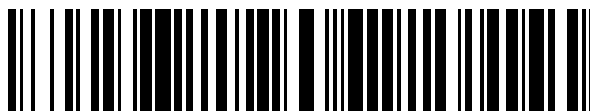


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 628**

51 Int. Cl.:

**A01N 37/18** (2006.01)  
**A01N 57/00** (2006.01)  
**A61K 31/66** (2006.01)  
**A61K 31/74** (2006.01)  
**A61K 38/00** (2006.01)  
**C08F 293/00** (2006.01)  
**C08F 275/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.02.2007 PCT/US2007/005372**  
87 Fecha y número de publicación internacional: **07.09.2007 WO07100902**  
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2007 E 07752096 (3)**  
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.12.2017 EP 1988910**

54 Título: **Conjugados poliméricos que contienen acrilolioxietilfosforilcolina y su preparación**

30 Prioridad:

**28.02.2006 US 776916 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**06.03.2018**

73 Titular/es:

**KODIAK SCIENCES INC. (100.0%)  
2631 Hanover Street  
Palo Alto CA 94304, US**

72 Inventor/es:

**CHARLES, STEPHEN A.**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 657 628 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

Conjugados poliméricos que contienen acrililoxietilfosforilcolina y su preparación

5 **Referencias cruzada a solicitudes relacionadas****Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a reactivos poliméricos y conjugados de los mismos, métodos para sintetizar los reactivos y conjugados poliméricos, composiciones farmacéuticas que comprenden los conjugados, y métodos de uso de los conjugados de polímeros que incluyen métodos terapéuticos en los que se administran conjugados a pacientes.

**Antecedentes de la invención**

15 Los esfuerzos para formular agentes biológicamente activos para la administración deben tratar una diversidad de variables que incluyen la vía de administración, la estabilidad biológica del agente activo y la solubilidad de los agentes activos en medios fisiológicamente compatibles. Las elecciones hechas en la formulación de agentes biológicamente activos y las rutas de administración seleccionadas pueden afectar a la biodisponibilidad de los  
20 agentes activos. Por ejemplo, la elección de la administración parenteral en la circulación sistémica para proteínas y polipéptidos biológicamente activos evita el entorno proteolítico que se encuentra en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, incluso cuando es posible la administración directa, tal como por inyección, de agentes biológicamente activos, las formulaciones pueden ser insatisfactorias por una diversidad de razones, incluyendo la generación de una respuesta inmune al agente administrado y respuestas a cualquier excipiente, incluyendo quemaduras y  
25 picaduras. Incluso si el agente activo no es inmunógeno y se pueden emplear excipientes satisfactorios, los agentes biológicamente activos pueden tener una solubilidad limitada y una semivida biológica corta que puede requerir una administración repetida o infusión continua, lo que puede ser doloroso y/o inconveniente.

30 Para algunos agentes biológicamente activos, se ha logrado un grado de éxito en el desarrollo de formulaciones adecuadas de agentes bioactivos conjugando los agentes con polímeros solubles en agua. La conjugación de agentes biológicamente activos con polímeros solubles en agua generalmente se considera que proporciona una diversidad de beneficios para la administración de agentes biológicamente activos, y en particular, proteínas y péptidos. Entre los polímeros solubles en agua empleados, polietilenglicol (PEG) se ha conjugado más ampliamente con una diversidad de agentes biológicamente activos, incluyendo péptidos biológicamente activos. Una reducción  
35 en inmunogenicidad o antigenicidad, aumento de la semivida, aumento de la solubilidad, disminución de la depuración por parte del riñón y disminución de la degradación enzimática se han atribuido a conjugados de una diversidad de polímeros solubles en agua y agentes bioactivos, incluyendo conjugados de PEG. Como resultado de estos atributos, los conjugados poliméricos del agente biológicamente activo requieren una dosificación menos frecuente y pueden permitir el uso de menos agente activo para alcanzar un criterio de valoración terapéutico. La  
40 dosificación menos frecuente reduce el número total de inyecciones, que pueden ser dolorosas y requieren visitas incómodas a los profesionales de la salud.

Aunque se ha logrado cierto éxito con la conjugación de PEG, la "PEGilación" de agentes biológicamente activos sigue siendo un desafío, ya que la conjugación de PEG puede dar como resultado la pérdida de la actividad  
45 biológica. Se ha avanzado una diversidad de teorías para explicar la pérdida de actividad biológica tras la conjugación con PEG. Estos incluyen el bloqueo de sitios necesarios para que el agente interactúe con otros componentes biológicos, ya sea por el enlace de conjugación o por el agente que está enterrado dentro del conjugado de PEG, particularmente cuando el polímero es largo y puede "envolverse" en torno a parte del agente activo, bloqueando de este modo el acceso a ligandos potenciales requeridos para la actividad.

50 Se han introducido formas ramificadas de PEG para su uso en la preparación de conjugados para aliviar algunas de las dificultades encontradas con el uso de cadenas poliméricas de PEG largas y rectas. Mientras que el polímero ramificado puede superar algunos de los problemas asociados con los conjugados formados con polímeros de PEG lineales largos, ni los conjugados poliméricos de PEG ramificados ni lineales resuelven completamente los  
55 problemas asociados con el uso de agentes bioactivos conjugados. Tanto los conjugados de PEG lineales como ramificados pueden, por ejemplo, padecer velocidades de degradación que son demasiado largas o demasiado cortas. Una velocidad de degradación rápida puede dar como resultado un conjugado que tiene una semivida in vivo demasiado corta, mientras que una velocidad de degradación demasiado lenta puede dar como resultado una semivida conjugada larga inaceptable *in vivo*.

60 En vista de las ventajas reconocidas de conjugar agentes bioactivos con polímeros solubles en agua, y las limitaciones de los polímeros solubles en agua, tal como PEG, en la formación de conjugados adecuados para fines terapéuticos, son deseables polímeros solubles en agua adicionales para formar conjugados con agentes bioactivos. Los polímeros solubles en agua, particularmente los que tienen muchas de las ventajas de PEG para su uso en la  
65 formación de conjugados, y que no padecen las desventajas observadas con PEG como un agente de conjugación, serían deseables para su uso en la formación de agentes terapéuticos y de diagnóstico. Para este fin, se establecen

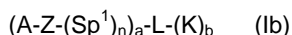
polímeros de 2-metacrililoiloxietil-fosforilcolina para su uso en la preparación de conjugados de agentes biológicamente activos.

El documento WO03/074090 describe conjugados comparables en los que, sin embargo, la porción polimérica es iónica y difiere además en su unión del agente biológico de la presente invención.

**Breve resumen de la invención**

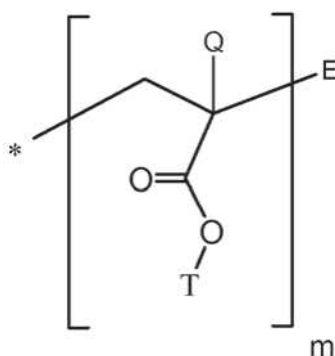
La invención proporciona un compuesto que comprende un agente biológicamente activo unido covalentemente a un polímero que contiene fosforilcolina ramificada, en el que el plásmido tiene dos o más brazos poliméricos que se extienden desde un único grupo, en el que la porción polimérica del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etilo].

En una realización el compuesto es un compuesto de fórmula (Ib) o una sal, hidrato, o isómero del mismo:

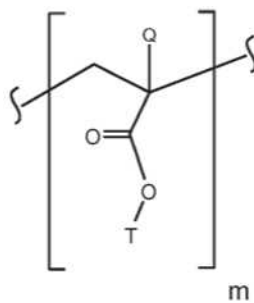


donde

K es un grupo de la fórmula



en la que la porción polimérica:



del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etilo];

cada aparición de E se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo y Nu, en el que Nu representa un grupo nucleófilo;

Sp<sup>1</sup> es un grupo espaciador;

n es 0 o 1, en la que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;

m es un número entero que varía de 2 a 2.000;

a es un número entero que varía de 1 - 8;

b es un número entero que varía de 1 - 8;

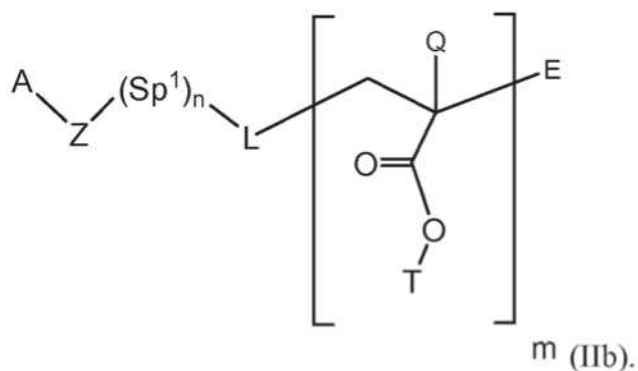
L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico;

A es un agente biológicamente activo;

Z es el producto de la reacción entre un grupo presente en dicho agente biológicamente activo y un grupo reactivo unido a dicho grupo Sp<sup>1</sup> cuando n es 1, o un grupo reactivo unido a L cuando n es 0; y

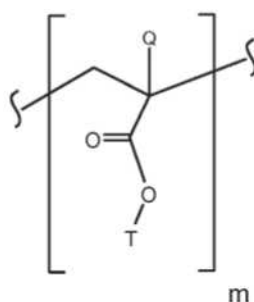
\* indica el punto de unión de cada grupo K a dicho L.

En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula (IIb), que son realizaciones de compuestos de fórmula (Ib) donde a y b son ambos 1:



donde  
la porción polimérica:

5



del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etil];

10 E se selecciona independientemente del grupo que consiste en Br, Cl, I, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo C<sub>1-4</sub>), -N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, -OH, -O-(alquilo C<sub>1-4</sub>), y -O-(alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido con flúor);

Sp<sup>1</sup> es un grupo espaciador;

n es 0 o 1, en la que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;

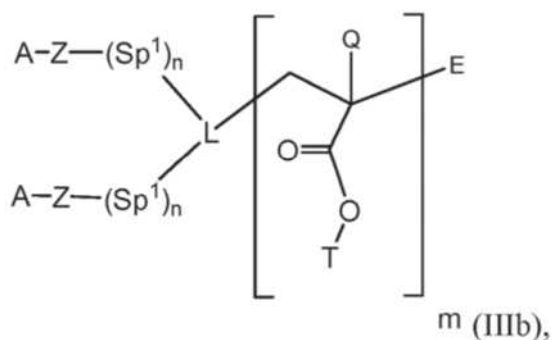
m es un número entero que varía de 2 a 2.000;

15 L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico;

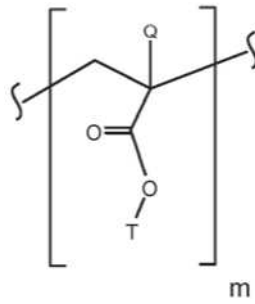
A es un agente biológicamente activo; y

Z es el producto de la reacción entre un grupo presente en dicho agente biológicamente activo y un grupo reactivo unido a dicho grupo Sp<sup>1</sup> cuando n es 1, o un grupo reactivo unido a L cuando n es 0.

20 En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula (IIIb), que son realizaciones de compuestos de fórmula (Ib) donde a = 2 y b = 1,

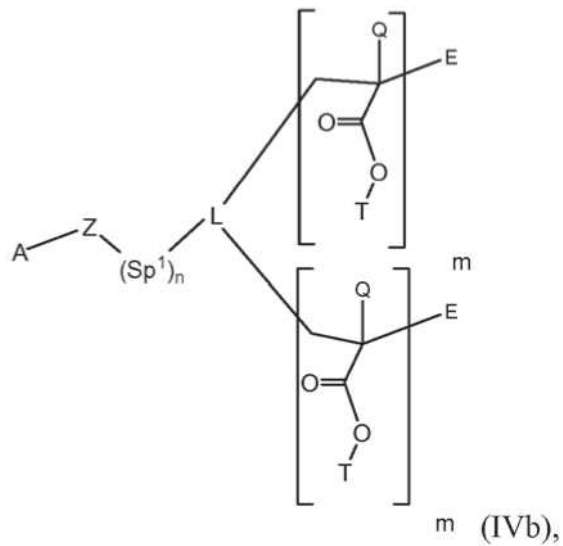


25 en la que la porción polimérica:

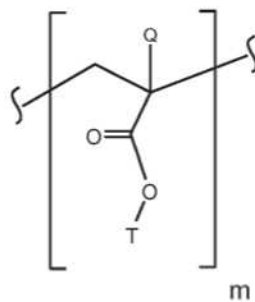


del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etilo].

- 5 En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula (IVb), que son realizaciones de compuestos de fórmula (Ib) donde  $a = 1$  y  $b = 2$ ,

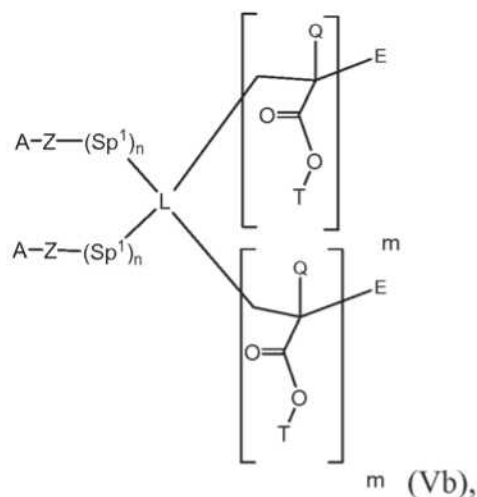


- 10 en la que cada porción polimérica:

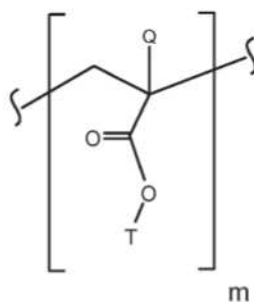


del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etilo].

- 15 En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula (Vb), que son realizaciones de compuestos de fórmula (Ib) donde  $a = 2$  y  $b = 2$ ,



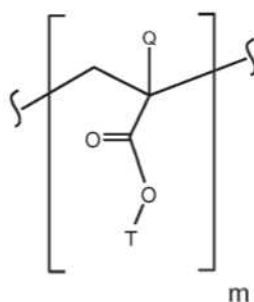
en la que cada porción polimérica:



5

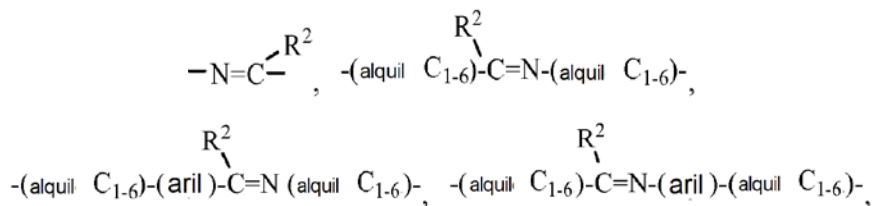
del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etilo].

10 En otra realización, el compuesto es un compuesto de fórmula (Ib) (IIb), (IIIb) (IVb) o (Vb), donde cada porción polimérica:

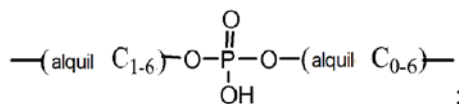


15 del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etilo];  
 cada aparición de E se selecciona independientemente del grupo que consiste en Br, Cl, I, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo C<sub>1-4</sub>), -  
 N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, -OH, -O(alquilo C<sub>1-4</sub>), y -O(alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido con flúor);  
 cada aparición de Sp<sup>1</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en: -alquil C<sub>1-12</sub>-, -cicloalquil C<sub>3-12</sub>-, -  
 (alquil C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-(alquil C<sub>0-8</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, (-  
 (CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>)<sub>1-12</sub>O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>)<sub>1-12</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>(C=O)-O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-(C=O)-, -(fenil)-  
 20 (CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>(C=O)-O-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -  
 CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-O- -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(C=O)-  
 NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-O-, -  
 (alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-  
 (C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>NH-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>(C=O)-NH-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>(C=O)-NH-, -S-(CH<sub>2</sub>)-(C=O)-NH-(fenil)-, -  
 25 (CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>O-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-N-(alquil C<sub>1-6</sub>)-,  
 acetal, cetal, aciloxialquil éter, -N=CH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-, -  
 (alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>NH-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-, -S-S-(alquil C<sub>0-3</sub>)-  
 (fenil)-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>(C=O)-NH-, -S-S-(alquil  
 C<sub>1-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-, -O-(alquil C<sub>1-6</sub>)-S(O)<sub>2</sub>-(alquil C<sub>1-6</sub>)-O-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>(C=O)-, -  
 30 (CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>(C=O)-NH-N=C-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-

(heteroaril)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-fenil-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-,



5 y



n es 0 o 1, en las que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;

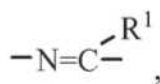
m es un número entero que varía de 2 a 2.000;

10 L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico;

A es un agente biológicamente activo;

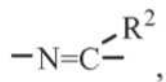
Z se selecciona del grupo que consiste en: fosfato, éster de fosfato, -(C=O)O-, éster del ácido carboxílico, tioéster, amida, disulfuro, amina, -NH(R<sup>1</sup>)-, amidina, hidrazona, -N=CH-, -NH-CH<sub>2</sub>-,

15



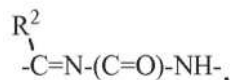
-NH-C(R<sup>1</sup>)H-, -S-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -O-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -C(=O)O-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -NR<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -S-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -O-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -C(=O)O-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -NR<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-,

20



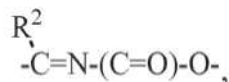
-C(R<sup>2</sup>)H-NH-, -(C=O)-NH-(C=O)-NH-,

25



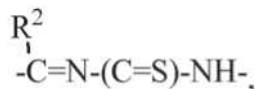
-C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=O)-NH-, -(C=O)-NH-(C=O)-O-

30



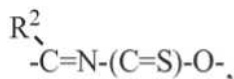
-C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=O)-O-, -(C=O)-NH-(C=S)-NH-,

35

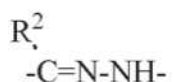


-C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=S)-NH-, -(C=O)-NH-(C=S)-O-,

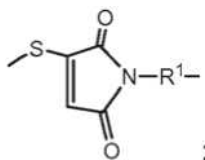
40



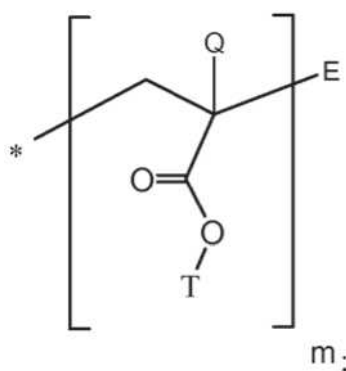
-C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=S)-O-,



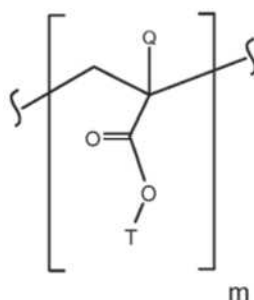
- 5 -NH-(C=O)-NH-, -O-(C=O)-NH-, -NH-(C=S)-NH-, -O-(C=S)-NH-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)-, -S-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-(C=O)-S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)O-, -S-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-(C=O)O-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)NH-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(piridil)-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-O-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-, y



- 10 R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos;  
R<sup>2</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos; y con respecto a compuestos de fórmula (Ib),  
K es un grupo de la fórmula



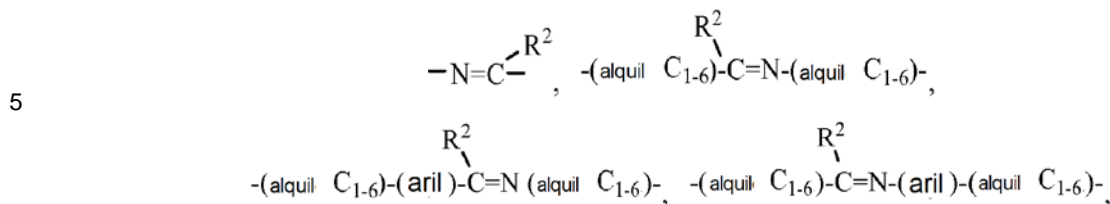
- 15 la porción polimérica:



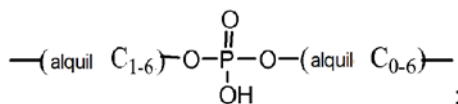
- 20 del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etil];  
a es un número entero que varía de 1 - 8;  
b es un número entero que varía de 1 - 8;  
\* indica el punto de unión de cada grupo K a dicho L.
- 25 En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, el agente biológicamente activo, A, puede incluir un grupo espaciador, (Sp<sup>2</sup>)<sub>p</sub>, como un medio de unión del agente activo A a Z, donde Sp<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en: -alquil C<sub>1-12</sub>-, -cicloalquil C<sub>3-12</sub>-, -(alquil C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-(alquil C<sub>0-8</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-O--CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-NH-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-NH-(fenil)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-N-(alquil C<sub>1-6</sub>)-, acetal, cetal, aciloxialquil éter, -N=CH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-, -S-S-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(fenil)-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-
- 30
- 35



NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-, -O-(alquil C<sub>1-6</sub>)-S(O<sub>2</sub>)-(alquil C<sub>1-6</sub>)-O-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-N=C-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-(heteroaril)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-fenil-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-,



y



10 y

en el que cuando p es 0, el grupo espaciador Sp<sup>2</sup> no está presente y -Sp<sup>2</sup>- representa un enlace covalente de tal forma que el agente biológicamente activo "A" está unido directamente al grupo Z por uno o más enlaces covalentes.

15 En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, la porción polimérica de los compuestos es polihidroxietilmetacrilol fosforilcolina (poli-HEMA-PC).

En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, m es un número entero que puede seleccionarse de los siguientes intervalos: 2-30, 30-100, 100-500, 500-1.000 y 1.000-2.000.

20 En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, n es 1.

En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, n es 0 y -(Sp<sup>1</sup>)<sub>0</sub>- es un enlace covalente.

25 En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, cualquiera de ellos: a = 2, y b = 3 o 4; o a =3 o 4, y b =2.

30 En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, dicho agente biológicamente activo se selecciona del grupo que consiste en: fármacos, vacunas, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, vitaminas y cofactores, polisacáridos, carbohidratos, esteroides, lípidos, grasas, proteínas, péptidos, polipéptidos, nucleótidos, oligonucleótidos, polinucleótidos, y ácidos nucleicos (por ejemplo, ARNm, ARNt, ARNs, ARNi, ADN, ADNc, construcciones antisentido, ribozimas, etc.).

35 En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, en las que dicho agente biológicamente activo se selecciona del grupo que consiste en: agalsidasa, alefacept, aspariginasa, amdoxovir (DAPD), antida, becaplermina, toxina botulínica, incluyendo los tipos A y B y compuestos de peso molecular inferior con actividad de toxina botulínica, calcitoninas, cianovirina, denileucina difitox, eritropoyetina (EPO) (es decir, forma de 166 aminoácidos y forma de 165 aminoácidos de EPO humana), agonistas de EPO, alfa dornasa, proteína estimulante de la eritropoyesis (NESP), factores de la coagulación tal como Factor V, Factor VII, Factor VIIa, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XII, Factor XIII, factor von Willebrand; ceredasa, cerezima, alfa-glucosidasa, colágeno, ciclosporina,

40 alfa defensinas, beta defensinas, desmopresina, exendina-4, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), trombopoyetina (TPO), inhibidor de alfa-1 proteinasa, elcatonina, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), fibrinógeno, filgrastim, hormonas de crecimiento, hormona de crecimiento humano (hGH), somatropina, hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH), GRO-beta, anticuerpo GRO-beta, proteínas morfogénicas óseas tal como proteína morfogénica ósea 2, proteína morfogénica ósea 6, OP-1; factor de crecimiento de fibroblastos de ácido, factor de crecimiento de fibroblastos básico, ligando CD-40, heparina, albúmina sérica humana, heparina de bajo peso molecular (HBPM), interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, interferón omega, interferón tau, interferón consenso; interleucinas y receptores de interleucina tales como receptor de interleucina-1, interleucina-2, proteínas de fusión a interleucina-2, antagonista del receptor de interleucina-1, interleucina-3, interleucina-4, receptor de interleucina-4, interleucina-6, interleucina-8, interleucina-12, receptor de interleucina-13, receptor de interleucina-17; lactoferrina y fragmentos de lactoferrina, hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), insulina, pro-insulina, análogos de insulina, amilina, péptido C, somatostatina, análogos de somatostatina, incluyendo octreotida, vasopresina, hormona foliculoestimulante (FSH), imiglucerasa, vacuna contra la influenza, factor de crecimiento insulínico (IGF), insulintropina, factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), activadores del plasminógeno tales como alteplasa, urocinasa, reteplasa, estreptocinasa,

55 pamiteplasa, lanoteplasa, y tenetplasa; factor de crecimiento neural (NGF), osteoprotegerina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factores de crecimiento tisular, factor de crecimiento transformante-1, factor de crecimiento

5 endotelial vascular, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), factor de crecimiento glial (GGF), receptores de linfocitos T, moléculas/antígenos CD, factor de necrosis tumoral (TNF), proteína 1 quimioatrayente de monocitos, factores de crecimiento endotelial, hormona paratiroidea (PTH), péptido de tipo glucagón, somatotropina, timosina alfa 1, rasburicasa, inhibidor de timosina alfa 1 IIb/IIIa, timosina beta 10, timosina beta 9, timosina beta 4, alfa-1 antitripsina, compuestos de fosfodiesterasa (PDE), VLA-4 (antígeno muy tardío-4), inhibidores de VLA-4, bisfosfonatos, anticuerpo del virus sincitial respiratorio, gen regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), desoxirribonucleasa (Dnase), proteína bactericida/aumentadora de la permeabilidad (BPI), y anticuerpo anti-CMV. Los ejemplos de anticuerpos monoclonales incluyen etanercept (una proteína de fusión dimérica que consiste en la porción de unión a ligando extracelular del receptor de TNF humano de 75 kD unida a la porción Fc de IgG1), abciximab, adalimumab, afelimomab, alemtuzumab, anticuerpo contra linfocito B, atlizumab, basiliximab, bevacizumab, biciromab, bertilimumab, CDP-484, CDP-571, CDP-791, CDP-860, CDP-870, cetuximab, clenoliximab, daclizumab, eculizumab, edrecolomab, efalizumab, epratuzumab, fontolizumab, gavilimomab, gemtuzumab ozogamicina, ibritumomab tiuxetan, infliximab, inolimomab, keliximab, labetuzumab, lerdelimomab, olizumab, lym-1 radiomarcado, metelimomab, mepolizumab, mitumomab, muromonad-CD3, nebacumab, 15 natalizumab, odulimomab, omalizumab, oregovomab, palivizumab, pemtumomab, pexelizumab, rhuMAB-VEGF, rituximab, satumomab pendetida, sevirumab, sipilizumab, tositumomab, I<sup>131</sup> tositumomab, trastuzumab, tuvirumab, visilizumab, y fragmentos y miméticos de los mismos.

20 En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, dicho agente biológicamente activo se selecciona del grupo que consiste en: eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano, e imiglucerasa.

25 En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, dicho agente biológicamente activo se selecciona del grupo que consiste en: tacrina, memantina, rivastigmina, galantamina, donepezilo, levetiracetam, repaglinida, atorvastatina, alefacept, tadalafilo, vardenafilo, sildenafil, fosamprenavir, oseltamivir, valaciclovir y valganciclovir, abarelix, adefovir, alufosina, alosetron, amifostina, amiodarona, ácido aminocaproico, aminohipurato sódico, aminoglutetimida, ácido aminolevulínico, ácido aminosalicílico, amlodipina, amsacrina, anagrelida, anastrozol, aprepitant, aripiprazol, asparaginasa, atazanavir, atomoxetina, antraciclinas, bexaroteno, bicalutamida, bleomicina, bortezomib, buserelina, busulfán, cabergolina, capecitabina, carboplatino, carmustina, clorambucino, cilastatina 30 sódica, cisplatino, cladribina, clodronato, ciclofosfamida, ciproterona, citarabina, camptotecinas, ácido 13-cis-retinoico, ácido retinoico todo trans; dacarbazina, dactinomicina, daptomicina, daunorrubicina, deferoxamina, dexametasona, diclofenaco, dietilestilbestrol, docetaxel, doxorubicina, dutasterida, eletriptán, emtricitabina, enfuvirtida, eplerenona, epirubicina, estramustina, etinil estradiol, etopósido, exemestano, ezetimiba, fentanilo, fexofenadina, fludarabina, fludrocortisona, fluorouracilo, fluoximasterona, flutamida, fluticazona, fondaparinux, fulvestrant, gamma-hidroxi butirato, gefitinib, gemcitabina, epinefrina, L-Dopa, hidroxiurea, icodextrina, idarubicina, ifosfamida, imatinib, irinotecán, itraconazol, goserelina, laronidasa, lansoprazol, letrozol, leucovorina, levamisol, lisinopril, lovotiroxina sódica, lomustina, mecloretamina, medroxi progesterona, megestrol, melfalán, memantina, mercaptopurina, mequinol, metaraminol bitartrato, metotrexato, metoclopramida, mexiletina, miglustat, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, modafinilo, naloxona, naproxeno, nevirapina, nicotina, nilutamida, nitazoxanida, nitisinona, 40 noretindrona, octreotida, oxaliplatino, palonosetron, pamidronato, pemetrexed, pergolida, pentostatina, pilcamicina, porfímero, prednisona, procarbazona, proclorperazina, ondansetron, palonosetron, oxaliplatino, raltitrexed, rosuvastatina, sirolimus, estreptozocina, pimecrolimus, sertoconazol, tacrolimus, tamoxifeno, tegaserod, temozolomida, tienipósido, testosterona, tetrahidrocannabinol, talidomida, tioguanina, tiotepa, tiotropio, topiramato, topotecán, treprostnilo, tretinoína, valdecoxib, celecoxib, rofecoxib, valrubicina, vinblastina, vincristina, vindesina, 45 vinorelbina, voriconazol, dolasetrón, granisetrón, formoterol, fluticasona, leuprolida, midazolam, alprazolam, anfotericina B, podofilotoxinas, antivirales de nucleosidasa, aroil hidrazonas, sumatriptán, eletriptán; macrólidos tales como eritromicina, oleandomicina, troleandomicina, roxitromicina, claritromicina, davericina, azitromicina, fluritromicina, diritromicina, josamicina, espiromicina, midecamicina, loratadina, desloratadina, leucomicina, miocamicina, rokitamicina, andazitromicina, y swinolida A; fluoroquinolonas tales como ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina, trovafloxacina, alatrofloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, enoxacina, gatifloxacina, gemifloxacina, grepafloxacina, lomefloxacina, esparfloxacina, temafloxacina, pefloxacina, amifloxacina, fleroxacina, tosufloxacina, prulifloxacina, irloxacina, pazufloxacina, clinafloxacina, y sitafloxacina; aminoglucósidos tales como gentamicina, netilmicina, paramecina, tobramicina, amicacina, kanamicina, neomicina, y estreptomina, vancomicina, teicoplanina, rampolanina, mideplanina, colistina, daptomicina, gramicidina, colistimetato; polimixinas tales como 50 polimixina B, capreomicina, bacitracina, penems; penicilinas, incluyendo agentes sensibles a la penicilinasasa como penicilina G, penicilina V; agentes resistentes a la penicilinasasa como metilicina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, floxacilina, nafcilina; agentes activos de microorganismos gram negativos como ampicilina, amoxicilina, y hetacilina, cilina, y galampicilina; penicilinas antipseudomonas como carbenicilina, ticarcilina, azlocilina, mezlocilina, y piperacilina; cefalosporinas como cefpodoxima, cefprozilo, ceftbuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefalotina, cefapirina, cefalexina, cefradrina, cefoxitina, cefamandol, cefazolina, cefaloridina, cefaclor, cefadroxilo, cefaloglicina, cefuroxima, ceforanida, cefotaxima, cefatrizina, cefacetrilo, cefepima, cefixima, cefonicid, cefoperazona, cefotetán, cefmetazol, ceftazidima, loracarbef, y moxalactama, monobactamas como aztreonam; y carbapenems tales como imipenem, meropenem, y ertapenem, isetionato de pentamidina, sulfato de albuterol, lidocaína, sulfato de metaproterenol, diprepionato de beclometasona, acetamida de triamcinolona, acetónido de budesonida, salmeterol, bromuro de 65 ipratropio, flunisolida, cromolin sódico, y tartrato de ergotamina; taxanos tal como paclitaxel; SN-38 y tirfostinas.

En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, dicho agente biológicamente activo se selecciona del grupo que consiste en: aminohipurato sódico, anfotericina B, doxorrubicina, ácido aminocaproico, ácido aminolevulínico, ácido aminosalicílico, metaraminol bitartrato, pamidronato disódico, daunorrubicina, lovotiroxina sódica, lisinopriilo, cilastatina sódica, mexiletina, cefalexina, deferoxamina, y amifostina.

5 En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, dicho agente biológicamente activo es una proteína o polipéptido.

10 En cualquiera de las realizaciones en el presente documento, dicha proteína o polipéptido comprende un aminoácido de origen sintético.

La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención como se ha definido anteriormente. El compuesto puede ser un compuesto de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb) (IVb) o (Vb) de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores.

15 La composición farmacéutica puede comprender además un segundo agente biológicamente activo.

20 La invención proporciona un método para aumentar la propiedad de la semivida biológica de un agente biológicamente activo, que comprende unir covalentemente un polímero que contiene fosforilcolina ramificada a un agente biológicamente activo, en el que el polímero tiene dos o más brazos de polímero que se extienden desde un único grupo, en el que la porción polimérica del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoxi)etil]-2'-(trimetilamonio)etil].

25 El polímero que contiene fosforilcolina es un polímero ramificado, cada uno como se entiende por un experto en la técnica.

30 Los polímeros de la invención (es decir, polímeros que contienen fosforilcolina) pueden ser de cualquier tamaño útil. En una realización, los polímeros tienen un tamaño superior a 0,5 kDa, por ejemplo, de un tamaño superior a 4 kDa. En una realización, el polímero de fosforilcolina tiene un peso molecular entre aproximadamente 0,5 kDa y aproximadamente 800 kDa, por ejemplo, entre aproximadamente 0,5 kDa y aproximadamente 400 kDa (por ejemplo, entre aproximadamente 0,5 kDa y aproximadamente 200 kDa). Se contemplan polímeros de la invención que contienen tan solo dos grupos fosforilcolina. Por ejemplo, se contemplan polímeros de la invención que contienen dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete y ocho o más grupos fosforilcolina.

35 Muchos agentes biológicamente activos se describen en la presente solicitud y, por consiguiente, la invención incluye cada uno de los agentes biológicamente activos descritos en el presente documento unidos a los polímeros que contienen fosforilcolina de la invención. Los agentes biológicamente activos están unidos a los polímeros que contienen fosforilcolina de la invención mediante un enlace covalente. Se puede emplear cualquier enlace covalente útil en la invención. Por ejemplo, y sin limitación, los agentes biológicamente activos se pueden unir a los polímeros que contienen fosforilcolina a través de un enlace covalente de al menos uno de un grupo amino, un grupo hidroxilo, un grupo sulfhidrilo y un grupo carboxilo del agente biológicamente activo.

45 En una realización, el polímero de fosforilcolina se une covalentemente a un espaciador y el agente biológicamente activo se une covalentemente al espaciador. Es decir, en ciertos casos puede ser útil unir un agente biológicamente activo a los polímeros que contienen fosforilcolina de la invención usando un espaciador. Por ejemplo, la unión covalentemente de un polímero que contiene fosforilcolina a un agente biológicamente activo mediante el uso de un espaciador puede reducir el impedimento estérico que evita o reduce la eficacia de la unión (es decir, la reacción de enlace químico) que proporciona el acoplamiento del polímero que contiene fosforilcolina al agente biológicamente activo.

50 En una realización útil, el agente biológicamente activo es una proteína, es decir, una proteína terapéutica. En una realización, el agente biológicamente activo es una proteína humana tal como una citocina humana.

55 Los agentes biológicamente activos de la invención se pueden obtener a partir de cualquier fuente útil y mediante cualquier metodología útil. Por ejemplo, los agentes biológicamente activos de la invención, tales como proteínas humanas (por ejemplo, citocinas humanas, tales como eritropoyetina, G-CSF, interferones, GM-CSF y enzimas humanas y hormonas humanas) y anticuerpos, se pueden obtener por expresión génica heteróloga en cultivos de bacterias, levaduras y células, tales como cultivos de células de mamíferos, cultivos de células de insectos, cultivos de células vegetales y cultivos de células aviares como se entiende en la técnica. Las proteínas de la invención, tales como, proteínas humanas (por ejemplo, citocinas humanas, tales como eritropoyetina, G-CSF, interferones, GM-CSF y enzimas humanas y hormonas humanas) y anticuerpos, también pueden obtenerse a partir de organismos transgénicos tales como aves transgénicas (por ejemplo, pollos transgénicos, codorniz transgénica y pavo transgénico), cabras transgénicas, vacas transgénicas y plantas transgénicas como se entiende en la técnica. También se contempla que las proteínas humanas para su uso como se describe en el presente documento pueden producirse por activación génica en líneas celulares humanas como se entiende en la técnica. Muchos de los agentes biológicamente activos pueden obtenerse a partir de fuentes naturales o pueden obtenerse a partir de

reacciones de síntesis orgánica como se entiende en la técnica.

#### Breve descripción de los dibujos

- 5 La **figura 1** muestra la secuencia de aminoácidos (165 aminoácidos) de la eritropoyetina humana (EPO).
- La **figura 2** muestra la secuencia de aminoácidos (174 aminoácidos) del factor estimulante de colonias de granulocitos humanos (G-CSF).
- 10 Las **figuras 3 y 4** muestran un cromatograma de HPLC que ilustra la conjugación de un polímero funcionalizado con aldehído de la invención con G-CSF.
- Las **figuras 5, 6 y 7** muestran un cromatograma de HPLC que ilustra la conjugación de un polímero funcionalizado con aldehído de la invención con EPO.
- 15 La **figura 8** muestra un cromatograma de HPLC que ilustra la conjugación de un polímero funcionalizado con NHS de la invención con G-CSF.
- Las **figuras 9 y 10** muestran un cromatograma de HPLC que ilustra la conjugación de un polímero funcionalizado con NHS de la invención con EPO.
- 20 La **figura 11** muestra un cromatograma de HPLC que ilustra la conjugación de un polímero funcionalizado con NHS de la invención con Interferón alfa.
- La **figura 12** muestra un cromatograma de HPLC que ilustra la conjugación de un polímero funcionalizado con NHS de la invención con G-CSF.
- 25 La **figura 13** muestra un cromatograma de HPLC que ilustra la conjugación de un polímero funcionalizado con NHS de la invención con somatostatina.
- 30 La **figura 14** muestra un cromatograma de HPLC que ilustra la conjugación de un polímero ramificado funcionalizado con aldehído de la invención con EPO.

#### Descripción detallada de la invención

##### 35 A. Introducción

Para el propósito de la presente invención, se usará la siguiente terminología de acuerdo con las definiciones expuestas a continuación.

- 40 "Polímero soluble en agua" se refiere a un polímero que es soluble en agua a temperatura ambiente. Una solución de un polímero soluble en agua puede transmitir al menos aproximadamente el 75 %, más preferiblemente al menos aproximadamente el 95 % de la luz, transmitida por la misma solución después de la filtración. Sobre una base en peso, un polímero soluble en agua o segmento del mismo puede ser al menos aproximadamente el 35 %, al menos aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 85 %, aproximadamente el 95 % o el 100 % (en peso de polímero seco) soluble en agua.

- El peso molecular en el contexto del polímero se puede expresar como un peso molecular promedio en número o un peso molecular promedio en peso. A menos que se indique otra cosa, todas las referencias al peso molecular en el presente documento se refieren al peso molecular promedio en peso. Ambas determinaciones de peso molecular, promedio en número y promedio en peso, pueden medirse usando cromatografía de permeación en gel u otras técnicas de cromatografía líquida. También se pueden usar otros métodos para medir los valores de peso molecular, tal como el uso de análisis de criterio de valoración, o la medición de propiedades coligativas (por ejemplo, depresión del punto de congelación, elevación del punto de ebullición, o presión osmótica) para determinar el peso molecular promedio en número, o el uso de técnicas de dispersión de luz, ultracentrifugación o viscosimetría para determinar el peso molecular promedio en peso. Los reactivos poliméricos de la invención son típicamente polidispersos (es decir, el peso molecular promedio en número y el peso molecular promedio en peso de los polímeros no son iguales), que poseen bajos valores de polidispersidad de preferiblemente menos de aproximadamente 1,5, según se juzga por cromatografía de permeación en gel. En otras realizaciones, las polidispersidades pueden estar en el intervalo de aproximadamente 1,4 a aproximadamente 1,2, más preferiblemente menos de aproximadamente 1,15, aún más preferiblemente menos de aproximadamente 1,10, aún más preferiblemente menos de aproximadamente 1,05, y mucho más preferiblemente menos de aproximadamente 1,03.

- La frase "una" entidad como se usa en el presente documento, se refiere a una o más de esa entidad; por ejemplo, un compuesto se refiere a uno o más compuestos o al menos un compuesto. Como tal, los términos "un" (o "una"), "uno o más" y "al menos uno" se pueden usar indistintamente en el presente documento.

La expresión "aproximadamente", como se usa en el presente documento, significa la variación que se podría ver en mediciones tomadas entre diferentes instrumentos, muestras y preparaciones de muestra.

El término "compuesto" como se usa en el presente documento, pretende incluir no solo la entidad molecular especificada sino también sus derivados farmacéuticamente aceptables, farmacológicamente activos, incluyendo, pero sin limitación, sales, conjugados de profármacos tales como ésteres y amidas, metabolitos, hidratos, solvatos y similares.

Los términos "protegido", "forma protegida", "grupo de protección" y "grupo protector" se refieren a la presencia de un grupo (es decir, el grupo protector) que impide o bloquea la reacción de un grupo funcional químicamente reactivo en particular en una molécula bajo ciertas condiciones de reacción. El grupo protector variará dependiendo del tipo de grupo químicamente reactivo que se protege, así como de las condiciones de reacción que se emplearán y la presencia de grupos reactivos o protectores adicionales en la molécula, si los hay. El experto en la técnica reconocerá los grupos protectores conocidos en la técnica, tales como los que se encuentran en el tratado de Greene et al., "Protective Groups In Organic Synthesis," 3ª Edición, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York, 1999.

Los términos "espaciador" y "grupo espaciador" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a un átomo o una colección de átomos opcionalmente usados para unir restos de interconexión tales como un extremo de un polímero soluble en agua y un grupo reactivo de un agente biológicamente activo y un grupo reactivo. Un espaciador puede ser hidrolíticamente estable o puede incluir un enlace hidrolíticamente susceptible o enzimáticamente degradable.

"Alquilo" se refiere a cadenas hidrocarburo lineales o ramificadas. Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, 1-metilbutilo (es decir, 2-pentilo), 1-etilpropilo (es decir, 3-pentilo), 3-metilpentilo, y similares. El término "alquilo" también se usa para indicar un grupo hidrocarburo que puede ser lineal o ramificado que puede tener dos o más funcionalidades adjuntas; y se entiende que "alquilo" incluye alquileo cuando se añaden dos funcionalidades. Como se usa en el presente documento, "alquilo" no incluye cicloalquilo a menos que se indique expresamente otra cosa. Cuando los grupos alquilo pueden tener un rango de tamaños, ese rango de tamaño puede indicarse indicando el número de átomos de carbono presentes en el grupo alquilo (por ejemplo, alquilo C<sub>1-3</sub> o C<sub>1</sub> a C<sub>3</sub> para un grupo alquilo que contiene de uno a tres átomos de carbono). Además, cuando un intervalo incluye el valor de "0" (por ejemplo, alquilo C<sub>0-3</sub>), el grupo no está presente en una realización, y si interviene entre dos grupos, constituye un enlace covalente.

El término "alcoxi" se refiere a los grupos alquilo anteriores unidos al oxígeno.

El "polímero que contiene poli(acrililoxiethylfosforilcolina)" representa un polímero de ácido acrílico que contiene al menos un monómero de acrililoxiethyl fosforilcolina tal como 2-metacrililoxiethyl fosforilcolina (es decir, fosfato de 2-metacrililoil-2'-trimetilamonio-etilo).

El término "carboxialquilo" significa un grupo alquilo (como se define en el presente documento) sustituido con un grupo carboxi. El término "carboxicicloalquilo" significa un grupo cicloalquilo (como se define en el presente documento) sustituido con un grupo carboxi. El término alcoxialquilo significa un grupo alquilo (como se define en el presente documento) sustituido con un grupo alcoxi. El término "carboxi" empleado en el presente documento se refiere a ácidos carboxílicos y sus ésteres.

Los términos tales como "haloalquilo," y "haloalcoxi" pretenden incluir monohaloalquil(oxi) y polihaloalquil(oxi). Por ejemplo, el término "haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" pretende incluir trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo, y similares.

"Alquilo sustituido con flúor" se refiere a un grupo alquilo en el que uno, algunos, o todos los átomos de hidrógeno se han reemplazado por flúor.

"Citocina" en el contexto de esta invención es un miembro de un grupo de moléculas de señalización de proteínas que pueden participar en la comunicación célula-célula en respuesta inmune e inflamatoria. Las citocinas son típicamente glucoproteínas pequeñas solubles en agua que tienen una masa de aproximadamente 8-35 kDa.

Las "proteínas terapéuticas" son péptidos o proteínas que incluyen una secuencia de aminoácidos que en su totalidad o en parte constituye un fármaco y puede usarse en aplicaciones farmacéuticas humanas o animales. Los expertos en la técnica conocen numerosas proteínas terapéuticas que incluyen, sin limitación, las descritas en el presente documento.

El "polímero que contiene fosforilcolina" es un polímero que contiene fosforilcolina. Se contempla específicamente que en cada caso en el que se especifique un polímero que contiene fosforilcolina en esta solicitud para un uso particular, también se puede emplear una única fosforilcolina en dicho uso.

"Cicloalquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo cíclico que contiene de aproximadamente 3 a 12, de 3 a 10, o de 3 a

7 átomos de carbono endocíclicos. Los grupos cicloalquilo incluyen estructuras anulares fusionadas, puenteadas y espiro.

5 El término "endocíclico" se refiere a un átomo o grupo de átomos que comprende parte de una estructura anular cíclica.

El término "exocíclico" se refiere a un átomo o grupo de átomos que están unidos pero que no definen la estructura cíclica del anillo.

10 "Éster alquílico cíclico" se refiere a un grupo alquilo cíclico de 4 o 5 miembros que tiene 3 o 4 átomos de carbono endocíclicos y 1 átomo de oxígeno o azufre endocíclico (por ejemplo, oxetano, tietano, tetrahidrofurano, tetrahidrotiofeno); o un grupo alquilo cíclico de 6 a 7 miembros que tiene 1 o 2 átomos de oxígeno o azufre endocíclicos (por ejemplo, tetrahidropirano, 1,3-dioxano, 1,4-dioxano, tetrahidropirano, 1,3-ditiano, 1,4-ditiano, 1,4-oxatiano).

15 "Alqueno" se refiere a un grupo hidrocarburo lineal o ramificado insaturado que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono. Los ejemplos no limitantes de grupos alqueno incluyen etenilo, n-propenilo, isopropenilo, n-butenilo, isobutenilo, octenilo, decenilo, tetradecenilo, y similares.

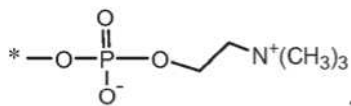
20 "Ariilo" se refiere a un grupo aromático cíclico que tiene uno o más anillos aromáticos, teniendo cada uno 5 o 6 átomos endocíclicos seleccionados independientemente de carbono, oxígeno, nitrógeno y azufre. Los anillos ariilo pueden estar condensados. Los ejemplos no limitantes de grupos ariilo incluyen naftilo y fenilo. Como se usa en el presente documento, "ariilo" incluye ariilo carbocíclico, en el que todos los átomos endocíclicos del grupo aromático son átomos de carbono y grupos heteroarilo.

25 "Heteroarilo" se refiere a un grupo ariilo que tiene uno o más heteroátomos (por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y/o azufre) en al menos un anillo. Los ejemplos no limitantes incluyen pirrol, furanilo, tienilo, piridilo, oxazolilo, tiazolilo, benzofuranilo, y benzotienilo.

30 "Electrófilo" se refiere a un ion o átomo o conjunto de átomos, que puede ser iónico, que tiene un centro electrófilo, es decir, un centro que busca electrones, capaz de reaccionar con un nucleófilo. Un electrófilo (o reactivo electrofílico) es un reactivo que forma un enlace con su compañero de reacción (el nucleófilo) al aceptar ambos electrones de enlace de ese compañero de reacción.

35 "Nucleófilo" se refiere a un ion o átomo o conjunto de átomos, que puede ser iónico, que tiene un centro nucleófilo, es decir, un centro que busca un centro electrófilo o con un electrófilo. Un nucleófilo (o reactivo nucleófilo) es un reactivo que forma un enlace con su compañero de reacción (el electrófilo) donando ambos electrones de enlace. Un "grupo nucleófilo" se refiere a un nucleófilo después de que ha reaccionado con un grupo reactivo. Los ejemplos no limitantes incluyen amino, hidroxilo, alcoxi, haloalcoxi y similares.

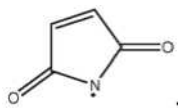
40 "Fosforilcolina", también denominada "PC", se refiere a



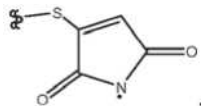
45 donde \* representa el punto de unión. La fosforilcolina es un grupo zwitteriónico e incluye sales (tales como sales internas), y formas protonadas y desprotonadas de las mismas.

"Grupo reactivo" se refiere a un grupo funcional que es capaz de formar un enlace covalente que consiste en uno o más enlaces a un agente biológicamente activo. Los ejemplos no limitantes incluyen los ilustrados en la Tabla 1.

50 "Maleimido" se refiere a un grupo pirrol-2,5-diona-1-ilo que tiene la estructura



55 que tras la reacción con un sulfhidrilo (por ejemplo, un tioalquilo) forma un grupo -S-maleimido que tiene la estructura



donde "●" indica el punto de unión del grupo maleimido y "S" indica el punto de unión del átomo de azufre del tiol al resto del grupo portador de sulfhidrilo original.

5 Una "unión hidrolíticamente susceptible" o "enlace hidrolíticamente susceptible" se refiere a una unión o enlace químico, que puede ser un enlace covalente que se hidroliza en condiciones fisiológicas. La tendencia de un enlace a hidrolizarse puede depender no solo del tipo general de enlace que conecta dos átomos centrales entre los que se corta el enlace, sino también de los sustituyentes unidos a estos átomos centrales. Los ejemplos no limitantes de enlaces hidrolíticamente susceptibles incluyen ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de fosfato, acetales, cetales, aciloxialquil éter, iminas, ortoésteres, y algunos enlaces amida.

10 Una "unión enzimáticamente degradable" significa un enlace que está sujeto a la degradación por una o más enzimas.

15 Algunos enlaces hidrolíticamente susceptibles también pueden ser degradables enzimáticamente. Por ejemplo, las esterasas pueden actuar sobre ésteres de ácido carboxílico o ésteres de fosfato, y las proteasas pueden actuar sobre enlaces peptídicos y algunos enlaces amida.

20 Las expresiones "agente activo" y "agente biológicamente activo" se usan indistintamente en el presente documento y se definen para incluir cualquier agente, fármaco, compuesto o mezcla de los mismos que proporcione algún efecto fisiológico o farmacológico local o sistémico que pueda demostrarse in vivo o in vitro. Los ejemplos no limitantes incluyen fármacos, vacunas, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, vitaminas y cofactores, polisacáridos, carbohidratos, esteroides, lípidos, grasas, proteínas, péptidos, polipéptidos, nucleótidos, oligonucleótidos, polinucleótidos, y ácidos nucleicos (por ejemplo, ARNm, ARNt, ARNsn, ARNi, ADN, ADNc, construcciones antisentido, ribozimas, etc.).

25 El término "solvato" como se usa en el presente documento, significa un compuesto de la invención o una sal del mismo, que incluye además una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de un disolvente unido por fuerzas intermoleculares no covalentes en una cantidad mayor de aproximadamente el 0,3 % cuando se prepara de acuerdo con la invención.

30 El término "hidrato" como se usa en el presente documento, significa un compuesto de la invención o una sal del mismo, que además incluye una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida por fuerzas intermoleculares no covalentes. Los hidratos se forman por la combinación de una o más moléculas de agua con una de las sustancias en las que el agua retiene su estado molecular como H<sub>2</sub>O, pudiendo formar dicha combinación uno o más hidratos.

35 Para los fines de esta descripción, los "isómeros" se refiere a ciertos compuestos de la presente invención que poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o dobles enlaces; los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos e isómeros individuales (por ejemplo, enantiómeros separados). Todos estos están incluidos por el término "isómeros" dentro del alcance de la presente invención.

40 Para los fines de esta descripción, "aminoácidos de origen natural" que se encuentran en proteínas y polipéptidos son L-alanina, L-arginina, L-asparagina, ácido L-aspártico, L-cisteína, L-glutamina, ácido L-glutámico, L-glicina, L-histidina, L-isoleucina, L-leucina, L-lisina, L-metionina, L-fenilalanina, L-prolina, L-serina, L-treonina, L-triptófano, L-tirosina, y/o L-valina. Los "aminoácidos de origen sintético" que se encuentran en las proteínas son cualquier aminoácido distinto a los citados como aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos de origen sintético incluyen, sin limitación, los isómeros D de los aminoácidos de origen natural y las mezclas de isómeros D y L de los aminoácidos de origen natural. Otros aminoácidos, tales como 4-hidroxiprolina, desmosina, isodesmosina, 5-hidroxilisina, epsilon-N-metil-lisina, 3-metilhistidina, aunque se encuentran en proteínas de origen natural, se consideran aminoácidos de origen sintético que se encuentran en las proteínas para el fin de esta descripción, ya que generalmente se introducen por medios distintos de la traducción ribosómica de ARNm.

45 "Lineal" en referencia a la geometría, arquitectura o estructura general de un polímero, se refiere a la cadena principal derivada de monómero único de polímero.

50 "Ramificado", en referencia a la geometría, arquitectura o estructura general de un polímero, se refiere a polímero que tiene 2 o más "brazos" de polímero que se extienden desde un solo grupo, tal como un grupo L que puede derivarse de un iniciador empleado en una reacción de polimerización radical por transferencia atómica. Un polímero ramificado puede poseer 2 brazos de polímero, 3 brazos de polímero, 4 brazos de polímero, 5 brazos de polímero, 6 brazos de polímero, 8 brazos de polímero o más. Para los fines de esta descripción, los compuestos que tienen tres o más brazos de polímero que se extienden desde un solo grupo lineal se denomina que tienen una estructura de "peine" o arquitectura de "peine".

55 "Bifurcado" se refiere a una estructura química multifuncional en la que se unen múltiples grupos funcionales (grupos reactivos o agentes biológicamente activos) además de uno o más brazos de polímero (directamente o a través de

uno o más átomos) a un grupo químico tal como un grupo L que puede derivarse de un iniciador empleado en una reacción de polimerización por radicales de transferencia atómica.

5 Composición "farmacéuticamente aceptable" o "composición farmacéutica" se refiere a una composición que comprende un compuesto de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable o excipientes farmacéuticamente aceptables.

10 El término "sal" incluye, sin limitación, sales de adición de ácidos que incluyen clorhidratos, bromhidratos, fosfatos, sulfatos, hidrogenosulfatos, alquilsulfonatos, arilsulfonatos, acetatos, benzoatos, citratos, maleatos, fumaratos, succinatos, lactatos, y tartratos; sales de cationes de metales alcalinos tales como sales de aminas orgánicas de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup> (por ejemplo, NaCl, KCl) o sales de metales alcalinotérreos tales como sales de Mg o Ca.

15 "Excipiente farmacéuticamente aceptable" y "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refieren a un excipiente que se puede incluir en las composiciones de la invención y que no causa ningún efecto toxicológico adverso significativo sobre el paciente. Los ejemplos no limitantes de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen agua, NaCl, soluciones salinas normales, Ringer lactato, sacarosa normal, glucosa normal y similares.

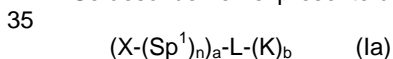
20 "Paciente" o "sujeto que lo necesita" se refiere a un organismo vivo que padece o es propenso a una afección que puede prevenirse o tratarse mediante la administración de una composición farmacéutica como se proporciona en el presente documento. Los ejemplos no limitantes incluyen seres humanos, otros mamíferos y otros animales no mamíferos.

25 "Cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad de un agente biológicamente activo conjugado o de una composición farmacéutica útil para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o afección identificada, o para presentar un efecto terapéutico o inhibidor detectable. El efecto puede detectarse mediante cualquier método de ensayo conocido en la técnica.

30 La "semivida biológica" de una sustancia es un parámetro farmacocinético que especifica el tiempo requerido para que una mitad de la sustancia se elimine de un organismo después de la introducción de la sustancia en el organismo.

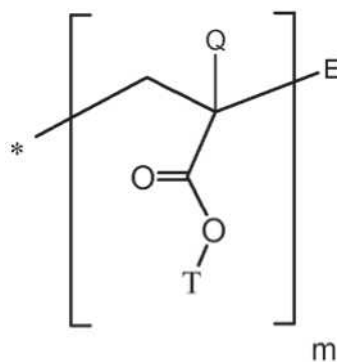
### B. Compuestos de la invención

Se describen en el presente documento compuestos de fórmula (Ia):



donde

40 K es un grupo de la fórmula



45 cada aparición de Q se selecciona independientemente del grupo que consiste en H y alquilo C<sub>1-4</sub>;

50 cada aparición de T se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, -alquilo C<sub>1-4</sub>, y -alquil C<sub>1-4</sub>-O-PC, donde PC representa un grupo fosforilcolina, con la condición de que uno o más grupos T sean -alquil C<sub>1-4</sub>-O-PC;

cada aparición de E se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo y Nu, en el que Nu representa un grupo nucleófilo;

Sp<sup>1</sup> es un grupo espaciador;

X es un grupo reactivo o una forma protegida del mismo;

n es 0 o 1, en la que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;

m es un número entero que varía de 2 a 2.000;

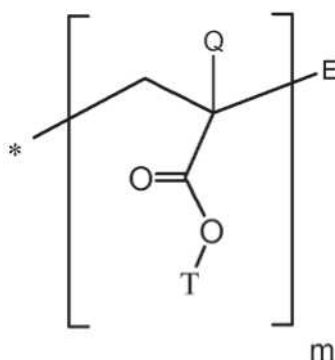
a es un número entero que varía de 1 - 8;

b es un número entero que varía de 1 - 8;



L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico; y  
\* indica el punto de unión de cada grupo K a dicho L.

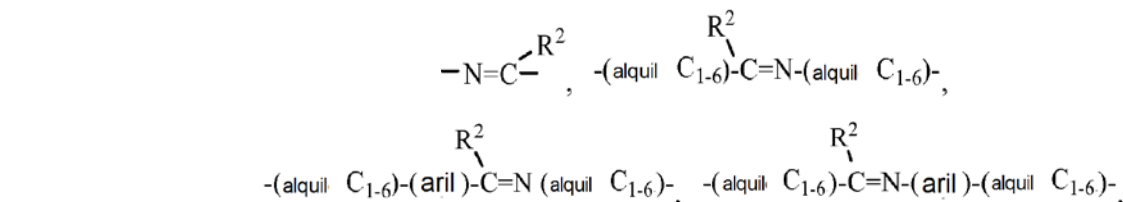
5 En una realización de compuestos de fórmula (Ia) K es un grupo de la fórmula



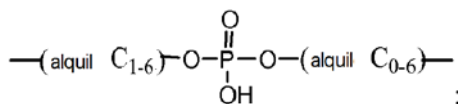
cada aparición de Q se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, metilo, y etilo;

10 cada aparición de T se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, y -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-PC, donde PC representa un grupo fosforilcolina, con la condición de que uno o más grupos T sean -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-PC; cada aparición de E se selecciona independientemente del grupo que consiste en Br, Cl, I, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo C<sub>1-4</sub>), -N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, -OH, -O-(alquilo C<sub>1-4</sub>), y -O-(haloalquilo C<sub>1-4</sub>);

15 Sp<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en: -alquilo C<sub>1-12</sub>-, -cicloalquilo C<sub>3-12</sub>-, -(alquilo C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquilo C<sub>3-12</sub>)-(alquilo C<sub>0-8</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-O-(C=O)-, -(fenilo)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-O-, -(fenilo)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -(alquilo C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-(alquilo C<sub>0-6</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-O-, -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -S-maleimido-(alquilo C<sub>1-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquilo C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquilo C<sub>5-6</sub>)-(alquilo C<sub>0-3</sub>)-, -(alquilo C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquilo C<sub>5-6</sub>)-(alquilo C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-O-, -(alquilo C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquilo C<sub>5-6</sub>)-(alquilo C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquilo C<sub>0-3</sub>)-fenil-(alquilo C<sub>0-3</sub>)-, -(alquilo C<sub>0-3</sub>)-fenil-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-NH-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-, -(fenilo)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -S-(CH<sub>2</sub>)-(C=O)-NH-(fenilo)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -(alquilo C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-N-(alquilo C<sub>1-6</sub>)-, acetal, cetal, aciloxialquilo éter, -N=CH-, -(alquilo C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquilo C<sub>0-6</sub>)-, -(alquilo C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquilo C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-, -(alquilo C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquilo C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-, -S-S-(alquilo C<sub>0-3</sub>)-(fenilo)-, -S-S-(alquilo C<sub>1-3</sub>)-(fenilo)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(alquilo C<sub>1-3</sub>)-(fenilo)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -S-S-(alquilo C<sub>1-3</sub>)-, -(alquilo C<sub>1-3</sub>)-(fenilo)-(C=O)-NH-, -O-(alquilo C<sub>1-6</sub>)-S(O<sub>2</sub>)-(alquilo C<sub>1-6</sub>)-O-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-N=C-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-(heteroaril)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-fenil-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-,



y



35 X se selecciona del grupo que consiste en: hidroxilo, tiol, disulfuro, ditiopiridilo, aldehído, aldehído hidrato, cetona, tiona, acetal, cetal, -CH(OR<sup>1</sup>)<sub>2</sub>, hemiacetal, hemicetal, monotiocetal, ditiocetal, epóxido, tioepóxido, glioxal, dionas, amida, hidrazida, carboxilo, éster del ácido carboxílico, ortoéster, N-hidroxisuccinimida éster, succinimidilo, maleimidilo, 1-benzotriazolilo, -CO<sub>2</sub>-succinimidilo, -CO<sub>2</sub>-maleimidilo, imido-éster, guanido, -CO<sub>2</sub>-(1-benzotriazolil) amina, urea, carbamato, carbonato, tiourea, tiocarbamato, isocianato, isotiocianato, sulfona, cloroetilsulfona, carbonilo alfa-beta sustituido, carboxilo alfa-beta sustituido, acrililo, acrilato, metacrilato, acrilamida, vinilsulfona, vinilpiridina, -O(C=O)-CH<sub>2</sub>-I, -O(C=O)-CH<sub>2</sub>-Br, -NH(C=O)-CH<sub>2</sub>-I, -NH(C=O)-CH<sub>2</sub>-Br, -(C=O)-CH<sub>2</sub>-I, y -(C=O)-CH<sub>2</sub>-Br;

n es 0 o 1, en la que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;

m es un número entero que varía de 2 a 2.000;

a es un número entero que varía de 1 - 8;

45 b es un número entero que varía de 1 - 8;

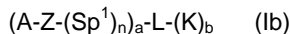
L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico;

R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos;

R<sup>2</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos; y

\* indica el punto de unión de cada grupo K a dicho L.

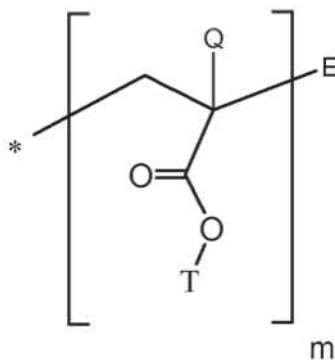
Una realización de la presente invención se refiere a compuestos de fórmula (Ib):



10

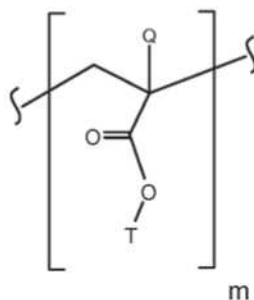
donde

K es un grupo de la fórmula



15

en la que la porción polimérica:



20 del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etil]; cada aparición de E se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo y Nu, en el que Nu representa un grupo nucleófilo;

Sp<sup>1</sup> es un grupo espaciador;

n es 0 o 1, en la que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;

25 m es un número entero que varía de 2 a 2.000;

a es un número entero que varía de 1 - 8;

b es un número entero que varía de 1 - 8;

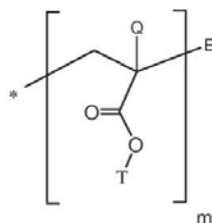
L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico;

30 A es un agente biológicamente activo;

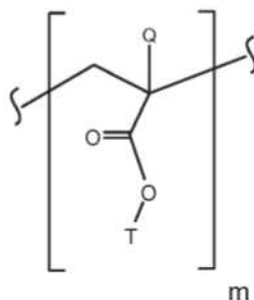
Z es el producto de la reacción entre un grupo presente en dicho agente biológicamente activo y un grupo reactivo unido a dicho grupo Sp<sup>1</sup> cuando n es 1, o un grupo reactivo unido a L cuando n es 0; y

\* indica el punto de unión de cada grupo K a dicho L.

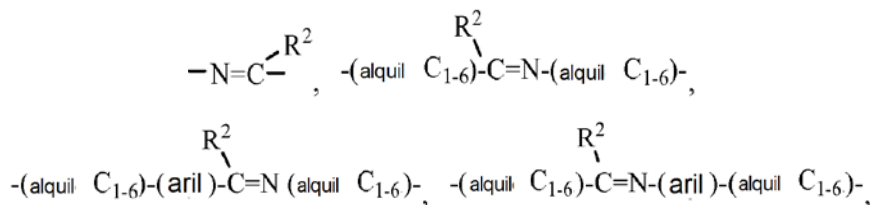
35 En una realización de compuestos de fórmula (Ib), K es un grupo de la fórmula



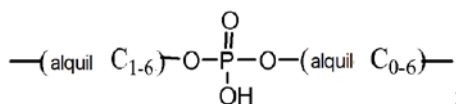
en la que la porción polimérica:



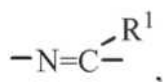
- 5 del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etilo];  
 cada aparición de E se selecciona independientemente del grupo que consiste en Br, Cl, I, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo C<sub>1-4</sub>), -N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, -OH, -O-(alquilo C<sub>1-4</sub>), y -O-(haloalquilo C<sub>1-4</sub>);  
 Sp<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en: -alquil C<sub>1-12</sub>-, -cicloalquil C<sub>3-12</sub>-, -(alquil C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-(alquil C<sub>0-8</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-(C=O)-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-O-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-O-, -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-NH-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -S-(CH<sub>2</sub>)-(C=O)-NH-(fenil)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-N-(alquil C<sub>1-6</sub>)-, acetal, cetal, aciloxialquil éter, -N=CH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-, -S-S-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(fenil)-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-, -O-(alquil C<sub>1-6</sub>)-S(O<sub>2</sub>)-(alquil C<sub>1-6</sub>)-O-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-N=C-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-(heteroaril)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-fenil-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-,



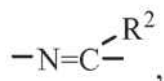
25 y



- n es 0 o 1, en la que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;  
 m es un número entero que varía de 2 a 2.000;  
 30 a es un número entero que varía de 1 - 8;  
 b es un número entero que varía de 1 - 8;  
 L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico;  
 A es un agente biológicamente activo;  
 35 Z se selecciona del grupo que consiste en: fosfato, éster de fosfato, -(C=O)O-, éster del ácido carboxílico, tioéster, amida, disulfuro, amina, -NH(R<sup>1</sup>)-, amidina, hidrazona, -N=CH-, -NH-CH<sub>2</sub>-,

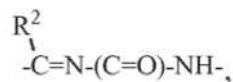


- 40 -NH-C(R<sup>1</sup>)H-, -S-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -O-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -C(=O)O-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -NR<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -S-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -O-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -C(=O)O-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -NR<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-,



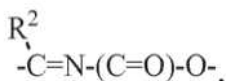
-C(R<sup>2</sup>)H-NH-, -(C=O)-NH-(C=O)-NH-,

5



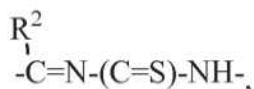
-C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=O)-NH-, -(C=O)-NH-(C=O)-O-,

10



-C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=O)-O-, -(C=O)-NH-(C=S)-NH-,

15

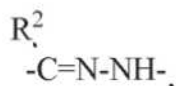


-C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=S)-NH-, -(C=O)-NH-(C=S)-O-,

20

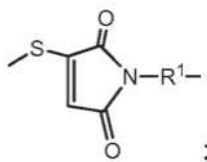


-C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=S)-O-,



-NH-(C=O)-NH-, -O-(C=O)-NH-, -NH-(C=S)-NH-, -O-(C=S)-NH-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)-, -S-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-(C=O)-S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)O-, -S-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-(C=O)O-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)NH-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(piridil)-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-O-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-, y

25



30

R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos;  
R<sup>2</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos;

y

\* indica el punto de unión de cada grupo K a dicho L.

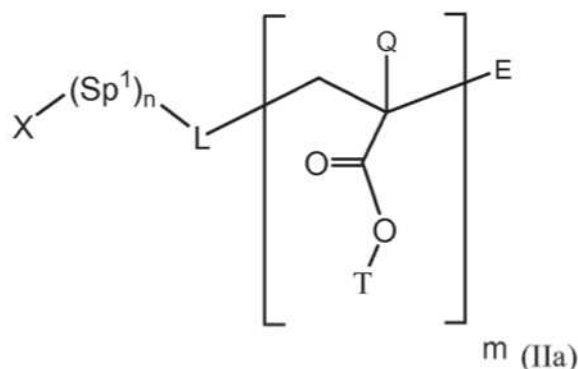
35

### B.1 Compuestos lineales

En el presente documento se describen compuestos de fórmula (Ia) o fórmula (Ib) en las que a y b son ambos 1 (por ejemplo, una sal, hidrato o isómero de los mismos). Dichas realizaciones incluyen, por ejemplo, compuestos de fórmula (IIa) y compuestos de fórmula (IIb), respectivamente.

40

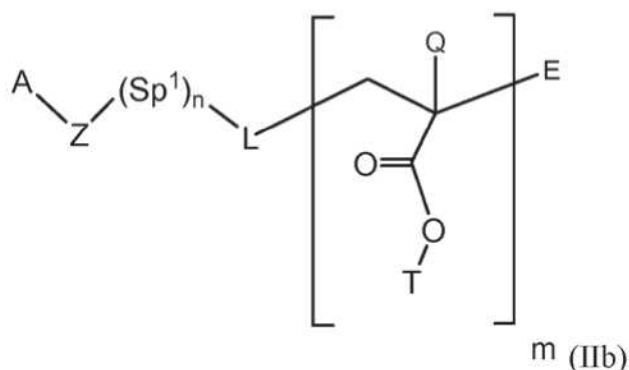
Se describen en el presente documento compuestos de fórmula (IIa), o una sal, hidrato, o isómero de los mismos.



donde

- 5 cada aparición de Q se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, metilo, y etilo;  
 cada aparición de T se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, y -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-PC, donde PC representa un grupo fosforilcolina, con la condición de que uno o más grupos T sean -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-PC;  
 E se selecciona independientemente del grupo que consiste en Br, Cl, I, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo C<sub>1-4</sub>), -N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, -OH, -O-(alquilo C<sub>1-4</sub>), y -O-(alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido con flúor);  
 Sp<sup>1</sup> es un grupo espaciador;  
 10 X es un grupo reactivo o una forma protegida del mismo;  
 n es 0 o 1, en la que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;  
 m es un número entero que varía de 2 a 2.000; y  
 L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico.

- 15 También se describe en el presente documento un compuesto zwitteriónico de fórmula (IIb) o una sal, hidrato, o isómero del mismo:



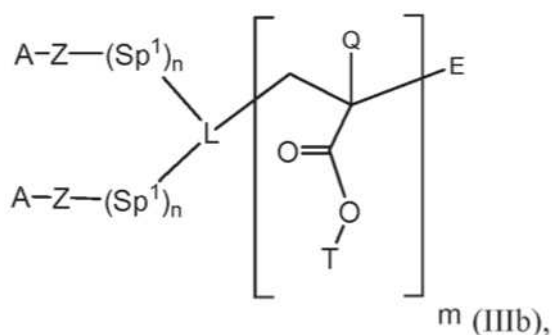
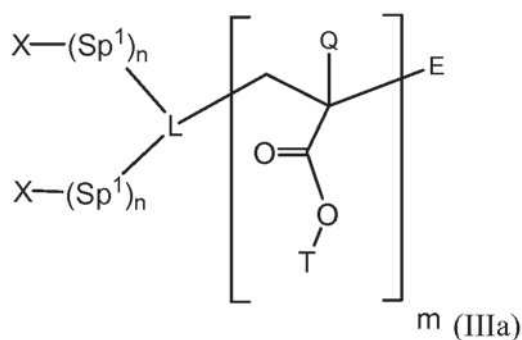
- 20 donde  
 cada aparición de Q se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, metilo, y etilo;  
 cada aparición de T se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, y -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-PC, donde PC representa un grupo fosforilcolina, con la condición de que uno o más grupos T sean -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-PC;  
 25 E se selecciona independientemente del grupo que consiste en Br, Cl, I, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo C<sub>1-4</sub>), -N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, -OH, -O-(alquilo C<sub>1-4</sub>), y -O-(alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido con flúor);  
 Sp<sup>1</sup> es un grupo espaciador;  
 n es 0 o 1, en la que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;  
 m es un número entero que varía de 2 a 2.000;  
 30 L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico;  
 A es un agente biológicamente activo; y  
 Z es el producto de la reacción entre un grupo presente en dicho agente biológicamente activo y un grupo reactivo unido a dicho grupo Sp<sup>1</sup> cuando n es 1, o un grupo reactivo unido a L cuando n es 0.

- 35 A menos que se especifique otra cosa, todos los grupos variables presentes en los compuestos de las fórmulas (IIa) y (IIb) son como se definen para los compuestos de las fórmulas (Ia) y (Ib) y realizaciones de los mismos, respectivamente.

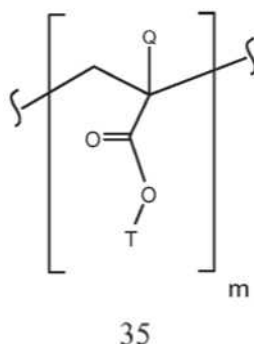
B.2 Compuestos no lineales

La presente invención se refiere a compuestos que tienen arquitecturas más complejas. Dichas arquitecturas incluyen compuestos ramificados, compuestos bifurcados, compuestos ramificados y bifurcados. Los compuestos

- 5 poliméricos ramificados que tienen múltiples brazos de polímero también pueden tener arquitecturas de peine o estrella. En teoría, los compuestos ramificados que tienen dos o más brazos de polímero pueden ayudar a promover la solubilidad en agua sin obstaculizar indebidamente las interacciones de un agente biológicamente activo unido.
- 10 Un aspecto de la presente invención se dirige a compuestos bifurcados de fórmula (Ia) o fórmula (Ib), donde a es un número entero mayor de 1. En una realización, los compuestos bifurcados de fórmula (Ia) o fórmula (Ib) pueden tener a = 2 y b = 1, por ejemplo, como en los compuestos de fórmula (IIIa) (es decir,  $(X-(Sp^1)_n)_2-L-(K)_1$ ) o fórmula (IIIb) (es decir,  $(A-Z-(Sp^1)_n)_2-L-(K)_1$ ).



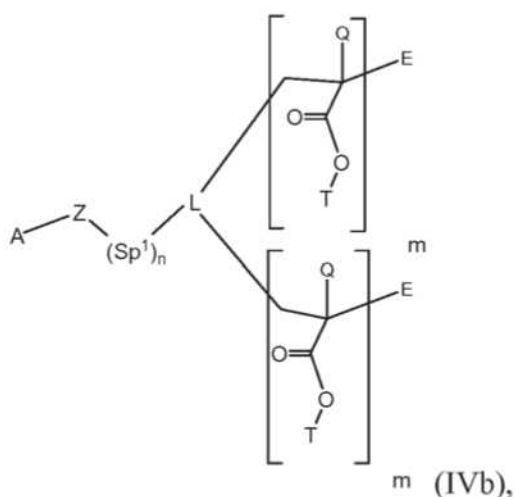
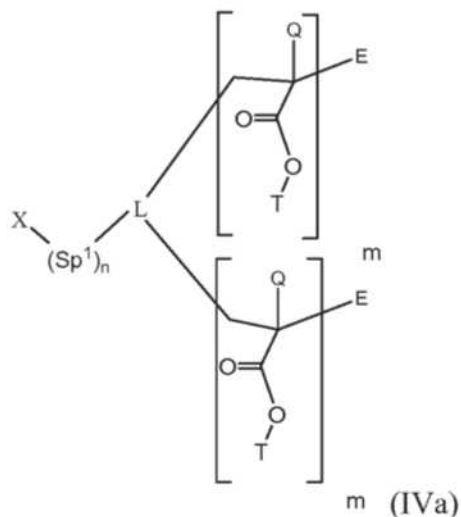
- 15 en la que cada porción polimérica:



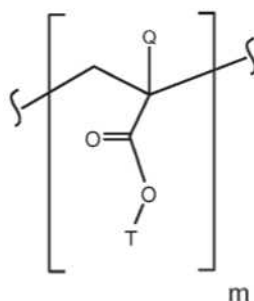
- 20 del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etil].

En otras realizaciones, los compuestos bifurcados de fórmula (Ia) o fórmula (Ib) a = 3 y b = 1; y en otras realizaciones a = 4 y b = 1.

- 25 En otras realizaciones de compuestos de fórmula (Ia) o fórmula (Ib), b es un número entero mayor de 1 y los compuestos son compuestos ramificados que tienen más de un brazo polimérico en forma del grupo K. En algunas realizaciones de compuestos ramificados de fórmula (Ia) o fórmula (Ib), a = 1 y b = 2, como en, por ejemplo, los compuestos de fórmula (IVa) (es decir,  $(X-(Sp^1)_n)_1-L-(K)_2$ ) o fórmula (IVb) (es decir,  $(A-Z-(Sp^1)_n)_1-L-(K)_2$ ).



en la que cada porción polimérica:

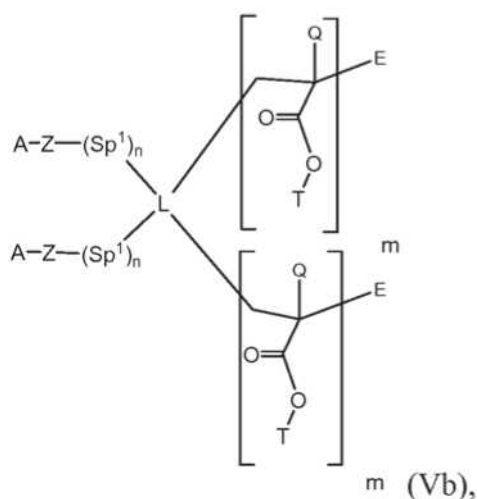
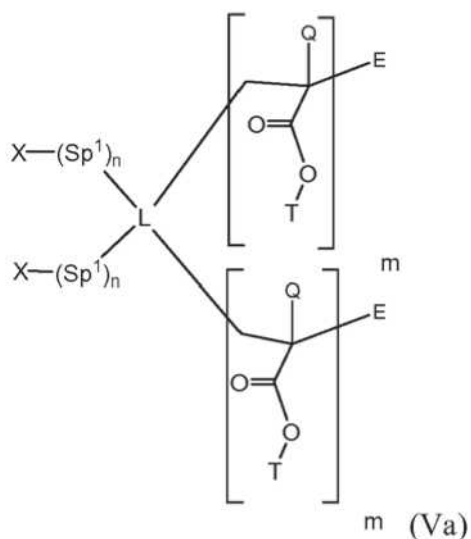


5

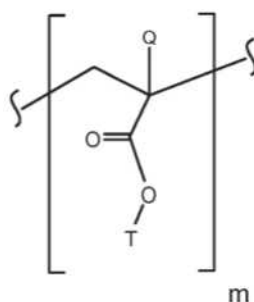
del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxyetil)-2'-(trimetilamonio)etilo].

10 En otras realizaciones de compuestos ramificados de fórmula (Ia) o fórmula (Ib),  $a = 1$  y  $b = 3$ ; y en aún otra realización  $a = 1$  y  $b = 4$ . En aquellas realizaciones en las que  $b$  es un número entero mayor de 1, (por ejemplo,  $b$  es 2, 3 o 4), la porción polimérica de la molécula puede ser poli-hidroxietilmetacriloil fosforilcolina, independientemente del valor de  $a$  (por ejemplo,  $a$  puede ser 1, 2, 3 o 4).

15 En otras realizaciones más de compuestos de fórmula (Ia) o fórmula (Ib), tanto  $a$  como  $b$  son números enteros mayores de 1 y los compuestos son compuestos ramificados y bifurcados. En una realización de compuestos ramificados y bifurcados de fórmula (Ia) o fórmula (Ib),  $a = 2$  y  $b = 2$ , por ejemplo, como en los compuestos de fórmula (Va) (es decir,  $(X-(Sp^1)_n)_2-L-(K)_2$ ) y los compuestos de fórmula (Vb) (es decir,  $(A-Z-(Sp^1)_n)_2-L-(K)_2$ ).



en la que cada porción polimérica:



5

del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etilo].

10 En otras realizaciones de compuestos ramificados y bifurcados de fórmula (Ia) o fórmula (Ib), a = 2 y b = 3 o 4. En otras realizaciones más de compuestos ramificados y bifurcados de fórmula (Ia) o fórmula (Ib), a = 3 o 4 y b = 2.

15 En algunas realizaciones de compuestos ramificados, bifurcados, o ramificados y bifurcados, donde la suma de a y b es 3; L comprende un átomo de carbono; o en otra realización, 2 átomos de carbono, o en otra realización, L comprende 3 o más átomos de carbono. En otras realizaciones de compuestos ramificados, bifurcados, o ramificados y bifurcados, donde la suma de a y b es 4; L comprende 2 átomos de carbono, o en otra realización 3 átomos de carbono, o en otra realización 4 átomos de carbono. En aún otras realizaciones de compuestos ramificados, bifurcados, o ramificados y bifurcados, donde la suma de a y b es 5; L comprende 3 átomos de carbono, o en otra realización 4 átomos de carbono, o en otra realización 5 átomos de carbono. Todavía en otras



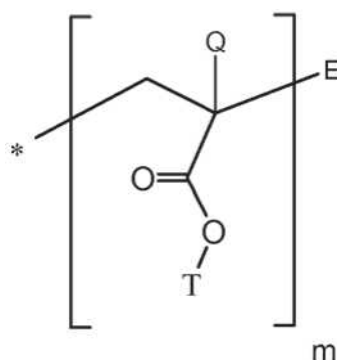
realizaciones de compuestos ramificados, bifurcados, o ramificados y bifurcados, donde la suma de a y b es 6; L comprende 4 átomos de carbono, o en otra realización 5 átomos de carbono, o en otra realización 6 átomos de carbono.

- 5 A menos que se especifique otra cosa, todos los grupos variables presentes en los compuestos de las fórmulas (IIIa), (IVa) o (Va) son como se definen para los compuestos de fórmula (Ia) o realizaciones de los mismos. De forma similar, a menos que se especifique otra cosa, todos los grupos presentes en los compuestos de las fórmulas (IIIb), (IVb) o (Vb) son como se han definido para los compuestos de fórmula (Ib) o realizaciones de los mismos.

10 B.3 Compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb)

En compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb) (es decir, los compuestos (Ia), (Ib), (IIa), (IIb), (IIIa), (IIIb), (IVa), (IVb), (Va), o (Vb)), la porción polimérica de los compuestos comprende poli(2-metacrililoetil fosforilcolina) también denominada pMPC, poli-hidroxietilmetacrililo fosforilcolina, pHEMA-PC o poli-HEMA-PC. En otras realizaciones de

- 15 *por ejemplo*, K es un grupo de la fórmula



- 20 donde Q es metilo; T es un grupo fosforilcolina; E se selecciona independientemente del grupo que consiste en Br, Cl, I, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo C<sub>1-4</sub>), -N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, -OH, -O-(alquilo C<sub>1-4</sub>), y -O-(alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido con flúor); y m es un número entero seleccionado en base al peso molecular deseado de la porción polimérica de un compuesto de las fórmulas (Ia) a (Vb).

- 25 En algunas realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ia) (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va), m es un número entero que varía de aproximadamente 2 a aproximadamente 30, o de aproximadamente 30 a aproximadamente 100, o de aproximadamente 20 a aproximadamente 200, o como alternativa, de aproximadamente 100 a aproximadamente 500. En otra realización, m es un número entero que varía de aproximadamente 500 a aproximadamente 1.000; y en aún otra realización, m es un número entero que varía de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 2.000. Los compuestos de las fórmulas (Ia) (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) también pueden tener el valor de m ajustado de tal forma que el intervalo de peso molecular (en Daltons) del compuesto es de aproximadamente 500 a aproximadamente 2000, o de 2.000 a aproximadamente 5.000, o de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 10.000, o de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 50.000, o de aproximadamente 50.000 a aproximadamente 100.000, o de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 200.000. Los pesos moleculares ejemplares para los

- 30 compuestos de las fórmulas (Ia) (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) incluyen aproximadamente 2.000 Daltons, aproximadamente 2.200 Daltons, aproximadamente 2.500 Daltons, aproximadamente 3.000 Daltons, aproximadamente 4.000 Daltons, aproximadamente 4.400 Daltons, aproximadamente 5.000 Daltons, aproximadamente 6.000 Daltons, aproximadamente 7.000 Daltons, aproximadamente 7.500 Daltons, aproximadamente 8.000 Daltons, aproximadamente 9.000 Daltons, aproximadamente 10.000 Daltons, aproximadamente 11.000 Daltons, aproximadamente 12.000 Daltons, aproximadamente 13.000 Daltons, aproximadamente 14.000 Daltons, aproximadamente 15.000 Daltons, aproximadamente 20.000 Daltons, aproximadamente 22.500 Daltons, aproximadamente 25.000 Daltons, aproximadamente 30.000 Daltons, aproximadamente 40.000 Daltons, aproximadamente 50.000 Daltons, aproximadamente 60.000 Daltons, aproximadamente 75.000 Daltons, aproximadamente 80.000 Daltons, aproximadamente 90.000 Daltons, aproximadamente 100.000 Daltons, aproximadamente 120.000 Daltons, aproximadamente 140.000 Daltons, aproximadamente 150.000 Daltons y aproximadamente 175.000 Daltons.

- En algunas realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb) m es un número entero que varía de aproximadamente 2 a aproximadamente 30, o de aproximadamente 30 a aproximadamente 100, o de aproximadamente 20 a aproximadamente 200, o como alternativa, de aproximadamente 100 a aproximadamente 500. En algunas realizaciones, m es un número entero que varía de aproximadamente 500 a aproximadamente 1.000, y en otras realizaciones, m es un número entero que varía de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 2.000. Los compuestos de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb) también pueden tener el valor de m ajustado de tal forma que el intervalo de peso molecular (en Daltons), excluyendo el peso molecular del agente biológicamente

activo A, es de aproximadamente 2.000 a aproximadamente 5.000, o de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 10.000, o de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 50.000, o de aproximadamente 50.000 a aproximadamente 100.000, o de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 200.000. Los pesos moleculares ejemplares para los compuestos de las fórmulas (Ib) (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb) excluyendo el peso molecular del agente biológicamente activo A, incluyen aproximadamente 2.000 Daltons, aproximadamente 2.200 Daltons, aproximadamente 2.500 Daltons, aproximadamente 3.000 Daltons, aproximadamente 4.000 Daltons, aproximadamente 4.400 Daltons, aproximadamente 5.000 Daltons, aproximadamente 6.000 Daltons, aproximadamente 7.000 Daltons, aproximadamente 7.500 Daltons, aproximadamente 8.000 Daltons, aproximadamente 9.000 Daltons, aproximadamente 10.000 Daltons, aproximadamente 11.000 Daltons, aproximadamente 12.000 Daltons, aproximadamente 13.000 Daltons, aproximadamente 14.000 Daltons, aproximadamente 15.000 Daltons, aproximadamente 20.000 Daltons, aproximadamente 22.500 Daltons, aproximadamente 25.000 Daltons, aproximadamente 30.000 Daltons, aproximadamente 40.000 Daltons, aproximadamente 50.000 Daltons, aproximadamente 60.000 Daltons, aproximadamente 75.000 Daltons, aproximadamente 80.000 Daltons, aproximadamente 90.000 Daltons, aproximadamente 100.000 Daltons, aproximadamente 120.000 Daltons, aproximadamente 140.000 Daltons, aproximadamente 150.000 Daltons y aproximadamente 175.000 Daltons.

En algunas realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ia) o (Ib), que tienen múltiples brazos de polímero donde b es mayor de o igual a 3, el valor de m puede seleccionarse de tal forma que el peso molecular de los compuestos, excluyendo el peso del agente activo "A", cuando está presente, es de aproximadamente 2.000 a aproximadamente 300.000 Daltons. Otros intervalos de peso molecular para los compuestos de fórmula (Ia) o (Ib) donde b es mayor de o igual a 3 son de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 10.000, o de aproximadamente 10.000 a aproximadamente 50.000, o de aproximadamente 50.000 a aproximadamente 100.000, o de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 200.000 o de aproximadamente 200.000 a aproximadamente 250.000 o de aproximadamente 250.000 a aproximadamente 300.000 Daltons, excluyendo el peso del agente activo "A" cuando está presente.

La longitud del polímero en compuestos de fórmula (Ia) a (Vb), y por lo tanto la masa, se puede variar por encima de al menos los intervalos indicados anteriormente. Dependiendo de los medios sintéticos empleados y los métodos de purificación posteriores empleados, la variación en el tamaño/masa de los compuestos de fórmula (Ia) a (Vb) Ib puede controlarse para dar preparaciones que tienen intervalos estrechamente dispersos, o como alternativa, intervalos de tamaño/masa ampliamente dispersos.

En algunas realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va), X es un grupo reactivo o una forma protegida del mismo que puede reaccionar con nucleófilos o electrófilos. En algunas realizaciones, X es un grupo capaz de reaccionar con un nucleófilo o electrófilo presente en un agente biológicamente activo. En otras realizaciones, X es un grupo capaz de reaccionar con una funcionalidad seleccionada de un aldehído, una cetona, una amina, un carboxilo, un hidroxilo, un grupo guanido o tiol de un agente biológicamente activo para formar una unión covalente entre el agente biológicamente activo y el grupo L al que se unió X. La unión entre el agente biológicamente activo y L puede incluir uno o más átomos derivados de X, uno o más átomos derivados de la reacción de A con X, o átomos de un grupo  $Sp^1$ , si está presente. Como alternativa, la unión entre L y el agente biológicamente activo puede ser un enlace covalente directo donde X es un grupo que puede desplazarse de L, tal como por un nucleófilo del agente biológicamente activo que actúa en una reacción de sustitución nucleófila  $S_N1$  o  $S_N2$ .

En otras realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ia) (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) X se selecciona del grupo que consiste en: hidroxilo, tiol, disulfuro, ditiopiridilo, aldehído, aldehído hidrato, cetona, tiona, acetal, cetal,  $-CH(OR^1)_2$ , hemiacetal, hemicetal, monotiocetal, ditiocetal, epóxido, tioepóxido, glioxal, dionas, amida, hidrazida, carboxilo, éster del ácido carboxílico, ortoéster, N-hidroxisuccinimida éster, succinimidilo, maleimidilo, 1-benzotriazolilo,  $-CO_2$ -succinimidilo,  $-CO_2$ -maleimidilo, imido-éster, guanido,  $-CO_2$ -(1-benzotriazolil) amina, urea, carbamato, carbonato, tiourea, tiocarbamato, isocianato, isotiocianato, sulfona, cloroetilsulfona, carbonilo alfa-beta sustituido, carboxilo alfa-beta sustituido, acrilóilo, acrilato, metacrilato, acrilamida, vinilsulfona, vinilpiridina,  $-O(C=O)-CH_2-I$ ,  $-O(C=O)-CH_2-Br$ ,  $-NH(C=O)-CH_2-I$ ,  $-NH(C=O)-CH_2-Br$ ,  $-(C=O)-CH_2-I$ , y  $-(C=O)-CH_2-Br$ ; en las que  $R^1$  es alquilo  $C_{1-6}$ , cicloalquilo  $C_3-C_6$ , o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos.

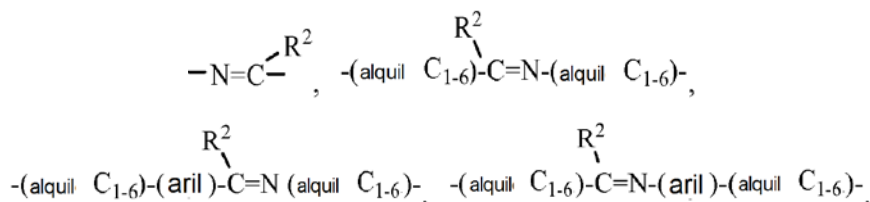
En algunas realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va), X es un grupo seleccionado de formas protegidas y no protegidas de: hidroxilo, tiol, disulfuro, ditiopiridilo, aldehído, aldehído hidrato, cetona, tiona, acetal, cetal,  $-CH(OR^1)_2$ , hemiacetal, hemicetal, monotiocetal, ditiocetal, epóxido, glioxales, dionas, amida, hidrazida, carboxilo, éster del ácido carboxílico, ortoéster, succinimidilo, maleimidilo, 1-benzotriazolilo,  $-CO_2$ -succinimidilo,  $-CO_2$ -maleimidilo, y  $-CO_2$ -(1-benzotriazolilo); en las que  $R^1$  es alquilo  $C_{1-6}$ , cicloalquilo  $C_3-C_6$ , o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos.

En otras realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ia) (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va), X es un grupo seleccionado de formas protegidas y no protegidas de: éter, tioéter, amina, urea, carbamato, carbonato, tiourea, tiocarbamato, isocianato, isotiocianato, sulfona, y cloroetilsulfona.

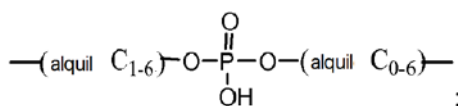
En aún otras realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ia) (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va), X es carbonilo alfa-beta sustituido, alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, acrililo, acrilato, metacrilato, acrilamida, vinilsulfona y vinilpiridina. Cuando un grupo X contiene un doble enlace que no puede estar presente en las reacciones de polimerización, tal como cuando X comprende un grupo vinil piridina, un carbonilo alfa-beta insaturado, un alfa-beta éster, vinilsulfona o una alfa-beta amida, el grupo puede introducirse en los compuestos tras cualquier proceso de polimerización que crea la porción polimérica de los compuestos de la invención. Esto puede lograrse, por ejemplo, a través de un agente bifuncional que tiene un grupo X y un grupo capaz de reaccionar con una funcionalidad unida al grupo L, tal como un grupo NHS éster, ambos añadidos a un grupo -(Sp<sup>1</sup>)<sub>n</sub>.

- 5
- 10 Dentro de los compuestos de fórmula (Ia) a (Vb), cuando n es 0, el grupo espaciador Sp<sup>1</sup> no está presente y -Sp<sup>1</sup> representa un enlace covalente de tal forma que L está directamente unido a -Z-A o -X mediante un enlace covalente.

15 Cuando n es 1, -Sp<sup>1</sup> está presente entre los restos A-Z y L o entre los restos X y L de compuestos que tienen las fórmulas (Ia) a (Vb). En algunas realizaciones, Sp<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en: un éter alquílico y éster alquílico de un ácido alquil carboxílico. En otras realizaciones, Sp<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en: -alquil C<sub>1-12</sub>-, -cicloalquil C<sub>3-12</sub>-, -(alquil C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-(alquil C<sub>0-8</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-, (-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>)<sub>1-12</sub>-, (-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>)<sub>1-12</sub>-, (-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>)<sub>1-12</sub>O-, (-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>)<sub>1-12</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-O-(C=O)-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-O-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-O--CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-NH-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(fenil)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-N-(alquil C<sub>1-6</sub>)-, acetal, cetal, aciloxialquil éter, -N=CH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-, -S-S-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(fenil)-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-, -O-(alquil C<sub>1-6</sub>)-S(O<sub>2</sub>)-(alquil C<sub>1-6</sub>)-O-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-N=C-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-(heteroaril)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-fenil-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-,



y



35

40 En otra realización, Sp<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en: -alquil C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>-, -cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>)<sub>1-12</sub>-, (-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-, (-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>)<sub>1-12</sub>O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(CO)-O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(CO)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-O-(CO)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-NH-(CO)-, (-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>)<sub>1-12</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(CO)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(CO)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-O-(CO)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-NH-(CO)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>)-, -(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>)-, -(cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>)-(alquil C<sub>1-8</sub>)-, -(alquil C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>)-(alquil C<sub>1-8</sub>)- y -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-aril-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-. Cuando los grupos Sp<sup>1</sup> están presentes en una molécula de las fórmulas (Ia) a (Vb), el grupo Sp<sup>1</sup> está orientado preferiblemente de tal forma que un átomo de carbono de Sp<sup>1</sup> está unido directamente a X por un enlace covalente.

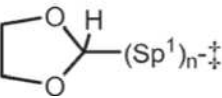
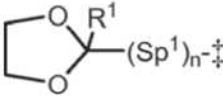
45

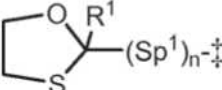
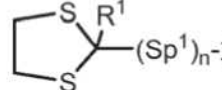
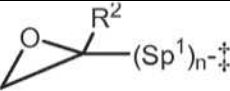
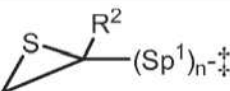
50 Z es el producto de la reacción entre un grupo presente en un agente biológicamente activo y un grupo reactivo (por ejemplo, un grupo X de un compuesto de las fórmulas (Ia) (IIa), (IIIa) (IVa) o (Va)) unido a un grupo Sp<sup>1</sup> cuando n es 1, o a L cuando n es 0. En algunas realizaciones de compuestos (Ib) (IIb), (IIIb), (IVb) o (Vb), Z está formado a partir de un nucleófilo o electrófilo presente en un agente biológicamente activo y un grupo X que es capaz de formar uno o más enlaces covalentes a través de una reacción con el nucleófilo o electrófilo presente en el agente biológicamente activo. En otras realizaciones, Z es un grupo resultante de la formación de un enlace covalente entre un grupo X y un aldehído, una cetona, un grupo carboxilo, una amina, un hidroxilo o un tiol presente en un grupo biológicamente activo.

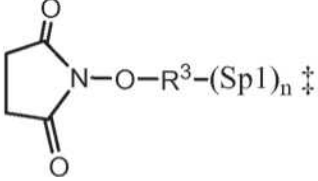
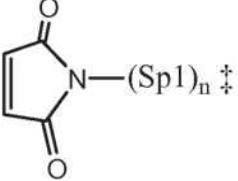
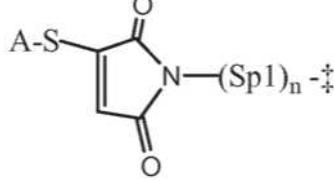
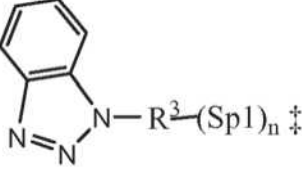
55 Algunos ejemplos no limitantes de grupos Z formados a partir de la reacción de algunos grupos X representativos y algunos grupos típicamente que se encuentran o se introducen en agentes biológicamente activos se exponen en la

Tabla I.

Tabla I

Agentes biológicamente activos y grupos ilustrativos que pueden reaccionar con un grupo reactivo (X) para formar un grupo Z.	Grupos X reactivos ejemplares de los compuestos (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) (mostrados adjuntos a $-(Sp^1)_{n-1}$ )	Producto A-Z- $(Sp^1)_{n-1}$
A-COOH	$HO-(Sp^1)_{n-1}$	A-C(=O)O- $(Sp^1)_{n-1}$
	hidroxilo o formas activadas del mismo (por ejemplo, tresilato, mesilato, etc.)	
A-COOH A-SH	$HS-(Sp^1)_{n-1}$ tiol	A-C(=O)S- $(Sp^1)_{n-1}$ A-S-S- $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH	$R^1-S-S-(Sp^1)_{n-1}$ (disulfuro)	A-S-S- $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH	(piridil)-S-S- $(Sp^1)_{n-1}$ (ditiopiridilo)	A-S-S- $(Sp^1)_{n-1}$
A-NH <sub>2</sub>	$H(O=C)-(Sp^1)_{n-1}$ aldehído	A-N=CH- $(Sp^1)_{n-1}$ o A-NH-CH <sub>2</sub> - $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-NH <sub>2</sub>	$(HO)_2HC-(Sp^1)_{n-1}$ aldehído hidrato	A-N=CH- $(Sp^1)_{n-1}$ o
		A-NH-CH <sub>2</sub> - $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-NH <sub>2</sub>	$(R^1O)_2CH-(Sp^1)_{n-1}$ o  acetal	A-N=CH- $(Sp^1)_{n-1}$ o A-NH-CH- $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-NH <sub>2</sub>	$R^1OCH(OH)-(Sp^1)_{n-1}$ o hemiacetal	A-N=CH- $(Sp^1)_{n-1}$ o A-NH-CH- $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-NH <sub>2</sub>	$R^1(O=C)-(Sp^1)_{n-1}$ cetona	A-N=CR <sup>1</sup> - $(Sp^1)_{n-1}$ o A-NH-C(R <sup>1</sup> )H- $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-NH <sub>2</sub>	$(R^1O)_2C-(Sp^1)_{n-1}$ o  cetal	A-N=C(R <sup>1</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ o A-NH-C(R <sup>1</sup> )H- $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-NH <sub>2</sub>	$R^1OCH(OH)-(Sp^1)_{n-1}$ hemiacetal	A-N=C(R <sup>1</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ o A-NH-C(R <sup>1</sup> )H- $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción

Agentes biológicamente activos y grupos ilustrativos que pueden reaccionar con un grupo reactivo (X) para formar un grupo Z.	Grupos X reactivos ejemplares de los compuestos (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) (mostrados adjuntos a $-(Sp^1)_{n-1}$ )	Producto A-Z- $(Sp^1)_{n-1}$
A-NH <sub>2</sub>	R <sup>1</sup> (S=)C- $(Sp^1)_{n-1}$ cetona tiona (tioacetona)	A-N=C(R <sup>1</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ o A-NH-C(R <sup>1</sup> )H- $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-NH <sub>2</sub>	(R <sup>1</sup> O)(R <sup>1</sup> S)CH- $(Sp^1)_{n-1}$ o  monotiocetal	A-N=C(R <sup>1</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ o A-NH-C(R <sup>1</sup> )H- $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-NH <sub>2</sub>	R <sup>1</sup> SCH(SH)- $(Sp^1)_{n-1}$ o ditiocetal	A-N=C(R <sup>1</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ o A-NH-C(R <sup>1</sup> )H- $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-NH <sub>2</sub>	(R <sup>1</sup> S) <sub>2</sub> CH- $(Sp^1)_{n-1}$ o  ditiocetal	A-N=C(R <sup>1</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ o A-NH-C(R <sup>1</sup> )H- $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-SH	 epóxido (oxirano)	A-S-CH <sub>2</sub> -C(OH)(R <sup>2</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$
A-OH A-COOH (anión) A-NHR <sup>2</sup>		A-O-CH <sub>2</sub> -C(OH)(R <sup>2</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ A-C(=O)O-CH <sub>2</sub> -C(OH)(R <sup>2</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ A-NR <sup>2</sup> -CH <sub>2</sub> -C(OH)(R <sup>2</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH A-OH A-COOH (anión) A-NHR <sup>2</sup>	 tioepóxido	A-S-CH <sub>2</sub> -C(SH)(R <sup>2</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ A-O-CH <sub>2</sub> -C(SH)(R <sup>2</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ A-C(=O)O-CH <sub>2</sub> -C(SH)(R <sup>2</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ A-NR <sup>2</sup> -CH <sub>2</sub> -C(SH)(R <sup>2</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH A-OH A-NHR <sup>2</sup>	HO-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$ carboxilo	A-S-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$ A-O-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$ A-NH-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$
A-sh A-oh A-NHr <sup>2</sup>	(alcohol)-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$ éster del ácido carboxílico  (el alcohol indica un grupo saliente de alcohol adecuado esterificado, por ejemplo, p-nitrofenilo)	A-S-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$ A-O-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$ A-NH-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$

Agentes biológicamente activos y grupos ilustrativos que pueden reaccionar con un grupo reactivo (X) para formar un grupo Z.	Grupos X reactivos ejemplares de los compuestos (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) (mostrados adjuntos a $-(Sp^1)_n-\ddagger$ )	Producto A-Z- $(Sp^1)_n-\ddagger$
A-NH <sub>2</sub>	 <p>N-hidroxisuccinimida éster</p>	A-NH-R <sup>3</sup> - $(Sp^1)_n-\ddagger$
A-sh <sub>2</sub>		
A-NH <sub>2</sub>	 <p>1-benzotriazol éster</p>	A-NH-R <sup>3</sup> - $(Sp^1)_n-\ddagger$
A-NH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>1-3</sub> -O(C=NH)- $(S^1)_n-\ddagger$ (imido-éster)	A-NH-(C=NH)- $(Sp^1)_n-\ddagger$ (amidina)
A-(C=NH)-O(CH <sub>2</sub> ) <sub>1-3</sub> -CH <sub>3</sub> (imido éster)	H <sub>2</sub> N- $(Sp^1)_n-\ddagger$	A-(C=NH)-HN- $(Sp^1)_n-\ddagger$ (amidina)
A-COOH A-(C=O)-R <sup>2</sup>	H <sub>2</sub> N- $(Sp^1)_n-\ddagger$ amina	A-(C=O)-NH- $(Sp^1)_n-\ddagger$  A-(R <sup>2</sup> )C=N- $(Sp^1)_n-\ddagger$ o A-(R <sup>2</sup> )CH-NH- $(Sp^1)_n-\ddagger$ tras la reducción
A-COOH A-(C=O)-R <sup>2</sup>	H <sub>2</sub> N-(C=O)-NH- $(Sp^1)_n-\ddagger$ urea	A-(C=O)-NH-(C=O)-NH- $(Sp^1)_n-\ddagger$  A-(R <sup>2</sup> )C=N-(C=O)-NH- $(Sp^1)_n-\ddagger$ o A-(R <sup>2</sup> )CH-NH-(C=O)-NH- $(Sp^1)_n-\ddagger$ tras la reducción
A-COOH A-(C=O)-R <sup>2</sup>	H <sub>2</sub> N-(C=O)-O- $(Sp^1)_n-\ddagger$ carbamato	A-(C=O)-NH-(C=O)-O- $(Sp^1)_n-\ddagger$  A-(R <sup>2</sup> )C=N-(C=O)-O- $(Sp^1)_n-\ddagger$ o A-(R <sup>2</sup> )CH-NH-(C=O)-O- $(Sp^1)_n-\ddagger$ tras la reducción
A-COOH A-(C=O)-R <sup>2</sup>	H <sub>2</sub> N-(C=S)-NH- $(Sp^1)_n-\ddagger$ tiourea	A-(C=O)-NH-(C=S)-NH- $(Sp^1)_n-\ddagger$  A-(R <sup>2</sup> )C=N-(C=S)-NH- $(Sp^1)_n-\ddagger$ o A-(R <sup>2</sup> )CH-NH-(C=S)-NH- $(Sp^1)_n-\ddagger$ tras la reducción

Agentes biológicamente activos y grupos ilustrativos que pueden reaccionar con un grupo reactivo (X) para formar un grupo Z.	Grupos X reactivos ejemplares de los compuestos (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) (mostrados adjuntos a $-(Sp^1)_{n-1}$ )	Producto A-Z- $(Sp^1)_{n-1}$
A-COOH A-(C=O)-R <sup>2</sup>	H <sub>2</sub> N-(C=S)-O- $(Sp^1)_{n-1}$ tiocarbamato	A-(C=O)-NH-(C=S)-O- $(Sp^1)_{n-1}$  A-(R <sup>2</sup> )C=N-(C=S)-O- $(Sp^1)_{n-1}$ o A-(R <sup>2</sup> )CH-NH-(C=S)-O- $(Sp^1)_{n-1}$ tras la reducción
A-(C=O)-R <sup>2</sup>	H <sub>2</sub> N-HN- $(Sp^1)_{n-1}$	A-(R <sup>2</sup> )C=N-HN- $(Sp^1)_{n-1}$ hidrazona
A-NH-NH <sub>2</sub>	R <sup>2</sup> -(O=C)- $(Sp^1)_{n-1}$	A-NH-N=C(R <sup>2</sup> )- $(Sp^1)_{n-1}$ hidrazona
A-NH <sub>2</sub>  A-OH	O=C=N- $(Sp^1)_{n-1}$ isocianato	A-NH-(C=O)-NH- $(Sp^1)_{n-1}$  A-O-(C=O)-NH- $(Sp^1)_{n-1}$
A-NH <sub>2</sub>  A-OH	S=C=N- $(Sp^1)_{n-1}$ isotiocianato	A-NH-(C=S)-NH- $(Sp^1)_{n-1}$  A-O-(C=S)-NH- $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH	H <sub>2</sub> C=CH-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$  o H <sub>2</sub> C=C(CH <sub>3</sub> )-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$ carbonilos alfa-beta sin sustituir	A-S-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$  A-S-CH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> )-(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$ ‡
A-SH	H <sub>2</sub> C=CH-(C=O)O- $(Sp^1)_{n-1}$ carboxilo alfa-beta sin sustituir	A-S-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -(C=O)O- $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH	H <sub>2</sub> C=C(CH <sub>3</sub> )-(C=O)-O- $(Sp^1)_{n-1}$ carboxilos alfa-beta sin sustituir (metacrilatos)	A-S-CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )-(C=O)O- $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH	H <sub>2</sub> C=CH-(C=O)NH- $(Sp^1)_{n-1}$ amidas alfa-beta sin sustituir (acrilamidas)	A-S-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -(C=O)NH- $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH	vinilpiridina- $(Sp^1)_{n-1}$ (2- o 4-vinilpiridina)	A-S-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -(piridil)- $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH	H <sub>2</sub> C=CH-SO <sub>2</sub> - $(Sp^1)_{n-1}$ (vinil sulfona)	A-S-H <sub>2</sub> C-CH <sub>2</sub> -SO <sub>2</sub> - $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH	ClH <sub>2</sub> C-CH <sub>2</sub> -SO <sub>2</sub> - $(Sp^1)_{n-1}$ (cloroetil sulfona)	A-S-H <sub>2</sub> C-CH <sub>2</sub> -SO <sub>2</sub> - $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH	(halógeno)-CH <sub>2</sub> -(C=O)-O- $(Sp^1)_{n-1}$ (halógeno)-CH <sub>2</sub> -(C=O)-NH- $(Sp^1)_{n-1}$ (halógeno)-CH <sub>2</sub> -(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$ (halógeno es preferiblemente I o Br)	A-S-CH <sub>2</sub> -(C=O)-O- $(Sp^1)_{n-1}$ A-S-CH <sub>2</sub> -(C=O)-NH- $(Sp^1)_{n-1}$ A-S-CH <sub>2</sub> -(C=O)- $(Sp^1)_{n-1}$
A-O(C=O)-CH <sub>2</sub> -(halógeno)  A-NH(C=O)-CH <sub>2</sub> -(halógeno) A-(C=O)-CH <sub>2</sub> -(halógeno) (halógeno es preferiblemente I o Br)	HS- $(Sp^1)_{n-1}$	A-O(C=O)-CH <sub>2</sub> -S- $(Sp^1)_{n-1}$ A-NH(C=O)-CH <sub>2</sub> -S- $(Sp^1)_{n-1}$ A-(C=O)-CH <sub>2</sub> -S- $(Sp^1)_{n-1}$
A-SH	(halógeno)-CH <sub>2</sub> (C=O)O- $(Sp^1)_{n-1}$ (halógeno)-CH <sub>2</sub> (C=O)NH- $(Sp^1)_{n-1}$	A-S-CH <sub>2</sub> (C=O)O- $(Sp^1)_{n-1}$ A-S-CH <sub>2</sub> (C=O)NH- $(Sp^1)_{n-1}$

Agentes biológicamente activos y grupos ilustrativos que pueden reaccionar con un grupo reactivo (X) para formar un grupo Z.	Grupos X reactivos ejemplares de los compuestos (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) (mostrados adjuntos a $-(Sp^1)_{n-†}$ )	Producto A-Z- $(Sp^1)_{n-†}$
	(halógeno)-CH <sub>2</sub> (C=O)- $(Sp^1)_{n-†}$ (halógeno es preferiblemente I o Br)	A-S-CH <sub>2</sub> (C=O)- $(Sp^1)_{n-†}$

R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos;

R<sup>2</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos;

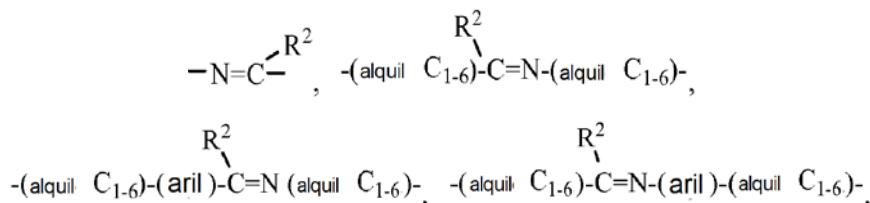
R<sup>3</sup> es un derivado carbonilo  $^*(C=O)-$ ,  $^*(C=O)-(CH_2)_{1-8}-S-S-$ ,  $^*(C=O)-(CH_2)_{1-8}-(C=O)-O-$ ,  $^*(C=O)-(CH_2)_{1-8}-O-(C=O)-$ ,  $^*(C=O)-(CH_2)_{1-8}-(C=O)-NH-$ , o  $^*(C=O)-(CH_2)_{1-8}-NH-(C=O)-$ , o como alternativa, R<sup>3</sup> es un derivado carbonilo de la forma  $^*(C=O)-O-(CH_2)_{1-8}-S-S-$ ,  $^*(C=O)-O-(CH_2)_{1-8}-(C=O)-O-$ ,  $^*(C=O)-O-(CH_2)_{1-8}-O-(C=O)-$ ,  $^*(C=O)-O-(CH_2)_{1-8}-(C=O)-NH-$ , o  $^*(C=O)-O-(CH_2)_{1-8}-NH-(C=O)-$ , donde "\*" indica el punto de unión a grupos succinimidilo o benzotriazolilo;

N es independientemente 0 o 1; y

† indica el punto de unión a un grupo L.

El agente biológicamente activo, A, de compuestos de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb) pueden incluir un grupo espaciador,  $(Sp^2)_p$ , como un medio de unión del agente activo, A, a Z. Cuando p es 0, el grupo espaciador Sp<sup>2</sup> no está presente y  $-Sp^2-$  representa un enlace covalente de tal forma que el agente biológicamente activo "A" se une directamente al grupo Z mediante uno o más enlaces covalentes (por ejemplo, un doble enlace). Cuando n es 1, el grupo espaciador representado Sp<sup>2</sup> está presente entre los grupos A y Z, y los compuestos de fórmula (Ib) pueden escribirse como  $(A(Sp^2)_p-Z-(Sp^1)_n)_a-L-(K)_b$ , donde todos los componentes, excepto  $(Sp^2)$  y p son como se definen para los compuestos de fórmula (Ib); y p es 0 o 1. En algunas realizaciones, los grupos espaciadores Sp<sup>2</sup> pueden comprender un éter alquílico y un éster alquílico de un ácido alquil carboxílico.

En otras realizaciones de compuestos de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb), Sp<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en: -alquil C<sub>1-12</sub>-, -cicloalquil C<sub>3-12</sub>-, -(alquil C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-(alquil C<sub>0-8</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-O-(C=O)-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-O-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-O-, -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(fenil)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-N-(alquil C<sub>1-6</sub>)-, acetal, cetal, acioxialquil éter, -N=CH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-, -S-S-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(fenil)-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-, -O-(alquil C<sub>1-6</sub>)-S(O<sub>2</sub>)-(alquil C<sub>1-6</sub>)-O-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-N=C-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-(heteroaril)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-fenil-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-,



y

En otra realización de compuestos de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb), los grupos espaciadores Sp<sup>2</sup> se seleccionan de: -alquil C<sub>1-12</sub>-, cicloalquilo C<sub>3-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(CO)-O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(CO)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-O-(CO)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-NH-(CO)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(CO)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(CO)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-O-(CO)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-NH-(CO)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-, -(alquil C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-, -(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-(alquil C<sub>1-8</sub>)- y -(alquil C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-(alquil C<sub>1-8</sub>)-.

Aunque el grupo espaciador Sp<sup>2</sup>, cuando está presente, se considera adjunto al agente biológicamente activo, A, para el fin de sintetizar los compuestos de fórmula (Ib) o sus sub-realizaciones (IIb), (IIIb), (IVb) y (Vb), el grupo espaciador Sp<sup>2</sup>, o un precursor de éste, puede introducirse en la molécula para formar el enlace a Z seguido de la formación del enlace entre A y Sp<sup>2</sup>. A este respecto, algunos grupos espaciadores Sp<sup>2</sup> pueden considerarse como agentes bifuncionales que tienen tanto un grupo capaz de reaccionar con un grupo reactivo X de compuestos (Ia),



(IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) para formar un grupo Z, como un grupo capaz de reaccionar con un grupo presente en un agente biológicamente activo, formando así moléculas de la forma  $(A(\text{Sp}^2)_p\text{-Z}(\text{Sp}^1)_n)_a\text{-L}(\text{K})_b$  donde p es 1. Una diversidad de reactivos bifuncionales que pueden emplearse como fuente de grupos espaciadores  $\text{Sp}^1$  y  $\text{Sp}^2$  están disponibles de proveedores comerciales que incluyen Pierce Biotechnology, Inc., (Rockford, IL, Estados Unidos), (véase, por ejemplo, la Tabla II).

Tabla II

10	HCl del ácido 3-([2-Aminoetil] ditio)-propiónico N-( $\alpha$ -Maleimidoacetoxi)-succinimida éster 1,4-Bis-Maleimidobutano 1,4-Bis-Maleimidil-2,3-dihidroxibutano Bis-Maleimidohexano Bis-Maleimidoetano
15	Ácido N- $\beta$ -maleimidopropiónico N-(ácido $\beta$ -maleimidopropiónico)hidrazida TFA N-( $\beta$ -Maleimidopropiloxi)succinimida éster 1,8-Bis-Maleimidotrietilenglicol 1,11-Bis-Maleimidotetraetilenglicol
20	Bis(2-[succinimidoxicarboniloxi]etil)sulfona Bis(sulfosuccinimidil)suberato C6-Succinimidil 4-hidrazinonicotinato acetona hidrazona 4-formilbenzoato de C6-succinimidilo 1-5-Difluoro-2,4-dinitrobenceno
25	Dimetil adipimidato-2HCl Dimetil pimelimidato-2HCl Dimetil suberimidato-2HCl 1,4-Di-(3'-[2'piridilditio]propionamido) butano Disuccinimidil glutarato
30	Ditiobis(succinimidilpropionato) (reactivo de Lomant) Disuccinimidil suberato Disuccinimidil tartarato Dimetil 3,3'-ditiobispropionimidato-2HCl Ditiobis-maleimidoetano
35	3,3'-Ditiobis(sulfosuccinimidilpropionato) Etilenglicol bis(succinimidilsuccinato) Ácido N- $\epsilon$ -maleimidocaproico N-(ácido $\epsilon$ -maleimidocaproico)hidrazida N-( $\epsilon$ -Maleimidocaproiloxi)succinimida éster
40	N-( $\gamma$ -Maleimidobutiriloxi)succinimida éster 1,6-Hexano-bis-vinilsulfona Ácido N- $\kappa$ -maleimidoundecanoico N-(ácido $\kappa$ -maleimidoundecanoico)hidrazida Succinimidil 4-(N-maleimidometil) ciclohexano-1-carboxi-(6-amidocaproato)
45	Succinimidil 6-(3'-[2-piridilditio]propionamido)hexanoato m-Maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida éster hidrazida-HCl del ácido 4-(4-N-Maleimidofenil)-butírico Metil N-succinimidil adipato lysinil] etilmetanotiosulfato
50	3-2(2-Piridilditio)propionilhidrazida N-(p-Maleimidofenil)isocianato Succinimidil 4-hidrazinonicotinato acetona hidrazona N-Succinimidil S-acetiltoacetato N-Succinimidil S-acetilpropionato
55	Succinimidil 3-(bromoacetamido)propionato Succinimidil 4-formilbenzoato N-succinimidil yodoacetato N-Succinimidil (4-yodoacetil)aminobenzoato Succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato
60	Succinimidil 4-(p-maleimidofenil)butirato Succinimidil 6-( $\beta$ -maleimidopropionamido)hexanoato 4-Succinimidiloxicarbonil-metil- $\alpha$ -(2-piridilditio)tolueno Succinimidil-(4-psoralen-8-iloxi)butirato N-Succinimidil 3-(2-piridilditio)propionato
65	Sulfodisuccinimidil tartarato Etilenglicol bis(sulfosuccinimidil succinato)

- N-(ε-Maleimidocaproiloxi)sulfosuccinimida éster  
 N-(γ-Maleimidobutriloxi)sulfosuccinimida éster  
 N-(κ-Maleimidoundecanoiloxi)sulfosuccinimida éster  
 5 Sulfosuccinimidil 6-(α-metil-α-[2-piridilditio]-toluamido)hexanoato  
 Sulfosuccinimidil 6-(3' [2-piridilditio]propionamido)hexanoato  
*m*-Maleimidobenzoil-*N*-hidroxisulfosuccinimida éster  
 Sulfosuccinimidil (4-yodoacetil)aminobenzoato  
 Sulfosuccinimidil 4-(*N*-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato  
 Sulfosuccinimidil 4-(*p*-maleimidofenil)butirato  
 10 *N*-(ε-Trifluoracetilcaproiloxi)succinimida éster  
 Ácido β-(tris[hidroximetil]fosfina)propiónico (betaína)  
*Tris*-(2-Maleimidoetil)amina (*Trifuncional*)  
*Tris*-(succinimidil aminotricetato) (*Trifuncional*)

- 15 En aquellas realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb) donde n es 1, está presente un grupo espaciador -(Sp<sup>1</sup>)-; y en aquellas realizaciones en las que n es 0, el grupo espaciador Sp<sup>1</sup> no está presente, y -Sp<sup>1</sup>- representa un enlace covalente. De forma similar, en algunas realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb), tanto n como p son 0, y los grupos espaciadores Sp<sup>1</sup> y Sp<sup>2</sup> representan un enlace covalente. En otras realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), y (Vb), tanto n como p son 1, o como alternativa n es 1 y p es 0, o como alternativa n es 0 y p es 1.

- En algunos compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb), los grupos espaciadores Sp<sup>1</sup> o Sp<sup>2</sup>, cuando están presentes, comprenden un enlace hidrolíticamente susceptible o un enlace enzimáticamente degradable. En algunas realizaciones de la presente invención, los enlaces hidrolíticamente susceptibles o los enlaces enzimáticamente degradables presentes en Sp<sup>1</sup> o Sp<sup>2</sup> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de fosfato, acetales, cetales, aciloxialquil éter, iminas, ortoésteres, disulfuros, amidas. En otra realización de compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb), los grupos espaciadores Sp<sup>1</sup> y Sp<sup>2</sup>, cuando están presentes, comprenden un enlace hidrolíticamente susceptible o un enlace enzimáticamente degradable que comprende aminoácidos, péptidos, polipéptidos, ácidos nucleicos y oligonucleótidos. En otra realización, los enlaces hidrolíticamente susceptibles o enzimáticamente degradables se seleccionan del grupo que consiste en ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de fosfato, acetales, cetales, aciloxialquil éter, iminas, ortoésteres, disulfuros, algunas amidas, péptidos, polipéptidos, ácidos nucleicos y oligonucleótidos, cada uno de los cuales tiene un grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) en ambos extremos del enlace susceptible. En otra realización, los enlaces hidrolíticamente susceptibles o enzimáticamente degradables presentes en los espaciadores Sp<sup>1</sup> y Sp<sup>2</sup> tienen grupos alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) en cada extremo, y Sp<sup>1</sup> y Sp<sup>2</sup> se seleccionan del grupo que consiste en -(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-(C=O)-O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-, -(alquil C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>)-PO<sub>4</sub>(H)-(alquil C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub> alquil)-, o una sal del mismo, -(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-, -(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-(C=O)-N-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)- o -(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-C=N-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-. En otra realización, los enlaces Sp<sup>1</sup> y Sp<sup>2</sup> se seleccionan del grupo que consiste en -(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-(aril)-C=N-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)- y -(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-C=N-(aril)-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-. El experto en la materia reconocerá que muchos enlaces hidrolíticamente susceptibles también son enlaces enzimáticamente degradables. Para los fines de esta descripción, un enlace enzimáticamente degradable puede colocarse en cualquier posición donde se pueda colocar un enlace hidrolíticamente susceptible.

- El propio grupo Z también puede ser un enlace hidrolíticamente susceptible o enzimáticamente degradable. En una realización, el grupo Z se puede seleccionar de una amida, un éster o una imina, particularmente una imina que lleva un grupo arilo adyacente (es decir, una base de Schiff). En otra realización, Z puede ser un éster de ácido carboxílico, o una amida de un ácido carboxílico.

- En algunas realizaciones de compuestos (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb) y (Vb), el agente activo, A, puede liberarse cuando está unido por un enlace hidrolíticamente susceptible. En una realización en la que p es 0, el enlace entre A y Z es un enlace hidrolíticamente susceptible o enzimáticamente degradable, que tras la escisión libera A (por ejemplo, Z es un enlace hidrolíticamente susceptible o enzimáticamente degradable). En otra realización, en la que p es 1, A se une a su grupo espaciador Sp<sup>2</sup> mediante un enlace hidrolíticamente susceptible o enzimáticamente degradable, cuya escisión libera A. En algunas realizaciones donde p es 1, el grupo espaciador Sp<sup>2</sup> comprende un enlace o grupo hidrolíticamente susceptible o enzimáticamente degradable, cuya escisión libera A junto con un grupo unido covalentemente derivado de Sp<sup>2</sup>. En una realización en la que p es 0 y A es una proteína o polipéptido, A se une directamente a Z mediante un enlace hidrolíticamente susceptible o enzimáticamente degradable entre A y Z. En otra realización, donde p es 1 y A es una proteína o polipéptido, A se une a su grupo espaciador Sp<sup>2</sup> mediante un enlace hidrolíticamente susceptible o degradable enzimáticamente entre el grupo espaciador Sp<sup>2</sup> y A. En otra realización más en la que p es 0 y A es una proteína o polipéptido que tiene un aminoácido de origen sintético, A está unido directamente a Z mediante un enlace hidrolíticamente susceptible o enzimáticamente degradable entre Z y el aminoácido de origen sintético en A. En otra realización más, donde p es 1 y A es una proteína o polipéptido que tiene un aminoácido de origen sintético, A está unido a su grupo espaciador Sp<sup>2</sup> por un enlace hidrolíticamente susceptible o enzimáticamente degradable entre el grupo espaciador Sp<sup>2</sup> y el aminoácido de origen sintético en A.

- 65 Los agentes biológicamente activos indicados por el grupo "A" de fórmula (IV) pueden seleccionarse ampliamente. En algunas realizaciones, los agentes biológicamente activos se pueden seleccionar de fármacos, vacunas,

anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, vitaminas y cofactores, polisacáridos, carbohidratos, esteroides, lípidos, grasas, proteínas, péptidos, polipéptidos, nucleótidos, oligonucleótidos, polinucleótidos, y ácidos nucleicos (por ejemplo, ARNm, ARNt, ARNsn, ARNi, ADN, ADNc, construcciones antisentido, ribozimas, etc., y combinaciones de los mismos). En una realización, los agentes biológicamente activos pueden seleccionarse de proteínas, péptidos, polipéptidos y combinaciones de los mismos. En otra realización, los agentes biológicamente activos pueden seleccionarse de nucleótidos, oligonucleótidos, polinucleótidos, y ácidos nucleicos (por ejemplo, ARNm, ARNt, ARNsn, ARNi, ADN, ADNc, construcciones antisentido, ribozimas, etc. y combinaciones de los mismos). En otra realización, los agentes biológicamente activos se pueden seleccionar de esteroides, lípidos, grasas y combinaciones de los mismos.

En una realización particularmente útil, el agente biológicamente activo es una proteína terapéutica. Numerosas proteínas terapéuticas se describen a lo largo de la solicitud, tales como, y sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), GM-CSF, interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano, e imiglucerasa.

En una realización, los agentes biológicamente activos se pueden seleccionar de agentes biológicamente activos de polisacáridos, proteínas o péptidos identificados específicamente, incluyendo, pero sin limitación: agalsidasa, alefacept, aspariginasa, amdoxovir (DAPD), antida, becaplermina, toxina botulínica, incluyendo los tipos A y B y compuestos de peso molecular inferior con actividad de toxina botulínica, calcitoninas, cianovirina, denileucina diftotox, eritropoyetina (EPO), agonistas de EPO, alfa dornasa, proteína estimulante de la eritropoyesis (NESP), factores de la coagulación tal como Factor V, Factor VII, Factor VIIa, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XII, Factor XIII, factor von Willebrand; ceredasa, cerezima, alfa-glucosidasa, colágeno, ciclosporina, alfa defensinas, beta defensinas, desmopresina, exendina-4, citocinas, receptores de citocinas, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), trombopoyetina (TPO), inhibidor de alfa-1 proteinasa, elcatonina, factor estimulante de las colonias de granulocitos (GM-CSF), fibrinógeno, filgrastim, hormonas de crecimiento, hormona de crecimiento humano (hGH), somatropina, hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH), GRO-beta, anticuerpo GRO-beta, proteínas morfogénicas óseas tal como proteína morfogénica ósea 2, proteína morfogénica ósea 6, OP-1; factor de crecimiento de fibroblastos de ácido, factor de crecimiento de fibroblastos básico, ligando CD-40, heparina, albúmina sérica humana, heparina de bajo peso molecular (HBPM), interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, interferón omega, interferón tau, interferón consenso; interleucinas y receptores de interleucina tales como receptor de interleucina-1, interleucina-2, proteínas de fusión a interleucina-2, antagonista del receptor de interleucina-1, interleucina-3, interleucina-4, receptor de interleucina-4, interleucina-6, interleucina-8, interleucina-12, receptor de interleucina-13, receptor de interleucina-17; lactoferrina y fragmentos de lactoferrina, hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), insulina, pro-insulina, análogos de insulina, amilina, péptido C, somatostatina, análogos de somatostatina, incluyendo octreotida, vasopresina, hormona foliculoestimulante (FSH), imiglucerasa, vacuna contra la influenza, factor de crecimiento insulínico (IGF), insulintropina, factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), activadores del plasminógeno tales como alteplasa, urocinasa, reteplasa, estreptocinasa, pamiteplasa, lanoteplasa, y tenecteplasa; factor de crecimiento neural (NGF), osteoprotegerina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factores de crecimiento tisular, factor de crecimiento transformante-1, factor de crecimiento endotelial vascular, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), factor de crecimiento glial (GGF), receptores de linfocitos T, moléculas/antígenos CD, factor de necrosis tumoral (TNF) (por ejemplo, TNF- $\alpha$  y TNF- $\beta$ ), receptores de TNF (por ejemplo, receptor TNF- $\alpha$  y receptor TNF- $\beta$ ), CTLA4, receptor CTLA4, proteína 1 quimioatrayente de monocitos, factores de crecimiento endotelial, hormona paratiroidea (PTH), péptido de tipo glucagón, somatotropina, timosina alfa 1, rasburicasa, inhibidor de timosina alfa 1 IIb/IIIa, timosina beta 10, timosina beta 9, timosina beta 4, alfa-1 antitripsina, compuestos de fosfodiesterasa (PDE), VLA-4 (antígeno muy tardío-4), inhibidores de VLA-4, bisfosfonatos, anticuerpo del virus sincitial respiratorio, gen regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), desoxirribonucleasa (Dnase), proteína bactericida/aumentadora de la permeabilidad (BPI), y anticuerpo anti-CMV. Los ejemplos de anticuerpos monoclonales incluyen etanercept (una proteína de fusión dimérica que consiste en la porción de unión a ligando extracelular del receptor de TNF humano de 75 kD unida a la porción Fc de IgG1), abciximab, adalimumab, afelimomab, alemtuzumab, anticuerpo contra linfocito B, atlizumab, basiliximab, bevacizumab, biciromab, bertilimumab, CDP-484, CDP-571, CDP-791, CDP-860, CDP-870, cetuximab, clenoliximab, daclizumab, eculizumab, edrecolomab, efalizumab, epratuzumab, fontolizumab, gavilimumab, gemtuzumab ozogamicina, ibritumomab tiuxetan, infliximab, inolimumab, keliximab, labetuzumab, lerdelimomab, olizumab, lym-1 radiomarcado, metelimomab, mepolizumab, mitumomab, muromonad-CD3, nebacumab, natalizumab, odulimumab, omalizumab, oregovomab, palivizumab, pemtumomab, pexelizumab, rhuMAb-VEGF, rituximab, satumomab pendetida, sevirumab, sipilizumab, tositumomab, I<sup>131</sup> tositumomab, trastuzumab, tuvirumab, visilizumab, y fragmentos y miméticos de los mismos.

En una realización, el agente biológicamente activo es una proteína de fusión. Por ejemplo, y sin limitación, el componente biológicamente activo puede ser una inmunoglobulina o porción de una inmunoglobulina fusionada a una o más secuencias peptídicas útiles determinadas. Por ejemplo, el agente biológicamente activo puede contener un fragmento Fc de anticuerpo. En una realización, el agente biológicamente activo es una proteína de fusión de CTLA4. Por ejemplo, el agente biológicamente activo puede ser una proteína de fusión Fc-CTLA4.

En una realización particularmente útil, el agente biológicamente activo es una proteína humana o un polipéptido humano, por ejemplo, una proteína humana o un polipéptido humano producidos de manera heteróloga. Numerosas

proteínas y polipéptidos se describen en el presente documento, para los que existe una forma humana correspondiente (es decir, la proteína o péptido se produce normalmente en células humanas en el cuerpo humano). Por lo tanto, en una realización, el agente biológicamente activo es la forma humana de cada una de las proteínas y polipéptidos descritos en el presente documento para los que existe una forma humana. Los ejemplos de tales proteínas humanas incluyen, sin limitación, anticuerpos humanos, enzimas humanas, hormonas humanas y citocinas humanas tales como factor estimulante de colonias de granulocitos, factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos, interferones (por ejemplo, interferones alfa e interferones beta) y eritropoyetina.

Otros ejemplos de proteínas terapéuticas que pueden servir como agentes biológicamente activos incluyen, sin limitación, factor VIII, factor eliminado del dominio b VIII, factor VIIa, factor IX, anticoagulantes; hirudina, alteplasa, tpa, reteplasa, tpa, tpa - 3 de 5 dominios eliminados, insulina, insulina lispro, insulina aspart, insulina glargina, análogos de insulina de acción prolongada, hgh, glucagones, tsh, folitropina-beta, fsh, gm-csf, pdgh, ifn alfa2, ifn alfa2a, ifn alfa2b, inf-apha1, ifn-beta, inf-beta 1b, ifn-beta 1a, ifn-gamma (por ejemplo, 1 y 2), il-2, il-11, hbsag, ospa, mab murino dirigido contra el antígeno t-linfocito, mab murino dirigido contra tag-72, glucoproteína asociada a tumor, fragmentos fab derivados de mab quimérico dirigido contra el receptor de superficie plaquetaria gpII(b)/III(a), fragmento mab murino dirigido contra el antígeno asociado a tumor ca125, fragmento mab murino dirigido contra el antígeno carcinoembrionario humano, cea, fragmento mab murino dirigido contra miosina cardiaca humana, fragmento mab murino dirigido contra el antígeno de superficie de tumor psma, fragmentos mab murinos (mezcla fab/fab2) dirigido contra hmw-maa, fragmento de mab murino (fab) dirigido contra antígeno asociado a carcinoma, fragmentos mab (fab) dirigidos contra nca 90, un antígeno de reacción cruzada no específica de granulocitos de superficie, mab quimérico dirigido contra el antígeno cd20 encontrado en la superficie de linfocitos b, mab humanizado dirigido contra la cadena alfa del receptor il2, mab quimérico dirigido contra la cadena alfa del receptor il2, mab quimérico dirigido contra tnf-alfa, mab humanizado dirigido contra un epítipo en la superficie del virus sincitial respiratorio, mab humanizado dirigido contra her 2, receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano, mab humano dirigido contra el antígeno asociado a tumor de citoqueratina anti-ctla 4, mab dirigido contra el antígeno de superficie de 20 de linfocitos b dornasa-alfa dnase, beta glucocerebrosidasa, tnf-alfa, proteína de fusión a toxina de il-2-difteria, proteína de fusión a fragmento de tnfr-IgG laronidasa, dnaasas, alefacept, darbepoyetina alfa (factor estimulante de colonias), tositumomab, mab murino, alemtuzumab, rasburicasa, agalsidasa beta, teriparatida, derivados de hormona paratiroidea, adalimumab (Igg 1), anakinra, modificador biológico, nesiritida, péptido natriurético humano b (hbnp), factores estimulantes de colonias, pegvisomant, antagonista del receptor de hormona de crecimiento humano, proteína c recombinante activada, omalizumab, bloqueador de inmunoglobulina e (Ige), lbritumomab tiuxetan, ACTH, glucagón, somatostatina, somatotropina, timosina, hormona paratiroidea, hormonas pigmentarias, somatomedina, eritropoyetina, hormona luteinizante, gonadotropina coriónica, factores hipotalámicos liberadores, etanorcept, hormonas antiuréticas, prolactina y hormona estimulante de la tiroides.

Los ejemplos de anticuerpos terapéuticos que pueden servir como agentes biológicamente activos incluyen, pero sin limitación, HERCEPTIN™ (Trastuzumab) (Genentech, CA) que es un anticuerpo monoclonal anti HER2 humanizado para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico; REOPRO™ (abciximab) (Centocor) que es un receptor anti-glucoproteína IIb/IIIa en las plaquetas para la prevención de la formación de coágulos; ZENAPAX™ (daclizumab) (Roche Pharmaceuticals, Suiza) que es un anticuerpo monoclonal anti-CD25 inmunosupresor humanizado para la prevención del rechazo agudo de aloinjerto renal; PANOREX™ que es un anticuerpo IgG2a de antígeno de superficie celular murino anti-17-IA (Glaxo Wellcome/Centocor); BEC2 que es un anticuerpo IgG murino anti-idiotipo (epítipo GD3) (ImClone System); IMC-C225 que es un anticuerpo IgG anti-EGFR quimérico (ImClone System); VITAXIN™ que es un anticuerpo de integrina anti- $\alpha$ V $\beta$ 3 humanizado (Applied Molecular Evolution/MedImmune); Campath; Campath 1H/LDP-03 que es un anticuerpo IgG1 anti CD52 humanizado (Leukosite); Smart M195 que es un anticuerpo IgG anti-CD33 humanizado (Protein Design Lab/Kanebo); RITUXAN™ que es un anticuerpo IgG1 quimérico anti-CD20 (IDEC Pharm/Genentech, Roche/Zettyaku); LYMPHOCIDE™ que es un anticuerpo IgG anti-CD22 humanizado (Immunomedics); ICM3 es un anticuerpo humanizado anti-ICAM3 (ICOS Pharm); IDEC-114 es un anticuerpo anti-CD80 de primate (IDEC Pharm/Mitsubishi); ZEVALIN™ es un anticuerpo anti CD20 murino radiomarcado (IDEC/Schering AG); IDEC-131 es un anticuerpo anti-CD40L humanizado (IDEC/Eisai); IDEC-151 es un anticuerpo anti-CD4 primatizado (IDEC); IDEC-152 es un anticuerpo anti-CD23 primatizado (IDEC/Seikagaku); SMART anti-CD3 es una IgG anti-CD3 humanizada (Protein Design Lab); 5G1.1 es un anticuerpo anti-factor 5 humanizado (CS) humanizado (Alexion Pharm); D2E7 es un anticuerpo humanizado anti-TNF-a (CATIBASF); CDP870 es un fragmento Fab anti-TNF-a humanizado (Celltech); IDEC-151 es un anticuerpo IgG1 anti-CD4 primatizado (IDEC Pharm/SmithKline Beecham); MDX-CD4 es un anticuerpo IgG anti-CD4 humano (Medarex/Eisai/Genmab); CDP571 es un anticuerpo IgG4 anti-TNF-a humanizado (Celltech); LDP-02 es un anticuerpo humanizado anti- $\alpha$ 4 $\beta$ 7 (LeukoSite/Genentech); OrthoClone OKT4A es un anticuerpo IgG anti-CD4 humanizado (Ortho Biotech); ANTOVA™ es un anticuerpo IgG anti-CD40L humanizado (Biogen); ANTEGREN™ es un anticuerpo IgG anti-VLA-4 humanizado (Elan); CAT-152, un anticuerpo anti-TGF- $\beta$ 2 humano (Cambridge Ab Tech); Cetuximab (BMS) es un anticuerpo de receptor anti-EGF monoclonal (EGFr); Bevacizuma (Genentech) es un anticuerpo monoclonal humano anti-VEGF; Infliximab (Centocore, JJ) es un anticuerpo monoclonal quimérico (de ratón y humano) utilizado para tratar trastornos autoinmunes; Gemtuzumab ozogamicina (Wyeth) es un anticuerpo monoclonal utilizado para la quimioterapia; y Ranibizumab (Genentech) es un anticuerpo monoclonal quimérico (de ratón y humano) utilizado para tratar la degeneración macular.

Los conjugados de la invención y las composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas) que contienen

conjugados de la invención se pueden usar para tratar una diversidad de afecciones. Por ejemplo, existen muchas afecciones para las que se conocen terapias de tratamiento por los expertos en la técnica en las que se emplean agentes biológicamente activos, como se describe en el presente documento. La invención contempla que los conjugados de la invención (por ejemplo, polímero que contiene fosforilcolina conjugado con un agente biológicamente activo) y las composiciones que contienen los conjugados de la invención se pueden emplear para tratar dichas afecciones y que dichos conjugados proporcionan una terapia de tratamiento mejorada en relación con el mismo agente biológicamente activo no acoplado a un polímero que contiene fosforilcolina.

Por lo tanto, la invención contempla el tratamiento de una afección que se sabe que es tratable por un cierto agente biológicamente activo mediante el tratamiento de la afección usando el mismo cierto agente biológicamente activo conjugado con un polímero que contiene fosforilcolina. Por ejemplo, la eritropoyetina conjugada con un polímero que contiene fosforilcolina puede usarse para tratar afecciones humanas tales como anemia y enfermedad renal (por ejemplo, insuficiencia renal crónica) y, por ejemplo, G-CSF conjugado con un polímero que contiene fosforilcolina puede usarse para tratar el cáncer pacientes que reciben quimioterapia.

Un experto en la técnica podrá determinar la cantidad de un conjugado de la invención que produce un efecto terapéutico por administración repetida de cantidades crecientes del conjugado (por ejemplo, composición farmacéutica que contiene el conjugado) para lograr un criterio de valoración clínicamente deseado.

Las proteínas y péptidos para su uso como agentes biológicamente activos como se describen en el presente documento pueden producirse por cualquier método útil que incluya la producción por síntesis in vitro y por producción en sistemas biológicos. Los ejemplos típicos de métodos de síntesis in vitro que se conocen bien en la técnica incluyen síntesis en fase sólida ("SPPS") y condensación de fragmentos en fase sólida ("SPFC"). Los sistemas biológicos usados para la producción de proteínas también se conocen bien en la técnica. Las bacterias (por ejemplo, *E coli* y *Bacillus sp.*) y levadura (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia pastoris*) se usan ampliamente para la producción de proteínas heterólogas. Además, la expresión génica heteróloga para la producción de agentes biológicamente activos para su uso como se describe en el presente documento se puede llevar a cabo usando líneas celulares animales tales como líneas celulares de mamífero (por ejemplo, células CHO). En una realización particularmente útil, los agentes biológicamente activos se producen en animales transgénicos o clonados tales como vacas, ovejas, cabras y aves (por ejemplo, pollo, codornices, patos y pavos), cada uno como se entiende en la técnica. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N.º 6.781.030, expedida el 24 de agosto de 2004.

Los agentes biológicamente activos tales como proteínas producidas en aves domesticadas, tales como pollos pueden denominarse agentes biológicamente activos "derivados de aves" (por ejemplo, proteínas terapéuticas derivadas de aves). La producción de proteínas terapéuticas derivadas de aves es conocida en la técnica y se describe en, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N.º 6.730.822, expedida el martes, 4 de mayo de 2004.

En realizaciones en las que el agente biológicamente activo es una proteína o polipéptido, los grupos funcionales presentes en los aminoácidos de la secuencia del polipéptido de la proteína se pueden usar para unir el agente al grupo Z, ya sea directamente mediante un enlace covalente, o indirectamente a través de un grupo espaciador  $Sp^2$ . Los enlaces a agentes biológicamente activos de proteína o polipéptido se pueden hacer a aminoácidos de origen natural en su secuencia o a aminoácidos de origen natural que se han añadido a la secuencia o se han insertado en lugar de otro aminoácido. Los agentes biológicamente activos de proteína o polipéptido también pueden comprender aminoácidos de origen sintético además de los aminoácidos comunes de origen natural que se encuentran en proteínas y polipéptidos. Además de estar presentes con el fin de alterar las propiedades de un polipéptido o proteína, se pueden introducir aminoácidos de origen sintético para proporcionar un grupo funcional que se puede usar para unir la proteína o el polipéptido directamente al grupo Z, o indirectamente a través de un grupo espaciador  $Sp^2$  unido al agente activo. Además, pueden usarse aminoácidos de origen natural, por ejemplo, cisteína, de esta manera.

Los aminoácidos de origen sintético se pueden introducir en proteínas y péptidos por una diversidad de medios. Algunas de las técnicas para la introducción de aminoácidos de origen sintético se analizan en la Patente de Estados Unidos N.º 5.162.218. En primer lugar, se pueden introducir aminoácidos de origen sintético mediante la modificación química de un polipéptido o proteína en la cadena lateral de aminoácido o en el extremo amino o el extremo carboxilo. Los ejemplos no limitantes de modificación química de una proteína o péptido podrían ser metilación por agentes tales como diazometano, o la introducción de acetilación en un grupo amino presente en la cadena lateral de la lisina o en el extremo amino de un péptido o proteína. Otro ejemplo de la modificación del grupo amino de proteína/polipéptido para preparar un aminoácido de origen sintético es el uso de éster 3-mercaptopropionimidato de metilo o 2-iminotiolano para introducir una funcionalidad portadora de tiol (sulfhidrilo, -SH) unida a posiciones en una proteína o polipéptido que lleva una amina primaria. Una vez introducidos, dichos grupos se pueden emplear para formar un enlace covalente a la proteína o polipéptido. El uso de agentes bifuncionales, tal como 2-iminotiolano, puede considerarse como la adición de un grupo  $Sp^2$  a un agente biológicamente activo si el grupo introducido se usa para formar un enlace covalente a Z.

En segundo lugar, los aminoácidos de origen sintético se pueden introducir en proteínas y polipéptidos durante la

síntesis química. Los métodos sintéticos se utilizan típicamente para preparar polipéptidos que tienen menos de aproximadamente 200 aminoácidos, que usualmente tienen menos de aproximadamente 150 aminoácidos, y más habitualmente tienen 100 o menos aminoácidos. Las proteínas o polipéptidos más cortos que tienen menos de aproximadamente 75 o menos de aproximadamente 50 aminoácidos se pueden preparar mediante síntesis química.

5 Los métodos de preparación sintéticos que son particularmente convenientes para permitir la inserción de aminoácidos no naturales en una ubicación deseada son conocidos en la técnica. Los métodos de preparación de polipéptidos sintéticos adecuados pueden basarse en los métodos de síntesis en fase sólida de Merrifield donde los aminoácidos se añaden secuencialmente a una cadena en crecimiento (Merrifield (1963) J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2156). Los sistemas automatizados para sintetizar polipéptidos mediante dichas técnicas ahora están disponibles comercialmente en proveedores tales como Applied Biosystems, Inc., Foster City, Calif. 94404; New Brunswick Scientific, Edison, N.J. 08818; y Pharmacia, Inc., Biotechnology Group, Piscataway, N.J. 08854.

15 Los ejemplos de aminoácidos de origen sintético que se pueden introducir durante la síntesis química de polipéptidos incluyen, pero sin limitación: D-aminoácidos y mezclas de las formas D y L de los 20 aminoácidos de origen natural, N-formil glicina, ornitina, norleucina, hidroxiprolina, beta-alanina, hidroxivalina, norvalina, fenilglicina, ciclohexilalanina, t-butilglicina (t-leucina, ácido 2-amino-3,3-dimetilbutanoico), hidroxit-butilglicina, ácido amino butírico, cicloleucina, 4-hidroxiprolina, ácido piroglutámico (5-oxoprolina), ácido azetidina carboxílico, ácido pipercolínico, ácido indolin-2-carboxílico, ácido tetrahidro-3-isoquinolin carboxílico, ácido 2,4-diaminobutírico, ácido 2,6-diaminopimélico, ácido 2,4-diaminobutírico, ácido 2,6-diaminopimélico, ácido 2,3-diaminopropiónico, 5-hidroxilisina, ácido neuramínico, y 3,5-diyodotirosina.

25 En tercer lugar, se pueden introducir aminoácidos de origen no natural a través de síntesis biológica *in vivo* o *in vitro* mediante la inserción de un codón sin sentido (por ejemplo, un codón ámbar u ocre) en una secuencia de ADN (por ejemplo, el gen) que codifica el polipéptido en el codón correspondiente a la posición donde se va a insertar el aminoácido de origen sintético. Dichas técnicas se analizan, por ejemplo, en las Patentes de los Estados Unidos N.º: 5.162.218 y 6.964.859, cuyas descripciones se incorporan en su totalidad en el presente documento por referencia. Se pueden usar una diversidad de métodos para insertar el codón mutante, incluyendo la mutagénesis dirigida a oligonucleótidos. La secuencia alterada se transcribe y se traduce posteriormente, *in vivo* o *in vitro* en un sistema que proporciona un ARNt supresor, dirigido contra el codón sin sentido que ha sido acilado química o enzimáticamente con el aminoácido deseado de origen sintético. El aminoácido sintético se insertará en la ubicación correspondiente al codón sin sentido. Para la preparación de polipéptidos más grandes y/o glucosilados, habitualmente se prefieren técnicas de preparación recombinante de este tipo. Entre los aminoácidos que se pueden introducir de esta manera se encuentran: formil glicina, fluoroalanina, ácido 2-amino-3-mercapto-3-metilbutanoico, homocisteína, homoarginina y similares.

40 Cuando los aminoácidos de origen sintético tienen una funcionalidad que es susceptible de modificación selectiva, son particularmente útiles para formar un enlace covalente a la proteína o polipéptido. Las circunstancias en las que una funcionalidad es susceptible de modificación selectiva incluyen aquellas en las que la funcionalidad es única o donde otras funcionalidades que podrían reaccionar en las condiciones de interés se ven impedidas, ya sea estereoquímicamente o de otro modo.

45 En otra realización, los agentes biológicamente activos también se pueden seleccionar de fármacos o agentes terapéuticos específicamente identificados, incluyendo, pero sin limitación: tacrina, memantina, rivastigmina, galantamina, donepezilo, levetiracetam, repaglinida, atorvastatina, alefacept, tadalafilo, vardenafilo, sildenafil, fosamprenavir, oseltamivir, valaciclovir y valganciclovir, abarelix, adefovir, alfuzosina, alosetron, amifostina, amiodarona, ácido aminocaproico, aminohipurato sódico, aminoglutetimida, ácido aminolevulínico, ácido aminosalicílico, amlodipina, amsacrina, anagrelida, anastrozol, apreptant, aripiprazol, asparaginasa, atazanavir, atomoxetina, antraciclina, bexaroteno, bicalutamida, bleomicina, bortezomib, buserelina, busulfán, cabergolina, capecitabina, carboplatino, carmustina, clorambucino, cilastatina sódica, cisplatino, cladribina, clodronato, ciclofosfamida, ciproterona, citarabina, camptotecinas, ácido 13-cis-retinoico, ácido retinoico todo *trans*; dacarbazina, dactinomicina, daptomicina, daunorrubicina, deferoxamina, dexametasona, diclofenaco, dietilestilbestrol, docetaxel, doxorubicina, dutasterida, eletriptán, emtricitabina, enfuvirtida, eplerenona, epirubicina, estramustina, etinil estradiol, etopósido, exemestano, ezetimiba, fentanilo, fexofenadina, fludarabina, fludrocortisona, fluorouracilo, fluoximasterona, flutamida, fluticazona, fondaparinux, fulvestrant, gamma-hidroxiubutirato, gefitinib, gemcitabina, epinefrina, L-Dopa, hidroxidurea, icodextrina, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, irinotecán, itraconazol, goserelina, laronidasa, lansoprazol, letrozol, leucovorina, levamisol, lisinopril, lovotiroxina sódica, lomustina, mecloretamina, medroxiprogesterona, megestrol, melfalán, memantina, mercaptopurina, mequinol, metaraminol bitartrato, metotrexato, metoclopramida, mexiletina, miglustat, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, modafinilo, naloxona, naproxeno, nevirapina, nicotina, nilutamida, nitazoxanida, nitisinona, noretindrona, octreotida, oxaliplatino, palonosetron, pamidronato, pemetrexed, pergolida, pentostatina, pilcamicina, porfímero, prednisona, procarbazona, proclorperazina, ondansetron, palonosetron, oxaliplatino, raltitrexed, rosuvastatina, sirolimus, estreptoizocina, pimecrolimus, sertaconazol, tacrolimus, tamoxifeno, tegaserod, temozolomida, tenipósido, testosterona, tetrahidrocannabinol, talidomida, tioguanina, tiotepa, tiotropio, topiramato, topotecán, treprostínulo, tretinoína, valdecoxib, celecoxib, rofecoxib, valrubicina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, voriconazol, dolasetrón, granisetrón, formoterol, fluticasona, leuprolida, midazolam, alprazolam, anfotericina B, podofilotoxinas, antivirales de

nucleosidasa, aroil hidrazonas, sumatriptán, eletriptán; macrólidos tales como eritromicina, oleandomicina, troleandomicina, roxitromicina, claritromicina, davercina, azitromicina, fluritromicina, diritromicina, josamicina, espiromicina, midecamicina, loratadina, desloratadina, leucomicina, miocamicina, rokitamicina, andazitromicina, y swinolida A; fluoroquinolonas tales como ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina, trovafloxacina, alatrofloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, enoxacina, gatifloxacina, gemifloxacina, grepafloxacina, lomefloxacina, esparfloxacina, temafloxacina, pefloxacina, amifloxacina, fleroxacina, tosufloxacina, prulifloxacina, irloxacina, pazufloxacina, clinafloxacina, y sitafloxacina; aminoglucósidos tales como gentamicina, netilmicina, paramecina, tobramicina, ampicacina, kanamicina, neomicina, y estreptomina, vancomicina, teicoplanina, rampolanina, mideplanina, colistina, daptomicina, gramicidina, colistimetato; polimixinas tales como polimixina B, capreomicina, bacitracina, penems; penicilinas, incluyendo agentes sensibles a la penicilinasasa como penicilina G, penicilina V; agentes resistentes a la penicilinasasa como meticilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, floxacilina, nafcilina; agentes activos de microorganismos gram negativos como ampicilina, amoxicilina, y hetacilina, cilina, y galampicilina; penicilinas antipseudomonas como carbenicilina, ticarcilina, azlocilina, mezlocilina, y piperacilina; cefalosporinas como cefpodoxima, cefprozilo, ceftbuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefalotina, cefapirina, cefalexina, cefradrina, cefoxitina, cefamandol, cefazolina, cefaloridina, cefaclor, cefadroxilo, cefaloglicina, cefuroxima, ceforanida, cefotaxima, cefatrizina, cefacetilo, cefepima, cefixima, cefonicid, cefoperazona, cefotetán, cefmetazol, ceftazidima, loracarbef, y moxalactama, monobactamas como aztreonam; y carbapenems tales como imipenem, meropenem, y ertapenem, isetionato de pentamidina, sulfato de albuterol, lidocaína, sulfato de metaproterenol, dipreponato de beclometasona, acetamida de triamcinolona, acetónido de budesonida, salmeterol, bromuro de ipratropio, flunisolida, cromolin sódico, y tartrato de ergotamina; taxanos tal como paclitaxel; SN-38 y tirfostinas. Los agentes biológicamente activos también se pueden seleccionar del grupo que consiste en aminohipurato sódico, anfotericina B, doxorubicina, ácido aminocaproico, ácido aminolevulínico, ácido aminosalicílico, metaraminol bitartrato, pamidronato disódico, daunorrubicina, lovtiroxina sódica, lisinopril, cilastatina sódica, mexiletina, cefalexina, deferoxamina, y amifostina en otra realización.

25

### C. Composiciones farmacéuticas

La presente invención incluye y proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos de la invención y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de la invención pueden estar presentes como una sal, profármaco, metabolito, análogo o derivado farmacéuticamente aceptable de los mismos, en las composiciones farmacéuticas de la invención. Como se usa en el presente documento, "excipiente farmacéuticamente aceptable" o "vehículo farmacéuticamente aceptable" pretende incluir cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes retardantes de la absorción e isotónicos, y similares, compatibles con la administración farmacéutica.

35

Los vehículos farmacéuticamente aceptables para su uso en la formulación de compuestos de fórmula (Ia) a (Vb) incluyen, pero sin limitación: vehículos sólidos tales como lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, acacia, estearato de magnesio, ácido esteárico, y similares; y vehículos líquidos tales como jarabes, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, agua y similares. Los vehículos pueden incluir cualquier material de retardo conocido en la técnica, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o mezclado con una cera, etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilmetacrilato, o similares.

40

Otras cargas, excipientes, saporíferos y otros aditivos tales como los conocidos en la técnica, también se pueden incluir en una composición farmacéutica de acuerdo con esta invención. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce en la técnica. Excepto en el caso de que cualquier agente o medio convencional sea incompatible con el compuesto activo, se contempla el uso de los mismos en las composiciones de la invención. Pueden incorporarse también compuestos activos suplementarios en las composiciones de la presente invención.

45

Las preparaciones farmacéuticas incluyen todos los tipos de formulaciones. En algunas realizaciones, son formulaciones parenterales (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intracraneal, intraespinal, intracapsular e intraósea) adecuadas para inyección o infusión (por ejemplo, polvos o soluciones concentradas que pueden reconstituirse o diluirse, así como suspensiones y soluciones). Cuando la composición es un sólido que requiere reconstitución o un concentrado que requiere dilución con medios líquidos, se puede emplear cualquier medio líquido adecuado. Los ejemplos preferidos de medios líquidos incluyen, pero sin limitación, agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer, solución de Hank, solución de dextrosa, y albúmina sérica humana al 5 %.

55

Cuando un compuesto o composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (Ia) a (Vb) es adecuado para el tratamiento de trastornos proliferativos celulares, incluyendo, pero sin limitación, cánceres, el compuesto o composición farmacéutica puede administrarse a un sujeto a través de una diversidad de rutas que incluyen la inyección directamente en los tumores, la corriente sanguínea o las cavidades corporales.

60

Aunque las composiciones farmacéuticas pueden ser soluciones líquidas, suspensiones o polvos que pueden reconstituirse inmediatamente antes de la administración, también pueden adoptar otras formas. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden prepararse en forma de jarabes, caldos, bolos, gránulos,

65

pastas, suspensiones, cremas, ungüentos, comprimidos, cápsulas (duras o blandas), pulverizaciones, emulsiones, microemulsiones, parches, supositorios, polvos, y similares. Las composiciones también se pueden preparar para rutas de administración distintas a la administración parenteral incluyendo, pero sin limitación, tópica (incluyendo bucal y sublingual), pulmonar, rectal, transdérmica, transmucosal, oral, ocular, etc.

5 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden uno o más compuestos de fórmula (Ib). En otra realización, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden uno o más compuestos de fórmula (IIb). En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden uno o más compuestos de fórmula (IIIb), uno o más compuestos de fórmula (IVb), o  
10 uno o más compuestos de fórmula (Vb). En otras realizaciones más, las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden compuestos de la presente invención que tienen un polímero en estrella conjugado con un agente biológicamente activo. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden dos o más compuestos seleccionados independientemente de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb) o (IVb), o (Vb). En una realización alternativa, las composiciones farmacéuticas comprenden compuestos de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb) o (IVb), o (Vb) y  
15 uno o más agentes biológicamente activos adicionales. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden uno o más compuestos de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb) o (IVb), o (Vb) en las que el agente biológicamente activo se selecciona de aquellos agentes biológicamente activos de polisacáridos, proteínas o péptidos identificados específicamente expuestos en la sección B.3; o como alternativa, en otras realizaciones, aquellos fármacos o agentes terapéuticos específicamente identificados expuestos en la sección B.3.

20 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender un compuesto de la presente invención que tiene un agente biológicamente activo seleccionado de eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano, e imiglucerasa. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden un compuesto de fórmula (IIb), (IIIb) o (IVb), o (Vb),  
25 donde el agente biológicamente activo se selecciona de eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano, e imiglucerasa. En otras realizaciones de la invención, las composiciones farmacéuticas comprenden un compuesto de fórmula ((IIIb) o (Vb), donde el agente biológicamente activo se selecciona de eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano, e imiglucerasa.

30 Otras composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender uno o más compuestos de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb) o (IVb), o (Vb) que funcionan como ligandos biológicos que son específicos de un antígeno o molécula diana. Dichas composiciones pueden comprender un compuesto de fórmula ((IIIb) o (Vb), donde el agente biológicamente activo es un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo, o un  
35 fragmento de anticuerpo tal como un fragmento FAb2 o FAb' o una región variable de anticuerpo. Como alternativa, el compuesto puede ser un compuesto de las fórmulas (IIb) o (IVb), y el polipéptido puede comprender la secuencia de unión a antígeno de un anticuerpo monocatenario. Cuando un agente biológicamente activo presente en un compuesto de fórmula (Ia) a (Vb) funciona como un ligando específico para un antígeno o molécula diana, estos compuestos también se pueden emplear como reactivos de diagnóstico o en ensayos de diagnóstico.

40 La cantidad de un compuesto en una composición farmacéutica variará dependiendo de varios factores. En una realización, puede ser una dosis terapéuticamente efectiva que sea adecuada para un recipiente de dosis única (por ejemplo, un vial). En una realización, la cantidad del compuesto es una cantidad adecuada para una jeringa de un solo uso. En otra realización más, la cantidad es adecuada para dispensadores de usos múltiples (por ejemplo,  
45 recipientes adecuados para la administración de gotas de formulaciones cuando se usan para administrar formulaciones tópicas). Un experto en la técnica podrá determinar la cantidad de un compuesto que produce una dosis terapéuticamente eficaz experimentalmente mediante la administración repetida de cantidades crecientes de una composición farmacéutica para lograr un criterio de valoración clínicamente deseado.

50 Generalmente, un excipiente farmacéuticamente aceptable estará presente en la composición en una cantidad de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 99,999 % en peso, o de aproximadamente el 1 % a aproximadamente 99 % en peso. Las composiciones farmacéuticas pueden contener de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 10 %, o de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 20 %, o de aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 30 %, o de aproximadamente el 30 % a aproximadamente el 40 %, o de aproximadamente  
55 el 40 % a aproximadamente el 50 %, o de aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 60 %, o de aproximadamente el 60 % a aproximadamente el 70 %, o de aproximadamente el 70 % a aproximadamente el 80 %, o de aproximadamente el 80 % a aproximadamente el 90 % en peso de excipiente. Otros intervalos adecuados de excipientes incluyen de aproximadamente el 5 % a aproximadamente el 98 %, de aproximadamente de aproximadamente el 15 a aproximadamente el 95 %, o de aproximadamente el 20 % a aproximadamente el 80 % en peso.

60 Los excipientes farmacéuticamente aceptables se describen en una diversidad de fuentes ya conocidas, incluyendo, pero sin limitación, "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19ª ed., Williams & Williams, (1995) y Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3ª Edición, American Pharmaceutical Association, Washington, D.C., 2000.



D. Métodos de tratamiento

Se describen en el presente documento métodos para tratar una afección sensible a un agente biológico que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o de una composición farmacéuticamente aceptable de la invención como se ha descrito anteriormente. La dosificación y la administración se ajustan para proporcionar niveles suficientes del agente o agentes biológicamente activos para mantener el efecto deseado. La dosificación y/o protocolo de administración apropiado para cualquier sujeto dado puede variar dependiendo de varios factores, incluyendo la gravedad de la patología, la salud general del sujeto, la edad, el peso y el sexo del sujeto, la dieta, el tiempo y la frecuencia de administración. combinaciones de fármacos), sensibilidades de reacción, y tolerancia/respuesta a la terapia. Las cantidades terapéuticamente eficaces para una situación dada se pueden determinar mediante una experimentación rutinaria que se encuentra dentro de la habilidad y el criterio del médico.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden administrar individualmente. Como alternativa, dos o más composiciones farmacéuticas pueden administrarse secuencialmente, o en un cóctel o combinación que contiene dos compuestos de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb) o un compuesto de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb) o (IVb), o (Vb) y otro agente biológicamente activo.

Los métodos de tratamiento pueden emplear una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de fórmula (Ia) a (Vb). En otras realizaciones, el tratamiento empleará una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb) o (Vb). En otras realizaciones más, el tratamiento empleará una composición farmacéutica que comprende aquellos compuestos de la presente invención que tienen un polímero en estrella conjugado con un agente biológicamente activo. En otras realizaciones, los métodos de tratamiento comprenden administrar dos o más compuestos seleccionados independientemente de la fórmula (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb). En otra realización más, el método de tratamiento comprende administrar uno o más compuestos de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb) o (IVb) o (Vb) donde el agente biológicamente activo se selecciona de aquellos agentes biológicamente activos de polisacáridos, proteínas o péptidos específicamente identificados o aquellos agentes farmacológicos o terapéuticos identificados específicamente expuestos en la sección B.3, anterior.

En algunas realizaciones, los métodos de tratamiento comprenden administrar a un sujeto o paciente que lo necesite una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención que tiene un agente biológicamente activo seleccionado del grupo que consiste en: eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano, e imiglucerasa. En otras realizaciones de la invención, las composiciones farmacéuticas comprenden un compuesto de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb) o (Vb), donde el agente biológicamente activo se selecciona del grupo que consiste en: eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano, e imiglucerasa.

El uso de eritropoyetina para el tratamiento de la anemia y en oncología, el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) en aplicaciones de oncología e inmunología, interferón alfa en aplicaciones de oncología y en el tratamiento de la hepatitis C, interferón beta en el tratamiento de esclerosis múltiple, la hormona del crecimiento humano en el tratamiento de trastornos del crecimiento, y la imiglucerasa para el tratamiento del síndrome de Gaucher se describen bien en la técnica. Otros usos de los agentes biológicamente activos expuestos en el presente documento se pueden encontrar en textos de referencia estándar tal como el Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ y Goodman y Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Pergamon Press, Inc., Elmsford, N.Y., (1990).

La administración de los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente invención se puede lograr mediante cualquier ruta adecuada, incluyendo, pero sin limitación, diversas formas de inyección. Las vías de inyección incluyen subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intracraneal, intraespinal, intracapsular e intraósea. Las formulaciones inyectables incluyen, pero sin limitación, soluciones listas para inyectar, emulsiones, suspensión y polvos secos reconstituibles que se diluyen con un disolvente aceptable antes de la administración, y concentrados líquidos para dilución antes de la administración, entre otros. Las composiciones también se pueden administrar por otras vías incluyendo, pero sin limitación, tópica (incluyendo bucal y sublingual), pulmonar, rectal, transdérmica, transmucosal, oral, nasal, ocular, intratecal, subcutánea e intraarterial.

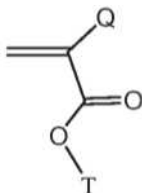
E. Métodos de preparación de compuestos de la invención

Se describen en el presente documento métodos para preparar los compuestos de la invención, tales como compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb). Los compuestos se pueden preparar por cualquier medio conocido en la técnica para la preparación de compuestos poliméricos y sus conjugados. Pueden obtenerse métodos sintéticos estándar y procedimientos para la preparación de moléculas orgánicas y transformaciones y manipulaciones de grupos funcionales, incluido el uso de grupos protectores, a partir de la bibliografía científica pertinente o de libros de texto de referencia estándar en el campo. Aunque sin limitarse a una o varias fuentes, los libros de texto de referencia reconocidos de síntesis orgánica incluyen: Smith, M. B.; March, J., March's Advanced Organic Chemistry:

Reactions, Mechanisms, and Structure, 5<sup>a</sup> ed.; John Wiley & Sons: Nueva York, 2001; Greene, T.W.; Wuts, P.G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3<sup>a</sup> ed; John Wiley & Sons: Nueva York, 1999; y Odian, G., Principles of Polymerization, 4<sup>a</sup> ed., Wiley-Interscience John Wiley & Sons: Nueva York, 2004. Las siguientes descripciones de métodos sintéticos están diseñadas para ilustrar, pero no limitar, procedimientos generales para la preparación de compuestos de la invención.

### E.1 Preparación de monómeros.

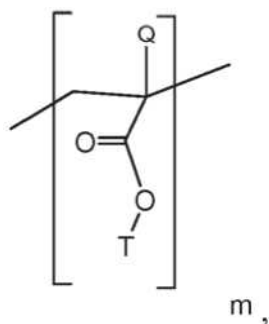
La preparación de la porción polimérica de los compuestos de la invención puede realizarse por polimerización de los monómeros adecuados de la forma:



donde Q es H, metilo, o etilo, T es H, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, y -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-PC, y PC representa un grupo fosforilcolina. Cuando T es hidrógeno y Q es H o metilo, los monómeros son ácido acrílico y ácido 2-metilacrílico, respectivamente, ambos de los cuales están disponibles comercialmente en proveedores que incluyen Sigma-Aldrich. El metacrilato de etilo y el metacrilato de metilo también están disponibles en Sigma-Aldrich. Cuando T es hidrógeno y Q es etilo, el monómero es ácido 2-etilacrílico (EAA) que está disponible comercialmente o se puede preparar a partir de malonato de dietilo o mediante los métodos empleados por Yong et al. en J. Polymer Sci 42: 3828-3835 (2004). Los monómeros en los que T es -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-PC, incluida la sal interna de fosfato de 2-metacrililoiloxietil-2'-trimetilamonio-etilo (también denominada hidroxietilmetacrililoil fosforilcolina, HEMA-PC o MPC), pueden prepararse como se describe en el documento US 5.741.923 a partir de ácido 2-hidroxietilacrílico, ácido 2-hidroxietilmetilacrílico o ácido 2-hidroxietilacetilacrílico.

### E.2 Composición monomérica

El grupo polimérico presente en los compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb) es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etilo] (o una sal interna del mismo) preparado a partir de fosfato de 2-metacrililoiloxietil-2'-trimetilamonio etilo o una sal del mismo (también denominada hidroxietilmetacrililoil fosforilcolina, HEMA-PC o MPC). En aquellas realizaciones en las que uno o más comonómeros se polimerizan con fosfato de 2-metacrililoiloxietil-2'-trimetilamonio-etilo, la relación molar de ese monómero zwitteriónico con respecto a la cantidad total de comonómeros está en el intervalo de 1:50 a 50:1; en otras realizaciones, la relación está en el intervalo de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 10:1, y en otras realizaciones más, la relación está en el intervalo de aproximadamente 1:5 a 1:1. En otro grupo de realizaciones, los monómeros de fosfato de 2-metacrililoiloxietil-2'-trimetilamonio-etilo comprenden el 100 % o aproximadamente el 100 %, o aproximadamente el 98 %, aproximadamente el 95 %, aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 85 %, aproximadamente el 80 %, aproximadamente el 75 %, aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 60 % o aproximadamente el 50 % de los monómeros totales presentes en cualquier compuesto de las fórmulas (Ia) a (Vb). Cuando el 100 % del polímero comprende monómeros de fosfato de 2-metacrililoiloxietil-2'-trimetilamonio etilo (es decir, HEMA-PC), la porción polimérica ("grupo polimérico") de los compuestos (mostrados sin los grupos L o E unidos)



es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etilo] (es decir, poli-HEMA-PC).

### E.3 Polimerización por radicales y el acoplamiento a agentes biológicamente activos

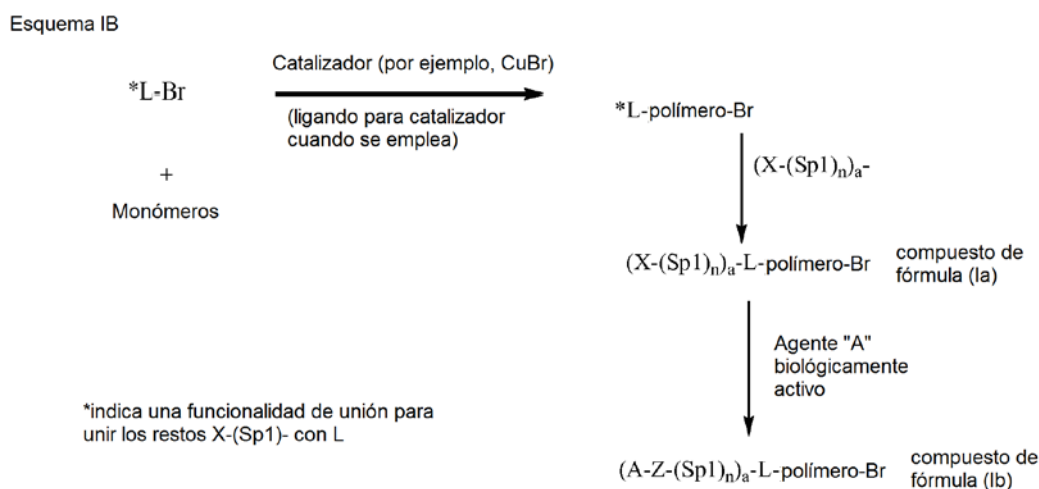
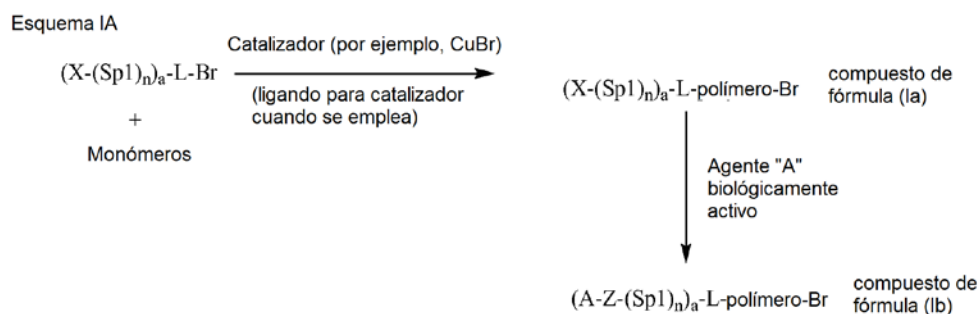
#### E.3.1 Polimerizaciones por radicales vivos/polimerizaciones por radicales pseudovivos

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar mediante diversos métodos. Un método para preparar los polímeros de la invención incluye la polimerización por radicales vivos, que se puede emplear ventajosamente para preparar compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb) que tienen arquitecturas específicas que incluyen una longitud de cadena controlada y baja polidispersidad. La polimerización por radicales vivos, se analiza por Odian, G. en Principles of Polymerization, 4ª ed., Wiley-Interscience John Wiley & Sons: Nueva York, 2004, y se aplica a polímeros zwitteriónicos, por ejemplo, en el documento US 6.852.816. Se pueden emplear varias metodologías de polimerización por radicales vivos diferentes, incluyendo la polimerización por radicales libres estable (SFRP) y la transferencia de adición-fragmentación de radicales (RAFT). Además, la polimerización por radicales por transferencia de átomos (ATRP), considerada por algunos como una forma de polimerización pseudoviva, proporciona un método conveniente para la preparación de los compuestos de la invención.

E.3.1.1 Iniciadores y arquitectura de compuestos

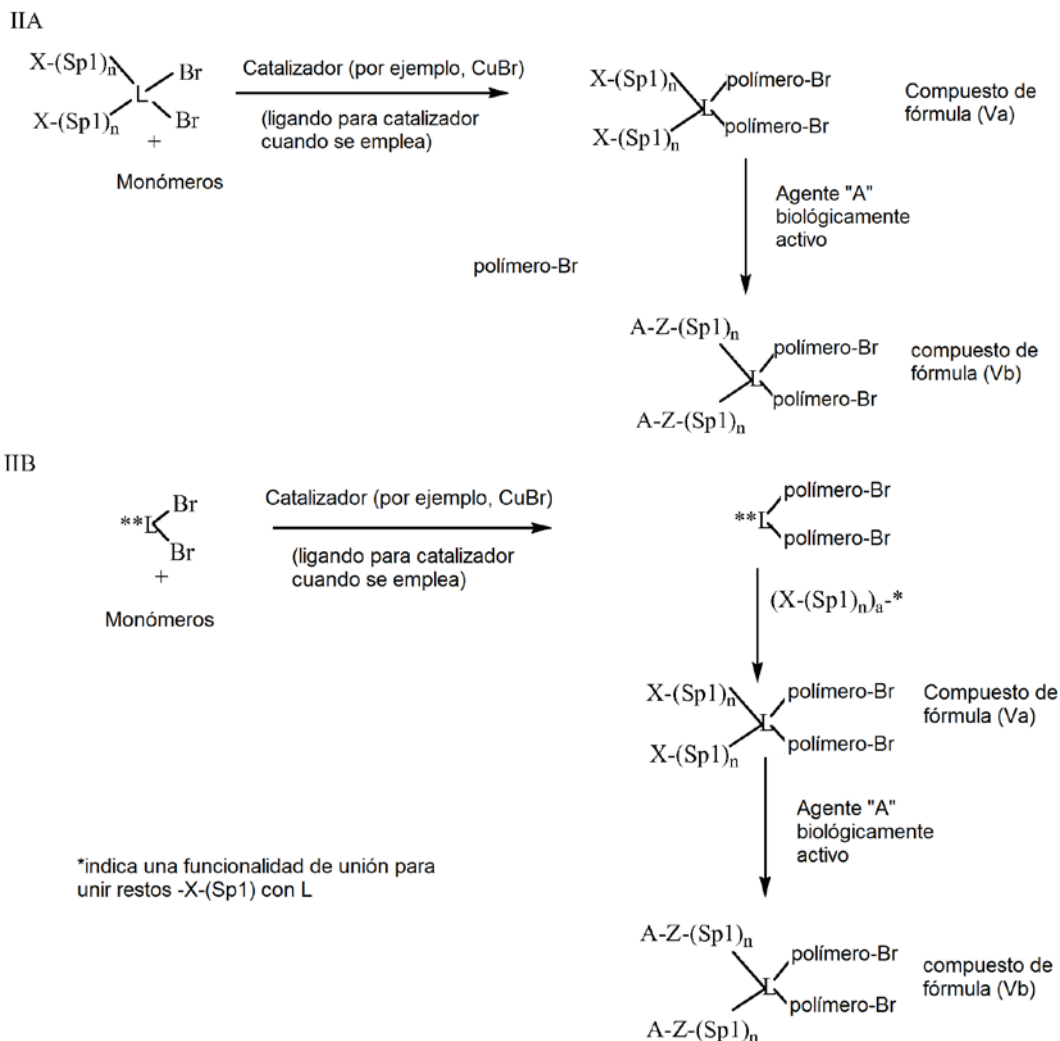
La preparación de los compuestos de la fórmula (Ia) e (Ib) por ATRP se representa en diagrama en los Esquemas IA e IB. La reacción implica la polimerización por radicales de monómeros seleccionados que comienzan con un iniciador que lleva uno o más halógenos (por ejemplo,  $(X-(Sp^1)_n)_a-L-halógeno(s)$  que proporciona el grupo  $-L-((Sp^1)_n-X)_a$  (Esquema IA). El iniciador se activa mediante un catalizador tal como una sal de metal de transición que puede solubilizarse mediante un ligando (por ejemplo, bipyridina). Como alternativa, un iniciador que lleva uno o más halógenos puede proporcionar un grupo L con funcionalidades adecuadas (por ejemplo, hidroxilo, amina, o carboxilo) para la adición posterior de restos  $-(Sp^1)_n-X$  (Esquema IB), que es particularmente útil cuando se introduce un grupo  $-(Sp^1)_n-X$  por un agente bifuncional.

Esquemas IA e IB



Los compuestos que tienen una arquitectura compleja también se pueden preparar mediante ATRP como se representa en diagrama en las dos realizaciones mostradas en los Esquemas IIA y IIB para compuestos ramificados y bifurcados.

Esquemas IIA e IIB



5

Los compuestos de las fórmulas (Ia) e (Ib) incluyen moléculas que tienen arquitecturas complejas que incluyen compuestos ramificados que tienen múltiples brazos de polímero incluyendo, pero sin limitación, estructuras de peine y estrella. Las arquitecturas de peine se pueden lograr empleando iniciadores lineales que portan tres o más átomos de halógeno, preferiblemente los halógenos son átomos de cloro, bromo o yodo, más preferiblemente los halógenos son átomos de cloro o bromo. Las arquitecturas en estrella también se pueden preparar empleando compuestos que llevan halógenos múltiples en un solo átomo de carbono (por ejemplo, triclorometanol o 2,2,2-tricloroetanol, etc.) o moléculas cíclicas que llevan halógenos múltiples (por ejemplo, tri- o tetrabromocicloalcanos tales como tribromociclohexanol o tetrabromociclohexanol). En algunas realizaciones, los compuestos que tienen arquitectura en estrella tienen 3 brazos de polímero y en otras realizaciones tienen 4 brazos de polímero.

10

15

Mientras que los halógenos expuestos en los Esquemas I y II están indicados como bromo, se pueden emplear otros halógenos, particularmente cloro. En algunas realizaciones de compuestos de fórmulas (Ia) a (Vb), incluyendo aquellos que tienen restos con arquitecturas de polímero en peine o estrella, se prefieren los halógenos bromo, cloro y yodo. En otras realizaciones, los halógenos de compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb), incluyendo aquellos que tienen restos con arquitecturas de polímero en peine o estrella, son bromo y cloro.

20

En aquellas realizaciones en las que se emplea un iniciador que lleva uno o más halógenos (por ejemplo, (X-(Sp<sup>1</sup>)<sub>n</sub>)<sub>a</sub>-L-halógeno(s)) en la preparación de compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb), L puede tener un grupo X o una forma protegida del mismo. Como alternativa, un iniciador que lleva uno o más halógenos puede proporcionar un grupo L con funcionalidades adecuadas (por ejemplo, hidroxilo, amina, o carboxilo o formas protegidas de los mismos) que puede usarse para introducir un grupo -(Sp<sup>1</sup>)<sub>n</sub>-X a través del uso de un agente bifuncional (véase, por ejemplo, los Esquemas IB e IIB).

25

Se puede usar una amplia diversidad de iniciadores para preparar compuestos de la invención, incluyendo varios

- iniciadores expuestos en el documento US 6.852.816. En algunas realizaciones, los iniciadores empleados para las reacciones ATRP para preparar compuestos de la invención se seleccionan de alcanos, cicloalcanos, ácidos alquil carboxílicos o ésteres de los mismos, ácidos cicloalquilcarboxílicos o ésteres de los mismos, éteres y éteres alquílicos cíclicos que llevan un halógeno donde se preparan compuestos no ramificados, y más de un halógeno donde se preparan moléculas ramificadas. En otras realizaciones, los iniciadores se seleccionan de alcanos, cicloalcanos, ácidos alquil carboxílicos o ésteres de los mismos, ácidos cicloalquilcarboxílicos o ésteres de los mismos, éteres y éteres alquílicos cíclicos que llevan un átomo de cloro o bromo donde se preparan compuestos no ramificados, o como alternativa, más de un cloro y/o bromo donde se prepararán moléculas ramificadas.
- Los iniciadores empleados para las reacciones de ATRP pueden ser hidroxilados. En algunas realizaciones, los iniciadores empleados para las reacciones ATRP para preparar compuestos de la invención se seleccionan de alcanos, cicloalcanos, ácidos alquil carboxílicos o ésteres de los mismos, ácidos cicloalquilcarboxílicos o ésteres de los mismos, éteres y éteres alquílicos cíclicos que llevan un grupo hidroxilo y también llevan un halógeno donde se prepararán compuestos no ramificados, o como alternativa, más de un halógeno donde se prepararán moléculas ramificadas. En otras realizaciones, los iniciadores se seleccionan de alcanos, cicloalcanos, ácidos alquil carboxílicos o ésteres de los mismos, ácidos cicloalquilcarboxílicos o ésteres de los mismos, éteres y éteres alquílicos cíclicos que llevan un grupo hidroxilo y que también llevan un átomo de cloro o bromo donde se prepararán compuestos no ramificados, o como alternativa, más de un cloro y/o bromo donde se prepararán moléculas ramificadas. En otra realización en la que se prepararán compuestos bifurcados de la invención, los iniciadores son dihidroxi o trihidroxi, o incluso polihidroxi alcanos, cicloalcanos, ácidos alquil carboxílicos o ésteres de los mismos, ácidos cicloalquilcarboxílicos o ésteres de los mismos, éteres y éteres alquílicos cíclicos que también llevan un átomo de cloro o bromo donde se preparan compuestos no ramificados, o como alternativa, más de un cloro y/o bromo donde se prepararán compuestos ramificados y bifurcados. Cuando los iniciadores se hidroxilan, después de la reacción de polimerización para agregar la porción polimérica de la molécula, el grupo o grupos hidroxilo pueden funcionar como el grupo reactivo "X" de los compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va). Como alternativa, después de la polimerización, el grupo o grupos hidroxilo pueden hacerse reaccionar con agentes bifuncionales reactivos con hidroxilo tales como los expuestos en la Tabla II (por ejemplo, N-(p-maleimidofenil)isocianato) para preparar un compuesto de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va) con otros grupos reactivos.
- Los iniciadores empleados para las reacciones de ATRP pueden tener uno o más grupos amina. En algunas realizaciones, los iniciadores empleados para reacciones de ATRP para preparar compuestos de la invención son alcanos, cicloalcanos, ácidos alquil carboxílicos o ésteres de los mismos, ácidos cicloalquilcarboxílicos o ésteres de los mismos, éteres y éteres alquílicos cíclicos que llevan un grupo amina y también llevan un halógeno donde se prepararán compuestos no ramificados, o como alternativa, más de un halógeno donde se prepararán moléculas ramificadas. En otras realizaciones, los iniciadores son alcanos, cicloalcanos, ácidos alquil carboxílicos o ésteres de los mismos, ácidos cicloalquilcarboxílicos o ésteres de los mismos, éteres y éteres alquílicos cíclicos que llevan una amina y que también llevan un átomo de cloro o bromo donde se prepararán compuestos no ramificados, o como alternativa, más de un cloro y/o bromo donde se prepararán moléculas ramificadas. En otra realización en la que se prepararán compuestos bifurcados de la invención, los iniciadores son diamino o triamino, o incluso poliamino alcanos, cicloalcanos, ácidos alquil carboxílicos o ésteres de los mismos, ácidos cicloalquilcarboxílicos o ésteres de los mismos, éteres y éteres alquílicos cíclicos que también llevan un átomo de cloro o bromo donde se preparan compuestos no ramificados, o como alternativa, más de un cloro y/o bromo donde se prepararán compuestos ramificados y bifurcados. Cuando los iniciadores llevan uno o más grupos amina, después de la reacción de polimerización para agregar la porción polimérica de la molécula, el grupo o grupos amina pueden funcionar como el grupo reactivo "X" de los compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va). Como alternativa, después de la polimerización, el grupo o grupos amina pueden hacerse reaccionar con agentes bifuncionales reactivos con aminas tales como las expuestas en la Tabla II (por ejemplo, 3,3'-ditiobis(sulfosuccinimidil propionato), sulfosuccinimidil 4-(p-maleimidofenil)butirato, N-(ε-trifluoracetilcaproiloxi)succinimida éster, ácido β-(tris[hidroximetil]fosfina)propiónico, etc.) para preparar compuestos adicionales de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va).
- Los ácidos alquilcarboxílicos clorados o bromados, que incluyen ácidos alquil dicarboxílicos, sustituidos con grupos amino o hidroxilo también pueden emplearse como iniciadores. En algunas realizaciones de la invención donde se emplea ATRP para preparar los compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb), los iniciadores pueden ser ácidos alquilcarboxílicos que llevan uno o más halógenos seleccionados de cloro y bromo. En algunas realizaciones, cuando se van a preparar compuestos bifurcados, los iniciadores pueden ser ácidos alquilcarboxílicos que portan dos o más grupos carboxilo y un halógeno seleccionado de cloro y bromo y dos o más grupos seleccionados de -OH y -NH<sub>2</sub>. En realizaciones en las que se van a preparar compuestos ramificados, los iniciadores pueden ser ácidos alquilcarboxílicos que llevan dos o más halógenos seleccionados de cloro y bromo. En realizaciones en las que se van a preparar compuestos ramificados y bifurcados, los iniciadores pueden ser ácidos alquilcarboxílicos que portan dos o más halógenos seleccionados de cloro y bromo y dos o más grupos carboxilo. Cuando los iniciadores llevan uno o más grupos carboxilo, después de la reacción de polimerización para agregar la porción polimérica de la molécula, el grupo o grupos carboxilo pueden funcionar como el grupo reactivo "X" de los compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va). Como alternativa, después de la polimerización, el grupo o grupos carboxilo pueden hacerse reaccionar con agentes bifuncionales reactivos con carboxilo tales como los expuestos en la Tabla II (por ejemplo, N-(ε-Trifluoracetilcaproiloxi) succinimida éster, HCl del ácido 3-((2-aminoetil) ditio)-propiónico, etc.)

para preparar compuestos adicionales de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va).

Los alcanos clorados o bromados sustituidos con dos o más grupos seleccionados de -COOH, -OH y -NH<sub>2</sub> también se pueden emplear como iniciadores para la preparación de compuestos bifurcados en los que se emplea ATRP para preparar compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb). Los iniciadores pueden ser alcanos que llevan un halógeno seleccionado de cloro y bromo y dos o más grupos seleccionados de -COOH, -OH y -NH<sub>2</sub>. En algunas realizaciones en las que se van a preparar compuestos ramificados y bifurcados, los iniciadores pueden ser alcanos que llevan dos o más halógenos seleccionados de cloro y bromo y dos o más grupos seleccionados de -COOH, -OH y -NH<sub>2</sub>. Cuando los iniciadores portan dos o más grupos seleccionados de -COOH, -OH y -NH<sub>2</sub>, después de la reacción de polimerización para añadir la porción polimérica de la molécula, los grupos -COOH, -OH y -NH<sub>2</sub> presentes pueden funcionar como los grupos X reactivos de compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va). Como alternativa, tras la polimerización, los grupos -COOH, -OH y -NH<sub>2</sub> pueden hacerse reaccionar con agentes bifuncionales reactivos de -COOH, -OH o -NH<sub>2</sub> tal como los expuestos en la Tabla II para preparar compuestos adicionales de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va). De esta manera, se pueden preparar compuestos bifurcados asimétricos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va), especialmente cuando dos grupos diferentes seleccionados de -COOH, -OH y -NH<sub>2</sub> están presentes en el iniciador; la reacción posterior con uno o más agentes biológicamente activos producirá compuestos bifurcados asimétricos de las fórmulas (IbM), (IbS), (IbMB), (IbV) o (Vb).

Además de los grupos presentes en los iniciadores que se emplean en la formación de cadenas poliméricas (por ejemplo, Br o Cl) y aquellos que sirven para unir restos X o X-Sp<sup>1</sup>, los imitadores también pueden contener uno o más grupos -OH, amino, monoalquilamino, dialquilamino, -O-alquilo, -COOH, -COO-alquilo o fosfato seleccionados independientemente (o formas protegidas de los mismos) que estarán presentes como sustituyentes en el grupo L de compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb).

Se encuentra disponible en el mercado una amplia diversidad de iniciadores, por ejemplo: 3-bromopropionaldehído dimetil acetal; 3-bromopropanamina; ácido 3-bromopropiónico; ácido 4 bromobutanoico; ácido 2,3-dibromopropiónico y su éster metílico;

ácido 2,3-dicloropropiónico y su metoxi éster; 2,3-dicloropropionamida; 2,2,3-tricloropropionamida; 2,3-dibromo-1-propanol; 1,3-dibromo-2-propanol; 1,3-dibromo-2-propanamina; ácido 3-bromo-2-(bromometil)propanoico, 2,2,3-tricloro-1-hidroxi-butilformamida; 2,2,3,3,3-pentacloropropionamida; éster metílico del ácido (2,2,3-tricloro-1-hidroxi-butil)-carbámico; ácido 2,3-dibromosuccínico; 3,4-dibromodihidro-2,5-furandiona; 2,3-dibromo-2-metilpropanoato de metilo; ácido 2,3-dibromo-4-oxobutanoico; 2,3-dibromo-2-metilpropanoato de etilo; 2,3-dibromo-N,N-bis(hidroximetil)propanamida; 3,4-dibromo-4-fenil-2-butanona; ácido 2,3-dibromo-3-fenilpropanoico; ácido 2,3,4-tribromobutanoico; ácido 4,5-dibromo-1,2-ciclohexanodicarboxílico; 2,2-bis(bromometil)-1,3-propanodiol; ácido 3,5-dibromo-4-oxopentanoico; y éster de N-hidroxisuccinimida del ácido bromoacético disponible en Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Las formas adecuadamente protegidas de esos iniciadores se pueden preparar usando métodos estándar en la técnica según sea necesario.

#### 40 E.3.1.2 Catalizador y ligandos

El catalizador para su uso en ATRP o polimerizaciones de transferencia por radicales grupales puede incluir sales adecuadas de Cu<sup>1+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Ru<sup>2+</sup>Ru<sup>3+</sup>, Cr<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Mo<sup>2+</sup>, Mo<sup>3+</sup>, W<sup>2+</sup>, W<sup>3+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Mn<sup>4+</sup>, Rh<sup>3+</sup>, Rh<sup>4+</sup>, Re<sup>2+</sup>, Re<sup>3+</sup>, Co<sup>1+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Co<sup>3+</sup>, V<sup>2+</sup>, V<sup>3+</sup>, Zn<sup>1+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Ni<sup>3+</sup>, Au<sup>1+</sup>, Au<sup>2+</sup>, Ag<sup>1+</sup> y Ag<sup>2+</sup>. Las sales adecuadas incluyen, pero sin limitación: halógeno, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, sulfatos, fosfato, triflato, hexafluorofosfato, metanosulfonato, sales arilsulfonato. En algunas realizaciones, el catalizador es una sal de cloruro, bromuro de los iones metálicos mencionados anteriormente. En otras realizaciones, el catalizador es CuBr, CuCl o RuCl<sub>2</sub>.

En algunas realizaciones, es deseable el uso de uno o más ligandos para solubilizar el catalizador de metal de transición. Los ligandos adecuados se usan de manera útil en combinación con una diversidad de catalizadores de metales de transición, que incluyen cloruro o bromuro de cobre, o sales de metales de transición de cloruro de rutenio, que son parte del catalizador. La elección de un ligando afecta a la función del catalizador ya que los ligandos no solo ayudan a solubilizar catalizadores de metales de transición en medios de reacción orgánicos sino que también ajustan su potencial redox. La selección de un ligando también se basa en la solubilidad y separabilidad del catalizador de la mezcla del producto. Cuando la polimerización se va a realizar en una fase líquida, los ligandos/catalizadores solubles son generalmente deseables, aunque pueden emplearse catalizadores inmovilizados. Los ligandos adecuados incluyen aquellos grupos piridilo (incluyendo alquilpiridinas, por ejemplo, 4,4, dialquil-2,2'-bipiridinas) y grupos piridilo que portan un grupo imino sustituido con alquilo, cuando están presentes, grupos alquilo más largos proporcionan solubilidad en mezclas de monómeros menos polares y medios disolventes. Las trifenilfosfinas y otros ligandos de fósforo, además de indanilo o ligandos de ciclopentadienilo, también se pueden emplear con catalizadores de metales de transición (por ejemplo, complejos de haluro de Ru<sup>+2</sup> o haluro de Fe<sup>+2</sup> con ligandos de trifenilfosfina, indanilo o ciclopentadienilo).

Se emplea en algunas realizaciones una cantidad aproximadamente estequiométrica de compuesto metálico y ligando en el catalizador, en base a las relaciones molares de los componentes cuando el ion metálico está completamente complejoado. En otras realizaciones, la relación entre el compuesto metálico y el ligando está en el

intervalo 1:(0,5 a 2) o en el intervalo 1:(0,8:1,25).

Generalmente, cuando el catalizador es cobre, los ligandos de nitrógeno bidentados o multidentados producen catalizadores más activos. Además, los ligandos puenteados o cíclicos y las poliaminas alifáticas ramificadas proporcionan catalizadores más activos que los ligandos lineales simples. Cuando el bromo es el contraión, se necesitan ligandos bidentado o tetradentados por  $\text{Cu}^{+1}$ . Cuando se emplean contraiones más complejos tales como triflato o hexafluorofosfato, se pueden emplear dos ligandos bidentado o uno tetradentado. La adición de cobre metálico puede ser ventajosa en algunas realizaciones, particularmente cuando se desea una polimerización más rápida, ya que el cobre metálico y el  $\text{Cu}^{+2}$  pueden experimentar una reacción redox para formar  $\text{Cu}^{+1}$ . La adición de parte de  $\text{Cu}^{+2}$  al comienzo de algunas reacciones de ATRP puede emplearse para disminuir la cantidad de terminación normal.

En algunas realizaciones, la cantidad de catalizador empleada en las reacciones de polimerización es el equivalente molar del iniciador que está presente. Como el catalizador no se consume en la reacción, sin embargo, no es esencial incluir una cantidad de catalizador tan alta como la del iniciador. La relación de catalizador con respecto al iniciador, basada en el compuesto de metal de transición en algunas realizaciones es de aproximadamente 1:(1 a 50), y en otras realizaciones de aproximadamente 1:(1 a 10).

### E.3.1.3 Condiciones de polimerización

En algunas realizaciones, el proceso de polimerización por radicales vivos de la invención se realiza preferiblemente para lograr un grado de polimerización en el intervalo de 3 a aproximadamente 2000, y en otras realizaciones de aproximadamente 5 a aproximadamente 500. El grado de polimerización en otras realizaciones están en el intervalo de 10 a 100, o como alternativa, en el intervalo de aproximadamente 10 a aproximadamente 50. El grado de polimerización en la técnica de polimerización por radicales de transferencia de grupo o átomo está directamente relacionado con la relación inicial de iniciador con respecto a monómero. Por lo tanto, en algunas realizaciones, las relaciones iniciales de iniciador con respecto a monómero están en el intervalo de 1:(3 a aproximadamente 2.000) o aproximadamente 1:(5 a 500), o aproximadamente 1:(10 a 100), o aproximadamente 1:(10 a 50).

Las reacciones de polimerización se llevan a cabo típicamente en la fase líquida, empleando una solución única homogénea. Sin embargo, la reacción puede ser heterogénea, comprendiendo un sólido y una fase líquida (por ejemplo, una suspensión o emulsión acuosa). En aquellas realizaciones en las que se emplea un disolvente no polimerizable, el disolvente empleado se selecciona teniendo en cuenta la naturaleza del monómero zwitteriónico, el iniciador, el catalizador y su ligando; y además, cualquier comonómero que pueda emplearse.

El disolvente puede comprender un solo compuesto o una mezcla de compuestos. En algunas realizaciones, el disolvente es agua y, en otras realizaciones, el agua está presente en una cantidad de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 100 % en peso, basado en el peso de los monómeros presentes en la reacción. En aquellas realizaciones en las que un comonómero insoluble en agua va a polimerizarse con un monómero zwitteriónico, puede ser deseable emplear un disolvente o codisolvente (junto con agua) que permita la solubilización de todos los monómeros presentes. Los disolventes orgánicos adecuados incluyen, sin limitación, formamidas (por ejemplo, dimetilformamida), éteres (por ejemplo, tetrahidrofurano), ésteres (acetato de etilo) y, mucho más preferiblemente, alcoholes. En algunas realizaciones en las que se va a emplear una mezcla de agua y disolvente orgánico, los alcoholes alquílicos  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$  miscibles con agua (metanol, etanol, propanol, isopropanol, butanol, isobutanol y terbutanol) son disolventes orgánicos útiles. En otras realizaciones, las combinaciones de agua y metanol son adecuadas para realizar reacciones de polimerización. La reacción también puede realizarse en disolventes supercríticos tales como  $\text{CO}_2$ .

Como se ha indicado anteriormente, en algunas realizaciones, es deseable incluir agua en la mezcla de polimerización en una cantidad de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 100 % en peso basado en el peso de los monómeros a polimerizar. En otras realizaciones, el disolvente total no polimerizable es de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 500 % en peso, basado en el peso de los monómeros presentes en la mezcla de reacción. En otras realizaciones, el disolvente total no polimerizable es de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 500 % en peso o, como alternativa, del 20 % al 400 %, basado en el peso de los monómeros presentes en la mezcla de reacción.

En algunas realizaciones, el tiempo de contacto del monómero zwitteriónico y el agua antes del contacto con el iniciador y el catalizador se minimiza formando una premezcla que comprende todos los componentes distintos del monómero zwitteriónico y para que el monómero zwitteriónico se añada a la premezcla en último lugar.

Las reacciones de polimerización se pueden realizar a cualquier temperatura adecuada. En algunas realizaciones, la temperatura puede ser de aproximadamente ambiente (temperatura ambiente) a aproximadamente 120 °C. En otras realizaciones, las polimerizaciones pueden realizarse a una temperatura elevada desde la temperatura ambiente en el intervalo de aproximadamente 60 ° a 80 °C. En otras realizaciones, la reacción se realiza a temperatura ambiente.

En algunas realizaciones, los compuestos de la invención tienen una polidispersidad (de peso molecular) de menos

- de 1,5, según se juzga por cromatografía de permeación en gel. En otras realizaciones, las polidispersidades pueden estar en el intervalo de 1,2 a 1,4. La polidispersidad se puede reducir mediante el procesamiento de la reacción posterior a la polimerización de los compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb) (por ejemplo, selección de tamaño en medios cromatográficos de permeación en gel). Como alternativa, cuando el acoplamiento de los compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) a un agente biológicamente activo se va a realizar para preparar los conjugados deseados, teniendo los compuestos intermedios las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va) pueden seleccionarse por tamaño (por ejemplo, mediante cromatografía) antes del acoplamiento al agente biológicamente activo.
- Los restos de polímero presentes en los compuestos de la invención, particularmente los preparados por polimerización por radicales vivos, pueden emplearse para formar copolímeros de bloques donde el producto de la primera polimerización se usa como iniciador en un segundo grupo o etapa de polimerización por radicales de transferencia de átomos realizado en presencia de un catalizador, y uno o más monómeros etilénicamente insaturados adicionales. El producto es un copolímero de bloque del tipo A-B, donde el segundo bloque "B" puede estar compuesto por monómeros de un tipo diferente de los empleados en el bloque inicial A. Como alternativa, los monómeros a partir de los cuales se forman el bloque A y el bloque B comprenden los mismos monómeros componentes presentes en diferentes relaciones. Más a menudo comprenden diferentes monómeros, aunque pueden incluir comonómeros comunes. Se pueden añadir bloques adicionales para producir copolímeros de bloques lineales que tengan la secuencia ABC o ABA. El copolímero de bloque del tipo A-B-A también puede producirse empleando un iniciador difuncional al que pueden añadirse monómeros del tipo B. En la segunda polimerización, los bloques de monómeros A se añadirán a los dos extremos de los polímeros B que actúan como un iniciador que produce un polímero del tipo ABA. De forma similar, se pueden generar copolímeros de bloque que tienen arquitecturas de tipo estrella o peine a partir de iniciadores multifuncionales usados para preparar los polímeros en estrella o peine descritos anteriormente. Cuando sea necesario, se puede emplear un catalizador o sistema disolvente diferente para preparar el segundo o posteriores bloques de polímeros.

#### *E.3.1.4 Preparación de compuestos que tienen un extremo polimérico no halogenado*

En aquellas realizaciones de compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb), en las que un halógeno se adjunta al extremo del grupo polimérico debido al uso de un iniciador o catalizador que contiene halógeno en la reacción de polimerización, puede ser deseable reemplazar el halógeno con otra funcionalidad. Se pueden emplear una diversidad de reacciones para la conversión del halógeno alifático. En una realización, la conversión del halógeno alifático puede comprender una reacción de sustitución nucleófila alifática. En una realización, la reacción nucleófila alifática es una deshalogenación de isocianato, y en otra realización una deshalogenación de isotiocianato. Los isocianatos o isotiocianatos resultantes se pueden convertir en la amina correspondiente por tratamiento con ácido o base. Dado que los isotiocianatos pueden dar la alquilación de S, y tienden a requerir condiciones más vigorosas para convertirlos en la amina correspondiente, se prefieren los isocianatos sobre los isotiocianatos en las reacciones de deshalogenación. Cuando el haluro alifático se trata con isocianato en presencia de un alcohol, se pueden preparar carbamatos directamente.

Un halógeno unido al extremo del grupo polimérico también puede estar sometido a sustitución nucleófila por un nucleófilo adecuado y convertirse en un alcohol, un éter alquílico (por ejemplo, -O-metilo u -O-etilo), un éster, un tioéter y similares. Los halógenos también pueden estar sujetos a una reacción de eliminación para dar lugar un alqueno (doble enlace).

Para evitar afectar a un agente biológico acoplado a un compuesto de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb), la conversión de halógenos alifáticos terminales puede realizarse en compuestos de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va) antes de su acoplamiento a un agente biológicamente activo.

#### *E.3.2 Acoplamiento de agentes biológicamente activos a compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va).*

La preparación de los compuestos (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb), que comprenden un agente biológicamente activo, puede realizarse uniendo primero el agente biológicamente activo a un grupo de enlace y sometiendo el agente biológicamente activo acoplado a condiciones adecuadas para la síntesis del grupo polimérico de la molécula. En estos casos, un grupo de enlace adecuado puede ser un iniciador (por ejemplo, compuesto/grupo yodado, bromado o clorado) para su uso en reacciones de ATRP. Tal esquema de reacción es posible cuando el agente biológicamente activo es compatible con las reacciones de polimerización del polímero y cualquier elaboración posterior requerida. Sin embargo, el acoplamiento de agentes biológicamente activos a compuestos de fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va), se puede usar ventajosamente para preparar compuestos de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb), particularmente cuando el agente biológicamente activo no es compatible con las condiciones adecuadas para la polimerización. Además, cuando el coste hace que la pérdida de un agente produzca rendimientos sintéticos imperfectos, particularmente en reacciones sintéticas de múltiples etapas, el acoplamiento del agente biológicamente activo a los compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va) se puede emplear ventajosamente.

Los compuestos de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb) o (Vb) pueden prepararse por reacción con un compuesto de



fórmula (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) con un agente biológicamente activo. En aquellos casos en los que los compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va) llevan un grupo  $-(Sp^1)_n-X$  (véase, por ejemplo, Esquema I, parte IA y Esquema II, parte IIA), donde el grupo X es reactivo, los compuestos pueden reaccionar directamente con un agente biológicamente activo para preparar una molécula de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb) o (Vb). Cuando el grupo X está presente en una forma protegida, la molécula puede someterse a desprotección antes de la reacción con un agente biológicamente activo (por ejemplo, ácidos carboxílicos protegidos, hidroxilos, aminas, carbonilos y similares de los que los grupos X pueden desprotegerse).

Cuando un grupo  $-(Sp^1)_n-X$  no es compatible con las condiciones empleadas para las reacciones de polimerización, puede ser deseable introducir el grupo después de la reacción de polimerización (véase, por ejemplo, Esquema I parte IB y Esquema II parte IIB). Tal situación puede surgir cuando un grupo X contiene un doble enlace que no puede estar presente en la reacción de polimerización (por ejemplo, X comprende un grupo vinilpiridina, un carbonilo alfa-beta insaturado, un éster alfa-beta, una amida alfa-beta insaturada, o un grupo maleimida). En tales circunstancias, un iniciador que lleva uno o más halógenos puede proporcionar un grupo L con funcionalidades adecuadas (por ejemplo, hidroxilo, amina o carboxilo) para la unión de restos  $-(Sp^1)_n-X$ . En una de tales realizaciones, un grupo tio-reactivo de maleimida y un enlazador que comprende un grupo alquilo terminado en un carboxilo pueden unirse a un grupo L que lleva un aldehído después de la polimerización por reacción con ácido N-(ácido  $\beta$ -maleimidopropiónico)hidrazida-TFA (BMPH, disponible en Pierce Biotechnology).

Como se ha analizado anteriormente, el agente biológicamente activo A, de un compuesto de fórmula (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb) pueden incluir un grupo espaciador, representado como  $(Sp^2)_p$ , donde p es 0 o 1, adjunto a éste como un medio para unir el agente biológicamente activo. Dichos grupos de unión pueden introducirse para proporcionar no solo un grupo espaciador, sino también un grupo capaz de reaccionar con un grupo X de un compuesto de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va).

La introducción de los grupos espaciadores  $Sp^2$  en moléculas biológicamente activas puede ocurrir antes de la reacción del agente biológicamente activo con un compuesto de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va). La incorporación de espaciadores  $Sp^2$  en agentes biológicamente activos es particularmente deseable cuando pueden usarse para introducir una funcionalidad reactiva única que puede reaccionar con un grupo X para formar el grupo Z de un compuesto de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb).

Cuando es deseable y la química lo permite, los grupos de unión  $Sp^2$  pueden unirse al grupo X de un compuesto de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va) antes de una reacción con el agente biológicamente activo. Dicha estrategia sintética puede emplearse en aquellas realizaciones en las que, por ejemplo, el agente biológicamente activo es costoso, o tiene una vida limitada debido a la susceptibilidad a la degradación. En estos casos, es deseable que el acoplamiento final entre un grupo espaciador  $Sp^2$  que se ha unido a una funcionalidad X de los compuestos (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va) (es decir, para formar un compuesto que tiene  $-X$  convertido en  $-Z-Sp^2$ ) sea compatible con otras funcionalidades presentes en las moléculas, incluidos los grupos fosforilcolina que están presentes en el polímero.

El acoplamiento de agentes biológicamente activos a los compuestos de las fórmulas (Ia), (IIa), (IIIa), (IVa) o (Va) se puede realizar empleando condiciones químicas y reactivos aplicables a las reacciones que se realizan. Cuando, por ejemplo, el acoplamiento requiere la formación de un éster o una amida, las reacciones de deshidratación entre un ácido carboxílico y un alcohol o amina pueden emplear un agente deshidratante (por ejemplo, una carbodiimida tal como dicitclohexilcarbodiimida, DCC, o el agente soluble en agua clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, EDC). Como alternativa, se pueden emplear ésteres de N-hidroxisuccinimida (NHS) para preparar amidas. La reacción para preparar amidas empleando ésteres de NHS se realiza típicamente casi a pH neutro en fosfato, bicarbonato, borato, HEPES u otros tampones que no contienen amina de 4 °C a 25 °C. En algunas realizaciones, las reacciones que emplean EDC como agente deshidratante, puede emplearse un pH de 4,5-7,5; en otras realizaciones, se puede emplear un pH de 4,5 a 5. El ácido morfolinoetanosulfónico, MES, es un tampón de reacción de carbodiimida eficaz.

Los grupos tiol se pueden hacer reaccionar en una diversidad de condiciones para preparar diferentes productos. Cuando se hace reaccionar un tiol con una maleimida para formar un enlace tioéter, la reacción se realiza típicamente a un pH de 6,5-7,5. El exceso de grupos maleimida se puede inactivar mediante la adición de reactivos tiol libres tales como mercaptoetanol. Cuando los enlaces disulfuro están presentes como una unión, se pueden preparar mediante intercambio de tiol-disulfuro entre un sulfhidrilo presente en el grupo biológicamente activo y una funcionalidad X que es un disulfuro tal como un disulfuro de piridilo. Las reacciones que implican disulfuros de piridilo pueden realizarse a pH 4 - pH 5 y la reacción puede controlarse a 343 nm para detectar la piridín-2-tiona liberada. Los grupos tiol también pueden hacerse reaccionar con epóxidos en una solución acuosa para producir hidroxi tioéteres.

La reacción de grupos guanido (por ejemplo, los de una arginina en una proteína o polipéptido de interés) con un glioxal se puede realizar a pH 7,0-8,0. La reacción típicamente avanza a 25 °C. El derivado, que contiene dos restos de fenilglioxal por grupo guanido, es más estable bajo condiciones ligeramente ácidas (por debajo de pH 4) que a pH neutro o alcalino, y permite el aislamiento de los materiales unidos. A valores de pH neutro o alcalino, la unión se

descompone lentamente. Cuando se hace reaccionar un residuo de arginina de una proteína o polipéptido con un reactivo de fenilgloxal, aproximadamente el 80 % del enlace se hidrolizará para regenerar el residuo de arginina original (en ausencia de exceso de reactivo) en aproximadamente 48 horas a 37 °C a aproximadamente pH 7.

- 5 Las reacciones de imidoéster con aminas se realizan típicamente a un pH de 8-10, y preferiblemente a aproximadamente pH 10. La unión de amidina formada a partir de la reacción de un imidoéster con una amina es reversible, particularmente a pH alto.

- 10 Los haloacetales se pueden hacer reaccionar con grupos sulfhidrilo en un amplio intervalo de pH. Para evitar reacciones secundarias entre residuos de histidina que pueden estar presentes, particularmente cuando el grupo sulfhidrilo está presente en una proteína o polipéptido, la reacción puede realizarse a aproximadamente pH 8,3.

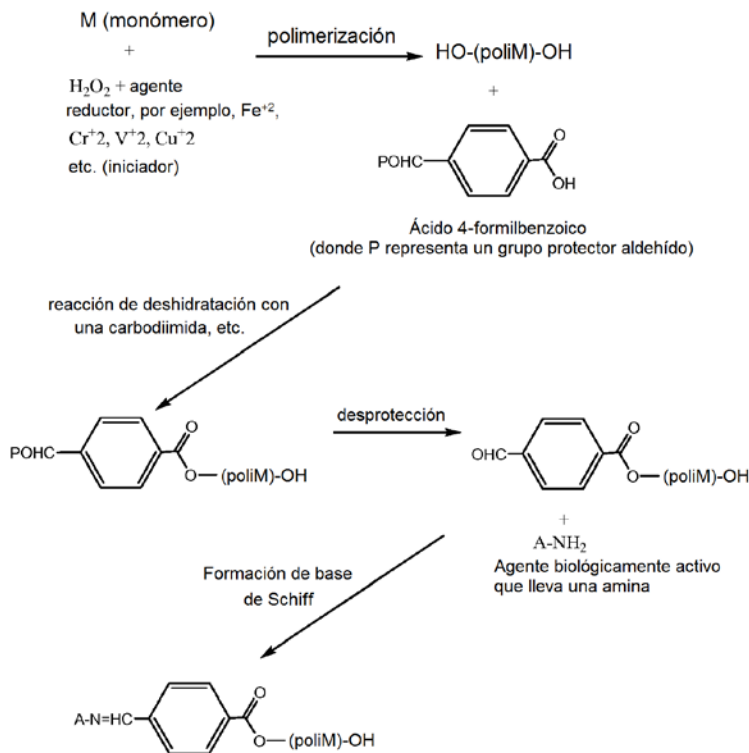
- 15 Los aldehídos pueden reaccionar con aminas bajo una diversidad de condiciones para formar iminas. Cuando el aldehído o la amina están inmediatamente adyacentes a un grupo arilo, el producto es una base de Schiff que tiende a ser más estable que cuando no está presente un grupo arilo. Las condiciones para la reacción de aminas con aldehídos para formar un enlace imina incluyen el uso de un pH básico de aproximadamente pH 9 a aproximadamente pH 11 y una temperatura de aproximadamente 0 °C a temperatura ambiente, durante 1 a 24 horas. Los tampones que incluyen tampones que contienen borohidruro y aminas terciarias se emplean a menudo para la preparación de iminas. Cuando se desea, los conjugados de imina, que son hidrolíticamente susceptibles, pueden reducirse para formar un enlace amina que no es hidrolíticamente susceptible. La reducción puede realizarse con una diversidad de agentes reductores adecuados que incluyen borohidruro sódico o cianoborohidruro sódico.

- 25 Las condiciones de reacción proporcionadas anteriormente están destinadas a proporcionar una orientación general para el experto. El experto en la técnica reconocerá que las condiciones de reacción pueden variarse según sea necesario para promover la formación de conjugados de las fórmulas (Ib), (IIb), (IIIb), (IVb) o (Vb) y esa orientación para la modificación de las reacciones puede obtenerse de textos estándar en química orgánica. Se puede obtener orientación adicional de textos tales como Wong, S.S., "Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking," (CRC Press 1991), que analizan reacciones químicas relacionadas.

- 30 *E.4 Alternativas a métodos de polimerización por radicales vivos para la preparación de compuestos de la invención*

- 35 Además del uso de los métodos de polimerización por radicales vivos descritos anteriormente, los compuestos de la presente invención también pueden prepararse mediante diversos métodos que incluyen la preparación de las porciones de polímero de ácido poliacrílico de los compuestos para formar intermedios poliméricos a través de cualquier método conocido en la técnica. Los métodos adecuados incluyen métodos de polimerización por radicales libres que pueden iniciarse mediante métodos que incluyen medios térmicos, hidrolíticos, redox o fotoquímicos. Los intermedios poliméricos pueden seleccionarse por tamaño mediante métodos cromatográficos, si es necesario, y acoplarse a un grupo reactivo (es decir, un grupo X) a través de cualquier grupo capaz de aportar un grupo L (y un espaciador Sp<sup>1</sup> si está presente) que lleva un grupo reactivo, o una forma protegida del mismo, para formar un compuesto de fórmula (Ia) (IIa), (IIIa), (IVa), o (Va). Después de cualquier desprotección o activación necesaria del grupo X, los compuestos de las fórmulas (Ib) (IIb), (IIIb), (IVb), o (Vb) pueden prepararse por reacción con un agente biológicamente activo en condiciones adecuadas. Este método de preparación se ilustra en el Esquema III para los monómeros "M" y ácido 4-formilbenzoico, que proporciona un medio (el grupo carboxilo) para acoplar el polímero intermedio y un grupo reactivo (el aldehído) para la reacción con un agente biológicamente activo que lleva amina.

Esquema III



El producto de imina preparado en el Esquema III puede reducirse para producir una amina mediante el uso de agentes reductores adecuados tales como cianoborohidruro de sodio.

5

#### E.5 Purificación y determinación del peso molecular.

Cuando es deseable, los compuestos de las fórmulas (Ia) a (Vb) pueden purificarse por cualquier medio conocido, incluyendo precipitación, diálisis y cromatografía. Un medio conveniente para eliminar contaminantes de moléculas pequeñas tales como catalizadores, ligandos, monómeros no polimerizados, o agentes biológicos activos de molécula pequeña a partir de los materiales poliméricos deseados es el paso del producto sobre una columna de gel desalador equilibrada con un tampón adecuado (por ejemplo, Bio-Gel P6DG disponible en Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules CA, que se puede usar con conjugados de más de 6.000 Daltons).

10

15

También se puede realizar la cromatografía en medios capaces de resolver los materiales que tienen un peso molecular en el intervalo de los materiales poliméricos y conjugados de polímero de fórmulas (Ia) a (Vb), particularmente cuando es deseable determinar la polidispersidad del polímero conjugado. Puede emplearse cualquier medio cromatográfico convencional capaz de resolver materiales en el intervalo de peso molecular deseado incluyendo Superdex, Sephacryl, Sephadex y Sepharose. La elección específica de los medios (por ejemplo, Superdex peptide, Superdex 75 o Superdex 200) se verá afectada por el tamaño del conjugado que debe resolverse. La cromatografía puede realizarse utilizando métodos cromatográficos en columna estándar, cromatografía líquida de proteína rápida (FPLC), o HPLC. Aunque la cromatografía a temperatura ambiente es posible en muchos casos, a menudo es deseable la cromatografía a temperaturas más bajas (por ejemplo, 4 °C). Se puede emplear cualquier tampón adecuado en la separación cromatográfica de los conjugados de polímero.

20

25

También es posible la cromatografía en una fase móvil que también es una composición de excipiente farmacéuticamente aceptable, incluyendo, pero sin limitación, solución salina normal (0,9 g de NaCl por 100 ml de agua) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). El uso de excipientes farmacéuticamente aceptables como fase móvil tiene la ventaja de evitar las manipulaciones posteriores para intercambiar tampones presentes con los materiales poliméricos.

30

Se pueden emplear también otras formas de cromatografía, incluyendo, pero sin limitación, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de interacción hidrófoba.

La presente invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos.

### Ejemplos

#### 5 **Ejemplo 1.** Preparación de ácido 2-etilacrílico a partir de malonato de dietilo.

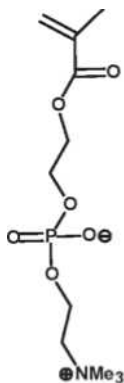
Se preparó ácido etilacrílico a partir de malonato de dietilo mediante la preparación de ácido 2-carboetoxibutírico que posteriormente se convirtió en ácido 2-etilacrílico (EAA). *Ácido 2-carboetoxibutírico.*

- 10 Se agitó etilmalonato de dietilo durante una noche con etanol al 95 % en presencia de KOH 1 M. El precipitado de color blanco que se forma se eliminó por filtración de la solución, y el filtrado se concentró a presión reducida (por ejemplo, en un evaporador rotatorio). El aceite de color amarillento obtenido tras la concentración del filtrado se añadió al precipitado y la mezcla se disolvió en una cantidad mínima de agua. Después de la acidificación con HCl acuoso diluido a un pH de 2, se separa un aceite de la solución. El aceite se recogió en éter dietílico y la capa acuosa se extrajo tres veces más con éter dietílico. Los extractos de éter se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio y se filtraron. Se obtuvo un rendimiento cuantitativo de ácido 2-carboetoxibutírico en forma de un aceite amarillento.

20 *Ácido 2-etilacrílico (2-etilacrilato de etilo).*

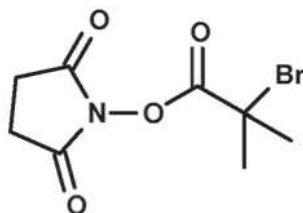
- El ácido 2-carboetoxibutírico obtenido en la etapa (a) se enfrió a -5 °C y se añadió dietilamina. Se añadió una solución de formalina gota a gota a la mezcla de reacción enfriada que luego se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de agitar durante 24 h, la mezcla de reacción se calentó a 60 °C y se agitó durante 8 h más. La mezcla consistió en dos capas, que se enfriaron a 0 °C. Se añadió ácido sulfúrico concentrado y la mezcla se extrajo con tres porciones de 200 ml de éter dietílico. Los extractos de éter se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio y se filtraron. El éter se eliminó a presión reducida para producir 2-etilacrilato de etilo en forma de un aceite de color amarillo.

#### 30 **Ejemplo 2.** Preparación de 2-metacrililoxi-etil fosforilcolina (HEMA-PC o MPC).

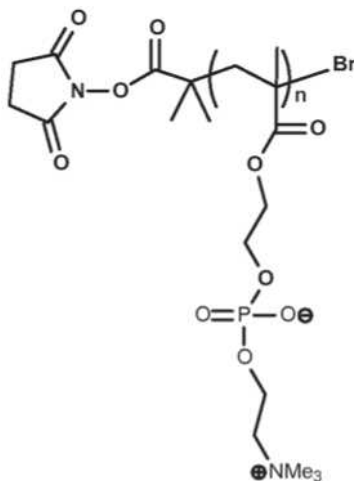


- 35 A una solución de metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) (4,4 g, 40 mmol) en THF seco (40 ml) se le añadió trietilamina seca (3,4 g, 40 mmol). Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 minutos, después se enfrió a -20 °C. A la solución enfriada se le añadió COP (4,5 g, 40 mmol) en forma de una solución en THF (20 ml) durante un periodo de 1 hora. La temperatura de la mezcla de reacción se mantuvo aproximadamente a -20 °C. El precipitado de color blanco se filtró, y la solución restante se concentró a presión reducida para producir 6,7 g (71 %) de metacrilato de 2-(2-oxo-1,3, 2, dioxafosfoloiloxi)etilo (OPEMA) en forma de un líquido de color amarillo pálido. Se agitó OPEMA (4,0 g, 16 mmol) en acetonitrilo seco (30 ml) en una botella de reacción. La botella se enfrió a -20 °C, y se añadió rápidamente trimetilamina anhidra (4 ml) a la solución. La botella se cerró rápidamente, y la mezcla se calentó a 60 °C durante 24 horas, después se mantuvo a -10 °C durante 12 horas. Se observó MPC como un precipitado de color blanco, se recogió por filtración, se lavó con acetonitrilo frío, y se secó a presión reducida para dar 1,5 g de producto en forma de un polvo de color blanco. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1,93 (s, 3H), 3,40 (s, 9H), 3,80-3,85 (m, 2H), 4,09-4,11 (m, 2H), 4,30-4,36 (m, 4H), 5,84 (s, 1H), 6,11 (s, 1H) ppm.

45

**Ejemplo 3.** Preparación de pirrolidin-1-il éster del ácido 2-bromo-2-metil-propiónico.

5 Una solución de *N*-hidroxisuccinimida (NHS) (3,0 g, 26 mmol) en cloruro de metileno seco (300 ml) se agitó en una atmósfera inerte (argón o nitrógeno). Se añadió trietilamina (7,3 ml, 52 mmol), la mezcla se enfrió a 0 °C, y se añadió gota a gota bromuro de 2-bromo-2-metilpropionilo (3,9 ml, 31 mmol) durante un periodo de 15 minutos. La mezcla se agitó durante 1 hora a 0 °C, después se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La mayor parte del disolvente se retiró por evaporación, y la mezcla restante se diluyó con agua fría (400 ml), y se extrajo con éter dietílico (3 x 30 ml), después se lavó carbonato potásico acuoso (3 x 30 ml) y HCl 1 M<sub>(ac.)</sub> (3 x 30 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, después se filtró y se concentró para dar un sólido de color pardo. La cristalización de acetato de etilo dio el producto deseado en forma de un polvo de color blanco (2,62 g, 39 %). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 2,09 (s, 6H, CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Br), 2,88 (s, 4H, H<sub>NHS</sub>); <sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 25,7 (C<sub>NHS</sub>), 30,8 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Br), 51,3 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Br), 167,6 (C=O), 168,7 (C<sub>nhs</sub>=O).

**Ejemplo 4.** Polimerización representativa de MPC usando pirrolidin-1-il éster del ácido 2-bromo-2-metil-propiónico del Ejemplo 3 y polimerización por radicales por transferencia de átomos (ATRP).

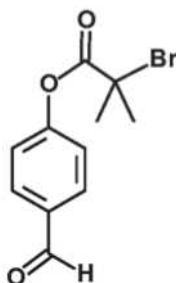
20 Se disolvió pirrolidin-1-il éster del ácido 2-bromo-2-metil-propiónico del Ejemplo 3 (13 mg, 0.050 mmol) en DMSO desgasificado (1,5 ml). A esta solución se le añadió Cu<sup>1</sup>Br (7 mg, 0,05) mmol) y 2,2'-bipiridina (15 mg, 0,10 mmol), seguido de una solución de MPC (547 mg, 1,85 mmol) en metanol desgasificado (0,5 ml). La mezcla de reacción se sometió a tres ciclos de congelación-bombeo-descongelación, después se agitó en una atmósfera inerte (argón o nitrógeno) a temperatura ambiente durante 18 horas, después a 40 °C durante 4 horas. La mezcla se pasó a través de una columna corta de gel de sílice con metanol como eluyente, para dar una solución incolora. La solución se secó al vacío para dar el polímero deseado (190 mg) en forma de un polvo de color blanco. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 0,81-1,33 (a, 35H), 1,81-2,22 (a, 22H), 2,87 (s, 4H), 3,25 (s, 132H), 3,69-3,81 (a, 19H), 4,04-4,45 (a, 60H) ppm; <sup>31</sup>P RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): -0,34 ppm. Cromatografía de permeación en gel, contra estándares de calibración de poli(óxido de etileno), eluyendo con NaNO<sub>3</sub> acuoso 0,1 M que contiene NaN<sub>3</sub> al 0,2 por ciento en peso: M<sub>n</sub> 8.900, M<sub>p</sub> 9.600, M<sub>w</sub> 11.600, PDI 1,30. La siguiente tabla proporciona ejemplos de esta polimerización realizada bajo una diversidad de condiciones.

30 Polímeros MPC terminados en NHS preparados en diferentes condiciones.

Número de muestra	Disolvente	DP teórico	M <sub>n</sub> calc.	DP (RMN)	M <sub>n</sub> (RMN)	M <sub>n</sub> (GPC)	PDI (GPC)
I	MeOH	NHS-MPC <sub>10</sub>	2960	NHS-MPC <sub>8</sub>	2.400	3.500	1,15
II	DMSO	NHS-MPC <sub>20</sub>	5920	NHS-MPC <sub>20</sub>	5,00	11.000	2,4
III	MeOH-DMSO (1:1)	NHS-MPC <sub>25</sub>	7400	NHS-MPC <sub>20</sub>	5.900	7.700	1,15
IV	MeOH-DMSO (1:1)	NHS-MPC <sub>25</sub>	7400	NHS-MPC <sub>15</sub>	4.400	5.400	1,25
V	MeOH-DMSO (1:3)	NHS-MPC <sub>37</sub>	10989	NHS-MPC <sub>28</sub>	8.200	9.600	1,30

DP = grado de polimerización (n unidades de repetición monomérica); M<sub>n</sub> = peso molecular promedio en peso; GPC = cromatografía de permeación en gel; PDI = índice de polidispersidad, como se define por Mw/Mn, o peso molecular promedio en peso dividido por el peso molecular promedio en número (ambos determinados por GPC).

**Ejemplo 5.** Preparación de 4-formil-fenil éster del ácido 2-bromo-2-metil-propiónico.

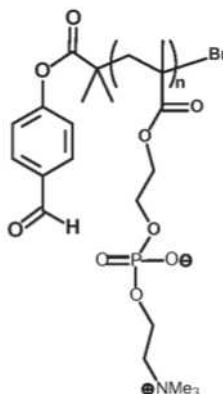


5

Una solución de 4-hidroxi benzaldehído (6,1 g, 0,050 mol) y trietilamina (6,1 g, 0,060 mol) se agitó en THF (200 ml) en un matraz de fondo redondo. Se añadió lentamente bromuro de bromoisobutirilo (13,6 g, 0,060 mol) a la solución de benzaldehído en agitación, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante cinco horas. El precipitado de color blanco que apareció se eliminó por filtración, y el disolvente se retiró por evaporación rotatoria. La purificación por cromatografía en columna (eluyendo con EtOAc al 12 % en hexano) proporcionó el aldehído deseado (6,5 g) en forma de un sólido de color blanco. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ = 2,09 (s, 6H), 7,33 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 7,96 (d, J = 7,99 Hz, 2H), 10,02 (s, 1H) ppm; <sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 30,4, 55,3, 121,5, 131,3, 134,2, 155,3, 169,6, 175,7, 190,9 ppm.

15

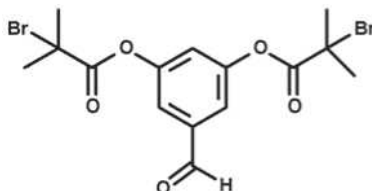
**Ejemplo 6.** Polimerización de MPC usando iniciador de benzaldehído y ATRP.



20 Se disolvió del 4-formil-fenil éster del ácido 2-bromo-2-metilpropiónico del Ejemplo 5 (10,8 mg, 40,0 μmol) en DMSO desgasificado (1,0 ml). A esta solución se le añadieron CuBr (7 mg, 0,05 mmol), 2,2'-bipiridina (15 mg, 0,10 mmol), y una solución de MPC (296 mg, 1,00 mmol) en metanol desgasificado (0,5 ml). La mezcla de reacción se sometió a tres ciclos de congelación-bombeo-descongelación, después se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante 18

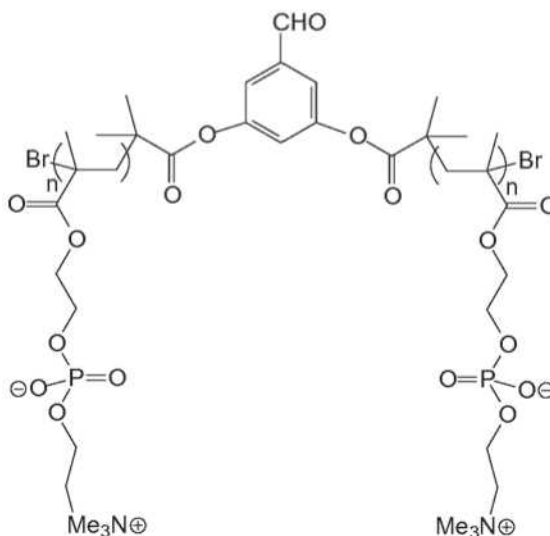
horas a temperatura ambiente, y 4 horas a 40 °C. La mezcla se pasó a través de una columna corta de gel de sílice, eluyendo con metanol, y se lavó con THF seco (2 ml) para dar una solución incolora. La solución se secó al vacío para dar el polímero deseado (100 mg) en forma de un polvo de color blanco. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ = 0,61-1,42 (m, 236H), 1,90-2,33 (m, 131H), 3,32 (s, 766H), 3,69-3,81 (s a, 140H), 3,95-4,43 (m, 438H), 7,27-7,46 (s a, 2H), 7,93-8,12 (s a, 2H), 9,95-10,11 (s a, 1H); GPC (eluyente NaNO<sub>3</sub> acuoso 0,1 M que contiene NaN<sub>3</sub> al 0,2 % en peso y PEO como patrón): M<sub>n</sub>: 8.300; M<sub>p</sub>: 9.000; M<sub>w</sub>: 11.000; PDI 1,29.

**Ejemplo 7.** Preparación de 3-(2-bromo-2-metil-propioniloxi)-5-formil-fenil éster del ácido 2-bromo-2-metil-propiónico.



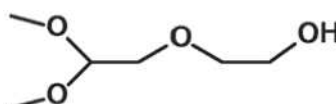
Una solución de 3,5-dihidroxibenzaldehído (1,38 g, 10,0 mmol) y trietilamina (2,5 g, 25 mmol) en THF seco (40 ml) se agitó a temperatura ambiente. Se añadió lentamente bromuro de bromoisobutirilo (5,7 g, 25 mmol) a la mezcla de agitación, y la reacción se dejó avanzar a temperatura ambiente durante 12 horas. Se formó un precipitado de color blanco, que se eliminó por filtración. El disolvente se retiró por evaporación rotatoria, y el compuesto deseado se purificó por cromatografía en columna eluyendo con EtOAc al 15 %/hexanos para dar 1,7 g (40 %) del iniciador difuncional deseado en forma de un líquido viscoso de color amarillo pálido. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2,06 (s, 12H), 7,31 (t, J = 2,5 Hz, 1H), 7,61 (d, J = 2,5 Hz, 2H), 10,05 (s, 1H), <sup>13</sup>C RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 30,2, 54,7, 119,8, 120,9, 138,2, 151,2, 169,5, 189,8.

**Ejemplo 8.** Polimerización de MPC usando iniciador de benzaldehído ramificado y ATRP.



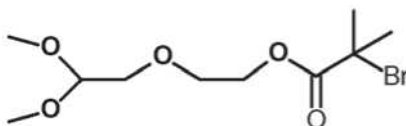
Se disolvió 3-(2-bromo-2-metil-propioniloxi)-5-formilfenil éster del ácido 2-bromo-2-metil-propiónico (25 mg, 0,060 mmol) del Ejemplo 7 en DMSO desgasificado (1,5 ml). A esta solución se le añadieron CuBr (14,3 mg, 0,100 mmol), 2,2'-bipiridina (30 mg, 0,20 mmol), y una solución de MPC (444 mg, 1,50 mmol) en metanol desgasificado (0,5 ml). La mezcla de reacción se sometió a tres ciclos de congelación-bombeo-descongelación, después se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante 18 horas a temperatura ambiente, y 4 horas a 40 °C. La mezcla se pasó a través de una columna corta de gel de sílice, eluyendo con metanol, para dar una solución incolora. La solución se secó al vacío y se lavó con THF seco (2 ml) para dar el polímero deseado (250 mg) en forma de un polvo de color blanco. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 0,52-1,54 (m, 254H), 1,85-2,49 (m, 143H), 3,35 (s, 790H), 3,65-3,79 (s a, 148H), 4,15-4,43 (m, 474H), 7,27-7,46 (s a, 2H), 7,6-7,7 (s a, 1H), 9,90-10,1 (1H); GPC (estándares de óxido de polietileno, y elución con NaNO<sub>3</sub> acuoso 0,1 M que contiene NaN<sub>3</sub> al 0,2 % en peso): M<sub>n</sub>: 9100; M<sub>p</sub>: 10.000; M<sub>w</sub>: 11.500; PDI 1,3.

**Ejemplo 9.** Preparación de 2-(2,2-dimetoxi-etoxi)-etanol.



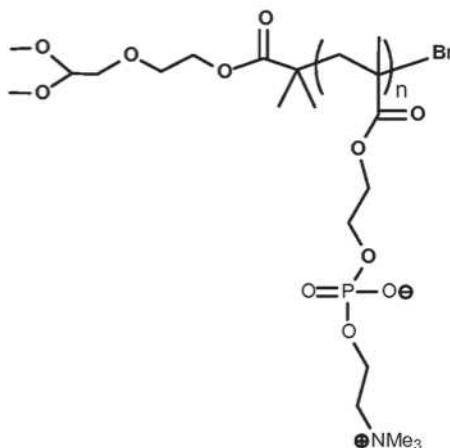
Una solución de hidróxido potásico (5,0 g, 89 mmol) en etilenglicol (12,5 ml, 224 mmol) se agitó a 115 °C en un matraz de fondo redondo. Después de la disolución de hidróxido potásico, se añadió gota a gota cloroacetaldehído dimetil acetal (8,0 ml, 44 mmol) durante 15 minutos, y la mezcla de reacción se agitó durante 66 horas. Después, la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente, y el conjunto se diluyó con agua (40 ml), y después se extrajo con cloruro de metileno (3 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (3 x 20 ml), se secó sobre sulfato de magnesio, después se concentró para dar el producto de dimetil acetal deseado en forma de un líquido de color amarillo muy pálido (2,2 g, 45 %). <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 2,03 (s), 2,98 (s,1H), 3,31 (s,6H), 3,48(t,2H), 3,52(t,2H), 3,68(t,2H), 4,48(c,1H) <sup>13</sup>C RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 53,9, 61,5, 70,5, 72,9, 102,5.

10 **Ejemplo 10.** 2-(2,2-dimetoxi-etoxi)-etil éster del ácido 2-bromo-2-metil-propiónico.



15 Una solución de 2-(2,2-dimetoxi-etoxi)-etanol (2,20 g, 14,6 mmol) del Ejemplo 9 en trietilamina seca (3,0 ml, 21 mmol) y cloruro de metileno seco (30 ml) se agitó a 0 °C. Después, se añadió bromuro de 2-bromo-2-metilpropionilo (1,7 ml, 14 mmol) cloruro de metileno (10 ml) al alcohol durante un periodo de 15 minutos. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se filtró, el filtrado se lavó con bicarbonato sódico saturado, y se secó con sulfato de magnesio. El disolvente se retiró y el aceite de color amarillo se purificó por cromatografía en columna. <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1,78 (s,6H), 3,31 (s,6H), 3,49(d,2H), 3,68(t,2H), 4,25(t,2H), 4,46(t,1H) <sup>13</sup>C RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 31,23, 55,85, 56,15, 65,58, 69,55, 71,44, 103,09, 172,07.

**Ejemplo 11.** Polimerización MPC usando iniciador de aldehído alifático protegido y ATRP.



25 Se disolvió 2-(2,2-dimetoxi-etoxi)-etil éster del ácido 2-bromo-2-metil-propiónico (16 mg, 0,080 mmol) del Ejemplo 10 en DMSO desgasificado (2 ml). A esta solución se le añadieron CuBr (12,5 mg, 0,088 mmol) y 2,2'-bipiridina (27 mg, 0,17 mmol), seguido de una solución de MPC (592 mg, 2,00 mmol) en metanol desgasificado (0,5 ml). La mezcla de reacción se sometió a tres ciclos de congelación-bombeo-descongelación, después se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante 18 horas a temperatura ambiente, y 4 horas a 40 °C. La mezcla se pasó a través de una columna corta de gel de sílice, eluyendo con metanol, para dar una solución incolora. La solución se secó al vacío y se lavó con THF seco (2 ml) para dar el polímero deseado (350 mg) en forma de un polvo de color blanco. GPC (estándares de óxido de polietileno, y elución con NaNO<sub>3</sub> acuoso 0,1 M que contiene NaN<sub>3</sub> al 0,2 % en peso). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 0,81-1,33 (a), 1,70-2,22 (a), 3,31-3,49 (a), 3,67-3,84 (a), 4,04-4,45 (a) ppm; M<sub>n</sub>: 11.200; M<sub>p</sub>: 11.300; M<sub>w</sub>: 15.600; PDI 1,4.

**Ejemplo 12.** Conjugación del polímero funcionalizado con aldehído del Ejemplo 6 con G-CSF.

40 El polímero funcionalizado con aldehído del Ejemplo 6 (6,3 mg) se disolvió en cianoborohidruro sódico 40 mM (2 ml) preparado en tampón acetato sódico 100 mM a pH 4,6. Se añadió factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF, 0,5 ml, figura 2) purificado obtenido a partir de un pollo transgénico (por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N.º 6.730.822) en tampón de formulación a una concentración de 0,265 mg/ml a 1,5 ml del polímero y se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción resultante se analizó en una columna de exclusión por tamaño Shodex KW-803 usando un sistema HPLC Beckman Coulter System Gold o Agilent 1100 series a 280 nm con un caudal de 1 ml/min. (Figura 3 (1: conjugado; 2: G-CSF; 3: tampón)).



**Ejemplo 13.** *Conjugación alternativa del polímero funcionalizado con aldehído del Ejemplo 6 con G-CSF.*

El polímero funcionalizado con aldehído del Ejemplo 6 (6,3 mg) se disolvió en cianoborohidruro sódico 40 mM (2 ml) preparado en tampón acetato sódico 100 mM a pH 4,6. El factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF, 0,1 ml, figura 2) obtenido a partir de un pollo transgénico (por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N.º 6.730.822) en tampón de formulación a una concentración de 0,265 mg/ml se añadió a 0,5 ml del polímero y se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. La mezcla de reacción resultante se analizó en una columna de exclusión por tamaño Shodex KW-803 usando un sistema HPLC Beckman Coulter System Gold o Agilent 1100 series a 280 nm con un caudal de 1 ml/min. (Figura 4 (4: conjugado; 5: G-CSF; 6: tampón)).

**Ejemplo 14.** *Conjugación del polímero funcionalizado con aldehído del Ejemplo 6 con EPO.*

El polímero funcionalizado con aldehído del Ejemplo 6 (2,5 mg) se disolvió en cianoborohidruro sódico 80 mM (1 ml) preparado en tampón acetato sódico 100 mM a pH 4,6. La eritropoyetina (EPO), 0,1 ml, figura 1) obtenida a partir de un pollo transgénico (por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N.º 6.730.822) en tampón fosfato sódico 100 mM (pH 6,98) a una concentración de 0,44 mg/ml se añadió a 0,5 ml del polímero y se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. La mezcla de reacción resultante se analizó en una columna de exclusión por tamaño Shodex KW-803 usando un sistema HPLC Beckman Coulter System Gold o Agilent 1100 series a 280 nm con un caudal de 1 ml/min. (después de 24 horas, figura 5 (7: conjugado; 8: EPO; 9: tampón); después de 48 horas, Figura 6 (10: conjugado; 11: EPO; 12: tampón); y después de 72 horas, Figura 7 (13: conjugado; 14: EPO; 15: tampón)).

**Ejemplo 15.** *Conjugación del polímero funcionalizado con NHS del Ejemplo 4 con G-CSF.*

El polímero funcionalizado con NHS del Ejemplo 4 (Muestra I) (1,9 mg) se disolvió en G-CSF (0,1 ml, figura 2) obtenido a partir de un pollo transgénico (por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N.º 6.730.822) en tampón borato sódico 100 mM (pH 9,3) a una concentración de 0,265 mg/ml y se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción resultante se analizó en una columna de exclusión por tamaño Shodex KW-803 usando un sistema HPLC Beckman Coulter System Gold o Agilent 1100 series a 280 nm con un caudal de 1 ml/min. (Figura 8 (16: conjugado; 17: G-CSF; 18: tampón)).

**Ejemplo 16.** *Conjugación del polímero funcionalizado con NHS del Ejemplo 4 (Muestra I) con EPO.*

El polímero funcionalizado con NHS del Ejemplo 4 (Muestra I) (2,1 mg) se disolvió en EPO (0,2 ml, figura 1) obtenida de un pollo transgénico (por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N.º 6.730.822) en tampón fosfato sódico 100 mM (pH 8) a una concentración de 0,44 mg/ml y se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. La mezcla de reacción resultante se analizó en una columna de exclusión por tamaño Shodex KW-803 usando un sistema HPLC Beckman Coulter System Gold o Agilent 1100 series a 280 nm con un caudal de 1 ml/min. (después de 24 horas, figura 9 (19: conjugado; 20: EPO; 21: tampón); y después de 72 horas, Figura 10 (22: conjugado; 23: EPO; 24: tampón)).

**Ejemplo 17.** *Conjugación del polímero funcionalizado con NHS del Ejemplo 4 con interferón alfa.*

El polímero funcionalizado con NHS del Ejemplo 4 (Muestra I) (1,8 mg) se disolvió en interferón alfa2b (0,2 ml) obtenido a partir de un pollo transgénico (por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N.º 6.730.822) en tampón borato sódico 100 mM (pH 9,3) a una concentración de 0,035 mg/ml y se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción resultante se analizó en una columna de exclusión por tamaño Shodex KW-803 usando un sistema HPLC Beckman Coulter System Gold o Agilent 1100 series a 280 nm con un caudal de 1 ml/min. (Figura 11 (25: conjugado; 26: interferón alfa; 27: tampón)).

**Ejemplo 18.** *Conjugación alternativa del polímero funcionalizado con NHS del Ejemplo 4 con G-CSF.*

El polímero funcionalizado con NHS del Ejemplo 4 (Muestra V) (1,7 mg) se disolvió en G-CSF (0,3 ml, figura 2) obtenido a partir de un pollo transgénico (por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N.º 6.730.822) en tampón borato sódico 100 mM (pH 9,3) a una concentración de 0,265 mg/ml y se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. La mezcla de reacción resultante se analizó en una columna de exclusión por tamaño Shodex KW-803 usando un sistema HPLC Beckman Coulter System Gold o Agilent 1100 series a 280 nm con un caudal de 1 ml/min. (Figura 12 (28: conjugado; 29: G-CSF; 30: tampón)).

**Ejemplo 19.** *Conjugación del polímero funcionalizado con NHS del Ejemplo 4 con Somatostatina.*

Se disolvió Somatostatina (1,1 mg) obtenida en Sigma Aldrich en solución salina tamponada con fosfato (pH 7,2; 1 ml). El polímero funcionalizado con NHS del Ejemplo 4 (Muestra IV) (2 mg) se disolvió en una solución que contenía tampón borato sódico 100 mM (pH 9,3; 0,2 ml) y la solución de somatostatina (0,1 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. La mezcla de reacción resultante se analizó en una columna de exclusión por tamaño Shodex KW-803 usando un sistema HPLC Beckman Coulter System Gold o Agilent 1100 series a 280 nm con un

caudal de 1 ml/min. (Figura 13 (31: conjugado; 32: somatostatina)).

**Ejemplo 20.** *Conjugación del polímero ramificado funcionalizado con aldehído del Ejemplo 8 con EPO.*

- 5 El polímero funcionalizado con aldehído del Ejemplo 8 (2,5 mg) se disolvió en cianoborohidruro sódico 80 mM (1 ml) preparado en tampón acetato sódico 100 mM a pH 4,6. La eritropoyetina (EPO), 0,2 ml, figura 1) obtenida a partir de un pollo transgénico (por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N.º 6.730.822) en tampón fosfato sódico 100 mM (pH 6,98) a una concentración de 0,44 mg/ml se añadió a 0,3 ml del polímero y se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas. La mezcla de reacción resultante se analizó en una columna de exclusión por tamaño Shodex KW-803 usando un sistema HPLC Beckman Coulter System Gold o Agilent 1100 series a 280 nm con un caudal de 1 ml/min. (Figura 14 (33: conjugado; 34: EPO; 35: tampón)).

**Ejemplo 21.** *Preparación de conjugados lineales de poli-HEMA-PC a través de ATRP empleando ácido 3-bromopropiónico como iniciador.*

- 15 a. *Reacción de polimerización.*

La polimerización controlada de fosfato de 2-metacrililoietil-2'-(trimetilamonio)etilo en agua se puede llevar a cabo empleando ácido 3-bromopropiónico (o una sal del mismo, por ejemplo, una sal de sodio) como iniciador de polimerización por radicales por transferencia de átomos (ATRP). El iniciador de ácido 3-bromopropiónico (153 mg, 1 mmol) se disuelve en suficiente agua desionizada destilada (aproximadamente 15 a aproximadamente 50 ml) en un matraz de reacción sellado equipado con un aparato de agitación. Después de purgar el matraz con nitrógeno, se añaden el catalizador de Cu(I)Br (1,4 mg, 1,0 mmol) y ligando de bipyridina (bpy) (320 mg, 2,0 mmol) y la solución se agita en una atmósfera de nitrógeno. Después, se añade el monómero, fosfato de 2-metacrililoietil-2'-(trimetilamonio)etilo, en forma de un sólido a la mezcla de reacción en una atmósfera de nitrógeno. El peso molecular del producto deseado determina la cantidad de monómero empleado como se indica en la tabla a continuación.

Peso molecular promedio (Daltons)	Cantidad de fosfato de 2-metacrililoietil-2'-(trimetilamonio)etilo (calculada para la sal interna)
1.000	0,852 g, 2,9 mmol
2.000	1,848 g, 6,3 mmol
5.000	4,84 g, 16,5 mmol
10.000	9,8 g, 33 mmol
20.000	19,8 g, 67,5 mmol
40.000	39,7 g, 135 mmol

- 30 La mezcla de reacción se vuelve inmediatamente de color verde oscuro y progresivamente más viscosa. Un aumento de temperatura de aproximadamente 2-4 °C indica típicamente que se está produciendo la polimerización. Después de que se complete la reacción, el homopolímero resultante que lleva un grupo carboxilo reactivo libre puede precipitarse mediante la adición de THF, redisolverse en agua, y someterse a cromatografía en una columna de gel de sílice para eliminar el catalizador de ATRP residual. Como alternativa, cuando es deseable acoplar el producto homopolimérico, la conjugación del producto homopolimérico puede realizarse sin precipitación de THF y cromatografía como se describe a continuación.

b. *Reacciones de conjugación.*

- 40 La conjugación del producto homopolimérico preparado como anteriormente en la parte 2a con un agente biológicamente activo a través del ácido carboxílico del grupo de ácido propiónico derivado del iniciador de ácido 3-bromopropiónico puede realizarse mediante el uso de un agente deshidratante adecuado, incluyendo, pero sin limitación, clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), con o sin la formación de un intermedio de éster N-hidroxisuccinimida (NHS).

- 45 Los productos homopoliméricos que contienen carboxilo activados con EDC o productos homopoliméricos que contienen ésteres de NHS se pueden preparar mediante la adición de un agente tamponante (por ejemplo, HEPES) para ajustar el pH de una solución acuosa del producto de polímero homopolimérico que contiene carboxilo descrito en 2a a aproximadamente pH 7,2. Se introduce EDC (de aproximadamente 0,95 a aproximadamente 0,98 mmol por cada 1 mmol de polímero que contiene carboxilo) para formar un ácido carboxílico activado por EDC. Cuando se considere deseable formar un éster de NHS, se añaden 1,1 mmoles de N-hidroxisuccinimida por mmol del polímero que contiene carboxilo después de la adición de EDC. Después de la formación, los ésteres de NHS pueden aislarse para su posterior uso, ya sea por liofilización de la precipitación con un disolvente adecuado (por ejemplo, THF)

seguido de liofilización del precipitado. Dado que los ésteres de NHS son generalmente más estables a la hidrólisis a pH 5-6, donde se debe aislar el éster de NHS, generalmente es deseable reducir el pH antes de la precipitación y/o liofilización del éster de NHS, que se realiza en una columna de desalación equilibrada en un tampón de pH 4-pH 5.

- 5 Los conjugados de agentes biológicamente activos que llevan una amina primaria (incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona de crecimiento humana e imiglucerasa) con un producto polimérico que lleva un ácido carboxílico activado por EDC o un éster de NHS, se pueden realizar en un tampón adecuado tal como HEPES a pH 5-8 preferiblemente a aproximadamente pH 7,0. Para la reacción, se introduce un pequeño exceso del agente biológicamente activo (por ejemplo, 1,1 mmol del agente por mmol del material polimérico). La reacción se puede realizar a temperatura ambiente, sin embargo, típicamente se prefiere la reacción durante una noche (12 horas) en hielo. Cuando el agente biológicamente activo tiene más de una amina reactiva, puede ser preferible introducir el polímero que lleva ácido carboxílico activado en un exceso del agente biológicamente activo para limitar la formación de moléculas que tienen más de un grupo de polímero asociado con un único agente biológicamente activo.

15 *Preparación de conjugados de proteína/polipéptido poli-HEMA-PC empleando ácido 3-bromopropiónico como un iniciador.*

Peso molecular promedio de la porción polimérica del conjugado (Daltons)	Agente activo biológicamente conjugado
1.000	eritropoyetina
2.000	eritropoyetina
5.000	eritropoyetina
10.000	eritropoyetina
20.000	eritropoyetina
40.000	eritropoyetina
1.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
2.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
5.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
10.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
20.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
40.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
1.000	interferón alfa
2.000	interferón alfa
5.000	interferón alfa
10.000	interferón alfa
20.000	interferón alfa
40.000	interferón alfa
1.000	interferón beta interferón beta
2.000	interferón beta
5.000	interferón beta
10.000	interferón beta
20.000	interferón beta
40.000	interferón beta
1.000	hormona del crecimiento humano
2.000	hormona del crecimiento humano

Peso molecular promedio de la porción polimérica del conjugado (Daltons)	Agente activo biológicamente conjugado
5.000	hormona del crecimiento humano
10.000	hormona del crecimiento humano
20.000	hormona del crecimiento humano
40.000	hormona del crecimiento humano
1.000	imiglucerasa
2.000	imiglucerasa
5.000	imiglucerasa
10.000	imiglucerasa
20.000	imiglucerasa
40.000	imiglucerasa

También se pueden preparar conjugados de agentes biológicamente activos que llevan un grupo hidroxilo o grupos sulfhidrilo. La reacción de un agente biológicamente activo que lleva un grupo hidroxilo o un grupo sulfhidrilo con un producto polimérico que contiene un ácido carboxílico activado con EDC formará un conjugado covalente que tiene el agente biológicamente activo unido al grupo polimérico mediante un enlace éster o un enlace tioéster, respectivamente.

La preparación de conjugados de poli-HEMA-PC y agentes biológicamente activos en algunos casos se puede realizar en "reacciones de una única etapa". En este ejemplo, la reacción de ATRP puede realizarse en una solución acuosa seguida de la adición de un tampón adecuado (por ejemplo, HEPES) y un agente deshidratante soluble en agua (EDC) para formar un polímero de poli-HEMA-PC que lleva un ácido carboxílico activado. La adición posterior de un agente biológicamente activo que lleva una amina primaria al polímero activado forma un conjugado con el polímero mediante un enlace amida. *c. Purificación y determinación del peso molecular.*

Los conjugados preparados como en la sección 2b se someten a cromatografía en Superdex 75 en solución salina normal (0,9 g de NaCl por 100 ml) o en una solución salina tamponada con fosfato (PBS), cualquiera de los cuales son excipientes farmacéuticamente aceptables. El peso molecular se determina por el volumen de elución contra los estándares de calibración disponibles de los proveedores comerciales incluidos. En lugar de la cromatografía, puede emplearse diálisis para eliminar contaminantes no deseados de bajo peso molecular.

*Ejemplo 22. Preparación de conjugados de poli-HEMA-PC a través de ATRP empleando un N-hidroxisuccinimida éster como iniciador.*

*a. Preparación de iniciadores de N-hidroxisuccinimida éster.*

Pueden adquirirse N-hidroxisuccinimida ésteres (ésteres de NHS) o prepararse a partir de los ácidos carboxílicos halogenados correspondientes haciendo reaccionar una solución acuosa del ácido carboxílico con un agente deshidratante, tal como EDC seguido de la adición de N-hidroxisuccinimida. El iniciador N-hidroxisuccinimida éster del ácido bromoacético, que está disponible en el mercado en Sigma-Aldrich, también puede prepararse por reacción de una solución acuosa de ácido bromoacético con EDC seguido de la adición de N-hidroxisuccinimida.

*b. Reacciones de ATRP empleando ésteres de NHS.*

Los ésteres de NHS de ácidos carboxílicos, por ejemplo, ácidos alquil carboxílicos, que llevan uno o más átomos de bromo, cloro o yodo se pueden emplear como iniciadores en reacciones de ATRP siempre que no contengan grupos químicos que interfieran con la reacción de polimerización. Por la reacción, la polimerización de fosfato de 2-metacrililoiloxietil-2'-(trimetilamonio)etilo puede realizarse empleando N-hidroxisuccinimida éster del ácido bromoacético como iniciador de polimerización por radicales de transferencia de átomos (ATRP). El iniciador (1 mmol) se disuelve en suficiente agua desionizada destilada que se ha enfriado sobre hielo (aproximadamente 15 ml) en un matraz de reacción sellado equipado con un aparato de agitación. Después de purgar el matraz con nitrógeno, se añaden el catalizador de Cu(I)Br (1,4 mg, 1,0 mmol) y ligando de bipyridina (bpy) (320 mg, 2,0 mmol) y la solución se agita en una atmósfera de nitrógeno. Inmediatamente antes de su uso, el monómero, fosfato de 2-metacrililoiloxietil-2'-trimetilamonioetilo se diluye en suficiente agua y el pH se ajusta a aproximadamente pH 4,5 con HCl o NaOH según sea necesario. La solución de monómero se enfría en hielo y se añade a la mezcla de reacción, que se agita en una atmósfera de nitrógeno. El peso molecular del producto deseado determina la cantidad de monómero empleado como se indica en el ejemplo anterior.

Después de la adición del monómero, la mezcla de reacción se vuelve de color verde oscuro y progresivamente más viscosa. Un aumento de temperatura de aproximadamente 2-4 °C indica que se está produciendo la polimerización. Mientras que las reacciones se realizan típicamente en hielo, para algunas combinaciones monoméricas y de iniciador puede ser necesario elevar la temperatura ligeramente o incluso calentar la mezcla a temperatura ambiente durante hasta 10 minutos. Después de que se completa la reacción, la mezcla de reacción se enfría en hielo.

*c. Reacciones de conjugación.*

Después de la reacción de polimerización en la parte b, el producto puede hacerse reaccionar con una amina que contiene un agente biológicamente activo para formar un conjugado que tiene la porción polimérica del conjugado unida al agente biológicamente activo mediante un enlace amida. Cuando el agente biológicamente activo es estable a pH 4 a pH 5, puede añadirse a la mezcla de reacción antes de ajustar el pH en el intervalo de aproximadamente pH 7,0 a aproximadamente pH 7,5 mediante la adición de una base diluida (por ejemplo, solución de NaOH) o un tampón adecuado, manteniendo así el éster de NHS en el intervalo de estabilidad máxima hasta que el agente activo esté presente para la conjugación. Como alternativa, la mezcla de reacción de 3b puede ajustarse en el intervalo de aproximadamente pH 7,0 a aproximadamente pH 7,5 y luego el agente biológicamente activo se añade inmediatamente a la mezcla de reacción. Tras la incubación suficiente para que el agente biológicamente activo se acople al agente polimérico, la mezcla de reacción se somete a cromatografía en Superdex para separar el producto deseado de contaminantes de molécula pequeña (por ejemplo, monómeros no polimerizados, catalizador y bipyridina) y el agente biológicamente activo sin reaccionar. Cuando el agente biológicamente activo es de masa suficiente, los compuestos de polímero que no están acoplados al agente biológicamente activo también se pueden separar del agente biológicamente activo conjugado. Además, la cromatografía de intercambio iónico puede usarse para separar agentes biológicamente activos conjugados, tales como conjugados poliméricos de proteínas y polipéptidos, a partir de agentes biológicamente activos no conjugados y compuestos poliméricos que no están acoplados a un agente biológicamente activo.

*Preparación de conjugados de proteína/polipéptido poli-HEMA-PC empleando ésteres de NHS del ácido 3-bromoacético como un iniciador.*

Peso molecular promedio de la porción polimérica del conjugado (Daltons)	Agente activo biológicamente conjugado
1.000	eritropoyetina
2.000	eritropoyetina
5.000	eritropoyetina
10.000	eritropoyetina
20.000	eritropoyetina
40.000	eritropoyetina
1.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
2.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
5.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
10.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
20.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
40.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
1.000	interferón alfa
2.000	interferón alfa
5.000	interferón alfa
10.000	interferón alfa
20.000	interferón alfa
40.000	interferón alfa
1.000	interferón beta interferón beta

Peso molecular promedio de la porción polimérica del conjugado (Daltons)	Agente activo biológicamente conjugado
2.000	interferón beta
5.000	interferón beta
10.000	interferón beta
20.000	interferón beta
40.000	interferón beta
1.000	hormona del crecimiento humano
2.000	hormona del crecimiento humano
5.000	hormona del crecimiento humano
10.000	hormona del crecimiento humano
20.000	hormona del crecimiento humano
40.000	hormona del crecimiento humano
1.000	imigluclerasa
2.000	imigluclerasa
5.000	imigluclerasa
10.000	imigluclerasa
20.000	imigluclerasa
40.000	imigluclerasa

**Ejemplo 23.** Preparación de conjugados lineales de poli-HEMA-PC a través de ATRP empleando 3-bromopropionaldehído dimetilacetal como iniciador.

5 a. Reacción de polimerización y desprotección del aldehído.

La polimerización de fosfato de 2-metacrililoietil-2'-(trimetilamonio)etilo en agua se realiza empleando una reacción ATRP como se expone en el Ejemplo 21, parte 2a sustituyendo 3-bromopropionaldehído dimetilacetal como iniciador en lugar de ácido 3-bromopropiónico. Como con los productos en el ejemplo 2, la relación de monómero con respecto a iniciador empleado determinará el peso molecular del producto, y los productos con pesos moleculares de 1.000, 2.000, 5.000, 10.000, 20.000, y 40.000, se preparan empleando relaciones de monómero-iniciador adecuadas. Una vez completada la reacción de polimerización, el dimetilacetilo se puede convertir en un aldehído por exposición a un ácido acuoso (por ejemplo, HCl acuoso o ácido acético). Cuando sea necesario, los monómeros no utilizados y otros reactivos de reacción de polimerización se pueden eliminar de los productos poliméricos que llevan aldehído en una columna de gel de desalación o mediante cromatografía, por ejemplo, en Superdex. Cuando el aldehído se va a acoplar a una amina, los medios cromatográficos se pueden equilibrar con un tampón adecuado tal como tampón borato a pH 9,5.

20 b. Reacciones de conjugación.

Los productos que llevan aldehído de 4a pueden hacerse reaccionar con una amina primaria que contiene agentes biológicamente activos para formar un enlace imina. Las aminas primarias que contienen agentes biológicamente activos, incluyen polipéptidos y proteínas que contienen un grupo amino accesible en un aminoácido de origen natural, o aquellos en los que se ha introducido una amina primaria con el fin de acoplarlos al agente polimérico. La formación de enlace de imina se realiza en tampón de borato a pH 9,5 o en otras condiciones de formación de enlace imina adecuadas. Las proteínas o polipéptidos, incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano, e imigluclerasa, pueden hacerse reaccionar con polímeros que contienen aldehídos de cualquier peso molecular expuestos en 4a para formar conjugados que tienen enlaces hidrolíticamente susceptibles. Cuando sea deseable, la imina puede reducirse en una amina para evitar la hidrólisis de ese enlace conjugado.

**Ejemplo 24.** Preparación de conjugados lineales de poli-HEMA-PC empleando conjugación de maleimida de agentes biológicamente activos que contienen sulfhidrilo.

35 a. Reacciones de polimerización.

La polimerización de fosfato de 2-metacrililoietil-2'-(trimetilamonio)etilo en agua se realiza empleando una reacción ATRP como se expone en el Ejemplo 21, parte 2a, sustituyendo 3-bromopropanamina como iniciador en lugar de ácido 3-bromopropiónico. Como con los productos en el ejemplo 21, la relación de monómero con respecto a iniciador empleado determinará el peso molecular del producto, y los productos con pesos moleculares de 1.000, 2.000, 5.000, 10.000, 20.000, o 40.000, se preparan empleando relaciones de monómero-iniciador adecuadas. Tras finalizar la reacción de polimerización, los reactivos de la reacción de polimerización (por ejemplo, catalizador, ligando, monómeros no polimerizados) pueden eliminarse de los productos poliméricos que contienen aldehído en una columna de gel de desalación o mediante cromatografía, por ejemplo, en Superdex. Cuando el producto polimérico que contiene aminas se va a acoplar a una funcionalidad maleimidilo a través del uso de un agente bifuncional que contiene un éster de NHS, los medios cromatográficos se pueden equilibrar con un tampón adecuado tal como fosfato, bicarbonato/carbonato HEPES o tampones borato que tengan un pH de aproximadamente pH 7 a aproximadamente pH 9.

*b. Introducción de una funcionalidad maleimida a través del uso de un agente bifuncional.*

Los productos poliméricos que contienen amina de cualquier peso molecular preparados en 5a se suspenden en tampón de fosfato 50 mM a pH 7,5 y se enfrían a 4 °C. Se introduce un exceso molar 1,2 de 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de sulfo-succinimidilo (Sulfo-SMCC, disponible en Pierce) y la reacción se deja continuar durante 8 horas a 4 °C. Como alternativa, la reacción puede iniciarse a 4 °C y agitarse durante 1-2 horas a esa temperatura y luego se calienta gradualmente a temperatura ambiente. La reacción puede ir seguida de la liberación de N-hidroxisuccinimida a 260 nm.

Una vez preparados, los polímeros que llevan maleimida pueden hacerse reaccionar inmediatamente con agentes biológicamente activos que contienen sulfhidrilo. Opcionalmente, los productos se pueden preparar para su uso posterior mediante precipitación con un disolvente orgánico tal como tetrahidrofurano (THF) y liofilización o se someten a purificación por diálisis o cromatografía en un gel de desalación (por ejemplo, Biogel P6DG) y liofilización.

*c. Conjugación con agentes biológicamente activos que llevan sulfhidrilo.*

Los productos que llevan maleimida de cualquier peso molecular a partir de 5b pueden hacerse reaccionar con agentes biológicamente activos que contienen sulfhidrilo para formar un enlace imina. Los agentes biológicamente activos que contienen sulfhidrilo, incluidos polipéptidos y proteínas que contienen residuos de cisteína, y aquellos en los que se han introducido cisteínas con el fin de formar conjugados, incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano, e imiglicerasa. Cuando sea necesario o deseable, los grupos sulfhidrilo pueden introducirse durante la preparación de proteínas o polipéptidos por medios químicos o bioquímicos que pueden introducir cisteína u otros aminoácidos que contienen sulfhidrilo, o como alternativa, por modificación química posterior con agentes que introducen grupos sulfhidrilo (por ejemplo, 2-iminotiolano).

Se pueden introducir agentes biológicamente activos que llevan un grupo sulfhidrilo en la mezcla de reacción preparada en 5b después de la reacción del agente bifuncional Sulfo-SMCC con el polímero que lleva la amina preparado en 5a. Como alternativa, cuando un agente biológicamente activo que lleva sulfhidrilo no contiene ni aminas primarias interferentes ni otros grupos que puedan reaccionar con el éster de NHS de Sulfo-SMCC, el agente biológicamente activo puede introducirse en la mezcla de reacción antes, o simultáneamente con, el Sulfo-SMCC como acoplamiento selectivo tanto al éster de NHS para una amina como maleimida para un sulfhidrilo se producirá en condiciones similares (por ejemplo, un pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,5).

*d. Purificación y determinación del peso molecular.*

Como se describe en el Ejemplo 21, parte 2c, los conjugados se pueden purificar y se puede determinar su peso molecular por medios cromatográficos. La cromatografía de los conjugados preparados en 5b se realiza en Superdex 75 o Superdex Peptide en solución salina normal o solución salina tamponada con fosfato (PBS), y el peso molecular se determina contra patrones de calibración de cromatografía.

Ejemplo 25. Preparación de conjugados ramificados de poli-HEMA-PC a través de ATRP empleando ácido 2,3-dibromopropiónico como un iniciador.

*a. Reacciones de polimerización.*

La polimerización de fosfato de 2-metacrililoietil-2'-(trimetilamonio)etilo en agua se realiza empleando una reacción ATRP como se expone en el Ejemplo 21, parte 2a, sustituyendo 2,3-dibromopropionaldehído dimetilacetal (1 mmol, 271 mg) como un iniciador en lugar de ácido 3-bromopropiónico para formar un compuesto polimérico ramificado de 2 brazos. Como se analiza en el Ejemplo 21, el peso molecular del producto deseado determina la cantidad de monómero empleado como se indica en la tabla a continuación.

Peso molecular promedio (Daltons)	Cantidad de fosfato de 2-metacrililoxiethyl-2'-(trimetilamonio)etilo (calculada para la sal interna)
5.000	4,7 g, 16,1 mmol
10.000	9,7 g, 33,1 mmol
20.000	19,7 g, 67,1 mmol
40.000	39,7 g, 135 mmol

*b. Reacciones de conjugación.*

- 5 La conjugación del producto homopolimérico ramificado preparado como en la parte a con un agente biológicamente activo a través del ácido carboxílico del grupo de ácido propiónico derivado del iniciador de ácido 2,3-dibromopropiónico se puede realizar mediante el uso de un agente deshidratante/activador de ácido carboxílico adecuado (por ejemplo, EDC) o a través de la formación de un éster de N-hidroxisuccinimida (NHS) intermedio como se describe en el Ejemplo 21, parte b. Después de la formación, los ésteres de NHS pueden hacerse reaccionar
- 10 inmediatamente con un agente biológicamente activo que lleva una amina primaria o aislarse para su uso posterior mediante liofilización o precipitación con un disolvente adecuado (por ejemplo, THF) seguido de liofilización del precipitado como se analiza en el Ejemplo 21, parte b.

- 15 Los conjugados de agentes biológicamente activos que llevan una amina primaria (incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona de crecimiento humana e imiglucerasa) con los productos poliméricos ramificados que llevan un ácido carboxílico activado por EDC o un éster de NHS se preparan en un tampón adecuado tal como HEPES a pH 5-8 preferiblemente a aproximadamente pH 7,0 como se describe en el Ejemplo 21, parte b.

- 20 *Preparación de conjugados de proteína/polipéptido poli-HEMA-PC empleando 2,3-dibromopropionaldehído dimetilacetal como iniciador.*

Peso molecular promedio de la porción polimérica del conjugado (Daltons)	Agente activo biológicamente conjugado
5.000	eritropoyetina
10.000	eritropoyetina
20.000	eritropoyetina
40.000	eritropoyetina
5.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
10.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
20.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
40.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
5.000	interferón alfa
10.000	interferón alfa
20.000	interferón alfa
40.000	interferón alfa
5.000	interferón beta
10.000	interferón beta
20.000	interferón beta
40.000	interferón beta
5.000	hormona del crecimiento humano
10.000	hormona del crecimiento humano



Peso molecular promedio de la porción polimérica del conjugado (Daltons)	Agente activo biológicamente conjugado
20.000	hormona del crecimiento humano
40.000	hormona del crecimiento humano
5.000	imiglucerasa
10.000	imiglucerasa
20.000	imiglucerasa
40.000	imiglucerasa

Como se describe en el Ejemplo 21, parte b, también se pueden preparar conjugados de agentes biológicamente activos que llevan un grupo hidroxilo o un grupo sulfhidrilo. La reacción de un agente biológicamente activo que lleva un grupo hidroxilo o un grupo sulfhidrilo con un producto polimérico ramificado que lleva un ácido carboxílico activado (por ejemplo, un carboxilo activado con EDC) formará un conjugado covalente que tiene el agente biológicamente activo unido al grupo polimérico mediante un enlace éster o un enlace tioéster, respectivamente.

La preparación de conjugados ramificados de poli-HEMA-PC y biológicamente activos mediante "reacciones de un solo paso" también es posible con polímeros de cadena ramificada. c. Purificación y determinación del peso molecular.

La purificación y la determinación del peso molecular se realizan como se describe en el Ejemplo 21, parte c.

Ejemplo 26. Preparación de conjugados ramificados de poli-HEMA-PC a través de ATRP empleando 3-bromopropionaldehído dimetilacetal como iniciador.

*a. Reacción de polimerización y desprotección del aldehído.*

La polimerización de fosfato de 2-metacrilolioxietil-2'-(trimetilamonio)etilo en agua se realiza empleando una reacción ATRP como se expone en el Ejemplo 21, parte a sustituyendo 2,3-dicloropropionaldehído o su dimetilacetal (1 mmol) como un iniciador en lugar de ácido 3-bromopropiónico para formar un compuesto polimérico ramificado de 2 brazos. Como con los productos poliméricos ramificados en el ejemplo 25, la relación de monómero con respecto a iniciador empleado determinará el peso molecular del producto, y los productos con pesos moleculares de 5.000, 10.000, 20.000, y 40.000, se preparan empleando relaciones de monómero-iniciador adecuadas. Tras finalizar la reacción de polimerización, si se ha empleado el dimetil acetal, el grupo dimetilacetilo se convierte en un aldehído mediante exposición a ácido acuoso (por ejemplo, HCl acuoso o ácido acético). Los monómeros no utilizados y otros reactivos de reacción de polimerización que incluyen el catalizador se pueden eliminar de los productos de polímero que contienen aldehído mediante diálisis, o mediante columna de gel de desalinización por cromatografía o Superdex. Cuando el aldehído se va a acoplar a una amina, los medios cromatográficos se pueden equilibrar con un tampón adecuado tal como tampón borato a pH 9,5.

*b. Reacciones de conjugación.*

Los conjugados de agentes biológicamente activos que llevan una amina primaria (incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona de crecimiento humana e imiglucerasa) se forman con los productos poliméricos ramificados de cualquier peso molecular preparado en la parte a. Los productos poliméricos ramificados que llevan aldehído de la parte a se hacen reaccionar con los agentes biológicamente activos que contienen amina primaria para formar un enlace imina como se describe en el Ejemplo 23, parte a. Cuando sea deseable, la imina puede reducirse en una amina para evitar la hidrólisis de ese enlace conjugado como se describe en el Ejemplo 23, parte b.

*c. Purificación y determinación del peso molecular.*

Las determinaciones del peso molecular y la purificación, particularmente cuando el enlace de la imina se ha reducido en una amina con un reactivo de borohidruro, se realizan como se describe en el Ejemplo 21, parte c.

Ejemplo 27. Preparación de conjugados ramificados de poli-HEMA-PC empleando conjugación de maleimida de agentes biológicamente activos que contienen sulfhidrilo.

La polimerización de fosfato de 2-metacrilolioxietil-2'-(trimetilamonio)etilo en agua se realiza empleando una reacción ATRP como se expone en el Ejemplo 24, parte a, sustituyendo 1,3-dibromo-2-propanamina como un iniciador en lugar de ácido 3-bromopropiónico para preparar un polímero ramificado de dos brazos. Como con los productos en los ejemplos 21 y 24, la relación de monómero con respecto a iniciador empleado determinará el peso molecular del

producto, y los productos con pesos moleculares de 5.000, 10.000, 20.000, o 40.000, se preparan empleando relaciones de monómero-iniciador adecuadas. Las funcionalidades de maleimida se pueden introducir en el compuesto polimérico de cadena ramificada para formar compuestos poliméricos que contienen maleimida de cadena ramificada a través del uso de agentes bifuncionales (por ejemplo, Sulfo-SMCC) como se describe en la Parte b del Ejemplo 24. Los compuestos poliméricos que contienen maleimida de cadena ramificada pueden prepararse para más adelante como se describe en la parte 5b. Como alternativa, una vez preparados, los compuestos poliméricos que contienen maleimida de cadena ramificada pueden hacerse reaccionar con agentes biológicamente activos que contienen sulfhidrilo para formar conjugados. Los conjugados de agentes biológicamente activos que llevan un sulfhidrilo (incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano e imiglucerasa) con compuestos poliméricos que contienen maleimida de cadena ramificada de 5.000, 10.000, 20.000 o 40.000 Dalton se preparan como se describe en el Ejemplo 24, partes c y d.

**Ejemplo 28.** Preparación de conjugados bifurcados de poli-HEMA-PC a través de ATRP empleando ácido DL-bromosuccínico como iniciador.

*a. Reacciones de polimerización.*

La polimerización de fosfato de 2-metacrililoiloxietil-2'-(trimetilamonio)etilo en agua se realiza empleando una reacción ATRP como se expone en el Ejemplo 21, parte a, sustituyendo ácido DL-bromosuccínico (ácido bromobutanodioico, Acros Organics) como un iniciador en lugar de ácido 3-bromopropiónico. La reacción forma un producto polimérico dicarboxílico que lleva los grupos carboxilo en el grupo ácido succínico derivado del iniciador. El peso molecular del producto deseado determina la cantidad de monómero empleado, y las moléculas poliméricas que tienen un peso molecular medio de 1.000, 2.000, 5.000, 10.000, 20.000, y 40.000 Daltons se preparan usando relaciones de monómero-iniciador adecuadas.

*b. Reacciones de conjugación.*

La conjugación del producto polimérico dicarboxílico preparado como en la parte a con un agente biológicamente activo a través de los grupos de ácido carboxílico se realiza mediante el uso de un agente de deshidratación/activador de ácido carboxílico (por ejemplo, EDC) o a través de la formación de un éster de N-hidroxisuccinimida (NHS) intermedio como se describe en el Ejemplo 21 parte b, ajustando la cantidad de reactivos para tener en cuenta los 2 moles de funcionalidades carboxilo presentes por mol de producto polimérico dicarboxílico. Cuando se preparan ésteres de NHS, se pueden hacer reaccionar inmediatamente con un agente biológicamente activo que lleva una amina primaria o se pueden aislar para su uso posterior mediante liofilización o precipitación con un disolvente adecuado (por ejemplo, THF) seguido de liofilización del precipitado como se analiza en el Ejemplo 21, parte b.

Los conjugados de agentes biológicamente activos que llevan una amina primaria (incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona de crecimiento humana e imiglucerasa) con el producto polimérico dicarboxílico que lleva un ácido carboxílico activado por EDC o grupos de éster de NHS se preparan en un tampón adecuado tal como HEPES a pH 5-8 preferiblemente a aproximadamente pH 7,0 como se describe en el Ejemplo 21, parte b.

Preparación de conjugados de proteína/polipéptido bifurcados poli-HEMA-PC empleando ácido DL-bromosuccínico como un iniciador.

Peso molecular promedio de la porción polimérica del conjugado (Daltons)	Agente activo biológicamente conjugado
5.000	eritropoyetina
10.000	eritropoyetina
20.000	eritropoyetina
40.000	eritropoyetina
5.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
10.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
20.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
40.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
5.000	interferón alfa

Peso molecular promedio de la porción polimérica del conjugado (Daltons)	Agente activo biológicamente conjugado
10.000	interferón alfa
20.000	interferón alfa
40.000	interferón alfa
5.000	interferón beta
10.000	interferón beta
20.000	interferón beta
40.000	interferón beta
5.000	hormona del crecimiento humano
10.000	hormona del crecimiento humano
20.000	hormona del crecimiento humano
40.000	hormona del crecimiento humano
5.000	imiglucerasa
10.000	imiglucerasa
20.000	imiglucerasa
40.000	imiglucerasa

5 Como se describe en la parte 2b, también se pueden preparar conjugados de agentes biológicamente activos que llevan un grupo hidroxilo o un grupo sulfhidrilo. La reacción de un agente biológicamente activo que lleva un grupo hidroxilo o un grupo sulfhidrilo con un producto polimérico ramificado que lleva un grupo ácido carboxílico activado (por ejemplo, carboxilos activados por EDC) formará conjugados covalentes bifurcados que tienen los agentes biológicamente activos unidos al grupo polimérico por enlaces éster o enlaces tioéster, respectivamente.

10 La preparación de conjugados bifurcados de poli-HEMA-PC y agentes biológicamente activos mediante "reacciones de un solo paso" también es posible con los productos poliméricos dicarboxílicos preparados como en la parte a. c. *Purificación y determinación del peso molecular.*

La purificación y la determinación del peso molecular se realizan como se describe en el Ejemplo 21, parte c.

15 **Ejemplo 29.** *Preparación de conjugados ramificados de poli-HEMA-PC a través de ATRP empleando 2-cloroglutaraldehído como iniciador.*

*a. Reacción de polimerización y desprotección del aldehído.*

20 La polimerización de fosfato de 2-metacrililoietil-2'-(trimetilamonio)etilo en agua se realiza empleando una reacción ATRP como se expone en el Ejemplo 21, parte 2a sustituyendo 2-cloroglutaraldehído (véase la patente de Estados Unidos 6.703.528) o su dimetilacetal como iniciador en lugar de ácido 3-bromopropiónico. Como con los productos poliméricos en el ejemplo 21, la relación de monómero-iniciador empleada determinará el peso molecular del producto polimérico que lleva dialdehído. Los productos poliméricos de dialdehído con pesos moleculares de 1.000, 2.000, 5.000, 10.000, 20.000, y 40.000 se preparan empleando relaciones de monómero-iniciador adecuadas. Tras  
25 finalizar la reacción de polimerización, si se ha empleado el dimetil acetal, el grupo dimetilacetilo se convierte en un aldehído mediante exposición a ácido acuoso (por ejemplo, HCl acuoso o ácido acético). Los monómeros no utilizados y otros reactivos de reacción de polimerización que incluyen el catalizador se pueden eliminar del producto polimérico de dialdehído mediante diálisis, o mediante columna de gel de desalinización por cromatografía o Superdex. Cuando un producto polimérico de dialdehído se va a acoplar a una amina, los medios cromatográficos se  
30 pueden equilibrar con un tampón adecuado tal como tampón borato a pH 9,5.

*b. Reacciones de conjugación.*

35 Los conjugados de agentes biológicamente activos que llevan una amina primaria (incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona de crecimiento humana e imiglucerasa) se forman con los productos poliméricos de dialdehído de cualquier peso molecular preparado en la parte a. Los productos poliméricos de dialdehído de la parte a se hacen reaccionar con los agentes biológicamente activos que contienen amina primaria para formar enlaces imina como se describe en el Ejemplo 23, parte a ajustando los dos moles de aldehído por mol de producto polimérico de dialdehído. Cuando sea deseable,

los enlaces imina pueden reducirse en una amina para evitar la hidrólisis de ese enlace conjugado como se describe en el Ejemplo 23, parte b.

*c. Purificación y determinación del peso molecular.*

5 Las determinaciones del peso molecular y la purificación, particularmente cuando el enlace de la imina se ha reducido en aminas con un reactivo de borohidruro, se realizan como se describe en el Ejemplo 21, parte c.

10 **Ejemplo 30.** *Preparación de conjugados bifurcados de poli-HEMA-PC empleando conjugación de maleimida de agentes biológicamente activos que contienen sulfhidrilo.*

15 La polimerización de fosfato de 2-metacrililoietil-2'-(trimetilamonio)etilo en agua se realiza empleando una reacción ATRP como se expone en el Ejemplo 21, parte a, sustituyendo 1,3-diamino-2-bromopropano como un iniciador en lugar de ácido 3-bromopropiónico para preparar un compuesto bifurcado. Como con los productos en los ejemplos 20 21 y 24, la relación de monómero con respecto a iniciador empleado determinará el peso molecular del producto, y los productos con pesos moleculares de 5.000, 10.000, 20.000, o 40.000, se preparan empleando relaciones de monómero-iniciador adecuadas. Las funcionalidades de maleimida se pueden introducir en los grupos amina mediante el uso de un agente bifuncional (por ejemplo, Sulfo-SMCC) como se describe en el Ejemplo 24 Parte b. Los compuestos poliméricos bifurcados que tienen dos grupos reactivos de maleimida pueden prepararse para más adelante como se describe en el Ejemplo 24, parte b. Como alternativa, una vez preparados, los compuestos poliméricos que contienen maleimida pueden hacerse reaccionar con agentes biológicamente activos que contienen sulfhidrilo para formar conjugados. Los conjugados de agentes biológicamente activos que llevan un sulfhidrilo (incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano e imiglucerasa) con compuestos poliméricos que contienen maleimida de cadena ramificada de 5.000, 10.000, 20.000 o 40.000 Dalton se preparan como se describe en la parte 25 5c y 5d. Los conjugados de fragmentos de anticuerpo FAb<sub>2</sub>, que se pueden reducir con mercaptoetanol o DTT (ditiotretol) para producir un único grupo sulfhidrilo al final de cada uno de los fragmentos de FAb resultantes, se preparan de la misma manera. Los conjugados bifurcados de los fragmentos FAb son particularmente útiles como "construcciones de pseudoanticuerpos".

30 **Ejemplo 31.** *Preparación de conjugados ramificados y bifurcados de poli-HEMA-PC a través de ATRP empleando ácido 2,3-dibromosuccínico como un iniciador.*

*a. Reacciones de polimerización.*

35 La polimerización de fosfato de 2-metacrililoietil-2'-(trimetilamonio)etilo en agua se realiza empleando una reacción ATRP como se expone en el Ejemplo 21, parte 2a sustituyendo ácido 2,3-dibromosuccínico como un iniciador en lugar de ácido 3-bromopropiónico. La reacción forma un producto de ácido dicarboxílico que tiene dos brazos de polímero que llevan los grupos carboxilo en el grupo ácido succínico derivado del iniciador. El peso molecular del producto deseado determina la cantidad de monómero empleado, y se preparan moléculas poliméricas que tienen un peso molecular medio de 5.000, 10.000, 20.000 y 40.000 dalton usando relaciones de monómero-iniciador adecuadas.

*b. Reacciones de conjugación.*

45 La conjugación de los productos de ácido dicarboxílico que tienen dos brazos de polímero preparados como en la parte 12a con un agente biológicamente activo a través de los grupos de ácido carboxílico se realiza mediante el uso de un agente deshidratante/activador de ácido carboxílico (por ejemplo, EDC) o mediante la formación de un éster de N-hidroxisuccinimida intermedio (NHS) como se describe en el Ejemplo 21 parte 2b ajustando la cantidad de reactivos para tener cuenta los 2 moles de funcionalidades carboxilo presentes por mol de producto polimérico dicarboxílico. Cuando se preparan ésteres de NHS, se pueden hacer reaccionar inmediatamente con un agente biológicamente activo que lleva una amina primaria o se pueden aislar para su uso posterior mediante liofilización o precipitación con un disolvente adecuado (por ejemplo, THF) seguido de liofilización del precipitado como se analiza en la parte 2b.

55 Los conjugados de agentes biológicamente activos que llevan una amina primaria (incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona de crecimiento humana e imiglucerasa) con el producto de ácido dicarboxílico que tiene dos brazos de polímero que llevan un ácido carboxílico activado por EDC o grupos de éster de NHS se preparan en un tampón adecuado tal como HEPES a pH 5-8 preferiblemente a aproximadamente pH 7,0 como se describe en el Ejemplo 21, parte b.

60 *Preparación de conjugados de proteína/polipéptido ramificados y bifurcados poli-HEMA-PC empleando ácido 2,3-dibromosuccínico como un iniciador.*

Peso molecular promedio de la porción polimérica del conjugado (Daltons)	Agente activo biológicamente conjugado
5.000	eritropoyetina
10.000	eritropoyetina
20.000	eritropoyetina
40.000	eritropoyetina
5.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
10.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
20.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
40.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
5.000	interferón alfa
10.000	interferón alfa
20.000	interferón alfa
40.000	interferón alfa
5.000	interferón beta
10.000	interferón beta
20.000	interferón beta
40.000	interferón beta
5.000	hormona del crecimiento humano
10.000	hormona del crecimiento humano
20.000	hormona del crecimiento humano
40.000	hormona del crecimiento humano
5.000	imiglucerasa
10.000	imiglucerasa
20.000	imiglucerasa
40.000	imiglucerasa

- 5 Como se describe en la parte 2b, también se pueden preparar conjugados de agentes biológicamente activos que llevan un grupo hidroxilo o un grupo sulfhidrilo. La reacción de un agente biológicamente activo que lleva un grupo hidroxilo o un grupo sulfhidrilo con un producto de ácido dicarboxílico que tiene dos brazos de polímero que llevan un grupo ácido carboxílico activado (por ejemplo, carboxilos activados por EDC) formará conjugados covalentes bifurcados que tienen los agentes biológicamente activos unidos al grupo polimérico de dos brazos por enlaces éster o enlaces tioéster, respectivamente.
- 10 La preparación de conjugados ramificados y bifurcados de poli-HEMA-PC y agentes biológicamente activos mediante "reacciones de un solo paso" también es posible con el producto de ácido dicarboxílico que tiene dos brazos poliméricos preparado como en la parte a. *c. Purificación y determinación del peso molecular.*
- 15 La purificación y la determinación del peso molecular se realizan como se describe en el Ejemplo 21, parte c.
- Ejemplo 32.** *Preparación de conjugados ramificados y bifurcados de poli-HEMA-PC a través de ATRP empleando ácido 3,3-dicloroglutárico como un iniciador.*
- 20 Los conjugados poliméricos ramificados y bifurcados de poli-HEMA-PC a través de ATRP se pueden preparar como en el ejemplo 31 empleando ácido 3,3-dicloroglutárico como iniciador en lugar de ácido dibromosuccínico. Los conjugados de agentes biológicamente activos que llevan una amina primaria (incluyendo, pero sin limitación, eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos, interferón alfa, interferón beta, hormona de crecimiento

humano e imiglucerasa) con el producto de ácido dicarboxílico que tiene dos brazos de polímero de cualquier peso molecular descritos en el Ejemplo 31 pueden formarse.

- 5 *Preparación de conjugados de proteína/polipéptido ramificados y bifurcados poli-HEMA-PC empleando ácido 3,3-dicloroglutarico como un iniciador.*

Peso molecular promedio de la porción polimérica del conjugado (Daltons)	Agente activo biológicamente conjugado
5.000	eritropoyetina
10.000	eritropoyetina
20.000	eritropoyetina
40.000	eritropoyetina
5.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
10.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
20.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
40.000	factor estimulante de colonias de granulocitos
5.000	interferón alfa
10.000	interferón alfa
20.000	interferón alfa
40.000	interferón alfa
5.000	interferón beta
10.000	interferón beta
20.000	interferón beta
40.000	interferón beta
5.000	hormona del crecimiento humano
10.000	hormona del crecimiento humano
20.000	hormona del crecimiento humano
40.000	hormona del crecimiento humano
5.000	imiglucerasa
10.000	imiglucerasa
20.000	imiglucerasa
40.000	imiglucerasa

**Ejemplo 33.** *Conjugados de taxol.*

- 10 Taxol, que lleva dos grupos hidroxilo, se conjuga con los homopolímeros que llevan un grupo carboxilo reactivo libre preparado en el Ejemplo 21, parte 2a de 1.000, 2.000, 5.000, 10.000, 20.000 o 40.000 Daltons.

- 15 El taxol se conjuga con los homopolímeros disueltos en tampón HEPES a aproximadamente pH 7,2 añadiendo de aproximadamente 0,95 a aproximadamente 0,98 mmol de EDC por cada 1 mmol de homopolímero que lleva un grupo carboxilo para formar un grupo carboxilo activado por EDC en el homopolímero. Para evitar tener más de un grupo hidroxilo de taxol conjugado con el homopolímero, el homopolímero activado se añade lentamente con agitación hasta un exceso 1,2 molar del taxol suspendido en tampón HEPES. Cuando se va a preparar una gran cantidad del conjugado de polímero, se pueden preparar pequeñas porciones de homopolímero que tienen un grupo carboxilo activado con EDC y se hacen reaccionar con taxol en secuencia de manera que el grupo carboxilo activado de EDC (un intermedio de o-acilisourea) no se descomponga antes de la suma. La reducción de la temperatura también reduce la velocidad de hidrólisis del grupo carboxilo activado por EDC. A medida que avanza la conjugación, el taxol suspendido se disuelve gradualmente.
- 20

Después de la reacción de conjugación, el producto conjugado de taxol se purifica por cromatografía en Superdex Peptide o Superdex 75 usando una solución salina tamponada con fosfato como fase móvil.

LISTA DE SECUENCIAS

5

<110> oligasis Corporation  
Charles, Stephen A.

10

<120> Conjugados poliméricos que contienen acrililoxietilfosforilcolina y su preparación

<130> NEXGEN

<160> 2

15

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 165

<212> PRT

20

<213> Factor estimulante de colonias de granulocitos humanos

<400> 1

Ala Pro Pro Arg Leu Ile Cys Asp Ser Arg Val Leu Glu Arg Tyr Leu  
1 5 10 15

Leu Glu Ala Lys Glu Ala Glu Asn Ile Thr Thr Gly Cys Ala Glu His  
20 25 30

Cys Ser Leu Asn Glu Asn Ile Thr Val Pro Asp Thr Lys Val Asn Phe  
35 40 45

Tyr Ala Trp Lys Arg Met Glu Val Gly Gln Gln Ala Val Glu Val Trp  
50 55 60

Gln Gly Leu Ala Leu Leu Ser Glu Ala Val Leu Arg Gly Gln Ala Leu  
65 70 75 80

Leu Val Asn Ser Ser Gln Pro Trp Glu Pro Leu Gln Leu His Val Asp  
85 90 95

Lys Ala Val Ser Gly Leu Arg Ser Leu Thr Thr Leu Leu Arg Ala Leu  
100 105 110

Gly Ala Gln Lys Glu Ala Ile Ser Pro Pro Asp Ala Ala Ser Ala Ala  
115 120 125

Pro Leu Arg Thr Ile Thr Ala Asp Thr Phe Arg Lys Leu Phe Arg Val  
130 135 140

Tyr Ser Asn Phe Leu Arg Gly Lys Leu Lys Leu Tyr Thr Gly Glu Ala  
145 150 155 160

Cys Arg Thr Gly Asp  
165

25

<210> 2

<211> 174

ES 2 657 628 T3

<212> PRT

<213> Eritropoyetina humana

<400> 2

5

Thr Pro Leu Gly Pro Ala Ser Ser Leu Pro Gln Ser Phe Leu Leu Lys  
 1 5 10 15

Cys Leu Glu Gln Val Arg Lys Ile Gln Gly Asp Gly Ala Ala Leu Gln  
 20 25 30

Glu Lys Leu Cys Ala Thr Tyr Lys Leu Cys His Pro Glu Glu Leu Val  
 35 40 45

Leu Leu Gly His Ser Leu Gly Ile Pro Trp Ala Pro Leu Ser Ser Cys  
 50 55 60

Pro Ser Gln Ala Leu Gln Leu Ala Gly Cys Leu Ser Gln Leu His Ser  
 65 70 75 80

Gly Leu Phe Leu Tyr Gln Gly Leu Leu Gln Ala Leu Glu Gly Ile Ser  
 85 90 95

Pro Glu Leu Gly Pro Thr Leu Asp Thr Leu Gln Leu Asp Val Ala Asp  
 100 105 110

Phe Ala Thr Thr Ile Trp Gln Gln Met Glu Glu Leu Gly Met Ala Pro  
 115 120 125

Ala Leu Gln Pro Thr Gln Gly Ala Met Pro Ala Phe Ala Ser Ala Phe  
 130 135 140

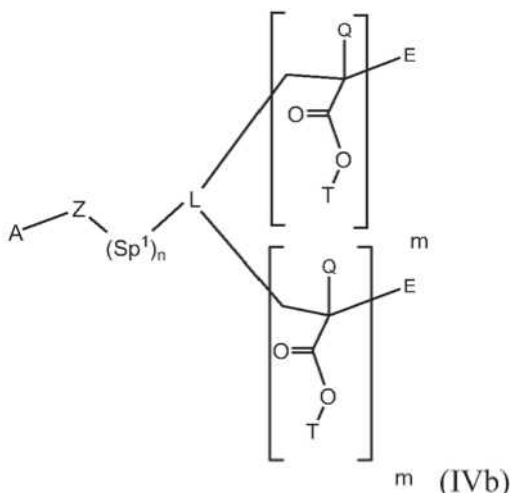
Gln Arg Arg Ala Gly Gly Val Leu Val Ala Ser His Leu Gln Ser Phe  
 145 150 155 160

Leu Glu Val Ser Tyr Arg Val Leu Arg His Leu Ala Gln Pro  
 165 170

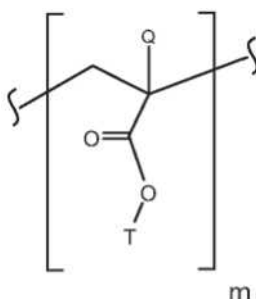


REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende un agente biológicamente activo unido covalentemente a un polímero ramificado que contiene fosforilcolina, en el que el polímero tiene dos o más brazos de polímero que se extienden desde un único grupo, en el que la porción polimérica del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoietil)-2'-(trimetilamonio)etilo].
2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el polímero que contiene fosforilcolina está unido covalentemente a un agente biológicamente activo a través de un grupo de unión y un grupo espaciador opcional.
3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el polímero que contiene fosforilcolina está unido covalentemente al menos a uno de un grupo amino, un grupo hidroxilo, un grupo sulfhidrilo y un grupo carboxilo del agente biológicamente activo.
4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el polímero ramificado tiene 2 brazos de polímero, 3 brazos de polímero, 4 brazos de polímero, 5 brazos de polímero, 6 brazos de polímero, 8 brazos de polímero o más de 8 brazos de polímero.
5. El compuesto de la reivindicación 4, en el que el polímero tiene 3 brazos de polímero o 4 brazos de polímero.
6. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula (IVb),



25 donde las porciones poliméricas:

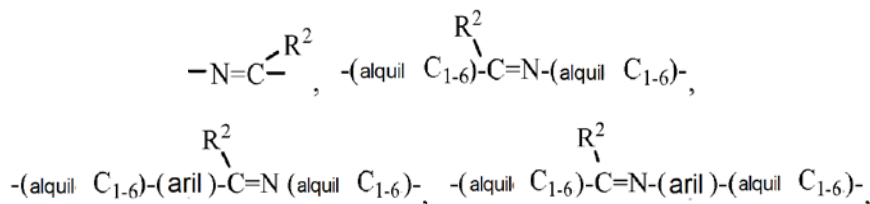


30 del compuesto son poli[fosfato de 2-(metacrililoietil)-2'-(trimetilamonio)etilo];

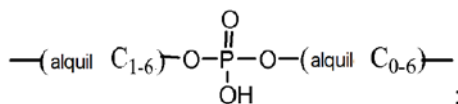
cada aparición de E se selecciona independientemente del grupo que consiste en Br, Cl, I, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo C<sub>1-4</sub>), -N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, -OH, -O-(alquilo C<sub>1-4</sub>), y -O-(alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido con flúor);

Sp<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en: -alquil C<sub>1-12</sub>-, -cicloalquil C<sub>3-12</sub>-, -(alquil C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-(alquil C<sub>0-8</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-, (-CH<sub>2</sub>)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, (-CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, (-CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, (-CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-, (-CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, (-CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-, (-CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-O-(C=O)-, -(fenilo)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-O-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-O- -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil

C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-NH-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -S-(CH<sub>2</sub>)-(C=O)-NH-(fenil)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-N-(alquil C<sub>1-6</sub>)-, acetal, cetal, aciloxialquil éter, -N=CH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(C=O)- (CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-, -S-S-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(fenil)-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-, -O-(alquil C<sub>1-6</sub>)-S(O<sub>2</sub>)-(alquil C<sub>1-6</sub>)-O-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-N=C-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O) -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-(heteroaril)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-fenil-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-,



y



15

n es 0 o 1, en la que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;

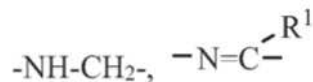
m es un número entero que varía de 2 a 2.000;

L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico;

20

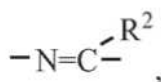
A es un agente biológicamente activo;

Z se selecciona del grupo que consiste en: fosfato, éster de fosfato, -(C=O)O-, éster del ácido carboxílico, tioéster, amida, disulfuro, amina, -NH(R<sup>1</sup>)-, amidina, hidrazona, -N=CH-,



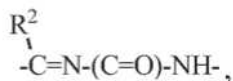
25

, -NH-C(R<sup>1</sup>)H-, -S-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -O-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -C(=O)O-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -NR<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -S-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -O-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -C(=O)O-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -NR<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-,



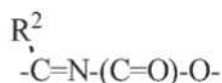
30

-C(R<sup>2</sup>)H-NH-, -(C=O)-NH-(C=O)-NH-,



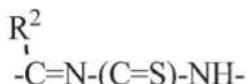
35

-C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=O)-NH-, -(C=O)-NH-(C=O)-O-,

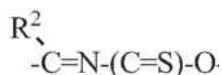


40

, -C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=O)-O-, -(C=O)-NH-(C=S)-NH-,



, -C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=S)-NH-, -(C=O)-NH-(C=S)-O-,



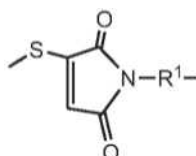
, -C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=S)-O-



5

, -NH-(C=O)-NH-, -O-(C=O)-NH-, -NH-(C=S)-NH-, -O-(C=S)-NH-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)-, -S-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-(C=O)-S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)O-, -S-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-(C=O)O-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)NH-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(piridil)-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-O-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-, y

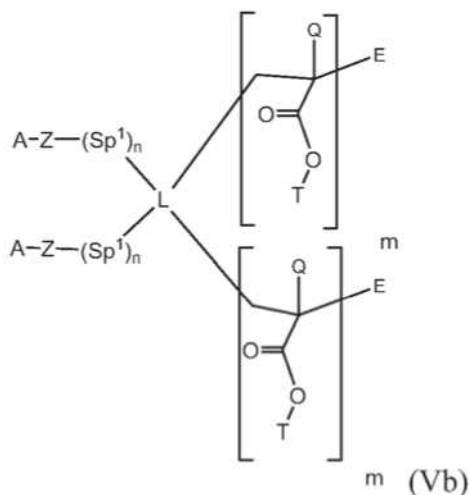
10



R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos; y R<sup>2</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos.

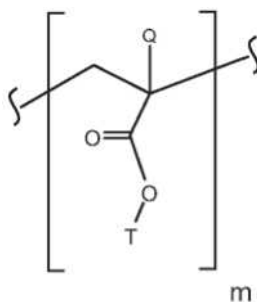
15

7. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula (Vb),



20

donde  
las porciones poliméricas:



25

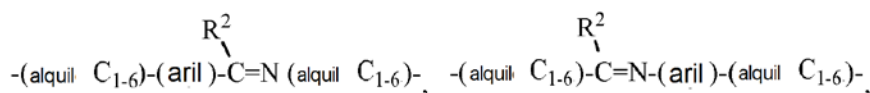
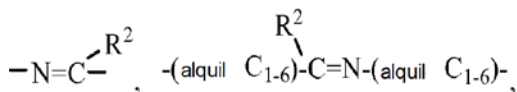
del compuesto son poli[fosfato de 2-(metacrililoioxetil)-2'-(trimetilamonio)etilo];

cada aparición de E se selecciona independientemente del grupo que consiste en Br, Cl, I, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo C<sub>1-4</sub>), -N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, -OH, -O-(alquilo C<sub>1-4</sub>), y -O-(alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido con flúor);

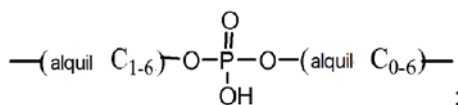
30

Sp<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en: -alquil C<sub>1-12</sub>-, -cicloalquil C<sub>3-12</sub>-, -(alquil C<sub>1-8</sub>)-(cicloalquil C<sub>3-12</sub>)-(alquil C<sub>0-8</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-<sub>1-12</sub>O-, (-

(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>)<sub>1-12</sub>O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-O-(C=O)-, -(fenilo)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-O-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-O--CH(OH)-CH(OH)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(cicloalquil C<sub>5-6</sub>)-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(C=O)-NH-, -S-maleimido-(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(alquil C<sub>0-3</sub>)-, -(alquil C<sub>0-3</sub>)-fenil-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-NH-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-, -(fenil)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-, -S-(CH<sub>2</sub>)-(C=O)-NH-(fenil)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-12</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-N-(alquil C<sub>1-6</sub>)-, acetal, cetal, aciloxialquil éter, -N=CH-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>0-6</sub>)-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-O-, -(alquil C<sub>1-6</sub>)-S-S-(alquil C<sub>1-6</sub>)-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-4</sub>-NH-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-, -S-S-(alquil C<sub>0-3</sub>)-(fenil)-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -S-S-(alquil C<sub>1-3</sub>)-, -(alquil C<sub>1-3</sub>)-(fenil)-(C=O)-NH-, -O-(alquil C<sub>1-6</sub>)-S(O<sub>2</sub>)-(alquil C<sub>1-6</sub>)-O-(C=O)-NH-, -S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-N=C-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-(C=O)-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-5</sub>-(C=O)-NH-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-(heteroaril)-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-fenil-(CH<sub>2</sub>)<sub>0-3</sub>-,



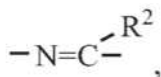
y



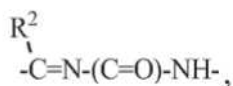
- 20 n es 0 o 1, en la que cuando n es 0, Sp<sup>1</sup> es un enlace;  
 m es un número entero que varía de 2 a 2.000;  
 L se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo, carboxi-alquilo C<sub>1-4</sub>, carboxicicloalquilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>-alquilo C<sub>1-4</sub> y éter alquílico cíclico;  
 A es un agente biológicamente activo;  
 25 Z se selecciona del grupo que consiste en: fosfato, éster de fosfato, -(C=O)O-, éster del ácido carboxílico, tioéster, amida, disulfuro, amina, -NH(R<sup>1</sup>)-, amidina, hidrazona, -N=CH-, -NH-CH<sub>2</sub>-,



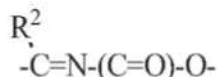
- 30 , -NH-C(R<sup>1</sup>)H-, -S-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -O-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -C(=O)O-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -NR<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>-C(OH)(R<sup>2</sup>)-, -S-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -O-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -C(=O)O-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-, -NR<sup>2</sup>-CH<sub>2</sub>-C(SH)(R<sup>2</sup>)-,



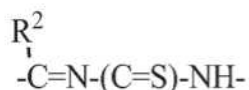
- 35 -C(R<sup>2</sup>)H-NH-, -(C=O)-NH-(C=O)-NH-,



- 40 -C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=O)-NH-, -(C=O)-NH-(C=O)-O-,



- , -C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=O)-O-, -(C=O)-NH-(C=S)-NH-,



, -C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=S)-NH-, -(C=O)-NH-(C=S)-O-,

5



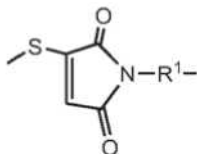
, -C(R<sup>2</sup>)H-NH-(C=S)-O-,

10



, -NH-(C=O)-NH-, -O-(C=O)-NH-, -NH-(C=S)-NH-, -O-(C=S)-NH-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)-, -S-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-(C=O)-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)O-, -S-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-(C=O)O-, -S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(C=O)NH-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(piridil)-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-O-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-NH-, -S-CH<sub>2</sub>-(C=O)-, y

15



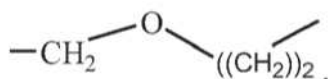
R<sup>1</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos; y R<sup>2</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, o un grupo arilo que tiene 5-8 átomos endocíclicos.

20

8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en el que E es bromo.

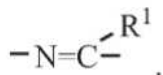
9. El compuesto de la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en el que Sp<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en un enlace y

25



10. El compuesto de la reivindicación 6 o la reivindicación 7 en el que Z se selecciona independientemente del grupo que consiste en -NH-, -N=CH-, -NH-CH<sub>2</sub> - y

30



11. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el polímero que contiene fosforilcolina tiene un peso molecular entre aproximadamente 0,5 kDa y aproximadamente 200 kDa.

35

12. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el polímero que contiene fosforilcolina tiene un peso molecular entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 40 kDa.

40

13. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el polímero que contiene fosforilcolina tiene un peso molecular entre aproximadamente 10 kDa y aproximadamente 20 kDa.

14. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho agente biológicamente activo comprende además un grupo Sp<sup>2</sup>.

45

15. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el agente biológicamente activo es una proteína.

16. El compuesto de la reivindicación 15, en el que el agente biológicamente activo es una proteína terapéutica.
17. El compuesto de la reivindicación 15, en el que la proteína es una proteína humana.
- 5 18. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 17, en el que la proteína humana se obtiene por expresión génica heteróloga en una célula seleccionada del grupo que consiste en una bacteria, una célula de levadura, una célula de mamífero en cultivo, una célula de insecto en cultivo, una célula vegetal en cultivo, una célula aviar en cultivo, una célula de un ave transgénica, una célula de un mamífero transgénico, y una célula de una planta transgénica.
- 10 19. El compuesto de la reivindicación 17, en el que la proteína humana se obtiene por activación génica en una línea celular.
20. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el agente biológicamente activo se selecciona del grupo que consiste en una citocina, una enzima, un anticuerpo y un fragmento de anticuerpo.
- 15 21. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 20, en el que la citocina, la enzima, el anticuerpo y el fragmento de anticuerpo son humanos.
- 20 22. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 20 o 21, en el que la citocina, la enzima y el anticuerpo o fragmento de anticuerpo se obtienen por expresión génica heteróloga en una célula seleccionada del grupo que consiste en una bacteria, una célula de levadura, una célula de mamífero en cultivo, una célula de insecto en cultivo, una célula vegetal en cultivo, una célula aviar en cultivo, una célula de un ave transgénica, una célula de un pollo transgénico, una célula de una codorniz transgénica, una célula de una cabra transgénica, una célula de una vaca transgénica, y una célula de una planta transgénica.
- 25 23. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el agente biológicamente activo se selecciona del grupo que consiste en factor VIII, factor eliminado del dominio b VIII, factor VIIa, factor IX, anticoagulantes; hirudina, alteplasa, tpa, reteplasa, tpa, tpa - 3 de 5 dominios eliminados, insulina, insulina lispro, insulina aspart, insulina glargina, análogos de insulina de acción prolongada, hgh, glucagones, tsh, folitropina-beta, fsh, gm-csf, pdgh, ifn alfa, ifn beta, ifn alfa2, ifn alfa2a, ifn alfa2b, ifn alfa2c, inf-apha1, ifn beta, inf-beta 1b, ifn-beta 1a, ifn-gamma, il-2, il-11, hbsag, ospa, mab murino dirigido contra el antígeno t-linfocito, mab murino dirigido contra tag-72, glucoproteína asociada a tumor, fragmentos fab derivados de mab quimérico dirigido contra el receptor de superficie plaquetaria gpII(b)/III(a), fragmento mab murino dirigido contra el antígeno asociado a tumor ca125, fragmento mab murino dirigido contra el antígeno carcinoembrionario humano, cea, fragmento mab murino dirigido contra miosina cardiaca humana, fragmento mab murino dirigido contra el antígeno de superficie de tumor psma, fragmentos mab murinos (mezcla fab/fab2) dirigido contra hmw-maa, fragmento de mab murino (fab) dirigido contra antígeno asociado a carcinoma, fragmentos mab (fab) dirigidos contra nca 90, un antígeno de reacción cruzada no específica de granulocitos de superficie, mab quimérico dirigido contra el antígeno cd20 encontrado en la superficie de linfocitos b, mab humanizado dirigido contra la cadena alfa del receptor il2, mab quimérico dirigido contra la cadena alfa del receptor il2, mab quimérico dirigido contra tnf-alfa, mab humanizado dirigido contra un epítipo en la superficie del virus sincitial respiratorio, mab humanizado dirigido contra her 2, receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano, mab humano dirigido contra el antígeno asociado a tumor de citoqueratina anti-ctla 4, infliximab gemtuzumab ozogamicin, ranibizumab, mab dirigido contra el antígeno de superficie de 20 de linfocitos b dornasa-alfa dnase, beta glucocerebrosidasa, tnf-alfa, proteína de fusión a toxina de il-2-difteria, proteína de fusión a fragmento de tnfr-igg laronidasa, dnaasas, alefacept, darbepoyetina alfa (factor estimulante de colonias), tositumomab, mab murino, alemtuzumab, rasburicasa, agalsidasa beta, teriparatida, derivados de hormona paratiroidea, adalimumab (IggI), anakinra, modificador biológico, nesiritida, péptido natriurético humano b (hbnp), factores estimulantes de colonias, pegvisomant, antagonista del receptor de hormona de crecimiento humano, proteína c recombinante activada, omalizumab, bloqueador de inmunoglobulina e (Ige), ibritumomab tiuxetan, ACTH, glucagón, somatostatina, somatotropina, timosina, hormona paratiroidea, hormonas pigmentarias, somatomedina, eritropoyetina, hormona luteinizante, gonadotropina coriónica, factores hipotalámicos liberadores, etanorcept, hormonas antidiuréticas, prolactina, hormona estimulante tiroidea, anticuerpo monoclonal anti-HER2 humanizado, receptor anti-glicoproteína IIb/IIIa, anticuerpo monoclonal anti-CD25 humanizado, anticuerpo IgG2a del antígeno de superficie celular murino anti-17-1A, anticuerpo IgG murino anti-idiotipo (epítipo GD3), anticuerpo IgG anti-EGFR quimérico, anticuerpo de integrina anti- $\alpha$ v $\beta$ 3 humanizado, anticuerpo IgG 1 anti CD52 humanizado, anticuerpo IgG anti-CD33 humanizado, anticuerpo IgG1 anti-CD20 quimérico, anticuerpo IgG anti-CD22 humanizado, anticuerpo anti-ICAM3 humanizado, anticuerpo anti-CD80 de primate, anticuerpo anti-CD20 murino, anticuerpo anti-CD40L humanizado, anticuerpo anti-CD4 de primate, anticuerpo anti-CD23 de primate, IgG anti-CD3 humanizado, anticuerpo del factor anti-complemento 5 (CS) humanizado, anticuerpo anti-TNF-a humanizado, fragmento Fab anti-TNF-a humanizado, anticuerpo IgG 1 anti-CD4 de primate, anticuerpo IgG anti-CD4 humano, anticuerpo IgG4 anti-TNF-a humanizado, anticuerpo anti- $\alpha$ 4 $\beta$ 7 humanizado, anticuerpo IgG anti-CD4 humanizado, anticuerpo IgG anti-CD40L humanizado, anticuerpo IgG anti-VLA-4 humanizado, anticuerpo anti-TGF- $\beta$ 2 humano, anticuerpo del receptor anti-EGF (EGFr) monoclonal, anticuerpo monoclonal humano anti-VEGF, agalsidasa, alefacept, aspariginasa, amdoxovir (DAPD), antida, becaplermina, toxina botulínica, incluyendo los tipos A y B y compuestos de peso molecular inferior con actividad de toxina botulínica, calcitoninas, cianovirina, denileucina diftotox, eritropoyetina
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

(EPO), agonistas de EPO, alfa dornasa, proteína estimulante de la eritropoyesis (NESP), factores de la coagulación tal como Factor V, Factor VII, Factor VIIa, Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor XII, Factor XIII, factor von Willebrand; ceredasa, cerezima, alfa-glucosidasa, colágeno, ciclosporina, alfa defensinas, beta defensinas, desmopresina, exendina-4, citocinas, receptores de citocinas, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), trombopoyetina (TPO), inhibidor de alfa-1 proteínasa, elcatonina, factor estimulante de las colonias de granulocitos (GM-CSF), fibrinógeno, filgrastim, hormonas de crecimiento, hormona de crecimiento humano (hGH), somatotropina, hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH), GRO-beta, anticuerpo GRO-beta, proteínas morfogénicas óseas tal como proteína morfogénica ósea 2, proteína morfogénica ósea 6, OP-1; factor de crecimiento de fibroblastos de ácido, factor de crecimiento de fibroblastos básico, ligando CD-40, heparina, albúmina sérica humana, heparina de bajo peso molecular (HBPM), interferón alfa, interferón beta, interferón gamma, interferón omega, interferón tau, interferón consenso; interleucinas y receptores de interleucina tales como receptor de interleucina-1, interleucina-2, proteínas de fusión a interleucina-2, antagonista del receptor de interleucina-1, interleucina-3, interleucina-4, receptor de interleucina-4, interleucina-6, interleucina-8, interleucina-12, receptor de interleucina-13, receptor de interleucina-17; lactoferrina y fragmentos de lactoferrina, hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), insulina, pro-insulina, análogos de insulina, amilina, péptido C, somatostatina, análogos de somatostatina, incluyendo octreotida, vasopresina, hormona foliculoestimulante (FSH), imiglucerasa, vacuna contra la influenza, factor de crecimiento insulínico (IGF), insulintropina, factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), activadores del plasminógeno tales como alteplasa, urocinasa, reteplasa, estreptocinasa, pamiteplasa, lanoteplasa, y tenetepasa; factor de crecimiento neural (NGF), osteoprotegerina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factores de crecimiento tisular, factor de crecimiento transformante-1, factor de crecimiento endotelial vascular, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), factor de crecimiento glial (GGF), receptores de linfocitos T, moléculas/antígenos CD, factor de necrosis tumoral (TNF) (por ejemplo, TNF- $\alpha$  y TNF- $\beta$ ), CTLA4, receptor CTLA4, Fusión CTLA4-Fc, proteína 1 quimioatrayente de monocitos, factores de crecimiento endotelial, hormona paratiroidea (PTH), péptido de tipo glucagón, somatotropina, timosina alfa 1, rasburicasa, inhibidor de timosina alfa 1 IIb/IIIa, timosina beta 10, timosina beta 9, timosina beta 4, alfa-1 antitripsina, compuestos de fosfodiesterasa (PDE), VLA-4 (antígeno muy tardío-4), inhibidores de VLA-4, bisfosfonatos, anticuerpo del virus sincitial respiratorio, gen regulador transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), desoxirribonucleasa (Dnase), proteína bactericida/aumentadora de la permeabilidad (BPI), y anticuerpo anti-CMV, etanercept (una proteína de fusión dimérica que consiste en la porción de unión a ligando extracelular del receptor de TNF humano de 75 kD unida a la porción Fc de IgG1), abciximab, adalimumab, afelimomab, alemtuzumab, anticuerpo contra linfocito B, atlizumab, basiliximab, bevacizumab, biciromab, bertilimumab, CDP-484, CDP-571, CDP-791, CDP-860, CDP-870, cetuximab, clenoliximab, daclizumab, eculizumab, edrecolomab, efalizumab, epratuzumab, fontolizumab, gavilimomab, gemtuzumab ozogamicina, ibritumomab tiuxetan, infliximab, inolimomab, keliximab, labetuzumab, lerdelimomab, olizumab, lym-1 radiomarcado, metelimomab, mepolizumab, mitumomab, muromonad-CD3, nebacumab, natalizumab, odulimomab, omalizumab, oregovomab, palivizumab, pemtumomab, pexelizumab, rhuMab-VEGF, rituximab, satumomab pendentida, sevirumab, sipilizumab, tositumomab, <sup>131</sup>I tositumomab, trastuzumab, tuvirumab, visilizumab, tacrina, memantina, rivastigmina, galantamina, donepezilo, levetiracetam, repaglinida, atorvastatina, alefacept, tadalafilo, vardenafilo, sildenafil, fosamprenavir, oseltamivir, valaciclovir y valganciclovir, abarelix, adefovir, alfuzosina, alosetron, amifostina, amiodarona, ácido aminocaproico, aminohipurato sódico, aminoglutetimida, ácido aminolevulínico, ácido aminosalicílico, amlodipina, amsacrina, anagrelida, anastrozolo, aprepitant, aripiprazol, ácido aminosalicílico, asparaginasa, atazanavir, atomoxetina, antracilinas, bexaroteno, bicalutamida, bleomicina, bortezomib, buserelina, busulfán, cabergolina, capecitabina, carboplatino, carmustina, cefalexina, cloramfucino, cilastatina sódica, cisplatino, cladribina, cladronato, ciclofosfamida, ciproterona, citarabina, camptotecinas, ácido 13-cis-retinoico, ácido retinoico todo trans; dacarbazina, dactinomicina, daptomicina, daunorrubicina, deferoxamina, dexametasona, diclofenaco, dietilestilbestrol, docetaxel, doxorubicina, dutasterida, eletriptán, emtricitabina, enfuvirtida, eplerenona, epirubicina, estramustina, etinil estradiol, etopósido, exemestano, ezetimiba, fentanilo, fexofenadina, fludarabina, fludrocortisona, fluorouracilo, fluoximasterona, flutamida, fluticazona, fondaparinux, fulvestrant, gamma-hidroxitbutirato, gefitinib, gemcitabina, epinefrina, L-Dopa, hidroxiourea, icodextrina, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, irinotecán, itraconazol, goserelina, laronidasa, lansoprazol, letrozol, leucovorina, levamisol, lisinopril, lovotiroxina sódica, lomustina, mecloretamina, medroxiprogesterona, megestrol, melfalán, memantina, mercaptopurina, mequinol, metaraminol bitartrato, metotrexato, metoclopramida, mexiletina, miglustat, mitomicina, mitotano, mitoxantrona, modafinilo, naloxona, naproxeno, nevirapina, nicotina, nilutamida, nitazoxanida, nitisinona, noretindrona, octreotida, oxaliplatino, palonosetron, pamidronato, pemetrexed, pergolida, pentostatina, pílcamicina, porfímero, prednisona, procarbazona, proclorperazina, ondansetron, palonosetron, oxaliplatino, raltitrexed, rosuvastatina, sirolimus, estreptozaocina, pimecrolimus, sertaconazol, tacrolimus, tamoxifeno, tegaserod, temozolomida, tenipósido, testosterona, tetrahidrocannabinol, talidomida, tioguanina, tiotepa, tiotropio, topiramato, topetecán, treprostínilo, tretinoína, valdecoxib, celecoxib, rufecoxib, valrubicina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, voriconazol, dolasetrón, granisetrón, formoterol, fluticasona, leuprolida, midazolam, alprazolam, anfotericina B, podofilotoxinas, antivirales de nucleosidasa, aroil hidrazonas, sumatriptán, eletriptán; macrólidos tales como eritromicina, oleandomicina, troleandomicina, roxitromicina, claritromicina, davercina, azitromicina, fluritromicina, diritromicina, josamicina, espiromicina, midecamicina, loratadina, desloratadina, leucomicina, miocamicina, rokitamicina, andazitromicina, y swinolida A; fluoroquinolonas tales como ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina, trovafloxacina, alatrofloxacina, moxifloxacina, norfloxacina, enoxacina, gatifloxacina, gemifloxacina, grepafloxacina, lomefloxacina, esparfloxacina, temafloxacina, pefloxacina, amifloxacina, fleroxacina, tosufloxacina, prulifloxacina, irloxacina, pazufloxacina, clinafloxacina, y sitafloxacina; aminoglucósidos tales como gentamicina, netilmicina, paramecina, tobramicina,

- amicacina, kanamicina, neomicina, y estreptomina, vancomicina, teicoplanina, rampolanina, mideplanina, colistina, daptomicina, gramicidina, colistimetato; polimixinas tales como polimixina B, capreomicina, bacitracina, penems; penicilinas, incluyendo agentes sensibles a la penicilinasa como penicilina G, penicilina V; agentes resistentes a la penicilinasa como meticilina, oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina, floxacilina, nafcilina; agentes activos de microorganismos gram negativos como ampicilina, amoxicilina, y hetacilina, cilina, y galampicilina; penicilinas antipseudomonas como carbenicilina, ticarcilina, azlocilina, mezlocilina, y piperacilina; cefalosporinas como cefpodoxima, cefprozilo, ceftbuteno, ceftizoxima, ceftriaxona, cefalotina, cefapirina, cefalexina, cefradrina, cefoxitina, cefamandol, cefazolina, cefaloridina, cefaclor, cefadroxilo, cefaloglicina, cefuroxima, ceforanida, cefotaxima, cefatrizina, cefacetilo, cefepima, cefixima, cefonicid, cefoperazona, cefotetán, cefmetazol, ceftazidima, loracarbef, y moxalactama, monobactamas como aztreonam; y carbapenems tales como imipenem, meropenem, y ertapenem, isetionato de pentamidina, sulfato de albuterol, lidocaína, sulfato de metaproterenol, diprepiato de beclometasona, acetamida de triamcinolona, acetónido de budesonida, salmeterol, bromuro de ipratropio, flunisolida, cromolin sódico, y tartrato de ergotamina; taxanos tal como paclitaxel; SN-38, tirfostinas y miméticos de los mismos.
- 5
- 10
- 15 24. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que dicho agente biológicamente activo se selecciona del grupo que consiste en: eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), interferón alfa, interferón beta, hormona del crecimiento humano, e imiglucerasa.
- 20 25. El compuesto de la reivindicación 24, en el que el agente biológicamente activo es eritropoyetina humana.
26. El compuesto de la reivindicación 24, en el que el agente biológicamente activo es el factor estimulante de colonias de granulocitos humanos.
- 25 27. El compuesto de la reivindicación 24, en el que el agente biológicamente activo es interferón alfa.
28. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, en el que el agente biológicamente activo es un derivado aviar.
- 30 29. El compuesto de la reivindicación 28, en el que el agente biológicamente activo es un derivado de pollo.
- 30 30. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29.
- 35 31. Un método para aumentar la propiedad de la semivida biológica de un agente biológicamente activo, que comprende unir covalentemente un polímero que contiene fosforilcolina ramificada a un agente biológicamente activo, en el que el polímero tiene dos o más brazos de polímero que se extienden desde un único grupo, en el que la porción polimérica del compuesto es poli[fosfato de 2-(metacrililoiloxietil)-2'-(trimetilamonio)etil].
- 40 32. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, o una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 30, para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal por terapia.

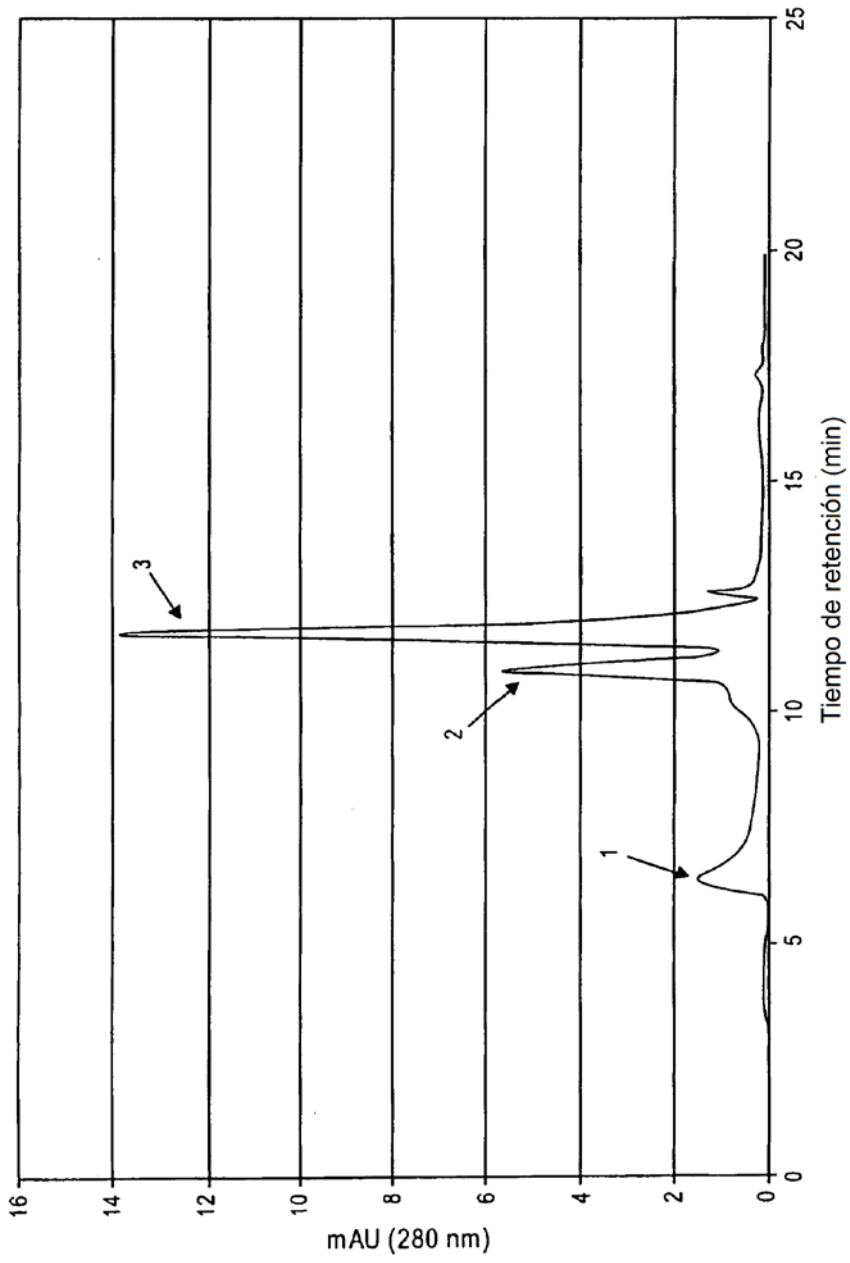


APRLICDSRVLEYLEAKEAENITTGCAEHCSLNENITVPDTKVNFYAWKRMEVGV  
QQAVEVWQGLALLSEAVLRGQALLVNSSQPWEPLQLHVLDKAVSGLRSLTLLRALG  
AQKEAISPPDAASAAPLRTITADTFRKLFVRVYSNFLRGKCLKLYTGEACRTGD

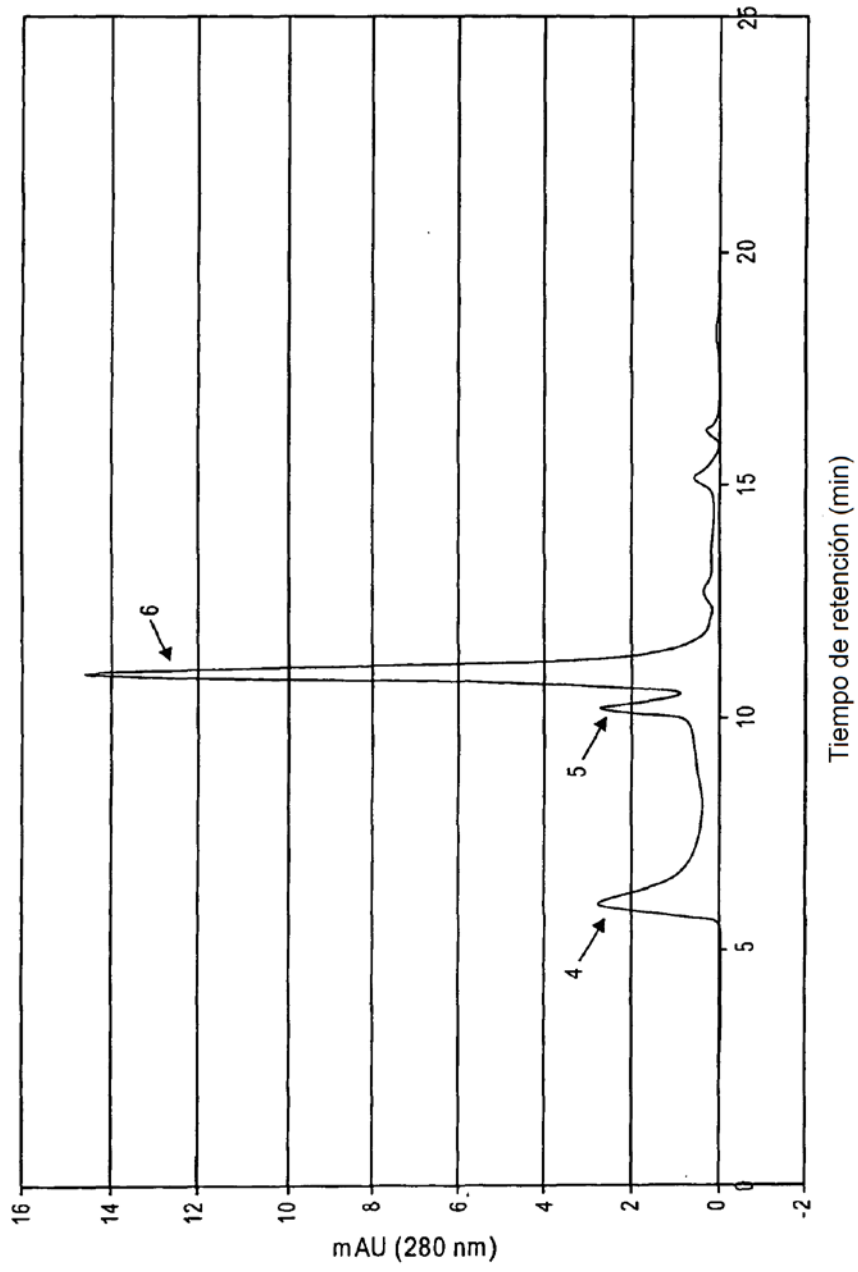
**FIG. 1**

TPLGPASSLPQSFLKCLEQVRKIQGDGAALQEKLCATYKLCHEPELVLLGHSLGIPW  
APLSSCPSQALQLAGCLSQLHSGFLYQGLLQALEGISPELGPPTLDTLQLDVAADFATTI  
WQQMEELGMAPALQPTQGAMPAFASAFORRAGGVLVASHLQSFLEVSRYRVLRHLLA  
QP

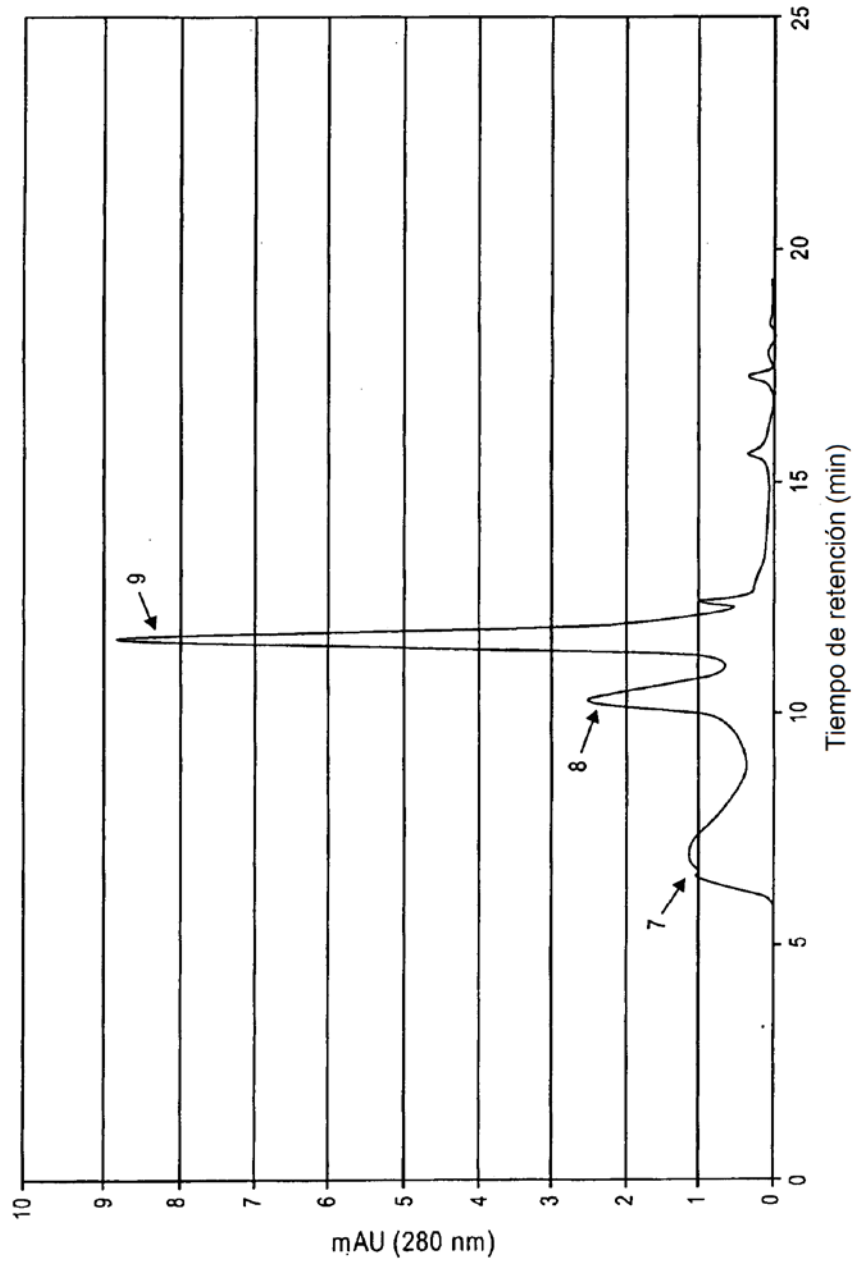
**FIG. 2**



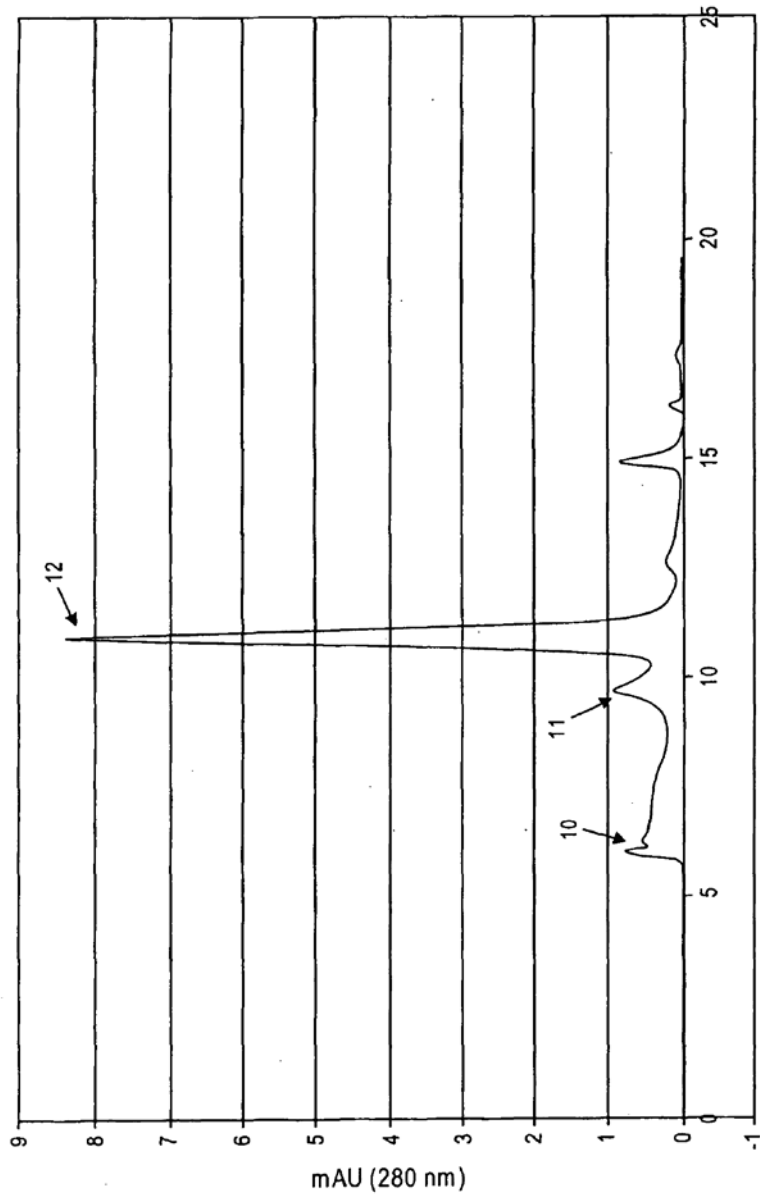
**FIG. 3**



**FIG. 4**

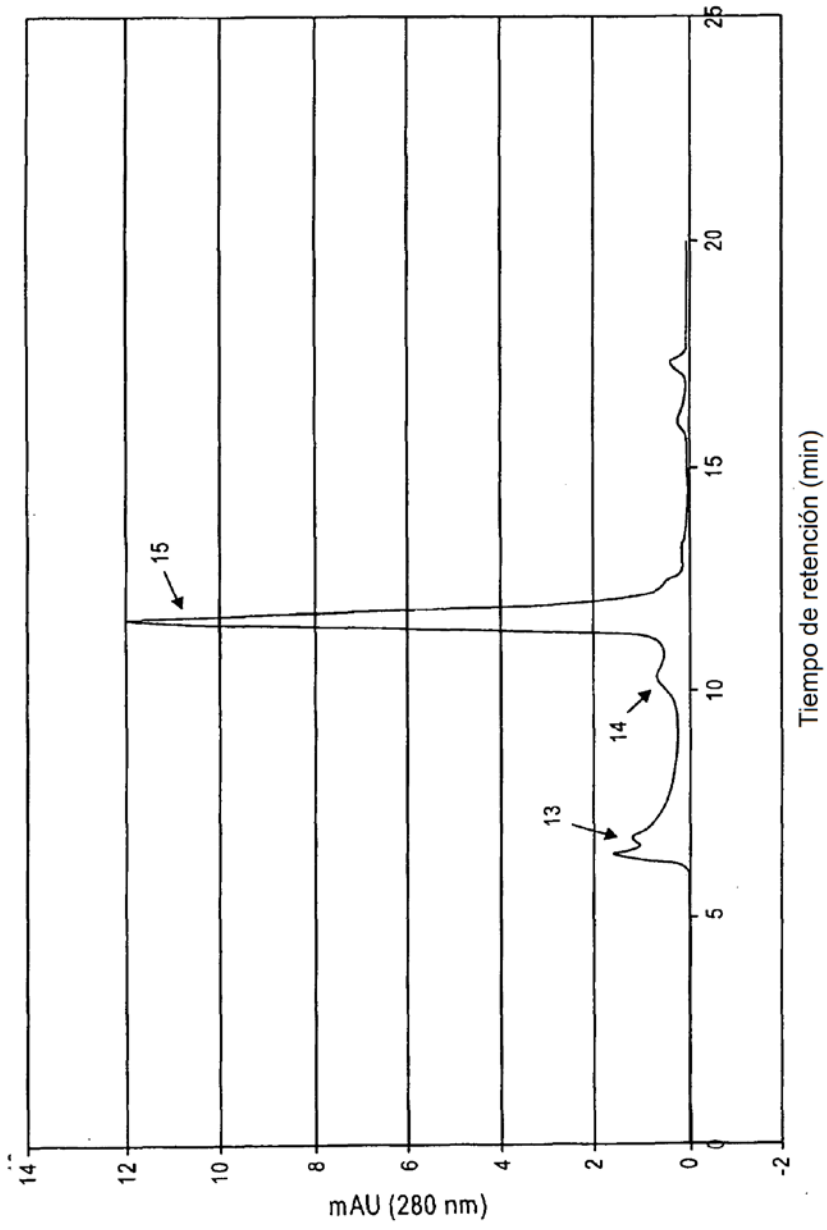


**FIG. 5**

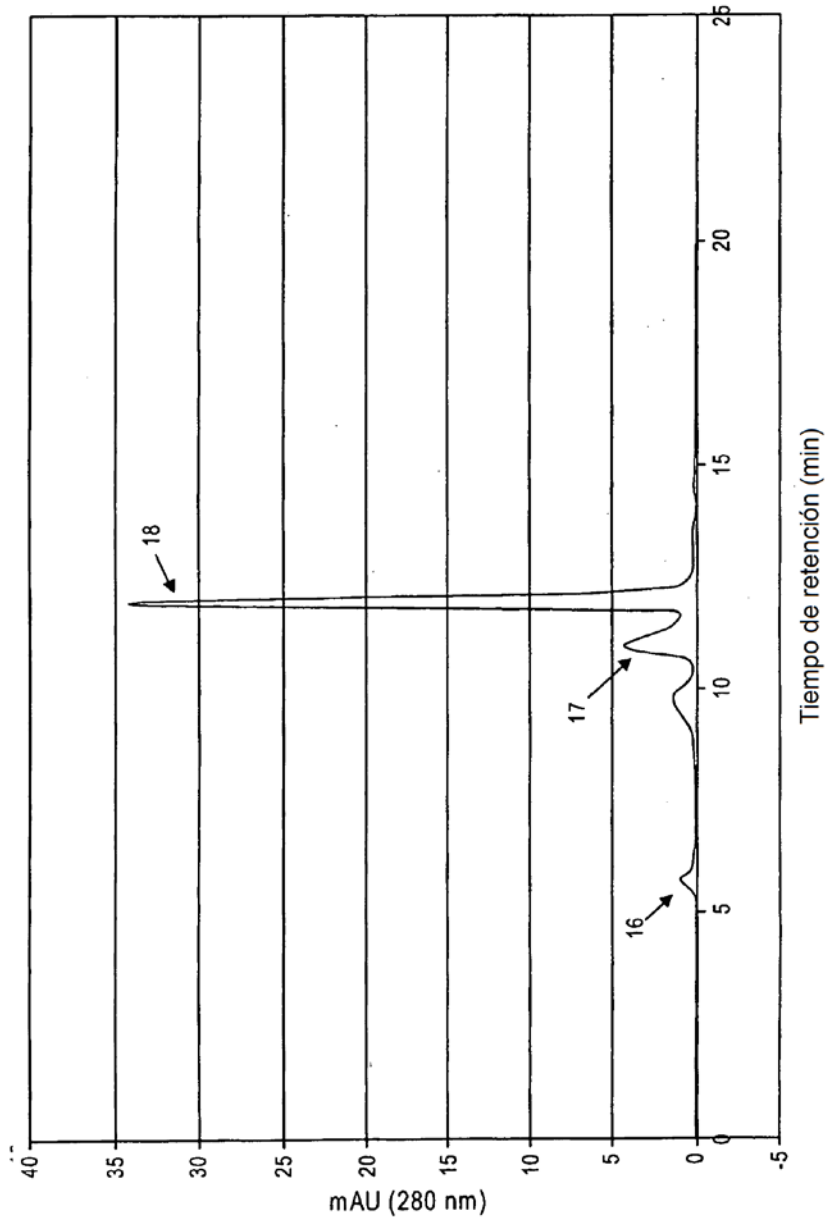


Tiempo de retención (min)

**FIG. 6**

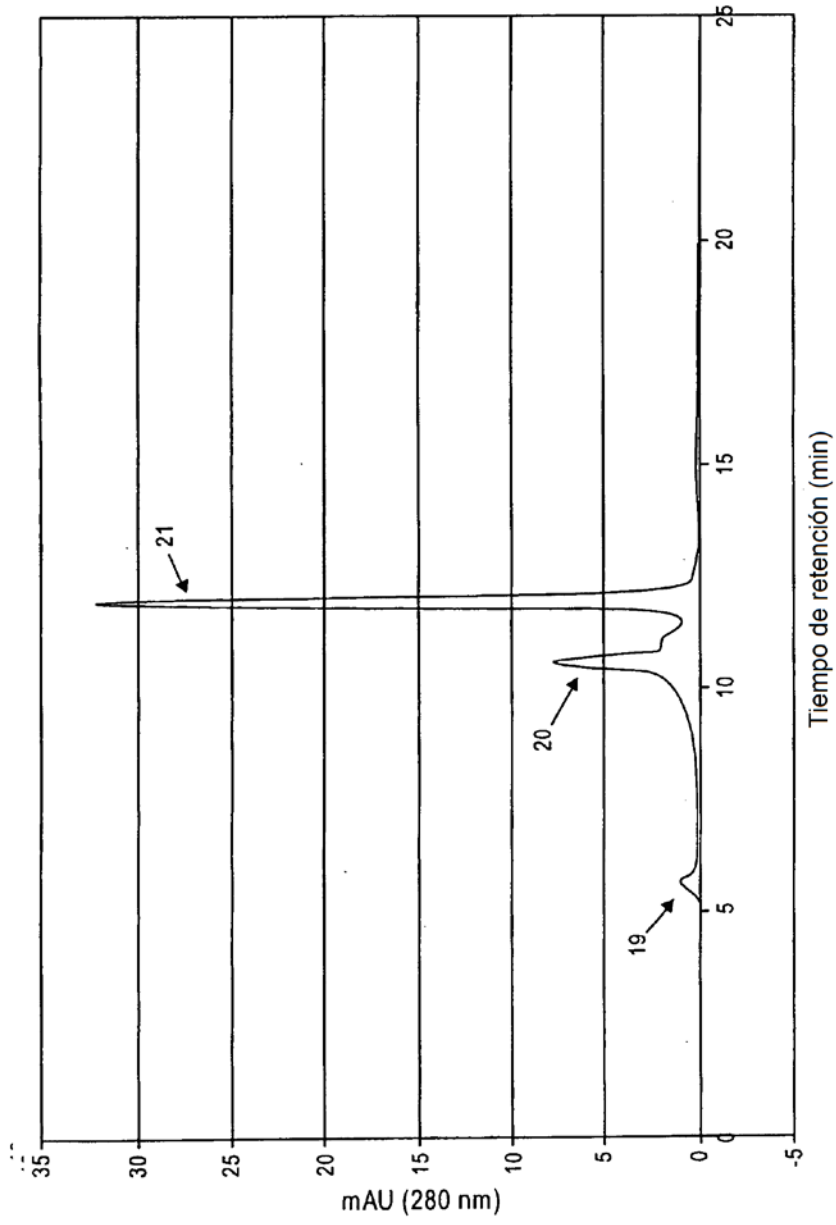


**FIG. 7**



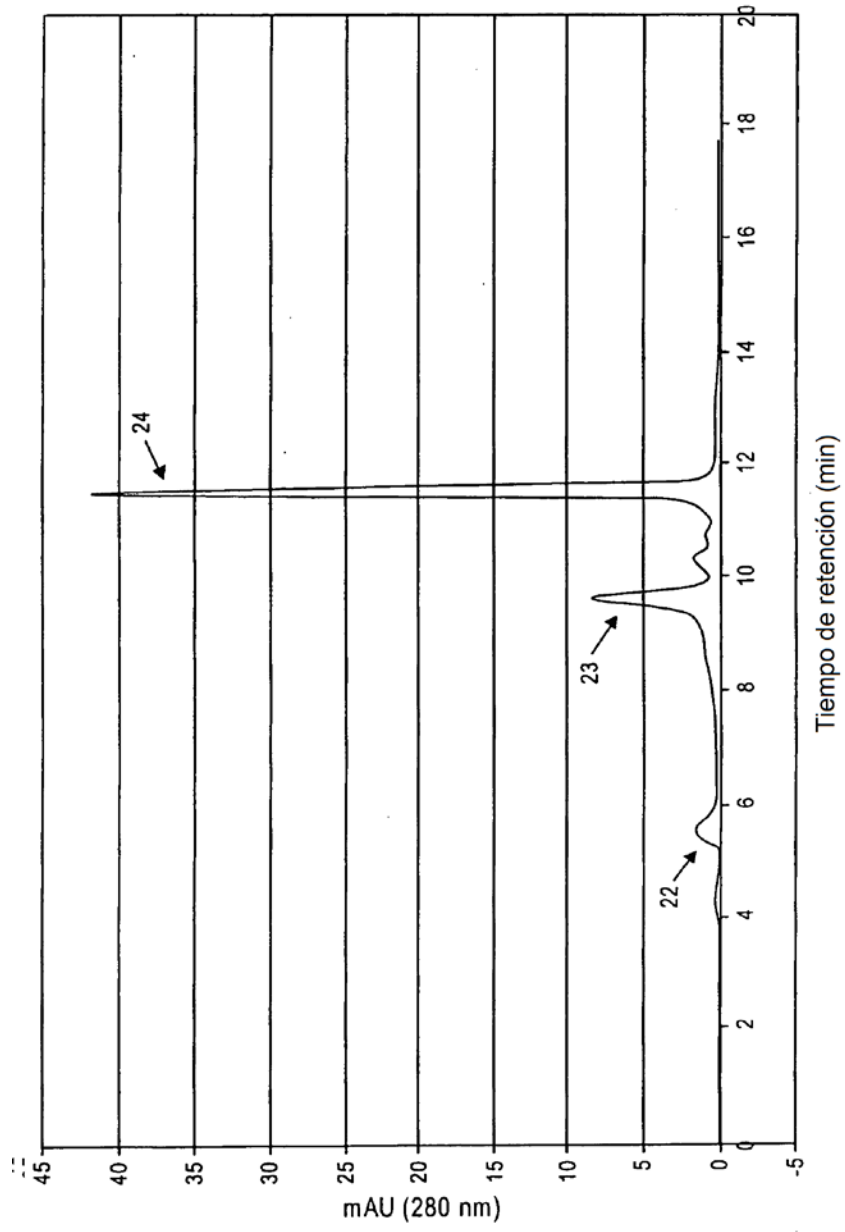
Tiempo de retención (min)

**FIG. 8**

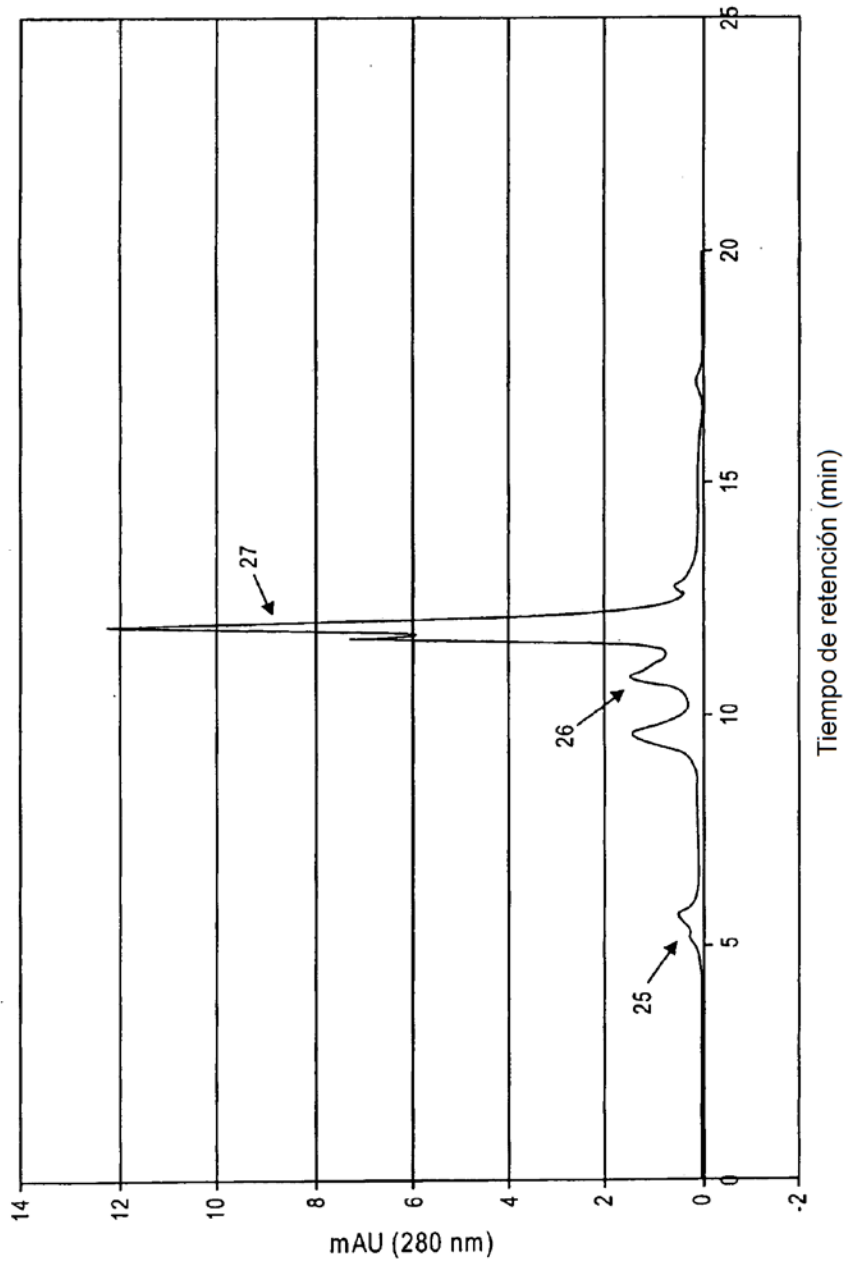


**FIG. 9**

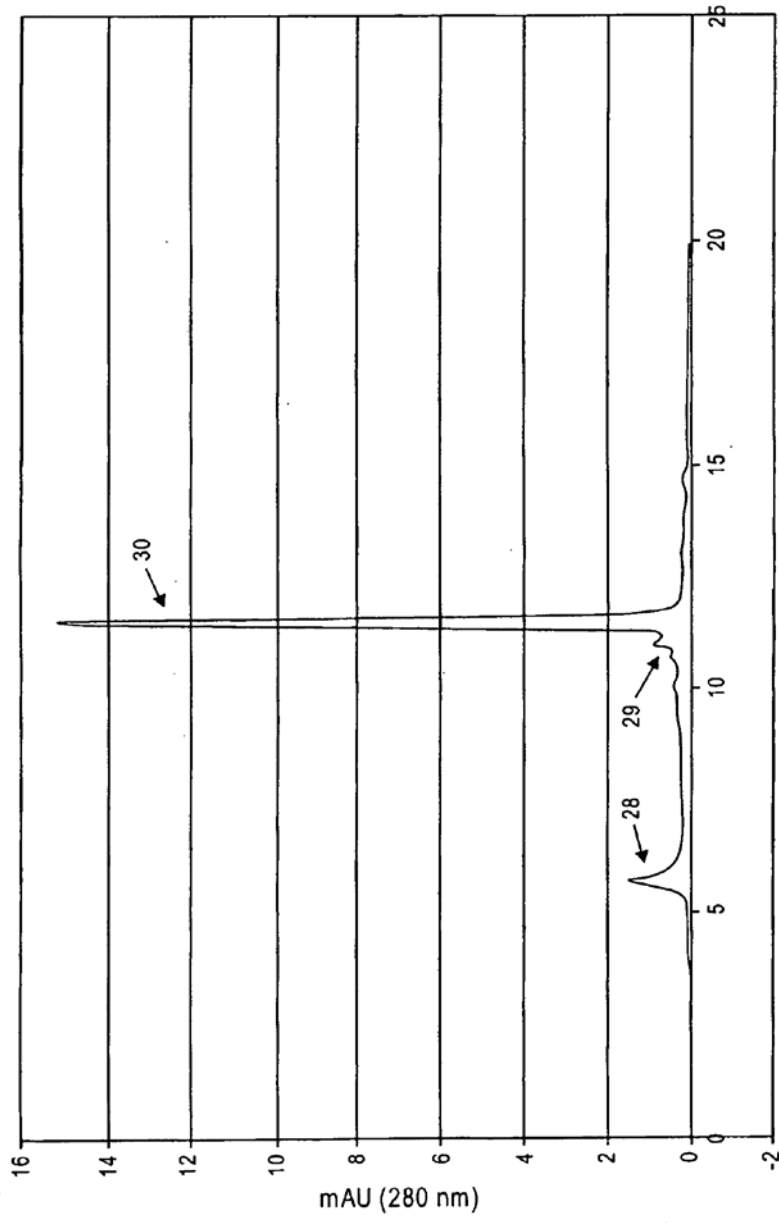




**FIG. 10**

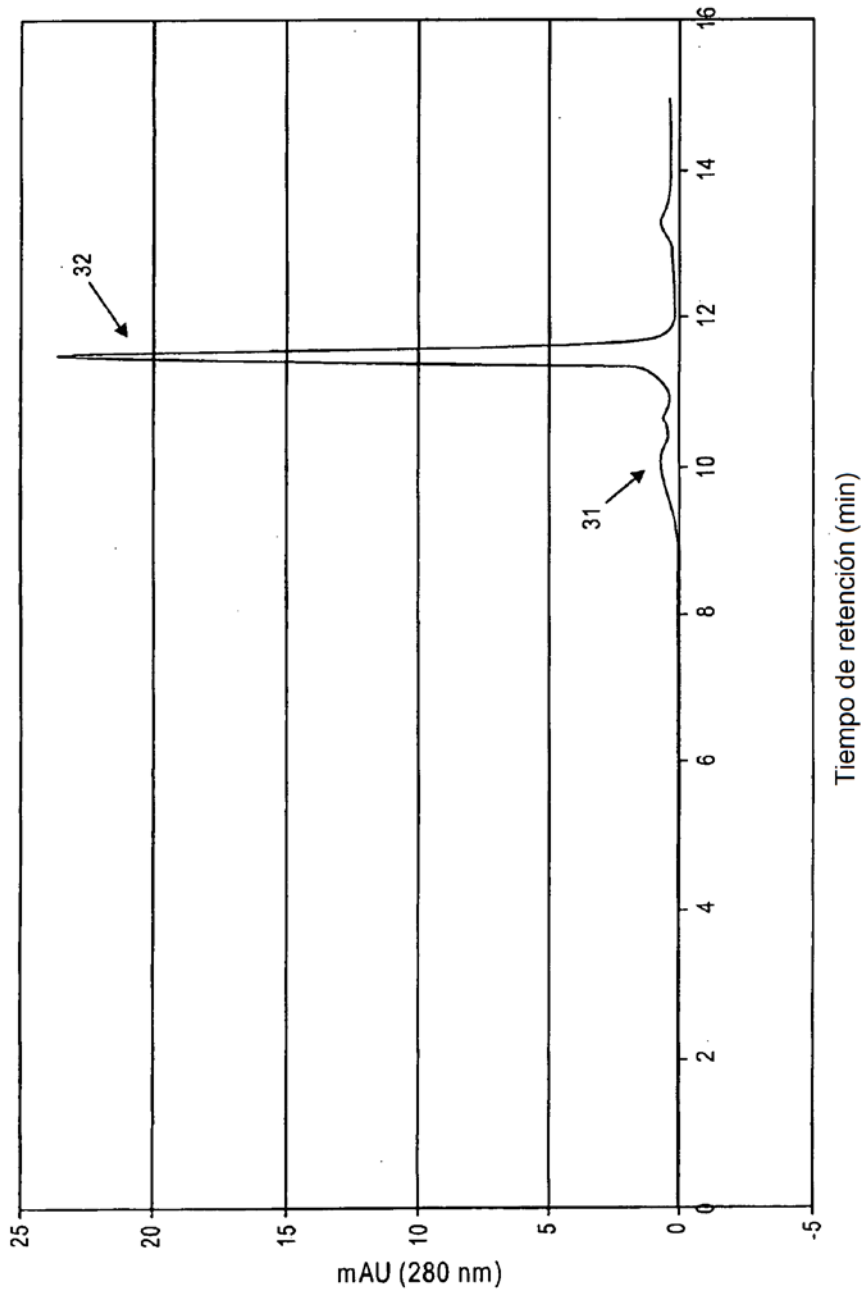


**FIG. 11**



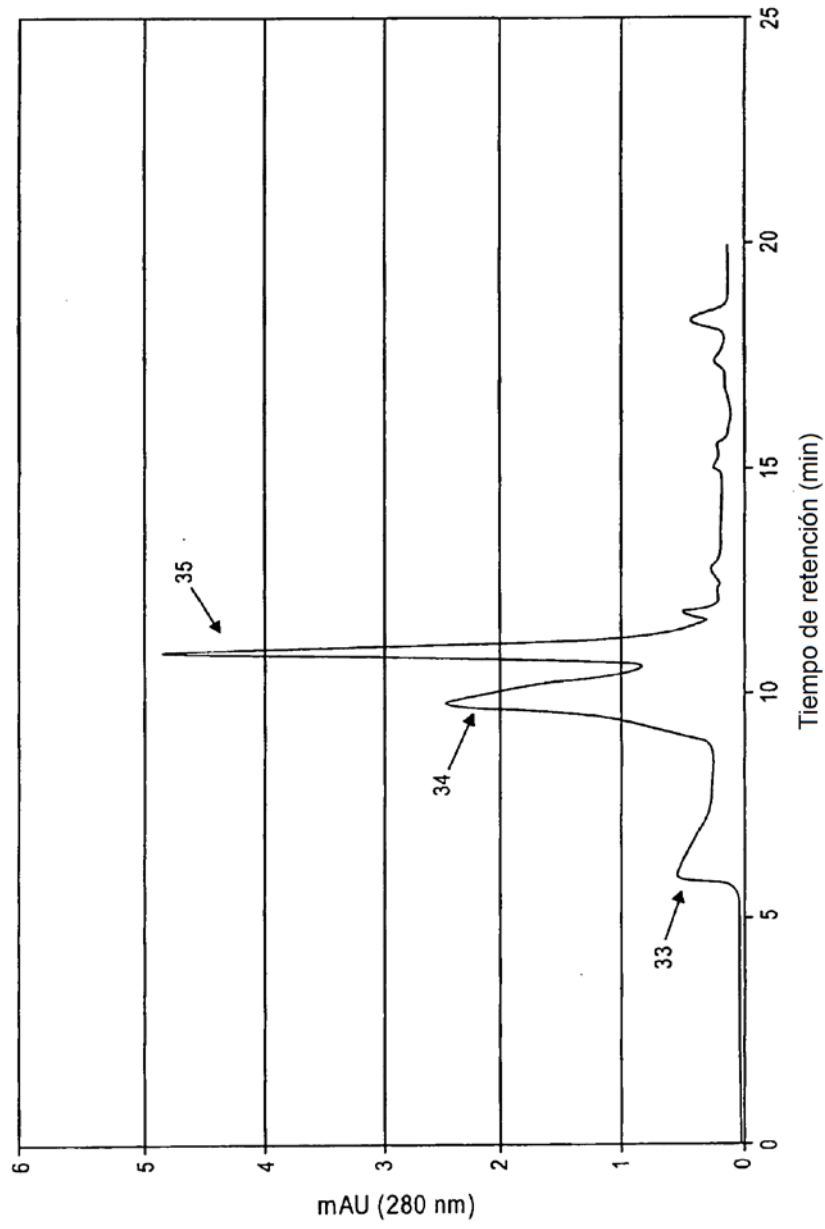
Tiempo de retención (min)

**FIG. 12**



Tiempo de retención (min)

**FIG. 13**



**FIG. 14**