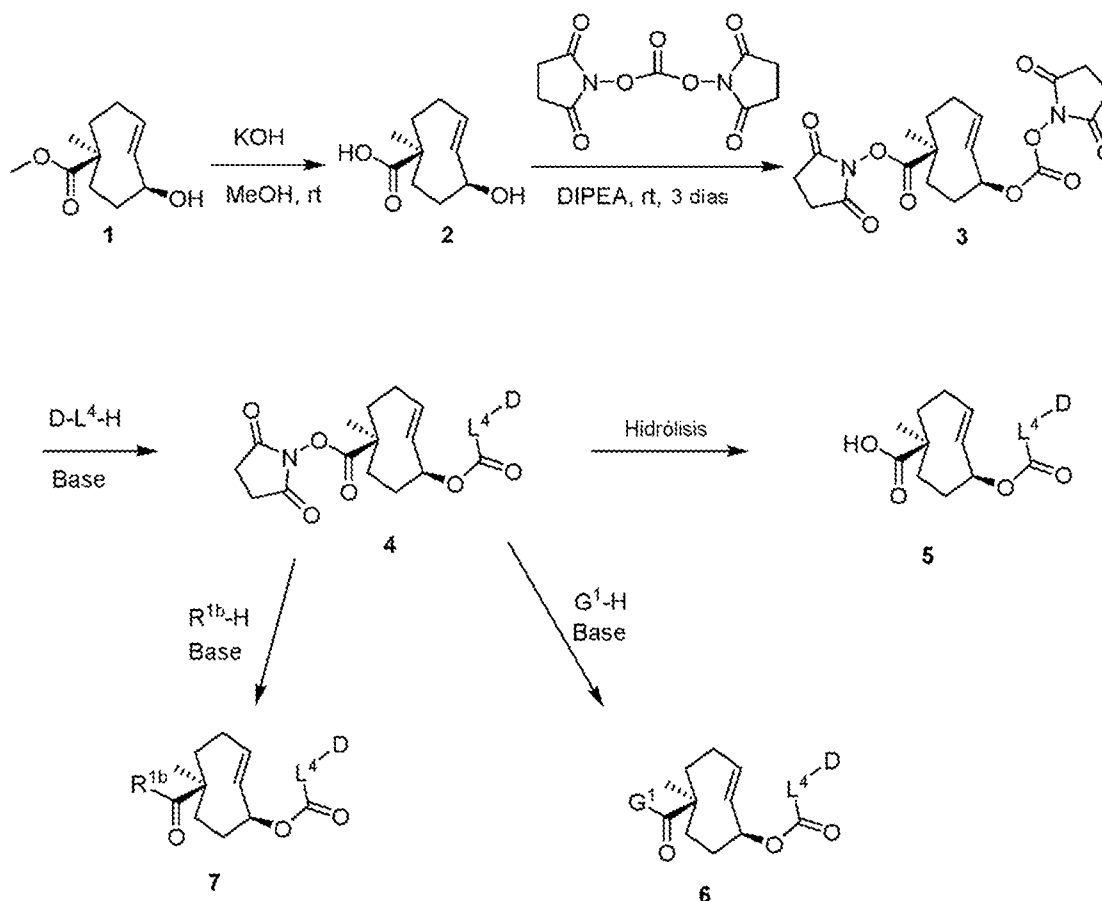
En general, los compuestos de fórmula (I) o (IA) se pueden preparar haciendo reaccionar una carga útil que tiene una amina primaria, una amina secundaria o un grupo hidroxilo con un enlazador adecuadamente activado, antes o después de que el enlazador se una a la porción de cicloocteno. Debe entenderse que un grupo reactivo en un enlazador (por ejemplo, éster, carbonato, cloruro de acilo, ácido carboxílico) puede ubicarse en cualquier posición seleccionada del grupo enlazador. Por el contrario, el enlazador puede tener una amina nucleófila o un

grupo hidroxilo que puede hacerse reaccionar con un grupo adecuado en la carga útil, tal como un aldehído, cetona, éster, carbonato, ácido carboxílico, o cloruro de acilo.

En ciertas realizaciones, como se muestra a continuación, se puede hacer reaccionar un transcicloocteno activado para adición nucleófila con una carga útil adecuada (D), o una carga útil unida a un enlazador L⁴-H, en presencia de una base para proporcionar una carga útil funcionalizada. La carga útil o enlazador puede incluir una amina primaria, una amina secundaria o un grupo hidroxilo que reacciona con el TCO activado. En algunas realizaciones, el grupo saliente (LG) es un grupo saliente cloro, un grupo saliente p-nitrofenol o un grupo saliente N-hidroxisuccinimida. Las bases ejemplares para uso en la reacción incluyen bases orgánicas e inorgánicas, tales como, por ejemplo, trietilamina, piridina, hidróxido de sodio, y bicarbonato de sodio.

Como se muestra en el Esquema 1, un trans-cicloocteno que tiene un éster de carbonato activado puede acoplarse con D-L⁴-H para proporcionar un intermedio 4, que puede hidrolizarse adicionalmente a un ácido 5 o acoplarse con R^{1b}-H o G¹-H en condiciones básicas para proporcionar 6 o 7. Los reactivos R^{1b}-H adecuados para el método del Esquema 1 incluyen, por ejemplo, HNR^{1c}-alquileo C₁₋₄-G¹, HN(R^{1c})CHR^{1e}CO₂H, HN(R^{1c})-alquileo C₁₋₆-CO₂H, HN(R^{1f})-alquileo C₂₋₄-(N(alquileo C₁₋₄-CO₂H)-alquileo C₂₋₄)_n-N(alquileo C₁₋₄-CO₂H)₂, HN(R^{1c})CHR^{1e}C(O)Oalquilo de C₁₋₆, HN(R^{1c})-alquileo C₁₋₆-C(O)Oalquilo de C₁₋₆, y HN(R^{1f})-alquileo C₂₋₄-(N(alquileo C₁₋₄-C(O)Oalquilo C₁₋₆)-alquileo C₂₋₄)_n-N(alquileo C₁₋₄-C(O)Oalquilo C₁₋₆)₂. Los agentes reaccionantes G¹-H adecuados para el método del Esquema 1 incluyen heterociclos que contienen N que tienen un grupo NH disponible que puede estar sustituido.

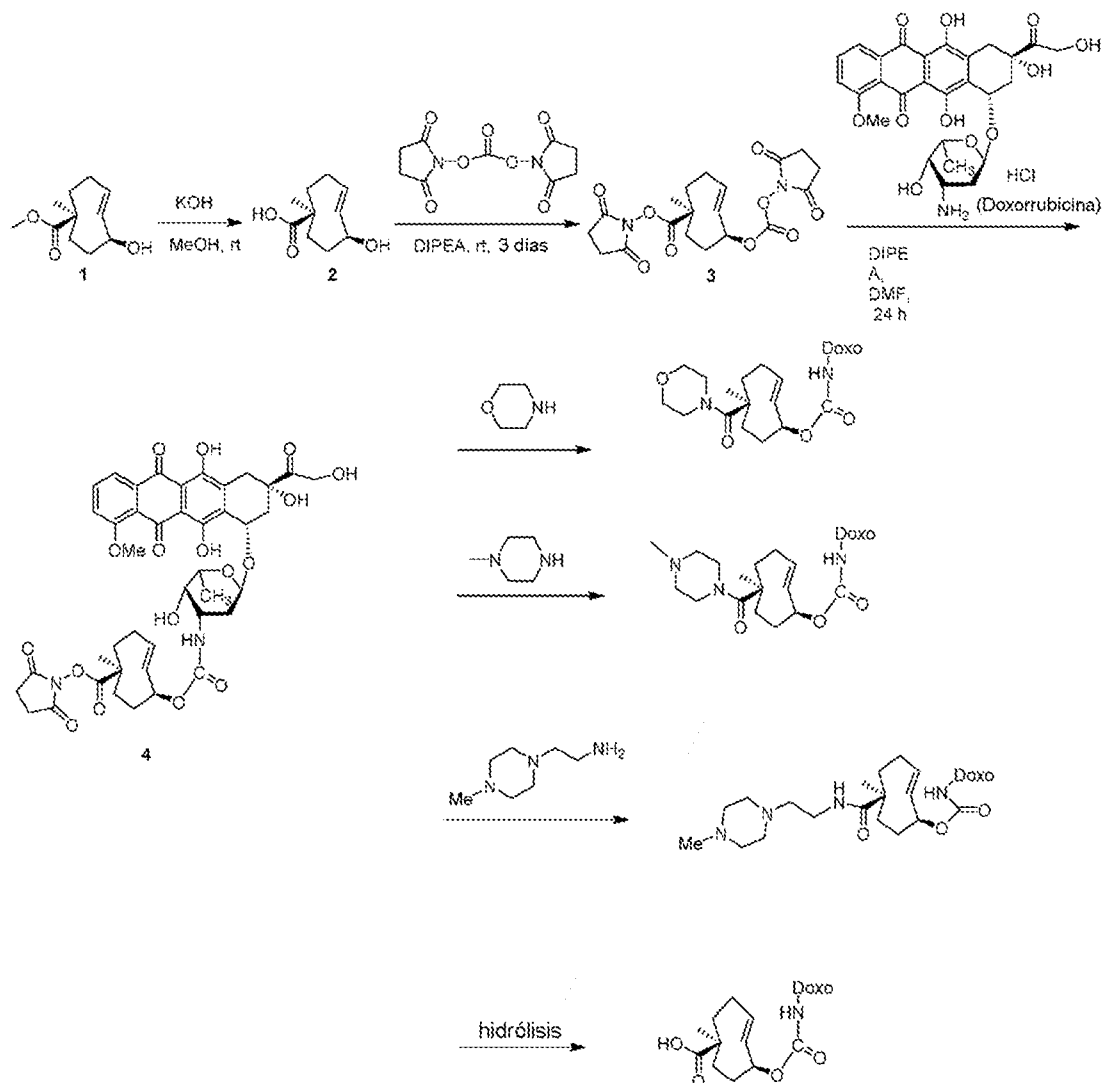
Esquema 1



Como se muestra en el Esquema 2 a continuación, un transcicloocteno que tiene un éster de carbonato activado se puede acoplar con una carga útil (por ejemplo, doxorrubicina, abreviada como doxo) que tiene una amina. El intermedio 4 puede acoplarse además con grupos que contienen amina o hidrolizarse al ácido para proporcionar cargas útiles funcionalizadas de la invención. Los métodos sintéticos del Esquema 2 se pueden usar para preparar compuestos de fórmula (I), en la que L² es C(O) y R^{1b} es un heterociclilo G¹ opcionalmente sustituido (por ejemplo, morfolino, piperazinilo), -NR^{1c}-alquileo C₁₋₄-G¹, u OH. El procedimiento general del Esquema 2 también se puede aplicar a la síntesis de grupos R^{1b} adicionales, por ejemplo -N(R^{1c})CHR^{1e}CO₂H, -N(R^{1c})-alquileo C₁₋₆-CO₂H, -N(R^{1f})-alquileo C₂₋₄-(N(alquileo C₁₋₄-CO₂H)-alquileo C₂₋₄)_n-N(alquileo C₁₋₄-CO₂H)₂, -N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)Oalquilo de C₁₋₆, -N(R^{1c})-alquileo C₁₋₆-C(O)Oalquilo de C₁₋₆, y -N(R^{1f})-alquileo C₂₋₄-

(N(alquileo C₁₋₄-C(O)Oalquilo C₁₋₆)-alquileo C₂₋₄)_n-N(alquileo C₁₋₄-C(O)Oalquilo C₁₋₆)₂. Asimismo, los métodos del Esquema 1 son aplicables a otros grupos de carga útil que portan un grupo amina reactivo.

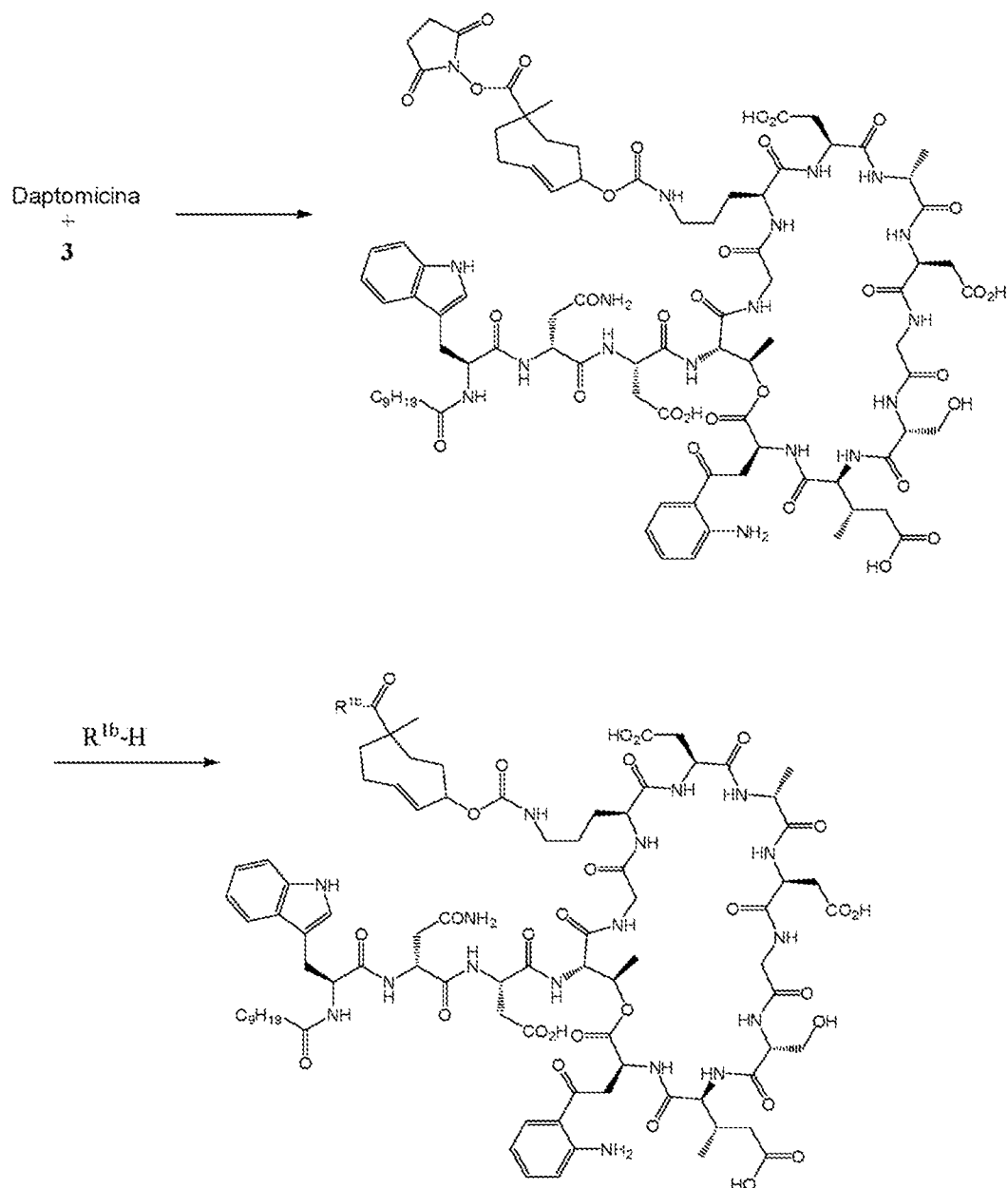
Esquema 2



5

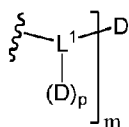
El Esquema 3 ilustra aplicaciones adicionales de la química anterior en las que el éster de carbonato intermedio puede hacerse reaccionar con la cadena lateral de ornitina de daptomicina y acoplarse además con grupos R^{1b}-H que contienen amino, en condiciones básicas.

Esquema 3



El Esquema 4 muestra una secuencia sintética para convertir un intermedio 10 en un intermedio 11. Se puede usar 10 u 11 para elaborar un enlazador, un enlazador protegido, o un enlazador unido a una carga útil

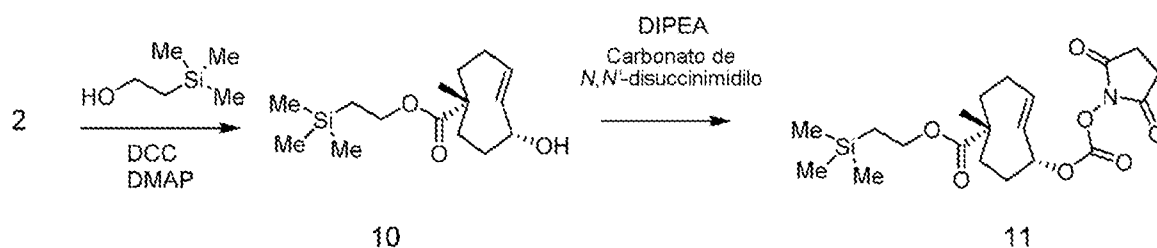
5



10

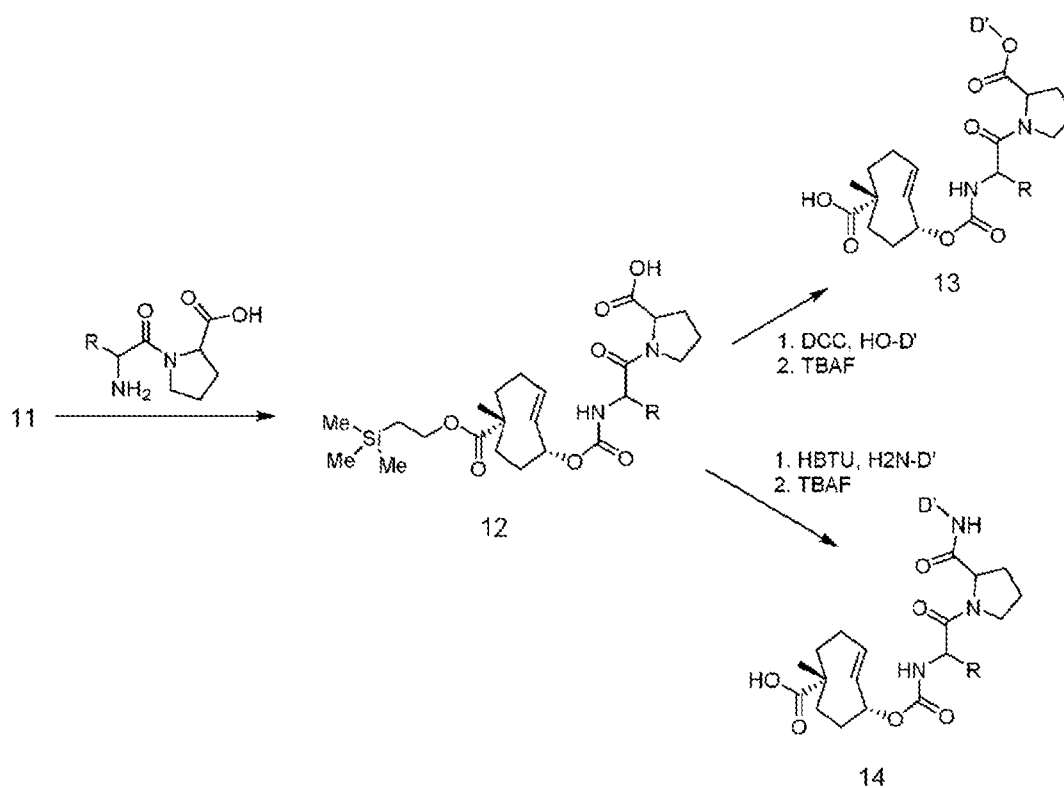
usando métodos sintéticos generales descritos en el documento WO2017/044983. El grupo trimetilsililetilo se puede eliminar en un punto apropiado de la secuencia sintética para proporcionar el ácido carboxílico, que opcionalmente se puede convertir adicionalmente en otros grupos R^{1b} solubilizantes. El experto en la técnica podría adaptar las rutas sintéticas y las estrategias de los grupos protectores para llegar a los compuestos de la invención.

Esquema 4



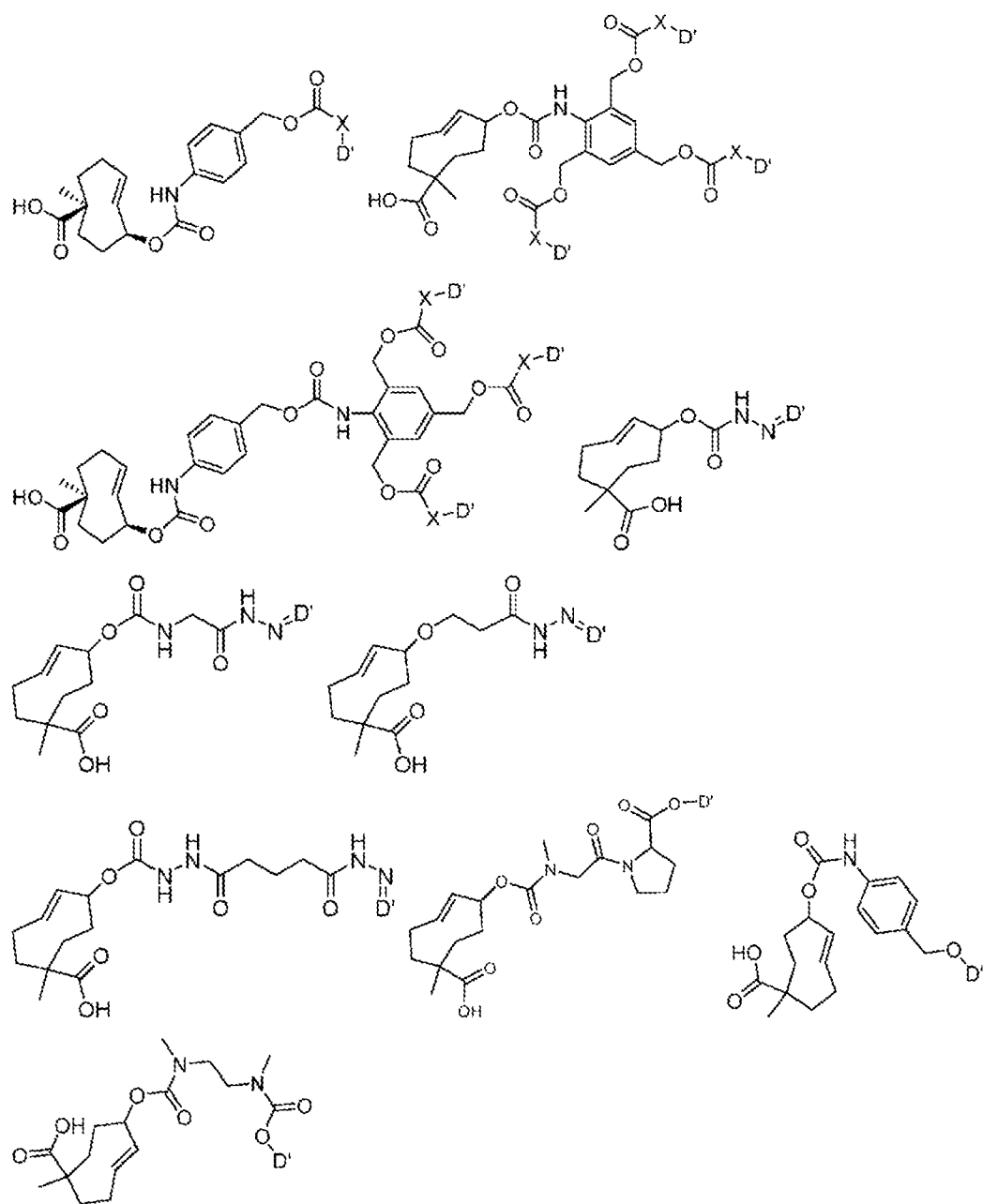
Por ejemplo, el Esquema 5 ilustra la conversión de 11 en un intermedio de ácido carboxílico que puede convertirse adicionalmente en productos 13 y 14 que portan carga útil.

Esquema 5



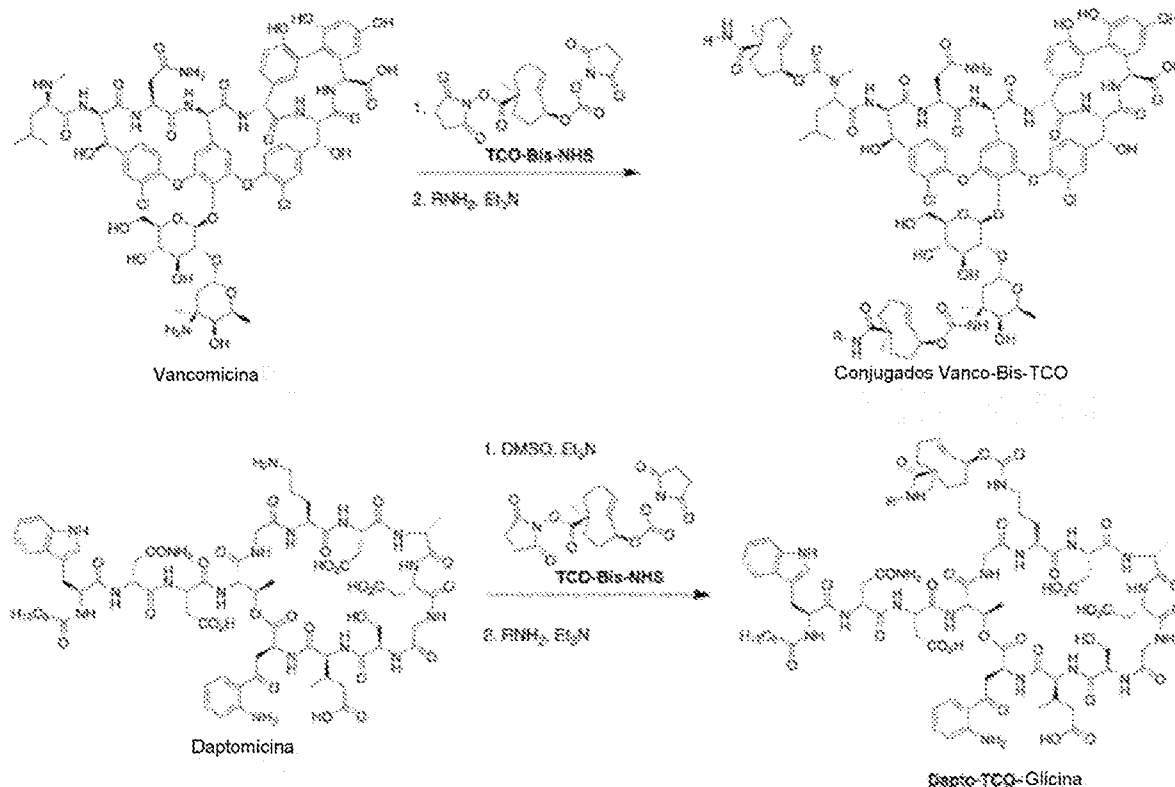
Otros ácidos carboxílicos que se pueden preparar usando 11 incluyen los que se muestran en el Esquema 6.

Esquema 6



El Esquema 7 ilustra métodos generales para preparar conjugados de TCO con sustitución de amida en el TCO.

Esquema 7



Los compuestos descritos se pueden preparar en forma racémica o como enantiómeros o diastereómeros individuales mediante síntesis estereoespecífica o mediante resolución. Los compuestos pueden, por ejemplo, resolverse en los enantiómeros o diastereómeros que los componen mediante técnicas estándar, tales como la formación de pares estereoisoméricos mediante la formación de una sal con una base ópticamente activa, seguido de cristalización fraccionada y regeneración del ácido libre. Los compuestos también se pueden resolver mediante la formación de ésteres o amidas estereoisoméricos, seguido de separación cromatográfica y eliminación del auxiliar quiral. Alternativamente, los compuestos se pueden resolver usando una columna de HPLC quiral. Los enantiómeros también pueden obtenerse a partir de la resolución cinética del racemato de los ésteres correspondientes usando enzimas lipasas.

Un compuesto descrito aquí puede estar en forma de una sal, por ejemplo una sal farmacéuticamente aceptable. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" incluye sales de los compuestos activos que se preparan con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares que se encuentran en los compuestos descritos aquí. Las formas neutras de los compuestos se pueden regenerar poniendo en contacto la sal con una base o ácido, y aislando el compuesto original de una manera convencional. La forma original del compuesto difiere de las diversas formas de sal en ciertas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a la forma original del compuesto para los fines de esta descripción. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se discuten en Berge et al, 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts". J. Pharm. Sci. Vol. 66, pp. 1-19.

Por ejemplo, si el compuesto es aniónico, o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico (por ejemplo, -COOH puede ser -COO⁻), entonces se puede formar una sal con un catión adecuado. Ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, iones de metales alcalinos tales como Na⁺ y K⁺, cationes alcalino-térreos tales como Ca²⁺ y Mg²⁺, y otros cationes. Ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ion amonio (es decir, NH₄⁺) e iones amonio sustituidos (por ejemplo, NH₃R₁⁺, NH₂R₂⁺, NHR₃⁺, NR₄⁺). Ejemplos de algunos iones de amonio sustituidos adecuados son los derivados de: etilamina, dietilamina, diciclohexilamina, trietilamina, butilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, bencilamina, fenilbencilamina, colina, meglumina, y trometamina, así como aminoácidos, tales como lisina y arginina.

Si el compuesto es catiónico, o tiene un grupo funcional que puede ser catiónico (por ejemplo, -NH₂ puede ser -NH₃⁺), entonces se puede formar una sal con un anión adecuado. Los ejemplos de aniones inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de los siguientes ácidos inorgánicos: clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico, y fósforo.

Ejemplos de aniones orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de los siguientes ácidos orgánicos: 2-acetiloxibenzoico, acético, ascórbico, aspártico, benzoico, canfosulfónico, cinámico, cítrico, edético, etanodisulfónico, etanosulfónico, fumárico, glucoheptónico, glucónico, glutámico, glicólico, hidroximaleico, hidroxinaftalenocarboxílico, isetiónico, láctico, lactobiónico, láurico, maleico, málico, metanosulfónico, mícico, oleico, oxálico, palmítico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fenilsulfónico, propiónico, pirúvico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, tartárico, toluenosulfónico, y valérico. Ejemplos de aniones orgánicos poliméricos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los derivados de los siguientes ácidos poliméricos: ácido tánico, carboximetilcelulosa.

A menos que se especifique lo contrario, una referencia a un compuesto particular también incluye formas salinas del mismo.

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular un compuesto activo en una forma químicamente protegida. La expresión "forma químicamente protegida" se usa aquí en el sentido químico convencional, y se refiere a un compuesto en el que uno o más grupos funcionales reactivos están protegidos de reacciones químicas indeseables en condiciones específicas (por ejemplo, pH, temperatura, radiación, disolvente, y similares). En la práctica, se emplean métodos químicos bien conocidos para hacer reversiblemente no reactivo un grupo funcional, que de otro modo sería reactivo, en condiciones específicas. En una forma químicamente protegida, uno o más grupos funcionales reactivos están en forma de un grupo protegido o protector (también conocido como grupo enmascarado o enmascarante, o un grupo bloqueado o bloqueador). Al proteger un grupo funcional reactivo, se pueden llevar a cabo reacciones que implican otros grupos funcionales reactivos desprotegidos, sin afectar al grupo protegido; el grupo protector puede eliminarse, normalmente en una etapa posterior, sin afectar sustancialmente al resto de la molécula. Véase, por ejemplo, *Protective Groups in Organic Synthesis* (T. Green y P. Wuts; 3.^a edición; John Wiley and Sons, 1999). A menos que se especifique lo contrario, una referencia a un compuesto particular también incluye formas químicamente protegidas del mismo.

Una amplia variedad de tales métodos de "protección", "bloqueo" o "enmascaramiento" se usan ampliamente y son bien conocidos en la síntesis orgánica. Por ejemplo, un compuesto que tiene dos grupos funcionales reactivos no equivalentes, los cuales serían reactivos en condiciones específicas, puede derivatizarse para convertir uno de los grupos funcionales en "protegido", y por lo tanto no reactivo, en las condiciones especificadas; así protegido, el compuesto se puede usar como reactivo que tiene efectivamente sólo un grupo funcional reactivo. Una vez completada la reacción deseada (que implica al otro grupo funcional), el grupo protegido puede "desprotegerse" para devolverlo a su funcionalidad original.

Un grupo hidroxilo se puede proteger como un éter (-OR) o un éster (-OC(O)R), por ejemplo como: un éter *t*-butílico; un éter de bencilo, benzhidrido (difenilmetilo) o tritilo (trifenilmetilo); un éter trimetilsilílico o *t*-butildimetilsilílico; o un éster acético (-OC(O)CH₃, -OAc).

Un grupo aldehído o cetona puede protegerse como un acetal (RCH(OR)₂) o cetal (R₂C(OR)₂), respectivamente, en el que el grupo carbonilo (R₂C=O) se convierte en un diéter (R₂C(OR)₂), mediante reacción con, por ejemplo, un alcohol primario. El grupo aldehído o cetona se regenera fácilmente mediante hidrólisis usando un gran exceso de agua en presencia de ácido.

Un grupo amina puede protegerse, por ejemplo, como una amida (-NRC(O)R) o un uretano (-NRC(O)OR), por ejemplo como: una metilamida (-NHC(O)CH₃); una benciloxiamida (-NHC(O)OCH₂C₆H₅, -NH-Cbz); como una *t*-butoxiamida (-NHC(O)OC(CH₃)₃, -NH-Boc); una 2-bifenil-2-propoxiamida (-NHCO(O)C(CH₃)₂C₆H₄C₆H₅, -NH-Bpoc), como una 9-fluorenilmetoxiamida (-NH-Fmoc), como una 6-nitroveratriloaxiamida (-NH- Nvoc), como 2-trimetilsililetiloxiamida (-NH-Teoc), como 2,2,2-tricloroetiloxiamida (-NH-Troc), como aliloxiamida (-NH-Alloc), como 2-(fenilsulfonil)etiloxiamida (-NH-Psec); o, en casos adecuados (por ejemplo, aminas cíclicas), como radical nitróxido (>N-O•).

Un grupo ácido carboxílico puede protegerse como un éster, por ejemplo como: un éster alquílico (por ejemplo, un éster metílico; un éster *t*-butílico); un éster de haloalquilo (por ejemplo, un éster de haloalquilo); un éster de trialkilsililalquilo; o un éster de arilalquilo (por ejemplo, un éster de bencilo; un éster de nitrobencilo); o como una amida, por ejemplo como una metilamida.

Un grupo tiol puede protegerse como un tioéter (-SR), por ejemplo como: un bencil tioéter; un éter acetamidometílico (-S-CH₂NHC(O)CH₃).

Un compuesto descrito aquí también se puede modificar añadiendo funcionalidades apropiadas para mejorar las propiedades biológicas selectivas. Tales modificaciones son conocidas en la técnica, e incluyen aquellas que aumentan la penetración biológica en un sistema biológico determinado (por ejemplo, sangre, sistema linfático, sistema nervioso central), aumentan la disponibilidad oral, aumentan la solubilidad para permitir la administración mediante inyección, alteran el metabolismo, y/o alteran la tasa de excreción. Los ejemplos de estas modificaciones incluyen, pero no se limitan a, esterificación con polietilenglicoles, derivatización con pivolatos o

sustituyentes de ácidos grasos, conversión en carbamatos, hidroxilación de anillos aromáticos, y sustitución de heteroátomos en anillos aromáticos.

En algunas realizaciones, los productos pueden modificarse adicionalmente, por ejemplo, mediante manipulación de sustituyentes. Estas manipulaciones pueden incluir, pero no se limitan a, reacciones de reducción, oxidación, acoplamiento cruzado organometálico, alquilación, acilación, e hidrólisis, que son comúnmente conocidas por los expertos en la técnica. En algunos casos, el orden de realización de los esquemas de reacción anteriores puede variarse para facilitar la reacción o evitar productos de reacción no deseados.

4. Formulaciones

Las composiciones de la presente descripción se pueden formular de diversas maneras diferentes. En general, las composiciones que incluyen uno o más agentes de unión o agentes de unión complementarios se formulan de una manera compatible con los agentes de unión y los agentes de unión complementarios, la afección a tratar, y la vía de administración a usar. Además, cuando la composición incluye una carga útil, la composición se formula de manera compatible con la carga útil, la afección a tratar, y la vía de administración a utilizar.

La composición (por ejemplo, composición de soporte y/o carga útil funcionalizada) se puede proporcionar en cualquier forma adecuada, por ejemplo en forma de una formulación farmacéuticamente aceptable, y se puede formular para cualquier vía de administración adecuada, por ejemplo administración oral, tópica o parenteral. Cuando la composición se proporciona como un líquido inyectable (tal como en aquellas realizaciones en las que se administran por vía intravenosa o directamente en un tejido), la composición se puede proporcionar como una forma de dosificación lista para usar, o como un polvo reconstituible estable al almacenamiento o líquido que puede incluir vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables.

Un "excipiente farmacéuticamente aceptable", "diluyente farmacéuticamente aceptable", "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "adyuvante farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente, diluyente, vehículo y/o adyuvante que son útiles para preparar una composición farmacéutica, que son generalmente seguros, no tóxicos y ni biológicamente ni de otro modo indeseables, e incluyen un excipiente, diluyente, vehículo y adyuvante que son aceptables para uso veterinario y/o uso farmacéutico humano. "Un excipiente, diluyente, vehículo y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable", como se usa aquí, incluye uno o más de tales excipientes, diluyentes, vehículos y adyuvantes.

Los métodos para formular composiciones se pueden adaptar a partir de aquellos fácilmente disponibles. Por ejemplo, las composiciones pueden proporcionarse en una formulación farmacéutica que incluya una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición y un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, disolución salina). La formulación farmacéutica puede incluir opcionalmente otros aditivos (por ejemplo, amortiguadores, estabilizadores, conservantes, y similares). En algunas realizaciones, las formulaciones son adecuadas para la administración a un mamífero, tales como aquellas que son adecuadas para la administración a un ser humano.

Las composiciones de la presente descripción se pueden preparar en una amplia variedad de formas de dosificación orales, parenterales y tópicas. Las preparaciones orales incluyen comprimidos, píldoras, polvos, grageas, cápsulas, líquidos, pastillas, obleas, geles, jarabes, suspensiones lechosas, suspensiones, etc., adecuadas para la ingestión por el sujeto. Las composiciones de la presente descripción también se pueden administrar mediante inyección, es decir, por vía intravenosa, intramuscular, intracutánea, subcutánea, intraduodenal, o intraperitoneal. En algunos casos, las composiciones descritas aquí se pueden administrar por inhalación, por ejemplo por vía intranasal. En algunos casos, las composiciones de la presente descripción se pueden administrar por vía transdérmica. En algunos casos, las composiciones se pueden administrar por vía intraocular, intravaginal e intrarrectal, incluidos supositorios, insuflación, polvos y formulaciones en aerosol (para ejemplos de inhalantes de esteroides, véase Rohatagi, J. Clin. Pharmacol. 35: 1187-1193, 1995; Tjwa, Ann. Allergy Asthma Immunol. 75: 107-111, 1995). Por consiguiente, la presente descripción también proporciona formulaciones farmacéuticas que incluyen una composición como se describe aquí y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Para preparar formulaciones farmacéuticas a partir de las composiciones de la presente descripción, los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, obleas, supositorios, y gránulos dispersables. Un vehículo sólido puede ser una o más sustancias, que también pueden actuar como diluyentes, agentes aromatizantes, aglutinantes, conservantes, agentes disgregantes de comprimidos, o un material encapsulante. Los detalles sobre las técnicas de formulación y administración se encuentran, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Maack Publishing Co, Easton PA ("Remington's").

5. Métodos de tratamiento

Los aspectos de la presente descripción incluyen compuestos y composiciones para uso en métodos para administrar una carga útil a una ubicación diana en un sujeto. En ciertas realizaciones, el método incluye

administrar selectivamente una carga útil a la ubicación diana en un sujeto. La administración selectiva de la carga útil incluye administrar la carga útil a la ubicación diana (por ejemplo, un órgano o tejido, o parte del mismo), sin dirigirse contra otras ubicaciones en el sujeto (por ejemplo, otros órganos o tejidos, o partes de los mismos) que no necesitan administración de la carga útil. La administración selectiva de la carga útil se puede lograr mediante el uso de las composiciones de soporte y las cargas útiles funcionalizadas descritas aquí.

En algunos casos, una composición de soporte de la presente descripción puede localizarse en una ubicación diana deseada en un sujeto. Por ejemplo, los métodos de la presente descripción pueden incluir administrar a un sujeto una composición de soporte como se describe aquí. La composición de soporte se puede administrar al sujeto en una ubicación diana deseada en el sujeto. En algunos casos, la composición de soporte puede implantarse en el sujeto en la ubicación diana deseada en el sujeto. En algunas realizaciones, la composición de soporte puede unirse a un agente de direccionamiento como se describe aquí, y el método puede incluir administrar la composición de soporte al sujeto (por ejemplo, administrada sistémicamente). En estas realizaciones, la composición de soporte que está unida a un agente de direccionamiento puede localizarse en una ubicación diana deseada en el sujeto mediante la unión específica del agente de direccionamiento a su diana (por ejemplo, interacción anticuerpo-antígeno, y similares), o puede localizarle en la superficie de una diana deseada (por ejemplo, una superficie celular) mediante la unión específica del agente de direccionamiento a su diana (por ejemplo, interacción anticuerpo-antígeno, y similares).

Como se describe aquí, puede producirse una unión selectiva entre parejas de unión bioortogonales (por ejemplo, entre un agente de unión de la composición de soporte y su agente de unión complementario de una carga útil funcionalizada). Debido a la administración localizada de la composición de soporte en una ubicación deseada en el sujeto como se describió anteriormente, la unión selectiva entre el agente de unión de la composición de soporte y su agente de unión complementario de la carga útil funcionalizada localizará la carga útil en la ubicación diana deseada. Por consiguiente, en ciertas realizaciones, el método incluye administrar al sujeto una carga útil funcionalizada de modo que la carga útil funcionalizada se una a la composición de soporte para formar un complejo de soporte. Por ejemplo, la carga útil funcionalizada puede administrarse sistémicamente al sujeto. Tras la administración de la carga útil funcionalizada al sujeto, puede producirse contacto entre el agente de unión de la composición de soporte y el agente de unión complementario de la carga útil funcionalizada, de modo que el agente de unión y su agente de unión complementario se unen entre sí para formar un complejo de soporte, administrando así selectivamente la carga útil a la ubicación diana en el sujeto. En algunas realizaciones, la administración selectiva de la carga útil funcionalizada da como resultado una concentración de la carga útil en la ubicación diana que es mayor que la concentración de la carga útil en otras partes del sujeto (por ejemplo, en áreas no diana en el sujeto).

Las indicaciones para este enfoque incluyen cáncer, tanto hematológico como sólido, infecciones, cicatrización de heridas, estenosis, isquemia, revascularización, infarto de miocardio, arritmias, oclusión vascular (trombos, a través de anticoagulantes), inflamación a través de medicamentos antiproliferativos, corticosteroides y derivados y/o AINE, trastornos autoinmunes, trasplantes, degeneración macular, artritis reumatoide, osteoartritis, infecciones periprotésicas, a través de revestimiento de implantes, pasta, cera, construcciones de polimetacrilato de metilo (PMMA), y otros. En algunas realizaciones, el enfoque se puede usar para el tratamiento y/o diagnóstico de sarcomas de tejido blando: rabdomiosarcoma, fibrosarcoma, sarcoma de Ewing, y todos los diferentes subtipos de sarcoma de tejido blando, así como osteosarcoma. Las composiciones pueden ser para el tratamiento y/o diagnóstico de sinovitis vellonodular pigmentada.

Las composiciones de la presente descripción encuentran uso en el tratamiento y/o diagnóstico de una afección o enfermedad en un sujeto que es susceptible de tratamiento o diagnóstico mediante la administración de la carga útil (por ejemplo, el fármaco original (es decir, el fármaco antes de la conjugación con el composición)). Por "tratamiento" se entiende que se logra al menos una mejora de los síntomas asociados con la afección que afecta al sujeto, en el que mejora se usa en un sentido amplio para referirse a al menos una reducción en la magnitud de un parámetro, por ejemplo síntoma, asociado con la afección que se está tratando. Como tal, el tratamiento también incluye situaciones en las que la condición patológica, o al menos los síntomas asociados con ella, se inhiben completamente, por ejemplo se evita que ocurra, o se detienen, por ejemplo se terminan, de manera que el sujeto ya no sufre la afección, o al menos los síntomas que caracterizan la afección. El tratamiento puede incluir inhibición, es decir, detener el desarrollo o desarrollo posterior de síntomas clínicos, por ejemplo mitigar o inhibir completamente una enfermedad activa. El tratamiento puede incluir alivio, es decir, provocar la regresión de los síntomas clínicos. Por ejemplo, en el contexto del cáncer, el término "tratar" incluye cualquiera o todos de: reducir el crecimiento de un tumor sólido, inhibir la replicación de células cancerosas, reducir la carga tumoral general, prolongar la supervivencia, y mejorar uno o más síntomas asociados con un cáncer.

El sujeto a tratar puede ser aquel que necesite terapia, en el que el sujeto a tratar es aquel susceptible de tratamiento usando el fármaco original. Por consiguiente, una variedad de sujetos pueden ser susceptibles de tratamiento usando las composiciones descritas aquí. Generalmente, estos sujetos son "mamíferos", siendo de interés los seres humanos. Otros sujetos pueden incluir mascotas domésticas (por ejemplo, perros y gatos), ganado (por ejemplo, vacas, cerdos, cabras, caballos, y similares), roedores (por ejemplo, ratones, cobayas y

ratas, por ejemplo como en modelos animales de enfermedad), así como primates no humanos (por ejemplo, chimpancés y monos).

La cantidad de composición administrada a un sujeto se puede determinar inicialmente basándose en la guía de una dosis y/o régimen de dosificación del fármaco original. En general, las composiciones pueden proporcionar una administración dirigida y/o una vida media en suero mejorada del fármaco unido, proporcionando así al menos una de dosis reducida o administraciones reducidas en un régimen de dosificación. Por lo tanto, las composiciones pueden proporcionar una dosis reducida y/o una administración reducida en un régimen de dosificación con respecto al fármaco original antes de conjugarse en una composición de la presente descripción.

Las composiciones de la presente descripción se pueden administrar por cualquier medio adecuado, incluidos métodos orales, parenterales y tópicos. Por ejemplo, los métodos de administración transdérmica, por vía tópica, pueden formularse como barras aplicadoras, disoluciones, suspensiones, emulsiones, geles, cremas, ungüentos, pastas, jaleas, pinturas, polvos, y aerosoles.

La formulación farmacéutica se puede proporcionar en forma de dosificación unitaria. En tal forma, la formulación farmacéutica se puede subdividir en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas de las composiciones de la presente descripción. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades discretas de la preparación, tales como comprimidos, cápsulas y polvos envasados en bolsas, viales o ampollas. Además, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula, comprimido, gragea, oblea, o pastilla, o puede ser el número apropiado de cualquiera de estos en forma envasada.

Las composiciones de la presente descripción pueden estar presentes en cualquier cantidad adecuada, y puede depender de diversos factores que incluyen, pero no se limitan a, el peso y la edad del sujeto, el estado de la enfermedad, etc. Intervalos de dosificación adecuados para la composición de la presente descripción incluyen de 0,1 mg a 10.000 mg, o 1 mg a 1.000 mg, o 10 mg a 750 mg, o 25 mg a 500 mg, o 50 mg a 250 mg. Por ejemplo, las dosis adecuadas para la composición de la presente descripción incluyen 1 mg, 5 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg o 1000 mg.

En algunas realizaciones, se administran múltiples dosis de una composición. La frecuencia de administración de una composición puede variar dependiendo de cualquiera de una variedad de factores, por ejemplo gravedad de los síntomas, condición del sujeto, etc. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una composición se administra una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, cada dos semanas (qow), una vez a la semana (qw), dos veces a la semana (biw), tres veces a la semana (tiw), cuatro veces a la semana, cinco veces a la semana, seis veces a la semana, cada dos días (qod), diariamente (qd), dos veces al día (qid), o tres veces al día (tid).

Las composiciones de la presente descripción se pueden administrar con cualquier frecuencia, intervalo y duración adecuados. Por ejemplo, la composición de la presente descripción se puede administrar una vez por hora, o dos, tres o más veces por hora, una vez al día, o dos, tres o más veces por día, o una vez cada 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días o 7 días, para proporcionar el nivel de dosificación deseado al sujeto. Cuando la composición de la presente descripción se administra más de una vez al día, los intervalos representativos incluyen 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 45 min y 60 minutos, así como 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 16 h, 20 h y 24 horas. La composición de la presente descripción se puede administrar una, dos o tres o más veces, durante una hora, durante 1 a 6 horas, durante 1 a 12 horas, durante 1 a 24 horas, durante 6 a 12 horas, durante 12 a 24 horas, durante un solo día, durante 1 a 7 días, durante una sola semana, durante 1 a 4 semanas, durante un mes, durante 1 a 12 meses, durante un año o más, o incluso de forma indefinida.

Las composiciones de la presente descripción se pueden coadministrar con otro agente activo. La coadministración incluye la administración de la composición de la presente descripción y el agente activo dentro de las 0,5 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 16 h, 20 h o 24 horas entre sí. La coadministración también incluye administrar la composición de la presente descripción y el agente activo simultánea o aproximadamente de manera simultánea (por ejemplo, dentro de alrededor de 1 min, 5 min, 10 min, 15 min, 20 min o 30 minutos entre sí), o secuencialmente en cualquier orden. Además, la composición de la presente descripción y el agente activo se pueden administrar cada uno una vez al día, o dos, tres o más veces al día, para proporcionar el nivel de dosificación deseado por día.

En algunas realizaciones, la coadministración se puede lograr mediante coformulación, por ejemplo preparando una única formulación farmacéutica que incluye tanto la composición de la presente descripción como el agente activo. En otras realizaciones, la composición de la presente descripción y el agente activo pueden formularse por separado y coadministrarse al sujeto.

La composición de la presente descripción y el agente activo pueden estar presentes en una formulación en cualquier relación en peso adecuada, tal como de 1:100 a 100:1 (p/p), o de 1:50 a 50:1, o 1:25 a 25:1, o 1:10 a 10:1, o 1:5 a 5:1 (p/p). La composición de la presente descripción y el otro agente activo pueden estar presentes en cualquier relación en peso adecuada, tal como 1:100 (p/p), 1:75, 1:50, 1:25, 1:10, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1,

3:1, 4:1, 5:1, 10:1, 25:1, 50:1, 75:1, o 100:1 (p/p). Otras dosis y relaciones de dosificación de la composición de la presente descripción y el agente activo son adecuadas en las formulaciones y métodos descritos aquí.

Las cargas útiles funcionalizadas, las composiciones de soporte terapéuticas, y los métodos se pueden usar para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de cualquier enfermedad diana. Las indicaciones para este enfoque incluyen cáncer, tanto hematológico como sólido, infecciones, cicatrización de heridas, estenosis, isquemia, revascularización, infarto de miocardio, arritmias, oclusión vascular (trombos, a través de anticoagulantes), inflamación a través de medicamentos antiproliferativos, corticosteroides y derivados y/o AINE, trastornos autoinmunes, trasplantes, degeneración macular, artritis reumatoide, osteoartritis, infecciones periprotésicas, a través de revestimiento de implantes, pasta, cera, construcciones de polimetacrilato de metilo (PMMA), y otros. En algunas realizaciones, las cargas útiles funcionalizadas, las composiciones de soporte terapéuticas, y los métodos se pueden usar para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de sarcomas de tejido blando: rabdomiosarcoma, fibrosarcoma, sarcoma de Ewing, y también todos los diferentes subtipos de sarcoma de tejido blando, así como osteosarcoma. Las composiciones pueden ser para el tratamiento y/o diagnóstico de sinovitis vellonodular pigmentada.

En ciertas realizaciones, las cargas útiles funcionalizadas, las composiciones de soporte terapéuticas, y los métodos se pueden usar para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de tumores sólidos, incluyendo, pero no se limitan a, melanoma (por ejemplo, melanoma metastásico irresecable), cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células renales), cáncer de próstata (por ejemplo, cáncer de próstata metastásico resistente a la castración), cáncer de ovario (por ejemplo, cáncer de ovario epitelial, tal como cáncer de ovario epitelial metastásico), cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), glioblastoma, y cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico), sarcoma de tejidos blandos, fibrosarcoma, osteosarcoma, cáncer de páncreas, entre otros. El enfoque descrito se presta bien como sistema adyuvante/neoadyuvante. Por ejemplo, durante la biopsia se podrían colocar partículas como las que se describen aquí; una vez que se obtengan los resultados del estudio, el médico podría administrar el cóctel apropiado en el sitio deseado del cuerpo. Esto minimizaría el tamaño del tumor, particularmente en el contexto de un tumor resecable quirúrgicamente. Después, al final de la cirugía, el cirujano podría colocar más partículas alrededor de la cavidad quirúrgica y tratar al paciente con dosis adicionales de tratamiento (por ejemplo, quimioterapia mediante el enfoque descrito), para minimizar el riesgo de cualquier célula cancerosa que pueda haberse pasado por alto en los márgenes quirúrgicos.

En ciertas realizaciones, los métodos descritos proporcionan la capacidad de colocar partículas como se describe aquí en el momento de la biopsia. Cuando se obtienen los resultados, el médico puede administrar al sitio de la biopsia quimiocinas (agentes que atraen células cancerosas y/o células inmunes) y adyuvantes para mejorar el sistema inmunológico con menos efectos secundarios, así como agentes quimioterapéuticos combinados con agentes de inmunoterapia. Este enfoque combinado sería beneficioso para los pacientes. El agente de quimioterapia trataría el tumor sólido o la ubicación específica, mientras que la respuesta mejorada de la inmunoterapia ayudaría con los sitios metastásicos distantes. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, las composiciones y métodos descritos podrían emplear o usarse con antraciclinas, taxanos, gemcitabina y otros agentes para mejorar la eficacia de ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab, avelumab (también conocido como MSB0010718C; Pfizer) y otros inhibidores del punto de control.

Los compuestos y composiciones descritos pueden usarse en métodos de tratamiento. Los métodos de tratamiento descritos aquí pueden usarse para tratar infecciones bacterianas. Los métodos de tratamiento descritos aquí pueden usarse para tratar o prevenir infecciones por MRSA. Los métodos de tratamiento descritos aquí pueden usarse para tratar el cáncer. Los métodos de tratamiento descritos aquí pueden usarse para tratar la sinovitis vellonodular pigmentada. Los métodos de tratamiento descritos aquí pueden usarse para tratar enfermedades o trastornos relacionados con la inflamación. Los métodos de tratamiento descritos aquí pueden usarse para tratar la artritis.

a. Infecciones bacterianas

Los métodos descritos pueden usarse para tratar o prevenir infecciones bacterianas. Aunque las bacterias pueden no ser dañinas, y en algunos casos pueden ser beneficiosas, las bacterias también pueden provocar infecciones. Las infecciones bacterianas pueden afectar múltiples órganos y sistemas corporales, incluyendo, pero no se limitan a, la piel, las membranas mucosas, la sangre, los pulmones, los riñones, el aparato urinario, los ojos, el corazón, los intestinos, las meninges, el aparato respiratorio, los genitales, el estómago, los huesos, el tejido conjuntivo, y tejido que rodea los órganos. Las infecciones bacterianas pueden afectar a más de un órgano o sistema corporal. Las infecciones bacterianas pueden ser sistémicas. Las infecciones bacterianas pueden ser asintomáticas. Las infecciones bacterianas pueden causar una variedad de síntomas que incluyen, pero no se limitan a, fiebre, inflamación, heridas que no sanan, heridas supurantes, erupción cutánea, protuberancias rojas en la piel, abscesos, ganglios linfáticos inflamados, náuseas, diarrea, cefaleas dolores de cabeza y de oído, dolor de garganta, fatiga, tensión arterial baja, hiperventilación, pulso débil y rápido, dolor local o sistémico, y dolores musculares. Las infecciones bacterianas pueden causar la muerte. Los sujetos con comorbilidades o un sistema inmunológico comprometido pueden ser más susceptibles a infecciones

bacterianas. Las infecciones bacterianas pueden ocurrir en los sitios quirúrgicos. Las infecciones bacterianas pueden estar relacionadas con la colocación del catéter.

El diagnóstico de una infección bacteriana puede incluir, pero no se limita a, diagnóstico sintomático, cultivo microbiano, microscopía, pruebas bioquímicas, diagnóstico basado en PCR, y secuenciación metagenómica. Un examen microbiano puede incluir recogida de muestras, cultivo microbiano, identificación, y prueba de susceptibilidad a los antibióticos. El diagnóstico puede incluir tinción de Gram del cultivo bacteriano. El diagnóstico puede incluir una prueba de coagulasa del cultivo bacteriano. El diagnóstico puede incluir una prueba de catalasa del cultivo bacteriano. El diagnóstico puede incluir análisis de sangre. Los análisis de sangre pueden incluir, pero no se limitan a, un hemograma completo, medida de la proteína C reactiva, medida de la procalcitonina y medida de la reagin plasmática rápida. El diagnóstico puede incluir ELISA. El diagnóstico puede incluir PCR. Para identificar MRSA, se puede realizar una prueba rápida de aglutinación de látex, que detecta la proteína PBP2a. La muestra puede cultivarse en una placa de agar. La muestra puede cultivarse en caldo nutritivo. Las condiciones de crecimiento pueden incluir factores variables (por ejemplo, tipo de medio de crecimiento, nutrientes, compuestos selectivos, antibióticos, temperatura, nivel de pH, nivel de oxígeno), para determinar el tipo de bacteria que crece. La determinación de las bacterias que crecen en una placa de agar o en un caldo nutritivo puede determinar las bacterias responsables de la infección del sujeto. Se pueden colocar discos que contengan compuestos antibióticos sobre las placas de agar. Los compuestos antibióticos pueden exterminar las bacterias que crecen en la placa. Cuanto mayor sea la zona de bacterias muertas alrededor del disco (zona de inhibición) puede indicar un antibiótico más eficaz.

Se pueden obtener muestras para diagnosticar una infección bacteriana del sujeto que necesita tratamiento. La muestra para la prueba puede provenir del sitio de la infección. Se puede obtener una muestra del sujeto para realizar la prueba mediante un frotis de la piel, la garganta o la nariz. Se puede obtener una muestra del sujeto para realizar la prueba mediante la recogida de pus o líquidos de heridas, abscesos u otras infecciones de la piel. Se puede obtener una muestra del sujeto para realizar pruebas mediante la recogida de fluidos corporales. Los fluidos corporales pueden incluir sangre, esputo, orina y/u otros fluidos corporales. Se pueden tomar múltiples muestras del sujeto. Se pueden tomar múltiples muestras alrededor del sitio de una prótesis o dispositivo médico.

Las infecciones bacterianas se pueden tratar con los compuestos y composiciones descritos aquí. Las infecciones bacterianas que pueden tratarse con los compuestos y composiciones descritos aquí incluyen, pero no se limitan a, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus resistente a meticilina* (MRSA), *Staphylococcus aureus sensible a meticilina* (MSSA), *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Neisseria*, *Bacillus*, *Brucella*, *Nocardia*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Francisella*, *Legionella*, *Yersinia pestis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cenocepacia*, *Mycobacterium avium*, *Enterococci resistentes a vancomicina* (VRE), y *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina (VRSA). La infección bacteriana a tratar puede ser resistente a uno o muchos antibióticos. Las infecciones bacterianas tratadas aquí pueden ser causadas por bacterias grampositivas. Las infecciones bacterianas tratadas aquí pueden ser causadas por cepas bacterianas grampositivas que son resistentes a vancomicina. Las infecciones bacterianas tratadas aquí pueden ser causadas por bacterias grampositivas multirresistentes.

i. Infecciones por MRSA

Los métodos descritos pueden usarse para tratar MRSA. MRSA es cualquier cepa de *Staphylococcus aureus* que ha desarrollado multirresistencia a los antibióticos betalactámicos, que incluyen las penicilinas (metecilina, dicloxacilina, nafcilina, oxacilina, etc.) y las cefalosporinas. MRSA evolucionó a partir de la transferencia genética horizontal del gen mecA a al menos cinco linajes distintos de *S. aureus*. Las infecciones por MRSA pueden causar rápidamente infecciones internas graves y potencialmente mortales que incluyen, pero no se limitan a, septicemia, endocarditis, neumonía por MRSA, infecciones óseas, e infecciones de implantes. MRSA puede causar infecciones de la piel. Las infecciones de la piel por MRSA pueden provocar forúnculos o abscesos. MRSA puede causar infecciones sistémicas o internas. Algunas infecciones por MRSA no se pueden tratar con los antibióticos actualmente disponibles, dando habitualmente como resultado una infección grave y debilitante, o la muerte. La infección por MRSA puede ocurrir en sujetos que han sido hospitalizados, lo que se conoce como MRSA asociado a la atención médica (HA-MRSA). La infección por MRSA se puede transmitir por contacto piel a piel, lo que se conoce como MRSA asociado a la comunidad (CA-MRSA). Los casos de MRSA han aumentado en el ganado. CC398, una variante de MRSA, ha surgido en animales, y se encuentra en animales de producción criados intensivamente (por ejemplo, cerdos, ganado vacuno, y aves de corral), desde los que puede transmitirse a los seres humanos como LA-MRSA (MRSA asociado al ganado).

Las cepas de MRSA que se van a tratar con los compuestos y composiciones descritos aquí pueden incluir, pero no se limitan a, CBD-635, ST250 MRSA-1, ST2470-MRSA-I, ST239-MRSA-III, ST5-MRSA-II, ST5-MRSA-IV, ST239-MRSA-III, EMRSA15, EMRSA16, MRSA252, ST5:USA100, EMRSA 1, ST8:USA300, ST1:USA400, ST8:USA500, ST59:USA1000, USA1100, USA600, USA800, USA300, ST30, ST93, ST80, ST59, CC22, CC8, CC425, y CC398.

ii. Infecciones del torrente sanguíneo relacionadas con catéteres

Los métodos descritos pueden usarse para tratar infecciones del torrente sanguíneo relacionadas con catéteres. La infección del torrente sanguíneo relacionada con catéter (CRBSI) se define como la presencia de bacteriemia procedente de un catéter intravenoso. CRBSI puede ocurrir con frecuencia, puede ser letal, y puede ser una causa común de bacteriemia hospitalaria. Los catéteres intravasculares son parte integral de las prácticas modernas, y se insertan en pacientes críticamente enfermos para la administración de líquidos, productos sanguíneos, medicamentos, disoluciones nutricionales, y para la monitorización hemodinámica. Los catéteres venosos centrales (CVC) pueden representar un mayor riesgo de infecciones relacionadas con el dispositivo que cualquier otro tipo de dispositivo médico, y pueden ser causas importantes de morbilidad. Pueden ser una fuente de bacteriemia y septicemia en pacientes hospitalizados. Las CRBSI pueden estar asociadas con los CVC.

Los métodos descritos pueden usarse para administrar cargas útiles moleculares a un biomaterial implantado (por ejemplo, polímero o hidrogel sustituido con un grupo bioortogonal). El material puede implantarse en una ubicación deseada del cuerpo durante cualquier manipulación local, incluso si aún no se ha determinado el patógeno o problema específico, tal como un implante quirúrgico o la inserción de un dispositivo permanente ("inyección local"). Por ejemplo, se puede usar un polímero o hidrogel adecuadamente modificado, tal como ácido hialurónico modificado con una tetrazina (HAT), para recubrir materiales de catéter u otro dispositivo médico implantado usando procedimientos conocidos para recubrir materiales plásticos con ácido hialurónico. Los procedimientos de recubrimiento se pueden optimizar en pequeñas secciones de tubos de poliuretano (PU) o cloruro de polivinilo (PVC). Los tubos de PU o PVC se pueden tratar con 3-aminopropiltietoxisilano en agua destilada para incorporar grupos amina para la funcionalización covalente con ácido hialurónico (HA). Después, una capa base de HAT o HA no modificado se puede enlazar a la superficie usando condiciones de química de carbodiimida como se detalla en la bibliografía. Se pueden depositar capas adicionales de HAT o HA mediante procedimientos repetidos de recubrimiento por inmersión manual usando condiciones de química de carbodiimida similares hasta que se haya aplicado un total de 10 capas adicionales. El tubo recubierto final se puede caracterizar mediante microscopía electrónica de barrido para examinar la morfología de la superficie, microscopía confocal para determinar el grosor del recubrimiento, y medida del ángulo de contacto para evaluar la hidrofilia de la superficie.

Después de la implantación de un dispositivo recubierto de biomaterial, se inyecta en el torrente sanguíneo siempre que sea necesario un profármaco inactivo, creado modificando un fármaco con la pareja de reacción ("exposición sistémica"). Los profármacos inactivos se esparcen por todo el cuerpo, pero cuando se acercan al biomaterial, ya sea en forma de recubrimiento o gel, se adhieren rápidamente a él ("atrapan"), concentrando así el profármaco en la ubicación deseada. Finalmente, el fármaco activo se libera espontáneamente del biomaterial para realizar su función ("liberación"). Esto proporciona un sistema con el control temporal de la administración de fármacos sistémicos, y convierte eficazmente los fármacos sistémicos en medicamentos localizados (FIG. 8).

Debido a la actividad sistémica limitada del profármaco, se evitarán problemas relacionados con la alteración del microbioma natural del cuerpo, tales como bacterias resistentes a los medicamentos o el desarrollo de infecciones. Se puede administrar una dosis supratrapéutica, aumentando así el índice terapéutico del fármaco y reduciendo la probabilidad de que las bacterias en el sitio de la infección desarrollen resistencia. Al tener el gel recubriendo la superficie de un CVC u otro dispositivo implantado, el fármaco podrá acumularse profundamente en los tejidos a los que los fármacos sistémicos en sus dosis habituales no pueden llegar.

Los métodos descritos pueden conducir a la "recarga" por un profármaco, asegurando la liberación local y una eficacia mejorada. Esto conducirá a una mejor utilización de los antimicrobianos y a una reducción de la aparición de bacterias resistentes. Si una infección bacteriana o fúngica resulta ser resistente al primer profármaco, entonces el gel o dispositivo recubierto ya implantado podría "atrapar y liberar" un segundo profármaco. Las tecnologías estándar requieren la extracción y colocación de implantes para lograr resultados similares. El recubrimiento biodegradable descrito no requeriría un procedimiento invasivo adicional para implantarlo o retirarlo.

b. Cáncer

Los métodos divulgados se pueden usar para tratar o prevenir el cáncer. El cáncer es un grupo de enfermedades relacionadas que pueden incluir señalización proliferativa sostenida, evasión de supresores del crecimiento, resistencia a la muerte celular, habilitación de la inmortalidad replicativa, inducción de angiogénesis, y la activación de invasión y metástasis. Los métodos descritos pueden mejorar o provocar una respuesta inmune contra un cáncer en el sujeto. La respuesta inmune puede conducir a un aumento de uno o más leucocitos, linfocitos, monocitos, y eosinófilos.

El cáncer que puede tratarse mediante los métodos descritos incluye, pero no se limita a, astrocitoma, carcinoma adrenocortical, cáncer de apéndice, carcinoma de células basales, cáncer de vías biliares, cáncer de vejiga, cáncer de huesos, cáncer de cerebro, cáncer de tronco encefálico, glioma de tronco encefálico, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de colon, cáncer colorrectal, linfoma cutáneo de células T, glioma pontino

intrínseco difuso, cáncer ductal, cáncer de endometrio, ependimoma, sarcoma de Ewing, cáncer de esófago, cáncer de ojo, fibrosarcoma, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico, cáncer gastrointestinal, tumor de células germinales, glioma, cáncer hepatocelular, histiocitosis, linfoma de Hodgkin, cáncer de hipofaringe, melanoma intraocular, sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer de laringe, leucemia, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, linfoma, macroglobulinemia, melanoma, mesotelioma, cáncer de boca, mieloma múltiple, cáncer de nasofaringe, neuroblastoma, linfoma no de Hodgkin, osteosarcoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de paratiroides, cáncer de pene, cáncer de faringe, cáncer de hipófisis, cáncer de próstata, cáncer de recto, cáncer de células renales, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, sarcoma, cáncer de piel, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de intestino delgado, carcinoma de tejidos blandos, sarcoma de tejidos blandos, tumor sólido, carcinoma de células escamosas, cáncer de estómago, linfoma de células T, cáncer testicular, cáncer de garganta, timoma, cáncer de tiroides, tumor trofoblástico, cáncer de uretra, cáncer de útero, sarcoma uterino, cáncer de vagina, cáncer de vulva, y tumor de Wilms.

En algunas realizaciones, el cáncer que puede tratarse mediante los métodos descritos es melanoma, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de mama, glioma, cáncer de pulmón, carcinoma de tejidos blandos, sarcoma de tejidos blandos, osteosarcoma, o cáncer de páncreas. En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido. En algunas realizaciones, el cáncer es un carcinoma de tejidos blandos. En algunas realizaciones, el cáncer es un fibrosarcoma. En algunas realizaciones, el cáncer es glioma pontino intrínseco difuso.

Sin estar atados a una teoría particular, la liberación local de ciertos agentes anticancerígenos usando los compuestos y métodos de la invención puede producir o contribuir a la muerte celular inmunogénica (ICD). Por ejemplo, se ha informado que ciertos agentes anticancerígenos (por ejemplo, antraciclinas, ciclofosfamida, oxaliplatino) inducen ICD. Kroemer et al. Annu. Rev. Immunol. 2013 (31), 51-72. La apoptosis inmunogénica de las células cancerosas puede inducir una respuesta inmune antitumoral eficaz mediante la activación de células dendríticas (DC) y la consiguiente activación de la respuesta de células T específicas. La ICD se caracteriza por la secreción de patrones moleculares asociados a daño (DAMP). Tres DAMP importantes están expuestos a la superficie celular durante la ICD. La calreticulina (CRT), una de las moléculas de DAMP, que normalmente se encuentra en la luz del retículo endoplásmico (RE), se transloca tras la inducción de apoptosis inmunogénica a la superficie de la célula moribunda, en la que funciona como una señal de "cómeme" para los fagocitos profesionales. Otros DAMP importantes expuestos en la superficie son las proteínas de choque térmico (HSP), a saber, HSP70 y HSP90, que en condiciones de estrés también se translocan a la membrana plasmática. En la superficie celular tienen un efecto inmunoestimulador, basado en su interacción con varios receptores de superficie de células presentadoras de antígeno (APC), como CD91 y CD40, y también facilitan la presentación cruzada de antígenos derivados de células tumorales en la molécula de MHC de clase I, lo que conduce entonces a la respuesta de las células T CD8+. Otros DAMP importantes, característicos de la ICD, son la anfoterina segregada (HMGB1) y ATP. Se considera que HMGB1 es un marcador apoptótico tardío, y su liberación al espacio extracelular parece ser necesaria para la liberación y presentación óptima de antígenos tumorales a las células dendríticas. Se une a varios receptores de reconocimiento de patrones (PRR), tales como el receptor tipo Toll (TLR) 2 y 4, que se expresan en las APC. El DAMP liberado durante la muerte celular inmunogénica encontrado más recientemente es ATP, que funciona como una señal de "búscame" para los monocitos cuando se segrega, e induce su atracción hacia el sitio de apoptosis. Kroemer et. al. Curr. Op. Immunol. 2008 (20), 504-511.

Por lo tanto, la liberación local de inductores de ICD usando los compuestos y métodos de la invención se puede combinar beneficiosamente con otras clases de fármacos inmunooncológicos, incluidos inhibidores del punto de control inmunológico (por ejemplo, inhibidores de PD-1, PD-L1).

i. Gliomas pontinos intrínsecos difusos

Los métodos descritos pueden usarse para tratar gliomas pontinos intrínsecos difusos. Los gliomas pontinos intrínsecos difusos (GIPD) son tumores pediátricos del tronco encefálico que pueden ser muy malignos y difíciles de tratar. No se conoce ningún tratamiento curativo para el DIPG, y las probabilidades de supervivencia han seguido siendo escasas durante las últimas cuatro décadas. Los pacientes con DIPG tienen una mediana de supervivencia general de sólo 11 meses, con una tasa de supervivencia a dos años por debajo de 10 %. Los DIPG representan el 75-80 % de los tumores del tronco encefálico en niños, y se estima que afectan a entre 200-300 niños en los EE. UU. cada año. La rareza de esta devastadora enfermedad, y la falta previa de sistemas modelo experimentales, han impedido la investigación, y durante las últimas cuatro décadas las probabilidades de supervivencia han seguido siendo las mismas. El diagnóstico de DIPG puede comenzar con síntomas clínicos, y puede confirmarse mediante resonancia magnética. La enfermedad puede comenzar con varios meses de síntomas generalizados, que incluyen cambios de comportamiento y dificultades en la escuela, visión doble, movimientos oculares anormales o limitados, sonrisa asimétrica, pérdida del equilibrio, y debilidad. Alternativamente, el deterioro neurológico grave puede ocurrir más rápidamente, con síntomas presentes menos de un mes antes del diagnóstico. El examen clínico puede revelar la tríada de neuropatías craneales múltiples, signos de tracto largo tales como hiperreflexia y clonus, así como ataxia. La expansión de la sección del puente troncoencefálico puede causar hidrocefalia obstructiva y aumento de la presión intracraneal.²

Los núcleos críticos para las funciones de soporte vital, tales como la respiración y los latidos del corazón, están ubicados en el puente, y sin tratamiento, el DIPG puede dañar la respiración y los latidos del corazón.

Los métodos descritos pueden usarse para administrar cargas útiles moleculares al sitio de un DIPG (por ejemplo, un inhibidor de HDAC tal como panobinostat). Los métodos descritos pueden incluir la administración sistémica de fármacos que sólo se activan en el sitio del tumor. Los métodos descritos pueden usarse como terapia neoadyuvante o adyuvante. El biomaterial se puede colocar durante una biopsia. Los resultados de la biopsia pueden indicar la cantidad y el tipo de tratamiento a administrar en el sitio del tumor. Los compuestos y composiciones descritos pueden administrarse antes de la resección quirúrgica. Los métodos descritos pueden minimizar el tamaño del tumor antes de la resección quirúrgica. Los compuestos y composiciones descritos pueden administrarse durante la resección quirúrgica. Los compuestos y composiciones descritos pueden administrarse después de la resección quirúrgica. Se puede colocar biomaterial alrededor de la cavidad quirúrgica al final de la resección quirúrgica, y después se puede tratar al sujeto con dosis adicionales de un tratamiento (por ejemplo, prodoxorubicina). El gel biodegradable descrito se puede implantar en el momento de la biopsia o la cirugía. Es posible que los métodos descritos no requieran un procedimiento invasivo adicional para administrar dosis adicionales de los compuestos y composiciones descritos.

Los métodos descritos pueden incluir múltiples dosis sistémicas de profármaco que se concentran en un lugar. Los métodos descritos pueden usarse para administrar un segundo profármaco si el tumor es resistente al primer profármaco. Un segundo profármaco puede ser un profármaco de gemcitabina o docetaxel marcado con TCO. El profármaco de gemcitabina o docetaxel marcado con TCO se puede administrar en combinación con doxorubicina. Los segundos profármacos pueden activarse mediante el gel implantado usado para el primer profármaco.

La eficacia *in vivo* de TAG y TCO-doxorrubicina se puede determinar en un modelo de xenoinjerto de ratón de DIPG. La eficacia de la plataforma de activación local de Shasqi para tratar xenoinjertos de DIPG puede evaluarse en ratones. A ratones atímicos se les puede inyectar estereotácticamente en el cerebro una suspensión de células DIPG que expresan luciferasa (líneas celulares derivadas de pacientes SU-DIPG-V1-luc y SF7761) y TAG. Se usaría el cerebro, en lugar de la protuberancia, para mejorar la consistencia del xenoinjerto en estos experimentos preliminares. Se ha demostrado que los modelos de xenoinjertos escogidos han replicado las características histopatológicas, los fenotipos invasivos y las principales anomalías genéticas de los tumores primarios originales. Los TAG y las células se pueden premezclar antes de la inyección, para limitar el número de inyecciones en esta región sensible para este estudio de prueba de concepto. Este estudio emplearía 6 grupos de 5 ratones cada uno, probando TCO-doxorrubicina, doxorubicina, o control de disolución salina, administrados mediante inyección intravenosa (IV) e intracraneal (IC), como se describe en la Tabla 1.

Matriz de estudio animal de DIPG (por línea celular)

Grupo No.	No. de ratones	Agente	Modo de administración	Inicio del tratamiento	Medidas	Criterio de valoración
1	5	TCO-dox	IV	7 días después del implante	IVIS, peso corporal, puntuación clínica	60 días después del implante
2	5		IC			
3	5	Dox	IV		Diariamente-Semana 1 Semanalmente-punto final	
4	5		IC			
5	5	Disolución salina	IV			
6	5		IC			
Total	30	-	-	-	-	-

Siete días después de la implantación celular, a los ratones se les puede administrar un ciclo de TCO-doxorrubicina o doxorubicina a niveles de MTD. Durante los 60 días posteriores al trasplante, la respuesta al tratamiento puede determinarse mediante la señal de bioluminiscencia y la supervivencia del ratón. La toxicidad del tratamiento puede medirse mediante observaciones clínicas, incluyendo la puntuación clínica de neuropatología, la puntuación de condición corporal, y la pérdida de peso. Si no se cumple ninguna de las puntuaciones clínicas, los ratones se sacrificarán 60 días después del xenotrasplante. Al alcanzar cualquier criterio de valoración del estudio, los ratones se sacrificarán y se someterán a histología de tejido de cortes de cerebro para determinar el grado de progresión de la enfermedad y la inflamación o daño tisular resultante del TAG o los fármacos. La cantidad de doxorubicina presente en el tumor cerebral después del tratamiento con TAG y prodoxorubicina también se puede analizar mediante cromatografía de líquidos de alta presión de fase inversa (RP-HPLC), para medir la capacidad del fármaco para penetrar y retenerse dentro del tumor.

C. Enfermedades o trastornos relacionados con inflamación

Los métodos descritos pueden usarse para tratar o prevenir enfermedades y trastornos relacionados con inflamación. Las enfermedades y/o trastornos que pueden tratarse y/o prevenirse mediante los métodos descritos incluyen, pero no se limitan a, asma, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedades autoinmunes, enfermedades autoinflamatorias, celiaquía, prostatitis crónica, diverticulitis, glomerulonefritis, otitis, enterocolitis necrotizante, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis, enfermedad de Behcet, vasculitis, rechazo de trasplantes, y enfermedad tiroidea autoinmune.

i. Sinovitis vellonodular pigmentada

Los métodos descritos se pueden usar para tratar la sinovitis vellonodular pigmentada. La sinovitis vellonodular pigmentada (PVNS), también conocida como tumor tenosinovial de células gigantes (TGCT), es un proceso neoplásico crónico y progresivo que hace que el revestimiento sinovial de una articulación, bolsa, o vaina tendinosa se engrose y crezca demasiado de manera agresiva con un riesgo muy bajo de metástasis. Esta afección afecta aproximadamente a 1,8 personas por millón, o alrededor de 600, por año en los EE. UU., y aparece con mayor frecuencia en personas de entre 20 y 45 años. La PVNS puede ser focal o difusa. En la forma difusa, el proceso de la enfermedad puede acelerar el desgaste de tendones y articulaciones, y puede tener una tasa de recurrencia local del 40-50 % con estrategias de tratamiento tradicionales. El comportamiento benigno pero agresivo de PVNS hace que el tratamiento sea un desafío, ya que los médicos tienen que sopesar la morbilidad del tratamiento con respecto a la historia natural del proceso de la enfermedad. Los métodos que administran y activan localmente sustancias terapéuticas pueden ser la solución a afecciones como la PVNS difusa. Esto limita los efectos secundarios sistémicos de los medicamentos. La sinovitis vellonodular pigmentada difusa (PVNS), que recibe el nombre sinónimo de tumor tenosinovial de células gigantes (TGCT) en las manifestaciones extraarticulares de la enfermedad, es un proceso neoplásico agresivo, principalmente localizado, que afecta el revestimiento sinovial de una articulación, bolsa, o vaina tendinosa, haciendo que se espese, crezca demasiado e induzca un proceso inflamatorio destructivo.

Tanto en el tipo localizado como en el difuso de PVNS, la mayoría de los casos tienen un reordenamiento genético en el cromosoma 1p11-13, un sitio para el factor estimulante de colonias de macrófagos (CSF-1). La translocación conduce a la sobreexpresión de CSF-1, lo que atrae células inflamatorias que expresan el receptor de CSF-1 (CSF1R) e impulsa la formación de PVNS. 13 El CSF-1, una citocina segregada y un factor de crecimiento hematopoyético, desempeña un papel esencial en la proliferación, diferenciación y supervivencia de monocitos, macrófagos y células relacionadas.

Dentro del tejido afectado por PVNS, se ha demostrado que sólo una pequeña población de células estromales mononucleares (2-16 %) sobreexpresa CSF-1, y estas células neoplásicas constituyen un componente minoritario dentro del tumor. Sin embargo, la mayoría de las células no son neoplásicas, tienen altos niveles de expresión del receptor (CSFR1), y son reclutadas y activadas por el CSF1 producido por las células neoplásicas. Debido a que CSFR1 es una tirosina cinasa receptora del grupo III, se ha teorizado que un inhibidor del receptor de tirosina cinasa (TKI) dirigido contra CSF1R (por ejemplo, imatinib, nilotinib, emactuzumab, y PLX3397) podría inhibir la progresión de PVNS y reducir la morbilidad quirúrgica, y preservar la calidad de vida del paciente.

Existen al menos dos formas de la enfermedad, que pueden ser histológicamente idénticas. Un primer PVNS/GCTTS focal puede aparecer en las articulaciones o alrededor de las vainas tendinosas que sostienen la articulación. Puede manifestarse como un proceso extraarticular localizado, que suele afectar a las pequeñas articulaciones de la mano o la muñeca (65 %-89 %) y del pie y el tobillo (5 %-15 %), o como una enfermedad intraarticular localizada, que suele afectar a la rodilla, cadera o tobillo. Los métodos descritos pueden usarse para tratar la primera forma de PVNS/GCTTS. Un segundo tipo de PVNS es la forma difusa, que afecta todo el revestimiento sinovial. Esto es más común en las articulaciones grandes, generalmente la cadera (4-16 %) y la rodilla (66-80 %), pero también puede ocurrir en otras articulaciones (tobillo, hombro, codo, columna, etc.). Esta forma de la enfermedad es más invasiva y más difícil de tratar con éxito mediante escisión quirúrgica. Los métodos descritos pueden usarse para tratar la segunda forma de PVNS.

Los pacientes con PVNS sintomático y agresivo, especialmente la forma difusa, actualmente se someten a tratamientos con consecuencias a largo plazo. El enfoque contemporáneo de la cirugía y la radiación es demasiado mórbido para una afección que en última instancia es benigna. El reciente desarrollo de medicamentos sistémicos con efecto sobre la ruta de CSF-1R ha creado un nuevo e interesante enfoque para esta frustrante afección. El uso como adyuvante de la cirugía ha demostrado resultados iniciales prometedores; sin embargo, los efectos secundarios siguen siendo una limitación. Los métodos descritos que administran y activan localmente sustancias terapéuticas serán fácilmente beneficiosos para tratar PVNS, evitando al mismo tiempo las secuelas a largo plazo del tratamiento en sí. Los métodos descritos pueden eliminar la necesidad de cirugía en pacientes con PVNS. Los métodos descritos pueden eliminar la necesidad de cirugía en la forma focal de PVNS. The disclosed methods may reduce the recurrence of PVNS. Los métodos descritos pueden reducir la recurrencia local en la forma difusa de PVNS.

ii. Artritis

Los métodos de tratamiento descritos pueden usarse para tratar la artritis. Artritis es un término que puede referirse a cualquier trastorno que afecte a las articulaciones. Los síntomas pueden incluir dolor y rigidez en las articulaciones. Otros síntomas pueden incluir enrojecimiento, calor, hinchazón, y disminución del intervalo de movimiento de las articulaciones afectadas. En algunos tipos de artritis, otros órganos también pueden verse afectados. El inicio puede ser gradual o repentino. Puede haber más de 100 tipos de artritis. Las formas más comunes son la osteoartritis y la artritis reumatoide. La osteoartritis puede ocurrir con el envejecimiento, y puede afectar los dedos, las rodillas y las caderas. La artritis reumatoide es un trastorno autoinmune que puede afectar las articulaciones de las manos y los pies, la piel, los pulmones, el corazón y los vasos sanguíneos, la sangre, los riñones, los ojos, el hígado, los huesos y el sistema neurológico.

En algunas realizaciones, los compuestos y composiciones descritos se pueden usar para tratar infecciones, lesiones tisulares, estenosis, isquemia, revascularización, infarto de miocardio, arritmias, oclusión vascular, inflamación, trastornos autoinmunes, rechazo de trasplantes, degeneración macular, artritis reumatoide, osteoartritis, infecciones periprotésicas, y sinovitis villonodular pigmentada.

b. Modos de administración

Los compuestos o composiciones para uso en métodos de tratamiento pueden incluir cualquier número de modos para administrar un compuesto o composición descrita. Los modos de administración pueden incluir comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas de gel duras y blandas, gránulos, peletes, parches para la piel, cremas para la piel, geles para la piel, disoluciones acuosas, lipídicas, oleosas u otras, emulsiones tales como emulsiones de aceite en agua, liposomas, suspensiones acuosas u oleosas, jarabes, elixires, emulsiones sólidas, dispersiones sólidas o polvos dispersables. Para la preparación de composiciones farmacéuticas para administración oral, el compuesto o composiciones descritos aquí se pueden mezclar con adyuvantes y excipientes, tales como goma arábiga, talco, almidón, azúcares (tales como, por ejemplo, manitosa, metilcelulosa, lactosa), gelatina, agentes tensioactivos, estearato de magnesio, disolventes acuosos o no acuosos, derivados de parafina, agentes reticulantes, dispersantes, emulsionantes, lubricantes, agentes conservantes, agentes aromatizantes (por ejemplo, aceites etéreos), potenciadores de la solubilidad (por ejemplo, benzoato de bencilo o alcohol bencílico) o potenciadores de la biodisponibilidad (por ejemplo, Gelucire®). En la composición farmacéutica, el compuesto o las composiciones descritos aquí también se pueden dispersar en una micropartícula, por ejemplo una composición de nanopartículas.

Para la administración parenteral, los compuestos o composiciones descritos aquí se pueden disolver o suspender en un diluyente fisiológicamente aceptable, tal como agua, amortiguador, aceites con o sin solubilizantes, agentes tensioactivos, dispersantes o emulsionantes. Los aceites adecuados pueden incluir, por ejemplo, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de soja, aceite de ricino y aceite de sésamo. Para la administración parenteral, el compuesto o las composiciones descritas aquí pueden administrarse en forma de una disolución o suspensión acuosa, lipídica, oleosa o de otro tipo, o incluso administrarse en forma de liposomas o nanosuspensiones.

El término "parenteral", como se usa aquí, se refiere a modos de administración que incluyen inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intraesternal, subcutánea e intraarticular.

Los compuestos y composiciones descritos aquí se pueden administrar por vía tópica. Una composición tópica descrita aquí se puede aplicar a la piel de un sujeto que la necesite. El área de piel seleccionada para el tratamiento puede ser el sitio de una infección bacteriana. El área de piel seleccionada para el tratamiento puede ser la piel que rodea el sitio de la infección. El área de piel seleccionada para el tratamiento puede ser el sitio de una infección bacteriana y la piel que rodea el sitio de la infección. La infección de la piel puede ser causada por MRSA. Una composición tópica descrita aquí se puede aplicar a una membrana mucosa de un sujeto que la necesite. La membrana mucosa seleccionada para el tratamiento puede ser el sitio de una infección bacteriana. El área de la membrana mucosa seleccionada para el tratamiento puede ser la membrana mucosa que rodea la infección bacteriana. La membrana mucosa seleccionada para el tratamiento puede ser el sitio de una infección bacteriana y la membrana mucosa que rodea el sitio de la infección. La infección de la membrana mucosa puede ser causada por MRSA.

La administración tópica puede ser con un parche que contiene los compuestos y composiciones descritos aquí. La administración tópica puede ser con un parche soluble que contiene el compuesto y las composiciones descritos aquí. La administración tópica puede ser con una crema que contenga el compuesto y las composiciones descritos aquí. La administración tópica puede ser con espuma que contiene el compuesto y las composiciones descritos aquí. La administración tópica puede ser con loción que contiene el compuesto y las composiciones descritos aquí. La administración tópica puede ser con una ungüento que contenga el compuesto y las composiciones descritos aquí. La administración tópica puede ser con gel que contiene el compuesto y las composiciones descritos aquí. La administración tópica puede tener menos efectos secundarios que la administración sistémica de antibióticos.

En algunas realizaciones, una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos y composiciones descritos aquí se puede aplicar a la piel y/o membrana mucosa infectada de un sujeto, para reducir o eliminar la infección y/o mejorar la curación de la piel y/o membrana mucosa herida. En realizaciones particulares, una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos y composiciones descritos aquí se puede aplicar a un área de la piel y/o membrana mucosa infectada por MRSA, incluidas infecciones causadas por una biopelícula de MRSA. En estas realizaciones, los compuestos y composiciones descritos aquí se pueden administrar solos o en combinación con uno o más agentes activos para reducir la infección y/o promover la curación de la piel y/o las membranas mucosas.

C. Terapias combinadas

Se pueden administrar agente o agentes terapéuticos adicionales simultánea o secuencialmente con los compuestos y composiciones descritos. La administración secuencial incluye la administración antes o después del compuesto y las composiciones descritos. Un agente terapéutico adicional se puede administrar antes de los compuestos y composiciones descritos. Un agente terapéutico adicional se puede administrar después de los compuestos y composiciones descritos. Un agente terapéutico adicional se puede administrar al mismo tiempo que los compuestos y composiciones descritos. En algunas realizaciones, el agente o agentes terapéuticos adicionales se pueden administrar en la misma composición que los compuestos descritos. En otras realizaciones, puede haber un intervalo de tiempo entre la administración del agente terapéutico adicional y los compuestos o composiciones descritos. En algunas realizaciones, la administración de un agente terapéutico adicional con un compuesto o composición descritos puede permitir dosis más bajas de los otros agentes terapéuticos, y/o la administración a intervalos menos frecuentes. Cuando se usan en combinación con uno o más ingredientes activos, los compuestos o composiciones de la presente invención y los otros ingredientes activos se pueden usar en dosis más bajas que cuando cada uno se usa solo. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen aquellas que contienen uno o más ingredientes activos, además de un compuesto de la presente descripción.

Para el tratamiento de infecciones bacterianas, los compuestos y composiciones se pueden combinar con una variedad de antibióticos. Los antibióticos incluyen, pero no se limitan a, vancomicina, linezolid, teicoplanina, ceftazolin, clindamicina, mupirocina, trimetoprima-sulfametoxazol, tetraciclinas, daptomicina, sulfamidas, ceftobiprol, ceftarolina, dalbavancina, telavancina, torezolida, iclaprim, nemonoxacina, platensimicina, y oxadiazoles.

Los compuestos y composiciones pueden combinarse con agentes que inhiben la formación de biopelículas bacterianas. Los agentes que inhiben la formación de biopelículas bacterianas incluyen, pero no se limitan a, derivados de imidazol, derivados de indol, emodina, flavonoides, extractos de jengibre, *Hypericum perforatum*, 7-epiclusianona, ácido isolimónico, ácido tánico, queleritrina, carvacrol, bgugaína, resveratrol, extractos de ajo, furanonas halogenadas naturales, alquiliden-lactamas bromadas, e inhibidores basados en AHL.

Los compuestos y composiciones se pueden combinar con análogos de norespermidina alifáticos conjugados con lisina. Los compuestos y composiciones se pueden combinar con terapia con fagos. En el caso de una infección que implique un dispositivo médico o una prótesis, los compuestos y composiciones pueden administrarse en combinación con la retirada del dispositivo médico o la prótesis. Se puede implantar en el sujeto un dispositivo médico o una prótesis nuevos y estériles.

Los compuestos y composiciones se pueden combinar con agentes para modificar los posibles efectos secundarios de los agentes antibacterianos. Los agentes que pueden mediar o tratar los efectos secundarios incluyen, pero no se limitan a, probióticos, agentes antidiarreicos, agentes antieméticos, y analgésicos.

El sujeto también puede estar recibiendo una variedad de tratamientos para comorbilidades.

5. Ejemplos

La presente descripción tiene múltiples aspectos, ilustrados mediante los siguientes ejemplos no limitativo. Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la técnica una descripción y descripción completa de cómo hacer y usar la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención, ni están destinados a representar que los experimentos a continuación son todos o los únicos experimentos realizados. Se han hecho esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular medio ponderal, la temperatura está en grados Celsius, y la presión es atmosférica o cercana. Por "promedio" se entiende la media aritmética. Se pueden usar abreviaturas estándar, por ejemplo pb, par(es) de bases; kb, kilobase(s); pl, picolitro(s); s o seg, segundo(s); min, minuto(s); h o hr, hora(s); aa, amino acid(s); kb, kilobase(s); pb, par(es) de bases; nt, nucleótido(s); im, intramuscular(mente); ip, intraperitoneal(mente); sc, subcutáneo(mente); y similares.

Están disponibles muchas referencias generales que proporcionan esquemas y condiciones de síntesis química comúnmente conocidos útiles para sintetizar los compuestos descritos (véase, por ejemplo, Smith y March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, quinta edición, Wiley-Interscience, 2001; o Vogel, *A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis*, cuarta edición, Nueva York: Longman, 1978).

Los compuestos como se describen aquí se pueden purificar mediante cualquier protocolo de purificación conocido en la técnica, incluida la cromatografía, tal como HPLC, cromatografía en capa fina preparativa, cromatografía ultrarrápida en columna, y cromatografía de intercambio iónico. Se puede usar cualquier fase estacionaria adecuada, incluyendo fases normal e invertida, así como resinas iónicas. En algunas realizaciones, los compuestos descritos se purifican mediante cromatografía en gel de sílice y/o alúmina. Véase, por ejemplo, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 2ª edición, ed. LR Snyder y JJ Kirkland, John Wiley and Sons, 1979; y *Thin Layer Chromatography*, ed. E. Stahl, Springer-Verlag, Nueva York, 1969.

Durante cualquiera de los procedimientos para la preparación de los compuestos en cuestión, puede ser necesario y/o deseable proteger grupos sensibles o reactivos en cualquiera de las moléculas en cuestión. Esto se puede lograr por medio de grupos protectores convencionales como se describe en trabajos estándar, tales como JFW McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, Londres y Nueva York 1973, en TW Greene y PGM Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Tercera edición, Wiley, Nueva York 1999, en "The Peptides"; Volumen 3 (editores: E. Gross y J. Meienhofer), Academic Press, Londres y Nueva York 1981, en "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4.ª edición, Vol. 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, en H.-D. Jakubke y H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, y Basilea 1982, y/o en Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide and Derivate", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Los grupos protectores pueden eliminarse en una etapa posterior conveniente usando métodos conocidos en la técnica.

Los compuestos en cuestión se pueden sintetizar mediante una variedad de rutas sintéticas diferentes usando materiales de partida disponibles comercialmente y/o materiales de partida preparados mediante métodos sintéticos convencionales. En los esquemas siguientes se describe una variedad de ejemplos de rutas sintéticas que se pueden usar para sintetizar los compuestos descritos aquí.

Se usan aquí las siguientes abreviaturas:

ACN

acetonitrilo

Boc

terc-butoxicarbonilo

Cy5

cianina 5

Cy5.5

cianina 5,5

dapto

daptomicina

DCC

N,N'-diciclohexilcarbodiimida

DCM

diclorometano

dd

doblemente destilado

DIBAL

	hidruro de diisobutilaluminio
5	DIPEA
	diisopropiletilamina
	DMAP
10	4-dimetilaminopiridina
	DMF
15	N,N-dimetilformamida
	DMSO
	dimetilsulfóxido
20	doxo
	doxorubicina
25	EDCI
	Hidrocloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
	Et
30	etilo
	EtOAc
35	acetato de etilo
	FCC
	cromatografía en columna ultrarrápida
40	Fmoc
	fluorenilmetiloxycarbonilo
45	h u hora
	hora
	HA
50	ácido hialurónico
	HAT
55	Ácido hialurónico modificado con tetrazina
	HATU
	Hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio
60	HBTU
	hexafluorofosfato de benzotriazolotetrametiluronio
65	HMT
	tetrazina modificada con hidrogel

	HOAt	
5		1-hidroxi-7-azabenzotriazol
	HOBt	
		1-hidroxibenzotriazol
10	HPLC	
		cromatografía de líquidos de alta resolución
	iPrOH	
15		alcohol isopropílico
	LCMS	
20		cromatografía de líquidos-espectrometría de masas
	Me	
		metilo
25	MeCN	
		acetonitrilo
30	MeOH	
		metanol
	MES	
35		Ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico
	MeTz	
40		metiltetrazina
	min	
		minutos
45	MTD	
		dosis máxima tolerada
50	NHS	
		N-hidroxisuccinimida
	NMP	
55		N-metilpiperazina
	PBS	
60		disolución salina amortiguada con fosfato
	Ph	
		fenilo
65	ppm	

	partes por millón
5	pyr
	piridina
	rt/RT
10	temperatura ambiente
	SEM
15	error estándar de la media
	sulfo-NHS
	N-hidroxisulfosuccinimida
20	TAG
	gel activador modificado con tetrazina
25	TBAF
	fluoruro de tetrabutilamonio
	TBME
30	terc-butil metil éter
	TCO
35	trans-cicloocteno
	TEA
	triethylamina
40	THF
	tetrahidrofurano
45	TLC
	cromatografía de capa fina
	TFA
50	ácido trifluoroacético
	TsCl
55	cloruro de tosilo o cloruro de toluenosulfonilo
	LGV UV
	ácido gulurónico ultrapuro de baja viscosidad
60	Vanco
	vancomicina
65	

Ejemplo 1 de referencia

Morfolina-TCO-Doxorrubicina.

Ácido *rel*-(1R,4E,6R,pS)-6-hidroxi-1-metilciclooct-4-eno-1-carboxílico (isómero axial 2)

Se añadió una disolución de 5,34 g (95,2 mmol) de hidróxido de potasio en 16,7 ml de agua durante un período de 5 minutos a una disolución enfriada con agua de la mezcla de isómeros del éster de trans-cicloocteno **1** (Rossin et. al., Bioconjugate Chem., 2016, 27, 1697-1706) (1,64 g, 8,28 mmol, relación del isómero axial/ecuatorial aprox. 1,2:1 para este lote particular) en 37 ml de metanol. La disolución se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. Se añadió agua (51 ml), y la mezcla se extrajo con 3 x 150 ml de TBME. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con 100 ml de agua, y después se secaron a vacío para dar el éster ecuatorial no hidrolizado **1b**. Las capas acuosas combinadas se trataron con 300 ml de TBME, y después con 15 g de ácido cítrico. Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con TBME (3 x 150 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron y se evaporaron por rotación a 25 °C para proporcionar 873 mg (57 %) del isómero axial puro **2** del ácido trans-cicloocteno como un aceite incoloro. ¹H-RMN (CDCl₃): δ=6,15-5,95 (m, 1H), 5,6 (d, 1H), 4,45 (s, 1H), 2,4-1,7 (m, 7H), 1,6 (dd, 1H), 1,18 (s, 3H). ¹³C-RMN (CDCl₃): δ=185,4 (C=O), 134,8 (=CH), 130,7 (=CH), 69,8 (CH), 44,8, 38,2, 31,0, 29,8 (CH₂), 18,1 (CH₃).

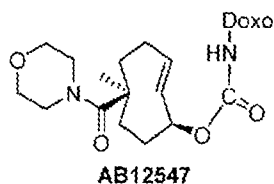
***rel*-(1R,4E,6R,pS)-2,5-dioxopirrolidin-1-il-6-(((2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi)carbonil)oxi)-1-metilciclooct-4-eno-1-carboxilato (isómero axial 3)**. A una disolución del compuesto **2** (873 mg, 4,74 mmol) en 24,0 ml de MeCN se añadió DIPEA (4,59 g, 35,6 mmol), seguido de carbonato de N,N'-disuccinimido (5,22 g, 20,4 mmol). La mezcla se agitó durante 3 días a TA, y posteriormente se evaporó a vacío a 25 °C. El residuo se cromatografió sobre 40 g de sílice, con diclorometano como eluyente, seguido de elución con diclorometano que contenía una cantidad creciente de TBME (0 - 20 %). Las fracciones del producto se combinaron y se secaron a vacío. El residuo resultante se agitó con TBME hasta que se obtuvo una suspensión homogénea. La filtración y el lavado dieron 761 mg del producto **3** como un sólido blanco (38 %); ¹H-RMN (CDCl₃): δ=6,07 (ddd, J= 16,8, 10,7, 3,5 Hz, 1H), 5,62 (dd, J= 16,7, 2,5 Hz, 1H), 5,25 (s, 1H), 2,83 (2s, 8H), 2,5-2,25 (m, 4H), 2,2-1,9 (m, 4H), 1,28 (s, 3H).

NHS-TCO-Doxorrubicina (isómero axial 4). Se disolvieron hidrocloreuro de doxorubicina (53,7 mg; 0,093 mmol) y **3** (39,1 mg; 0,093 mmol) en DMF (2,0 ml), y se añadió DIPEA (60,1 mg; 0,465 mmol). La disolución se agitó en una atmósfera de argón a temperatura ambiente durante 22 h. El análisis por HPLC indicó alrededor de 60 % del producto deseado con picos dobles. El producto bruto se dividió en dos porciones.

- Una porción se trató con morfolina (4,0 mg, 0,047 mmol, 5 eq) a temperatura ambiente durante 24 h. El material de partida todavía estaba presente, y la reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante otras 20 h. La tasa de conversión fue alrededor de 71 %. El producto también mostró picos dobles. El producto se purificó mediante HPLC preparativa para dar un producto bastante puro. El producto se confirmó por LCMS, con m/z 935,9 (M+114-1)

- Otra porción se trató con 1-metilpiperazina (4,7 mg, 0,047 mmol, 5 eq) a temperatura ambiente durante 24 h. El material de partida todavía estaba presente, y la reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante otras 20 h. La tasa de conversión fue alrededor de 64 %. El producto también mostró picos dobles. El producto se purificó mediante HPLC preparativa para dar un producto bastante puro. El producto se confirmó por LCMS, con m/z 948,9 (M+114-1)

NHS-TCO-Doxorrubicina (isómero axial 4). Se disolvieron hidrocloreuro de doxorubicina (1,05 g; 1,8 mmol) y **3** (761 mg; 1,8 mmol) en DMF (18 ml), y se añadió DIPEA (1,16 g; 9,0 mmol). La disolución se agitó en una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 22 h. El análisis por HPLC indicó que la reacción fue bien, y el producto tiene un único pico. El resto del producto bruto se concentró hasta sequedad en un rotavapor para eliminar la DMF. El residuo se purificó mediante FCC (iPrOH/DCM: 0 % - 23 %) para dar un producto puro **4** (1,015 g, 66 %) en forma de un sólido rojo. ¹H-RMN (CDCl₃): δ=13,97 (s, 1H), 13,22 (s, 1H), 8,03 (d, J=7,9 Hz, 1H), 7,78 (t, J=8,0 Hz, 1H), 7,38 (d, J=8,6 Hz, 1H), 5,85 (m, 1H), 5,59 (m, 1H), 5,51 (s, 1H), 5,29 (s, 1H), 5,16 (d, J=8,4 Hz, 1H), 5,12 (s, 1H), 4,75 (d, J=4,8 Hz, 2H), 4,52 (d, J=5,8 Hz, 1H), 4,15 (c, J=6,5 Hz, 1H), 4,08 (d, J=3,6 Hz, 3H), 3,87 (m, 1H), 3,69 (m, 1H), 3,26 (d, J=18,8 Hz, 1H), 3,00 (m, 2H), 2,81 (s, 4H), 2,4 - 1,7 (a. m, 13H), 1,62 (s, 2H), 1,30 (d, J=6,5 Hz, 3H), 1,23 (s, 3H) ppm.

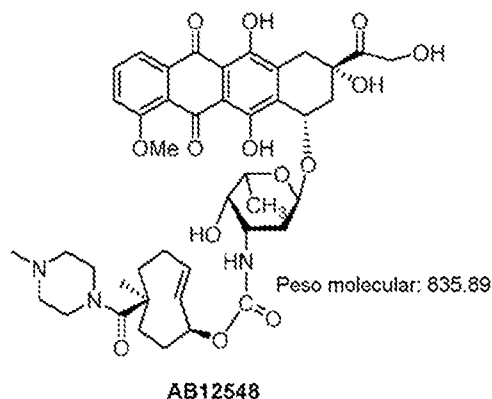


Morfolina-TCO-Doxorrubicina (isómero axial AB12547). Se añadió morfolina (215 mg, 2,47 mmol, 6 eq) a una disolución de NHS-TCO-doxorrubicina **4** (350 mg, 0,41 mmol) en DMF (4,1 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 h. El análisis de TLC indicó que el material de partida **4** había desaparecido, y

se observó una mancha principal (iPrOH/DCM = 1/9). El análisis por HPLC también indicó un pico principal. El análisis de LCMS también mostró el m/z deseado 935,8 (M+114-H). La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad, y el residuo se purificó mediante FCC (iPrOH/DCM: 0-40 %) para producir un producto bastante puro (-120 mg). El espectro ^1H RMN se muestra en la FIG. 25.

5

Ejemplo 2 de referencia



10 NMP-TCO-Doxorrubicina (isómero axial AB12548)

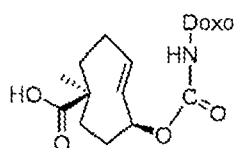
Se añadió N-metilpiperazina (247 mg, 2,47 mmol, 6 eq) a una disolución de NHS-TCO-doxorrubicina 4 (350 mg, 0,41 mmol) en DMF (4,1 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 h. El análisis de TLC indicó que el material de partida 4 había desaparecido, y se observaron muchas manchas (iPrOH/DCM = 1/9). El análisis por HPLC también indicó picos múltiples. El análisis de LCMS también mostró el m/z deseado 951,8 (M+114-H). La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad, y el residuo se almacenó a -20°C. Se intentó purificar el producto bruto mediante FCC (NEt₃ al 5 % en iPrOH/DCM: 0 % hasta 30 %). Las fracciones que contenían producto se combinaron y concentraron hasta sequedad. Las fracciones son impuras.

15

Se llevó a cabo otra reacción de prueba: se trataron alrededor de 2,4 mg del intermedio 4 en DMF (0,2 ml) con disolución de N-metilpiperazina en DMF. Se aumentaron paulatinamente los equivalentes de la amina. Después de añadir 4 eq en 3 días, el material de partida casi se consumió. La reacción todavía era complicada a pesar de que el pico principal se atribuye al producto deseado con un doble pico.

20

25 Ejemplo 3

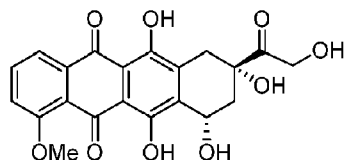


30 Ácido-TCO-Doxorrubicina (isómero axial AB12549)

El intermedio 4 (~2,4 mg) en DMF (0,10 ml) podría tratarse con bicarbonato de sodio saturado (0,10 ml) a temperatura ambiente. Después de 18 h, el material de partida casi se había consumido, y la reacción aún era complicada. El producto bruto podría purificarse mediante Prep HPLC para obtener un producto bastante puro. El espectro ^1H RMN se muestra en la FIG. 26.

35

Cuando el intermedio 4 (10 mg) en DMF se trató con hidróxido de sodio (0,25 N), se dominó una reacción secundaria para generar un producto secundario 5.



40

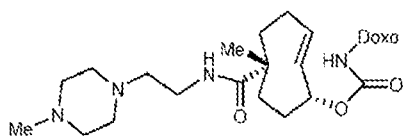
5

La solubilidad acuosa del Ejemplo 3 (AB 12549) en diversas condiciones de pH se muestra en la siguiente tabla.

Ciclo AB12549					
	Solubilidad, mg/ml		pH final	¿Precipita después de que el sobrenadante se asiente sin perturbarlo durante 1 hora?	Inspección visual después de la centrifugación.
	Valor	Media			
1	1,08	1,08	5,07	No	Pelete
	1,09				
	1,08				
2	11,56	11,52	5,25	No	Un pelete más pequeño
	11,52				
	11,47				
3	22,76	22,87	5,62	No	Un pelete muy pequeño
	22,97				
	22,89				
4	61,41	60,80	7,23	No	Un pelete muy pequeño
	60,67				
	60,33				
5	49,55	48,81	8,00	No	Un pelete muy pequeño
	48,57				
	48,32				

5

Ejemplo 4 de referencia



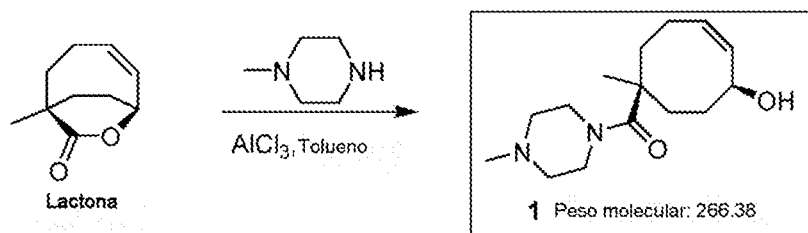
10 N-Metilpiperaziniletil-TCO-doxorrubicina

La N-metilpiperaziniletil-TCO-doxorrubicina se puede preparar usando los métodos anteriores. El espectro ^1H RMN del Ejemplo 4 se muestra en la FIG. 27.

15 Los ciclooctenos sustituidos se pueden preparar adicionalmente según los siguientes esquemas y procedimientos. Los cis-ciclooctenos se pueden isomerizar a trans-ciclooctenos usando métodos conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, UV, calor).

Ejemplo 5 de referencia

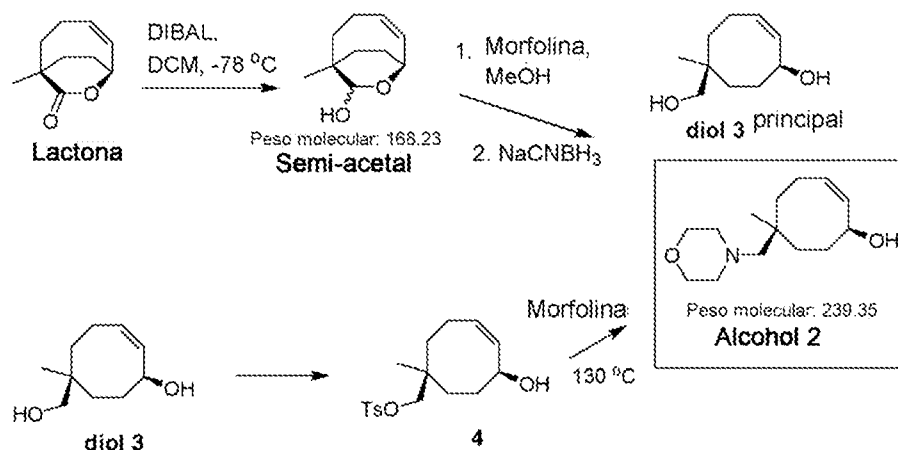
20



25 A una disolución del material de partida lactona (1,5 g) y 1-metilpiperazina (3 ml) en tolueno (10 ml) se añadió AlCl_3 (2 eq, 2,5 g) a 0 °C con agitación vigorosa en tres porciones. La mezcla se calentó a 110°C durante seis horas en una atmósfera de argón. LC/MS indicó una reacción completa. La disolución de reacción se enfrió hasta ta. Se añadieron agua (5 ml) y MeOH (50 ml) para disolver el sólido de alquitrán negro. La disolución resultante

se mezcló con gel de sílice, y se concentró hasta sequedad. El polvo de gel de sílice se cargó en una columna de gel de sílice, y la columna se eluyó con agua en MeCN del 10 % al 20 %. Las colecciones se agruparon y se concentraron. El residuo se disolvió en 10 % de MeOH en DCM y se filtró sobre gel de sílice. El filtrado se concentró, y se disolvió nuevamente en 10 % de MeOH en DCM para eliminar el AlCl_3 . Se obtuvo el producto 1 (1 g) en forma de un sólido marrón. La RMN muestra que el producto no era puro.

Ejemplo 6 de referencia



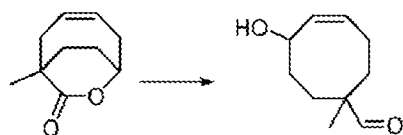
A una disolución agitada de lactona 1 (1,3 g) en CDM (30 ml) se añadió DIBAL (3 eq, 23,5 ml, 1 M en tolueno) gota a gota a -78 °C en nitrógeno. Después de una hora, se añadieron otros 23,5 ml de DIBAL. La reacción se realizó en cuatro horas, y se inactivó con agua a -78 °C y se diluyó con 50 ml de DCM. La disolución resultante se lavó con HCl al 10 % y salmuera (1:1), NaHCO_3 sat., y después salmuera, se secó con MgSO_4 , se filtró, y se concentró. El residuo se coevaporó con tolueno y se llevó a la siguiente reacción.

A una disolución de semiacetal bruto obtenido anteriormente en MeOH (30 ml) se añadió morfolina (3 eq, 2 ml). La disolución resultante se agitó a ta durante una hora, se calentó a 60 °C durante tres horas, y después se enfrió a ta. A la disolución de reacción, se añadió lentamente a temperatura ambiente, en nitrógeno, una disolución de NaCNBH_3 (4 eq, alrededor de 2 g) en MeOH (10 ml). La disolución de reacción se agitó a ta durante la noche. Después de FCC (EtOAc en Hex 1:1 hasta 2:1 + TEA al 1 %), el diol 3 se obtuvo como producto principal (1 g), y se aisló el producto deseado (220 mg). El espectro ^1H RMN de diol 3 se muestra en la FIG. 28.

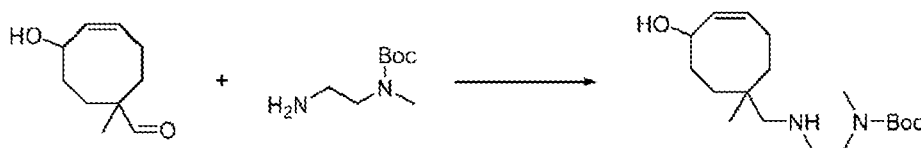
El diol 3 (500 mg) se trató con TsCl (1,2 eq) en DCM/Pyr a ta durante la noche y a 50 °C durante 5 h. Se eliminó el disolvente, y el residuo se purificó con FCC. Se obtuvo el producto de alcohol primario tosilado 4 (510 mg). Se registraron LC/MS y NMR, como se muestra en la FIG. 29.

El compuesto 4 se calentó con morfolina a 130 °C durante un día, y se convirtió en alcohol 2. TLC y LC/MS mostraron una reacción desordenada, pero el producto deseado, Alcohol 2, fue el principal. El espectro ^1H RMN del alcohol 2 se muestra en la FIG. 30.

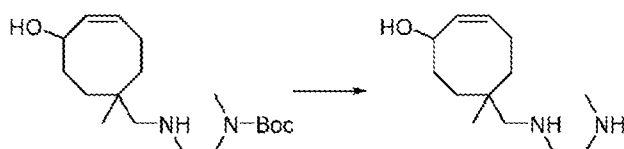
Ejemplo 7 de referencia



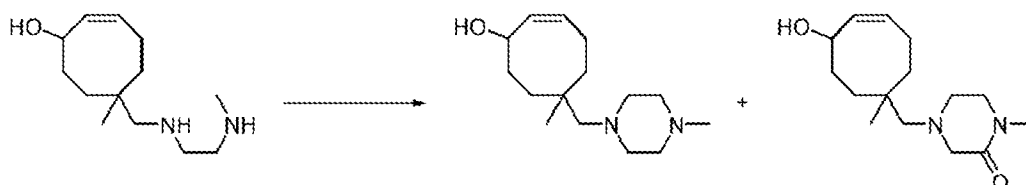
(Z)-6-hidroxi-1-metilciclooct-4-eno-1-carbaldehído. A una disolución del material de partida de 1,3 g (7,82 mmol) en 13 ml de THF a -78 °C se añadió una disolución 1 M de DIBAL-H (7,43 ml, 7,43 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 15 min a -78 °C, y se inactivó mediante adición de una disolución acuosa de HCl 1 M antes de calentarla hasta temperatura ambiente. Las capas se separaron, y la fase acuosa se lavó con EtOAc (3 x 25 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró, y se concentró a presión reducida. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando EtOAc /Hexano. (0,89 g, rendimiento 67,6 %).



(Z)-2-(((6-hidroxi-1-metilciclooct-4-en-1-il)metil)amino)etil)(metil)carbamato de terc-butilo. A una disolución de 1,1 g (6,54 mmol) del material de partida en 5,5 ml de DCM se añadieron 0,393 g (6,54 mmol) de ácido acético y 1,14 g (6,54 mmol) de N-Boc-N-metiletilendiamina. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Después, se añadieron 2,77 g (13,1 mmol) de triacetoxiborohidruro sódico a la mezcla de reacción, y se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. La reacción se inactivó y se vertió en una disolución saturada de bicarbonato de sodio, y el pH de la fase acuosa se ajustó hasta 8~9 antes de extraer con cloroformo (3*25 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se eliminó a vacío, y se llevó a la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional. (2,09 g, rendimiento 97,9 %) LCMS (+esi): calc. M+H+=327,3; Encontrado 327,4.

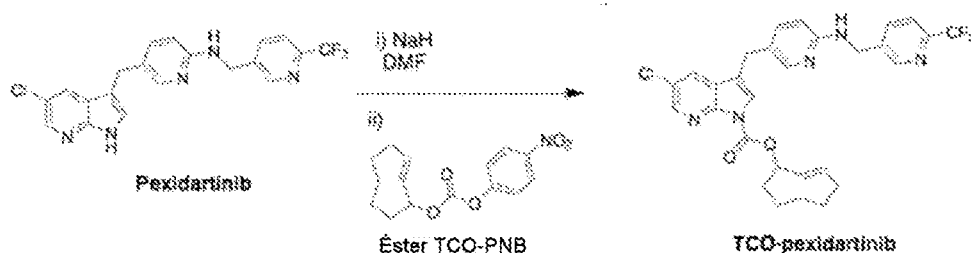


(Z)-6-metil-6-(((2-(metilamino)etil)amino)metil)ciclooct-2-en-1-ol. El material de partida se disolvió en 40 ml de una mezcla de ácido fórmico/agua (80/20), y se agitó a temperatura ambiente durante la noche hasta que se completó la reacción. Después, el ácido fórmico se eliminó a presión reducida. La fase acuosa se basificó con una disolución de NaOH 1 M, y se extrajo con cloroformo/alcohol isopropílico (3/1). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se eliminó a vacío, y se llevó a la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional. (1,47 g, rendimiento del 96,4 %) LCMS (+esi): calc. M+H+=227,2; Encontrado 227,2.



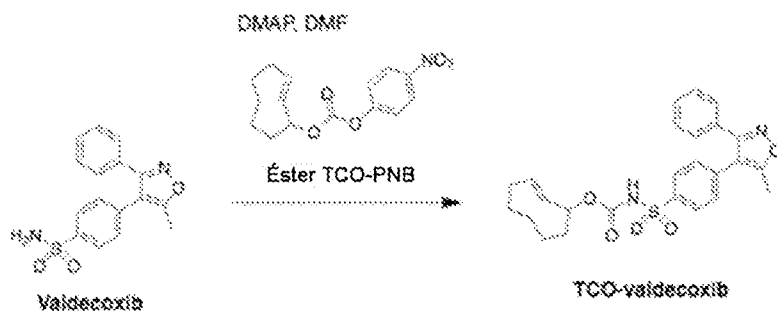
(Z)-6-metil-6-(((4-metilpiperazin-1-il)metil)ciclooct-2-en-1-ol. A una disolución de 1,66 g (7,33 mmol) de material de partida y 0,44 g (7,33 mmol) de ácido acético en 50 ml de DCM se añadieron 1,06 g de disolución acuosa de glicoxal al 40 % (7,33 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos antes de añadir 4,66 g (22,0 mmol) de triacetoxiborohidruro sódico. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La reacción se inactivó y se vertió en una disolución saturada de bicarbonato de sodio, y el pH de la fase acuosa se ajustó hasta 8 ~ 9 antes de extraer con cloroformo/alcohol isopropílico (3/1) (3*40 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y se concentró a presión reducida. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando DCM/MeOH:DCM (20:80). (0,385 g, rendimiento del 20,8 %) LCMS (+esi): calc. M+H+=253,2; Encontrado 253,3. ¹H RMN (400MHz, DMSO-d₆) δ = 5,51 - 5,39 (m, 1H), 5,23 (m, J=5,7, 11,9 Hz, 1H), 4,78 (m, J=5,4, 10,3 Hz, 1H), 3,75 - 3,41 (a, 1H), 2,44 (s a, 4H), 2,32 (s a, 4H), 2,16 (s, 3H), 2,05 (a d, J=13,9 Hz, 2H), 1,94 - 1,81 (m, 2H), 1,57 - 1,07 (m, 6H), 0,86 (s, 3H). ¹³C RMN (100MHz, DMSO-d₆) δ = 134,08, 128,61, 68,95, 66,54, 55,85, 55,51, 46,04, 39,45, 35,18, 34,50, 31,31, 25,87, 23,45. Obtuvo el subproducto (Z)-4-((6-hidroxi-1-metilciclooct-4-en-1-il)metil)-1-metilpiperazin-2-ona. (0,85g) LCMS (+esi): calc. M+H+=266,2; Encontrado 267,1.

Ejemplo 8 de referencia



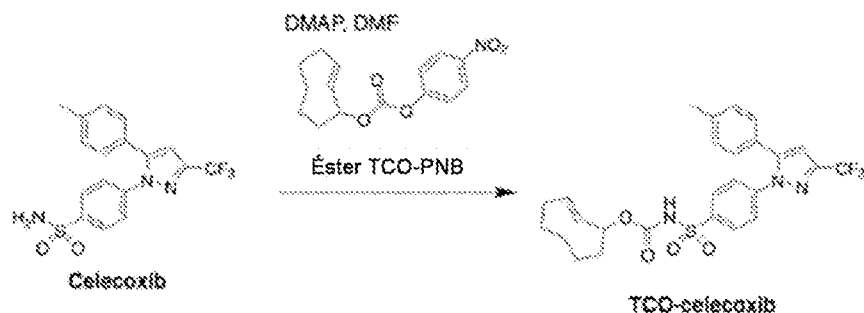
Procedimiento general para la preparación de TCO-pexidartinib A una disolución de Pexidartinib (PLX3397) (373 mg, 0,89 mmol) en DMF (4,0 ml) a 0 °C se añadió hidruro de sodio (aprox. 60 %, 39 mg, aproxi. 0,96 mmol); y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 1 h antes de añadir éster de TCO-PNB (200 mg, 0,68 mmol). La mezcla resultante se agitó a ta durante la noche, y se evaporó a vacío. La mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), y se evaporaron a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con diclorometano seguido de MeOH-CH₂Cl₂ (0-5 %) para dar TCO-pexidartinib (145 mg, 37 %). LC-MS: 571 [M+H]⁺ ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,72 (s, 1 H), 8,41 (s, 1 H), 8,05 (s, 1 H), 7,85 (d, J = 6,9 Hz, 1 H), 7,66 (s, 1 H), 7,62 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,56 (s, 1 H), 7,29 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 6,37 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 6,15 (m, 1 H), 5,74 (s, 1 H), 5,60 (d, J = 6,0 Hz, 1 H), 4,88 (t, J = 6,0 Hz, 1 H), 4,67 (d, J = 6,0 Hz, 2 H), 3,87 (s, 1 H), 2,50 (m 1 H), 2,30 (m, 1 H), 2,10-0,80 (m, 8 H).

Ejemplo 9 de referencia



Procedimiento General para la Preparación de TCO-valdecoxib. A una disolución de Valdecoxib (157 mg, 0,5 mmol) en DMF (4 ml) se añadió éster de TCO-PNB (129 mg, 0,44 mmol) y DMAP (106 mg, 0,88 mmol). La mezcla se agitó a ta durante 40 h, y se diluyó con acetato de etilo (100 ml), se lavó con salmuera (40 ml), se secó sobre sulfato de sodio, y se evaporó a vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con DCM seguido de MeOH-DCM (5 %) para dar el compuesto TCO-valdecoxib (201 mg, 97%) como sólido blanco. LC-MS: 467 [M+H]⁺. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,03 (d, J = 8,7 Hz, 2 H), 7,65 (m, 1 H), 7,43-7,32 (m, 7 H), 5,73 (m, 1 H), 5,64 (d, J = 16,5 Hz, 1 H), 5,33 (s, 1 H), 2,50 (s, 3 H), 2,43 (m, 1 H), 2,09-0,77 (m, 9 H).

Ejemplo 10 de referencia

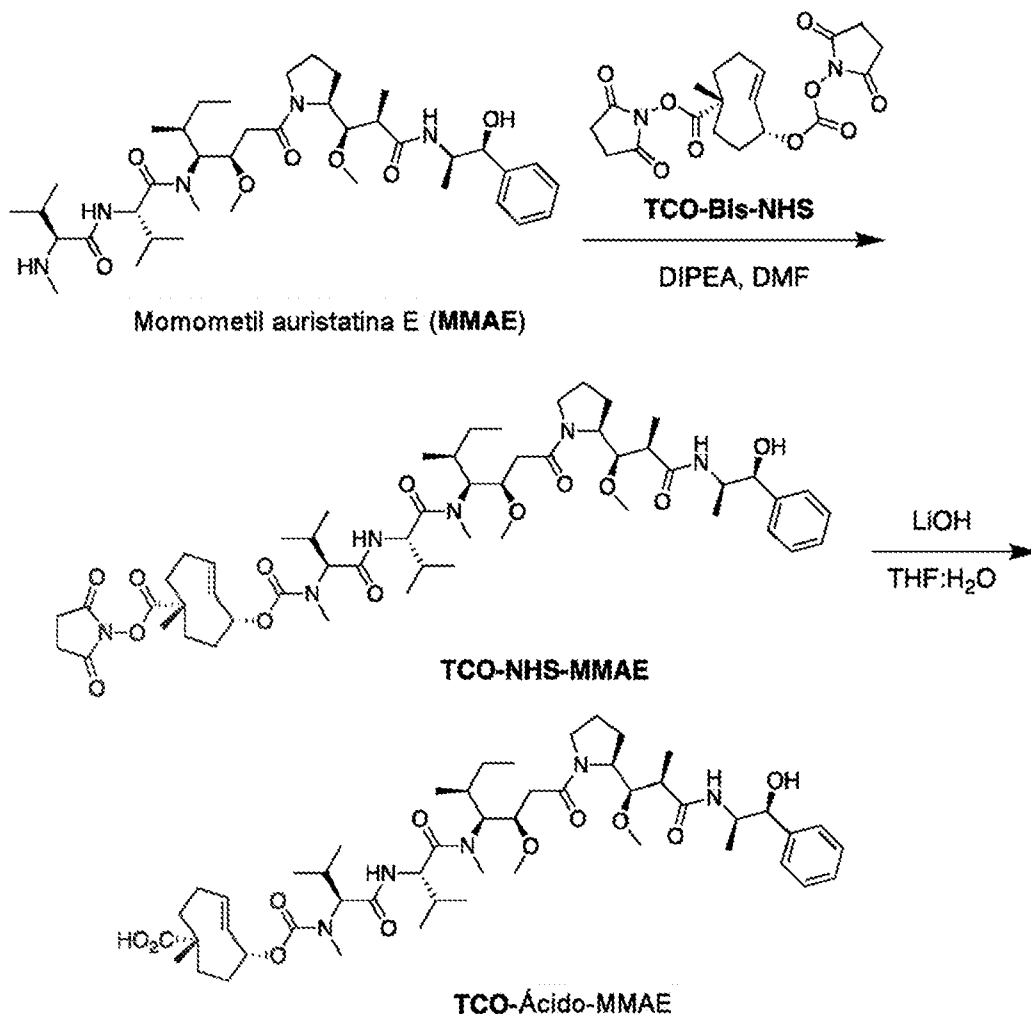


Procedimiento General para la Preparación de TCO-celecoxib. A una disolución de Celecoxib (141 mg, 0,37 mmol) en DMF (4 ml) se añadió éster de TCO-PNB (100 mg, 0,34 mmol) y DMAP (106 mg, 0,88 mmol). La mezcla se agitó durante 40 h y se diluyó con acetato de etilo (100 ml), y se lavó con agua (30 ml) y salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró a vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con metanol (5 %) en DCM para proporcionar el producto TCO-celecoxib (162 mg, 88 %). LC-MS: 534 [M+H]⁺

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,01 (d, J = 8,7 Hz, 2 H), 7,60 (a, 1 H), 7,50 (d, J = 8,7 Hz, 2 H), 7,18 (d, J = 8,1 Hz, 2 H), 7,14 (d, J = 8,1 Hz, 2 H), 6,74 (s, 1 H), 5,69 (m, 1 H), 5,45 (d, J = 12,0 Hz, 1 H), 5,30 (s, 1 H), 2,44 (m, 1 H), 2,38 (s 3H), 2,03-0,76 (m, 9 H).

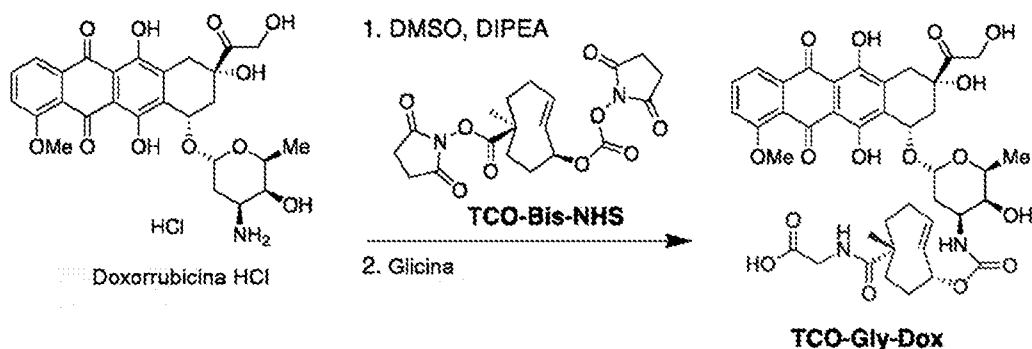
Ejemplo 11

Síntesis del conjugado TCO-monometil auristatina E (TCO-MMAE)



Preparación del conjugado TCO-MMAE. A monometil auristatina E (170 mg, 0,24 mmol) en DMF (2 ml) a ta, se añadieron TCO-Bis-NHS (100 mg, 0,24 mmol) y DIPEA (93 mg, 0,72 mmol). La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 20 h, se añadió acetonitrilo (ACN, 8 ml), y la mezcla se purificó mediante prep-HPLC (ACN/agua de 0 hasta 100 %, ácido fórmico al 0,1 %) para dar TCO-NHS-MMAE. (88 mg, 36 %). A TCO-NHS-MMAE (78 mg, 0,076 mmol) en THF (2 ml) y H₂O (2 ml) a ta se añadió LiOH (9,2 mg, 0,38 mmol). La disolución se agitó a ta durante 20 h. Después de eliminar el disolvente, se añadió HCl (ac, 0,5 N) a pH-3. La mezcla se purificó mediante HPLC preparativa (ACN/agua de 0 hasta 100 %, ácido fórmico al 0,1 %) para dar TCO-Ácido-MMAE (54 mg, 76 %, dos isómeros). LCMS: (ESI+) 928 [M+H].

Ejemplo 12

Síntesis del conjugado de *trans*-cicloocteno (TCO)-glicina-doxorrubicina

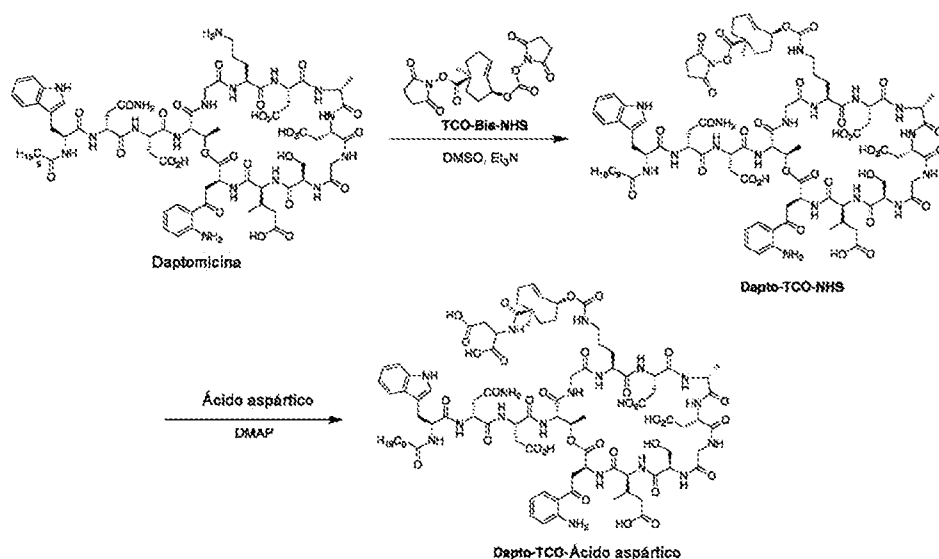
Preparación del conjugado TCO-glicina-doxorrubicina. A una disolución de hidrocloreto de doxorubicina (100 mg) en 1 ml de DMSO, se añadió TCO-Bis-NHS (75 mg). Se añadió DIPEA (148 μ l) mediante inyección. La mezcla se agitó durante la noche, y después se añadió glicina (51 mg) a la reacción en una porción, y la reacción se agitó durante 24 h. La mezcla se diluyó con 2 ml de H₂O y se purificó por HPLC para producir TCO-Gly-Dox. MS: (ESI+) 833 [M+Na].

Ejemplo 13

Conjugados Antibiótico-TCO

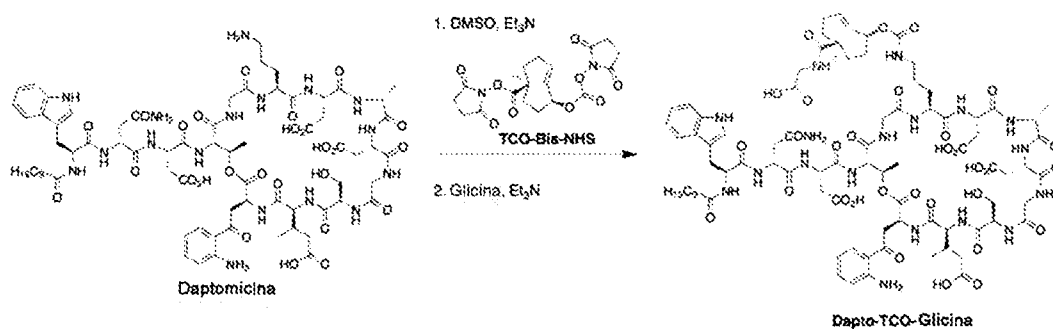
Ejemplo 13A

Síntesis de Dapto-TCO-Aminoácidos



Protocolo de ejemplo: Añada daptomicina (100 mg, 0,062 mmol), TCO-Bis-NHS (62,5 mg, 0,149 mmol) y trietilamina (62,5 μ l, 45,3 mg, 0,448 mmol) a DMSO, y agite a TA durante la noche para producir Dapto-TCO-NHS. LCMS: (ESI-) 1926,8 [MH]. A Dapto-TCO-NHS (126,1 mg, 0,0654 mmol), añada ácido aspártico (104,5 mg, 0,785 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (150,9 mg, 1,235 mmol), y agite durante 18 h a 37 °C. Purifique mediante HPLC para obtener Dapto-TCO-Ácido aspártico. Rendimiento: 100 mg, 0,0514 mmol. LCMS: (ESI-) 1944,8 [MH].

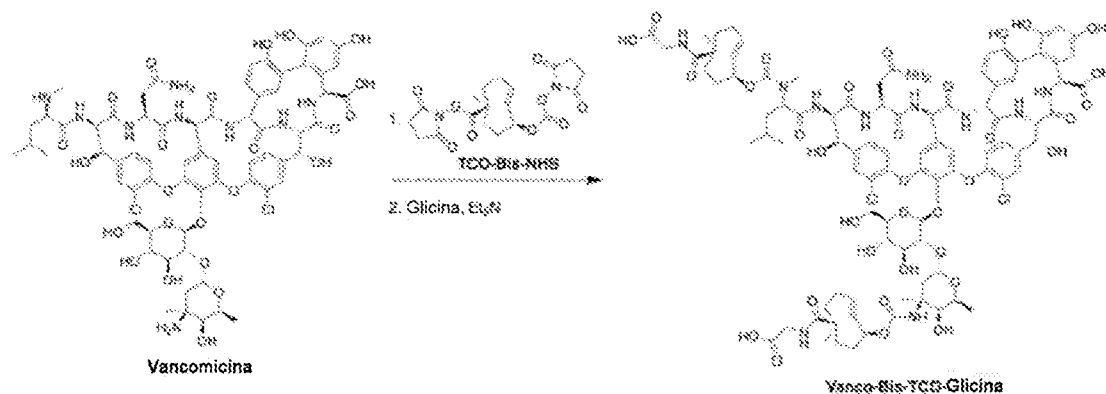
Este enfoque se ha usado para producir profármacos de TCO modificados con glicina y ácido aspártico, y generalmente también se puede aplicar para la incorporación de otras cargas de aminoácidos.

Ejemplo 13B**Conjugado daptomicina-TCO-glicina**

Daptomicina (537 mg, 0,33 mmol), TCO-Bis-NHS (350 mg, 0,83 mmol) y trietilamina (0,350 ml, 2,51 mmol) en DMSO (11 ml). Agite a TA durante la noche. Después, caliente hasta 37 °C. Añada glicina (300 mg, 4,00 mmol) y trietilamina (1,8 ml, 13 mmol), y agite durante 18 h. Añada 8 ml de agua, y purifique mediante HPLC. Rendimiento: Dapto-TCO-Glicina: 373 mg, 0,20 mmol, 59,6 %.

La solubilidad acuosa para el Ejemplo 13B se muestra en la siguiente tabla en diferentes condiciones de amortiguador.

Amortiguador	Ejemplo 13B			
	Solubilidad, mg/ml		pH final	Inspección visual
	Valor	Media		
Agua	0,15	0,15	3,4	Turbio
	0,14			
	0,15			
Amortiguador de fosfato pH 6,5	10,8	10,9	6,1	Transparente
	10,9			
	10,9			
Amortiguador de fosfato pH 7,5	38,1	38,3	5,4	Transparente
	38,3			
	38,3			

Ejemplo 13C**Conjugado Vanco-Bis-TCO-glicina**

El Ejemplo 13C se puede sintetizar usando un protocolo análogo al Ejemplo 13B. Vanco-Bis-TCO-Glicina probado hasta 64 µg/ml (32 µM) no muestra actividad contra bacterias según se mide por microcalorimetría, lo que indica la desactivación del fármaco después de la modificación.

Las condiciones generales de purificación por HPLC para conjugados TCO-aminoácidos son las siguientes:
Columna: Higgins Cat# PS-253C-C185, 250 × 30mm, Phalanx C18 5µm

Disolvente A: agua (0,1 % de ácido fórmico)

Disolvente B: acetonitrilo (0,1 % de ácido fórmico)

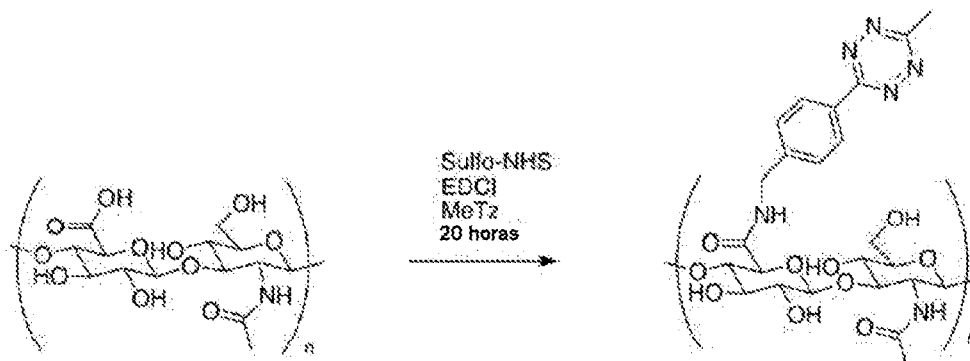
Min	%B
0,01	10
2,00	10
3,00	30
30,00	90
31,00	10
34,00	10

Ejemplo 14 (ejemplo profético)

Síntesis de profármaco usando TCO modificado con otros grupos solubilizantes. Otros profármacos con grupos solubilizantes carboxilo a los que se puede acceder usando la química anterior se muestran en la FIG. 7. La presencia de múltiples restos de ácido carboxílico hidrófilos debería mejorar la solubilidad acuosa, y se espera que la incorporación de grandes perturbaciones estructurales atenúe la actividad. Tras la activación del profármaco usando TAG, los grupos carboxilato deben separarse, restaurando así la actividad antibiótica de la daptomicina.

Ejemplo 15

Tetrazina modificada con ácido hialurónico



A 5 ml de amortiguador MES (MES 0,1 M, NaCl 0,3 M, pH = 6,5) se añadieron 0,0500 gramos de hialuronato de sodio (200 kDa), y se agitó hasta que se disolvió (4 horas). A esto se añadió N-hidroxisulfosuccinimida (23,3 mg, 0,107 mmol), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (42,0 mg, 0,219 mmol), e hidrocloreto de (4-(6-metil-1,2,4,5-tetrazin-3-il)fenil)metanamina (15,9 mg, 0,066 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 20 horas en ausencia de luz, tras lo cual se inactivó con hidroxilamina (66,2 mg, 0,953 mmol). El producto de ácido hialurónico se purificó en ausencia de luz frente a agua desionizada que contenía una concentración de sal decreciente (NaCl, 0,13 M- 0,0 M) durante 5 días. El producto de ácido hialurónico se filtró (0,22 µm) y se liofilizó durante 5 días.

A 5 ml de amortiguador MES (MES 0,1 M, NaCl 0,3 M, pH = 6,5) se añadieron 0,0500 gramos de hialuronato de sodio (100 kDa), y se agitó hasta que se disolvió (4 horas). A esto se añadió N-hidroxisulfosuccinimida (40,6 mg, 0,19 mmol), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (72,1 mg, 0,38 mmol), e hidrocloreto de (4-(6-metil-1,2,4,5-tetrazin-3-il)fenil)metanamina (28,4 mg, 0,12 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 20 horas en ausencia de luz, tras lo cual se inactivó con hidroxilamina (117,1 mg, 1,69 mmol). El producto de ácido hialurónico se purificó en ausencia de luz frente a agua desionizada que contenía una concentración de sal decreciente (NaCl, 0,13 M- 0,0 M) durante 5 días. El producto de ácido hialurónico se filtró (0,22 µm) y se liofilizó durante 5 días.

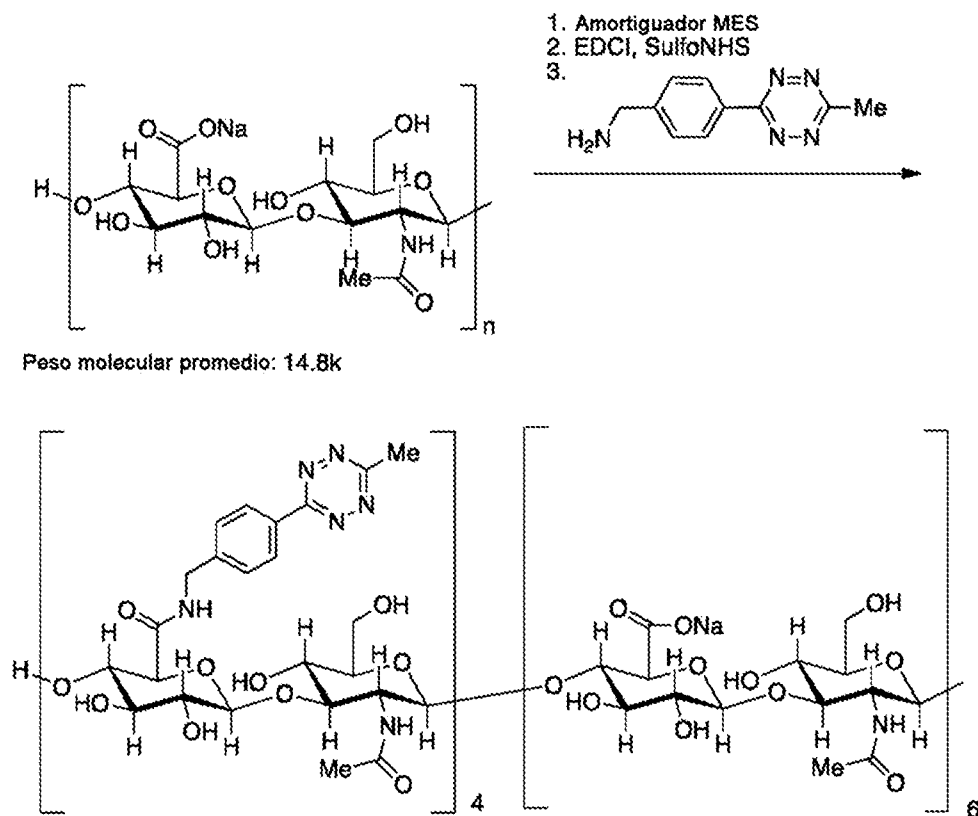
A 5 ml de amortiguador MES (MES 0,1 M, NaCl 0,3 M, pH = 6,5) se añadieron 0,0500 gramos de hialuronato de sodio (60 kDa), y se agitó hasta que se disolvió (4 horas). A esto se añadió N-hidroxisulfosuccinimida (58,2 mg, 0,27 mmol), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (103,9 mg, 0,54 mmol), e hidrocloreto de (4-(6-metil-1,2,4,5-tetrazin-3-

il)fenil)metanamina (40,4 mg, 0,17 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 20 horas en ausencia de luz, tras lo cual se inactivó con hidroxilamina (165,7 mg, 2,38 mmol). El producto de ácido hialurónico se purificó en ausencia de luz frente a agua desionizada que contenía una concentración de sal decreciente (NaCl, 0,13 M- 0,0 M) durante 5 días. El producto de ácido hialurónico se filtró (0,22 µm) y se liofilizó durante 5 días.

A 5 ml de amortiguador MES (MES 0,1 M, NaCl 0,3 M, pH = 6,5) se añadieron 0,0500 gramos de hialuronato de sodio (5 kDa), y se agitó hasta que se disolvió (4 horas). A esto se añadió N-hidroxisulfosuccinimida (145,9 mg, 0,670 mmol), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (257,3 mg, 1,34 mmol), e hidrocloreto de (4-(6-metil-1,2,4,5-tetrazin-3-il)fenil)metanamina (100,3 mg, 0,42 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 20 horas en ausencia de luz, tras lo cual se inactivó con hidroxilamina (413,4 mg, 5,95 mmol). El producto de ácido hialurónico se purificó en ausencia de luz frente a agua desionizada que contenía una concentración de sal decreciente (NaCl, 0,13 M- 0,0 M) durante 5 días. El producto de ácido hialurónico se filtró (0,22 µm) y se liofilizó durante 5 días.

Ejemplo 16

Tetrazina modificada con ácido hialurónico



A 5 ml de amortiguador MES (MES 0,1 M, NaCl 0,3 M, pH = 4,5) se añadieron 0,5000 gramos de hialuronato de sodio (14,8 kDa), y se agitó hasta que se disolvió. A esto se añadió N-hidroxisulfosuccinimida (14,2 mg, 0,0625 mmoles), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (125, 7 mg, 0,625 mmol), e hidrocloreto de (4-(6-metil-1,2,4,5-tetrazin-3-il)fenil)metanamina (151,2 mg, 0,625 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas en ausencia de luz, después de lo cual se diluyó hasta 1 % (p/p) y se filtró a través de un filtro de 0,45 µm. El producto de ácido hialurónico se purificó entonces mediante filtración de flujo tangencial (TFF), antes de la filtración estéril final (0,22 µm), y se liofilizó durante 3 días. Mediante análisis elemental, la incorporación de tetrazina al material de partida de hialuronato de sodio es del 40 %.

Ejemplo 17

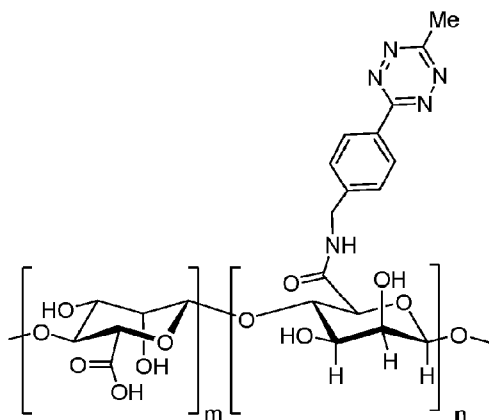
Ácido hialurónico modificado con tetrazina y Cianina 5

A 5 ml de amortiguador MES (MES 0,1 M, NaCl 0,3 M, pH = 6,5) se añadieron 0,0500 gramos de hialuronato de sodio (5 kDa), y se agitó hasta que se disolvió (4 horas). A esto se añadió N-hidroxisulfosuccinimida (145,9 mg,

0,670 mmol), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (257,3 mg, 1,34 mmol), hidrocloreto de (4-(6-metil-1,2,4,5-tetrazin-3-il)fenil)metanamina (100,3 mg, 0,42 mmol), y Cianina 5 (6,25 mg, 0,018 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 20 horas en ausencia de luz, tras lo cual se inactivó con hidroxilamina (413,4 mg, 5,95 mmol). El producto de ácido hialurónico se purificó en ausencia de luz frente a agua desionizada que contenía una concentración de sal decreciente (NaCl, 0,13 M - 0,0 M) durante 5 días. El producto de ácido hialurónico se filtró (0,22 µm) y se liofilizó durante 5 días.

Ejemplo 18

Gel de alginato modificado con tetrazina



A 5 ml de amortiguador MES (MES 0,1 M, NaCl 0,3 M, pH = 6,5) se añadieron 50 mg de alginato UP LVG (75-200 kDa), y se agitó hasta que se disolvió (4 horas). A esto se añadió N-hidroxisulfosuccinimida (34,7 mg, 0,16 mmol), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (61,8 mg, 0,32 mmol), e hidrocloreto de (4-(6-metil-1,2,4,5-tetrazin-3-il)fenil)metanamina (24,1 mg, 0,10 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 20 horas en ausencia de luz, tras lo cual se inactivó con hidroxilamina (99,3 g, 1,44 mmol). El producto de alginato se purificó en ausencia de luz frente a agua desionizada que contenía una concentración de sal decreciente (NaCl, 0,13 M - 0,0 M) durante 4 días. El alginato se filtró (0,22 µm) y se liofilizó durante 5 días.

Ejemplo 19

Reacción del gel modificado con tetrazina con (E)-ciclooct-2-enol

Para determinar la concentración de tetrazina disponible en el hidrogel, se realiza una titulación con (E)-ciclooct-2-enol (TCO*A-OH) y se mide mediante espectroscopia UV/VIS. El hidrogel modificado con tetrazina tiene una absorbancia característica de 520 nm, mientras que TCO*A-OH (1,2 - 3,6 mM) y el producto de la reacción tetrazina/TCO*A-OH no tienen absorbancia detectable en el espectro visible. Para realizar la titulación, el hidrogel se disolvió en ddH₂O (0,625 % - 2,5 p/p). Se hicieron reaccionar muestras de gel con volúmenes iguales de concentración creciente de TCO*A-OH (0,6 - 3,6 mM), y se dejaron reaccionar durante 30 minutos. A partir de la intersección con el eje x de la línea de mejor ajuste, se determina la concentración de tetrazina en el gel.

Alginato			Ácido hialurónico		
MWCO					
< 75 kDa (nmoles/100 µl)	75 - 200 kDa (nmoles/100 µl)	> 200 kDa (nmoles/100 µl)	5 kDa (nmoles/100 µl)	100 kDa (nmoles/100 µl)	200 kDa (nmoles/100 µl)
1875,49	1417,06	1050	1776	1034,61	517

Ejemplo 20

Mejora de las propiedades físicas de los profármacos de TCO

Se observó que las modificaciones de TCO de los fármacos tendían a dar como resultado una menor solubilidad en comparación con el compuesto original. Esto fue especialmente evidente para la daptomicina y la doxorubicina. La mala solubilidad acuosa limitó los niveles de dosificación que podrían administrarse de manera factible. La capacidad de administrar la dosis máxima es importante para el sistema de activación local, ya que amplía significativamente el índice terapéutico para permitir una dosificación supratrapéutica debido a la disminución de los efectos secundarios. Para abordar este problema, se adjuntaron grupos químicos

solubilizantes a la porción de TCO. En el caso de TCO-doxorrubicina, la incorporación de un grupo morfolina polar aumentó la solubilidad acuosa más de 70 veces (FIG. 6).

Ejemplo 21

Cuantificando la capacidad de la tecnología para capturar una carga útil

La eficacia de la tecnología de plataforma de "captura y liberación" se demostró en ratones usando rodamina, un fluoróforo, acoplado mediante un carbamato a un resto TCO. El HMT mejora la administración local de un tinte de rodamina después de múltiples dosis durante varios días, como se muestra en la FIG. 3. Tres ratones recibieron 100 μ l de una inyección local en el dorso en el tiempo -2 horas (A = disolución salina, B = 2,5 % HMT, C = 2,5 % alginato). Después, a partir del tiempo 0, los ratones recibieron la misma dosis de TCO-fluoróforo (100 nmoles de rodamina modificada con TCO mediante inyección en la vena de la cola) en el tiempo 0, 2 h, 5 h y 3 días. Después de cada dosis, se tomaron imágenes de los ratones después de 5-10 minutos y de 110-150 minutos. Estas imágenes de muestra confirman que la mayor cantidad de fluorescencia se observa en el dorso del ratón B, y que el efecto es transitorio, lo que sugiere la captura, liberación y difusión del fluoróforo. Después de 5-10 minutos, hubo un gran aumento en la fluorescencia alrededor del sitio de implantación del HMT (Ratón B), mientras que los ratones inyectados con disolución salina (A) o con un gel de alginato no modificado (C) no tuvieron un aumento comparable en la señal. Los datos respaldan que la reacción bioortogonal es capaz de aumentar la concentración local de fluoróforos. Además, la señal de fluorescencia disminuye en dos horas hasta niveles de fondo en todos los casos, lo que respalda la etapa de liberación. Los datos mostrados son imágenes seleccionadas después de cuatro dosis y varios días de implantación, confirman la eficacia de los biomateriales inyectados para capturar pequeñas moléculas modificadas con TCO y liberar su carga en la ubicación elegida, así como la farmacocinética de las pequeñas moléculas para llegar rápidamente al sitio del gel.

Ejemplo 22

Eficacia terapéutica del profármaco de doxorrubicina contra tumores de xenoinjerto *in vivo*

Se sintetizó y probó una forma liberable de doxorrubicina en ratones en los que se cultivaba un xenoinjerto de MCF-7 (línea celular de cáncer de mama humano) o un xenoinjerto de HT1080 (sarcoma de tejido blando humano). En un modelo de cáncer de mama, los ratones (n=4) recibieron dos dosis de doxorrubicina o TCO-doxorrubicina a 5 mg/kg cada tres días en presencia de gel preinyectado en el sitio del xenoinjerto. TCO-doxorrubicina dio como resultado una reducción significativa del tumor ($p < 0,05$) en comparación con el control con vehículo, con menos caquexia. TCO-doxorrubicina dio como resultado una reducción del tumor un 40 % mayor en comparación con la doxorrubicina normal después de dos dosis.

La eficacia terapéutica de la TCO-doxorrubicina contra xenoinjertos HT1080 se resume en la FIG. 4A. Para evaluar la actividad antitumoral del profármaco de doxorrubicina, se realizaron estudios de eficacia con ratones atímicos portadores de xenoinjertos de fibrosarcoma (HT-1080), un tipo de sarcoma de tejidos blandos humano (STS) que se usa a menudo para evaluar nuevas terapias. Se inyectó TAG de alginato mediante palpación inmediatamente al lado de los tumores 18 días después de la implantación inicial, cuando su tamaño alcanzó un promedio de 195 mm³ (intervalo, 90-500 mm³). Hubo dos cohortes de tratamiento: (i) 3 dosis intravenosas de 14 μ moles/kg de doxorrubicina estándar cada 4 días (dosis máxima tolerable), o (ii) dosis diarias de 14 μ moles/kg de profármaco de doxorrubicina durante 10 días. Los volúmenes tumorales se midieron dos veces por semana durante 13 semanas después del inicio de la terapia (FIG. 4A). No se administraron más terapias a los sujetos 28 días después de la implantación tumoral (dpi).

Para ambos grupos terapéuticos, el tamaño mediano del tumor fue indetectable dos semanas después de la última dosis de tratamiento (40 ppp). Treinta días después de la última dosis de tratamiento (60 ppp), el tamaño mediano del tumor de la cohorte de doxorrubicina sistémica fue mayor que a 2000 mm³, y los ratones se sacrificaron poco después. Esto es consistente con estudios previos que evaluaron la doxorrubicina sistémica en HT1080. Por el contrario, el tamaño mediano del tumor de la cohorte de profármaco permaneció indetectable ($P = 0,021$). A 88 dpi, la mitad de los ratones de la cohorte del profármaco se sacrificaron cuando alcanzaron el punto final. La otra mitad de los ratones de la cohorte no mostró ningún signo detectable de tumores, y permaneció así hasta el final del estudio (118 dpi).

Para excluir problemas tales como la activación *in vivo* no específica del profármaco o cambios en el microambiente debido a la colocación de un polímero de alginato, se probaron múltiples controles adicionales. No se observaron diferencias en el volumen del tumor entre ratones no tratados y ratones tratados con (i) inyección local de TAG y administración i.v. de disolución salina, o (ii) inyección local de alginato no modificado y administración de profármaco de doxorrubicina (FIG. 4A). Esto confirma que el profármaco no se convierte espontáneamente en doxorrubicina normal sin la presencia del gel en cantidades clínicamente significativas, o que una característica inherente del profármaco independiente de la reacción bioortogonal es responsable del aumento de la eficacia.

En los experimentos de control, el crecimiento del tumor en presencia de disolución salina y gel TAG o profármaco con un alginato no modificado fue idéntico. Esto sugiere que el profármaco modificado con TCO no tiene una toxicidad inherente que pueda explicar la eficacia observada (FIG. 4A). Los datos respaldan además que el TAG es necesario para lograr una eficacia significativa.

Ejemplo 23

Perfil de efectos secundarios del profármaco doxorubicina *in vivo*

A pesar de tratar ratones con más de tres veces la dosis máxima tolerable de doxorubicina normal a través de nuestro sistema de profármacos, el enfoque bioortogonal dio como resultado sustancialmente menos efectos secundarios con respecto al tratamiento con doxorubicina. La mielosupresión es la principal toxicidad aguda limitante de la dosis de doxorubicina. Una medida estándar para este efecto secundario es el recuento de reticulocitos, basado en precursores de glóbulos rojos de vida corta que se cuantifican fácilmente. El punto más bajo de los reticulocitos después de la doxorubicina sistémica ocurre 3 días después del final de la terapia. La cohorte tratada con doxorubicina sistémica mostró una disminución drástica en los reticulocitos ($P = 0,007$) (FIG. 4B). Por el contrario, la cohorte tratada con profármaco de doxorubicina mostró recuentos de reticulocitos similares a los de los ratones tratados con vehículo (Fig. 4B). Además, los ratones tratados con profármaco de doxorubicina no mostraron ningún signo evidente de toxicidad, incluyendo pérdida de peso o cambios en la textura del pelaje, mientras que la cohorte de doxorubicina normal perdió alrededor de 20 % del peso corporal (FIG. 4C).

La seguridad de las versiones del profármaco TCO está respaldada por datos de un estudio piloto con un solo animal ($n=1$), que demostró que el profármaco de doxorubicina es al menos 18 veces menos tóxico que la doxorubicina en un modelo canino mediante la extrapolación de la toxicidad aguda de ciclo único, y casi seis veces menos tóxico que un conjugado de péptido de doxorubicina (Nat. Med., 2000, 1248-1252). (FIG. 37 y 38). En este estudio, un perro tratado con 4 dosis de doxorubicina (dosis individuales de $1,74 \mu\text{mol/kg}$) durante 60 días experimentó una pérdida de peso corporal del 3,5 %. Dos meses después del ciclo final de doxorubicina, al mismo animal se le administraron 3 dosis de TCO-doxorubicina (dosis individuales de $10,1 \mu\text{mol/kg}$) durante un ciclo de tratamiento muy acortado de 6 días, lo que dio como resultado un aumento de peso corporal de hasta 3,6 % (FIG. 39). Además, mientras que la doxorubicina indujo una caída significativa en los niveles de neutrófilos, durante el transcurso del tratamiento no se observaron signos de neutropenia con TCO-doxorubicina (FIG. 39). Estos estudios destacan la seguridad de la versión del profármaco de TCO sobre la quimioterapia normal.

En el estudio con perros, el tratamiento con TCO-doxorubicina provocó aumentos en los leucocitos, linfocitos, monocitos, y eosinófilos, indicativos de una activación inmune aguda (FIG. 40).

Ejemplo 24

Farmacocinética preliminar y biodegradación de gel

Se realizaron estudios preliminares de estabilidad plasmática *in vitro* de la prodoxorubicina, para ayudar a establecer su estabilidad farmacocinética preliminar en plasma de ratones y humano. El profármaco tiene una vida media en plasma de 6,8 horas en seres humanos y 19,3 horas en ratones. Estos datos determinan la estabilidad del profármaco y su idoneidad para estudios posteriores. Se sintetizó un hidrogel modificado con tetrazina y el fluoróforo cianina 5. A partir de una curva patrón para cianina 5 (absorbancia a $\lambda = 646 \text{ nm}$), se determinó que la concentración de cianina 5 era $0,732 \text{ nmoles/mg}$ ($n=1$). Esta concentración es suficiente para poder detectar el gel a través de imágenes fluorescentes durante más de dos semanas después de la inyección *in vivo* (FIG. 2), asegurando que el gel no viaje por todo el cuerpo causando efectos secundarios sistémicos.

Ejemplo 25

Determinar la concentración inhibidora mínima (MIC) de TAG y profármacos de TCO

Se pueden establecer evaluaciones de MIC *in vitro* para cada compuesto profármaco de TCO, así como para vancomicina y daptomicina, usando métodos estándar. Brevemente, se pueden crear diluciones en serie de los agentes antibióticos con TAG o gel de control en ddH_2O y dejar que se mezclen durante 4 horas. Después, se puede añadir a la mezcla MSSA o MRSA aeruginosa luminiscente en caldo. Las placas pueden colocarse en la incubadora durante la noche y dejarse crecer ($n=4$ para cada combinación de profármaco/bacteria). La luminiscencia se puede medir con un generador de imágenes IVIS y reportarla en radiancia. Estos datos se pueden usar para determinar las curvas de inhibición.

Ejemplo 26**Liberando una carga útil terapéutica contra bacterias**

Para demostrar la aplicabilidad para tratar infecciones bacterianas, se sintetizó una forma liberable del antibiótico vancomicina y se probó su capacidad para erradicar *S. aureus* luminiscente sensible a meticilina (MSSA). El TAG de alginato y una TCO-vancomicina liberable tuvieron una concentración inhibitoria mínima (MIC) similar a TAG + vancomicina normal (2,0 frente a 0,5 nmoles/ml), mientras que 2,0 nmoles de TCO-vancomicina combinados con gel de alginato normal no inhibieron el crecimiento bacteriano (FIG. 9A-9B). El mecanismo puede ser que la vancomicina se libera una vez que la TCO-vancomicina reacciona con el TAG. El antibiótico liberado inhibe el crecimiento bacteriano de forma análoga a la vancomicina, sin impacto sobre el mecanismo de acción del antibiótico. Estas tendencias de MIC se corroboran mediante microcalorimetría isotérmica, en la que la combinación de TAG y TCO-vancomicina eliminó la actividad bacteriana observable, mientras que el alginato de control mostró un efecto muy reducido (FIG. 9C). Estos resultados establecen una prueba de concepto de que el sistema TAG y profármaco de antibiótico es un medio eficaz para exterminar bacterias.

Ejemplo 27**Modificación del hidrogel de alginato con análogos de tetrazina**

El hidrogel de alginato se modificó como se muestra en la FIG. 12 con diversas tetrazinas. Se adquirió de ProNova BioPharma un alginato de sodio MVG, H, de viscosidad media (>200 mPa s) ultrapuro, con un mínimo de 60 % de unidades de monómero de guluronato. Las tres tetrazinas se conjugaron con H, como se muestra en la FIG. 12, para formar una serie de hidrogeles modificados con tetrazina, HMT 1, 2 y 3. Las tetrazinas 2 y 3 reaccionaron eficientemente pero tuvieron una estabilidad fisiológica subóptima. Por lo tanto, se escogieron tetrazina 1 y el HMT 1 resultante para el resto de los estudios preliminares, debido a su combinación óptima de estabilidad más reactividad. Según análisis ^1H RMN, mostrado en la figura 16A, se determinó que, HMT 1 contiene alrededor de 400 nmoles de 1 por miligramo del material. La reacción que se muestra en la FIG. 12 también se llevó a cabo usando una mezcla 95:5 de tinte HMT 1 y Cy5,5-monoamina para preparar HMT 1 marcado fluorescentemente para los estudios in vivo descritos en la FIG. 16. Para caracterizar la estabilidad y función del hidrogel, se preparó una serie de compuestos modificados con TCO, mostrados en la FIG. 13. Dos antibióticos clínicamente probados, la vancomicina y daptomicina, se modificaron con un TCO liberable (Vanco-R-TCO, 4 y Dapto-R-TCO, 5). Tintes fluorescentes modificados: también se sintetizaron rodamina, con un TCO liberable (Rh-R-TCO, 6) y fluoresceína con un TCO no liberable (FL-NR-TCO, 7).

Ejemplo 28**Evaluación in vitro de la liberación de antibióticos**

Para probar la liberación de antibióticos in vitro, se colocó HMT 1 dentro de columnas de centrifugación, y se trató con una disolución de PBS de 4 o 5. Después de 2 h de incubación a 37 °C, el sobrenadante se recogió mediante centrifugación. Los hidrogeles se trataron con PBS nuevo a intervalos de tiempo regulares. Los sobrenadantes recogidos se analizaron mediante LC-MS (ESI). Los espectros de LC-MS (FIG. 14B) muestran que HMT 1 inmovilizó eficazmente 4 y 5 después de 2 horas de incubación. La vancomicina y daptomicina activadas se liberaron durante un período de 2 días, con una liberación total de alrededor del 65 % para la primera y 43% y para la segunda. En un experimento separado, se confirmó que la capacidad de HMT 1 para capturar el profármaco 4 y 5 no disminuyó después de una incubación de 7 días en FBS o lisado celular.

Ejemplo 29**Estabilidad funcional de HMT 1 en PBS**

La estabilidad funcional de HMT 1 en PBS se probó usando FL-NR-TCO no liberable (FIG. 13), como se ilustra esquemáticamente en la FIG. 15. HMT 1 y gel de alginato de control no modificado, H, se expusieron a FL-NR-TCO, 7, para determinar la cantidad funcional de tetrazinas que permanecen activas después de la incubación en PBS a 37 °C durante diferentes períodos de tiempo (0, 2, 3, 14 días). Se colocaron discos de hidrogel (50 mg) en placas de pocillos con 1 ml de PBS, y se mantuvieron en una incubadora a 37 °C durante todo el experimento. Los hidrogeles se expusieron a 50 nmoles de una disolución de 7 durante 90 minutos en un agitador. El sobrenadante resultante (1 ml) se transfirió a otra placa de pocillos, dejando atrás el hidrogel. La radiancia del sobrenadante en cada placa de pocillos se midió mediante un espectro IVIS. Los datos se promediaron $\pm$ SEM, $n=3$. Los valores de P se determinaron mediante la prueba de la t no apareada. Los datos, mostrados en la FIG. 15, sugieren que más del 70 % de los restos de tetrazina permanecen estables y reactivos después de una incubación de 14 días en PBS a 37 °C.

Ejemplo 30**Administración de antibióticos guiada por materiales contra la infección bacteriana por MRSA**

Una vez confirmado el efecto antibacteriano *in vitro*, se evaluó la tecnología para tratar la infección por *S. aureus* en un modelo de infección de herida profunda en el muslo en ratones. El TAG de alginato modificado con Cy5 aumenta la concentración local de antibióticos en el sitio de la infección. A ratones CD-1 neutropénicos (inducida por ciclofosfamida) (n=3) se les inocularon por vía intramuscular (muslo) TAG o alginato de control modificado con Cy5, mezclados con *Staphylococcus aureus* luminiscente resistente a meticilina (MRSA). A los ratones se les administró por vía intravenosa disolución salina, Vanco-R-TCO (FIG. 13), o vancomicina, 4 horas después. Vanco-R-TCO y vancomicina se administraron cada uno a una dosis de 69 µmol/kg. En la Figura 16 se muestran imágenes *in vivo* de *S. aureus* luminiscente a las 6 y 24 horas después de la inoculación. La carga bacteriana por gramo de tejido se determina mediante cultivo cuantitativo del músculo extirpado del muslo 24 horas después de la inoculación. Prueba de la t no apareada con corrección de Welch, de 2 colas (FIG. 16). Las imágenes *in vivo* de IVIS revelaron que, dentro de las 24 horas, las bacterias eran indetectables después del tratamiento con Vanco-R-TCO o vancomicina. Por otro lado, se observaron bacterias luminiscentes en experimentos de control que implican gel y una inyección de disolución salina o gel y Vanco-R-TCO. Después de 24 horas, la eficacia se cuantificó cultivando muslos de ratón homogeneizados, para medir la carga bacteriana. A pesar de su actividad *in vitro* 4 veces menor, Vanco-R-TCO mostró una eficacia equivalente a la vancomicina normal, un tratamiento estándar para la infección por *S. aureus*. El experimento de control con gel mostró una actividad bactericida significativamente atenuada. Estos resultados demuestran que la tecnología de "captura y liberación" es capaz de activar localmente *in vivo* profármacos de antibióticos, y es un enfoque eficaz para administrar antibióticos a infecciones bacterianas locales. Por último, el gel modificado covalentemente con un tinte Cy5 confirmó que una inyección subcutánea de TAG permanece en el sitio de inyección durante semanas. Estos resultados demuestran que la tecnología es un enfoque eficaz para administrar antibióticos a infecciones bacterianas locales.

Ejemplo 31**Biodistribución - Estudio de articulación de rata - TCO-dapto-glicina con TAG**

El Comité de la Institución de Cuidado y Uso de Animales (IACUC) aprobó para este estudio ratas hembra Sprague-Dawley de entre 6 y 8 semanas de edad. La neutropenia se indujo con ciclofosfamida por vía intraperitoneal, 4 días (150 mg/kg) y 1 día (100 mg/kg) antes de las inyecciones del gel. Los animales recibieron inyecciones intraarticulares de 200 µl de 2,5 % p/v de TAG de alginato modificado con Cy5 (rodilla derecha) o control de gel de alginato no modificado-Cy5 (rodilla izquierda), mezclado con 50 µl de 10⁸ UFC/ml de bacterias *Staphylococcus Aureus* SP231 resistente a meticilina. Después de 2 h, los animales recibieron 61 µM de daptomicina modificada con transcicloocteno-glicina (TCO-Dapto) a través de la vena de la cola IV en un volumen de dosificación estándar. Después de 24 h de inyecciones de gel, las articulaciones de las rodillas se recogieron, se homogeneizaron, y se diluyeron en disolución salina amortiguada con fosfato de Dubelco (D-PBS). La mezcla homogeneizada se sembró en placas de agar tripticasa de soja que contenían 5 % de duplicado de sangre de oveja. Se enumeraron las colonias bacterianas después de 20 h de incubación, y se determinó la carga bacteriana como LOG UFC/g de articulación de rodilla. El análisis estadístico se realizó con la prueba de la t de dos colas de Welch, y * denota p < 0,05. Las barras de error indican el error estándar sobre medias de n=3. La FIG. 17 muestra resultados antibacterianos para la TCO-dapto y el control.

Ejemplo 32**Niveles séricos y tisulares después de TCO-doxorrubicina y doxorrubicina**

El bioanálisis de suero y tejido sugiere que Shasqi Tx (gel modificado con tetrazina inyectado localmente, seguido de profármaco TCO-doxorrubicina inyectado por vía intravenosa) reduce la exposición sistémica a Dox activa como se anticipó. A ratones Balb/C inyectados con gel modificado con tetrazina se les administró TCO-Dox o Dox IV, y se recolectaron suero y órganos 5 minutos después de la infusión, y se analizaron. En suero, la mayor parte de TCO-Dox-Ácido permanece intacta, y la exposición sistémica de Dox activa es menor que la del tratamiento estándar (FIG. 18A). Asimismo, el gel modificado con tetrazina inyectado localmente, seguido del profármaco TCO-doxorrubicina, redujo la cantidad de Dox activada en el corazón y el hígado, pero aumentó la cantidad en el gel, con respecto al tratamiento de control (FIG. 18B). En resumen, estos resultados respaldan la hipótesis de que el gel modificado con tetrazina inyectado localmente, seguido del profármaco TCO-doxorrubicina, mejora la administración del fármaco a un sitio diana, al tiempo que limita la exposición en tejidos fuera de la diana.

Ejemplo 33**Residencia del gel - Ácido hialurónico modificado y alginato**

Se inyectó gel de alginato (Alg; PM = <75 kDa, 75-200 kDa o >200 kDa) y ácido hialurónico (HA; PM = 5 kDa, 60 kDa o 100 kDa), modificado con tetrazina y cianina5, como una disolución al 10 % por vía subcutánea en los flancos de ratones hembra CD-1 de 6-8 semanas de edad (Charles River Laboratories), n=3/grupo. Las imágenes de fluorescencia *in vivo* se realizaron los días 1, 2, 4 y 7, una vez a la semana a partir de entonces.

hasta el día 28, y cada dos semanas a partir de entonces hasta el día 90. Fluorescencia medida mediante cuantificación de la región de interés del sitio de inyección del flanco. Los animales se sacrificaron el día 73 (Alg 75-200 kDa, HA 100 kDa, y HA 60 kDa) o 99 (Alg >200 kDa, Alg <75 kDa, y HA 5 kDa). Se realizaron imágenes de fluorescencia en el hígado, el riñón, los ganglios linfáticos, el bazo y el tejido del sitio de inyección del gel recolectados. Las imágenes de fluorescencia se realizaron con excitación de 640 nm y filtro de emisión de 694 nm (Cy5.5), y la señal se cuantificó como eficiencia radiante $[(p/\text{seg}/\text{cm}^2/\text{sr})/(\mu\text{W}/\text{cm}^2)]$ de la región de interés del sitio de inyección del gel u órgano completo recolectado. Los resultados se muestran en la FIG. 19, 20 y 21.

Ejemplo 34

Estudio de tolerabilidad en ratones NSG

Se usaron cinco animales no portadores de tumores para determinar la MTD para la combinación de gel Shasqi (alginato modificado con tetrazina) y profármaco (TCO-doxorrubicina-ácido) en el ratón NSG-H (NOD.Cg-Prkdcscid Hprt^{em1Mw}/Jl2rgtm1Wjl/M^WWJ, cepa 026222, Jackson Labs). Se registraron el peso previo al tratamiento y la puntuación de acondicionamiento corporal (BCS) de cada animal. Los animales recibieron una dosis de gel Shasqi (100 μ l) por vía subcutánea antes de los tratamientos 1, 2 y 3. Cada dosis se administrará en una parte diferente del cuerpo. Se realizará un aumento de dosis del profármaco (Pro-Doxorrubicina) como se describe a continuación.

Tratamiento 1: 50 mg/kg/día; diario $\times$ 5

Tratamiento 2: 75 mg/kg/día; diario $\times$ 5

Tratamiento 3: 100 mg/kg $\times$ 1; 125 mg/kg $\times$ 1

La BCS se registró diariamente, y el peso corporal cada dos días. Si no se observan signos clínicos de toxicidad después de 5 días de tratamiento diario, la dosis se aumentará al siguiente nivel de dosis. Además de la documentación y la monitorización de los pesos y el BCS antes y después del tratamiento, realizaremos un análisis de hemograma completo (CBC) antes del tratamiento, después de 15 dosis de prodoxorrubicina, y al final del estudio de tolerabilidad.

El control de la toxicidad de los animales tratados incluye una monitorización minuciosa de cualquier signo de angustia, incluidos síntomas neurológicos, disminución de la actividad, pelaje erizado, pérdida de peso, diarrea, y deshidratación. Si se observan tales síntomas, los tratamientos se suspenderán, y sólo se reiniciarán después de la resolución de todos los síntomas. Si los síntomas desaparecen, entonces se volverá a exponer al animal a la misma dosis. Sin embargo, si se vuelven a observar los mismos síntomas, y/o hay una pérdida de peso $\geq$ 10 % con respecto al valor inicial, no se administrarán más dosis, y el nivel de dosis actual se considerará la MTD. Si los animales pierden el 20 % de su peso corporal, o si los signos enumerados anteriormente no desaparecen dentro de las 24 horas, los animales se sacrificarán inmediatamente, y el nivel de dosis actual se considerará la MTD. Si se produce toxicidad que dé como resultado la muerte en cualquier ratón por grupo de tratamiento, se realizó un nuevo estudio de toxicidad del fármaco, evaluando la tolerabilidad del fármaco al 25 % de la dosis original. Si los animales no muestran una pérdida de peso apreciable o una disminución en la BCS, la dosis se volvió a aumentar en incrementos del 25 % cada semana hasta que se determine la dosis máxima tolerada.

Los efectos del TCO-Dox-Ácido sobre el peso corporal se muestran en la FIG. 22. En la FIG. 23 se muestran comparaciones de dosis equivalentes de tolerabilidad de TCO-Dox-Acid frente a doxorrubicina. TCO-Dox-Acid se toleró mejor que la doxorrubicina estándar sola.

Ejemplo 35

Seguridad y eficacia en un modelo canino

El perfil de seguridad del gel modificado con tetrazina inyectado localmente, seguido del profármaco TCO-doxorrubicina inyectado por vía intravenosa, se traduce en todas las especies, incluidos animales grandes. En un estudio piloto veterinario en un can con adenocarcinoma local espontáneo, el régimen estándar de doxorrubicina condujo a la progresión de la enfermedad (crecimiento del tumor) así como a una caída en el peso corporal (FIG. 24A-B). Posteriormente, la menor toxicidad del gel modificado con tetrazina inyectado localmente, seguido del profármaco TCO-doxorrubicina intravenoso, permitió ciclos múltiples del profármaco TCO-Dox en magnitudes de dosificación más altas, lo que dio como resultado una reducción del tamaño del tumor, seguido de una enfermedad estable, así como un aumento de peso corporal, y sin efectos secundarios importantes (FIG. 24A-B). Las evaluaciones seriadas mediante ecocardiograma no revelaron ningún signo de cardiotoxicidad, a pesar de proporcionar casi 12 veces la MTD de por vida (FIG. 24C). Esto sugiere que el gel modificado con tetrazina inyectado localmente, seguido del profármaco TCO-doxorrubicina intravenoso, puede mejorar drásticamente la seguridad de los medicamentos sistémicos, incluso en animales grandes.

Ejemplo 36**Dosis máxima tolerada (MTD) y eficacia *in vivo* de TAG y TCO-profármaco en un modelo de artritis inducida por colágeno en ratas (ejemplo profético)**

Se puede realizar un estudio agudo (dosis única) de 7 días de aumento o reducción de la dosis máxima tolerable (MTD) en ratas Sprague-Dawley durante 3 rondas para TCO-PLX3397 y PLX3397 administrados por vía intravenosa. Los resultados de este estudio ayudarán a informar los niveles de dosificación para estudios posteriores de dosis única y de dosis repetidas según la tolerabilidad. La dosis inicial se basa en la concentración intravenosa de PLX3397 previamente examinada de 1 mg/kg. Se prevé que este estudio emplee 3 grupos de 3 ratas macho y 3 hembras para cada compuesto (36 animales en total). Durante los 7 días posteriores a la dosis, la toxicidad se puede medir mediante la pérdida de peso y la puntuación de condición corporal, con el MTD umbral definido como una caída del 10 % en el peso corporal en cualquier momento durante el estudio. Según los efectos secundarios informados de PLX3397, también se puede monitorizar a las ratas para detectar fatiga y diarrea, y realizar extracciones de sangre (200 µl) diariamente para detectar anemia, hiponatremia y neutropenia. Después de 7 días, los animales se pueden sacrificar, y la histología del tejido macroscópico se puede analizar para detectar daño e inflamación del tejido. Al final de 3 rondas, la dosis más alta sin toxicidades manifiestas se considera la MTD. El número de animales que se usarán en cada grupo es consistente con los protocolos estándar para el perfil toxicocinético en ratas.

Una vez que se han establecido los perfiles de toxicidad básicos, se puede evaluar la eficacia *in vivo* de TAG y del profármaco inhibidor de CSF1R. Actualmente, no existen modelos de xenoinjerto fiables de TGCT; por lo tanto, se prevé usar un modelo de artritis inducida por colágeno en roedores, basándose en los precedentes bibliográficos sobre el uso de este modelo preclínico para permitir ensayos clínicos de un inhibidor de CSF1R para tratar TGCT8. El modelo de enfermedad puede inducirse basándose en protocolos establecidos. Brevemente, a ratas Lewis hembra se les puede inyectar (por vía subcutánea en la cola) colágeno en adyuvante completo de Freund el día 1 y el día 7. El tratamiento comienza 7 días después de la segunda inyección de colágeno, una vez que los animales han desarrollado síntomas artríticos observables. Después de confirmar los signos de artritis en ambas extremidades traseras, se inyecta TAG en una de las articulaciones de la rodilla de las extremidades traseras, y se inyecta gel de control en la articulación de la rodilla opuesta. TCO-PLX3397, PLX3397 o vehículo salino se administra por vía intravenosa como una única dosis a los niveles de MTD determinados. Los animales se pueden monitorizar durante 24 días después del tratamiento, y la respuesta se puede cuantificar mediante la puntuación de la enfermedad dos veces por semana. Al final del estudio, los animales pueden sacrificarse, y las extremidades extirpadas se analizan mediante histología para detectar inflamación, daño de cartílagos y huesos, e infiltración de macrófagos. Se pueden utilizar 7 animales para cada brazo de tratamiento (21 animales en total). Este estudio puede demostrar una prueba de concepto para el uso de la plataforma de TAG para la activación local de inhibidores de CSF1R para tratar trastornos de las articulaciones.

Se espera que la colocación de la modificación de TCO en la molécula afecte significativamente las interacciones de unión de CSF1R, lo que dará como resultado una reducción de los efectos secundarios y una MTD mucho mayor. Si los valores de MTD son comparables, se puede volver a investigar el sitio de modificación. Se espera que la combinación de TAG y TCO-PLX3397 dé como resultado una reducción drástica de los síntomas artríticos cuantificados por la puntuación de la enfermedad y la histología, con menos efectos secundarios que el fármaco original. El gel no modificado puede servir como control interno para confirmar la localización de la actividad del fármaco. No se esperan problemas con la colocación del gel. En el caso de que TCO-PLX3397 sea comparable al control de disolución salina, se pueden realizar pruebas de biodistribución usando LC-MS para determinar el grado de liberación y acumulación del fármaco dentro de los tejidos diana y no diana.

Ejemplo 37**Liberación multidosis de carga útil de conjugados de TCO**

Se añade sulfato de calcio acuoso saturado al TAG de alginato en un tubo, y se transfiere a una columna de centrifugación. Se preparó una disolución madre 1 mM en DMSO de Dapto-TCO-Glicina (Ejemplo 13B) o Vanco-Bis-TCO-Glicina (Ejemplo 13C). Los conjugados se añadieron a la disolución de TAG en PBS a una concentración final de 6,25 µM. La liberación de daptomicina o vancomicina se mide mediante LC-MS. Repita la dosificación del conjugado de TCO cada 24 horas. Los resultados de la liberación se muestran en la FIG. 41A y 41B. También se prevé la liberación multidosis de ácido hialurónico modificado con tetrazina y otros materiales.

Se probó *in vitro* la actividad de Bis-TCO Vanco-Glicina (Ejemplo 13C) contra bacterias MRSA usando calorimetría tanto en presencia como en ausencia de TAG. Los resultados presentados en la siguiente tabla muestran que la MHIC es 8 veces mayor en ausencia de TAG, lo que indica la liberación del fármaco activo al entrar en contacto con el TAG.

Calorimetría *in vitro* (MRSA)

Profármaco	MHIC (μ M) - MRSA	
	TAG	Gel de control
Bis-TCO-vanco	4	32

Ejemplo 38**5 Liberación multidosis de carga útil del conjugado de TCO *in vivo***

Se infectaron ratones CD-1 hembra neutropénicos con MRSA (ATCC 43300) en el músculo del muslo. Los ratones recibieron gel de ácido hialurónico modificado con tetrazina mezclado con las bacterias. Después de 2 horas, dos grupos de ratones recibieron una dosis de TCO-Dapto-Glicina (Ejemplo 13B) o daptomicina no conjugada, a 61,74 μ mol/kg (equivalente a 100 mg/kg de daptomicina). Un tercer y cuarto grupo de ratones recibieron TCO-Dapto-Glicina (Ejemplo 13B) o daptomicina no conjugada, a 30,87 μ mol/kg/día (equivalente a 50 mg/kg de daptomicina) durante tres días. Veinticuatro horas después de cada tratamiento, los ratones se sacrificaron, se recolectó el tejido del muslo, y se contaron las UFC bacterianas. Los resultados se muestran en la FIG. 42. El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía con el post-test de Sidak para comparaciones múltiples. Las barras de error representan el error estándar sobre la media de $n = 3$, * $p < 0,01$, # $p < 0,05$.

Ejemplo 39**20 Biocompatibilidad y tratamiento de infecciones relacionadas con dispositivos implantados (ejemplo profético)**

La capacidad de HAT para activar profármacos de TCO cuando se recubre sobre materiales de catéter se puede determinar de la siguiente manera. A las secciones de tubos de PU o PVC recubiertos con HAT se les puede añadir una disolución de TCO-vancomicina previamente sintetizada y caracterizada. Tras la incubación con materiales recubiertos con HAT, el profármaco reaccionará y liberará vancomicina libre en la disolución. La cinética de liberación puede determinarse mediante análisis de LC-MS. Un control que utilice materiales recubiertos con HA no modificado confirmará que la liberación depende de la tetrazina. Estos estudios establecerán que el HAT conserva sus propiedades activadoras de profármacos cuando se enlaza a una superficie.

El efecto antimicrobiano del PU y PVC recubiertos con HAT se puede medir determinando la concentración inhibidora mínima (MIC) de profármacos para exterminar *S. epidermidis* y *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), dos patógenos comunes responsables de infecciones asociadas a CVC, en cultivo. Los profármacos de antibióticos escogidos pueden ser TCO-vancomicina o TCO-daptomicina. Se usarán diluciones en serie de profármacos de antibióticos o los antibióticos estándar correspondientes (vancomicina y daptomicina) como controles positivos, y se les permitirá mezclarse en presencia de tubos de PU o PVC recubiertos con HAT durante 4 horas. Después, se puede añadir a la mezcla MRSA o *S. epidermidis* en caldo. Las placas pueden colocarse en una incubadora durante la noche y dejarse crecer ($n=4$ para cada condición de prueba). Las suspensiones bacterianas pueden entonces sembrarse en placas de agar manitol-sal selectivo para estafilococos, y la inhibición del crecimiento pueden determinarse mediante el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC). Se pueden incluir controles que utilicen HA no modificado o ningún antibiótico, para garantizar que los efectos antibacterianos se deben a la activación de los profármacos por el gel.

La eficacia de los tubos de PU y PVC recubiertos con HAT en ratas se puede determinar de la siguiente manera usando un modelo de catéter venoso central en ratas Sprague-Dawley libres de patógenos específicos. A las ratas se les implantaría un catéter recubierto con HAT en la vena yugular usando protocolos quirúrgicos establecidos. Los catéteres recubiertos con HA no modificado servirán como controles. Después del cateterismo, se puede inocular a las ratas con *S. epidermidis* o *S. aureus* mediante inyección de 10^4 - 10^6 UFC en la luz del catéter. Se puede realizar un estudio piloto para determinar la dosis infecciosa del agente infeccioso escogido. 24 horas después de la infección se pueden administrar profármacos o antibióticos convencionales por vía intravenosa (vena de la cola) a niveles de dosis máxima tolerada establecidos, con inyección de disolución salina como control negativo. Las ratas se pueden monitorizar diariamente para determinar su peso corporal, su puntuación de condición corporal, y su comportamiento. Después de 7 días, los animales se pueden sacrificar. Los catéteres explantados deben seccionarse y sonicarse para eliminar cualquier bacteria adherida, que se medirá mediante cultivo cuantitativo en una placa de agar selectiva para estafilococos. El tejido que rodea el implante se puede homogeneizar, y la carga bacteriana se puede evaluar mediante el mismo método.

La biocompatibilidad de los materiales recubiertos con HAT y los profármacos de TCO se puede determinar midiendo la morbilidad en ratas Sprague-Dawley a las que se les implantaron catéteres recubiertos con HAT. Los catéteres recubiertos con HAT se pueden implantar como se describe anteriormente. Como implantes de control,

se utilizarían catéteres recubiertos con HA no modificado. Entonces se puede administrar por vía intravenosa un profármaco, un antibiótico estándar o una disolución salina, a las concentraciones usadas en el estudio de infección. Nuevamente se puede monitorizar diariamente el peso corporal, la puntuación de condición corporal y el comportamiento de las ratas. Una pérdida del 10 % del peso corporal en cualquier momento constituirá el punto final del estudio. Después de 7 días, los animales se sacrificarán, y se realizará una histología macroscópica del tejido, particularmente de la región que rodea el implante, para determinar la presencia de irritación, daño tisular o inflamación.

7. Kits

Los aspectos de la presente descripción incluyen kits que tienen una composición como se describe aquí. Por ejemplo, un kit puede incluir una composición de soporte como se describe aquí. Las realizaciones del kit también pueden incluir una carga útil funcionalizada como se describe aquí. En ciertas realizaciones, el kit puede incluir una composición (por ejemplo, composición de soporte y/o carga útil funcionalizada) y un envase, configurado para contener la composición (por ejemplo composición de soporte y/o carga útil funcionalizada). La composición de soporte y la carga útil funcionalizada pueden estar en recipientes separados en el envase. Se pueden proporcionar una o más composiciones de soporte en un kit. De manera similar, se pueden proporcionar una o más cargas útiles funcionalizadas en un kit. El envase puede ser un envase cerrado herméticamente, tal como un envase cerrado herméticamente estéril. Por "estéril" se entiende que sustancialmente no hay microbios (tales como hongos, bacterias, virus, formas de esporas, etc.). En algunos casos, el envase puede configurarse para cerrarse herméticamente, por ejemplo un envase resistente al vapor de agua, opcionalmente bajo un sello estanco al aire y/o a vacío.

En ciertas realizaciones, el kit incluye un reactivo que puede usarse como agente de liberación para un enlazador liberable como se describe aquí. El reactivo de liberación puede ser cualquiera de los agentes de liberación descritos aquí, tales como, pero no se limitan a, un agente de liberación químico (por ejemplo, un ácido, una base, un agente oxidante, un agente reductor, etc.), un disolvente, y similares. El reactivo de liberación en el kit se puede proporcionar en cualquier forma conveniente, tal como, pero no se limita a, un gas, una disolución, un sólido, gránulos, un polvo, una suspensión, y similares. El reactivo de liberación puede envasarse en un recipiente separado de la o las composiciones del kit.

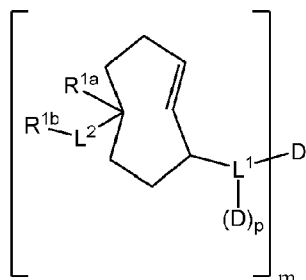
Además de los componentes anteriores, los kits en cuestión pueden incluir adicionalmente instrucciones para practicar los métodos en cuestión. Estas instrucciones pueden estar presentes en los kits en cuestión en una variedad de formas, una o más de las cuales pueden estar presentes en el kit. Una forma en la que estas instrucciones pueden estar presentes es como información impresa en un medio o sustrato adecuado, por ejemplo una hoja o hojas de papel en las que está impresa la información, en el envase del kit, en un prospecto, etc. Otra forma para las instrucciones sería un medio legible por computadora, por ejemplo CD, DVD, Blu-Ray, memoria legible por computadora (por ejemplo, memoria flash), etc., en el que se ha grabado o almacenado la información. Aún otra forma de las instrucciones que pueden estar presentes es una dirección de sitio web que puede usarse a través de Internet para acceder a la información en un sitio eliminado. Cualquier medio conveniente puede estar presente en los kits.

Se entiende que la descripción detallada anterior y los ejemplos adjuntos son meramente ilustrativos, y no deben tomarse como limitaciones del alcance de la invención, que se define únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

Para los expertos en la técnica resultarán evidentes diversos cambios y modificaciones de las realizaciones descritas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (IA), o una sal del mismo



(I-A)

en la que

R^{1a} se selecciona del grupo que consiste en alquilo de C_{1-4} , haloalquilo de C_{1-4} y alcoxi de C_{1-4} ;

R^{1b} se selecciona del grupo que consiste en OH , $-NR^{1c}$ -alquilenos $C_{1-4}-N(R^{1d})_2$, $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$, $-N(R^{1c})$ -alquilenos $C_{1-6}-CO_2H$, $-N(R^{1f})$ -alquilenos $C_{2-4}-(N(\text{alquilenos } C_{1-4}-CO_2H)\text{-alquilenos } C_{2-4})_n-N(\text{alquilenos } C_{1-4}-CO_2H)_2$, $-N(R^{1c})CHR^{1e}C(O)O$ alquilo de C_{1-6} , $-N(R^{1c})$ -alquilenos $C_{1-6}-C(O)O$ alquilo de C_{1-6} , y $-N(R^{1f})$ -alquilenos $C_{2-4}-(N(\text{alquilenos } C_{1-4}-C(O)O\text{alquilo } C_{1-6})\text{-alquilenos } C_{2-4})_n-N(\text{alquilenos } C_{1-4}-C(O)O\text{alquilo } C_{1-6})_2$;

R^{1c} y R^{1d} , en cada aparición, son independientemente hidrógeno o alquilo de C_{1-4} ;

R^{1e} es -alquilenos $C_{1-4}-CO_2H$, -alquilenos $C_{1-4}-CONH_2$ o -alquilenos $C_{1-4}-OH$;

R^{1f} es hidrógeno, alquilo de C_{1-6} o alquilenos $C_{1-4}-CO_2H$;

D , en cada aparición, es independientemente un agente terapéutico o de diagnóstico;

$-L^1-$ es un enlazador;

$-L^2-$ es $-C(O)-$;

m es 1, 2 o 3

n es 0, 1, 2 o 3; y

p es 0, 1 o 2.

2. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo, en el que

R^{1b} se selecciona del grupo que consiste en OH , $-NR^{1c}$ -alquilenos $C_{1-4}-N(R^{1d})_2$, $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$, $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$, y $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$;

R^{1e} es $-CH_2CO_2H$, $-CH_2CH_2CO_2H$, $-CH_2CONH_2$, $-CH_2CH_2CONH_2$, $-CH_2OH$, o $-CH(CH_3)OH$; y

R^{1f} es hidrógeno o CH_2CO_2H .

3. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal del mismo, en el que

R^{1a} es alquilo de C_{1-4} ;

R^{1b} se selecciona del grupo que consiste en OH ,

$-NR^{1c}$ -alquilenos $C_{1-4}-N(R^{1d})_2$, $-N(R^{1c})CHR^{1e}CO_2H$, $-N(R^{1c})CH_2CO_2H$, y $-N(R^{1f})-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$;

R^{1e} es -alquilenos $C_{1-4}-CO_2H$;

R^{1f} es hidrógeno o alquilenos $C_{1-4}-CO_2H$;

y

n es 0, 1 o 2.

4. El compuesto de la reivindicación 3, o una sal del mismo, en el que

R^{1a} es CH_3 ;

R^{1e} es $-CH_2CO_2H$; y

R^{1f} es hidrógeno o CH_2CO_2H .

5. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una sal del mismo, en el que

R^{1b} se selecciona del grupo que consiste en OH , $N(H)CH_2CO_2H$, $-N(H)CHR^{1e}CO_2H$, $-N(H)-CH_2CH_2-(N(CH_2CO_2H)CH_2CH_2)_n-N(CH_2CO_2H)_2$, y $-N(CH_2CO_2H)-CH_2CH_2-N(CH_2CO_2H)_2$; y

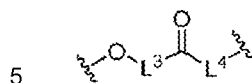
R^{1e} es $-CH_2CO_2H$.

6. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal del mismo, en el que R^{1b} es OH .

7. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal del mismo, en el que R^{1b} es $N(H)CH_2CO_2H$.

8. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal del mismo, en el que R^{1b} es $-N(H)CHR^{1e}CO_2H$.

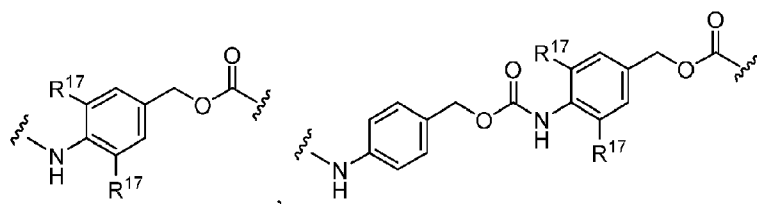
9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal del mismo, en el que:
-L¹- es



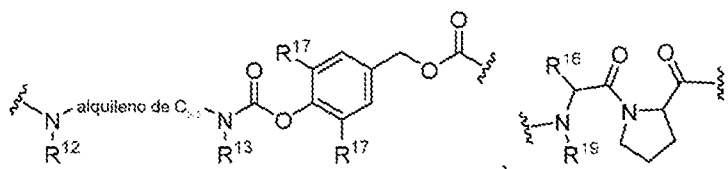
o -O-;

-L³- es un enlace o alquileo de C₁₋₆;

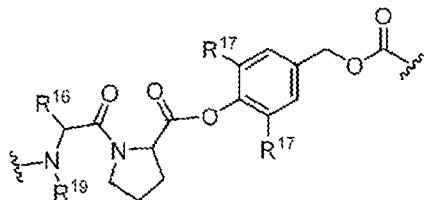
10 -L⁴- es un enlace, -NHN-, -N(R¹⁰)-alquileo C₂₋₆-N(R¹¹)-, -N(R¹²)-alquileo C₂₋₃-N(R¹³)C(O)-, -N(R¹⁰)-alquileo C₁₋₆-C(O)NHN-, -NHNHC(O)alquileo C₁₋₆-C(O)NHN-, -CH(NHC(O)R¹⁴)alquileo C₁₋₄-S-S-alquileo C₁₋₄-OC(O)-, -NHNHC(O)CH(NHC(O)R¹⁵)CH₂C(O)-, -alquileo C₁₋₆-CH(G^x)OC(O)-,



15



o



20

R¹⁰, R¹¹, R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, and R¹⁹ son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo de C₁₋₄;

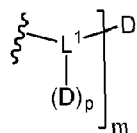
R¹⁶ es hidrógeno, alquilo C₁₋₄, -alquileo C₁₋₄-OH, -alquileo C₁₋₄-OCalquileo C₁₋₄, -alquileo C₁₋₄-CO₂H o -alquileo C₁₋₄-CONH₂;

R¹⁷, en cada aparición, es independientemente hidrógeno o -CH₂OC(O)-; y

25 G^x es fenilo opcionalmente sustituido con 1-5 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alquilo de C₁₋₄, haloalquilo de C₁₋₄, alcoxi de C₁₋₄, ciano y nitro.

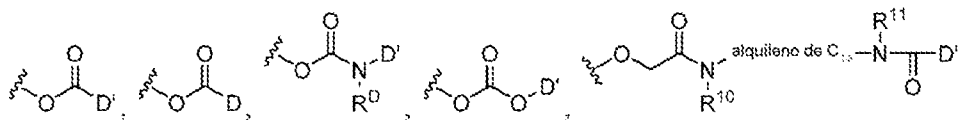
10. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, o una sal del mismo, en el que m es 1.

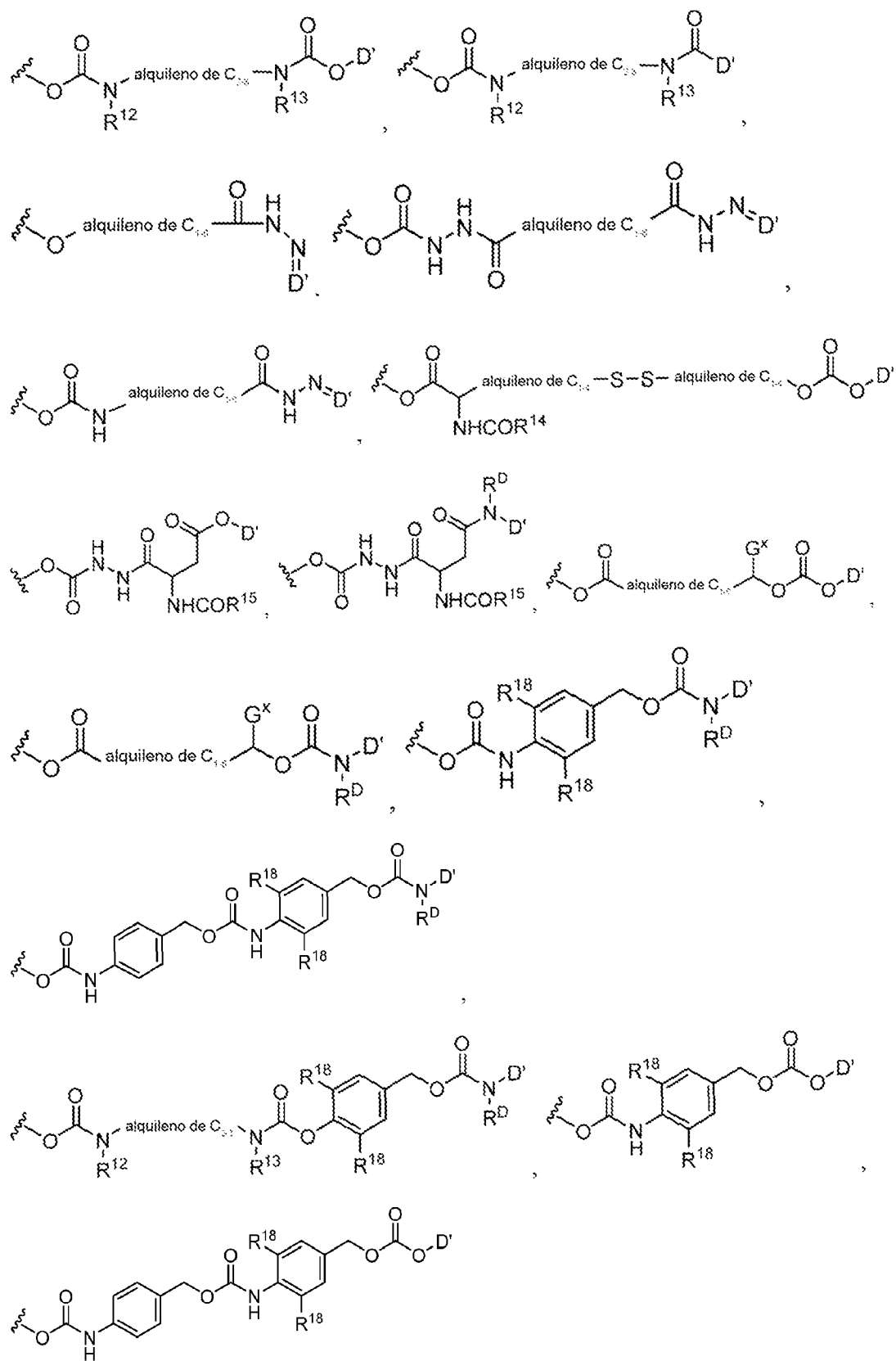
30 11. El compuesto de la reivindicación 10, o una sal del mismo, en el que:

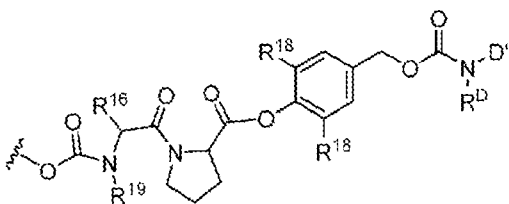
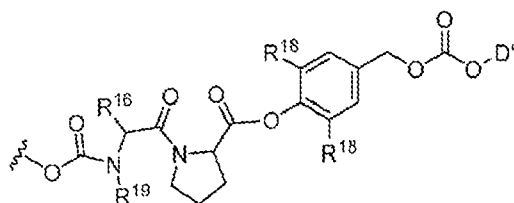
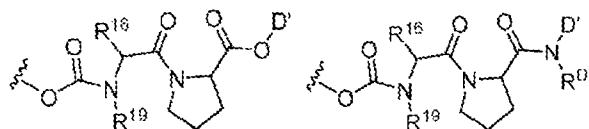
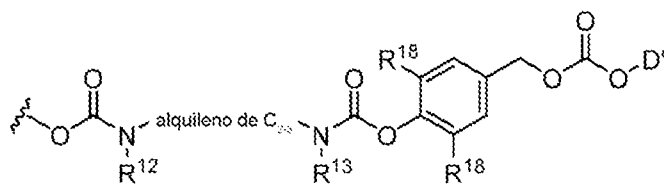


es

35





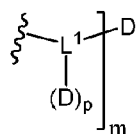


R^{18} , en cada aparición, es independientemente hidrógeno o $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{NHD}'$;
 R^D es hidrógeno o alquilo de C_{1-4} en un átomo de nitrógeno del agente terapéutico o de diagnóstico; y
 D' es un resto de agente terapéutico o de diagnóstico.

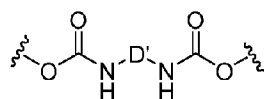
12. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, o una sal del mismo, en el que p es 0.

13. El compuesto de la reivindicación 12, o una sal del mismo, en el que m es 2 o 3.

14. El compuesto de la reivindicación 13, o una sal del mismo, en el que



es

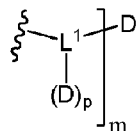


15. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que D , en cada aparición, es un agente terapéutico.

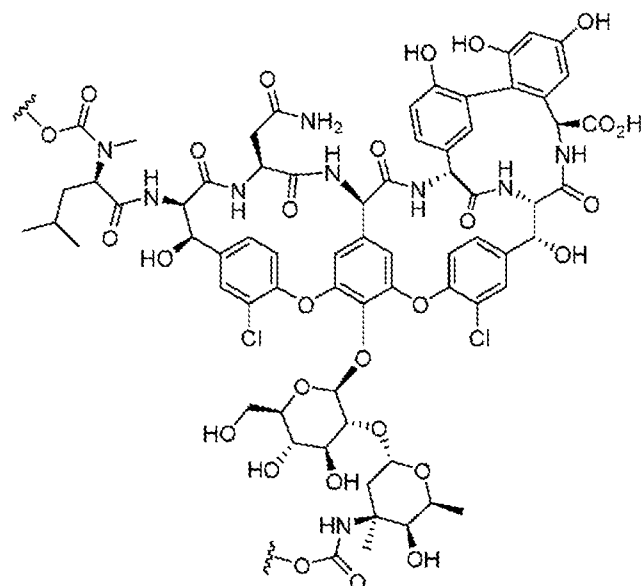
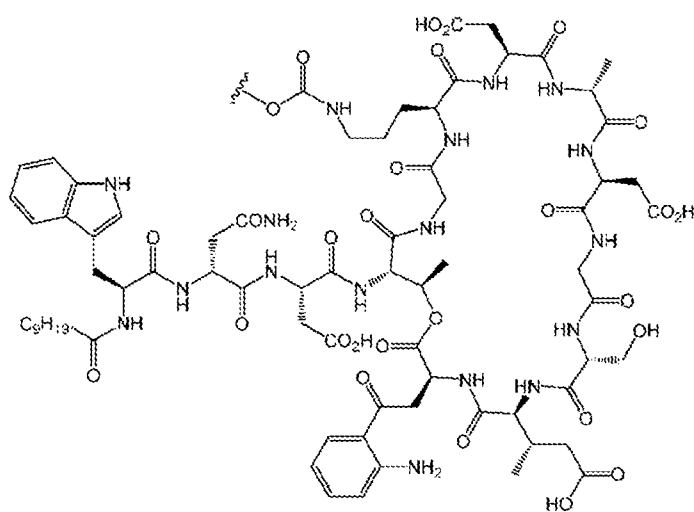
16. El compuesto de la reivindicación 15, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el agente terapéutico es un agente antibiótico, agente antifúngico, agente antiviral, agente anticancerígeno, agente cardiovascular, agente del SNC, agente antiinflamatorio/antiartrítico, agente anti-TB/antilepra, agente antihistamínico/para trastornos respiratorios, un agente corticosteroide, un agente inmunosupresor, o un agente antiulceroso.

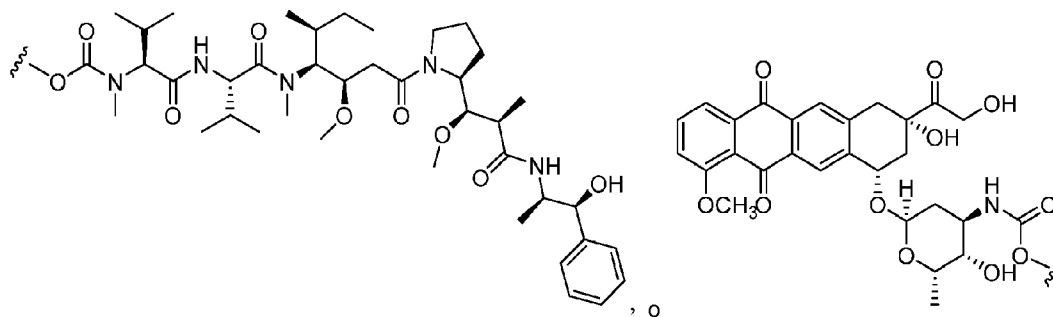
17. El compuesto de la reivindicación 16, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el agente terapéutico se selecciona de al menos uno de paclitaxel, doxorrubicina, daunorrubicina, etopósido, irinotecán, SN-38, docetaxel, gemcitabina, podofilotoxina, carmustina, ixabepilona, patupilona, ciclosporina A, rapamicina, anfotericina, vancomicina, daptomicina, doxiciclina, ceftriaxona, trimetoprima, sulfametoxazol, aciclovir, nistatina, anfotericina B, flucitosina, emtricitabina, gentamicina, colistina, L-dopa, oseltamivir, cefalexina, ácido 5-aminolevulínico, cisteína, celecoxib, nimodipino, auristatina, y monometil auristatina E.

18. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de la reivindicación 15, en el que

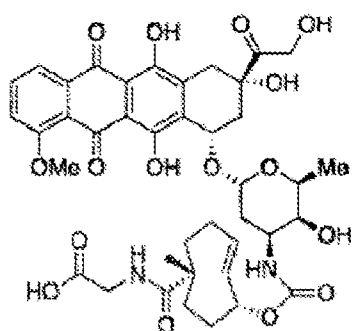


es

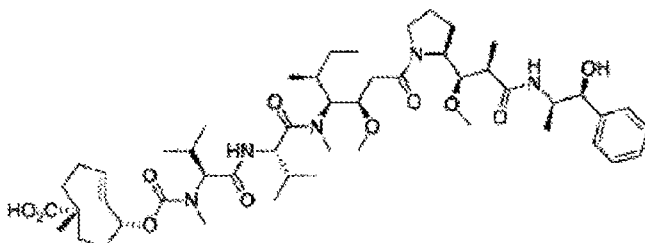




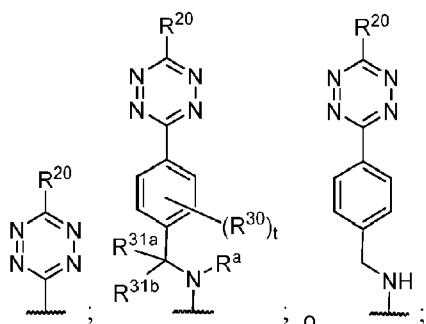
19. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de la reivindicación 16, en el que el compuesto es



20. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de la reivindicación 16, en el que el compuesto es



21. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 16-20, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para tratar o prevenir el cáncer en combinación con una composición de soporte terapéutica, comprendiendo la composición de soporte terapéutica un soporte biocompatible y un grupo que contiene tetrazina de fórmula



en la que

R^{20} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, alquilo, alquenoilo, alquinoilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo, cicloalquenoilo, CF_3 , CF_2-R' , NO_2 , OR' , SR' , $C(=O)R'$, $C(=S)R'$, $OC(=O)R''$, $SC(=O)R''$, $OC(=S)R''$, $SC(=S)R''$, $S(=O)R'$, $S(=O)_2R''$, $S(=O)_2NR'R''$, $C(=O)O-R'$, $C(=O)S-R'$, $C(=S)O-R'$, $C(=S)S-R'$, $C(=O)NR'R''$, $C(=S)NR'R''$, $NR'R''$, $NR'C(=O)R''$, $NR'C(=S)R''$, $NR'C(=O)OR''$,

NR'C(=S)OR", NR'C(=O)SR", NR'C(=S)SR", OC(=O)NR'R", SC(=O)NR'R", OC(=S) R'R"', SC(=S)R'R", NR'C(=O)NR''R", y NR'C(=S)NR''R";

R' y R", en cada aparición, se seleccionan independientemente de hidrógeno, arilo y alquilo;

R"', en cada aparición, se selecciona independientemente de arilo y alquilo;

5 R³⁰ es halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo, haloalquilo; alqueno, alquino, alcoxi, haloalcoxi; heteroalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, cicloalquilo o cicloalqueno;

R^a, R^{31a} y R^{31b} son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C₁-C₆ o haloalquilo de C₁-C₆; y t es 0, 1, 2, 3 o 4.

Compuesto	MW (mg/mmol)	Solubilidad termodinámica (mg/ml)			Ratones (0.25 kg)				Perro (7.4 kg)			
		PBS (pH 7.4)			Vol. de inyección	$\mu\text{mol/kg}$ ($\mu\text{mol}/100 \mu\text{l}$) / 0.025 kg	mg/kg de profármaco (mg/100 μl) / 0.025 kg	mg/kg de fármaco * MW profármaco	Vol. de inyección 100 ml	$\mu\text{mol/kg}$ ($\mu\text{mol}/100 \mu\text{l}$) / 7.4 kg	mg/kg de profármaco (mg/100 ml) / 7.4 kg	mg/kg de fármaco
		Valor	Media	pH final								
Dox-HCl	579.15	2.654	2.649	4.574	0.4874	18.295	10.596	10.596	457.37	63.81	35.80	35.80
		2.621										
		2.672										
TCO-Dox	695.26	0.000	7.42	0.001	0.0001	0.006	0.004	0.003	0.14	0.02	0.01	0.01
		0.000										
		0.000										
TCO-Dox-Mor-LFA	935.8	0.072	7.27	0.077	0.0077	0.306	0.287	0.177	7.65	1.03	0.92	0.60
		0.071										
		0.071										
TCO-Dox-larga-NMP	878.39	6.114	6.234	7.097	0.7097	28.388	24.036	16.441	70.71	95.91	84.24	55.54
		6.291										
		6.297										
TCO-Dox-ácido-TFA	867	2.477	2.483	2.864	0.2864	11.454	9.931	6.634	286.35	38.70	33.55	22.41
		2.484										
		2.487										
TCO-Dox-corta-NMP	835.35	2.522	2.445	2.927	0.2927	11.709	9.781	6.781	292.73	39.56	33.05	22.91
		2.445										
		2.371										

FIG. 1

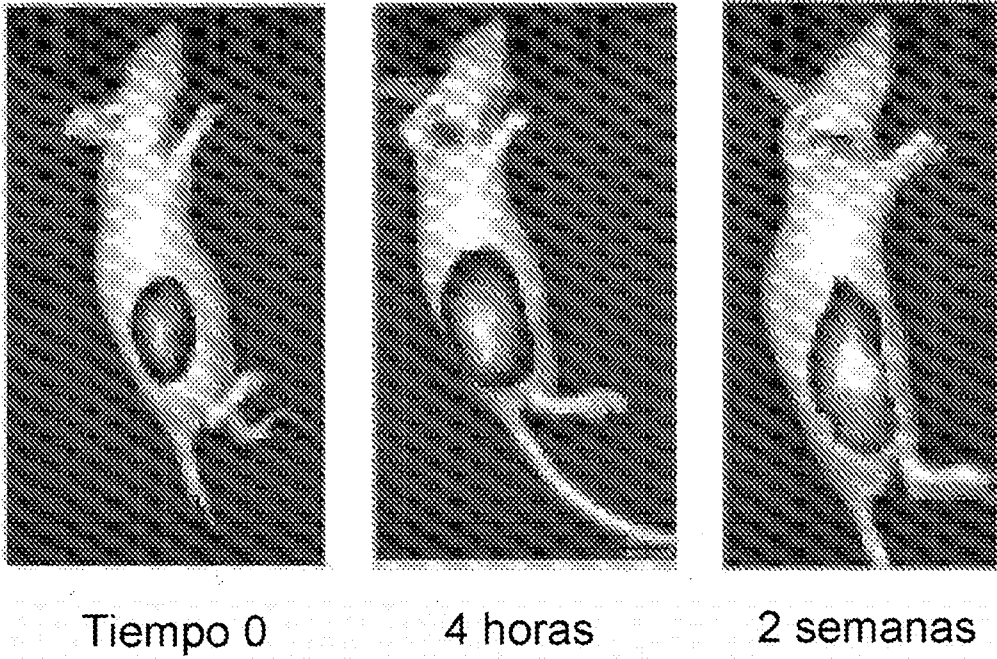


FIG. 2

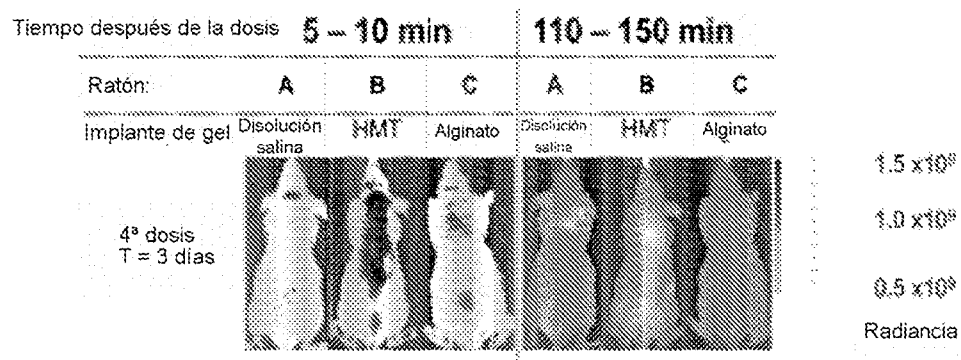


FIG. 3

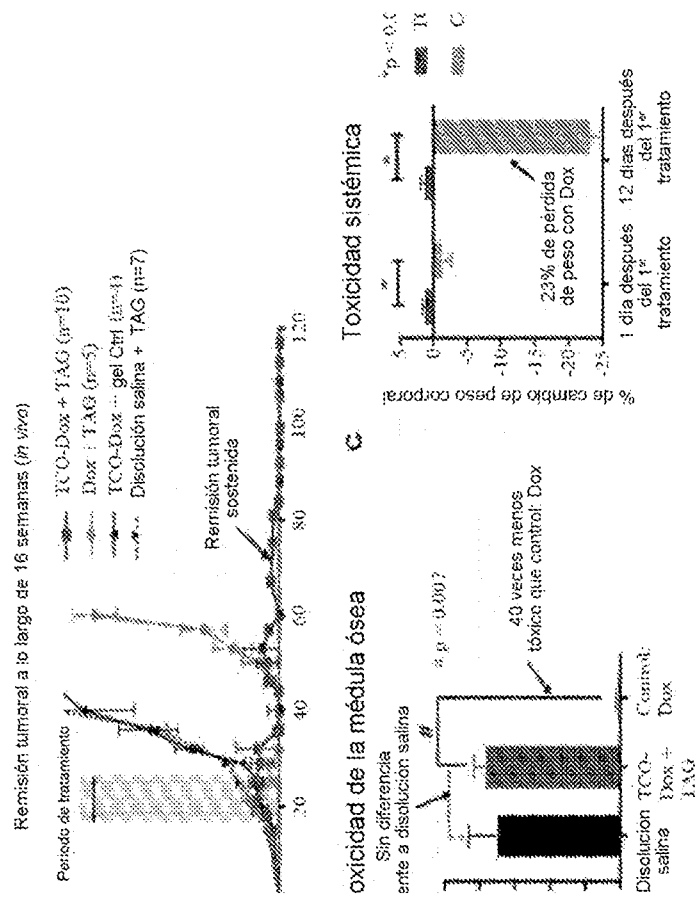


FIG. 4A-4C

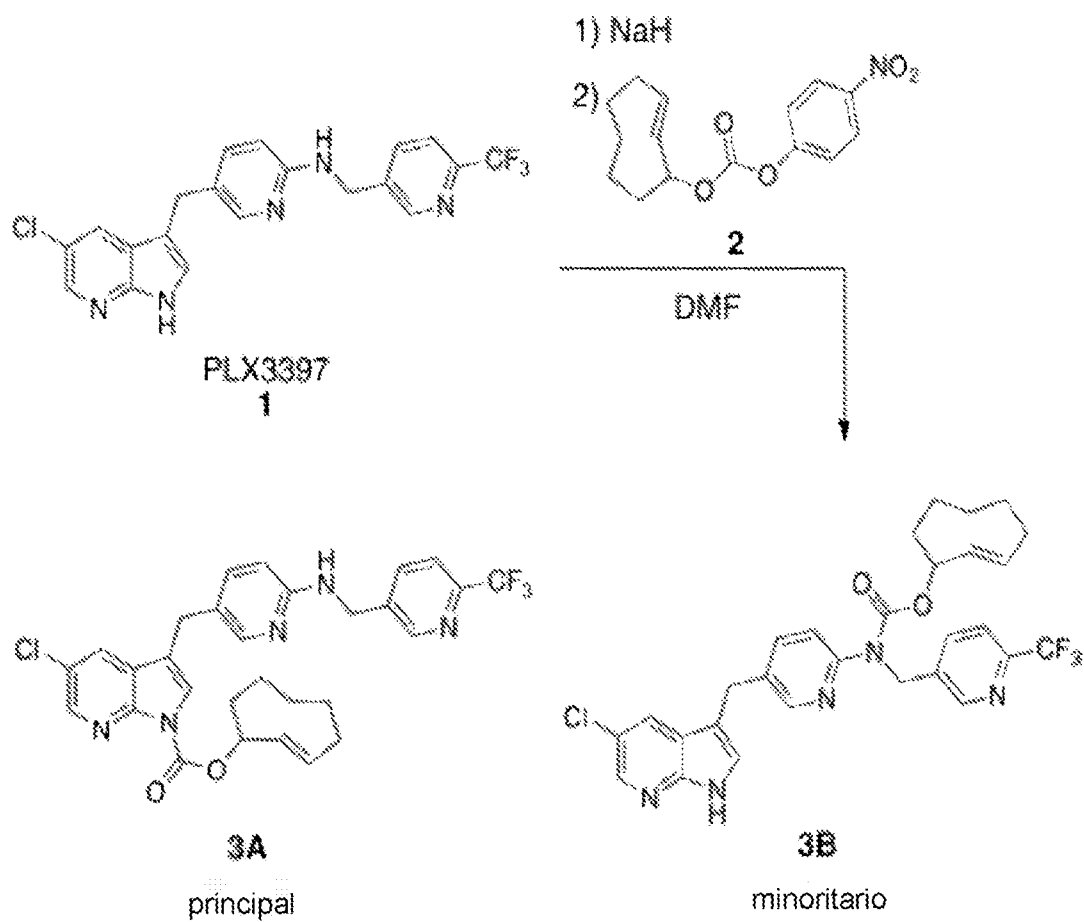


FIG. 5

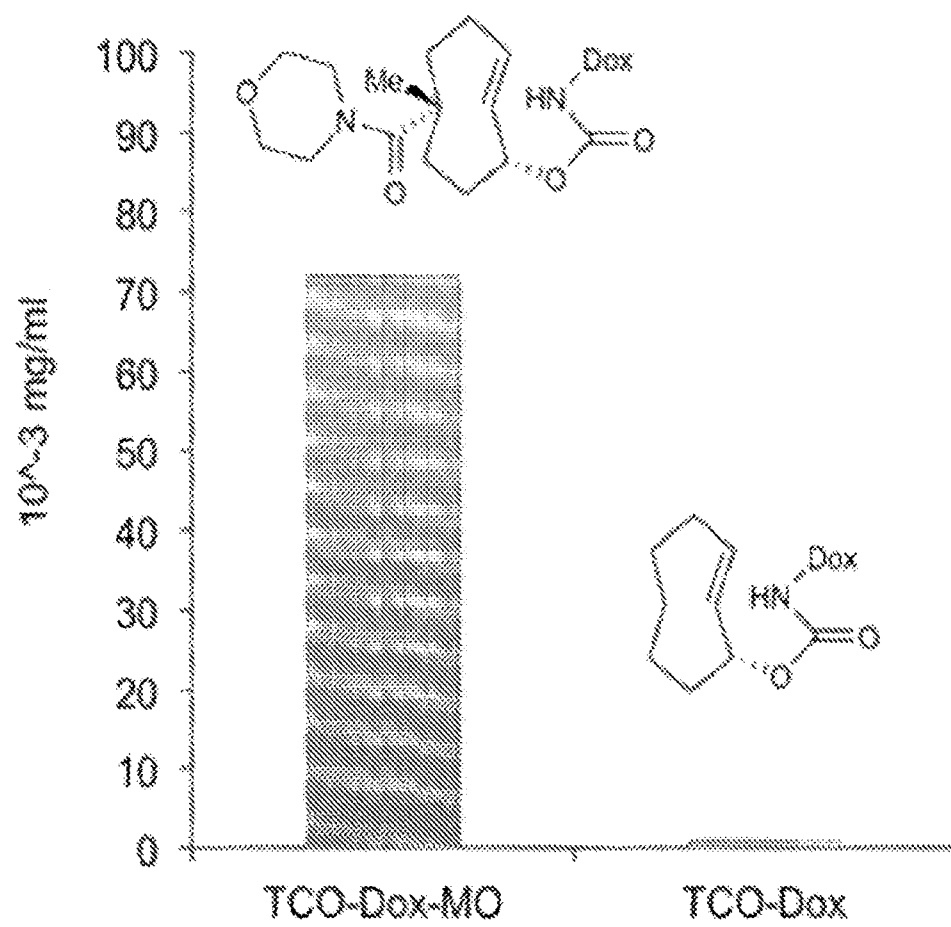


FIG. 6

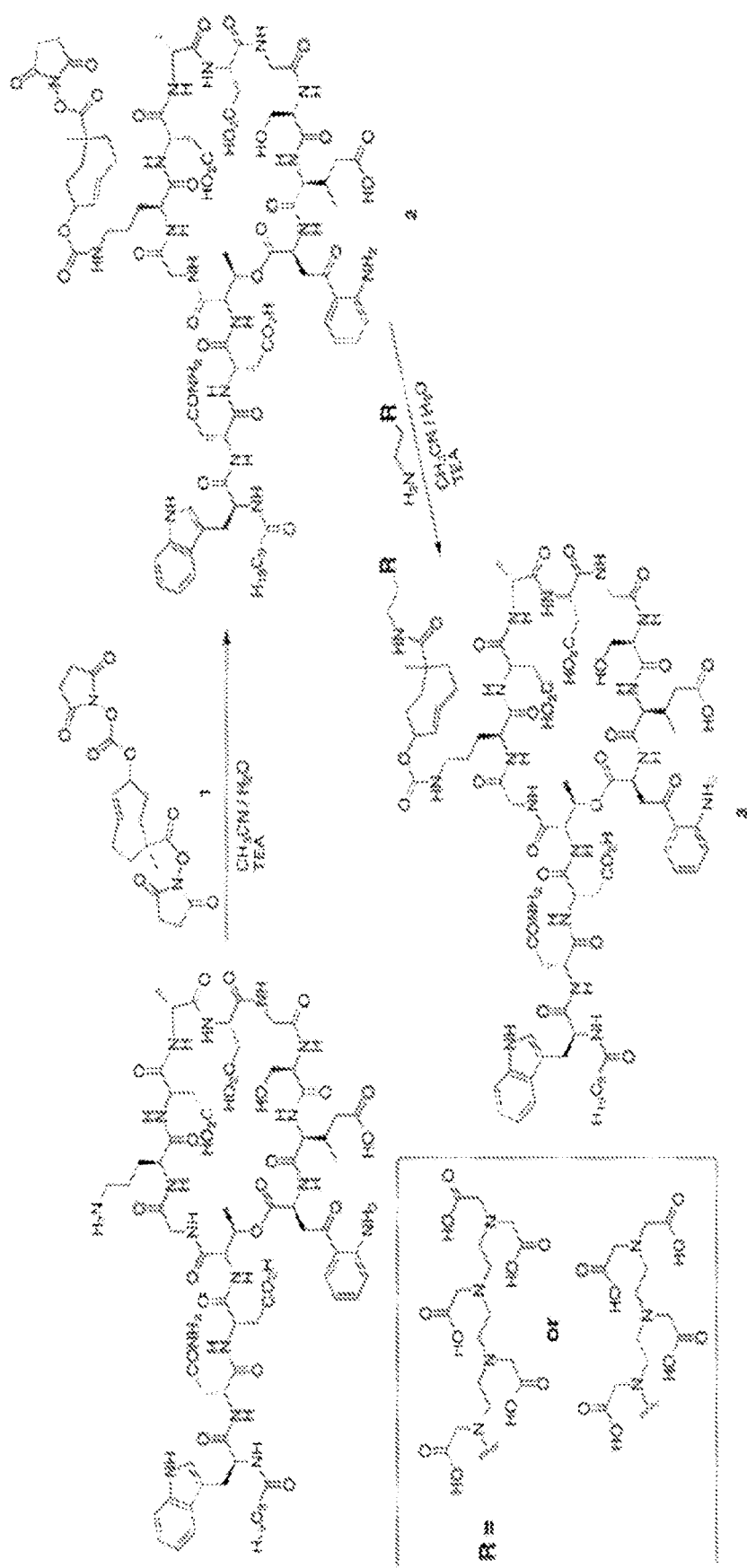


FIG. 7

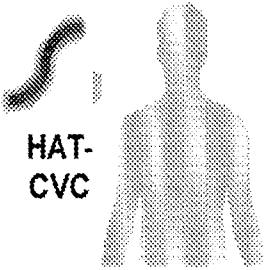
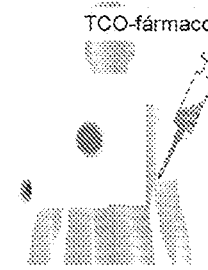
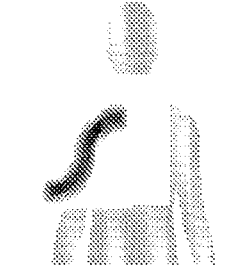
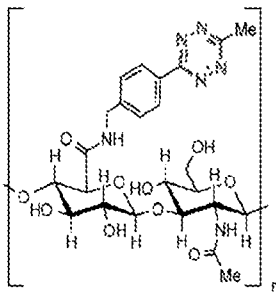
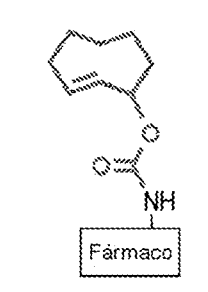
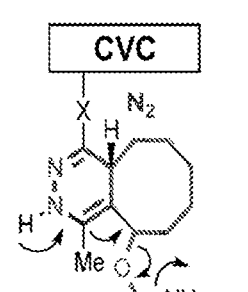
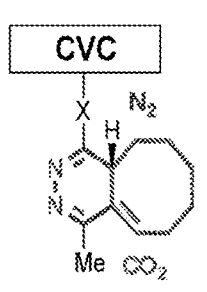
A Colocación del catéter	B Dosis terapéutica	C Concentración (Captura)	D Activación (liberación)
 HAT-CVC	 TCO-fármaco	 CVC	 Liberación del fármaco
 CVC recubierto con ácido hialurónico modificado con tetrazina (HAT)	 Fármaco modificado con TCO liberable (TCO-fármaco)	 CVC Fármaco	 CVC Fármaco

FIG. 8A-8D

A Luminiscencia *in vitro* (MSSA)

Grupo	Gel	Antibiótico	Concentración (μM)				MIC (μM)
			0.25	0.5	1.0	2.0	
Shasqi Tx	TAG	TCO-vanco					2.0
Control positivo	TAG	vanco					0.5
Control negativo	Gel Ctrl	TCO-vanco					8.0

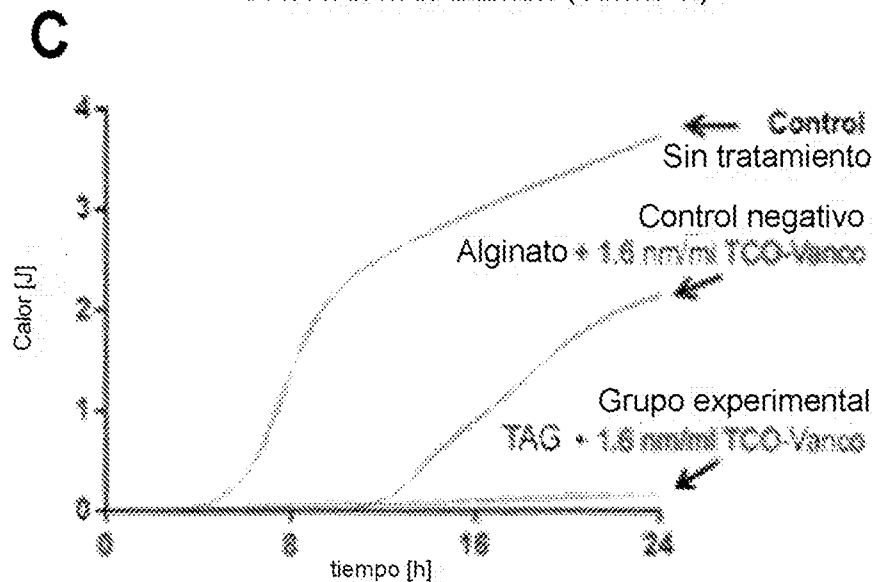
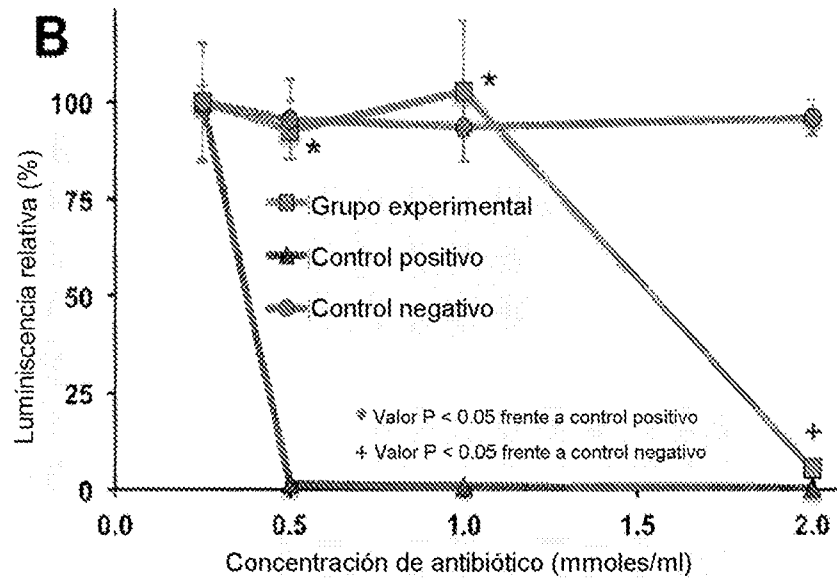


FIG. 9A-9C

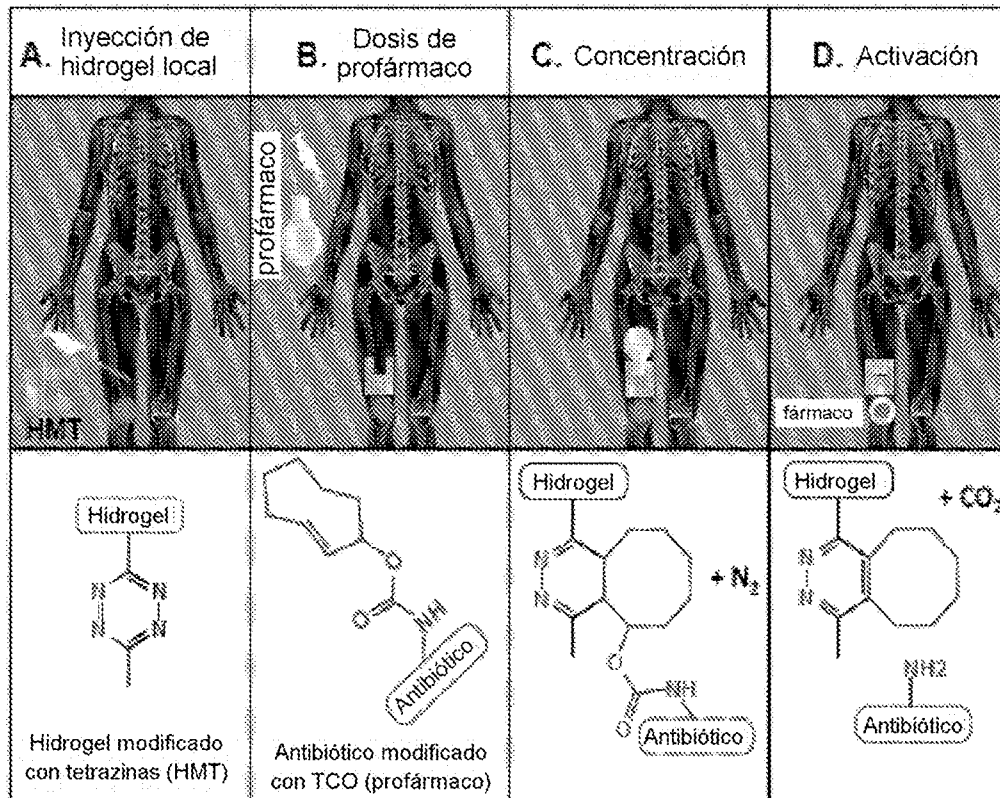


FIG. 10A-10D

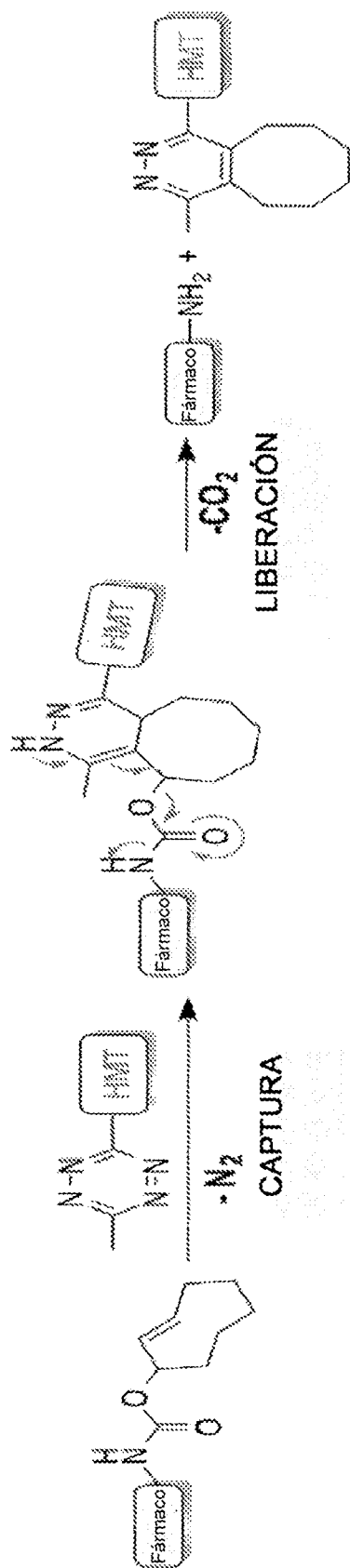


FIG. 11

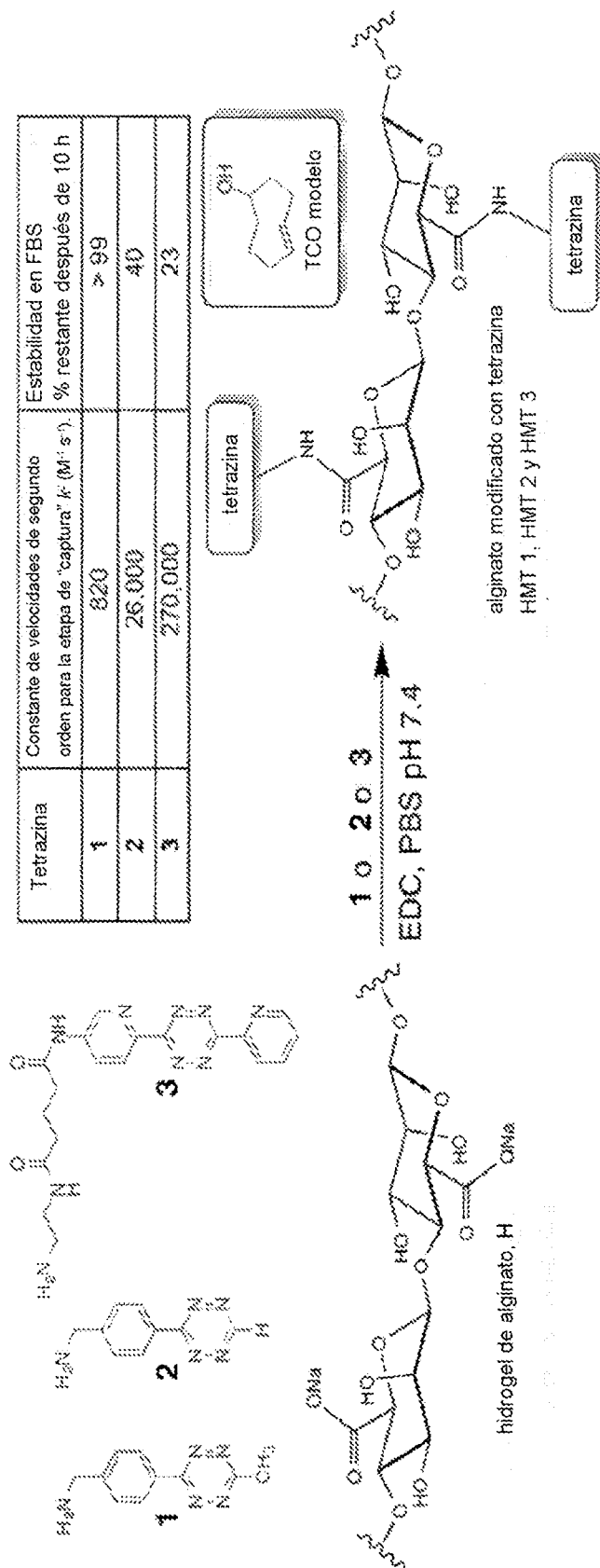


FIG. 12

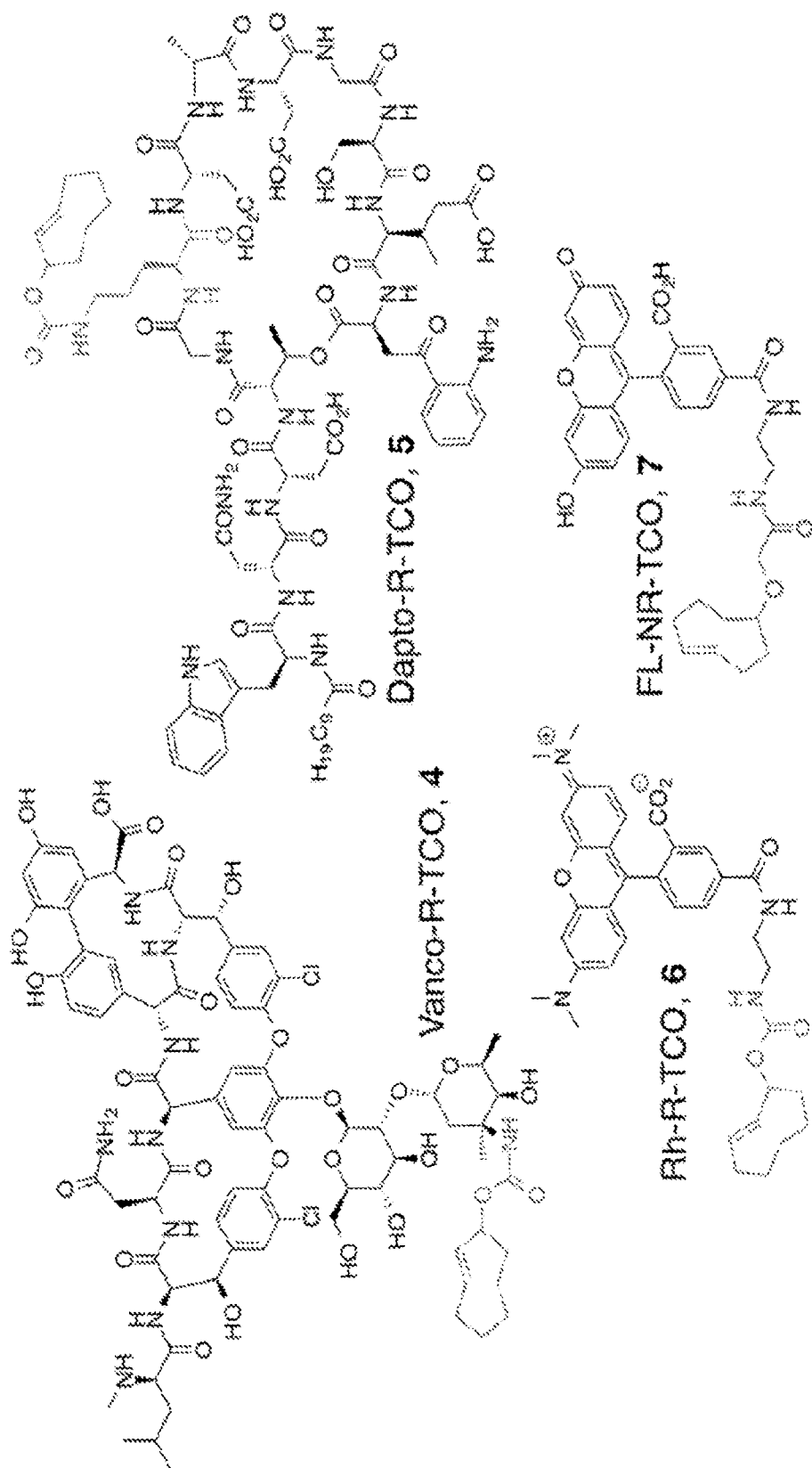


FIG. 13

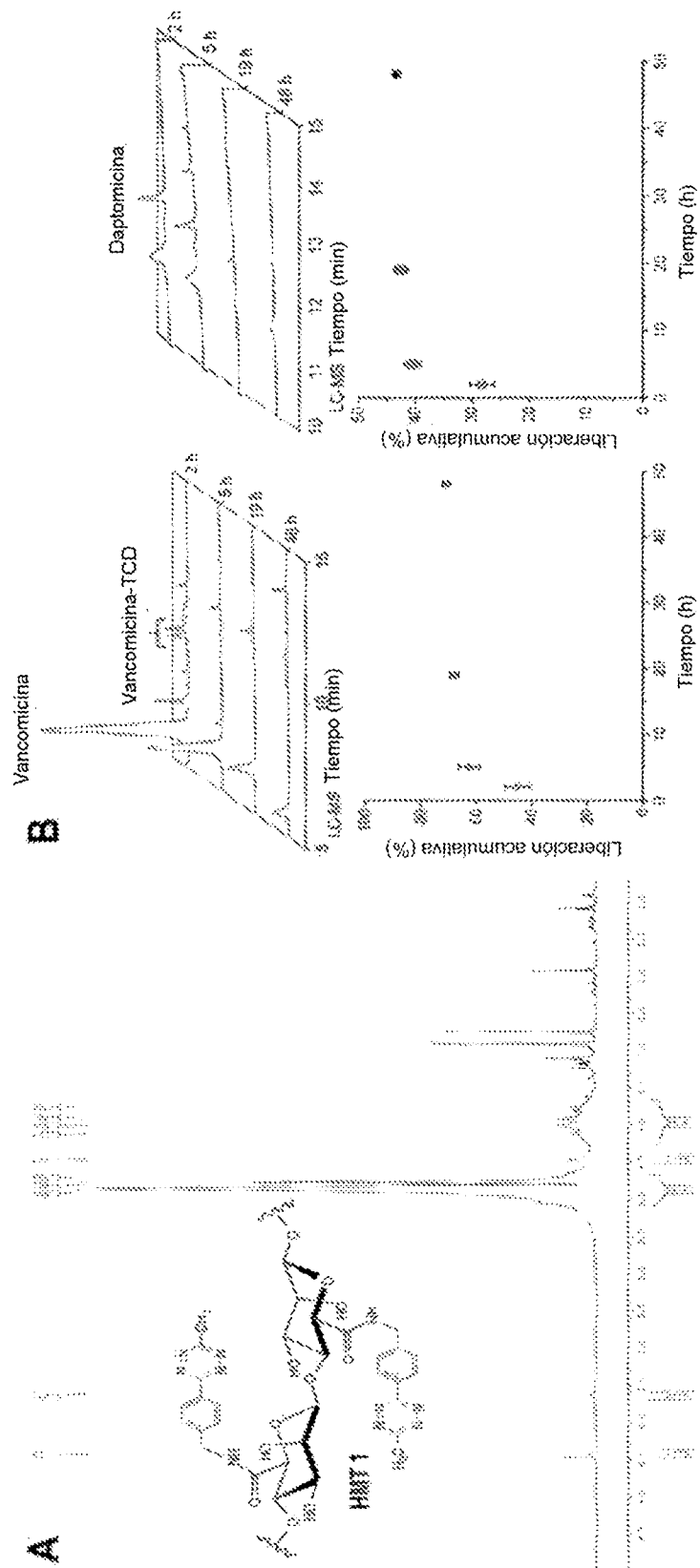


FIG. 14A y 14B

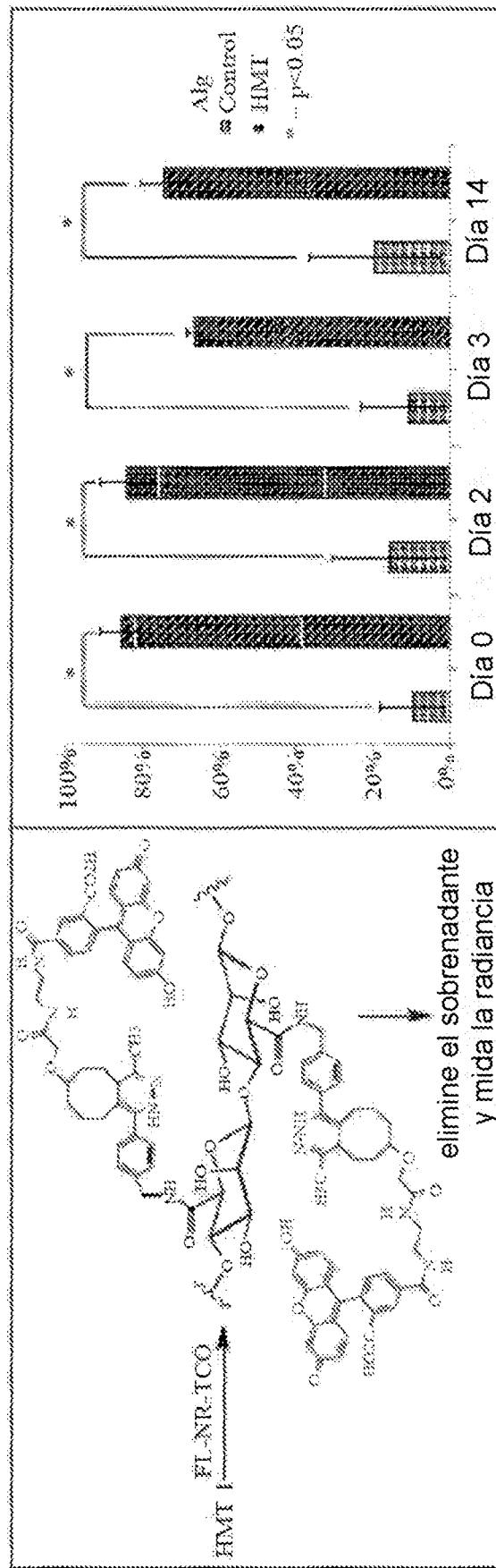


FIG. 15

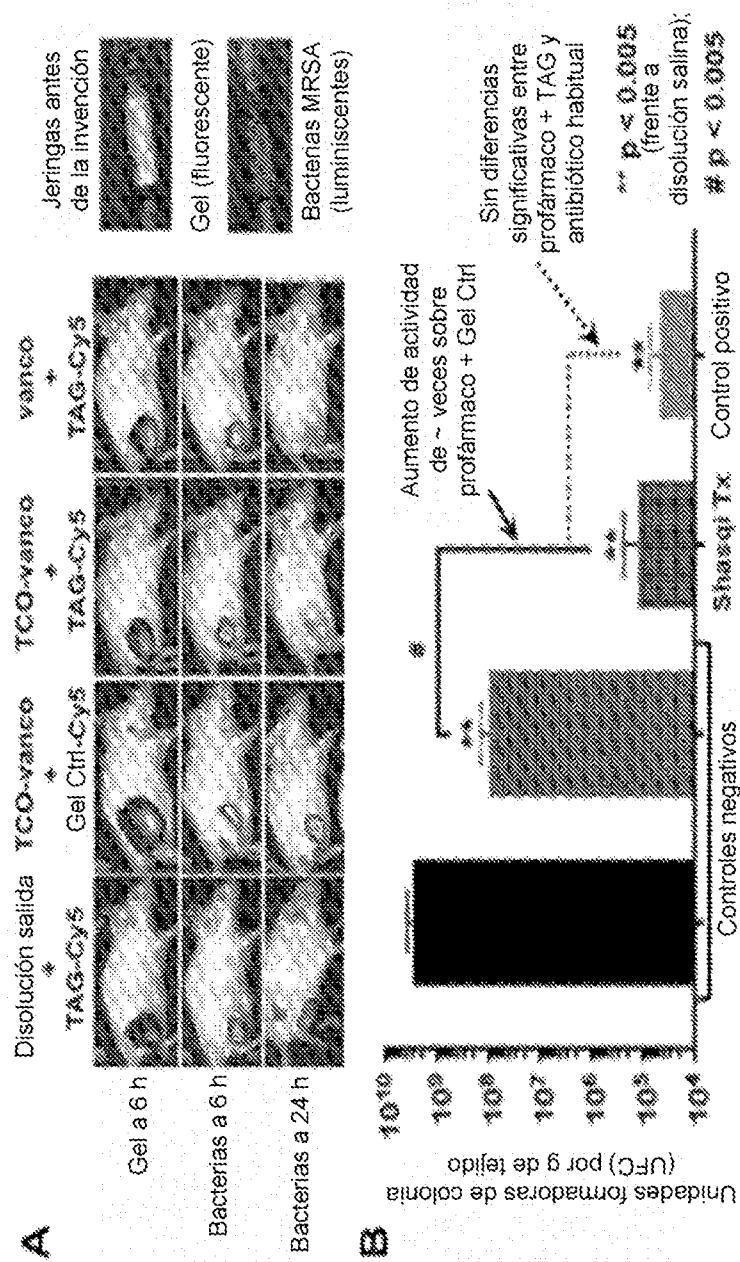


FIG. 16

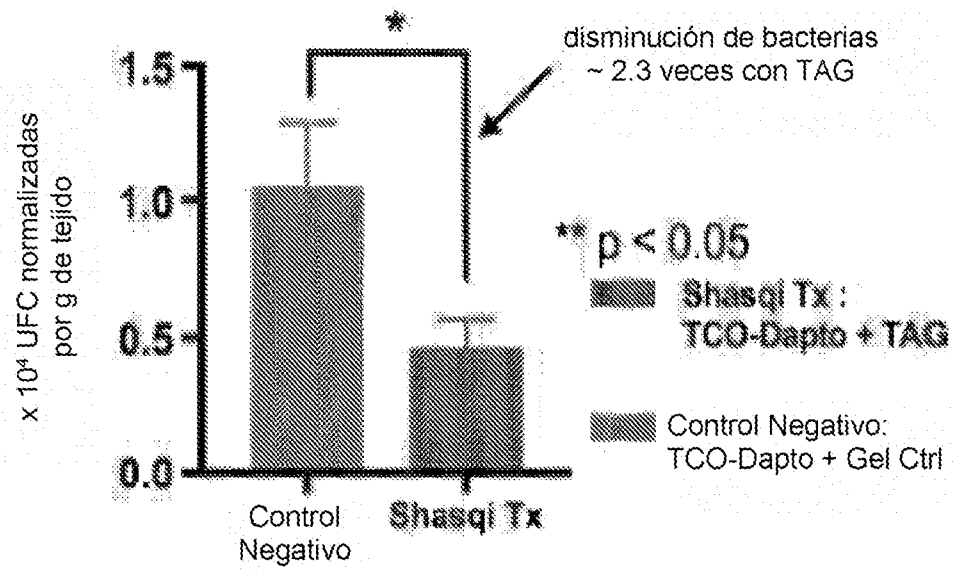


FIG. 17

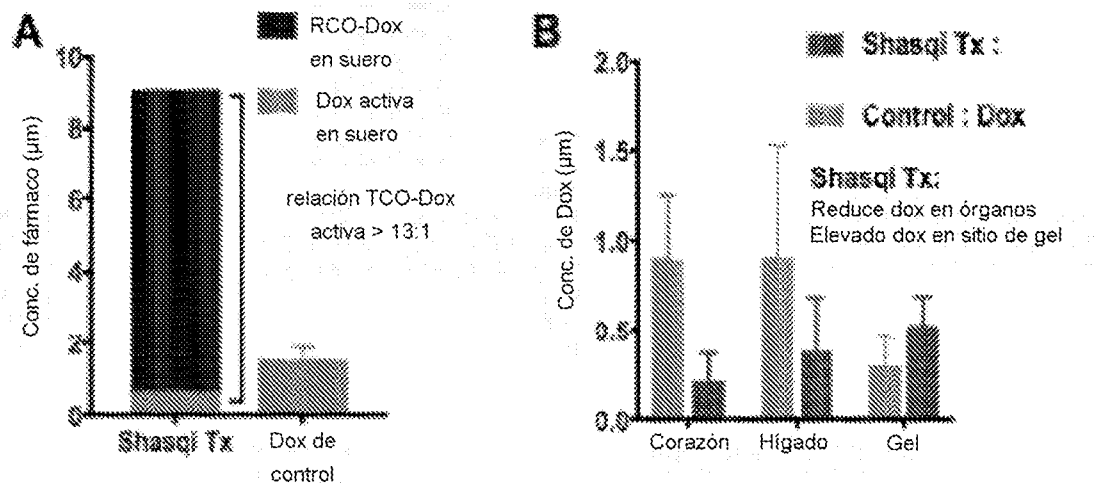


FIG. 18A y 18B

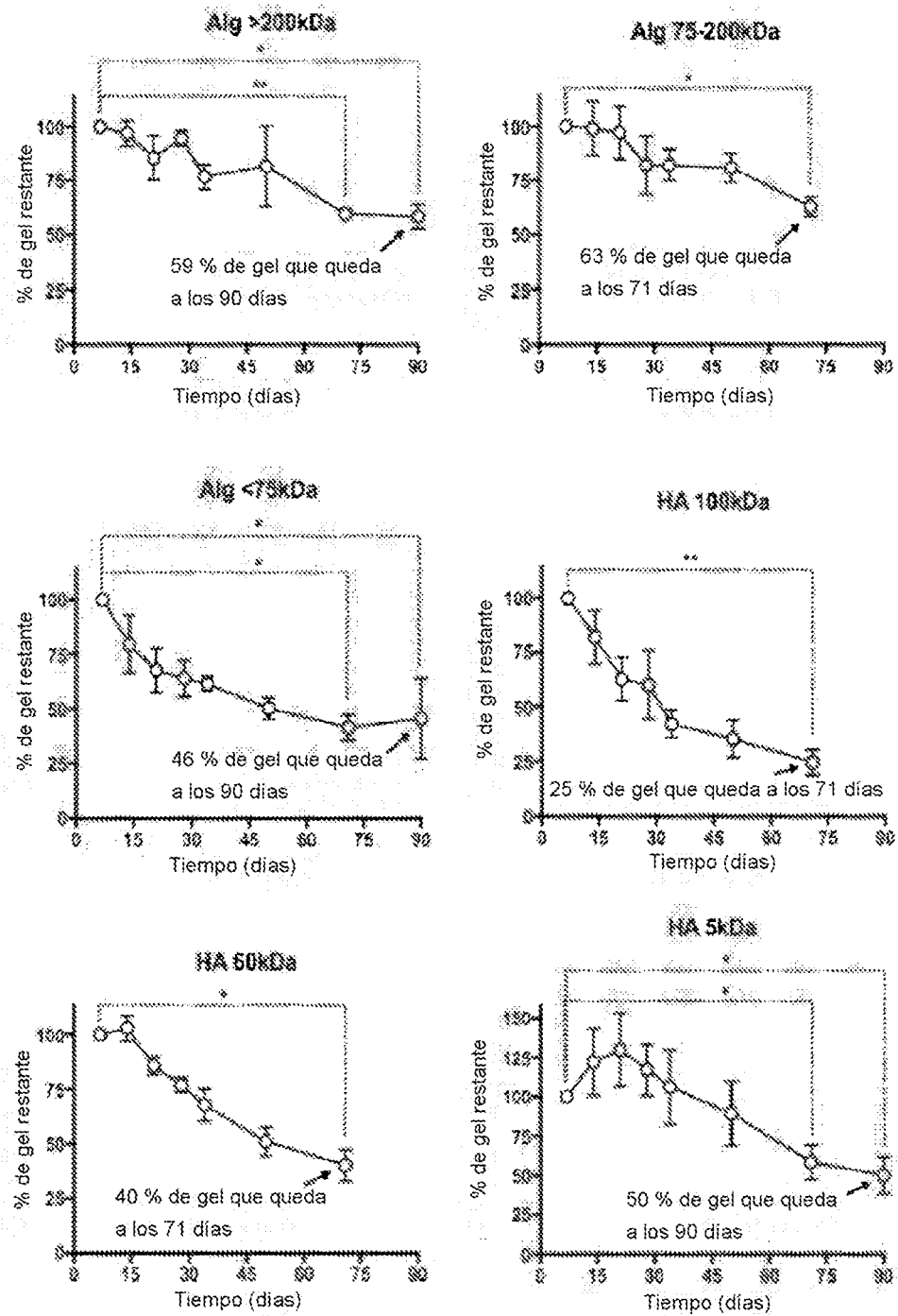


FIG. 19

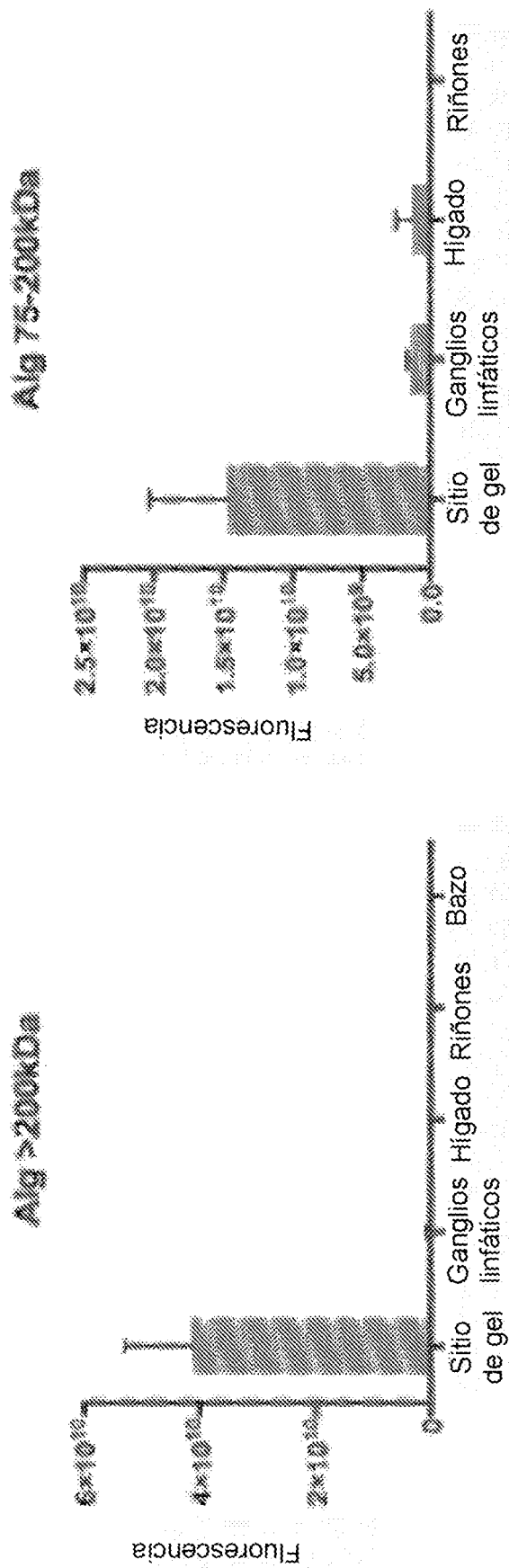


FIG. 20

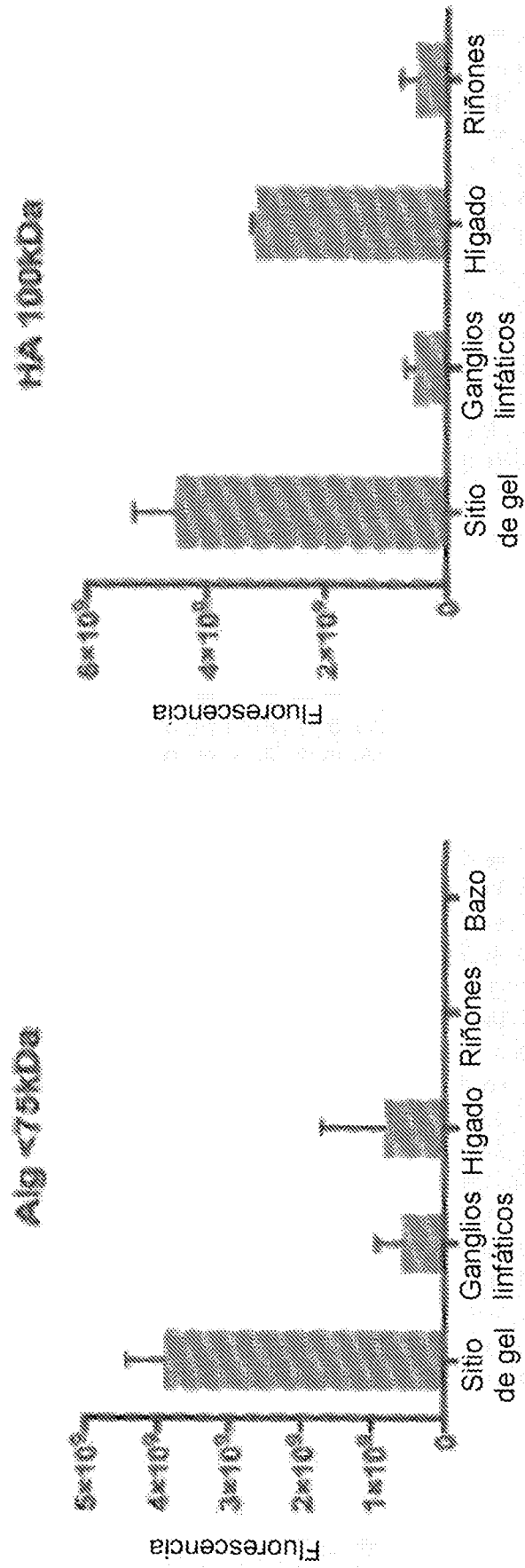


FIG. 20 (Continuación)

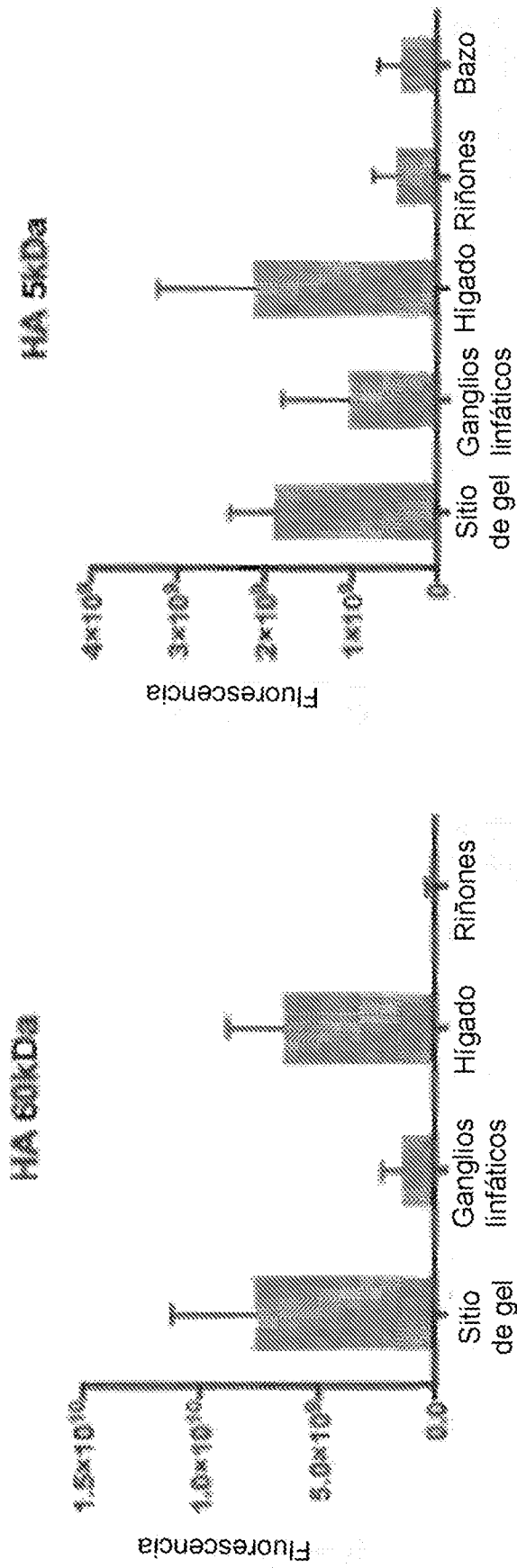


FIG. 20 (Continuación)

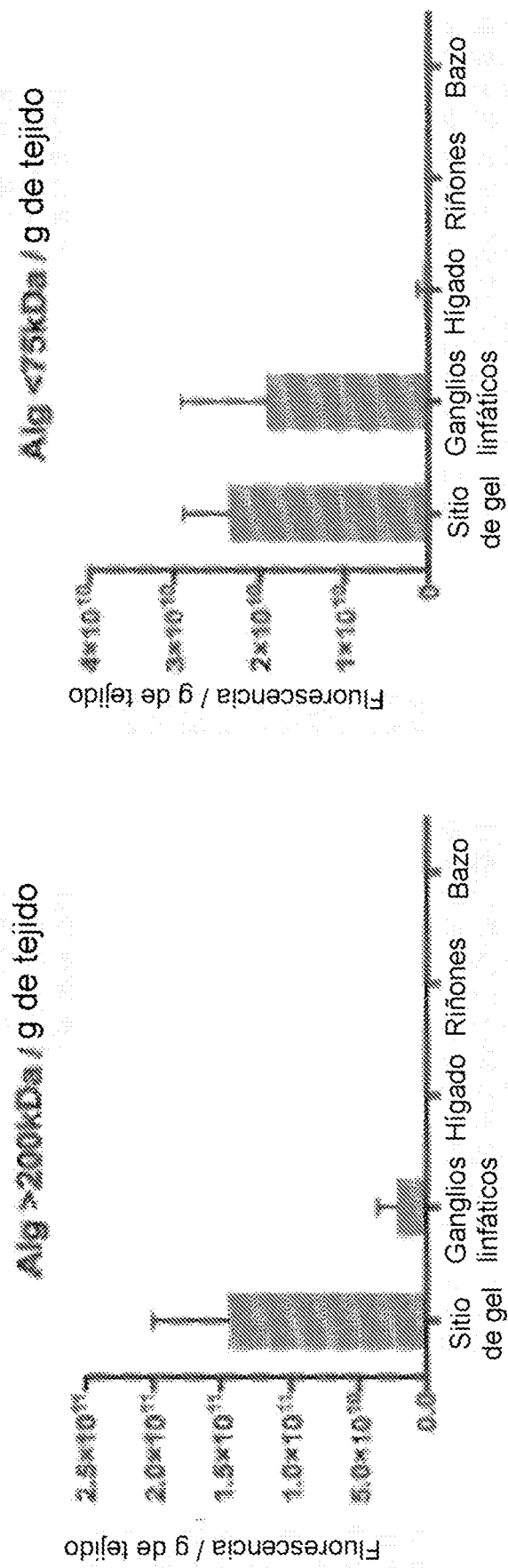


FIG. 21

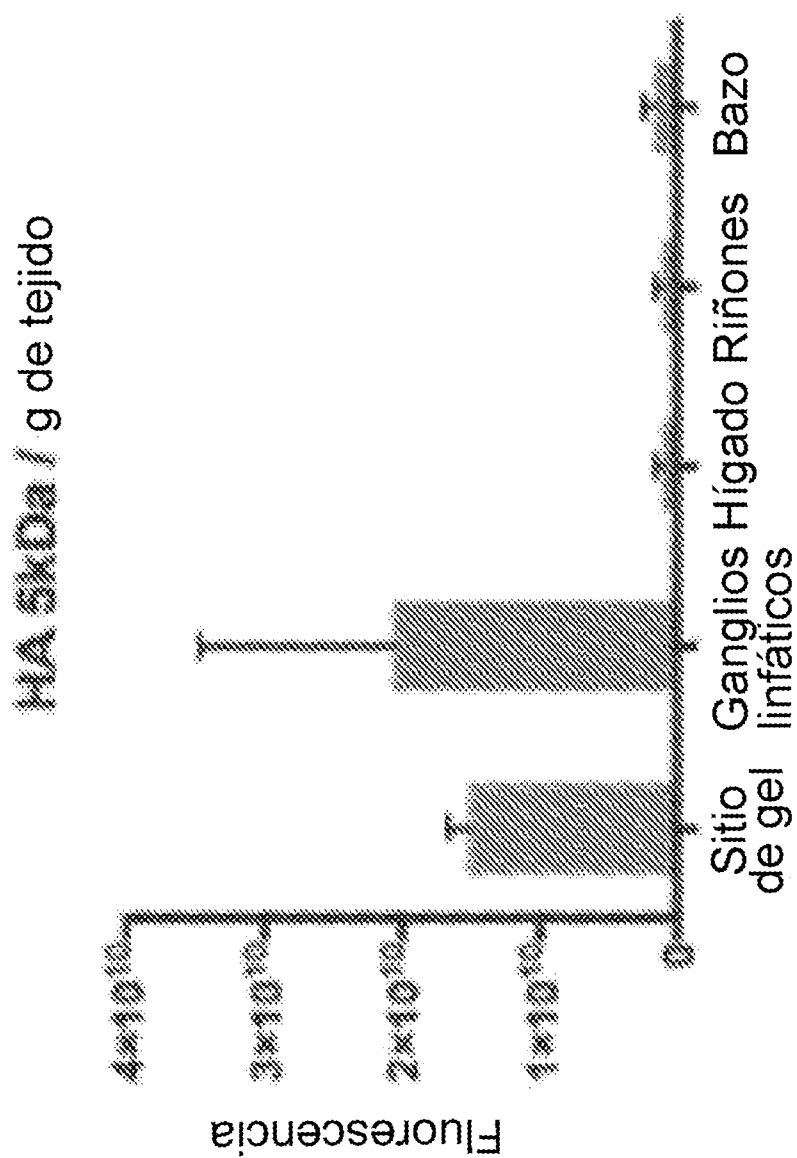


FIG. 21 (continuación)

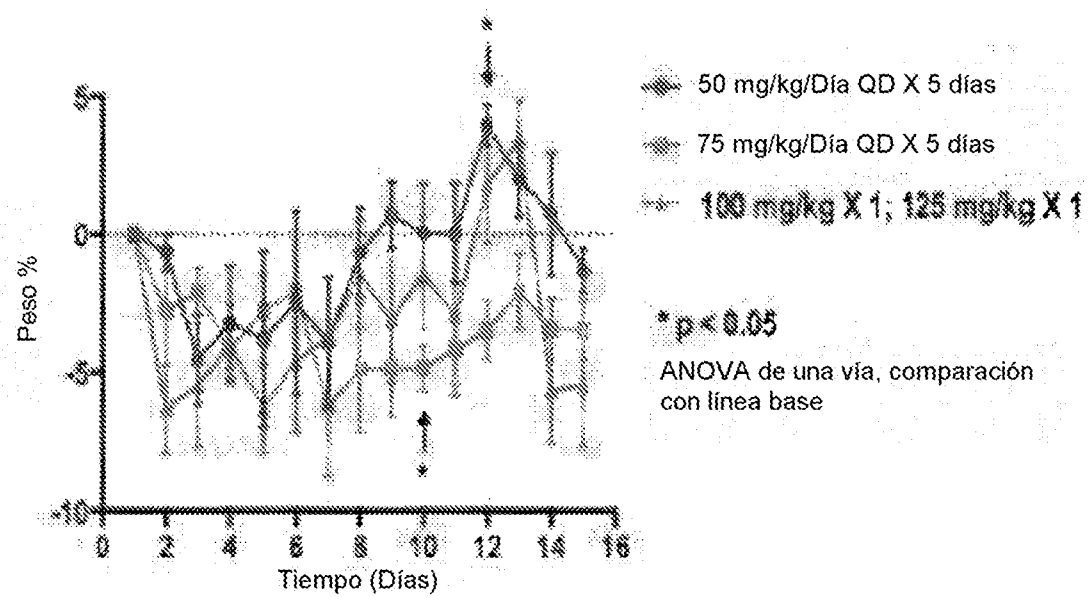
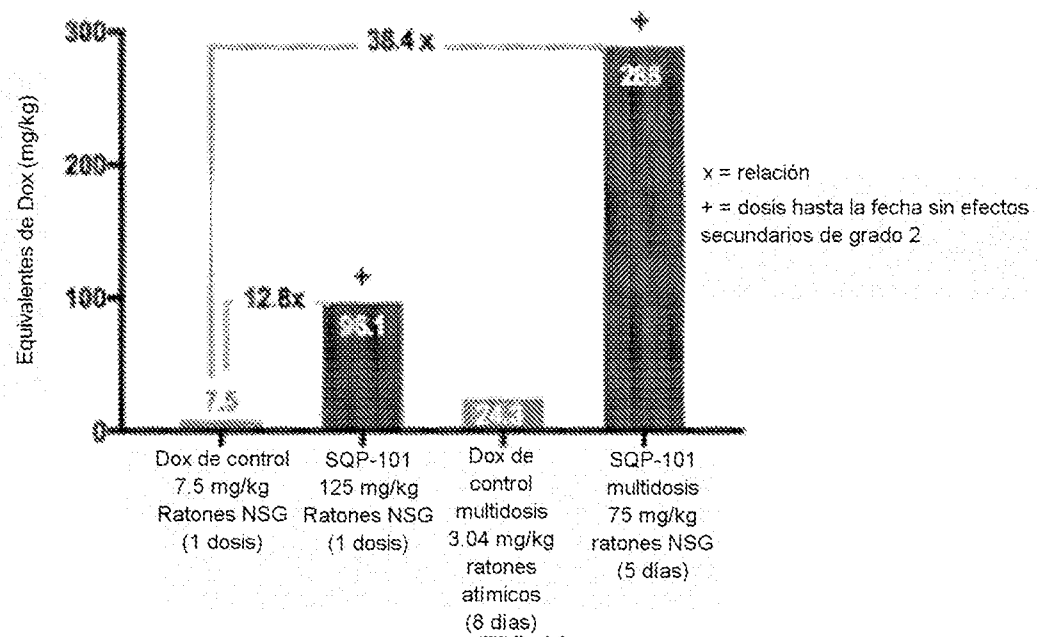


FIG. 22



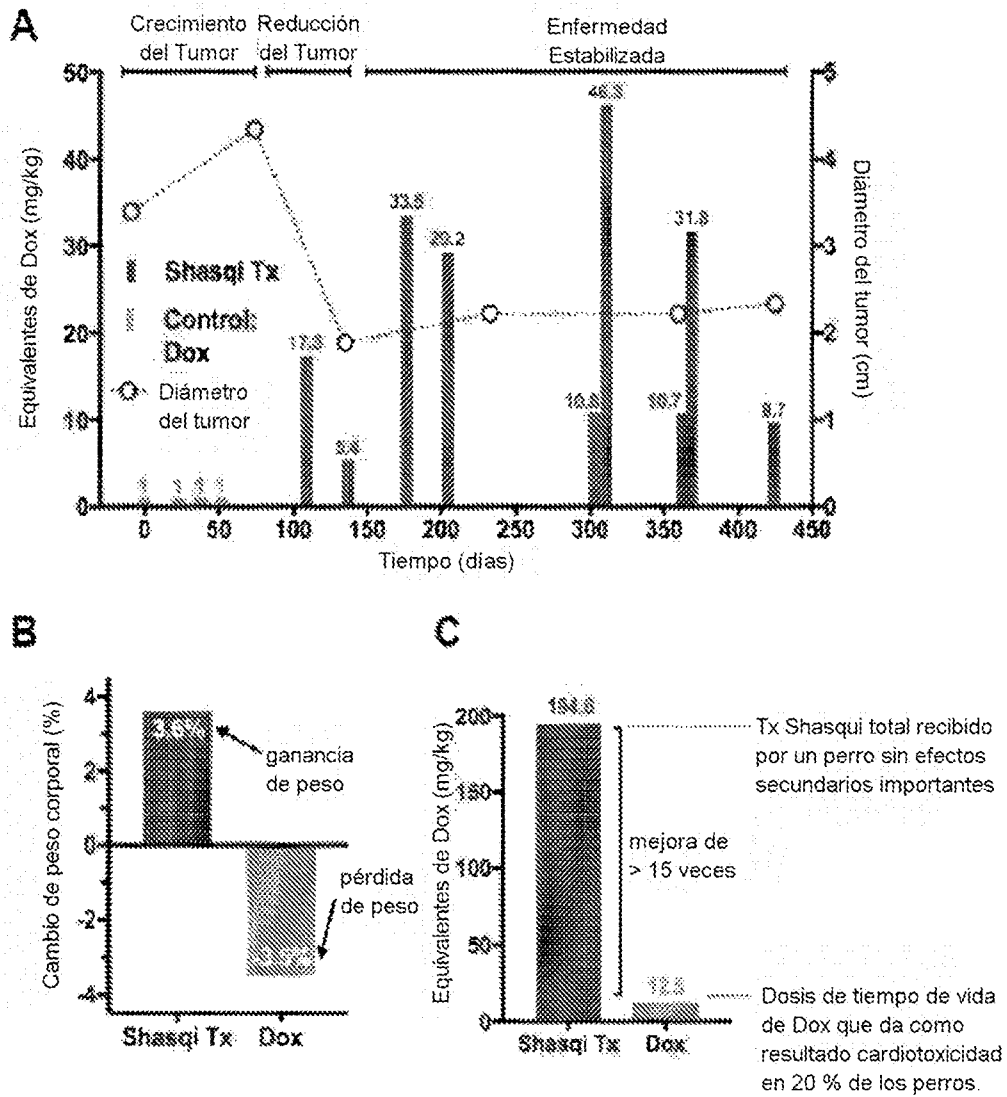


FIG. 24A-24C

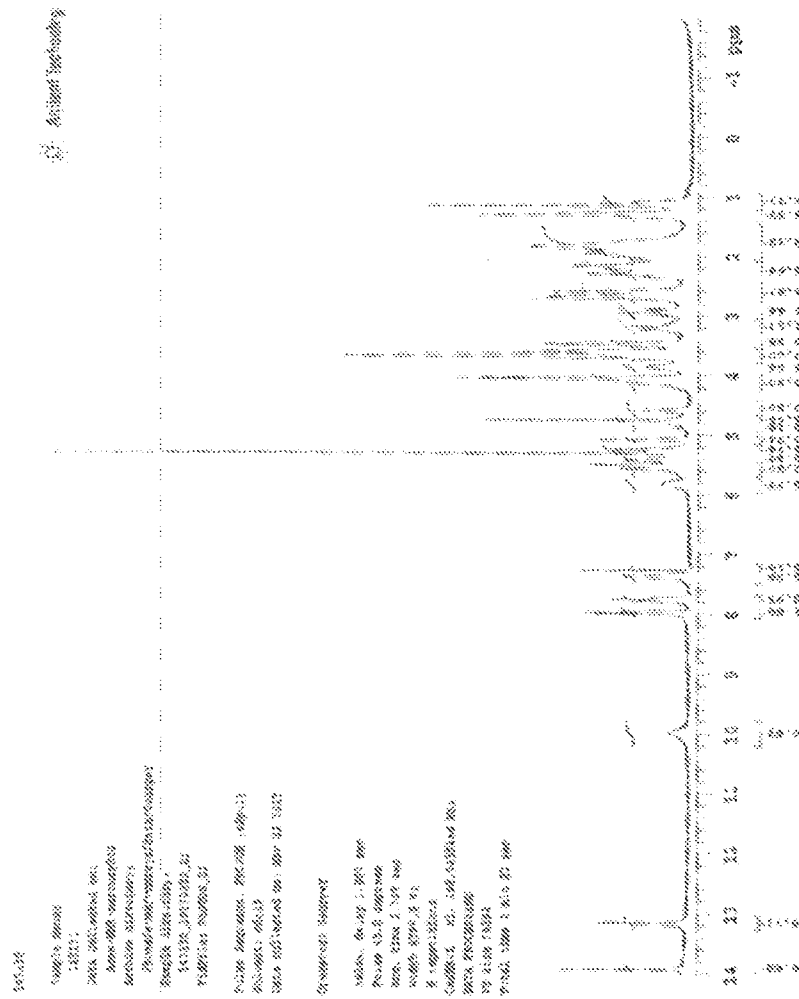


FIG. 25

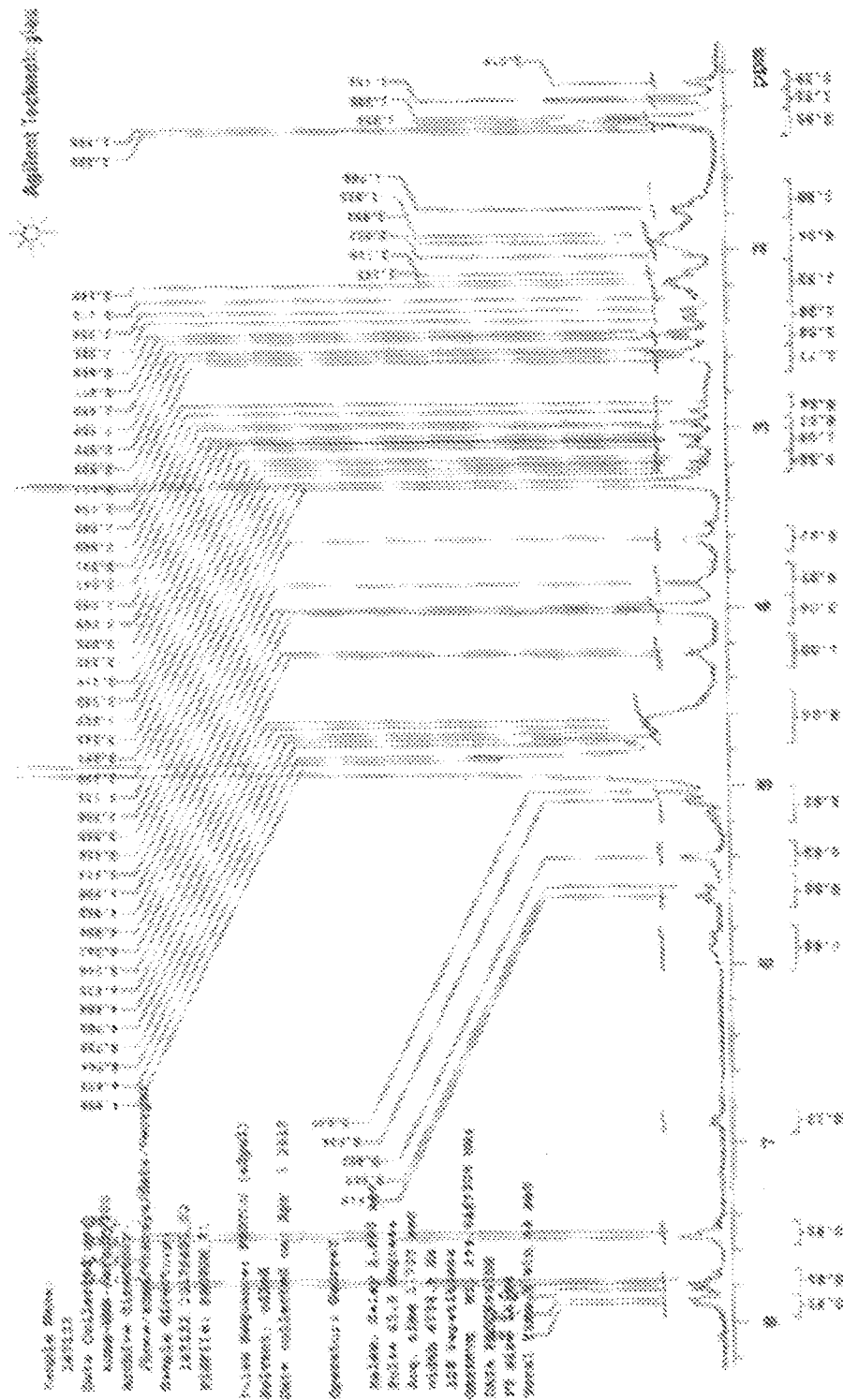


FIG. 26

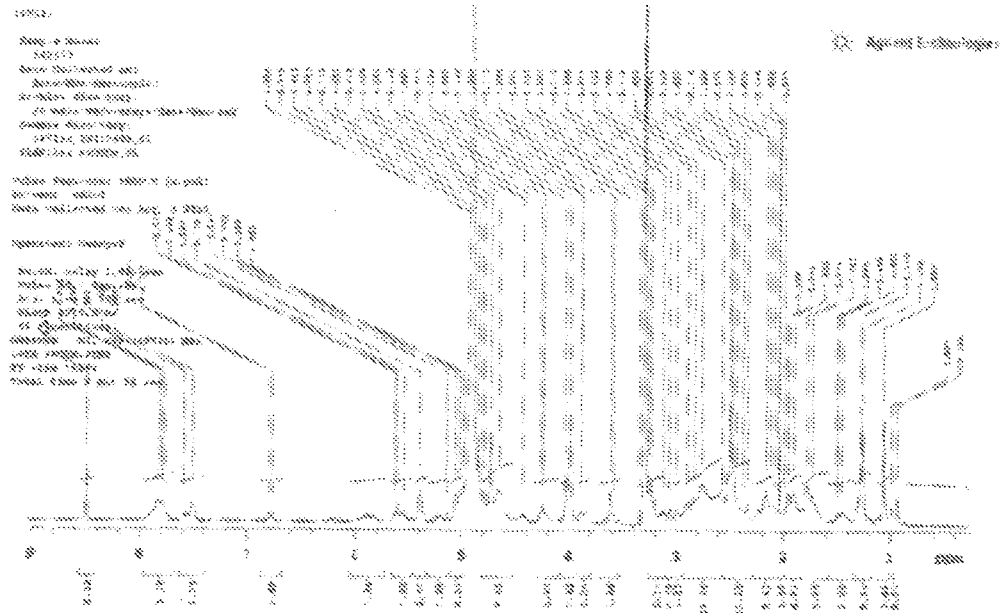


FIG. 27

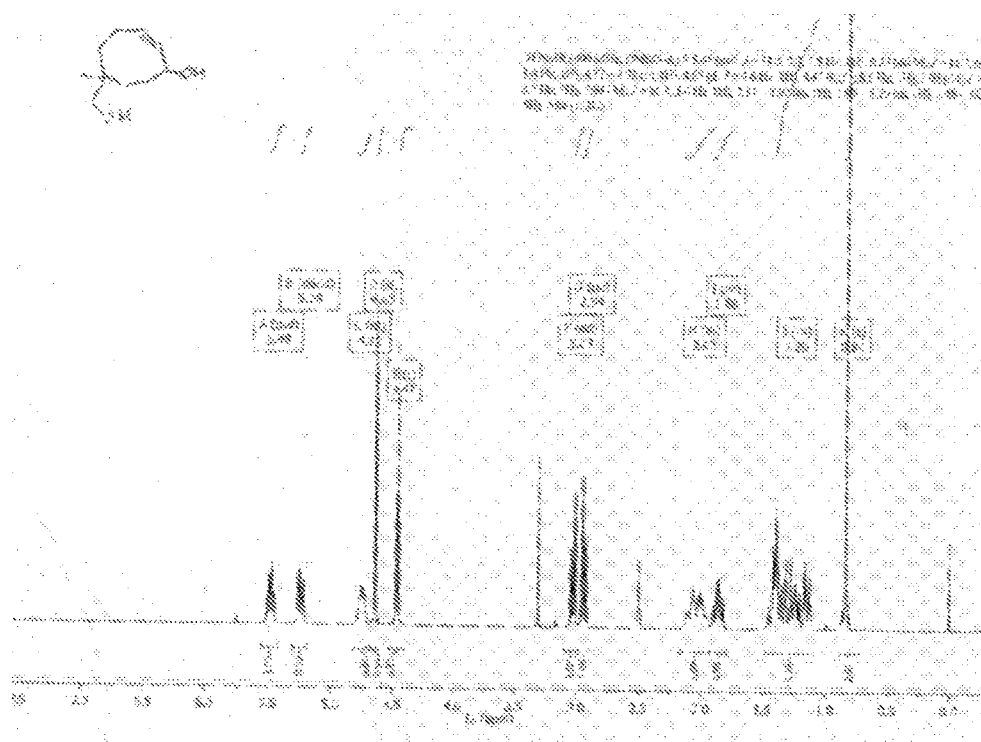


FIG. 28

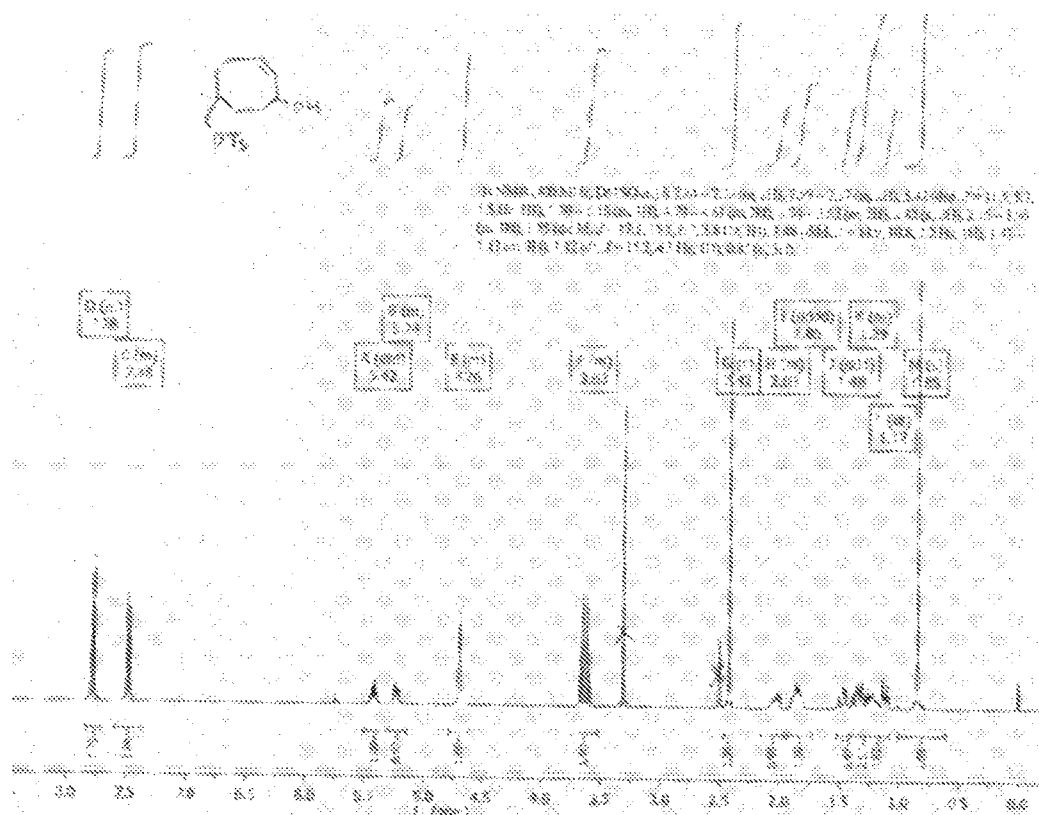


FIG. 29

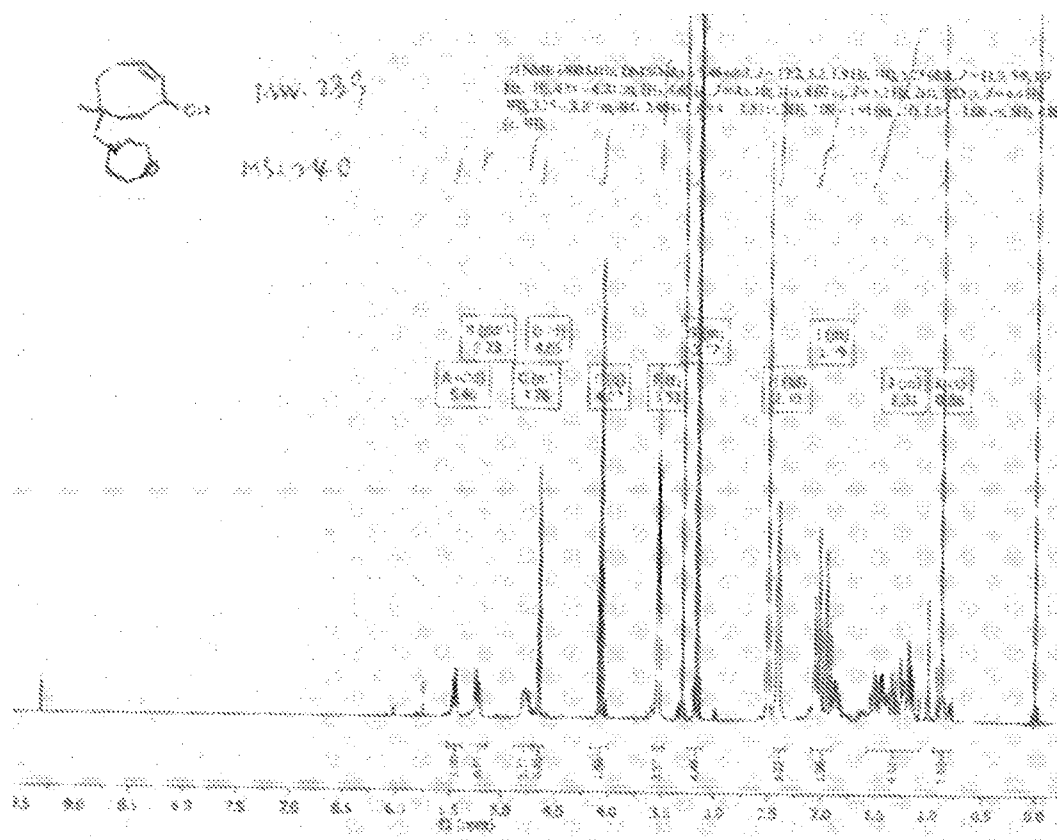


FIG. 30

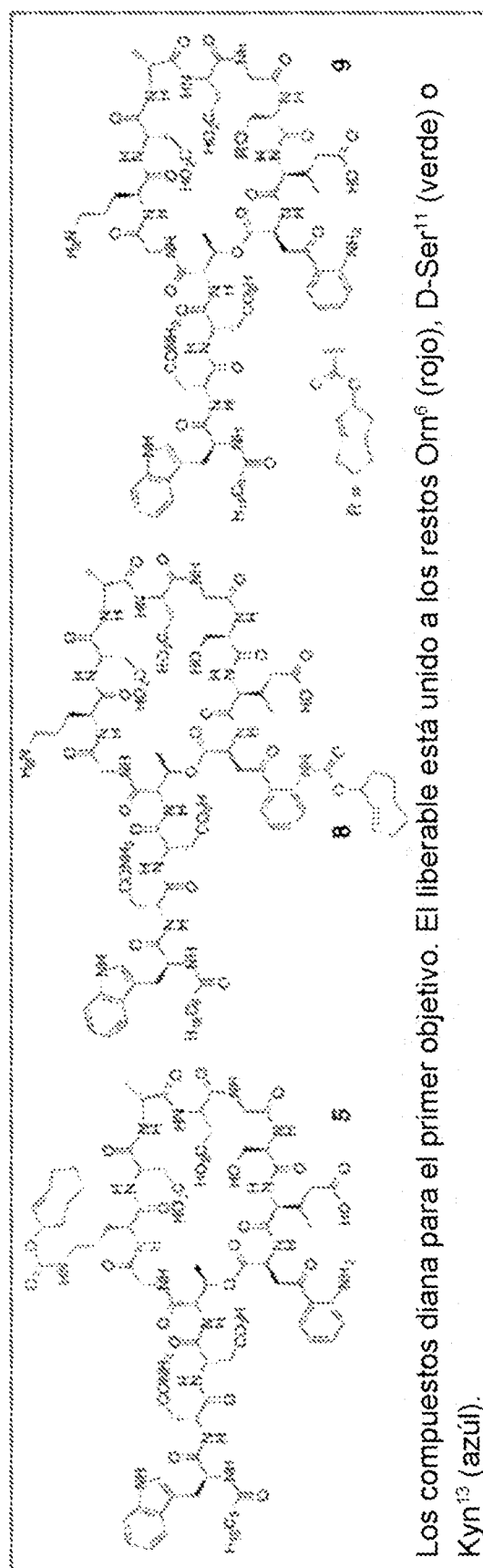


FIG. 31

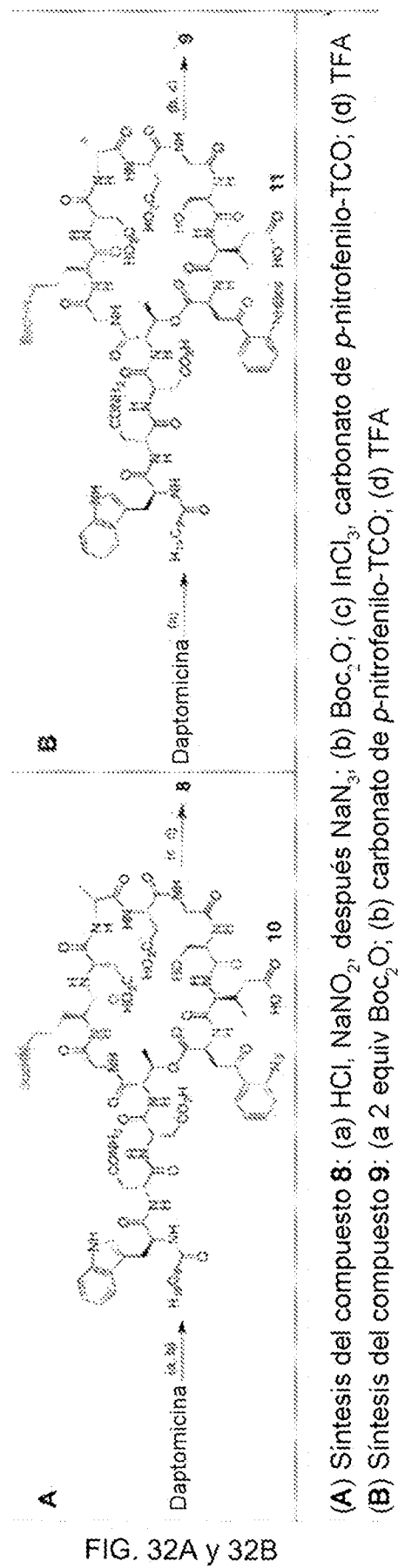
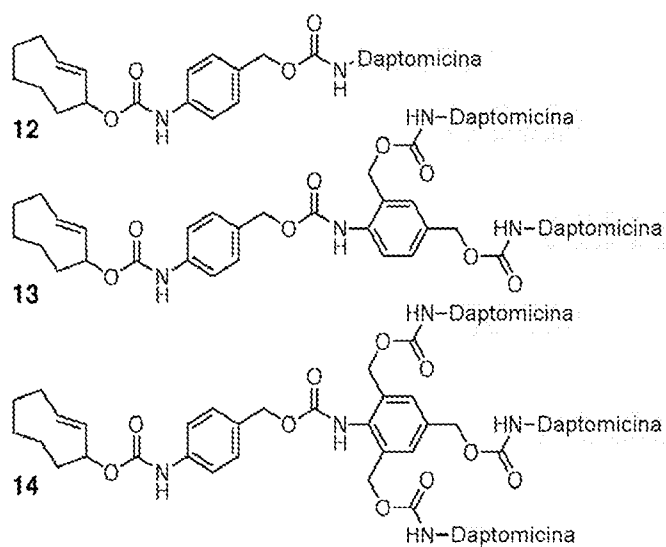
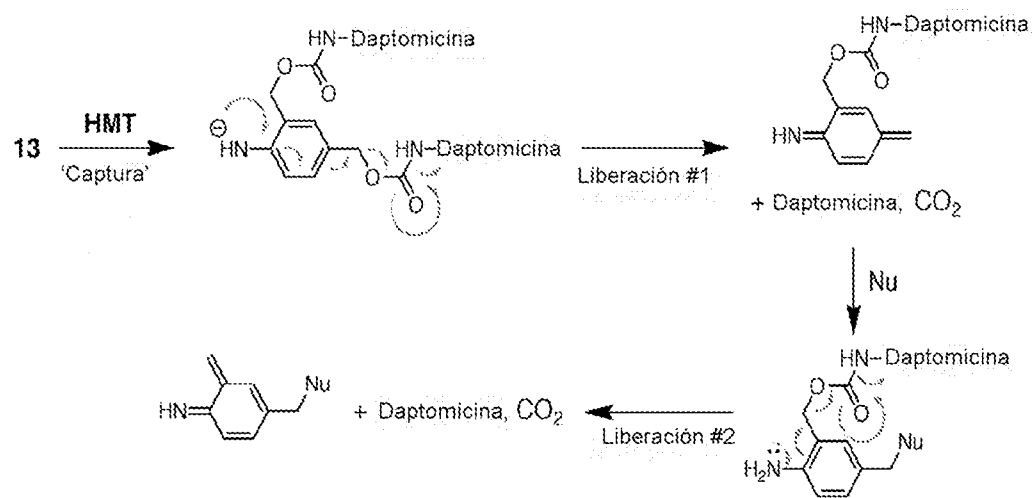


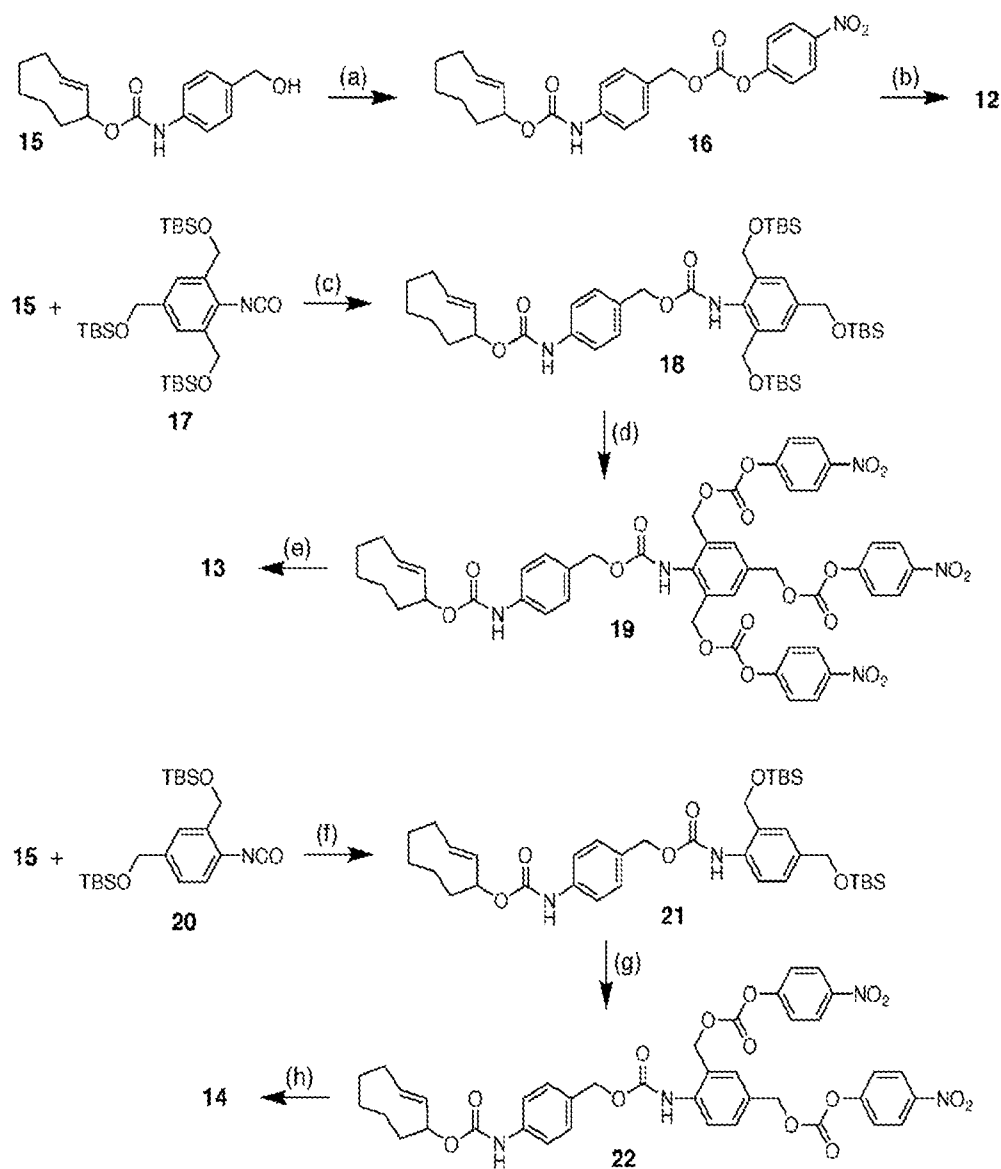
FIG. 32A y 32B

Fig. 33A y 33B

A**B**

(A) Oligómeros de Daptomicina (unión en el resto Orn⁶); (B) El mecanismo de liberación de múltiples cargas útiles con una única etapa de accionamiento.²⁹

Fig. 34



Síntesis de los oligómeros de daptomicina: (a) cloroformiato de *p*-nitrofenilo, trietilamina; (b) daptomicina; (c) trietilamina; (d) Amberlyst 15, seguido de cloroformiato de *p*-nitrofenilo; (e) daptomicina; (f) trietilamina; (g) Amberlyst 15, seguido de cloroformiato de *p*-nitrofenilo; (h) daptomicina.

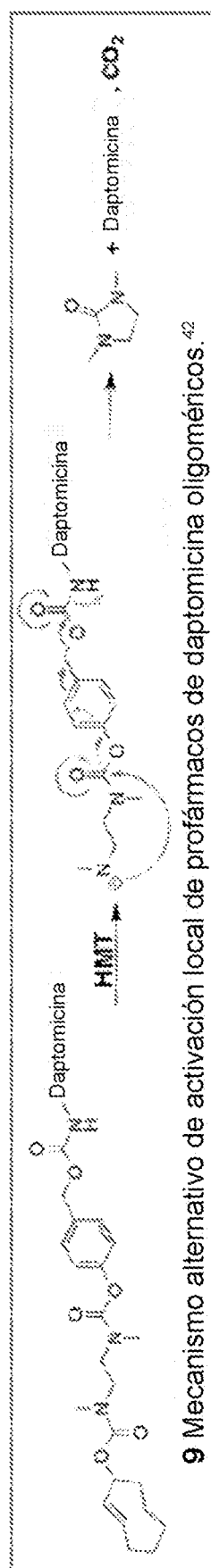


FIG. 35

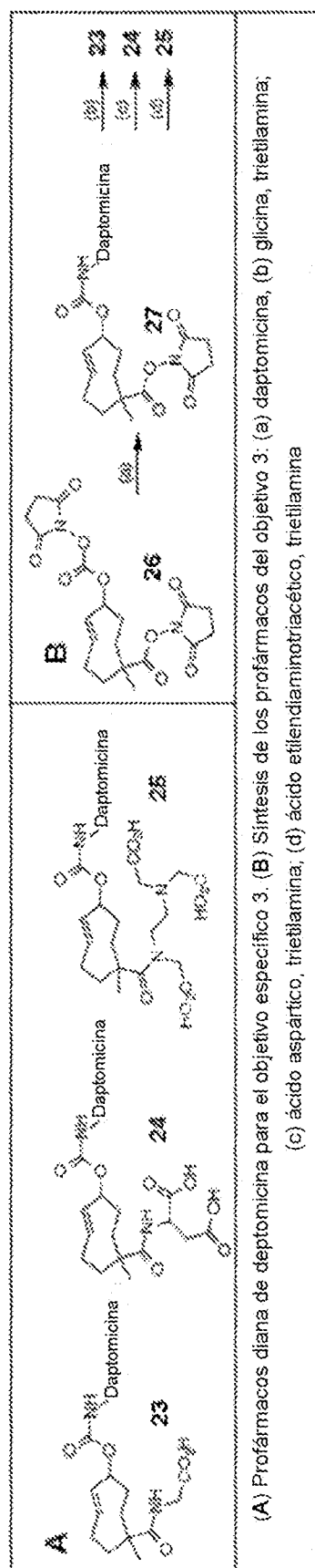


FIG. 36A y 36B

Datos de Paciente

Tabla 1 Características del Sujeto

Sujeto	Edad	Quimioterapia Previa	Radiación Previa	Shasqi	Cantidad de Dosis	Dosis
No.	(años)	(fármacos)	(dosis)	mg/kg	(μ moles/kg)	No.
1	9	Doxorrubicina: 1 mg/kg (1.74 μ moles/kg) Q3W x 4	Ninguna	7.28	10.8	3 (M.V.L.)

Tabla 2 Toxicidades relacionadas con el fármaco por Shasqi Doxo

Eventos Adversos	10.5 μ moles/kg (por ciclo)	
	Dosis 1	Las 3 Dosis
Neutrófilos	normal	normal
Neutropenia febril	ninguna	ninguna
Plaquetas	normal	normal
Vómitos	ninguno	ninguno
Hemoglobina	normal	normal
Anorexia	ninguna	ninguna
Diarrea	ninguna	ninguna
ALT	normal	normal
AST	normal	grado 1 transitorio (2x ULN @ 16d, ni después de 23 d)
Alopecia	ninguna	ninguna

FIG. 37

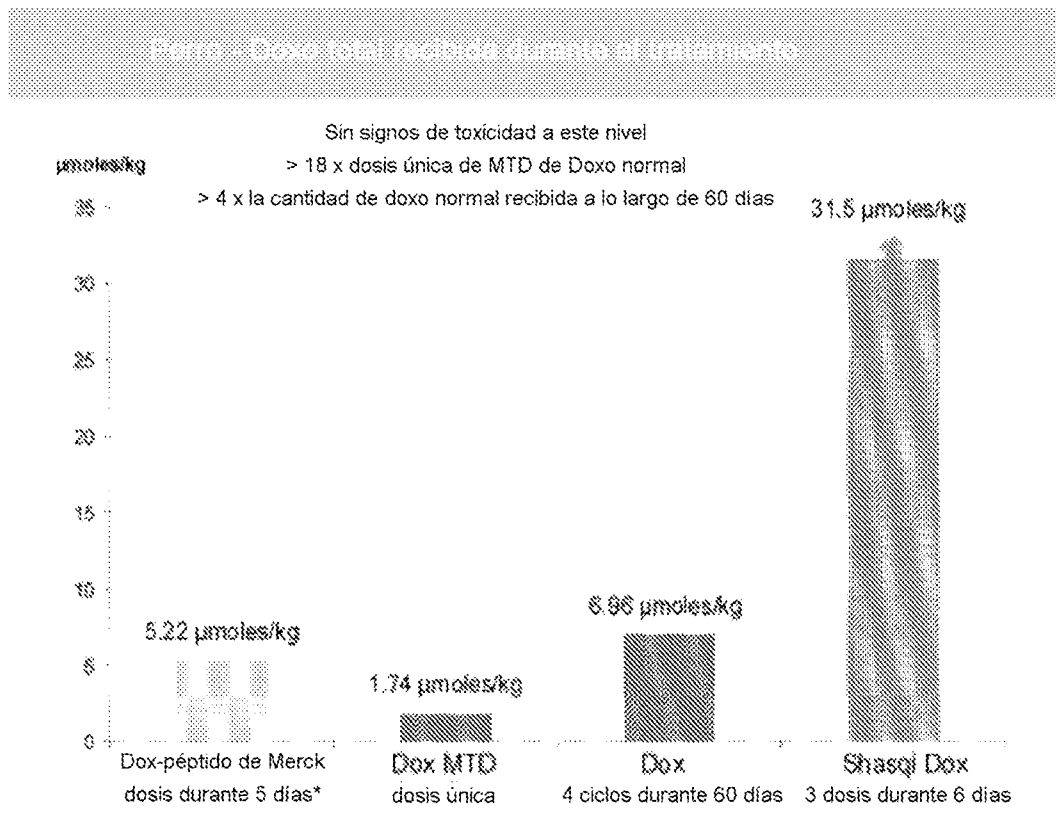


FIG. 38

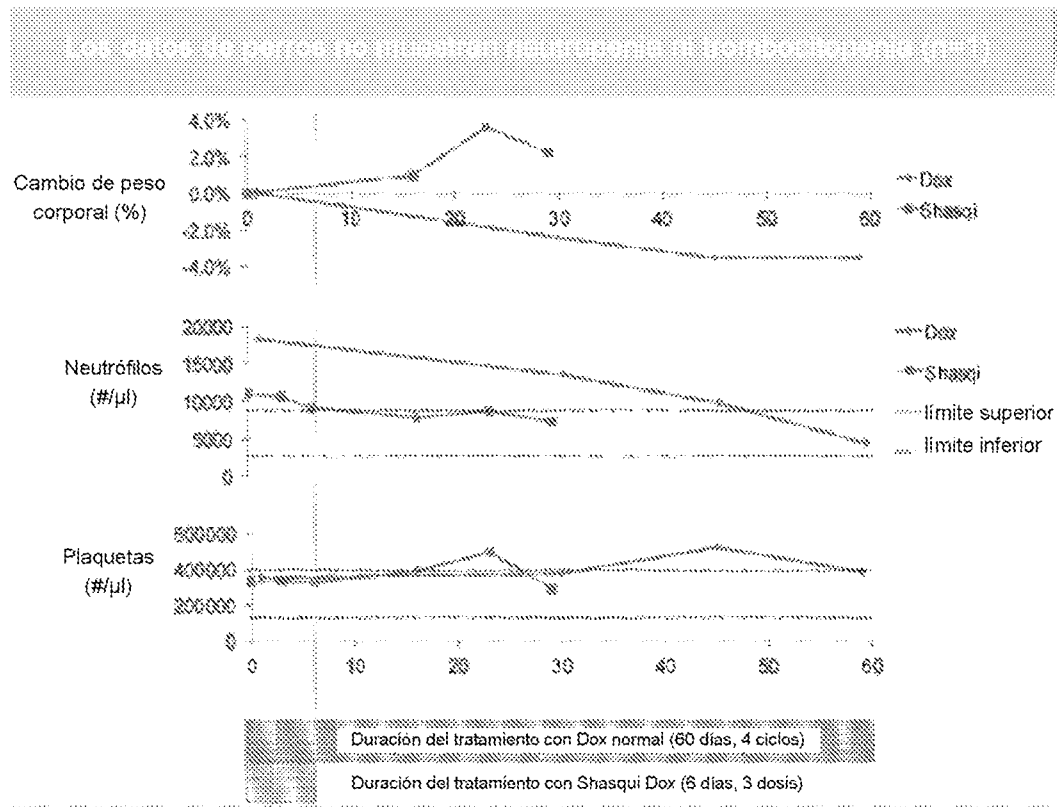


FIG. 39

Los datos de estas pruebas se muestran en la siguiente figura, que se observa con Dox normal (n=5).

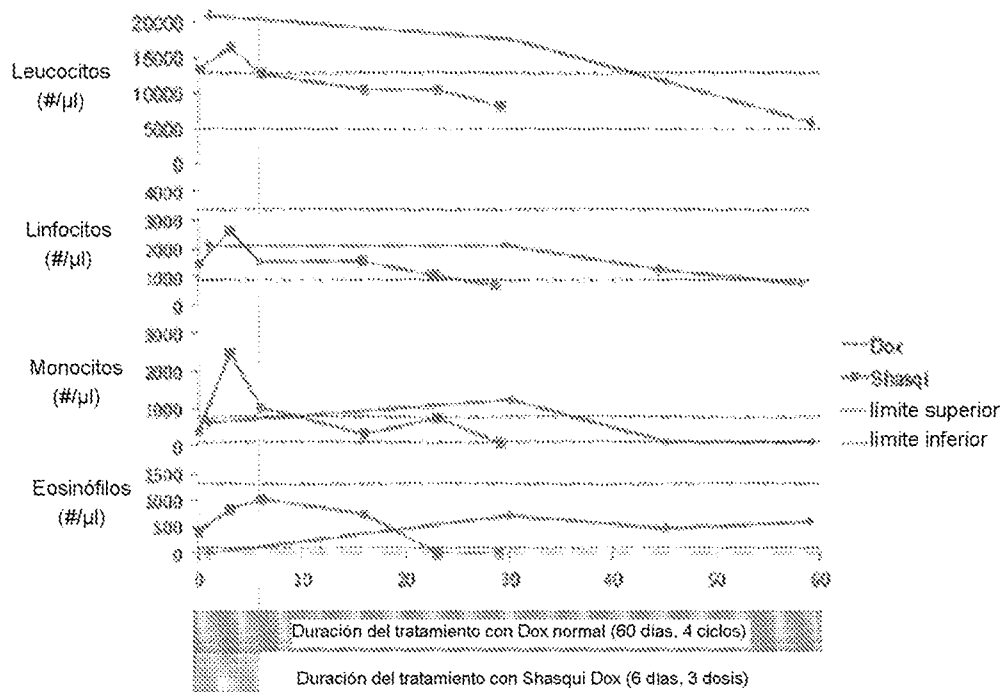


FIG. 40

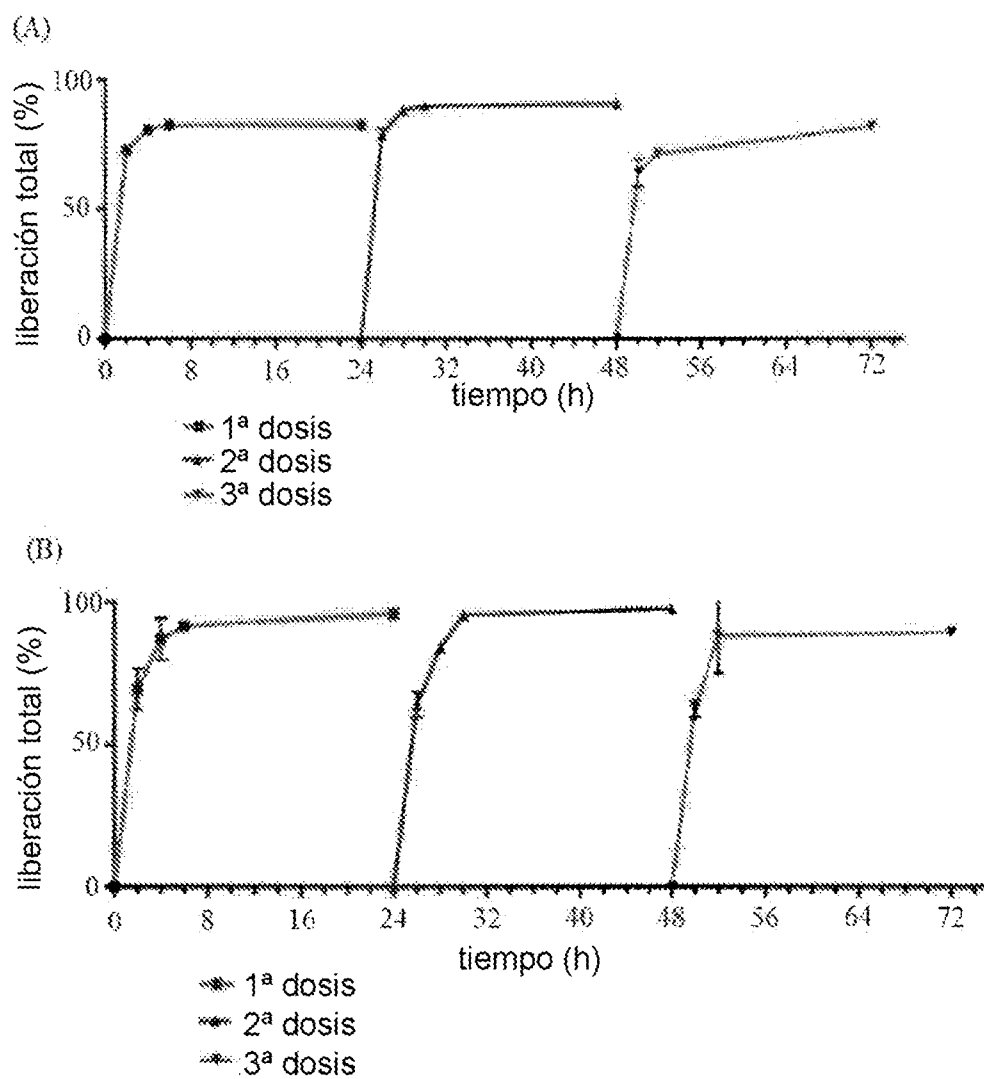


FIG. 41A y 41B

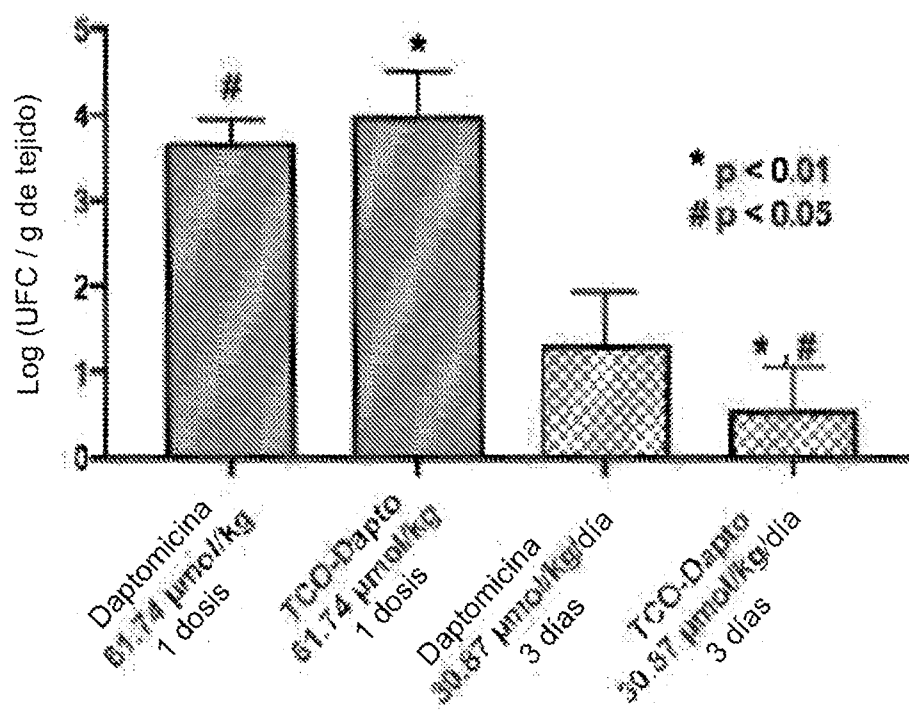


FIG. 42