

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 371 191**

51 Int. Cl.:  
**C07D 487/00** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06839792 .6**  
96 Fecha de presentación: **09.11.2006**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1948242**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **30.07.2008**

54 Título: **COMPUESTOS CITOTÓXICOS.**

30 Prioridad:  
**10.11.2005 US 735657 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**28.12.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**28.12.2011**

73 Titular/es:  
**MEDAREX, INC.**  
**707 STATE ROAD**  
**PRINCETON, NJ 08540, US**

72 Inventor/es:  
**GANGWAR, Sanjeev y**  
**SUFI, Bilal**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 371 191 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).

## DESCRIPCION

Compuestos citotóxicos.

**Antecedentes de la invención**

5 Muchos agentes terapéuticos, particularmente aquellos que son especialmente eficaces en la quimioterapia del cáncer, muestran frecuentemente toxicidad aguda *in vivo*, especialmente toxicidad en la médula ósea y la mucosa, así como toxicidad cardíaca y neurológica crónicas. Dicha alta toxicidad puede limitar sus aplicaciones. El desarrollo de más agentes terapéuticos específicos y más seguros, particularmente agentes antitumores, es deseable para una mayor eficacia contra las células de tumores y una disminución en el número y severidad de los efectos secundarios de estos productos (toxicidad, destrucción de células no tumorales, etc.). Otra dificultad con algunos de los agentes terapéuticos existentes es su menos que óptima estabilidad en plasma. La adición de grupos funcionales para estabilizar estos compuestos ha dado como resultado una significativa disminución de la actividad. De acuerdo con ello, es deseable identificar vías para estabilizar compuestos al mismo tiempo que se mantienen niveles de actividad terapéutica aceptables.

15 La investigación de agentes citotóxicos más selectivos ha sido extremadamente activa durante muchas décadas, siendo las dosis que limitan la toxicidad (es decir, la actividad no deseable de las citotoxinas sobre tejidos normales) una de las causas principales de fallos en la terapia del cáncer. Por ejemplo, se sabe que la CC-1065 y las duocarmicinas son citotoxinas extremadamente potentes.

20 La CC-1065 fue primeramente aislada a partir del *Streptomyces zelenensis* en 1981 por la Upjohn Company (Hanka y otros, J. Antibiot., vol. 31, pág. 1211, (1978); Martin y otros, J. Antibiot., vol. 33, pág. 902, (1980); Martin y otros, J. Antibiot., vol. 34, pág. 1119, (1981)) y se encontró que tenía una potente actividad antitumor y antimicrobiana tanto *in vitro* como en animales experimentales (Li y otros, Cancer Res., vol. 42, pág. 999, (1982)). La CC-1065 se une a al ADN-B de doble hebra dentro del surco menor (Swenson y otros, Cancer Res., vol.42, pág. 2821, (1992)) con la secuencia de preferencia de 5'-d(A/GNTTA)-3' y 5'-d(AAAAA)-3' y los alquilatos en la posición N3 de la 3'-adenina mediante su unidad del lado izquierdo CPI presente en la molécula (Hurley y otros, Science, vol. 226, pág. 843, (1984)). A pesar de su potente y amplia actividad antitumor, la CC-1065 no puede usarse en humanos debido a que causa la muerte retardada en animales experimentales.

En la técnica se conocen muchos análogos y derivados de la CC-1065 y las duocarmicinas. Se ha revisado la investigación sobre la estructura, síntesis y propiedades de muchos de los compuestos. Véase, por ejemplo, Boger y otros, Angw. Chem. Int. Ed. Engl., vol. 35, pág. 1438, (1996); y Borger y otros, Chem. Rev., vol. 97, pág. 787, (1997).

30 Igualmente, han sido divulgados análogos de la CC-1065 y duocarmicinas en las Patentes WO 98/11101 y WO 02/096910, respectivamente.

35 Un grupo de la Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. ha preparado un cierto número de derivados de la CC-1065. Véanse, por ejemplo, las Patentes de EE.UU. Nos. 5.101.038; 5.641.780; 5.187.186; 5.070.092; 5.703.080; 5.070.092; 5.641.780; 5.101.038; y 5.084.468; y la Solicitud PCT publicada WO 96/10405 y la Solicitud de Europea 0 537 575 A1 publicada.

Igualmente, la Upjohn Company (Farmacia Upjohn) se ha mostrado activa en la preparación de derivados de la CC-1065. Véanse, por ejemplo, las Patentes de EE.UU. Nos. 5.739.350; 4.978.757; 5.332.837 y 4.912.227.

40 Igualmente, el Scripps Research Institute ha descrito una diversidad de derivados y análogos de la CC-1065 y las duocarmicinas. Véanse, por ejemplo, las Patentes de EE.UU. Nos. 5.985.908; 6.060.608; 6.262.271; 6.281.354; 6.310.209; y 6.486.326; y la Publicación PCT No. WO 97/32850; WO 97/45411; WO 98/52925; WO 99/19298; WO 99/29642 y WO 01/83482. En particular, se han descrito análogos que incorporan la subunidad de alquilación 1,2,9,9a-tetrahidrociclopropa[c]benz[e]indol-4-ona (CBI) referida como análogos CBI de la CC-1065 y las duocarmicinas. Véanse, por ejemplo, la Patente de EE.UU. No. 6.548.530 y la Publicación PCT No. WO 97/12862; WO 03/022806; y WO 04/101767.

45 Igualmente, la investigación se ha enfocado hacia el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos que están en la forma de profármacos, compuestos que son capaces de convertirse en fármacos (compuestos terapéuticos activos) *in vivo* mediante ciertos compuestos químicos o modificaciones enzimáticas de su estructura. Para los fines de reducción de la toxicidad, esta conversión está preferiblemente confinada al sitio de acción o tejido diana más que al sistema circulatorio o al tejido no diana. Sin embargo, incluso los profármacos son problemáticos ya que muchos se caracterizan por una baja estabilidad en sangre y suero, debido a la presencia de enzimas que degradan o activan los profármacos antes de que los profármacos alcancen los sitios deseados dentro del cuerpo del paciente.

50 Bristol-Myers Squibb ha descrito conjugados de fármacos antitumor escindibles mediante enzimas lisosómicos particulares. Véase, por ejemplo, la Patente de EE.UU. No. 6.214.345. Esta patente proporciona un aminobencil oxicarbolilo.

Seattle Genetics ha publicado las solicitudes de la Solicitud de Patente de EE.UU. 2003/0096743 y la Solicitud de Patente de EE.UU. 2003/0130189, las cuales describen p-aminobenciléteres en agentes de suministro de fármacos. Los ligadores descritos en estas solicitudes están limitados a composiciones aminobencil éter.

- 5 Igualmente, otros grupos han descrito ligadores. Véase, por ejemplo, de Groot y otros, *J. Med. Chem.*, vol. 42, pág. 5277, (1999); de Groot y otros, *J. Org. Chem.*, vol. 43, pág. 3093, (2000); de Groot y otros, *J. Med. Chem.*, vol. 66, pág. 8815, (2001); Patente WO 02/083180; Carl y otros, *J. Med. Chem. Lett.*, vol. 24, pág. 479, (1981); Dubowchik y otros, *Bioorg & Med. Chem. Lett.*, vol. 8, pág. 3347, (1998). Estos ligadores incluyen espaciadores aminobencil éter, sistemas espaciadores de ciclación y cascada electrónica alargada, espaciadores de eliminaciones de ciclaciones, tales como  $\omega$ -amino aminocarbonilos, y un ligador p-aminobenci oxycarbonil éter.
- 10 La estabilidad de los fármacos citotoxinas, incluyendo la estabilidad *in vivo*, es aún un fin importante al que es necesario enfrentarse. Además, la toxicidad de muchos compuestos les hacer ser menos útiles, por lo cual, son necesarias composiciones que reduzcan la toxicidad del fármaco, tal como la formación de un profármaco escindible. Por ello, a pesar de los avances en la técnica, continúa siendo una necesidad el desarrollo de agentes terapéuticos mejorados para el tratamiento de mamíferos, y humanos en particular, más específicamente citotoxinas que muestren
- 15 alta especificidad de acción, toxicidad reducida, y estabilidad mejorada en sangre con relación a los compuestos conocidos de estructura similar. La presente invención se enfrenta a estas necesidades.

### **Sumario de la invención**

La presente invención se refiere a compuestos citotóxicos de acuerdo con la reivindicación 1 útiles como fármacos.

### **Descripción detallada de la invención**

#### **20 Abreviaturas**

Tal como se usa en la presente invención, "Ala" se refiere a alanina.

"Boc" se refiere a *t*-butiloxicarbonilo.

"CPI" se refiere a ciclopropapirrolindol.

"Cbz" se refiere a carbobenzoxi.

25 Tal como se usa en la presente invención, "DCM" se refiere a diclorometano.

"DDQ" se refiere a 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona.

DIPEA es diisopropiletilamina.

"DMDA" es N,N'-dimetiletileno diamina.

"RDF" es un matraz de fondo redondo.

30 "DMF" es N,B-dimetilformamida.

"HATU" es N-óxido hexafluorofosfato de N-[[[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]-piridin-1-il]metileno]-N-metilmetanamonio.

Tal como se usa en la presente invención, el símbolo "E", representa un grupo escindible enzimáticamente.

"EDCP" es 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida.

35 Tal como se usa en la presente invención, "Fmoc" se refiere a 9-fluorenilmetiloxicarbonilo.

"Fmoc" se refiere a 9-fluorenilmetoxicarbonilo.

"HOAt" es 7-aza-1-hidroxibenzotriazol.

"Leu" es leucina.

"PABA" se refiere a ácido *para*-aminobenzoico.

40 PEG se refiere a polietileno glicol.

"PMB" se refiere a *para*-metoxibencilo.

"TBAF" se refiere a fluoruro de tetrabutylamonio.

La abreviatura "TBSO" se refiere a *t*-butildimetilsilil éter.

Tal como se usa en la presente invención, "TEA" se refiere a trietilamina.

"TFA" se refiere a ácido trifluoroacético.

El símbolo "Q" se refiere a un agente terapéutico, agente de diagnóstico o marcador detectable.

### Definiciones

5 Salvo que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente invención tienen generalmente el mismo significado comúnmente conocido por un experto normal en la técnica a la cual pertenece la presente invención. Generalmente, la nomenclatura usada en la presente invención y los procedimientos de laboratorio en el cultivo de células, genéticas moleculares, química orgánica y química del ácido nucleico e hibridación  
10 descriptos más adelante son los bien conocidos y comúnmente usados en la técnica. Las técnicas convencionales son las usadas para la síntesis de péptidos y ácido nucleico. Generalmente, las reacciones enzimáticas y las etapas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones de los fabricantes. Las técnicas y procedimientos se realizan generalmente de acuerdo con procedimientos convencionales en la técnica y diversas referencias generales (véase, de manera general, Sambrook y otros, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 2d ed.,  
15 (1989), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.), las cuales se proporcionan a lo largo del presente documento. La nomenclatura usada en la presente invención y los procedimientos analíticos en química analítica y síntesis orgánica descriptos más adelante son los bien conocidos y comúnmente usados en la técnica. Para las síntesis químicas y análisis químicos se usan técnicas convencionales, o modificaciones de las mismas.

20 El término "agente terapéutico" está destinado a indicar un compuesto que, cuando está presente en una cantidad eficaz terapéuticamente, produce un efecto terapéutico deseado sobre un mamífero. Para el tratamiento de carcinomas, es deseable que el agente terapéutico sea igualmente capaz de entrar en la célula diana.

25 El término "citotoxina" está destinado a indicar un agente terapéutico que tiene el efecto deseado de ser citotóxico para las células de cáncer. Citotóxico significa que el agente detiene el crecimiento de, o mata, las células. Los ejemplos de citotoxinas incluyen, a modo de ejemplo, combretastatinas, duocarmicinas, los antibióticos antitumorales CC-1065, antraciclinas, y compuestos relacionados. Otras citotoxinas incluyen micotoxinas, ricina y sus análogos, caliquamicinas, doxorubicina y maytansinoides.

30 El término "profármaco" y los términos "conjugado de fármaco" y "conjugado de fármaco-substrato escindible" se usan en la presente invención de manera intercambiable. Ambos se refieren a un compuesto que es relativamente inocuo para las células mientras está aún en la forma conjugada, pero el cual es degradado de manera selectiva a una forma activa farmacológicamente debido a ciertas condiciones, por ejemplo, enzimas, localizadas dentro o en la proximidad de células diana.

El término "marcador" está destinado a indicar un compuesto útil en la caracterización de tumores u otro estado médico, por ejemplo, diagnosis, progresión de un tumor, y ensayo de los factores secretados por células de tumores. Los marcadores se consideran un subconjunto de "agentes de diagnóstico".

35 El término "selectivo" usado en conexión con medios de escisión enzimáticos significa que la velocidad de escisión del resto ligador es mayor que la velocidad de escisión de un péptido que tiene una secuencia aleatoria de aminoácidos.

El término "espaciador auto-inmolador" se refiere a un resto químico bifuncional que es capaz de ligar de manera covalente dos restos químicos dentro de una molécula tripartita normalmente estable. El espaciador auto-inmolador es capaz de separación de manera espontánea del segundo resto si se escinde la unión con la primera molécula.

40 Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan de manera indistinta en la presente invención para referirse a un polímero de restos de aminoácidos. Los términos se aplican a polímeros de aminoácidos en los cuales uno más restos de aminoácidos es un mimético químico artificial de un aminoácido que se produce de manera natural correspondiente, así como a polímeros de aminoácidos que se producen de manera natural y a un polímero de aminoácido que no se produce de manera natural. Igualmente, estos términos abarcan el término "anticuerpo".

45 El término "aminoácido" se refiere a aminoácidos sintéticos y que se producen de manera natural, así como análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de una manera similar a los aminoácidos que se producen de manera natural. Los aminoácidos que se producen de manera natural son los codificados por el código genético, así como aquellos aminoácidos que son modificados posteriormente, por ejemplo, hidroxiprolina,  $\gamma$ -carboxiglutamato, y O-fosfoserina. Los análogos de aminoácidos se refieren a compuestos que tienen la misma estructura química básica que el aminoácido que se produce de manera natural, es decir, un carbono  $\alpha$  que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino, y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, metil sulfonio de metionina. Dichos análogos tienen grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o las estructuras principales péptidas modificadas, pero retienen la misma estructura química básica que un aminoácido que se produce de manera natural. Un aminoácido que puede usarse en particular es citrulina, el cual  
50 es un precursor de la arginina y está implicado en la formación de urea en el hígado. Los miméticos de aminoácidos se refieren a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un  
55

aminoácido, pero que funcionan de una manera similar a un aminoácido que se produce de manera natural. El término "aminoácido no natural" está destinado a representar la forma estereoquímica "D" de los veinte aminoácidos que se producen de manera natural descritos anteriormente. Además, se da por entendido que el término aminoácido no natural incluye homólogos de los aminoácidos naturales, y formas modificadas sintéticamente de los aminoácidos naturales. Las formas modificadas sintéticamente incluyen aminoácidos que tienen cadenas alquilo acortadas o alargadas mediante hasta dos átomos de carbono, aminoácidos que comprenden grupos arilo opcionalmente substituidos, y aminoácidos que comprenden grupos halogenados, preferiblemente grupos alquilo y arilo halogenados. Cuando están unidos a un ligador o conjugado de la invención, el aminoácido está en la forma de una "cadena lateral de aminoácido", en la que el grupo ácido carboxílico del aminoácido ha sido reemplazado con un grupo ceto (C(O)). Así, por ejemplo, una cadena lateral alanina es  $-C(O)-CH(NH_2)-CH_3$ , etc.

Los aminoácidos y péptidos pueden protegerse mediante grupos de bloqueo. Un grupo de bloqueo es un átomo o un resto químico que protege el N-terminal de un aminoácido o un péptido de reacciones no deseadas y puede usarse durante la síntesis de un conjugado de fármaco-substrato escindible. Debería permanecer unido al N-terminal durante la síntesis, y puede eliminarse después de completarse la síntesis del conjugado de fármaco mediante condiciones químicas u otras condiciones que logren de manera selectiva su eliminación. Los grupos de bloqueo adecuados para la protección del N-terminal son bien conocidos en la técnica de la química de péptidos. Los ejemplos de grupos de bloqueo incluyen hidrógeno, D-aminoácido, y cloruro de carbobenzoilo (Cbz).

"Ácido nucleico" se refiere a desoxiribonucleótidos o ribonucleótidos y polímeros de los mismos tanto en forma de mono hebra como de hebra doble. El término abarca ácidos nucleicos que contienen análogos nucleótidos conocidos o restos o enlaces de estructuras principales modificadas, los cuales son sintéticos, producidos de manera natural o de manera no natural, los cuales tienen propiedades de unión similares a los del ácido nucleico de referencia, y los cuales son metabolizados de una manera similar a los nucleótidos de referencia. Los ejemplos de dichos análogos incluyen fosforotioatos, fosforamidatos, metil fosfonatos, metil fosfonatos quirales, 2-O-metil ribonucleótidos, ácidos péptido-nucleicos (PNAs).

Salvo que se indique de otra forma, una secuencia de ácido nucleico particular abarca igualmente implícitamente las variantes modificadas de manera conservadora del mismo (por ejemplo, substituciones de codones degenerados) y las secuencias complementarias, así como la secuencia indicada de manera explícita. Específicamente, las substituciones de codones degenerados pueden realizarse mediante la generación de secuencias en las cuales la tercera posición de uno o más (o la totalidad) de los codones seleccionados está substituida con restos base y/o desoxiinosina mezclados (Batzler y otros, *Nucleic Acid Res.*, vol. 19, pág. 5081, (1991); Ohtsuka y otros, *J. Biol. Chem.*, vol. 260, págs. 2605-2608, (1985); Rossolini y otros, *Mol. Cell. Probes*, vol. 8, págs. 91-98, (1994). El término ácido nucleico se usa de manera indistinta con gen, ADNc, ARNm, oligonucleótido, y polinucleótido.

El símbolo -, cuando se usa como un enlace o se representa perpendicular a un enlace indica el punto en el cual el resto representado está unido a la parte restante de la molécula, soporte sólido, etc.

El término "alquilo", por sí mismo o como parte de otro substituyente, significa, salvo que se establezca lo contrario, una cadena recta o ramificada, o radical hidrocarburo cíclico, o combinación de los mismos, los cuales pueden estar totalmente saturados, mono- o poli-insaturados y pueden incluir radicales di- y multivalentes, que tienen el número de átomos de carbono designados (es decir, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> significa uno a diez carbonos). Los ejemplos de radicales hidrocarburo saturados incluyen grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, sec-butilo, ciclohexilo, (ciclohexil)metilo, ciclopropilmetilo, homólogos e isómeros de, por ejemplo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, y similares. Un grupo alquilo insaturado es uno que tienen uno o más dobles enlaces o triples enlaces. Los ejemplos de grupos alquilo insaturados incluyen vinilo, 2-propenilo, crotilo, 2-isopentenilo, 2-(butadienilo), 2,4-pentadienilo, 3-(1,4-pentadienilo), etinilo, 1- y 3-propinilo, 3-butinilo, y los homólogos e isómeros superiores. El término "alquilo" salvo que se indique lo contrario, está igualmente destinado a incluir aquellos derivados de alquilo definidos con más detalle más adelante, tal como "heteroalquilo". Los grupos alquilo, los cuales están limitados a grupos hidrocarburos se denominan "homoalquilo".

El término "alquilenilo", por sí mismo o como parte de otro substituyente, significa un radical divalente obtenido de un alcano, tal como se ejemplifica mediante  $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ , e incluye además aquellos grupos descritos más adelante como "heteroalquilenilo". Típicamente, un grupo alquilo (o alquilenilo) tendrá desde 1 hasta 24 átomos de carbono, siendo aquellos grupos que tienen 10 o menos átomos de carbono los preferidos en la presente invención. Un "alquilenilo inferior" es un grupo alquilenilo de cadena más corta, generalmente conteniendo ocho o menos átomos de carbono.

El término "heteroalquilo", por sí mismo o en combinación con otro término, significa, salvo que se establezca lo contrario, una cadena recta o ramificada, o un radical hidrocarburo cíclico, o combinaciones de los mismos, que consiste en el número establecido de átomos de carbono y al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que consiste en O, N, Si y S, y en el que los átomos de nitrógeno, carbono y azufre pueden opcionalmente estar oxidados y el heteroátomo de nitrógeno puede opcionalmente estar cuaternizado. El heteroátomo(s) O, N y S puede estar situado en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo o en la posición en la cual el grupo alquilo está unido al resto de la molécula. Los ejemplos incluyen  $-CH_2-CH_2-O-CH_3$ ,  $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$ ,  $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$ ,  $-CH_2-S-CH_2-CH_3$ ,  $-CH_2-CH_2-$ ,  $-S(O)-CH_3$ ,  $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$ ,  $-CH=CH-O-CH_3$ ,  $-Si(CH_3)_3$ ,  $-CH_2-CH=N-OCH_3$ , y -

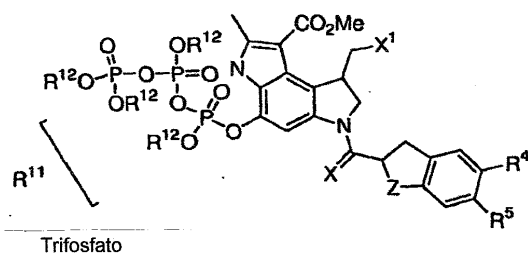
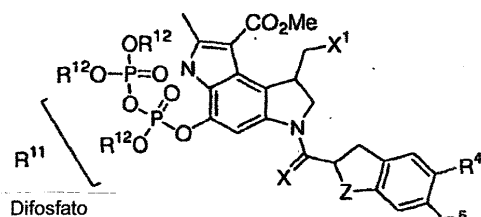
- CH=CH-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>3</sub>. Hasta dos heteroátomos pueden ser consecutivos, tales como, por ejemplo, -CH<sub>2</sub>-NH-OCH<sub>3</sub>, y -CH<sub>2</sub>-O-Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>. De manera similar, el término "heteroalquileo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa un radical divalente obtenido de heteroalquilo, tal como se ejemplifica mediante -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- y -CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>-. Para los grupos heteroalquileo, los heteroátomos pueden igualmente ocupar tanto una como ambas terminaciones de la cadena (por ejemplo, alquilenooxi, alquilenodioxo, alquilenooamino, alquilenodiamino, y similares). Los términos "heteroalquilo" y "heteroalquileo" abarcan poli(etileno glicol) y sus derivados (véase, por ejemplo, *Shearwater Polymers Catalog, 2001*). Además aún, para los grupos de unión alquileo y heteroalquileo, la orientación del grupo de unión no está implicada por la dirección en la cual está escrita la fórmula del grupo de unión. Por ejemplo, la fórmula -C(O)<sub>2</sub>R' representa tanto -C(O)<sub>2</sub>R' como -R'C(O)<sub>2</sub>-.
- El término "inferior" en combinación con los términos "alquilo" o "heteroalquilo" se refiere a un resto que tienen desde 1 hasta 6 átomos de carbono.
- Los términos "alcoxi", "alquilamino", "alquilsulfonilo", y "alquiltio" (o tialcoxi) se usan en su sentido convencional, y se refieren a aquellos grupos alquilo unidos al resto de la molécula mediante un átomo de oxígeno, un grupo amino, un grupo SO<sub>2</sub> o un átomo de azufre, respectivamente. El término "arilsulfonilo" se refiere a un grupo arilo unido al resto de la molécula mediante un grupo SO<sub>2</sub>, y el término "sulfhidrilo" se refiere a un grupo SH.
- En general, un "sustituyente acilo" está igualmente seleccionado entre el grupo establecido anteriormente. Tal como se usa en la presente invención, el término "sustituyente acilo" se refiere a grupos unidos a, y que saturan la valencia de un átomo carbonilo que está o bien directamente o bien indirectamente unido al núcleo policíclico de los compuestos de la presente invención.
- Los términos "cicloalquilo" y "heterocicloalquilo", por sí mismos o en combinación con otros términos, representan, salvo que se establezca lo contrario, versiones cíclicas de "alquilo" substituido o no substituido y "heteroalquilo" substituido o no substituido, respectivamente. Adicionalmente, para heterocicloalquilo, un heteroátomo puede ocupar la posición a la cual el heterociclo está unido al resto de la molécula. Los ejemplos de cicloalquilos incluyen ciclopentilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, 3-ciclohexenilo, cicloheptilo, y similares. Los ejemplos de heterocicloalquilos incluyen, pero sin limitarse a ellos, 1-(1,2,5,6-tetrahidropiridilo), 1-piperidinilo, 2-piperidinilo, 3-piperidinilo, 4-morfolinilo, 3-morfolinilo, tetrahidrofuran-2-ilo, tetrahidrofuran-3-ilo, tetrahidrotien-2-ilo, tetrahidrotien-3-ilo, 1-piperacínilo, 2-piperacínilo. Los heteroátomos y átomos de carbono de las estructuras cíclicas están opcionalmente oxidados.
- Los términos "halo" o "halógeno", por sí mismos o como parte de otro sustituyente, significan, salvo que se establezca lo contrario, un átomo de flúor, cloro, bromo, o yodo. Adicionalmente, los términos tales como "haloalquilo" están destinados a incluir monohaloalquilo y polihaloalquilo. Por ejemplo, el término "halo(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alquilo" se entiende que incluye trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo.
- El término "arilo" significa, salvo que se establezca lo contrario, un sustituyente hidrocarburo, aromático, poliinsaturado substituido o no substituido, el cual puede ser un anillo sencillo o anillos múltiples (preferiblemente desde 1 hasta 3 anillos), los cuales están fusionados conjuntamente o unidos covalentemente. El término "heteroarilo" se refiere a grupos arilo (o anillos) que contienen desde uno hasta cuatro heteroátomos seleccionados entre N, O, y S, en los que los átomos de nitrógeno, carbono y azufre están opcionalmente oxidados, y el átomo de nitrógeno(s) está opcionalmente cuaternizado. Un grupo heteroarilo puede estar unido al resto de la molécula mediante un heteroátomo. Los ejemplos de grupos arilo y heteroarilo incluyen fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 4-bifenilo, 1-pirrolilo, 2-pirrolilo, 3-pirrolilo, 3-pirazolilo, 2-imidazolilo, 4-imidazolilo, piracínilo, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo, 2-fenil-4-oxazolilo, 5-oxazolilo, 3-isoxazolilo, 4-isoxazolilo, 5-isoxazolilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, 5-tiazolilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 5-benzotiazolilo, purinilo, 2-benzimidazolilo, 5-indolilo, 1-isoquinoleilo, 5-isoquinoleilo, 2-quinoxalínilo, 5-quinoxalínilo, 3-quinoleilo, y 6-quinoleilo. Los sustituyentes para cada uno de los sistemas de anillos arilo y heteroarilo anteriormente indicados están seleccionados entre el grupo de sustituyentes aceptables descritos más adelante. "Arilo" y "heteroarilo" abarcan igualmente sistemas de anillos en los cuales uno o más sistemas de anillos no aromáticos están fusionados, o unidos de otra forma, a un sistema arilo o heteroarilo.
- Por motivos de brevedad, la expresión "arilo" cuando se usa en combinación con otras expresiones (por ejemplo, ariloxi, ariltioxi, arilalquilo) incluye ambos anillos arilo y heteroarilo tal como se han definido anteriormente. Así, la expresión "arilalquilo" se entiende que incluye aquellos radicales en los cuales un grupo arilo está unido a un grupo alquilo (por ejemplo, bencilo, fenetilo, piridilmetilo) incluyendo aquellos grupos alquilo en los cuales un átomo de carbono (por ejemplo, un grupo metileno) ha sido reemplazado, por ejemplo, por un átomo de oxígeno (por ejemplo, fenoximetilo, 2-piridiloximetilo, 3-(1-naftiloxi)propilo).
- Cada una de las expresiones anteriores (por ejemplo, "alquilo", "heteroalquilo", "arilo" y "heteroarilo") incluyen tanto formas substituidas como no substituidas del radical indicado. Los sustituyentes preferidos para cada tipo de radical se proporcionan más adelante.
- Los sustituyentes para los radicales alquilo y heteroalquilo (incluyendo aquellos grupos frecuentemente mencionados como alquileo, alqueno, heteroalquileo, heteroalqueno, alquino, cicloalquilo, heterocicloalquilo, cicloalqueno, y heterocicloalqueno) se denominan generalmente como "sustituyentes alquilo" y "sustituyentes heteroalquilo", respectivamente, y pueden ser uno o más de una diversidad de grupos seleccionados entre -OR', =O, =NR', -N-

OR', -NR'R'', -SR', -halógeno, -SiR'R''R''', -OC(O)R', -C(O)R', -CO<sub>2</sub>R', -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR'-C(O)NR'R'', -NR''C(O)<sub>2</sub>R', -NR-C(NR'R''R''')=NR''', -NR-C(NR'R'')=NR''', -S(O)R', -S(O)<sub>2</sub>R', -S(O)<sub>2</sub>NR'R'', -NRSO<sub>2</sub>R', -CN y NO<sub>2</sub> en un número que varía desde cero hasta (2m'+1), en donde m' es el número total de átomos de carbono en dicho radical. R', R'', R''' y R'''' se refieren cada uno de ellos preferiblemente de manera independiente a hidrógeno, heteroalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, por ejemplo, arilo sustituido con 1-3 halógenos, grupos alquilo, alcoxi o tioalcoxi sustituidos o no sustituidos, o grupos arilalquilo. Cuando un compuesto de la invención incluye más de un grupo R, por ejemplo, cada uno de los grupos R está seleccionado de manera independiente tal como cada grupo R', R'', R''' y R''''', cuando está presente más de uno de estos grupos. Cuando R' y R'' están unidos al mismo átomo de nitrógeno, estos pueden combinarse con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 5-, 6- o 7- átomos. Por ejemplo, -NR'R'' se entiende que incluye 1-pirrolidinilo y 4-morfolinilo. A partir de la exposición anterior de sustituyentes, un experto en la técnica entenderá que la expresión "alquilo" está destinada a incluir grupos que incluyen átomos de carbono unidos a grupos distintos de grupos hidrógeno, tales como haloalquilo (por ejemplo, -CF<sub>3</sub> y CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>) y acilo (por ejemplo, -C(O)CH<sub>3</sub>, -C(O)CF<sub>3</sub>, -C(O)CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>).

De manera similar a los sustituyentes descritos para el radical alquilo, los sustituyentes arilo y los sustituyentes heteroarilo se les denominan generalmente como "sustituyentes arilo" y "sustituyentes heteroarilo", respectivamente y son diversos y seleccionados entre, por ejemplo, halógeno, -OR', =O, =NR', -N-OR', -NR'R'', -SR', -halógeno, -SiR'R''R''', -OC(O)R', -C(O)R', -CO<sub>2</sub>R', -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR'-C(O)NR'R'', -NR''C(O)<sub>2</sub>R', -NR-C(NR'R'')=NR''', -S(O)R', -S(O)<sub>2</sub>R', -S(O)<sub>2</sub>NR'R'', -NRSO<sub>2</sub>R', -CN y NO<sub>2</sub>, -R', -N<sub>3</sub>, -CN(Ph)<sub>2</sub>, fluoro(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alcoxi, y fluoro(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alquilo, en un número que varía desde cero hasta el número total de valencias abiertas sobre el sistema de anillo aromático; y en la que R', R'', R''' y R'''' están preferiblemente seleccionadas de manera independiente entre hidrógeno, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)alquilo y heteroalquilo, arilo y heteroarilo no sustituido, (arilo no sustituido)-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alquilo, y (arilo no sustituido)oxi-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alquilo. Cuando un compuesto de la invención incluye más de un grupo R, por ejemplo, cada uno de los grupos R está seleccionado de manera independiente tal como lo son cada grupo R', R'', R''' y R'''' cuando está presente más de uno de estos grupos.

Dos de los sustituyentes arilo sobre átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden opcionalmente ser reemplazados con un sustituyente de la fórmula -T-C(O)-(CRR')<sub>q</sub>-U-, en la que T y U son independientemente -NR-, -O-, -CRR'- o un enlace sencillo, y q es un número entero de desde 0 hasta 3. Como alternativa, dos de los sustituyentes sobre átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden opcionalmente ser reemplazados con un sustituyente de la fórmula -A-(CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>-B-, en la que A y B son independientemente -CRR'-, -O-, -NR-, -S-, -S(O)-, -S(O)<sub>2</sub>-, -S(O)<sub>2</sub>NR'- o un enlace sencillo, y r es un número entero de desde 1 hasta 4. Uno de los enlaces sencillos del nuevo anillo así formado puede opcionalmente ser reemplazado con un doble enlace. Como alternativa, dos de los sustituyentes sobre átomos adyacentes del anillo arilo o heteroarilo pueden opcionalmente ser reemplazados con un sustituyente de la fórmula -C(RR')<sub>s</sub>-X-(CR''R''')<sub>d</sub>-, en la que s y d son independientemente números enteros de desde 0 hasta 3, y X es -O-, -NR'-, -S-, -S(O)-, -S(O)<sub>2</sub>-, o -S(O)<sub>2</sub>NR'-. Los sustituyentes R, R', R'' y R''' están seleccionados preferiblemente de manera independiente entre hidrógeno o (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alquilo sustituido o no sustituido.

Tal como se usa en la presente invención, la expresión "difosfato" incluye un éster de ácido fosfórico que contiene dos grupos fosfato. La expresión "trifosfato" incluye un éster de ácido fosfórico que contiene tres grupos fosfato. Por ejemplo, los fármacos particulares que tienen un difosfato o trifosfato incluyen:



Tal como se usa en la presente invención, la expresión "heteroátomo" incluye oxígeno (O), nitrógeno (N), azufre (S) y silicio (Si).

El símbolo "R" es una abreviatura general que representa un grupo sustituido que está seleccionado entre alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, y grupos heterocíclico sustituidos o no sustituidos.

La expresión "vehículo aceptable farmacéuticamente", tal como se usa en la presente invención, significa un material, composición o vehículo aceptable farmacéuticamente, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material encapsulante, implicado en soportar o transportar un agente químico. Los vehículos aceptables farmacéuticamente incluyen sales aceptables farmacéuticamente, en las cuales la expresión "sales aceptables farmacéuticamente" incluye sales de los compuestos activos que se han preparado con ácidos o bases relativamente no tóxicos, dependiendo de los sustituyentes particulares encontrados sobre los compuestos descritos en la presente invención. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funciones relativamente ácidas, pueden obtenerse sales de adición de base poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, tanto en forma pura como en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición de base aceptables farmacéuticamente incluyen sal de sodio, potasio, calcio, amonio, amino orgánico, o magnesio, o una sal similar. Cuando los compuestos de la presente invención contienen funciones relativamente básicas, pueden obtenerse sales de adición de ácido poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, tanto en forma pura como en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición de ácido aceptables farmacéuticamente incluyen las obtenidas de ácidos inorgánicos del tipo de ácidos clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrógenocarbónico, fosfórico, monohidrógeno-fosfórico, dihidrógenofosfórico, sulfúrico, monohidrógenosulfúrico, yodhídrico, o fosforoso, así como las sales obtenidas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos del tipo acético, propiónico, isobutírico, maléico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, láctico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanosulfónico. Igualmente, se encuentran incluidas las sales de aminoácidos tales como arginato, y sales de ácidos orgánicos del tipo de ácidos glucurónico o galacturónico (véase, por ejemplo, Berge y otros, "Pharmaceutical Salts", *Journal of Pharmaceutical Science*, vol. 66, págs. 1-19, (1977)). Ciertos compuestos específicos de la presente invención contienen tanto funciones ácidas como básicas que permiten convertir los compuestos tanto en sales de adición de ácido como de base.

Las formas neutras de los compuestos se regeneran preferiblemente mediante el contacto de la sal con una base o un ácido y el aislamiento del compuesto principal de la manera convencional. La forma principal del compuesto difiere de las diversas formas de sal en ciertas propiedades físicas, tales como solubilidad en disolventes polares, pero por otra parte las sales son equivalentes a la forma principal del compuesto para los fines de la presente invención.

Además de las formas de sal, la presente invención proporciona compuestos, los cuales están en una forma de profármaco. Los profármacos de los compuestos descritos en la presente invención son aquellos compuestos que fácilmente experimentan cambios químicos bajo condiciones fisiológicas para proporcionar los compuestos de la presente invención. Adicionalmente, los profármacos pueden convertirse en los compuestos de la presente invención mediante procedimientos químicos o bioquímicos en un ambiente *ex vivo*. Por ejemplo, los profármacos pueden convertirse lentamente en los compuestos de la presente invención cuando se colocan en un depósito de parche transdérmico con una enzima o reactivo químico adecuado.

Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y están abarcadas dentro del ámbito de la presente invención. Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y están destinadas a estar dentro del ámbito de la presente invención.

Ciertos compuestos de la presente invención poseen átomos de carbono asimétricos (centros ópticos) o dobles enlaces; los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos e isómeros individuales están abarcados dentro del ámbito de la presente invención.

Igualmente, los compuestos de la presente invención pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más de los átomos que constituyen dichos compuestos. Por ejemplo, los compuestos pueden ser radiomarcados con isótopos radioactivos; tales como, por ejemplo tritio ( $^3\text{H}$ ), yodo-125 ( $^{125}\text{I}$ ) o carbono-14 ( $^{14}\text{C}$ ). Todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, sean o no radioactivos, están destinados a ser abarcados dentro del ámbito de la presente invención.

Tal como se usa en la presente invención, la expresión "grupo de cesión" se refiere a una porción de un substrato que se escinde del substrato en una reacción.

La expresión "anticuerpo" tal como se refiere en la presente invención, incluye anticuerpos enteros y cualquier fragmento de unión de antígeno (es decir, "porción de unión de antígeno") o cadenas sencillas de los mismos. Un "anticuerpo" se refiere a una glucoproteína que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas mediante enlaces disulfuro, o una porción de unión de antígeno de los mismos. Cada cadena pesada



da comprende una región variable de cadena pesada ( $V_H$ ) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$  y pueden ser del isotipo  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\alpha$  o  $\epsilon$ . Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera ( $V_L$ ) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio,  $C_L$ , y puede ser del isotipo  $\kappa$  o  $\lambda$ . Las regiones  $V_H$  y  $V_L$  pueden además subdividirse en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones de determinación de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada  $V_H$  y  $V_L$  está compuesta de tres CDRs y cuatro FRs, dispuestas desde el amino-terminal hacia el carboxi-terminal en el orden siguiente: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar en la unión de la inmunoglobulina con los tejidos o factores huéspedes, incluyendo diversas células del sistema inmune (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (Clq) del sistema complemento clásico.

Las expresiones "fragmento de anticuerpo" o "porción de unión de antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de anticuerpo"), tal como se usa en la presente invención, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retiene la capacidad para unirse específicamente a un antígeno. Se ha mostrado que la función de unión de antígeno de un anticuerpo puede llevarse a cabo mediante fragmentos de un anticuerpo de longitud total. Los ejemplos de fragmentos de unión abarcados dentro de la expresión de "fragmento de anticuerpo" o "porción de unión de anticuerpo" de un anticuerpo incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios  $V_L$ ,  $V_H$ ,  $C_L$  y  $C_{H1}$ ; (ii) un fragmento  $F(ab)_2$ , un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos mediante un puente disulfuro a la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios  $V_H$  y  $C_{H1}$ ; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios  $V_L$  y  $V_H$  de una cola única de un anticuerpo; (v) un fragmento dAb (Ward y otros, *Nature*, vol. 341, págs. 544-546, (1989)), que consiste en un dominio  $V_H$ ; y (vi) una región de determinación de complementariedad aislada (CRD). Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv,  $V_L$  y  $V_H$ , estén codificados por genes separados, pueden unirse, usando procedimientos recombinantes, mediante un ligador sintético que hace posible conformarlos como una cadena de una proteína única, en la cual las regiones  $V_L$  y  $V_H$  se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena única (scFv); véase, por ejemplo, Bird y otros, *Science*, vol. 242, págs. 423-426, (1988); y Huston y otros, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 85, págs. 5879-5883, (1988)). Dichos anticuerpos de cadena única están igualmente destinados a estar abarcados dentro de la expresión "porción de unión de antígeno" de un anticuerpo. Estos fragmentos de anticuerpo se obtienen usando técnicas convencionales conocidos para los expertos en la técnica, y los fragmentos se rastrean para determinar su utilidad de la misma manera que se hace con los anticuerpos intactos.

Las expresiones "anticuerpo monoclonal" tal como se usan en la presente invención, se refieren a una preparación de moléculas de anticuerpos de composición molecular única. Una composición de anticuerpo monoclonal muestra una especificidad y afinidad de unión única para un epítipo particular.

"Soporte sólido", tal como se usa en la presente invención, se refiere a un material que es substancialmente insoluble en un sistema disolvente seleccionado, o el cual puede separarse fácilmente (por ejemplo, mediante precipitación) a partir de un sistema disolvente seleccionado en el cual es soluble. Los soportes sólidos útiles en la puesta en práctica de la presente invención pueden incluir grupos que están activados o capaces de activación para permitir que especies seleccionadas se unan al soporte sólido. Igualmente, un soporte sólido puede ser un sustrato, por ejemplo, un chip, oblea o pocillo, sobre el cual esté unido un compuesto individual, o más de un compuesto, de la invención.

"Grupo funcional reactivo", tal como se usa en la presente invención, se refiere a grupos que incluyen olefinas, acetilenos, alcoholes, fenoles, éteres, óxidos, haluros, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, amidas, cianatos, isocianatos, tiocianatos, isotiocianatos, aminas, hidracinas, hidrazonas, hidrazidas, diazo, diazonio, nitro, nitrilos, mercaptanos, sulfuros, disulfuros, sulfóxidos, sulfonas, ácidos sulfónicos, ácidos sulfínicos, acetales, cetales, anhídridos, sulfatos, ácidos sulfénicos, isonitrilos, amidinas, imidinas, imidatos, nitronas, hidroxilaminas, oximas, ácidos hidroxámicos, ácidos tiohidroxámicos, alenos, orto ésteres, sulfitos, enaminas, inaminas, ureas, pseudoureas, semi-carbazidas, carbodiimidas, carbamatos, iminas, azidas, azo compuestos, azoxi compuestos, y nitroso compuestos. Los grupos reactivos funcionales incluyen igualmente los usados para preparar bioconjugados, por ejemplo, ésteres N-hidroxisuccinimida, maleimidias (véase, por ejemplo, Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, San Diego, (1996)). Los procedimientos para preparar cada uno de estos grupos funcionales son bien conocidos en la técnica y su aplicación o modificación para un fin particular entra dentro de la capacidad de un experto en la técnica (véase, por ejemplo, Sandler y Karo, eds. *Organic Functional Group Preparations*, Academic Press, San Diego, (1989)). Los grupos funcionales reactivos pueden estar protegidos o sin proteger.

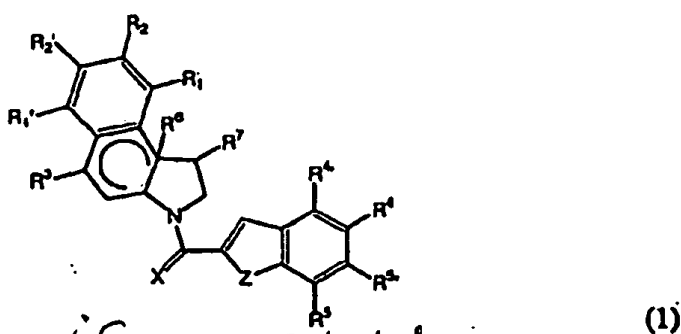
Los compuestos de la invención se preparan como un isómero único (por ejemplo, enantiómero, cis-trans, posicional, diastereómero) o como una mezcla de isómeros. En una realización preferida, los compuestos se preparan como substancialmente un isómero único. Los procedimientos de preparación compuestos puros isoméricamente de manera substancial son conocidos en la técnica. Por ejemplo, pueden prepararse mezclas enriquecidas enantiómericamente y compuestos puros enantioméricos mediante el uso de compuestos intermedios de síntesis que son puros enantioméricamente en combinación con reacciones que, o bien ceden la estereoquímica junto a un centro quiral no cambiado o bien proporcionan su completa inversión. Como alternativa, el producto final o los compuestos intermedios producidos durante las etapas de la síntesis, pueden resolverse en un estereoisómero único. Las técnicas

cas para la inversión o la cesión sin cambiar de un estereocentro particular, y las técnicas para la resolución de mezclas de estereoisómeros son bien conocidas en la técnica y entran dentro de los conocimientos de un experto en la técnica para la elección de un procedimiento apropiado para una situación particular. Véase, de manera general, Furniss y otros, (eds.), *Vogel's Encyclopedia of Practical Organic Chemistry*, 5th ed., Longman Scientific and Technical Ltd., Essex, págs. 809-816, (1991); y Heller, *Acc. Chem. Res.*, vol. 23, pág. 128, (1990).

### Análogos de CBI

Los compuestos descritos en la presente invención son generalmente análogos de CBI, dado que incorporan el dominio de alquilación o la subunidad de alquilación 1,2,9,9a-tetrahidrociclopropa[e]benz[e]indol-4-ona (CBI). Los compuestos pueden usarse como fármacos. Los fármacos preferidos de la actual invención incluyen fármacos citotóxicos útiles en la terapia del cáncer. Los fármacos citotóxicos útiles en la actual invención incluyen, por ejemplo, análogos a base de CBI (1,2,9,9a-tetrahidrociclopropa[c]benz[e]indol-4-ona), análogos a base de MCBI (7-metoxi-1,2,9,9a-tetrahidrociclopropa[c]benz[e]indol-4-ona) y análogos a base de CCBI (7-ciano-1,2,9,9a-tetrahidrociclopropa[c]benz[e]indol-4-ona).

En una realización, un compuesto de la invención tiene la fórmula siguiente (1):



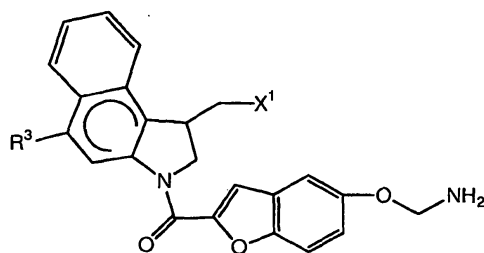
- 15 en la que X está seleccionado entre O, S y NR<sup>23</sup>, en la que NR<sup>23</sup> es un grupo seleccionado entre H, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, y acilo; Z es O;
- R<sup>1</sup> es H, alquilo de C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, C(O)R<sup>8</sup>, o CO<sub>2</sub>R<sup>8</sup>;
- R<sup>1'</sup> es H, alquilo de C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, o C(O)R<sup>8</sup>;
- 20 cada R<sup>3</sup> es un miembro independientemente seleccionado entre NR<sup>9</sup>R<sup>10</sup> y OR<sup>9</sup> y R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup> son miembros independientemente seleccionados entre H, alquilo sustituido o no sustituido y heteroalquilo sustituido o no sustituido;
- R<sup>2</sup> es H, alquilo de C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, heteroalquilo no sustituido, ciano, o alcoxi;
- R<sup>2'</sup> es H, alquilo de C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, o heteroalquilo no sustituido;
- 25 R<sup>3</sup> es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en SR<sup>11</sup>, NHR<sup>11</sup> y OR<sup>11</sup>, en el que R<sup>11</sup> es un grupo seleccionado entre el grupo que consiste en H, alquilo sustituido, alquilo no sustituido, heteroalquilo sustituido, heteroalquilo no sustituido, difosfatos, trifosfatos, acilo, C(O)R<sup>12</sup>R<sup>13</sup>, C(O)OR<sup>12</sup>, C(O)NR<sup>12</sup>R<sup>11</sup>, P(O)(OR<sup>12</sup>)<sub>2</sub>, C(O)CHR<sup>12</sup>R<sup>13</sup>, SR<sup>12</sup> y SiR<sup>12</sup>R<sup>13</sup>R<sup>14</sup>, en el que R<sup>12</sup>, heteroalquilo sustituido o no sustituido o arilo no sustituido, o R<sup>12</sup> y R<sup>13</sup> conjuntamente con el átomo de nitrógeno o de carbono al cual está unidos se unen para formar un sistema de anillo heterocicloalquilo sustituido o no sustituido que tiene desde 4 hasta 6 átomos, conteniendo opcionalmente dos o más heteroátomos;
- 30 R<sup>6</sup> es un enlace sencillo es cual está o bien presente o ausente y, cuando está presente R<sup>6</sup> y R<sup>7</sup> se unen para formar un anillo ciclopropilo; y
- R<sup>7</sup> es CH<sub>2</sub>-X<sup>1</sup> o -CH<sub>2</sub>- unidos en dicho anillo ciclopropilo con R<sup>6</sup>, en el que X<sup>1</sup> es un grupo de cesión;
- 35 R<sup>4</sup>, R<sup>4'</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>5'</sup> son miembros independientemente seleccionados entre el grupo que consiste en H, alquilo sustituido, alquilo no sustituido, arilo sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo sustituido, heteroarilo no sustituido, heterocicloalquilo sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, halógeno, NO<sub>2</sub>, NR<sup>15</sup>R<sup>16</sup> NC(O)R<sup>15</sup>, OC(O)NR<sup>15</sup>R<sup>16</sup>, OC(O)OR<sup>15</sup>, C(O)R<sup>15</sup>, SR<sup>15</sup>, OR<sup>15</sup>, CR<sup>15</sup>=NR<sup>16</sup>, y O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NR<sup>24</sup>R<sup>25</sup>, en el que n es un número entero desde 1 hasta 20, preferiblemente, n es un número entero desde 2 hasta 6;
- 40 R<sup>15</sup> y R<sup>16</sup> están independientemente seleccionados entre H, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido y peptidilo sustituido o no sustituido, en el que R<sup>15</sup> y R<sup>16</sup> conjuntamente con el átomo de nitrógeno al cual están unidos están opcionalmente unidos para formar un sistema de anillo heterocicloalquilo sustituido o no sustituido que tiene desde 4 hasta 6 átomos, opcionalmente conteniendo dos o más heteroátomos;

y  $R^{24}$  y  $R^{25}$  están independientemente seleccionados entre hidrógeno y alquilo no sustituido, en el que al menos uno de  $R^{24}$  y  $R^{25}$  es hidrógeno, y

en el que al menos uno de  $R^4$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  y  $R^5$  es  $O(CH_2)_nNR^{24}R^{25}$ .

5 Tal como se ha expuesto anteriormente,  $X^1$  puede ser un grupo de cesión. Los grupos de cesión útiles incluyen halógenos, azidas, ésteres sulfónicos (por ejemplo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo), iones oxonio, percloratos de alquilo, ésteres de amonioalcanosulfonatos, alquilfluorosulfonatos y compuestos fluorados (por ejemplo, triflatos, nonaflatos, tresilatos). Los halógenos particularmente útiles como grupos de cesión son F, Cl y Br. La elección de estos y otros grupos de cesión apropiados para un conjunto de condiciones de reacción particulares, entra dentro de los conocimientos del experto en la técnica (véanse, por ejemplo, March, J., Advanced Organic Chemistry, 2nd. Edition, John Wiley and Sons, (1992); Sandler, SR., Karo, W., Organic Functional Group Preparations, 2nd Edition, Academic Press, Inc., (1983); y Wade, LG., Compendium of Organic Synthetic Methods, John Wiley and Sons, (1980)).

Una realización preferida del compuesto de la reivindicación 1 es la siguiente:



#### Formulaciones farmacéuticas y administración

15 En otra realización preferida, la presente invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un vehículo aceptable farmacéuticamente.

20 Los compuestos descritos en la presente invención que incluyen vehículos aceptables tales como sales de adición o hidratos de las mismas, pueden suministrarse a un paciente usando una amplia diversidad de vías o modos de administración. La vías adecuadas de administración incluyen la administración por inhalación, transdérmica, oral, rectal, transmucosal, intestinal y parenteral, incluyendo las inyecciones intramusculares, subcutáneas e intravenosas. Preferiblemente, los conjugados de la invención se administran parenteralmente, más preferiblemente intravenosamente.

25 Tal como se usa en la presente invención, las expresiones "se administran" o "administración" están destinadas a abarcar todos los medios para el suministro directamente o indirectamente de un compuesto a su sitio destinado de acción.

Los compuestos descritos en la presente invención, o sales aceptables farmacéuticamente y/o hidratos de las mismas, pueden administrarse individualmente, en combinación con otros compuestos de la invención, y/o en cócteles combinados con otros agentes terapéuticos. Por supuesto, la elección de los agentes terapéuticos que pueden co-administrarse con los compuestos de la invención, dependerá, en parte, del estado a ser tratado.

30 Por ejemplo, cuando se administran a pacientes que sufren de un estado de enfermedad causado por un organismo que depende de un autoinductor, los compuestos de la invención pueden administrarse en cócteles conteniendo agentes usados para tratar el dolor, infección y otros síntomas y efectos secundarios comúnmente asociados con la enfermedad. Dichos agentes incluyen, por ejemplo, analgésicos, antibióticos, etc.

35 Cuando se administran a un paciente que conlleva el tratamiento del cáncer, los compuestos pueden administrarse en cócteles conteniendo agentes anti-cáncer y/o agentes de potenciación suplementarios. Igualmente, los compuestos pueden administrarse en cócteles conteniendo agentes que tratan los efectos secundarios de la terapia de radiación, tales como anti-eméticos, protectores de la radiación, etc.

40 Los agentes de potenciación suplementarios que pueden co-administrarse con los compuestos de la invención incluyen, por ejemplo, fármacos anti-depresivos tricíclicos (por ejemplo, imipramina, desimipramina, amitriptilina, clomipramina, trimipramina, doxepina, nortriptilina, protriptilina, amoxapina y maprotilina); fármacos anti-depresivos no tricíclicos (por ejemplo, sertralina, trazodona, y citalopram); antagonistas de  $Ca^{2+}$  (por ejemplo, verapamil, nifedipina, nitrendipina y caroverina); amfotericina; análogos de triparanol (por ejemplo, tamoxifeno); fármacos anti-arrítmicos (por ejemplo, quinidina); fármacos antihipertensivos (por ejemplo, reserpina); reductores tiol (por ejemplo, butionina y sulfoximina) y leucovorin calcio.

5 El compuesto(s) activo de la invención se administra *per se* o en la forma de una composición farmacéutica en la que el compuesto(s) activo está mezclado con uno o más vehículos, excipientes o diluyentes aceptables farmacéuticamente. Las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención están típicamente formuladas de una manera convencional usando uno o más vehículos aceptables fisiológicamente que comprenden excipientes y productos auxiliares, los cuales facilitan la transformación de los compuestos activos en preparaciones, las cuales pueden usarse farmacéuticamente. La formulación más adecuada depende de la vía de administración elegida.

Para administración transmucosal, se usan en la formulación penetradores apropiados para la barrera a permear. Dichos penetradores son generalmente conocidos en la técnica.

10 Para administración oral, los compuestos pueden formularse fácilmente combinando el compuesto(s) activo con vehículos aceptables farmacéuticamente bien conocidos en la técnica. Dichos vehículos hacen posible que los compuestos de la invención sean formulados como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, mezclas pastosas, suspensiones y similares, para ingestión oral por un paciente a tratar. Si se desea obtener comprimidos o núcleos de grageas, pueden obtenerse preparaciones farmacéuticas para uso oral con excipiente sólido, moliendo opcionalmente una mezcla resultante, y tratando la mezcla de gránulos, después de la adición de los productos auxiliares adecuados. Los excipientes adecuados son, en particular, cargas tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol, o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, carboximetilcelulosa sódica, y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, pueden agregarse agentes de desintegración, tales como la polivinil pirrolidona reticulada, agar, o ácido algínico o una sal del mismo tal como alginato sódico.

Los núcleos de grageas se suministran con recubrimientos adecuados. Para este fin, pueden usarse soluciones de azúcar concentradas, las cuales opcionalmente contienen goma arábiga, talco, polivinil pirrolidona, gel carboxipol, polietileno glicol, y/o dióxido de titanio, soluciones de lacas, y disolventes orgánicos o mezclas disolventes adecuadas. Pueden agregarse colorantes y pigmentos a los recubrimientos de comprimidos o grageas para identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuesto activo.

Las preparaciones farmacéuticas, las cuales pueden usarse oralmente, incluyen cápsulas adaptables hechas de gelatina, así como cápsulas selladas, blandas, hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas adaptables pueden contener los ingredientes activos mezclados con cargas tal como lactosa, aglomerantes tal como almidones, y/o lubricantes tal como talco o estearato magnésico y, opcionalmente, estabilizadores. En las cápsulas blandas, los compuestos activos pueden estar disueltos o suspendidos en líquidos adecuados, tal como aceites grasos, parafina líquida, o polietileno glicoles líquidos. Además, pueden agregarse estabilizadores. Todas las formulaciones para administración oral deberían estar en dosificaciones adecuadas para dicha administración.

Para administración bucal, las composiciones pueden adoptar la forma de comprimidos o pastillas formuladas de manera convencional.

35 Para administración mediante inhalación, los compuestos para uso de acuerdo con la presente invención se suministran de manera conveniente en la forma de una presentación en de espray en aerosol a partir de envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse disponiendo una válvula para suministrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para uso en un inhalador o insuflador pueden formularse conteniendo una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Los compuestos pueden formularse para administración parenteral mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección de bolo o infusión continua. La inyección es un procedimiento preferido de administración para los compuestos de la actual invención. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en envases multi-dosis, con un conservante agregado. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o pueden agregarse agentes de dispersión, tales como polivinil pirrolidona reticulada, agar, o ácido algínico o una sal del mismo tal como alginato sódico.

Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. Adicionalmente, pueden prepararse suspensiones de los compuestos activos tal como suspensiones para inyección aceitosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tal como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones para inyección acuosas pueden contener sustancias, las cuales aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetil celulosa sódica, sorbitol, o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener también estabilizadores o agentes adecuados, los cuales aumentan la solubilidad de los compuestos con el fin de permitir la preparación de soluciones altamente concentradas. Para inyección, los agentes de la invención pueden formularse en soluciones acuosas, preferiblemente en tampones compatibles fisiológicamente tal como solución de Hank, solución de Ringer, o tampón salino fisiológico.

Como alternativa, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua libre de pirógenos, antes de su uso.

Igualmente, los compuestos pueden formularse en composiciones rectales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, conteniendo bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

- 5 Además de las formulaciones descritas previamente, los compuestos pueden igualmente formularse como una preparación depósito. Dichas formulaciones de larga actuación, pueden administrarse mediante implantación o suministro transcutáneo (por ejemplo, subcutáneamente o intramuscularmente), inyección intramuscular o parche transdérmico. Así, por ejemplo, los compuestos pueden formularse con materiales polímeros o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o en resinas de intercambio de iones, o como derivados escasamente solubles, por ejemplo, sal escasamente soluble.
- 10

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender igualmente vehículos o excipientes en fase gel o sólida adecuados. Los ejemplos de dichos vehículos o excipientes incluyen carbonato cálcico, fosfato cálcico, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina, y polímeros tales como polietileno glicoles.

- 15 Una composición farmacéutica preferida es una composición formulada para inyección tal como inyección intravenosa, e incluye aproximadamente 0,01% hasta aproximadamente 100% en peso del conjugado de fármaco, en base a 100% en peso de la composición farmacéutica total. El conjugado de fármaco puede ser un conjugado anticuerpo-citotoxina en el que el anticuerpo ha sido seleccionado para identificar un cáncer particular.

### **Procedimientos de uso de fármacos**

- 20 La actual invención es particularmente útil para el tratamiento de cáncer y para la inhibición de la multiplicación de una célula de tumor o una célula de cáncer en un animal. El cáncer, o un estado pre-canceroso, incluyendo un tumor, metástasis, o cualquier enfermedad o trastorno caracterizado por el crecimiento incontrolado de células, pueden ser tratados o prevenidos mediante la administración del fármaco.

- 25 Los ejemplos representativos de estados pre-cancerosos a los cuales puede dirigirse la presente invención, incluyen metaplasia, hiperplasia, displasia, pólipos colorectales, queratosis actínica, queilitis actínica, papilomavirus humano, leucoplaquia, liquen plano y enfermedad de Bowen.

Los ejemplos representativos de cáncer o tumores a los que puede dirigirse la presente invención incluyen: cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de próstata, linfoma, melanoma, cáncer de pecho, cáncer de ovarios, cáncer testicular, cáncer CNS, cáncer renal, cáncer de riñón, cáncer pancreático, cáncer de estómago, cáncer oral, cáncer nasal, cáncer cervical y leucemias.

- 30 Los compuestos de la presente invención pueden usarse en un procedimiento de destrucción de una célula. El procedimiento incluye la administración a la célula de una cantidad de un compuesto de la invención suficiente como para destruir dicha célula. En una realización a modo de ejemplo, el compuesto se administra a un sujeto que porta la célula. En una realización a modo de ejemplo adicional, la administración sirve para retardar o parar el crecimiento de un tumor que incluye la célula (por ejemplo, la célula puede ser una célula de tumor). Para la administración para retardar el crecimiento, la velocidad de crecimiento de la célula debería ser al menos el 10% menor que la velocidad de crecimiento antes de la administración. Preferiblemente, la velocidad de crecimiento se retardará al menos el 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, o se parará completamente.
- 35

### **Dosificaciones eficaces**

- 40 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso con la presente invención incluyen composiciones en las que el ingrediente activo está contenido en una cantidad eficaz terapéuticamente, es decir, en una cantidad eficaz para lograr su fin deseado. La cantidad eficaz real para una aplicación particular dependerá, *inter alia*, del estado a tratar. La determinación de una cantidad eficaz entra dentro de los conocimientos de los expertos en la técnica, especialmente a la luz de la divulgación detallada en la presente invención.

- 45 Para cualquier compuesto descrito en la presente invención, la cantidad eficaz terapéuticamente puede ser inicialmente determinada a partir de ensayos de cultivo de células. La concentración de plasma diana serán aquellas concentraciones de compuesto(s) activo que sean capaces de inhibición del crecimiento o división de la célula. En realizaciones preferidas, la actividad celular está inhibida al menos el 25%. Las concentraciones en plasma diana del compuesto(s) activo que son capaces de inducir al menos aproximadamente el 50%, 75%, o incluso 90% o más de inhibición de la actividad celular son actualmente preferidas. El porcentaje de inhibición de la actividad celular en el
- 50 paciente puede monitorizarse con el fin de comprobar la idoneidad de la concentración de fármaco en plasma lograda, y la dosificación puede ajustarse en más o en menos para lograr el porcentaje de inhibición deseado.

Como es bien conocido en la técnica, las cantidades eficaces terapéuticamente para uso en humanos pueden también determinarse a partir de modelos animales. Por ejemplo, puede formularse una dosis para humanos para lograr una concentración en circulación que se ha encontrado que es eficaz en animales. La dosificación en humanos pue-

de ajustarse mediante la monitorización de la inhibición celular y ajustando la dosificación en más o en menos, tal como se ha descrito anteriormente.

5 Una dosis eficaz terapéuticamente puede determinarse también a partir de datos de humanos para compuestos que se sabe que muestran actividades farmacológicas similares. La dosis aplicada puede ajustarse en base a la biodisponibilidad y potencia relativa del compuesto administrado, en comparación con el compuesto conocido.

El ajuste de la dosis con el fin de lograr la máxima eficacia en humanos en base a los procedimientos descritos anteriormente y a otros procedimientos bien conocidos en la técnica entra dentro de los conocimientos del técnico experto normal.

10 En el caso de administración local, la concentración circulante sistémica del compuesto administrado no será de importancia particular. En dichos casos, el compuesto se administra con el fin de lograr una concentración en el área local eficaz para alcanzar el resultado deseado.

Para uso en la profilaxis y/o el tratamiento de enfermedades relacionadas con una proliferación celular anormal, se prefiere una concentración circulante del compuesto administrado de aproximadamente 0,001  $\mu\text{M}$  hasta 20  $\mu\text{M}$ , siendo preferida de 0,01  $\mu\text{M}$  a 5  $\mu\text{M}$ .

15 Las dosis para pacientes para administración oral de los compuestos descritos en la presente invención, varían típicamente desde 1 mg/día hasta 10.000 mg/día, más típicamente desde aproximadamente 10 mg/día hasta 1.000 mg/día, y lo más típicamente desde 50 mg/día hasta 500 mg/día. Expresado en términos de peso corporal del paciente, las dosificaciones típicas varían desde 0,01 hasta 150 mg/kg/día, más típicamente desde 0,1 hasta mg/kg/día, y lo más típicamente desde 1 hasta 10 mg/kg/día, por ejemplo 5 mg/kg/día o 3 mg/kg/día.

20 En al menos algunas realizaciones, las dosis para pacientes que retardan o inhiben el crecimiento de tumores pueden ser de 1  $\mu\text{mol/kg/día}$  o menor. Por ejemplo, las dosis para pacientes pueden ser de 0,9, 0,6, 0,5, 0,45, 0,3, 0,2, 0,15, ó 0,1  $\mu\text{mol/kg/día}$  o menor (referida a moles del fármaco) del fármaco o un conjugado del fármaco, tal como un conjugado anticuerpo-fármaco. Preferiblemente, el fármaco o conjugado de fármaco actúa sobre el crecimiento del tumor cuando se administra en la cantidad de dosificación diaria durante un período de al menos cinco días. En al menos algunas realizaciones, el tumor es un tumor de tipo humano en un ratón SCID. Como un ejemplo, el ratón SCID puede ser un ratón CB17.SCID (disponible de Taconic, Germantown, NY).

25 Para otros modos de administración, la cantidad y el intervalo de dosificación pueden justarse individualmente para proporcionar niveles en plasma del compuesto administrado eficaces para la indicación clínica particular a tratar. Por ejemplo, en una realización, puede administrarse un compuesto de acuerdo con la invención en concentraciones relativamente altas en múltiples veces por día. Como alternativa, puede ser más deseable administrar un compuesto de la invención a concentraciones eficaces mínimas y usar un régimen de administración menos frecuente. Esto proporcionará un régimen terapéutico proporcional con la severidad de la enfermedad del individuo.

30 Usando los preceptos proporcionados en la presente invención, puede planificarse un régimen de tratamiento terapéutico eficaz que no cause toxicidad substancial y que sea sin embargo totalmente eficaz para tratar los síntomas clínicos demostrados por el paciente particular. Esta planificación debería implicar la cuidadosa elección del compuesto activo considerando factores tales como potencia del compuesto, biodisponibilidad relativa, peso corporal del paciente, presencia y severidad de efectos secundarios adversos, modo preferido de administración y el perfil de toxicidad del agente seleccionado.

35 Los compuestos, composiciones y procedimientos de la presente invención se ilustran adicionalmente mediante los ejemplos que siguen a continuación. Estos ejemplos se ofrecen con el fin de ilustrar la invención reivindicada.

## Ejemplos

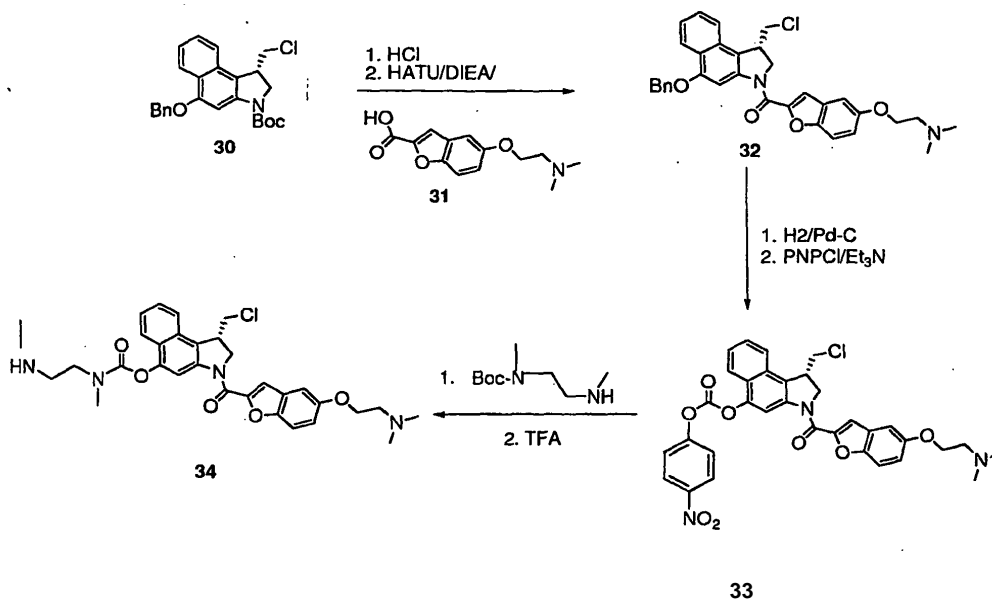
### Material y Procedimientos

45 En los ejemplos que figuran más adelante, salvo que se indique lo contrario, las temperaturas están expresadas en grados Celsius ( $^{\circ}\text{C}$ ); las operaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente (típicamente a un intervalo de desde aproximadamente 18-25 $^{\circ}\text{C}$ ); la evaporación del disolvente se llevó a cabo usando un evaporador rotatorio bajo presión reducida (típicamente, 4,5-30 mmHg) con una temperatura del baño de hasta 60 $^{\circ}\text{C}$ ; el trascurso de las reacciones se siguió típicamente mediante TLC y los tiempos de reacción se dan únicamente con fines ilustrativos; los puntos de fusión están sin corregir; los productos mostraron datos mediante RMN- $^1\text{H}$  y/o microanalíticos satisfactorios; los rendimientos se proporcionan únicamente con fines ilustrativos; igualmente, se usaron las abreviaturas convencionales siguientes: p.fus (punto de fusión), l (litro(s)), ml (lilitros), mmol ((milimoles), g (gramos), mg (miligramos), min (minutos), LC-MS (cromatografía líquida-espectrometría de masa) y h (horas).

50 Los espectros de RMN- $^1\text{H}$  se midieron sobre un espectrómetro Varian Mercury 300 MHz y estuvieron de acuerdo con las estructuras asignadas. Los desplazamientos químicos se informaron en partes por millón (ppm) con excitación atenuada a partir de tetrametilsilano. Los espectros de masa por electropulverización se registraron sobre un espectrómetro de masa Perkin Elmer Sciex API 365. Los análisis elementales fueron realizados por los Robertson

Microlit Laboratorios, Madison, NJ. El gel de sílice para la cromatografía ultrarrápida fue de Merck grado E (malla 230-400). La HPLC analítica de fase inversa se llevó a cabo o bien sobre un instrumento HP 1100 o bien Varian ProStar 210 con una columna Phenomenex Lunar de 5  $\mu\text{m}$  C-18(2) de 150 mm x 4,6 mm o una columna Varian Microsorb-MV de 0,1  $\mu\text{m}$  C-18 de 150 mm x 4,6 mm. La velocidad de flujo de 1 ml/min se llevó a cabo con un gradiente de 0% a 50% de tampón B durante 15 minutos o de 10% a 100% de tampón B durante 10 minutos, con detección mediante UV a 254 nm. Tampón A: formiato amónico 20 mM + acetonitrilo al 20% o ácido trifluoroacético al 0,1% en acetonitrilo; tampón B: formiato amónico 20 mM + acetonitrilo al 80% o ácido trifluoroacético acuoso al 0,1%. La HPLC preparativa de fase inversa se realizó sobre un instrumento Varian ProStar 215 con una columna Delta Park de 15  $\mu\text{m}$  C-18 de 300 mm x 7,8 mm.

### 10 Ejemplo de referencia 1



#### Síntesis del Compuesto 32

A una solución del Compuesto **30** (120 mg, 0,28 mmol) en acetato de etilo (10 ml), se borboteó HCl gaseoso durante 5 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante otros 30 minutos y, a continuación, la mezcla se concentró. Se agregó éter a la mezcla de reacción y el precipitado de color blanco se recogió sobre un embudo de filtración. El sólido se secó durante una noche bajo vacío, proporcionando 100 mg del producto deseado, el cual se confirmó mediante LC-MS (ESI) 324 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ) y se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional. A una solución de este compuesto (100 mg, 0,24 mmol) en DMF (5 ml) se agregó el Compuesto **31** (65 mg, 0,26 mmol), HATU (100 mg, 0,26 mmol) y TEA (91  $\mu\text{l}$ , 0,52 mmol). La mezcla así obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó sobre HPLC semi-preparativa con TFA al 0,1% en agua y acetonitrilo como eluyente, proporcionando el Compuesto **32** en forma de un aceite (110 mg, 80%). El producto deseado se confirmó mediante LC-MS 555 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

#### Síntesis del Compuesto 33

Un solución del Compuesto **32** (110 mg, 0,2 mmol) en paladio sobre carbón vegetal (20 mg) en DCM (10 ml) en metanol (5 ml) se agitó bajo presión atmosférica de hidrógeno a temperatura ambiente durante 12 horas. El paladio se filtró y la mezcla de reacción se concentró y el residuo se purificó sobre HPLC semi-preparativa con TFA al 0,1% en agua y acetonitrilo como eluyente, proporcionando el compuesto deseado en forma de un aceite (80 mg, 78%). LC-MS (ESI) 465 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ). A una solución del residuo (80 mg, 0,17 mmol) en diclorometano (10 ml) y THF (5 ml) se agregó PNPCI (cloroformiato de 4-nitrofenilo) (137 mg, 0,68 mmol) y trietilamina (144  $\mu\text{l}$ , 1,02 mmol) a 0°C. La mezcla así obtenida se agitó durante 30 minutos a 0°C y, a continuación, a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla de reacción se concentró bajo vacío, y el residuo se precipitó usando éter etílico (100 ml), proporcionando el compuesto **33** en forma de un sólido de color amarillo (90 mg, 82%), el cual se secó bajo vacío y se confirmó mediante LC-MS (ESI) 631 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

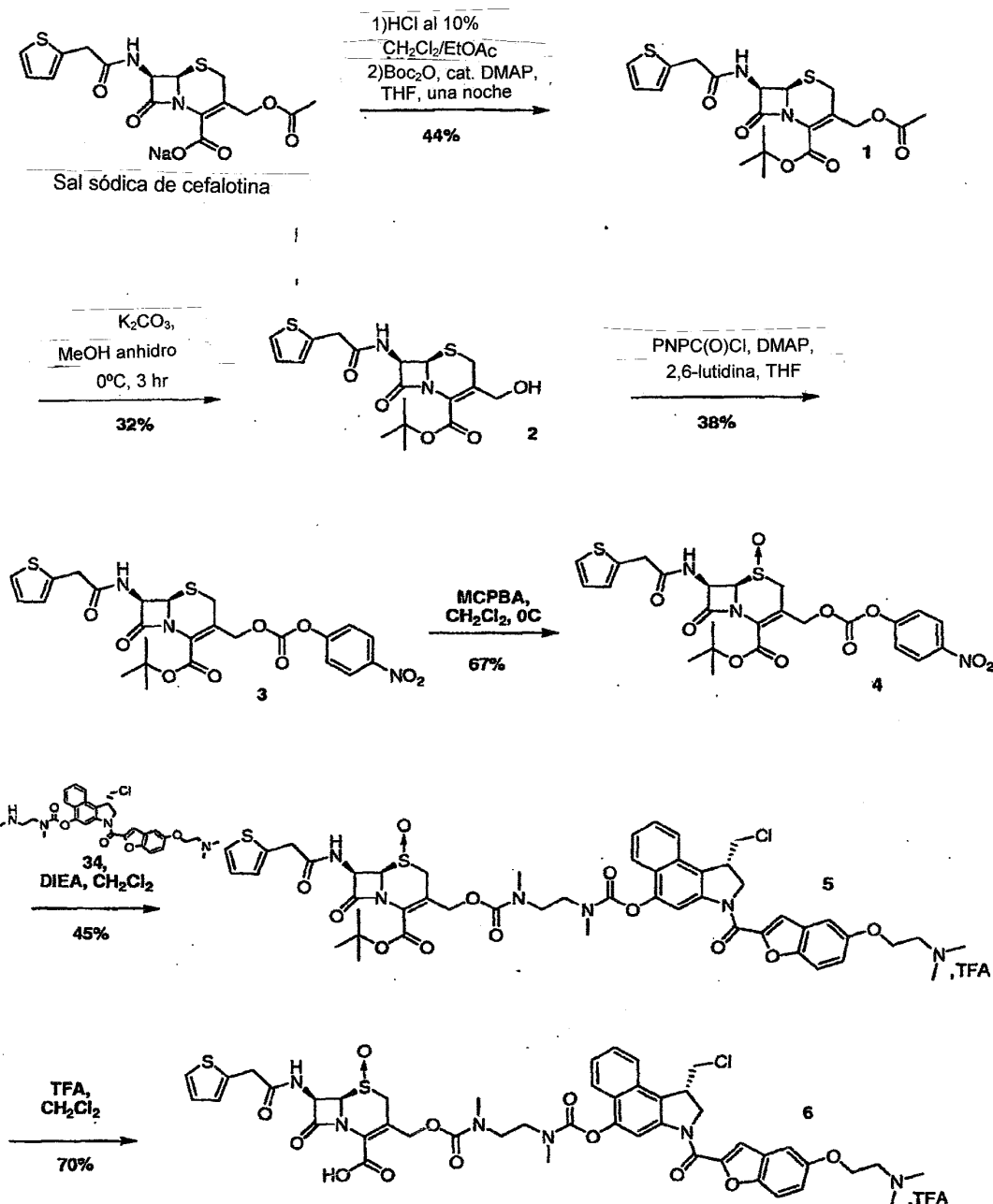
#### Síntesis del Compuesto 34

A una solución del Compuesto **33** (60 mg, 0,1 mmol) en diclorometano (10 ml), se agregó Boc-N,N-dimetil etil diamina (84 mg, 0,38 mmol) y trietilamina (26  $\mu\text{l}$ , 0,1 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla así obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla de reacción se concentró bajo vacío, y el residuo se precipitó usando éter etílico (100 ml), proporcionando el Compuesto Boc-prottegido **34**, el cual se usó para la etapa siguiente sin purificación adicional. El Compuesto Boc-prottegido **34** se disolvió en 10 ml de TFA y la mezcla de reacción se

agitó a temperatura ambiente durante 60 minutos. La mezcla de reacción se concentró bajo vacío, y el residuo se precipitó usando éter etílico (100 ml), proporcionando el Compuesto **34** en forma de un sólido de color amarillo, el cual se secó bajo vacío y se confirmó mediante LC-MS 631 ( $M+H^+$ ).

### Ejemplo de referencia 2

5



### Síntesis del Compuesto 1

10

Se disolvió sal sódica de cefalotina (0,5 g, 1,2 mol) en agua (10 ml) y se vertió en un embudo de separación. La solución se acidificó con solución acuosa de HCl 1 N y el compuesto deseado se extrajo con diclorometano (100 ml) y acetato de etilo (40 ml). La capa orgánica se secó sobre  $Na_2SO_4$  anhidro, se filtró y se concentró hasta sequedad, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de sólido de color blanco (474 mg, 99%). A una solución del compuesto de color blanco (1,2 mmol) y *tert*- $Boc_2O$  (0,3 g, 1,37 mmol) en tetrahydrofurano (20 ml), se agregó dimetilaminopiridina (15 mg, 0,12 mmol). La mezcla así obtenida se secó a temperatura ambiente durante una noche. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó sobre HPLC semi-preparativa con TFA al 0,1% en agua y acetonitrilo



como eluyente, proporcionando el compuesto en forma de un aceite (238 mg, 44%). RMN-<sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ 1,49 (s, 9H), 2,05 (s, 3H), 3,80 (s, 2H), 4,60 (d, 1H), 4,77 (d, 1H), 4,93 (d, 1H), 5,28 (d, 1H), 5,49 (m, 1H), 6,59 (s, 1H), 6,96 (m, 2H), 7,27 (dd, 1H), 9,18 (d ancho, 1H); LC-MS (ESI) 453 (M+H<sup>+</sup>), 475 (M+Na<sup>+</sup>), 491 (M+K<sup>+</sup>).

### Síntesis del Compuesto 2

- 5 A una solución del Compuesto **1** (204 mg, 0,45 mmol) en methanol (40 ml), se agregó carbonato potásico (25 mg, 0,18 mmol) a 0°C. La mezcla así obtenida se agitó durante 3 horas. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido acético (600 µl) y se concentró. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó sobre HPLC semi-preparativa con TFA al 0,1% en agua y acetonitrilo como eluyente, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un aceite (56 mg, 32%). RMN-<sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ 1,49 (s, 9H), 3,80 (s, 2H), 4,15 (m, 2H), 4,95 (d, 1H), 5,28 (d, 1H), 5,46 (m, 1H), 6,39 (d, 1H), 6,95 (m, 2H), 7,26 (m, 1H), 9,09 (d ancho, 1H); LC-MS (ESI) 410 (M+H<sup>+</sup>), 433 (M+Na<sup>+</sup>), 449 (M+K<sup>+</sup>).

### Síntesis del Compuesto 3

- 15 A una solución del Compuesto **2** (15 mg, 0,036 mmol) en THF (0,2 ml), se agregó dimetilaminopiridina (0,13 mg, 0,001 mmol), cloroformiato de para-nitrofenilo (11 mg, 0,054 mmol) y 2,6-lutidina (6,4 µl, 0,054 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla así obtenida se agitó durante una noche. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó sobre HPLC semi-preparativa con TFA al 0,1% en agua y acetonitrilo como eluyente, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un aceite (8 mg, 38%). RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,49 (s, 9H), 3,88 (s, 2H), 4,76 (d, 1H), 4,94 (d, 1H), 4,95 (s, 1H), 5,29 (m, 1H), 5,67 (m, 1H), 6,41 (d, 1H), 6,52 (s, 1H), 7,00 (m, 2H), 7,28 (m, 1H), 7,37 (dd, 2H), 8,29 (dd, 2H); LC-MS (ESI) 575 (M+H<sup>+</sup>), 598 (M+Na<sup>+</sup>), 614 (M+K<sup>+</sup>).

### Síntesis del Compuesto 4

- 20 A una solución del Compuesto **3** (18 mg, 0,031 mmol) en diclorometano (0,5 ml) enfriado a 0°C, se agregó ácido *m*-cloroperóxibenzoico (9 mg, 0,052 mmol). La mezcla así obtenida se agitó durante 2 horas a 0°C. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó sobre HPLC semi-preparativa con TFA al 0,1% en agua y acetonitrilo como eluyente, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un aceite (12 mg, 67%). RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,54 (s, 9H), 3,31 (d, 1H), 3,87 (s, 2H), 3,88 (d, 1H), 4,53 (d, 1H), 4,88 (d, 1H), 4,59 (d, 1H), 6,10 (dd, 1H), 6,92 (d, 1H), 6,99 (m, 2H), 7,27 (d, 1H), 7,37 (dd, 2H), 8,28 (d, 2H); LC-MS (ESI) 591 (M+H<sup>+</sup>), 614 (M+Na<sup>+</sup>), 630 (M+K<sup>+</sup>).

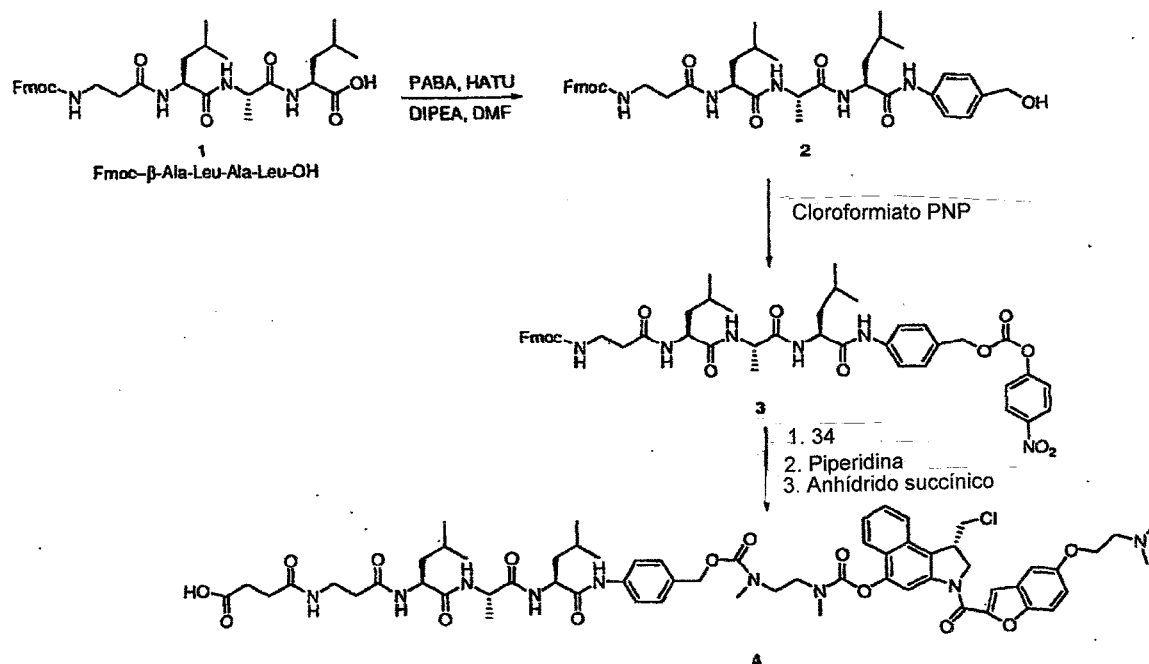
### Síntesis del Compuesto 5

- 30 A una solución del Compuesto **34** (11 mg, 0,013 mmol) en dimetilformamida al 10% en diclorometano (0,2 ml), se agregó una solución del Compuesto **4** (10 mg, 0,017 mmol) en diclorometano (0,2 ml) y diisopropiletilamina (3,5 µl, 0,020 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla así obtenida se agitó durante una noche. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó sobre HPLC semi-preparativa con TFA al 0,1% en agua y acetonitrilo como eluyente, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un aceite (7 mg, 45%). LC-MS (ESI) 1031 (M+H<sup>+</sup>), 1054 (M+Na<sup>+</sup>), 1070 (M+K<sup>+</sup>).

### Síntesis del Compuesto 6

- 35 A una solución del Compuesto **5** (6,5 mg, 0,0056 mmol) en diclorometano (0,2 ml), se agregó ácido trifluoroacético (0,1 ml) a 0°C. La mezcla así obtenida se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó sobre HPLC semi-preparativa con TFA al 0,1% en agua y acetonitrilo como eluyente, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un aceite (4 mg, 70%). LC-MS (ESI) 975 (M+H<sup>+</sup>), 998 (M+Na<sup>+</sup>), 1014 (M+K<sup>+</sup>).

### Ejemplo de referencia 3



### Síntesis del Compuesto 2

En un matraz de fondo redondo de 50 ml equipado con varilla de agitación y entrada de nitrógeno, se disolvió Fmoc-βAlaLeuAlaLeu-OH (5 g, 0,0082 mol, Abbott Labs) en DMF (30 ml). Se agregó HATU (3,13 g, 0,0082 mol) y, a continuación, DIPEA (2,86 ml, 0,0164 mol) y la solución se agitó durante 10 minutos. Se agregó alcohol 4-aminobencílico (1,5 g, 0,0122 mol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. El disolvente se concentró en vacío y el residuo se disolvió en DMF (20 ml). El producto se precipitó con éter dietílico (200 ml) y se recogió por filtración, proporcionando 4,5 g (77%) de producto. El producto se confirmó por espectroscopia de masa:  $m/z$  714,4  $[M+1]^+$ .

### Síntesis del Compuesto 3

En un matraz de fondo redondo de 25 ml equipado con varilla de agitación y entrada de nitrógeno, se disolvió el Compuesto 2 (0,3 g, 0,4 mol) en 1,5 ml de DMF. Se agregó una solución 1:1 de DCM/THF, seguido de cloroformiato de 4-nitrofenilo (0,2 g, 1 mmol) y piperidina (0,2 ml, 2,5 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. El disolvente se eliminó en vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna (MeOH al 10%/DCM), proporcionando 0,104 g (28%) del producto 3. El producto se confirmó por espectroscopia de masa:  $m/z$  879,6  $[M+1]^+$ .

### Síntesis del Compuesto 4

A una solución del Compuesto 34 (11 mg, 0,013 mmol) en dimetilformamida al 10% en diclorometano (0,2 ml) se agregó una solución del Compuesto 3 (15 mg, 0,017 mmol) en diclorometano (0,2 ml) y diisopropiletilamina (3,5  $\mu$ l, 0,020 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla así obtenida se agitó durante una noche. El disolvente se evaporó y el residuo se purificó sobre HPLC semi-preparativa con TFA al 0,1% en agua y acetonitrilo como eluyente, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un aceite. El producto se confirmó mediante LC/MS. Este producto se disolvió en DMF (10 ml) y se agregó piperidina (0,5 ml, 0,5 mol) y la solución se agitó durante 30 minutos. La solución se concentró en vacío, se lavó con hexano y se secó bajo vacío durante 1,2 horas. La amina desprotegida preparada anteriormente se disolvió en DMF anhidro (10 ml), seguido de la adición de anhídrido succínico (20 mg, 0,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Después de 24 horas, la HPLC no mostró material de partida y la reacción se purificó mediante HPLC preparativa, proporcionando el Compuesto 4. El Compuesto 4 se confirmó mediante espectroscopia de masa  $m/z$  1196  $[M+1]^+$ .

### Ejemplo 4: Ensayos de proliferación

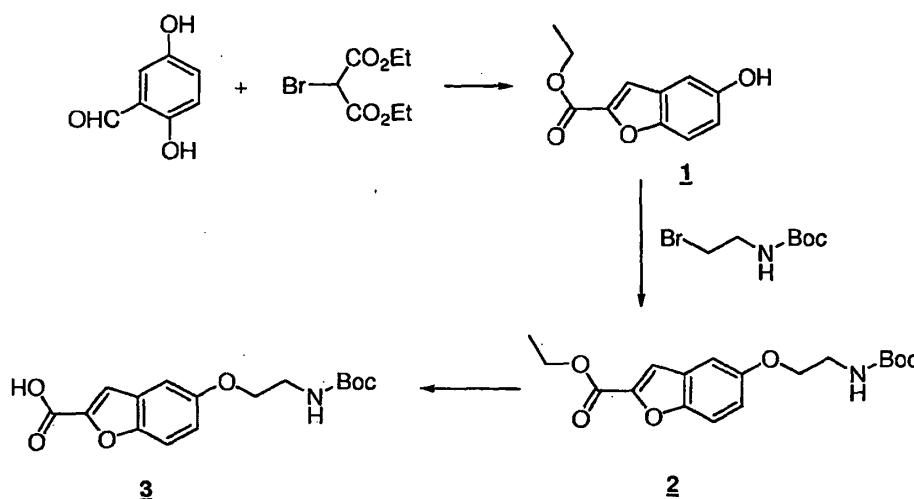
La actividad biológica de los compuestos citotóxicos de la invención puede ensayarse usando el ensayo de proliferación bien conocido de  $^3$ H-timidina. Este es un procedimiento adecuado para la cuantificación de la proliferación celular, ya que evalúa la síntesis de ADN mediante la medición de la incorporación de  $^3$ H-timidina radiomarcada exógena. Este ensayo es altamente reproducible y puede adecuarse a un gran número de compuestos.

Para llevar a cabo el ensayo, se cultivaron células de leucemia promielocíticas, HL-60, en medio RPMI conteniendo suero bovino fetal (FCS) al 10% térmicamente inactivado. El día del estudio, las células se recolectaron, se lavaron y se resuspendieron a una concentración de  $0,5 \times 10^6$  células/ml en RPMI conteniendo FCS al 10%. A las placas de 96 pocillos se agregó 100  $\mu$ l de suspensión de células. Se realizaron diluciones seriadas (incrementos de 3 veces) de doxorubicina (como un control positivo) o de los compuestos en ensayo y por pocillo se agregaron 100  $\mu$ l de los compuestos. Finalmente, se agregó por pocillo 10  $\mu$ l de una  $^3\text{H}$ -timidina de 100  $\mu\text{Ci/ml}$  y las placas se incubaron durante 24 horas. Las placas se recolectaron usando un Harvester (Packard Instruments) de 96 pocillos y se contaron sobre un contador Packard Top Count. Se ajustaron cuatro parámetros de curvas logísticas a la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina como una función de la molaridad del fármaco usando un software Prism para determinar los valores  $\text{IC}_{50}$ .

Los compuestos de la invención tienen generalmente un valor  $\text{IC}_{50}$  en el ensayo anterior de desde aproximadamente 1 pM hasta aproximadamente 100 nM, preferiblemente desde aproximadamente 10 pM hasta aproximadamente 10 nM.

### Ejemplo 5

#### Esquema 1



#### Síntesis del Compuesto 1

Se disolvió 2,5-dihidroxibenzaldehído (5,6 g, 40,57 mmol) en N-metilpirrolidona (45 ml), seguido de la adición de carbonato potásico (5,6 g, 40,5 mmol). A continuación, se agregó bromuro de tetrabutilamonio (260 mg, 0,8 mmol) y, a continuación, 2-bromomalonato de dietilo (10,5 g, 7,5 ml, 44 mmol). Todas las adiciones anteriores se realizaron a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a  $140^\circ\text{C}$  durante 5 horas. La TLC y la HPLC no revelaron material de partida ni formación de un nuevo pico. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de sílice y se concentró. Se agregaron 400 ml de HCl 1 N al producto bruto y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera y se evaporó en seco sobre sulfato sódico anhidro. El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de gel de sílice (hexano/acetato de etilo, 5/1, respectivamente), proporcionando 2 gramos del Compuesto 1 (23% de rendimiento).  $\text{RMN}^{-1}\text{H}$ , acetona- $d_6$ : 1,37 (t, 3H), 4,37 (dd, 2H), 7,51 (s, 1H), 7,4 (d, 1H), 7,06 (s, 1H), 7,02 (d, 1H), 8,41 (s, 1H).

#### Síntesis del Compuesto 2

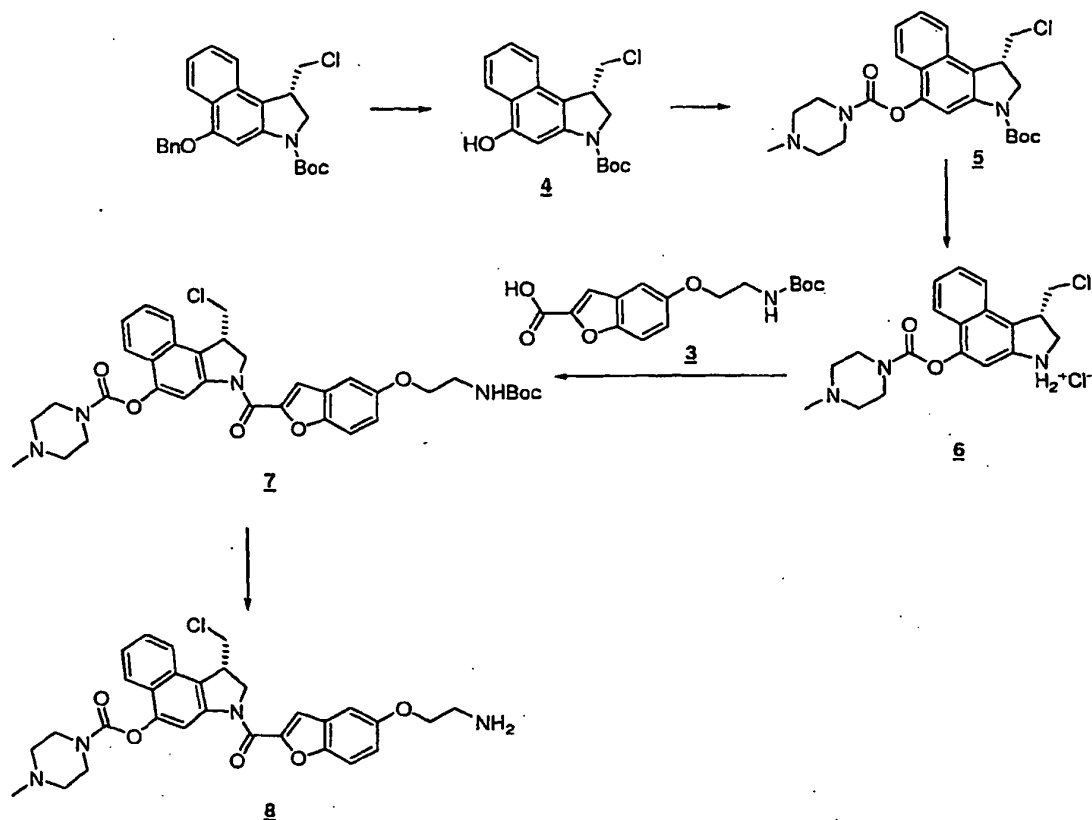
Se agregó, gota a gota, bromuro de 2-(Boc-amino)etilo (344 mg, 1,53 mmol) a la mezcla de reacción en agitación del Compuesto 1 (100 mg, 0,48 mmol) en DMF (5 ml) y carbonato potásico (132 mg, 0,995 mmol) a  $45^\circ\text{C}$  y se dejó en agitación durante un fin de semana. El disolvente se evaporó. El producto bruto se disolvió en acetato de etilo y se lavó con NaOH 0,2 N varias veces. El disolvente se evaporó y la mezcla de reacción bruta se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexano (1:4, 2:4), proporcionando 137 mg (81%) del Compuesto 2. Espectroscopía de masa  $\text{M}^{(+1)}$  = 350,9.  $\text{RMN}^{-1}\text{H}$ ,  $\text{CDCl}_3$ : 1,43 (s, 9H), 1,39 (t, 3H), 3,54 (m, 2H), 4,02 (t, 2H), 4,41 (dd, 2H), 7,01-7,03 (aromático, 2H), 7,42-7,46 (aromático, 2H).

#### Síntesis del Compuesto 3

Se disolvió el Compuesto 2 en MeOH y se agitó durante 2-3 horas en solución acuosa de NaOH 2 N. El disolvente se evaporó, se agregó solución de ácido cítrico al 10%, y el compuesto se extrajo con acetato de etilo. El producto se purificó adicionalmente mediante HPLC de fase inversa, proporcionando el Compuesto 3. Espectroscopía de

masa  $M^{[+Na]}$  = 344,5,  $M^{[+K]}$  = 360,5. RMN- $^1H$ , acetona- $d_6$ : 1,41 (s, 9H), 3,49 (dd, 2H), 4,10 (t, 2H), 6,24 (ancho, 1H), 7,13 (1H, aromático), 7,29 (1H, aromático), 7,54 (1H, aromático), 7,58 (1H, aromático).

## Esquema 2



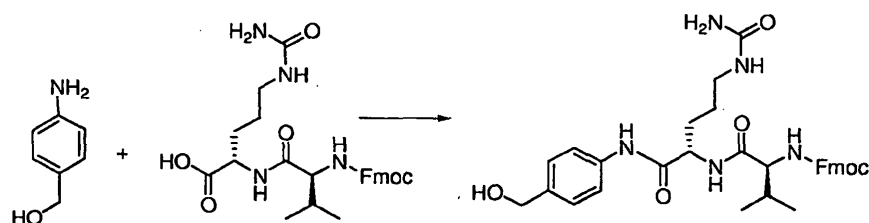
- 5 Se desbenciló Boc-bencilo CBI (200 mg, 0,4728 mmol) mediante hidrógenolisis usando Pd al 10%/C en DCM/MeOH, 2:1, durante un periodo de 8 horas. (Los procedimientos para la obtención de Boc-bencilo CBI o compuestos similares, se describen, por ejemplo, en la Solicitud de Patente Provisional No. de Serie 60/730.804; Patente de EE.UU. No. 6.534.660; y D.L. Boger y otros, *J. Org. Chem.*, vol. 57, págs. 2873-2876, (1992), todas las cuales se incorporan para referencias). El catalizador se filtró y el producto bruto de color verdoso se purificó mediante cromatografía de gel de sílice con acetato de etilo al 5-20% en hexanos, proporcionando el Compuesto 4 deseado (150 mg, 95% de rendimiento). El Compuesto 4 (76 mg, 0,23 mmol) se disolvió en DCM (8 ml) y alcohol alílico (0,3 ml) seguido de la adición de cloruro de 4-metil piperacina carbonilo, sal HCl (183 mg, 0,93 mmol), piridina (187  $\mu$ l, 2,32 mmol) y se dejó en agitación durante una noche. El producto bruto se purificó mediante cromatografía de fase inversa sobre una columna C-18, proporcionando el Compuesto 5 (95 mg, 89% de rendimiento total). Espectroscopía de masa  $M^{[+1]}$  = 461,  $M^{[+Na]}$  = 482,  $M^{[+K]}$  = 498. El Compuesto 5 se desprotegió usando una solución de HCl-acetato de etilo recién preparada, proporcionando el Compuesto 6.

## Síntesis del Compuesto 8

- Se disolvió ácido 5-(2-(terc-butoxicarbonil)etoxi)benzofuran-2-carboxílico (3,24 mg, 0,076 mmol) en 1 ml de DMF, se agregó TBTU (25 mg, 0,076 mmol), seguido de la adición del Compuesto 6 (25 mg, 0,058 mmol) y, finalmente, DIPEA (37  $\mu$ l, 0,21 mmol) y se dejó en agitación durante 9 horas. El disolvente se evaporó y el producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa, proporcionando 15 mg del Compuesto 7 (30% de rendimiento después de liofilización). Espectroscopía de masa  $M^{[+]}$  = 663,4

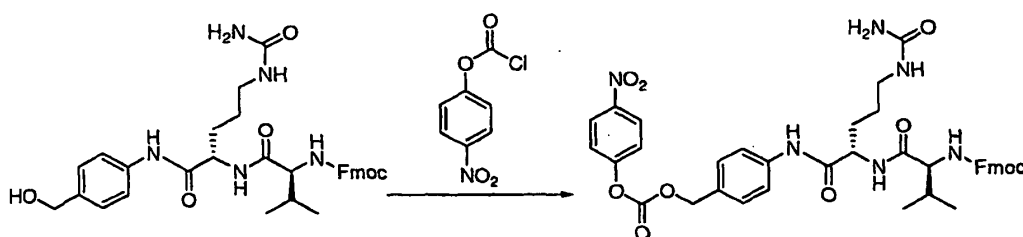
El grupo Boc procedente del Compuesto 7 se eliminó usando solución recién preparada de HCl en acetato de etilo, proporcionando el Compuesto 8 como su sal HCl.

## 25 Síntesis de Fmoc-Val-Cit-PABA



- 5 Se disolvió Fmoc-Val-citulina (1,5 g, 3,02 mmol) en una mezcla de DCM (14 ml) y MeOH (7 ml). Se agregó alcohol 4-aminobencílico (445,2 mg, 3,62 mmol), seguido de 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinoleína (EEDQ) (1,5 g, 6,0 mmol) y la mezcla de reacción se dejó en agitación durante una noche. El disolvente se eliminó y al residuo se agregó éter dietílico y se trató por ultrasonidos durante 5-10 minutos. El residuo sólido se dejó sedimentar y el disolvente se decantó. Esto se repitió dos veces más, proporcionando 1,5 g de Fmoc-Val-Cit-PABA (82% de rendimiento).  $M^{[+1]}$  = 602,6,  $M^{[1+Na]}$  = 624,8,  $M^{[+K]}$  = 640,6.

#### Síntesis de Fmoc-Val-Cit-PABA-PNP



- 10 Se disolvió Fmoc-Val-Cit-PABA (65 g, 0,11 mmol) en 2 ml de DMF, seguido de la adición de piridina (36  $\mu$ l, 0,44 mmol). Se agregó gota a gota clorocarbonato de p-nitrofenol (66 mg, 0,33 mmol) disuelto en THF (2 ml). La reacción se completó entonces en menos de una hora. El disolvente se evaporó y el producto bruto se purificó mediante columna de gel de sílice, usando MeOH al 5% en DCM, proporcionando 43 mg del producto deseado. 51% de rendimiento. Espectroscopia de masa:  $M^{[+1]}$  = 768.

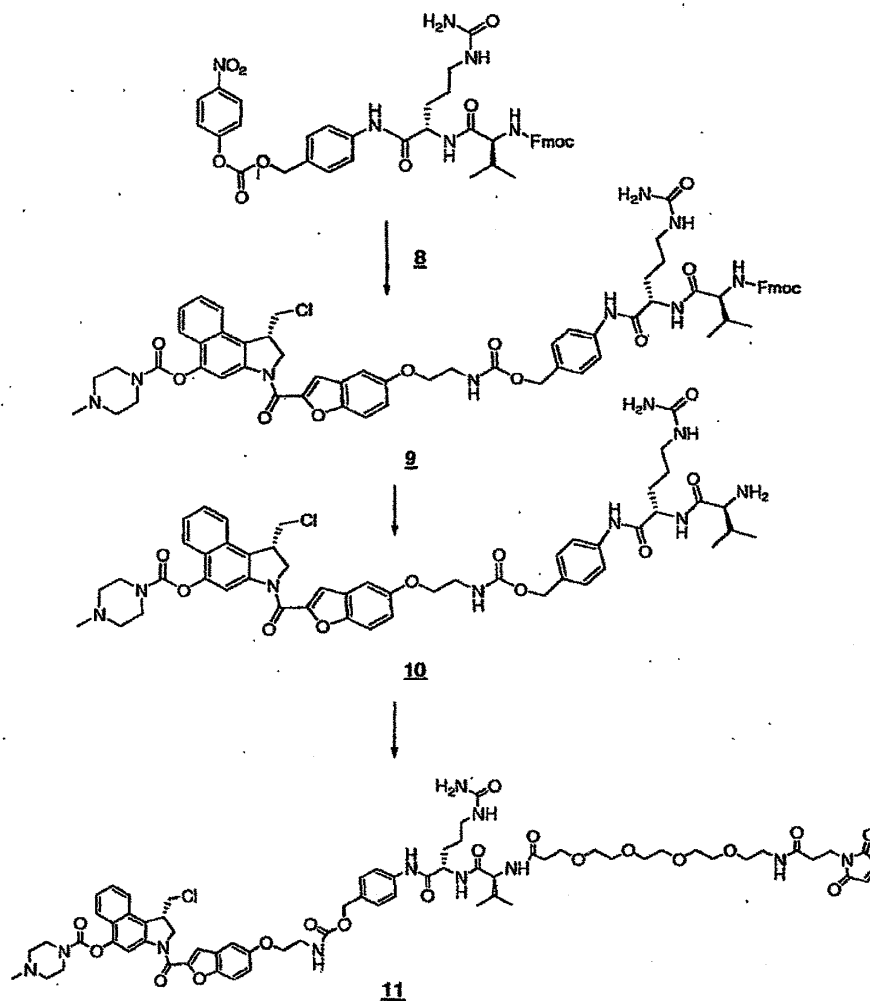
- 15 **Síntesis del Compuesto 11**

20

25

30

## Esquema 3



A un matraz conteniendo carbonato de Fmoc-Cit-PABA-PNP (13 mg, 0,017 mol) se agregó una solución del Compuesto **8** (9,5 mg, 0,015 mmol) en DMF (1 ml), seguido de la adición de DIPEA (15  $\mu$ l). La reacción se completó en menos de 30 minutos. El disolvente se evaporó y el producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa, proporcionando 9,0 mg del Compuesto **9**. Espectroscopia de masa:  $M^{[+1]} = 1191$ ,  $M^{[+Na]} = 1213$ ,  $M^{[+K]} = 1229$ .

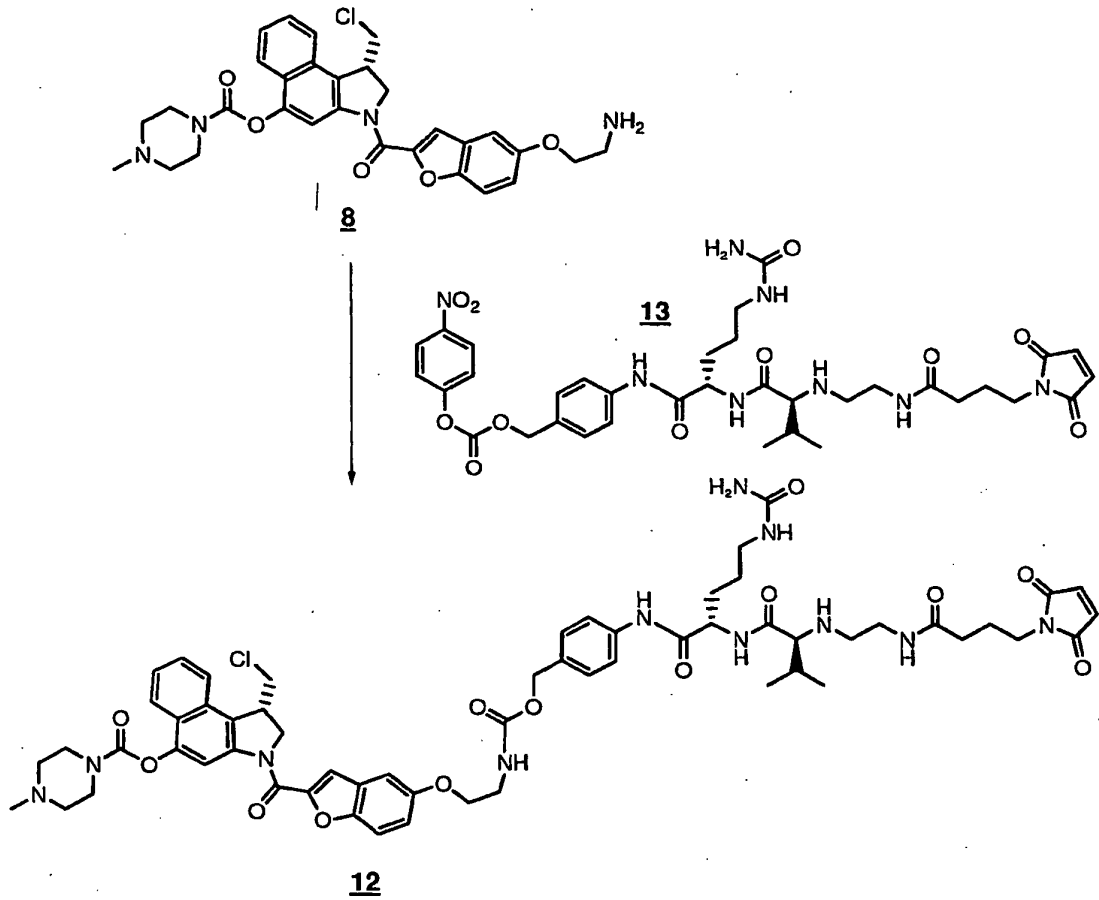
El grupo de protección Fmoc del Compuesto **9** (9 mg, 0,0076 mmol) se eliminó usando piperidina al 5% en DMF (3 ml). El disolvente se eliminó y el residuo bruto se lavó con hexanos y éter etílico. El Compuesto **10** se secó durante una noche bajo alto vacío y se usó en la etapa siguiente sin ningún tratamiento/purificación adicional. Espectroscopia de masa:  $M^{[+1]} = 969$ ,  $M^{[+Na]} = 991$ ,  $M^{[+K]} = 1007$ . El Compuesto **10** se hizo reaccionar con éster maleimida-TEG-NHS en DMF y la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 1 hora. El disolvente se evaporó y purificó mediante HPLC de fase inversa sobre una columna C-18, proporcionando 5 mg (48% de rendimiento) del Compuesto **11**.  $M^{[+1]} = 1367$ .

## Síntesis del Compuesto 12

15

20

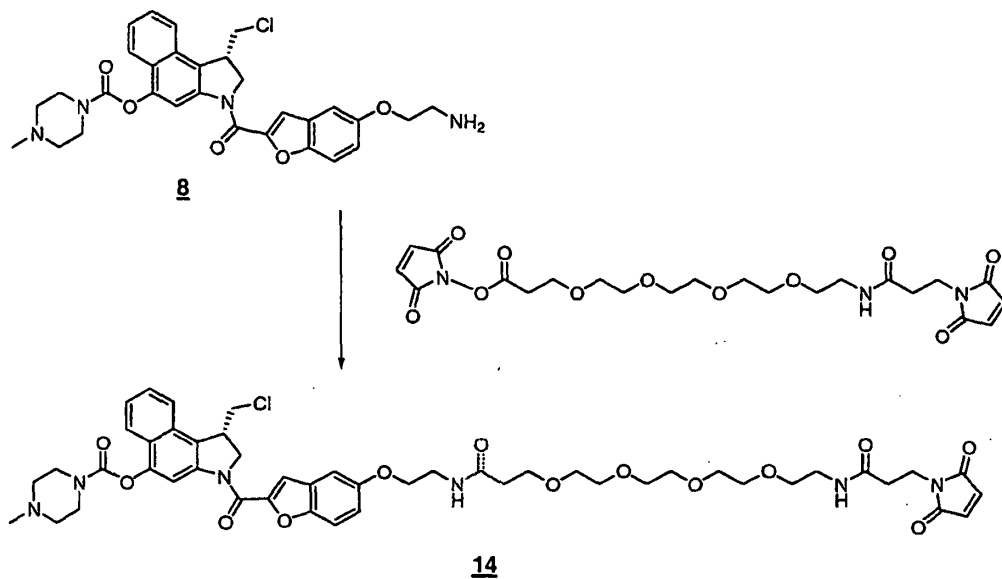
Esquema 4



5 El Compuesto 8 (8,5 mg, 0,013 mmol) y el Compuesto 13 (10 mg, 0,013 mmol) se disolvieron en DMF (1,5 ml), seguido por la adición de DIPEA (7  $\mu$ l, 0,039 mmol). La reacción se completó en 50 minutos. El disolvente se evaporó y purificó mediante HPLC de fase inversa sobre una columna Gemini C-18 (Phenomenex Inc., Torrence, CA), proporcionando 10 mg del compuesto 12 (65% de rendimiento después de liofilización).

## Síntesis del compuesto 14

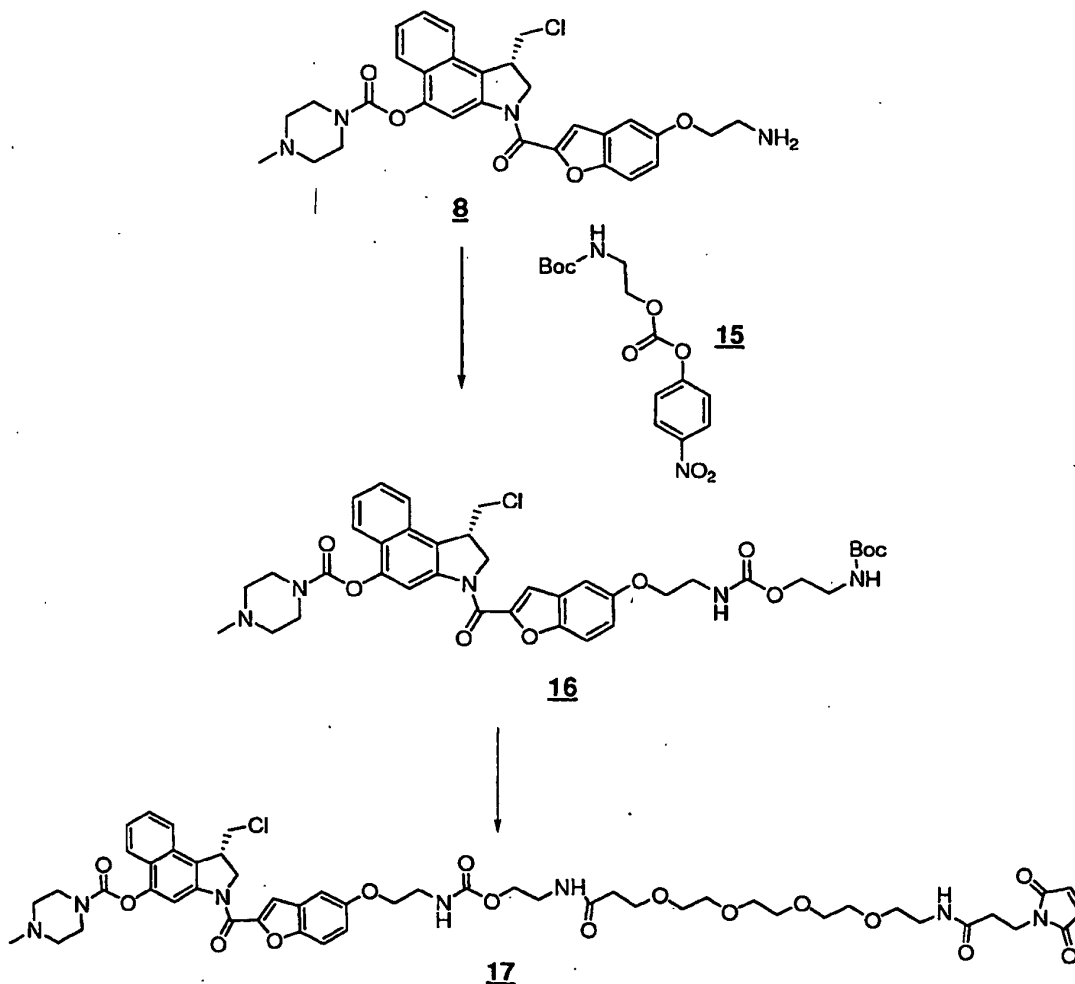
Esquema 5



El Compuesto **8** (4,8 mg, 0,0076 mmol) se disolvió en DMF (1 ml), seguido por la adición de éster Mal-TEG-NHS (8 mg, 0,015 mmol) en forma de una solución en DCM (0,5 ml). Se agregó 25-40  $\mu$ l de DIPEA. La reacción se agitó durante 30 minutos. El disolvente se evaporó y purificó mediante HPLC de fase inversa, proporcionando 4 mg del Compuesto **14** (55% de rendimiento). Espectroscopia de masa:  $M^{[+1]}$  = 962,  $M^{[+Na]}$  = 984,  $M^{[+M]}$ .

## 5 Síntesis del Compuesto 17

Esquema 6



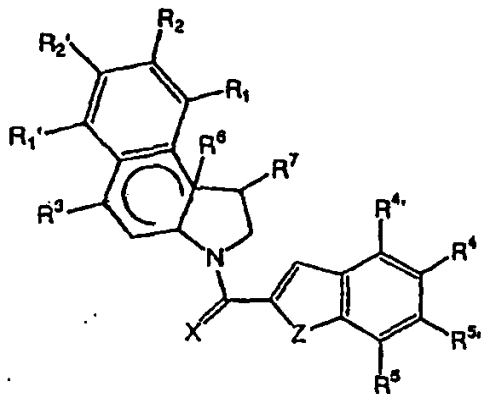
Se disolvió 2-hidroxietilcarbamato de terc-butilo (270 mg, 1,675 mmol) en THF (10 ml). Se agregó cloroformiato de 4-nitrofenilo (674 mg, 3,35 mmol), seguido de la adición gota a gota de piridina (400  $\mu$ l, 5 mmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 2 horas. El disolvente se evaporó y el producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida de gel de sílice, usando DCM como eluyente, proporcionando 500 mg del Compuesto **15** (92% de rendimiento). RMN-<sup>1</sup>H, CDCl<sub>3</sub>: 1,45 (s, 9H), 3,45 (m, 2H), 4,34 (m, 2H), 7,38 (d, 2H), 8,27 (d, 2H).

El Compuesto **8** (0,018 mmol) se disolvió en DMF (2 ml) y se agregó el Compuesto **15** (11,6 mg, 0,035 mmol), seguido por la adición de 10-20  $\mu$ l de DIPEA. La mezcla de reacción se agitó durante 6 horas. El disolvente se evaporó y purificó mediante HPLC de fase inversa, proporcionando 7 mg (52% de rendimiento) del compuesto **16**. Espectroscopia de masa:  $M^{[+1]}$  = 750,  $M^{[+Na]}$  = 772,  $M^{[+K]}$  = 788. El Compuesto **16** se desprotegió usando HCl-acetato de etilo y el disolvente se evaporó y el producto se secó durante una noche y se usó en la reacción siguiente sin ninguna purificación adicional. Espectroscopia de masa:  $M^{[+1]}$  = 651,  $M^{[+Na]}$  = 673,  $M^{[+K]}$  = 688. El producto bruto (0,009 mmol) se disolvió en DMF (1 ml), seguido de la adición del éster Mal-TEG-NHS (18 mg, 0,035 mmol) en forma de una solución en 0,5 ml de DCM, seguido de DIPEA (10-20  $\mu$ l). La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos y el disolvente se purificó mediante HPLC de fase inversa, proporcionando 4,5 mg del Compuesto **17** (48% de rendimiento). Espectroscopia de masa:  $M^{[+1]}$  = 1049,  $M^{[+Na]}$  = 1071,  $M^{[+K]}$  = 1087.



## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula



5 en la que X está seleccionado entre O, S y NR<sup>23</sup>, en la que NR<sup>23</sup> es un grupo seleccionado entre H, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, y acilo; Z es O;

R<sup>1</sup> es H, alquilo de C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, C(O)R<sup>8</sup>, o CO<sub>2</sub>R<sup>8</sup>;

R<sup>1'</sup> es H, alquilo de C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, o C(O)R<sup>8</sup>;

cada R<sup>8</sup> es un miembro independientemente seleccionado entre NR<sup>9</sup>R<sup>10</sup> y OR<sup>9</sup> y R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup> son miembros independientemente seleccionados entre H, alquilo sustituido o no sustituido y heteroalquilo sustituido o no sustituido;

10 R<sup>2</sup> es H, alquilo de C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, heteroalquilo no sustituido, ciano, o alcoxi;

R<sup>2'</sup> es H, alquilo de C<sub>1-6</sub> sustituido o no sustituido, o heteroalquilo no sustituido;

15 R<sup>3</sup> es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en SR<sup>11</sup>, NHR<sup>11</sup> y OR<sup>11</sup>, en el que R<sup>11</sup> es un miembro seleccionado entre el grupo que consiste en H, alquilo sustituido, alquilo no sustituido, heteroalquilo sustituido, heteroalquilo no sustituido, difosfatos, trifosfatos, acilo, C(O)R<sup>12</sup>R<sup>13</sup>, C(O)OR<sup>12</sup>, C(O)NR<sup>12</sup>R<sup>13</sup>, P(O)(OR<sup>12</sup>)<sub>2</sub>, C(O)CHR<sup>12</sup>R<sup>13</sup>, SR<sup>12</sup> y SiR<sup>12</sup>R<sup>13</sup>R<sup>14</sup>, en los que R<sup>12</sup>, R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> son miembros independientemente seleccionados entre H, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido y arilo sustituido o no sustituido, o R<sup>12</sup> y R<sup>13</sup> conjuntamente con el átomo de nitrógeno o de carbono al cual están unidos se unen para formar un sistema de anillo heterocicloalquilo sustituido o no sustituido que tiene desde 4 hasta 6 átomos;

20 R<sup>6</sup> es un enlace sencillo es cual está o bien presente o ausente y cuando está presente R<sup>6</sup> y R<sup>7</sup> se unen para formar un anillo ciclopropilo; y

R<sup>7</sup> es CH<sub>2</sub>-X<sup>1</sup> o -CH<sub>2</sub>- unidos en dicho anillo ciclopropilo con R<sup>6</sup>, en el que X<sup>1</sup> es un grupo de cesión;

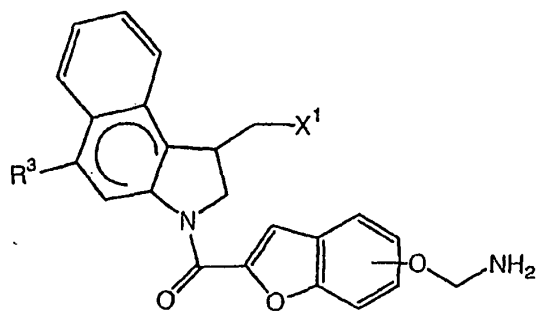
25 R<sup>4</sup>, R<sup>4'</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>5'</sup> son miembros independientemente seleccionados entre el grupo que consiste en H, alquilo sustituido, alquilo no sustituido, arilo sustituido, arilo no sustituido, heteroarilo sustituido, heteroarilo no sustituido, heterocicloalquilo sustituido, heterocicloalquilo no sustituido, halógeno, NO<sub>2</sub>, NR<sup>15</sup>R<sup>16</sup>, NC(O)R<sup>15</sup>, OC(O)NR<sup>15</sup>R<sup>16</sup>, OC(O)OR<sup>15</sup>, C(O)R<sup>15</sup>, SR<sup>15</sup>, OR<sup>15</sup>, CR<sup>15</sup>=NR<sup>16</sup>, y O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NR<sup>24</sup>R<sup>25</sup>, en la que n es un número entero desde 1 hasta 20;

30 R<sup>15</sup> y R<sup>16</sup> están independientemente seleccionados entre H, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido y peptidilo sustituido o no sustituido, en la que R<sup>15</sup> y R<sup>16</sup> conjuntamente con el átomo de nitrógeno al cual están unidos están opcionalmente unidos para formar un sistema de anillo heterocicloalquilo sustituido o no sustituido que tiene desde 4 hasta 6 átomos, opcionalmente conteniendo dos o más heteroátomos;

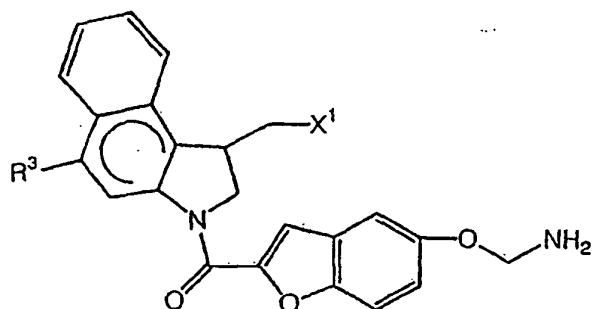
y R<sup>24</sup> y R<sup>25</sup> están independientemente seleccionados entre hidrógeno y alquilo no sustituido, en la que al menos uno de R<sup>24</sup> y R<sup>25</sup> es hidrógeno, y

en el que al menos uno de R<sup>4</sup>, R<sup>4'</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>5'</sup> es O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NR<sup>24</sup>R<sup>25</sup>.

35 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la fórmula siguiente:



3. El compuesto de la reivindicación 1, en la que el compuesto tiene la fórmula siguiente:



4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que X es O.

5. Una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y un vehículo aceptable farmacéuticamente.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso en la destrucción de una célula.

7. El compuesto de la reivindicación 6, en el que la célula es una célula de tumor.

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para retardar o detener el crecimiento de un tumor en un sujeto mamífero.

10