

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 235**

51 Int. Cl.:

C07K 5/08 (2006.01)

C07K 5/09 (2006.01)

A61K 38/06 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02773859 .0**

96 Fecha de presentación: **22.10.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1446418**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.08.2004**

54 Título: **Compuestos dirigidos a integrinas**

30 Prioridad:
22.10.2001 US 343799 P
19.09.2002 US 412519 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.07.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.07.2012

73 Titular/es:
THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE
10550 NORTH TORREY PINES ROAD
LA JOLLA, CA 92037, US

72 Inventor/es:
BARBAS, Carlos F.;
RADER, Christoph y
SINHA, Subhash C.

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 384 235 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos dirigidos a integrinas

Antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos dirigidos a integrinas y a procedimientos para fabricar y utilizar los compuestos. El uso de sustancias de quimioterapia potentes tiene algunas limitaciones claras relacionadas principalmente con la toxicidad del fármaco. La dosis del fármaco que se necesita para la terapia a menudo hace que los pacientes sean susceptibles a infecciones potencialmente fatales, toxicidad cardiaca y otros efectos secundarios. La mejora de la comprensión de la biología del cáncer ha conducido a "terapias dirigidas" más específicas. Los antígenos expresados en la superficie de las células afectadas (por ejemplo, las células tumorales) 10 forman la base de la aproximación de "suministro de fármacos dirigidos por anticuerpos monoclonales". Por desgracia, no obstante, los antígenos tumorales presentan a menudo una regulación negativa debido a la resistencia a los fármacos: esto limita la efectividad de la aproximación de "suministro de fármacos dirigidos por anticuerpos monoclonales". Por otra parte, las moléculas diana expresadas en la superficie de las células tumorales endoteliales son fácilmente accesibles a las moléculas dirigidas que circulan en la sangre. Además, a diferencia de las células tumorales, las células tumorales endoteliales son genéticamente estables y es improbable que presenten regulación negativa debido a la resistencia a los fármacos. Por lo tanto, las moléculas expresadas en la superficie de las células tumorales endoteliales parecen ser un receptor apropiado para el "suministro de fármacos dirigidos". 15

La presente invención soluciona problemas de la técnica proporcionando nuevos compuestos dirigidos a las células que expresan integrinas. Tales compuestos tienen aplicaciones diagnósticas y terapéuticas en el cáncer y en otras enfermedades. 20

Breve resumen de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto dirigido a integrinas, que comprende al menos un componente dirigido a integrinas unido de forma covalente a un engarce lineal o ramificado que está unido de forma covalente a al menos un componente funcional, en el que dicho componente dirigido a integrinas es un peptidomimético de RGD, y en el que dicho al menos un componente funcional es un anticuerpo de aldolasa y dicho al menos un componente dirigido a integrinas está unido de forma covalente a través de un engarce al sitio de unión del anticuerpo. 25

En algunas realizaciones, el compuesto dirigido a integrinas es específico para integrinas tales como $\alpha_v\beta_3$ o $\alpha_v\beta_5$. Se desvelan las estructuras del núcleo de los peptidomiméticos de RGD preferentes para su uso en realizaciones de compuestos dirigidos particulares. 30

Los compuestos dirigidos a integrinas de la presente invención confieren diversos beneficios sobre el uso de los compuestos por sí solos. Por ejemplo, el componente funcional generalmente puede prolongar la vida media *in vivo* de un componente dirigido de menor tamaño. También, la potencia biológica u otras características biológicas de un compuesto dirigido a integrinas se pueden modificar mediante la adición de una función o funciones efectoras proporcionadas por un componente funcional tal como un anticuerpo. Además, el componente dirigido a integrinas, en virtud del aumento de tamaño que le confiere la unión del componente funcional, puede permitir al agente dirigido funcionar con nuevas capacidades. 35

También se proporcionan procedimientos para la producción de los compuestos dirigidos a integrinas de la presente invención. En una realización, se prepara un compuesto de engarce del componente dirigido a integrinas que incluye un componente dirigido a integrinas y un engarce que incluye un grupo reactivo para la reacción covalente con un resto reactivo susceptible del componente funcional. En otro enfoque, se prepara un compuesto de engarce del componente funcional que incluye un componente funcional y un engarce que incluye un grupo reactivo para la reacción covalente con un resto reactivo susceptible de un componente dirigido a integrinas. En aún otra aproximación, el componente dirigido y el componente funcional se unen cada uno a un engarce con grupos reactivos o a un engarce con un resto susceptible de modo que el compuesto dirigido se forma cuando los dos engarces se unen de forma covalente. 40 45

Se desvelan de forma adicional compuestos engarce-componente dirigido a integrinas y compuestos engarce-componente funcional para la unión covalente de un componente dirigido a integrinas a un componente funcional. En algunas realizaciones, el engarce incluye un grupo reactivo para la unión covalente al otro componente. En algunas realizaciones, el grupo reactivo del engarce es una cetona, un dicetona, una beta lactama, un éster activo de succinimida, una halocetona, una lactona, un anhídrido, un epóxido, un aldehído o una maleimida. 50

Se describen diversas características químicas de los compuestos engarce-componente dirigido a integrinas y de los compuestos engarce-componente funcional. En una realización, el engarce tiene la fórmula general X-Y-Z, en la que X es una cadena de átomos de conexión, lineal o ramificada, que comprende cualquiera de los átomos C, H, N, O, P, S, Si, F, Cl, Br, e I, o una sal de la misma, y comprende una unidad de éter que se repite de 2 a 100 unidades; Y es opcional y es un anillo de 5 o 6 miembros homo o hetero carbocíclico, saturado o no saturado, sencillo o condensado, localizado dentro de 1 a 20 átomos de Z; y Z es un grupo reactivo para la unión covalente de uno o 55

más agentes dirigidos a un resto susceptible tal como una cadena lateral de un aminoácido reactivo. El componente dirigido o el componente funcional se pueden unir a X ó Y ó a X e Y cuando se incluyen los componentes múltiples en el compuesto dirigido.

5 Además se desvelan procedimientos para el suministro de un componente funcional a las células y a los tejidos asociados a integrinas de un individuo. El procedimiento incluye la administración al individuo de un compuesto dirigido a integrinas de la presente invención. En algunas realizaciones del procedimiento, el componente funcional es un agente terapéutico que incluye el componente funcional.

10 Además se proporciona de forma adicional un compuesto dirigido a integrinas de la presente invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección que involucra a las integrinas en un individuo. Se administra al individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto dirigido a integrinas de la presente invención que incluye un componente funcional que es un agente terapéutico. La enfermedad o afección es susceptible al agente terapéutico de un modo tal que produce un efecto de reducción o prevención de los síntomas asociados con la enfermedad o afección. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección involucra una deficiencia en la angiogénesis, el metabolismo óseo, la inflamación o el crecimiento celular.

15 La presente invención proporciona de forma adicional composiciones farmacéuticas o medicamentos que incluyen un compuesto dirigido a integrinas de la presente invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Breve descripción de las figuras

20 La Figura 1 muestra ejemplos de agentes dirigidos a integrinas de los que los Paneles A-E son peptidomiméticos de RGD mientras que el Panel F es un péptido de RGD. Las estructuras del núcleo provienen de los siguientes documentos: Patente de los Estados Unidos de América N° 6.335.330 (Panel A), Patente de los Estados Unidos de América N° 5.693.636 (Panel B), Patente de los Estados Unidos de América N° 6.040.311 (Panel C), y Patente de los Estados Unidos de América N° 6.001.117 (Panel E).

La Figura 2 es un diseño general de engarce (Panel A) y una realización específica (Panel B; SCS-873) mostrada junto con un agente dirigido.

25 La Figura 3 muestra el esquema general de una realización de un compuesto engarce-agente dirigido con un engarce ramificado y dos agentes dirigidos idénticos (Panel A) con realizaciones específicas en el Panel B (engarce diceto más agente dirigido a integrinas; compuesto 26), y en el Panel C (engarce diceto más agente dirigido a integrinas; compuesto 27). El punto de ramificación está en la parte de la cadena de conexión del engarce.

30 La Figura 4 muestra un esquema general de una realización de un compuesto engarce-agente dirigido con un engarce ramificado y dos agentes dirigidos diferentes (Panel A) con una realización específica en el Panel B (engarce diceto más agente dirigido a folato y agente dirigido a integrinas; compuesto 28). El punto de ramificación está en la parte de la cadena de conexión del engarce. T1 es un componente dirigido a integrinas mientras que T2 es un componente dirigido al receptor de folato.

35 La Figura 5 muestra un esquema general de una realización de un compuesto engarce-agente dirigido con un engarce ramificado y dos agentes dirigidos diferentes (Panel A) con una realización específica en el Panel B (engarce diceto más agente dirigido a integrinas; compuesto 29). El punto de ramificación está en la parte del grupo de reconocimiento del engarce.

40 La Figura 6 muestra la estructura de los grupos reactivos de los engarces. Las estructuras de A-C forman enlaces covalentes reversibles con grupos reactivos nucleófilos (por ejemplo, la cadena lateral de la lisina o de la cisteína) en el sitio de unión de un anticuerpo (la estructura A podría formar un enlace covalente irreversible si X es N y si R₁ y R₃ forman parte de una estructura cíclica). Los grupos R₁ y R₂ y R₃ en las estructuras A-C representan sustituyentes que pueden ser C, H, N, O, P, S, Si, halógeno (F, Cl, Br, I) o una sal de los mismos. X es N, C, Si, o cualquier otro heteroátomo. Estos sustituyentes también pueden incluir un grupo como un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, oxoalquilo, oxoalquenilo, oxoalquinilo, aminoalquilo, aminoalquenilo, aminoalquinilo, sulfoalquilo, sulfoalquenilo, sulfoalquinilo, fosfoalquilo, fosfoalquenilo, o fosfoalquinilo. Los grupos R₂ y R₃ podrían ser cíclicos como se ejemplifica en las estructuras B y C mientras que X podría ser un heteroátomo. Las estructuras D-G forman enlaces covalentes no reversibles con grupos reactivos nucleófilos (por ejemplo, la cadena lateral de la lisina o de la cisteína) en el sitio de unión de un anticuerpo. En estas estructuras, los grupos R₁ y R₂ representan C, O, N, haluro y grupos salientes tales como mesilo o tosilo.

50 La Figura 7 muestra diversos electrófilos adecuados para la modificación reactiva de una cadena lateral reactiva de un aminoácido de un anticuerpo. Clave: (A) acil beta-lactama; (B) dicetona sencilla; (C) éster activo de succinimida; (D) maleimida; (E) haloacetamida con engarce; (F) halocetona; (G) ciclohexil dicetona; y (H) aldehído. R se refiere a otra estructura que puede incluir un agente dirigido, un engarce o un anticuerpo, mientras que X se refiere a un halógeno.

55 La Figura 8 muestra la estructura de un grupo de reconocimiento de engarce (Y), situado entre la parte del grupo reactivo y la parte de la cadena de conexión del engarce. El Panel A muestra la relación del grupo de reconocimiento

Y con el interior del engarce (véase la Figura 2). Los Paneles B-D muestran la distancia de Y a Z, los sustituyentes en el anillo y los átomos miembros del anillo.

La Figura 9 muestra la estructura de la cadena de conexión del engarce (X), que está unida directamente por un extremo al agente dirigido como se muestra en el Panel A (véase la Figura 2). Los sustituyentes R₂ a R₄ pueden ser C, H, N, O, P, S, Si, halógeno (F, Cl, Br, I) o una sal de los mismos, y pueden incluir un grupo tal como un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, oxoalquilo, oxoalquenilo, oxoalquinilo, aminoalquilo, aminoalquenilo, aminoalquinilo, sulfoalquilo, sulfoalquenilo, sulfoalquinilo, fosfoalquilo, fosfoalquenilo, o fosfoalquinilo así como una estructura anular carbocíclica o heterocíclica, sencilla o condensada, saturada o insaturada. En la cadena de conexión en las estructuras B y C, n, r ó m es 1-100. En las estructuras D y E, n es 1, 2, 4, o más preferentemente es 3.

La Figura 10 muestra el Esquema 1, un esquema sintético para la amina precursora de SCS-873, agente dirigido 3 o SCS-amina. Clave: (a) BBr₃, CH₂Cl₂, -20 °C, 2 h; (b) DMF, ta a 80 °C, 3 h; (c) BnCOCl, NaHCO₃ ac. sat., éter; (d) TBDPSiCl, imidazol, DMF, 16 h; (e) Pd(OAc)₂, (o-tol)₃P, *i*-Pr₂EtN, CH₃CH₂CN, reflujo, 3h; (f) 20% (p/p) Pd-C (10%), H₂, EtOH-AcOH (1:1), 36 h; (g) TBAF, THF, ta, 1 h; (h) DEAD, PPh₃, THF-benceno (3:1), 16 h; (i) 20% (p/p) Pd-C (10%), ciclohexeno-*i*-PrOH (1:1), 90 °C, 12 h; (j) i. NaOH ac. 2 N, MeOH-THF (1:1), 16 h, ii. TFAA, anisol, CH₂Cl₂, 0 °C, 2 h.

La Figura 11 muestra el Esquema 2, un esquema sintético para preparar el Compuesto 4, (R = derivado de butoxicarboxiaminohexanoílo). Clave: (a) DMF, ta; (b) EDC, HOBT, DMF; (c) 0,01 M en DMSO, 130 °C; (d) TFAA, anisol, diclorometano; (e) DMF; (f) EDC, HOBT, DMF; (g) (i) etapa d, (ii) NaOH 2 M, MeOH-THF (1:1).

La Figura 12 muestra el Esquema 3, un esquema sintético para preparar los Compuestos SCS-873 y SCS-1655.

La Figura 13 muestra el Esquema 4, un esquema sintético para preparar los Compuestos SCS-864 y SCS-789. Clave: (a) Et₃N, DMF, ta, 16 h.

La Figura 14 muestra una realización mediante la cual dos componentes dirigidos están unidos a un único engarce. T1 es un componente dirigido a integrinas y T2 es biotina (compuesto 30).

Descripción detallada de la invención

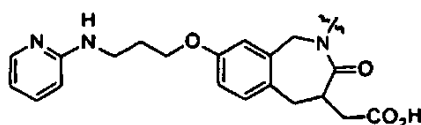
La presente invención proporciona compuestos dirigidos a integrinas útiles para su presentación a una diana de integrina particular tal como una célula un tejido. El componente dirigido actúa para situar el compuesto en el sitio diana. Los compuestos dirigidos a integrinas comprenden al menos dos componentes: un componente dirigido y un componente funcional que es un anticuerpo de aldolasa. Los componentes están unidos de forma operativa de modo que cada componente mantiene su actividad. El componente dirigido es un peptidomimético de RGD. Generalmente, el componente dirigido se une de forma específica a la diana de integrina típicamente a través de una relación ligando/receptor. Tales relaciones ligando/receptor se conocen bien en la técnica. Preferentemente la diana de integrina está sobre la superficie de la célula o tejido diana. La diana de integrina también se puede asociar con una afección particular tal como un estado patológico.

Un componente dirigido se dirige a una o más integrinas. El componente dirigido puede ser un agonista o bien un antagonista de la integrina o unirse sin ninguna actividad biológica. En una realización, la integrina es $\alpha_v\beta_3$ o $\alpha_v\beta_5$. Las integrinas son complejos de glicoproteínas transmembranares heterodiméricas que participan en los eventos de adhesión celular y en los procedimientos de la transducción de señales. La integrina $\alpha_v\beta_3$ se expresa en numerosas células y se ha mostrado que media en varios procedimientos biológicamente relevantes, que incluyen la adhesión de los osteoclastos en la matriz ósea, la migración de las células vasculares de músculo liso, y la angiogénesis. Se pueden emplear los antagonistas de la integrina $\alpha_v\beta_3$ en el tratamiento de varias enfermedades humanas, que incluyen enfermedades que involucran neovascularización, tales como artritis reumatoide, cáncer, y enfermedades oculares.

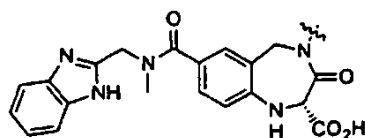
El componente dirigido a integrinas de los compuestos dirigidos a integrinas de la presente divulgación puede ser un compuesto orgánico de molécula pequeña de aproximadamente 5000 daltons o inferior tal como un fármaco o producto farmacéutico, que sea un antagonista o agonista de integrina. Un agonista o antagonista de integrina también puede ser una proteína, péptido, peptidomimético, glicoproteína, proteoglicano, lípido, fosfolípido, lipopolisacárido, glicolípido, ácido nucleico, proteoglicano, hidrato de carbono, y similares. Los términos "polipéptido", "péptido", y "proteína" se usan de forma intercambiable para referirse a un polímero de restos de aminoácidos. El término se aplica a polímeros de aminoácidos en los que uno o más restos de aminoácidos forman un análogo químico sintético (por ejemplo, para-metil-tirosina, para-cloro-fenilalanina, y similares) del correspondiente aminoácido presente de forma natural, así como de los polímeros de aminoácidos presentes de forma natural. Los aminoácidos pueden presentarse en la configuración L ó D mientras que se mantenga la función de unión del péptido. Los péptidos se pueden presentar en longitudes variables, generalmente entre aproximadamente 4 y 200 aminoácidos. Los péptidos pueden ser cíclicos, poseyendo un enlace intermolecular entre dos aminoácidos no adyacentes dentro del péptido, por ejemplo, ciclaciones esqueleto a esqueleto, cadena lateral a esqueleto y cadena lateral a cadena lateral. Los péptidos cíclicos se pueden preparar mediante procedimientos bien conocidos en la técnica. Véase por ejemplo, el documento de Patente de los Estados Unidos de América N° 6.013.625.

vitronectina incluyen grupos monocíclicos y bicíclicos, tales como la benzazepina descrita en el documento de Patente WO 98/14192, la benzodiazepina descrita en el documento de Patente de los Estados Unidos de América N° 6.239.168, y los tricíclicos condensados descritos en el documento de Patente de los Estados Unidos de América N° 6.008.213.

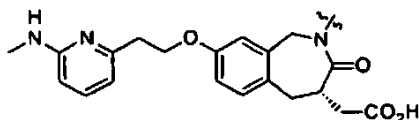
- 5 El documento de Patente de los Estados Unidos de América N° 6.159.964 contiene una extensa lista de referencias en la Tabla 1 de los documentos que desvelan estructuras de núcleos de peptidomiméticos de RGD (denominadas matrices de fibrinógeno) que se puede usar para la preparación de peptidomiméticos de RGD. Los peptidomiméticos de RGD de fibronectina y de RGD de vitronectina preferentes se desvelan en los documentos de Patente de los Estados Unidos de América números 6.335.330; 5.977.101; 6.088.213; 6.069.158; 6.191.304; 6.239.138; 6.159.964; 6.117.910; 6.117.866; 6.008.214; 6.127.359; 5.939.412; 5.693.636; 6.403.578; 6.387.895; 6.268.378; 6.218.387; 6.207.663; 6.011.045; 5.990.145; 6.399.620; 6.322.770; 6.017.925; 5.981.546; 5.952.341; 6.413.955; 6.340.679; 6.313.119; 6.268.378; 6.211.184; 6.066.648; 5.843.906; 6.251.944; 5.952.381; 5.852.210; 5.811.441; 6.114.328; 5.849.736; 5.446.056; 5.756.441; 6.028.087; 6.037.343; 5.795.893; 5.726.192; 5.741.804; 5.470.849; 6.319.937; 6.172.256; 5.773.644; 6.028.223; 6.232.308; 6.322.770; 5.760.028.
- 15 Los ejemplos de agentes dirigidos a integrinas peptidomiméticos de RGD que se muestran a continuación como los compuestos 1, 2 y 3 se pueden usar para preparar un compuesto dirigido a integrinas de la presente invención. En los tres compuestos, el engarce está unido como se ha indicado al nitrógeno del anillo de siete miembros. Otros agentes dirigidos a integrina peptidomiméticos de RGD incluyen el compuesto 31, en el que P y L son carbono o nitrógeno. El engarce puede ser R1 o R2 mientras que el grupo R3 incluye un grupo básico tal como un grupo -NH.
- 20 En algunas realizaciones, el grupo R3 es como se muestra en las estructuras 1, 2 ó 3. En algunas realizaciones, el grupo R3 incluye un grupo heterocíclico tal como un grupo benzoimidazol, imidazol o piridina. En algunas de tales realizaciones, el grupo R3 es un grupo alcoxi, tal como un grupo propoxi, que está sustituido con un grupo heterocarbilo que está sustituido con un grupo alquilamina, tal como un grupo metilamino o similares, mientras que en otras realizaciones, el grupo R3 es un grupo alcoxi, tal como un grupo propoxi sustituido con un grupo heterociclilamino, tal como con un grupo piridinilamino o similares tal como un grupo 2-piridinilamino. En otras realizaciones R3 es un grupo de fórmula -C(=O)Rb en la que Rb se selecciona entre grupos -N(alquil)-alquil-heterociclilo tales como grupos -N(Me)-CH₂-benzoimidazol.
- 25



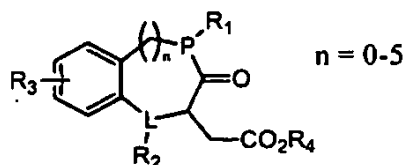
1



2



3

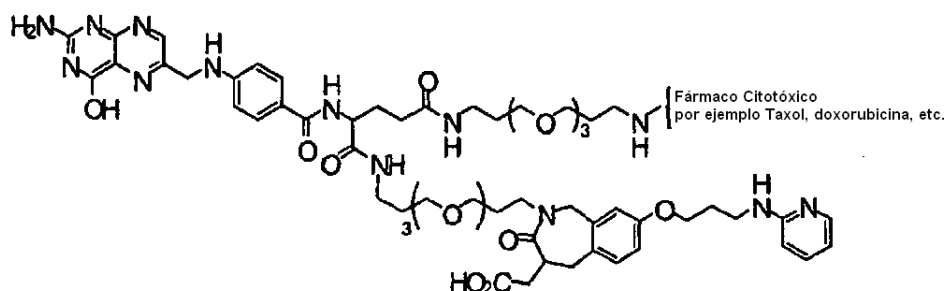


31

En la Figura 1 se muestran otros ejemplos de agentes dirigidos a integrinas peptidomiméticos y un agente dirigido a péptidos. El engarce puede ser cualquiera de los grupos R₁, R₂, R₃, mientras que R₄ puede ser un engarce o un grupo hidrolizable tal como un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, oxoalquilo, oxoalquenilo, oxoalquinilo, aminoalquilo, aminoalquenilo, aminoalquinilo, sulfoalquilo, sulfoalquenilo, sulfoalquinilo, fosfoalquilo, fosfoalquenilo o fosfoalquinilo. Alguien experto en la materia podrá comprender fácilmente que se pueden usar de forma adicional otros miméticos antagonistas y agonistas de integrina en los compuestos dirigidos de la presente invención.

Un compuesto dirigido de la presente invención puede contener más de un compuesto dirigido. En tal realización, uno de los componentes dirigidos se dirige a una integrina como se ha desvelado anteriormente. El segundo componente dirigido se puede dirigir a otra entidad. Ejemplos de tales entidades son receptores de quimioquina tales como CCR5, receptores de citoquina o interleuquina, receptores de vitaminas tales como el receptor de folato, marcadores de cáncer tales como el antígeno prostático específico, el antígeno carcinoembrionario, HER-2, marcadores virales tales como la gp41 del HIV, o un receptor de una hormona peptídica. Los engarces lineales o ramificados se pueden usar para la preparación de compuestos dirigidos de agente doble. Ejemplos de diseños de engarce ramificado se muestran en las Figuras 3-5.

A continuación se muestra un ejemplo de tal compuesto dirigido doble (Compuesto 32), en el que el compuesto se dirige tanto al receptor de integrina como al de folato. Otro compuesto dirigido doble que usa un engarce lineal sencillo y se dirige a integrina y avidina se muestra en la Figura 14 (Compuesto 30). El Compuesto 30, que tiene un engarce más corto que los otros ejemplos, tiene varios usos. Por ejemplo, el Compuesto 30 se puede usar en conjunto con estreptoavidina o avidina marcadas para su detección en un ensayo de células para la expresión del reactivo dirigido a integrinas con T1. En otra realización, el Compuesto 30 se puede administrar *in vivo* junto con avidina o estreptoavidina marcadas con un agente terapéutico o de imagen adecuado.



32

Un compuesto dirigido de la presente invención puede contener más de un componente funcional. En tal realización, uno de los componentes funcionales es un anticuerpo de aldolasa. Los otros componentes funcionales pueden tener una o más actividades biológicas, estando cada actividad caracterizada por un efecto biológico detectable que afecta al funcionamiento de un órgano celular u organismo. Sin embargo, un compuesto dirigido puede ser un compuesto de unión puro sin actividad biológica.

Los otros componentes funcionales de un compuesto dirigido pueden ser cualquier estructura que posea la actividad biológica deseada hacia la una célula o tejido asociados con integrinas. En algunas realizaciones, el componente funcional no es una estructura de quelación de metales con o sin el ion metálico asociado, por ejemplo, un ion radiometálico. En algunas realizaciones, el componente funcional no es un lípido. El componente funcional puede incluir cualquier número de estructuras biológicamente activas bien conocidas en la técnica. Los agentes biológicos adecuados como componente funcional de los compuestos dirigidos incluyen, fármacos de molécula pequeña (un compuesto orgánico farmacéutico de aproximadamente 5000 daltons o inferior), moléculas orgánicas, proteínas, péptidos, peptidomiméticos, glicoproteínas, proteoglicanos, lípidos, fosfolípidos, lipopolisacáridos, glicolípidos, ácidos nucleicos, proteoglicanos e hidratos de carbono. En algunas realizaciones, el componente funcional agente biológico puede ser antineoplásico, antimicrobiano, una hormona o un efector. Componentes funcionales adecuados incluyen compuestos terapéuticos bien conocidos tales como agentes antineoplásicos que incluyen paclitaxel, daunorubicina, doxorubicina, carminomicina, 4'-epiadriamicina, 4-desmetoxi-daunomicina, 11-desoxidaunorubicina, 13-desoxidaunorubicina, adriamicina-14-benzoato, adriamicina-14-octanoato, adriamicina-14-naftalenoacetato, vinblastina, vincristina, mitomicina C, N-metil mitomicina C, bleomicina A2, ácido dideazatetrahidrofólico, aminopterina, metotrexato, colchicina y cisplatino. Los componentes funcionales agentes antimicrobianos adecuados incluyen aminoglucósidos que incluyen la gentamicina, compuestos antivirales tales como rifampicina, 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT) y acilovir, agentes antifúngicos tales como los azoles que incluyen fluconazol, macrólidos poliénicos tales como la anfotericina B, y candidina, y compuestos antiparasitarios tales como los compuestos de antimonio. Los componentes funcionales hormonales adecuados pueden incluir toxinas tales como la toxina de la difteria, citoquinas tales como CSF, GSF, GMCSF, TNF, eritropoyetina, inmunomoduladores o citoquinas tales como interferones o interleuquinas, un neuropéptido, hormonas de la reproducción tales como HGH, FSH, o LH, hormona

tiroidea, neurotransmisores tales como la acetilcolina, y receptores hormonales tales como el receptor de estrógeno. Los componentes funcionales adecuados también incluyen antiinflamatorios no esteroideos tales como indometacina, ácido salicílico acetato, ibuprofeno, sulindac, piroxicam, y naproxeno, y anestésicos o analgésicos. En algunas realizaciones, el componente funcional no es un radioisótopo.

- 5 Los otros componentes funcionales pueden ser naturales o sintéticos y pueden ser biológicamente activos en su estado nativo en el que pueden actuar, por ejemplo, en la superficie de una célula diana o se pueden transportar al interior de la célula diana para actuar de forma intracelular.

El otro componente funcional también puede ser un "anticuerpo" que, como se usa en el presente documento, incluye inmunoglobulinas, que son el producto de células B y variantes de las mismas, así como el receptor de las células T (TcR), que es el producto de células T y variantes de las mismas. Una inmunoglobulina es una proteína que comprende uno o más polipéptidos codificados básicamente por los genes de la región constante kappa y lambda, alfa, gamma, delta, epsilon y mu de la inmunoglobulina, así como por una multitud de genes de regiones variables de la inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican en kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican en gamma, mu, alfa, delta, o epsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulinas, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. También se conocen subclases de las cadenas pesadas. Por ejemplo, las cadenas pesadas de IgG en los seres humanos pueden ser cualquiera de las subclases IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

Se sabe que la unidad estructural de una inmunoglobulina típica comprende un tetrámero. Cada tetrámero se compone de dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, conteniendo cada par una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kD) y una cadena "pesada" (aproximadamente 50-70 kD). El extremo N terminal de cada cadena define una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos, responsable principalmente del reconocimiento del antígeno. Los términos cadena ligera variable (V_L) y cadena pesada variable (V_H) se refieren a estas cadenas ligeras y pesadas respectivamente.

Los anticuerpos existen como anticuerpos intactos de longitud completa o como un número de fragmentos bien caracterizados producidos por la digestión con diversas peptidasas o reactivos químicos. Por lo tanto, por ejemplo, la pepsina digiere un anticuerpo por debajo de las uniones disulfuro en la región bisagra para producir $F(ab')_2$, un dímero de Fab que en sí mismo es una cadena ligera unida a V_H-CH_1 mediante un puente disulfuro. El dímero $F(ab')_2$ se puede reducir en condiciones suaves para romper la unión disulfuro de la región bisagra convirtiendo de ese modo el dímero $F(ab')_2$ en un monómero Fab'. El monómero Fab' es básicamente un fragmento Fab con parte de la región bisagra (véase, Fundamental Immunology, W. E. Paul, ed., Raven Press, N.Y. (1993), para una descripción más detallada de otros fragmentos de los anticuerpos). Dado que se definen diversos fragmentos de los anticuerpos en términos de la digestión del anticuerpo intacto, los expertos en la materia comprenderán que se pueden sintetizar *de novo* cualquiera de una diversidad de fragmentos de anticuerpos bien de forma química o bien mediante la utilización de metodologías de ADN recombinante. Por lo tanto, el término anticuerpo, como se usa en el presente documento, también incluye los fragmentos de anticuerpos producidos bien por la modificación de los anticuerpos completos o bien sintetizados *de novo* o bien anticuerpos y fragmentos obtenidos mediante el uso de metodologías de ADN recombinante.

El receptor de las células T (TcR) es un heterodímero unido por puentes disulfuro compuesto por cadenas α o β o, en una minoría de células T, por cadenas γ o δ . Las dos cadenas están unidas generalmente por puentes disulfuro justo en el exterior de la membrana plasmática de la célula T en un tramo corto de aminoácidos extendido que se parece a la región bisagra del anticuerpo. Cada cadena TcR se compone de un dominio variable similar al de un anticuerpo ($V\alpha$ o $V\beta$) y de un dominio constante ($C\alpha$ o $C\beta$). El TcR completo posee una masa molecular de aproximadamente 95 kDa variando el tamaño de las cadenas individuales de 35 a 47 kDa. También se engloban en la acepción de TCR partes del receptor, tales como regiones variables de este receptor, que se pueden producir en forma de una proteína soluble utilizando procedimientos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, el documento de Patente de los Estados Unidos de América N° 6.080.840 describe un receptor de las células T (TcR) soluble preparado mediante el empalme de los dominios extracelulares de un TcR a las secuencias de Thy-1 de anclaje de membrana de glicosil fosfatidilinositol (GPI). La molécula se expresa en ausencia de CD3 en la superficie celular, y se puede separar de la membrana por tratamiento con una fosfolipasa C específica de fosfatidilinositol (PI-PLC). El TcR soluble también se puede preparar por acoplamiento de los dominios variables de TcR al dominio CH_2 o CH_3 de una cadena ligera de un anticuerpo, como se describe esencialmente en el documento de Patente de los Estados Unidos de América N° 5.216.132 o en forma de cadenas sencillas de TcR solubles como se describe por Schusta et al. Nature Biotech. 18,754-759 (2000) o Holler et al. Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 97:5387-5392 (2000). Los "anticuerpos" TcR en forma de productos solubles se pueden utilizar en lugar de los anticuerpos para preparar los compuestos de la presente invención. El sitio de unión del TcR se puede identificar por referencia a las regiones CDR y a otros residuos de la estructura utilizando los mismos procedimientos discutidos anteriormente para los anticuerpos.

Los anticuerpos recombinantes pueden ser anticuerpos de longitud completa convencionales, fragmentos de anticuerpos conocidos a partir de digestión proteolítica, fragmentos de anticuerpos exclusivos tales como Fv o Fv de cadena sencilla (scFv), anticuerpos con supresión de dominios, y similares. Los fragmentos pueden incluir dominios o polipéptidos con la supresión o mutación de nada más que uno o unos pocos aminoácidos mientras que es posible una supresión más exhaustiva tal como la supresión de uno o más dominios.

5 Un anticuerpo Fv tiene un tamaño de aproximadamente 50 Kd y comprende la regiones variables de la cadena ligera y de la cadena pesada. Un polipéptido Fv de cadena sencilla ("scFv") es un heterodímero unido de forma covalente $V_H::V_L$, que se puede expresar a partir de ácidos nucleicos incluyendo secuencias de codificación V_H y V_L , bien unido directamente o bien unido por un engarce que codifica un péptido. Véase Huston, et al. (1988) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883. Un determinado número de estructuras para la conversión del agregado de forma natural, pero separadas químicamente de las cadenas polipeptídicas ligera y pesada de la región V del anticuerpo en una molécula scFv, podrán doblarse en una estructura tridimensional básicamente similar a la estructura del sitio de unión un antígeno. Véanse, por ejemplo, los documentos de Patente de los Estados Unidos de América 2 5.091.513, 5.132.405 y 4.956.778.

10 Un ejemplo de otro componente funcional que es un anticuerpo es el que reconoce y se une a la diana del componente dirigido. Cuando la diana es una integrina, ejemplos preferentes de tales anticuerpos son LM609 y su forma humanizada conocida como Vitaxin (véanse, por ejemplo, los documentos de Publicación de Patente WO 89/05155 y WO 01/30393).

15 En un compuesto dirigido a integrinas de la presente invención, dicho al menos un componente dirigido está unido de forma covalente a través del engarce al sitio de unión del anticuerpo. El sitio de unión se refiere a la parte de la molécula de anticuerpo que participa en la unión con el antígeno. El sitio de unión del antígeno está formado por residuos de aminoácidos de las regiones variables ("V") N-terminales de las cadenas pesadas ("H") y ligeras ("L"). Las regiones variables del anticuerpo comprenden tres tramos sumamente divergentes denominados "regiones hipervariables" o "regiones determinantes de la complementariedad" (CDRs) que se insertan entre los tramos más protegidos que las flanquean conocidos como "regiones estructurales" (FRs). En una molécula de anticuerpo, las tres regiones hipervariables de una cadena ligera (LCDR1, LCDR2, y LCDR3) y las tres regiones hipervariables de una cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) se disponen de forma relativa las unas con las otras en el espacio tridimensional para formar la superficie de unión al antígeno o bolsillo. Por lo tanto, el sitio de unión del anticuerpo presenta los aminoácidos que componen las regiones determinantes de la complementariedad (CDRs) de un anticuerpo y cualquier residuo estructural que compone el bolsillo del sitio de unión.

25 La identidad de los residuos de aminoácidos que componen el sitio de unión en un anticuerpo particular se puede determinar utilizando procedimientos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, se pueden identificar las regiones determinantes de la complementariedad (CDRs) de un anticuerpo como las regiones hipervariables definidas originalmente por Kabat et al. (véase, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," E. Kabat et al., U.S. Department of Health and Human Services; Johnson, G and Wu, TT (2001) Kabat Database and its applications: future directions. Nucleic Acids Research, 29: 205-206; <http://immuno.bme.nwa.edu>). Las posiciones de las regiones determinantes de la complementariedad (CDRs) también se pueden identificar como las estructuras de los bucles estructurales descritas por Chotia y otros, (véase Chotia y Lesk, J. Mol. Biol. 196, 901 (1987), Chotia et al., Nature 342, 877 (1989), y Tramontano et al., J. Mol. Biol. 215, 175 (1990)). Otros procedimientos incluyen la "definición AbM" que es un compromiso entre Kabat y Chotia y deriva de la utilización del software de modelización de anticuerpos Oxford Molecular's AbM (ahora Accelrys) de la "definición de contacto" de las regiones determinantes de la complementariedad (CDRs) de Macallum et al., ("Antibody-antigen interactions: contact analysis and binding site topography," J Mol Biol. 1996 Oct 11;262(5):732-45). La siguiente tabla identifica las regiones determinantes de la complementariedad (CDRs) en base a las diversas definiciones conocidas.

Bucle	Kabat	AbM	Chotia	Contacto
L1	L24 -- L34	L24 --L34	L24 -- L34	L30 -- L36
L2	L50 -- L56	L50 --L56	L50 -- L56	L46 -- L55
L3	L89 -- L97	L89 --L97	L89 -- L97	L89 -- L96
H1	H31 -- H35B	H26 --H35B	H26 -- H32..34	H30 -- H35B
(Numeración de Kabat)				
H1	H31 -- H35	H26 --H35	H26 -- H32	H30 -- H35
(Numeración de Chotia)				
H2	H50 -- H65	H50 --H58	H52 -- H56	H47 -- H58
H3	H95 -- H102	H95 --H102	H95 -- H102	H93 -- H101

40 Las directrices generales mediante las que se pueden identificar las regiones determinantes de la complementariedad (CDRs) en un anticuerpo a partir solo de la secuencia son las siguientes:

LCDR1:

45 Inicio - Aproximadamente en el residuo 24.
El residuo anterior es siempre Cys.

El residuo posterior es siempre Trp. Típicamente el TRP continúa con TYR-GLN, pero también puede continuar con LEU-GLN, PHE-GLN, o TYR-LEU.
La longitud es de 10 a 17 residuos.

LCDR2:

5 Inicio - 16 residuos después del final de L1.
La secuencia anterior es generalmente ILE-TYR, pero también puede ser VAL-TYR, ILE-LYS, o ILE-PHE.
La longitud es generalmente de 7 residuos.

LCDR3:

10 Inicio - generalmente 33 residuos después del final de L2.
El residuo anterior es Cys.
La secuencia posterior es PHE-GLY-X-GLY.
La longitud es de 7 a 11 residuos.

HCDR1:

15 Inicio - aproximadamente en el residuo 26 (cuatro residuos después de uno de CYS) [definición de Chotia / AbM] La definición de Kabat comienza 5 residuos después.
La secuencia anterior es CYS-X-X-X.
Los residuos posteriores son TRP, típicamente seguido de VAL, pero también seguido de ILE, o ALA.
20 La longitud es de 10 a 12 residuos según la definición AbM mientras que la definición de Chotia excluye los 4 últimos residuos.

HCDR2:

25 Inicio - 15 residuos después del final de CDR-H1 de la definición de Kabat / AbM.
La secuencia anterior es típicamente LEU-GLU-TRP-ILE-GLY (SEQ ID N° 1), pero es posible un determinado número de variaciones.
La secuencia posterior es LYS/ARG-LEU/ILE/VAL/PHE/THR/ALA-THR/SER/ILE/ALA
La longitud es de 16 a 19 residuos según la definición de Kabat (la definición AbM termina 7 residuos antes).

HCDR3:

30 Inicio - 33 residuos después del final de CDR-H2 (dos residuos después de uno de CYS).
La secuencia anterior es CYS-X-X (típicamente CYS-ALA-ARG).
La secuencia posterior es TRP-GLY-X-GLY.
La longitud es de 3 a 25 residuos.

35 La identidad de los residuos de aminoácidos de un anticuerpo particular que están en el exterior de las regiones determinantes de la complementariedad (CDRs), pero que aún así componen parte del sitio de unión mediante una cadena lateral que es parte del revestimiento del sitio de unión (es decir, está disponible para la conexión a través del sitio de unión), se puede determinar utilizando procedimientos bien conocidos en la técnica tales como la modelización molecular y la cristalografía de rayos X. Véase por ejemplo, Riechmann et al., (1988) Nature, 332:323-327. El anticuerpo de aldolasa de ratón mAb 38C2, que tiene una lisina reactiva cerca pero en el exterior de HCDR3, es un ejemplo de tales anticuerpos.
40

El residuo reactivo del sitio de unión del anticuerpo se puede asociar de forma natural con el anticuerpo como cuando se codifica el residuo mediante los ácidos nucleicos presentes en las células linfoides de primera identificación para producir el anticuerpo. De forma alternativa, el residuo de aminoácido puede surgir mediante una mutación intencionada para de esta manera codificar el residuo particular (véase, por ejemplo, el documento de Patente WO 01/22922 de Meares et al.). En otro enfoque, el residuo de aminoácido o sus elementos reactivos (por ejemplo, un grupo amino nucleófilo o un grupo sulfhidrilo nucleófilo) se puede unir a un residuo de aminoácido en el sitio de unión del anticuerpo. De esta manera, la unión covalente con el anticuerpo que se produce "a través de un residuo de aminoácido en el sitio de unión del anticuerpo", como se usa en el presente documento, significa que esa unión se puede realizar de forma directa en un residuo de aminoácido del sitio de unión del anticuerpo o de forma indirecta a través de un resto químico que se une a una cadena lateral de un residuo de aminoácido del sitio de unión de un anticuerpo.
45
50

Los componentes funcionales que son proteínas que incluye el anticuerpo de aldolasa se pueden unir a los componentes dirigidos mediante una cadena lateral reactiva en la proteína. La cadena lateral reactiva puede estar presente o puede surgir por mutación. La cadena lateral reactiva en la lisina (grupo épsilon amino) se puede unir de forma covalente a un engarce que comprende una cetona, dicetona, beta lactama, éster activo de halocetona,
55

lactona, anhídrido, maleimida, epóxido, aldehído, amidina, guanidina, iminas, enaminas, fosfatos, fosfonatos, epóxidos, aziridinas, tioepóxidos, dicetonas enmascaradas o protegidas (por ejemplo como cetales), lactamas, halocetonas, aldehídos, y similares. Tales cadenas laterales reactivas de lisina se presentan en el sitio de unión del anticuerpo de aldolasa por ejemplo, el anticuerpo monoclonal de ratón mAb 38C2 y otros como anticuerpos catalíticos así como en las versiones adecuadamente humanizadas y quiméricas de tales anticuerpos. El anticuerpo de ratón mAb 38C2 es el prototipo de una nueva clase de anticuerpos catalíticos que se generaron por inmunización reactiva y mimetización mecanística de enzimas aldolasa naturales (Barbas et al., 1997, Science 278, 2085-2092). A través de una lisina reactiva, estos anticuerpos catalizan las relaciones aldólicas y retro aldólicas utilizando el mecanismo enamina de las aldolasas naturales (Wagner et al., 1995, Science 270, 1797-1800; Barbas et al., 1997, Science 278, 2085-2092; Zhong et al., 1999, Angew. Chem. Int. Ed. 38, 3738-3741; Karlstrom et al., 2000, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 973878-3883). Además de su versatilidad y su eficacia en la química orgánica sintética (por ejemplo, Hoffmann et al., 1998, J. Am. Chem. Soc. 120, 2768-2779; Sinha et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 14603-14608), los anticuerpos de aldolasa se han utilizado para activar los profármacos de camptotecina, doxorubicina, y etoposida *in vitro* e *in vivo* como parte de una estrategia anticáncer (Shabat et al., 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96, 6925-6930 y ,2001, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98, 7528-7533).

El aminoácido reactivo de un componente funcional tal como el anticuerpo de aldolasa puede ser un residuo de cisteína, serina o tirosina reactivo. Para la cisteína, el anticuerpo resultante puede formar una unión covalente con componentes que contengan maleimida o con otros grupos que reaccionen con el tiol tales como yodoacetamidas, haluros de arilo, disulfhidrilos y similares. Las cisteínas reactivas se pueden encontrar en anticuerpos catalíticos tioestearasa como se describe por Janda et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 91:2532-2536, (1994). Para otros anticuerpos estearasa, véase Wirsching et al., Science 270:1775-82 (1995). Los componentes funcionales que contienen aminoácidos reactivos se pueden preparar mediante medios bien conocidos en la técnica que incluyen la mutación del residuo de aminoácido para codificar el aminoácido reactivo o mediante la derivación química de una cadena lateral de aminoácido que contiene el grupo reactivo

Los componentes del compuesto dirigido están unidos preferentemente de forma covalente y preferentemente con un engarce o un engarce ramificado. En algunas realizaciones en las que el componente funcional es un anticuerpo, el componente dirigido se puede unir de forma covalente al sitio de unión del anticuerpo mediante el uso de un engarce. Se puede elegir un engarce apropiado que proporcione una distancia suficiente entre el componente dirigido y el componente funcional para que el componente dirigido sea capaz de unirse a su molécula diana. Cuando se desee la unión al sitio de unión de un anticuerpo, se puede elegir un engarce apropiado que proporcione una distancia suficiente entre el compuesto dirigido y el sitio de unión del anticuerpo para que el compuesto dirigido sea capaz de unirse a su molécula diana. La distancia depende de varios factores que incluyen, por ejemplo, la distancia de la superficie de más externa del sitio de unión del anticuerpo a la cadena lateral reactiva en el sitio de unión, y la naturaleza del agente dirigido. Generalmente, el engarce podrá tener una longitud de aproximadamente 5 a 10 angstroms (0,5 a 1 nm), siendo la longitud más preferente de 10 o más angstroms (1,0 nm), aunque los engarces más cortos de una longitud de aproximadamente 3 angstroms (0,3 nm) pueden ser suficientes si la cadena lateral de aminoácido está muy cerca de la parte más externa del sitio de unión y/o el compuesto dirigido incluye un segmento que puede funcionar en parte como un engarce.

La longitud del engarce también se puede visualizar en términos del número de átomos lineales (mediante la cuenta de los restos cíclicos tales como anillos aromáticos y similares tomando la ruta más corta). La longitud del engarce mediante esta medición es en general de aproximadamente 10 a 200 átomos y más típicamente de aproximadamente 30 o más átomos, aunque los engarces más cortos de dos o más átomos pueden ser suficientes si la cadena lateral reactiva de aminoácido está muy cerca de la parte más externa del sitio de unión del anticuerpo. Generalmente son suficientes los engarces con un tramo lineal de al menos aproximadamente nueve átomos. Las longitudes de los engarces anteriores para la unión a los sitios de unión del anticuerpo se aplican generalmente a los componentes dirigidos a integrinas y a los componentes funcionales que no son anticuerpos.

Otras consideraciones del engarce incluyen el efecto del engarce en las propiedades físicas y farmacocinéticas del compuesto dirigido resultante tales como la solubilidad, lipofilia, hidrofilia, hidrofobia, estabilidad (mayor o menor estabilidad así como degradación planificada), rigidez, flexibilidad, inmunogenicidad, modulación de la unión, compatibilidad química con el agente dirigido, capacidad de incorporarse en una micela o liposoma, y similares. Para los componentes dirigidos peptidomiméticos de RGD de la presente invención, el engarce se puede unir al separador entre el núcleo de la molécula y el grupo ácido o básico. De forma alternativa, el engarce se puede unir al mismo núcleo.

En algunas realizaciones, el engarce incluye cualquier átomo del grupo de C, H, N, O P, S, Si, halógeno (F, Cl, Br, I) o una sal de los mismos. El engarce también pueden incluir un grupo tal como un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, oxoalquilo, oxoalquenilo, oxoalquinilo, aminoalquilo, aminoalquenilo, aminoalquinilo, sulfoalquilo, sulfoalquenilo, sulfoalquinilo, fosfoalquilo, fosfoalquenilo, o fosfoalquinilo, así como una estructura anular carbocíclica o heterocíclica, sencilla o condensada, saturada o insaturada. También se pueden presentar combinaciones de los grupos y anillos anteriores en los engarces de los compuestos dirigidos de la presente invención.

El diseño general de una realización de un engarce lineal para su uso en los compuestos dirigidos de la presente invención se muestra en la Figura 2. El engarce incluye tres áreas funcionales que identifican el comienzo del agente

dirigido (T), siendo éstas la cadena de conexión (X), el grupo de reconocimiento (Y) y el grupo reactivo (Z). El compuesto engarce-agente dirigido a integrinas SCS-873 se muestra en la Figura 2 con las partes del engarce X, Y y Z identificadas. En algunas realizaciones, el grupo de reconocimiento puede no ser necesario.

5 El grupo reactivo Z del engarce puede incluir uno o más C=O, grupos dispuestos para formar una dicetona, una acil beta-lactama, un éster activo, una halocetona, un grupo ciclohexil dicetona, un aldehído o una maleimida. Otros grupos pueden incluir lactona, anhídrido, y alfa-haloacetamida y epóxido. Ejemplos de grupos reactivos electrófilos del engarce que se pueden unir de forma covalente a un grupo reactivo nucleófilo (por ejemplo, las cadenas laterales de la lisina o la cisteína) de un componente funcional o un componente dirigido a integrinas incluyen acil beta-lactama, dicetona sencilla, éster activo de succinimida, maleimida, haloacetamida con engarce, halocetona, ciclohexil dicetona, aldehído, amidina, guanidina, imina, enamina, fosfato, fosfonato, epóxido, aziridina, tioepóxido, sulfonato, una dicetona enmascarada o protegida (por ejemplo como un cetal), lactama, y similares, grupos C=O enmascarados tales como imina, cetal, acetal y cualquier otro grupo electrófilo conocido. Un grupo reactivo del engarce preferente incluye uno o más C=O, grupos dispuestos para formar una acil beta-lactama, dicetona sencilla, éster activo de succinimida, maleimida, haloacetamida con engarce, halocetona, ciclohexil dicetona, o aldehído.

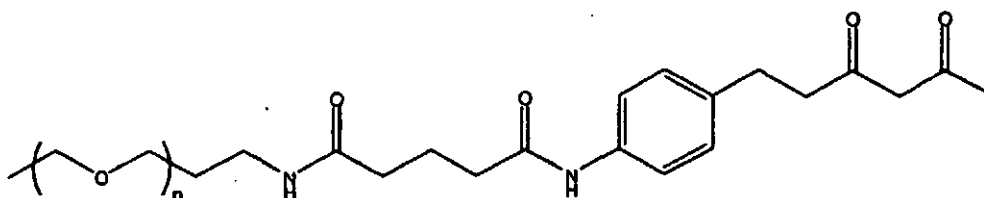
15 Los grupos reactivos dicetona del engarce que forman enlaces covalentes reversibles con la lisina o la cisteína reactiva de un componente funcional o de un componente dirigido a integrinas se muestran en la Figura 6. Los grupos R_1 y R_2 y R_3 de las estructuras A-C representan sustituyentes que pueden ser C, H, N, O P, S, Si, halógeno (F, Cl, Br, I) o una sal de los mismos. Estos sustituyentes también pueden incluir un grupo tal como un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, oxoalquilo, oxoalquenilo, oxoalquinilo, aminoalquilo, aminoalquenilo, aminoalquinilo, sulfoalquilo, sulfoalquenilo, sulfoalquinilo, fosfoalquilo, fosfoalquenilo o fosfoalquinilo. Los grupos R_2 y R_3 podrían ser cíclicos como se ejemplifica en las estructuras B y C mientras que X podría ser un heteroátomo. Se muestran otros grupos reactivos dicetona del engarce en la Figura 7 según las estructuras B y G. La Figura 7 también incluye las estructuras de otros grupos reactivos del engarce preferentes.

25 En algunas realizaciones, el engarce puede incluir un grupo reactivo que forme un enlace covalente no reversible con el sitio de unión de un anticuerpo. Ejemplos de tales grupos reactivos, mostrados según las estructuras D-G en la Figura 6, son útiles para la unión no reversible de un engarce-componente dirigido a un grupo reactivo nucleófilo (por ejemplo, la cadena lateral de la lisina o la cisteína) en el componente funcional (o viceversa). Otros grupos reactivos dicetona del engarce que forman enlaces covalentes no reversibles se muestran en la Figura 7 según las estructuras A, C y D.

30 Los engarces pueden contener opcionalmente un grupo de reconocimiento Y situado entre la parte del grupo reactivo y la parte de la cadena de conexión del engarce tal como se muestra en la Figura 2. Mientras no se desee que enlace de cualquier manera, el grupo de reconocimiento, si está presente, puede servir para posicionar de forma adecuada el grupo reactivo dentro de un sitio de enlace tal como el sitio de unión de un anticuerpo para que pueda reaccionar con una cadena lateral reactiva de un aminoácido. La Figura 8 muestra una diversidad de ejemplos de grupos de reconocimiento con una o más estructuras homo o hetero anulares de cinco a seis átomos. También son posibles las estructuras anulares mayores.

En la Figura 9 se muestran diversas realizaciones de la parte de la cadena de conexión X del diseño general del engarce (Figura 2). Como se muestra, la cadena de conexión puede variar de forma considerable en longitud, siendo posibles las estructuras tanto de cadena lineal como de cadena ramificada.

40 Un engarce preferente para su uso en los compuestos dirigidos de la presente invención y para la preparación de compuestos engarce-agente dirigido o compuestos engarce-componente funcional es un engarce con un grupo reactivo 1,3-dicetona que tiene la estructura 33 como se muestra a continuación, en la que n es de 1-100 o superior y preferentemente es 1, 2 ó 4, y más preferentemente es 3. En algunas realizaciones, el engarce es un polímero de repetición tal como polietilenglicol.



33

45 El grupo reactivo del engarce o los grupos reactivos similares que pueden ser inherentes a los componentes dirigidos se pueden elegir para la conexión con un componente funcional particular. Por ejemplo, un resto químico para la modificación de un anticuerpo de aldolasa puede ser un grupo cetona, dicetona, beta lactama, éster activo de halocetona, lactona, anhídrido, maleimida, alfa-haloacetamida, ciclohexil dicetona, epóxido, aldehído, amidina,

guanidina, imina, enamina, fosfato, fosfonato, epóxido, aziridina, tioepóxido, dicetona enmascarada o protegida (por ejemplo un cetil), lactama, halocetona, aldehído, y similares. Una configuración 1,3-dicetona tal como la dicetona mostrada en el Compuesto SCS-873 (véase más adelante) o SCS-864 (véase más adelante), es especialmente preferente como sustrato para la modificación de un anticuerpo de aldolasa.

5 Un resto químico del grupo reactivo del engarce adecuado para la modificación covalente de un grupo reactivo sulfhidrilo de un componente funcional o de un componente dirigido a integrinas puede ser un grupo disulfuro, haluro de arilo, maleimida, alfa-haloacetamida, isocianato, epóxido, tioéster, éster activo, amidina, guanidina, imina, enamina, fosfato, fosfonato, epóxido, aziridina, tioepóxido, dicetona enmascarada o protegida (por ejemplo un cetil), lactama, halocetona o aldehído. Los expertos en la materia podrán comprender fácilmente que las cadenas laterales reactivas de aminoácido de los componentes funcionales proteicos pueden poseer un grupo electrófilo que reaccione con un grupo nucleófilo del componente dirigido o su engarce, mientras que en otras realizaciones un grupo reactivo nucleófilo de una cadena lateral de aminoácido de un grupo funcional proteico reacciona con un grupo electrófilo de un componente dirigido o engarce. De esta manera, las cadenas laterales de los componentes proteicos se pueden sustituir con un electrófilo (por ejemplo, Figuras 6 y 7) y este grupo se puede usar para reaccionar con un nucleófilo del componente dirigido o de su engarce (por ejemplo, NH_2). En esta realización, cada componente dirigido y funcional tiene un engarce parcial con los restos reactivos apropiados en cada terminación para que las dos terminaciones del engarce parcial puedan formar el engarce completo, creando de esta manera el compuesto dirigido completo.

20 Se pueden preparar compuestos dirigidos a integrinas mediante varias aproximaciones. En una aproximación, un compuesto engarce-componente dirigido se sintetiza con un engarce que incluye uno o más grupos reactivos diseñados para la reacción covalente con un resto reactivo susceptible en el componente funcional. En una realización preferente, el resto reactivo adecuado puede ser una cadena lateral de un aminoácido. El compuesto engarce-componente y el componente funcional se combinan a continuación en condiciones en las que el grupo reactivo del engarce forma un enlace covalente con el componente funcional. El término "susceptible" como se usa en el presente documento en referencia a un resto químico indica que el resto químico podrá unirse de forma covalente con un grupo reactivo compatible. De esta manera, un grupo electrófilo es susceptible de unión covalente con un grupo nucleófilo y viceversa.

30 En otro enfoque, se puede conseguir la unión mediante la síntesis de un compuesto engarce-componente funcional que comprende el componente funcional y un engarce en el que el engarce incluye uno o más grupos reactivos diseñados para la reacción covalente con un resto químico susceptible del componente dirigido. El componente dirigido puede necesitar una modificación que proporcione el resto reactivo apropiado para la reacción con el grupo reactivo del engarce. El engarce-componente funcional y el componente dirigido se combinan en condiciones en las que el grupo reactivo del engarce se une de forma covalente al componente dirigido.

35 Una aproximación adicional para la preparación de los compuestos dirigidos la presente invención utiliza el diseño de engarce doble. En una realización, se sintetiza un compuesto engarce-componente dirigido que comprende un componente dirigido y un engarce con un grupo reactivo. También se sintetiza un compuesto engarce-componente funcional que comprende un componente funcional y un engarce, este último con un resto químico susceptible de reaccionar con el grupo reactivo del engarce-componente de la primera etapa. Estos dos compuestos que contienen un engarce se combinan a continuación en condiciones en las que los engarces se unen de forma covalente, para formar el compuesto dirigido.

40 En otra realización mas, se sintetiza un compuesto engarce-componente funcional que comprende un componente funcional y un engarce con un grupo reactivo. También se prepara un compuesto engarce-componente dirigido que comprende el componente y un engarce, este último con un resto químico susceptible de reaccionar con el grupo reactivo del engarce-anticuerpo de la primera etapa. Estos dos compuestos que contienen un engarce se combinan a continuación en condiciones en las que los engarces se unen de forma covalente, para formar el compuesto dirigido.

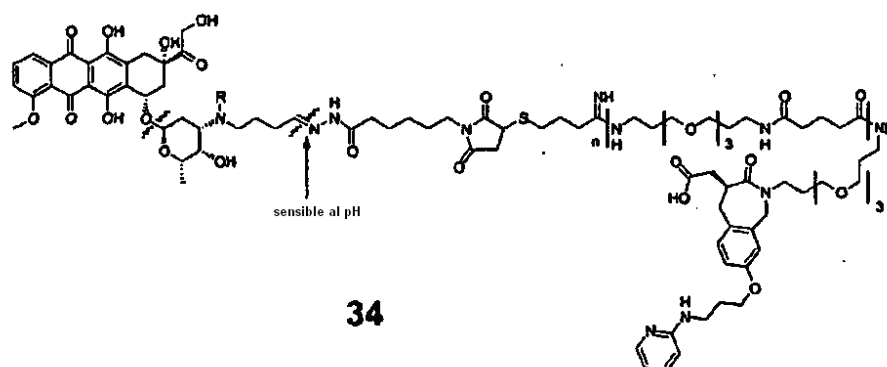
45 Se pueden usar numerosos medios bien conocidos en la técnica para unir un engarce al agente dirigido o al sitio de unión del anticuerpo. Ejemplos de grupos funcionales que se pueden involucrar en la conexión incluyen, por ejemplo, ésteres, amidas, éteres, fosfatos, amino, ceto, amidina, guanidina, iminas, eneaminas, fosfatos, fosfonatos, epóxidos, aziridinas, tioepóxidos, dicetonas enmascaradas o protegidas (por ejemplo como cetales), lactamas, halocetonas, aldehídos, tiocarbamato, tioamida, tioéster, sulfuro, disulfuro, fosforamida, sulfonamida, urea, tioruea, carbamato, carbonato o hidroxamida.

50 Se puede unir un componente funcional a un componente dirigido utilizando un resto de engarce que es lábil bajo ciertas condiciones. La unión lábil puede estar entre el componente funcional y el engarce, entre el componente dirigido y el engarce, o dentro del engarce, o combinaciones de las mismas. Por ejemplo, el engarce puede ser lábil cuando se somete a cierto pH. El engarce también puede ser un sustrato de una enzima particular, tal como una enzima presente en los fluidos corporales. De esta manera, el diseño particular del engarce lábil se puede usar para dirigir la liberación del componente funcional agente biológico después de que haya alcanzado su diana deseada. Un engarce lábil puede ser un enlace covalente reversible. Dicho engarce puede ser un engarce lábil ácido tal como un engarce con ácido cis-aconítico que presenta ventajas en el entorno ácido de diferentes compartimentos

60

intracelulares tales como en los endosomas que se pueden encontrar durante la endocitosis mediada por receptores y en los lisosomas. Véase Shen et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (1981) 102:1048-1054; Yang et al., *J. Natl. Canc. Inst.* (1988) 80: 1154-1159. En otras realizaciones, se emplea como engarce un brazo separador peptídico de forma que el componente funcional se puede liberar mediante la acción de una peptidasa tal como una peptidasa lisosomal. Véase por ejemplo, Trouet et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1982) 79: 626-629. El Compuesto 34 mostrado a continuación es un ejemplo de compuesto dirigido de la presente invención en el que el resto dirigido es un antagonista de integrinas y el componente funcional es propirrolinodoxorubicina (R = péptidos) y los dos están unidos mediante un engarce lábil sensible al pH.

Los engarces lábiles incluyen enlaces covalente reversibles, conexiones sensibles al pH (sensibles a ácidos o a bases), conexiones sensibles a enzimas, engarces sensibles a la degradación, engarces fotosensibles, y combinaciones de los mismos. Estos elementos también son característicos de un profármaco, que se puede considerar como un tipo de engarce lábil. Se han diseñado una diversidad de engarces lábiles previamente como restos. Por ejemplo, los profármacos se pueden formar utilizando compuestos que contienen ácidos carboxílicos que se degradan lentamente por hidrólisis como se describe en el documento de Patente de los Estados Unidos de América N° 5.498.729.



A este respecto, el otro componente funcional puede ser un "profármaco", que significa que el componente funcional es básicamente inactivo terapéuticamente, pero pasa a ser activo tras alguna modificación. El profármaco se puede suministrar en la superficie de una célula o de forma intracelular usando compuestos de anticuerpos dirigidos de la presente invención donde se puede activar a continuación. En la aproximación del profármaco, se puede obtener el suministro del fármaco en un lugar específico mediante la activación específica de un profármaco en un tejido, que es el resultado del metabolismo de una enzima que bien es única para el tejido o bien se presenta en una concentración elevada (comparada con otros tejidos); de esta manera, se activa el profármaco de forma más eficiente.

Se puede utilizar el tratamiento fotodinámico para activar un profármaco mediante la ruptura de un engarce fotosensible o mediante la activación de una enzima fotoreceptiva (hidrólisis de acil enzima) como se ha descrito previamente (véanse los documentos de Patente de los Estados Unidos de América números 5.114.851 y 5.218.137). El tratamiento fotodinámico también se puede utilizar para inactivar rápidamente un fármaco en lugares en los que la actividad del fármaco no se desea (por ejemplo en los tejidos no diana). Se conocen bien en la técnica diversos medios para modificar de forma covalente un fármaco para formar un profármaco.

Si se desea preparar un compuesto de la presente invención simplemente se selecciona como el otro componente funcional una estructura que tenga una actividad preseleccionada. En una realización, el componente funcional es un agente terapéutico tal como un fármaco. Se puede usar cualquier fármaco adecuado. La selección del agente terapéutico depende de la actividad y de la diana deseadas del compuesto actual. Cuando el objetivo sea una integrina, un agente terapéutico preferente es un agente que tiene una actividad biológica dirigida contra la integrina. Por ejemplo, en el caso del Sarcoma de Kaposi, un cáncer asociado con la angiogénesis de las lesiones cancerosas, se puede elegir entre varios fármacos tales como, por ejemplo, los tres fármacos con eficacia terapéutica demostrada en esta enfermedad: paclitaxel, doxorubicina, y etoposida. Un derivado de la doxorubicina, la 2-pirrolinodoxorubicina, es de 500 a 1000 veces más potente que la propia doxorubicina y se ha estudiado de forma exhaustiva en otras estrategias de fármacos dirigidos (para una revisión reciente véase Schally y Nagy, *Eur. J. Endocrinology* 141, 1-14, 1999). Un compuesto que comprende un componente dirigido a integrinas con cualquiera de estos compuestos se puede usar para tratar la angiogénesis anormal del Sarcoma de Kaposi. La síntesis de estos compuestos con el componente dirigido a integrinas SCS-873 se describe en los Ejemplos.

Los compuestos dirigidos a integrinas de la presente invención tienen numerosos usos. En una aproximación, se puede suministrar un componente funcional a las integrinas asociadas con células, tejidos, o macromoléculas de los fluidos mediante la administración del compuesto dirigido. En una aproximación, el otro componente funcional es un agente terapéutico.

Los compuestos de la presente invención dirigidos a integrinas tienen una utilidad particular para el tratamiento de estados patológicos asociados con la expresión de integrinas. Por lo tanto, se proporciona un compuesto dirigido a integrinas de la presente invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección en un individuo en el que dicha enfermedad o afección involucra a una integrina, mediante la administración al individuo de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto dirigido de la presente invención que comprende un componente terapéutico eficaz contra la enfermedad o afección. En una de tales realizaciones, la afección es un carcinoma. La asociación de la expresión de las integrinas con los carcinomas se conocen bien en la técnica (véanse, por ejemplo, los documentos de Patente de los Estados Unidos de América números 5.753.230 y 5.766.591).

Los compuestos dirigidos a integrinas de la presente invención se pueden usar para el tratamiento de cualquier enfermedad o afección que se asocie con la integrina a la que se dirige. Por ejemplo, se sabe que el receptor de vitronectina en los osteoclastos inhibe la reabsorción ósea en los osteoclastos. De esta manera, las enfermedades o afecciones en las que la reabsorción ósea se asocia con una patología, tal como la osteoporosis y la osteoartritis, se puede tratar mediante la administración de un compuesto dirigido a vitronectina de la presente invención. De forma alternativa, se puede usar un compuesto dirigido a vitronectina con un componente funcional apropiado para estimular la formación ósea mediante el incremento de la liberación de osteocalcina por los osteoclastos. El incremento de la producción ósea es un claro beneficio en los estados patológicos en los que existe una deficiencia de la masa ósea mineralizada o en los que se desea la remodelación ósea, tal como la curación de una fractura y la prevención de fracturas óseas. Las enfermedades y los trastornos metabólicos que dan como resultado la pérdida de estructura ósea también se beneficiarían de dicho tratamiento. Por ejemplo, el hiperparatiroidismo, la enfermedad de Paget, la hipercalcemia maligna, las lesiones osteolíticas producidas por metástasis óseas, la reducción ósea debida a la inmovilización o a la deficiencia de hormonas sexuales, la enfermedad de Behcet, la osteomalacia, la hiperostosis, y la osteoporosis se podrían beneficiar de la administración de un compuesto de la presente invención.

Los compuestos dirigidos a integrinas de la presente invención también se pueden usar para el tratamiento de cualquier trastorno inflamatorio, tal como artritis reumatoide y psoriasis, y de enfermedades cardiovasculares, tales como aterosclerosis y reestenosis, que involucran células que expresan vitronectina. Por lo tanto, los compuestos dirigidos a vitronectina de la presente invención que comprenden un componente funcional adecuado se pueden usar para tratar estos trastornos. Esta aproximación también se aplica al tratamiento o prevención de otras enfermedades que incluyen, pero no se limitan a, trastornos tromboembólicos, asma, alergias, síndrome de distrés respiratorio en adulto, enfermedad del injerto frente al huésped, rechazo de trasplante de órganos, shock séptico, eccema, dermatitis de contacto, síndrome inflamatorio intestinal, y otras enfermedades autoinmunes. Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles para la cicatrización de heridas.

Los compuestos dirigidos a integrinas de la presente invención encuentran un uso adicional en el tratamiento de los trastornos angiogénicos. Tales trastornos involucran una neovascularización anormal en la que el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos es la causa de, o contribuye a, la patología asociada con la enfermedad. En estas situaciones, la inhibición de la angiogénesis podrá reducir los efectos perjudiciales de la enfermedad. Otras dianas terapéuticas para los compuestos de la presente invención son las enfermedades oculares caracterizadas por neovascularización. Tales enfermedades oculares incluyen trastornos neovasculares de la córnea, tales como el trasplante de córnea, queratitis herpética, queratitis luética, pterigión y pannus neovascular asociado con el uso de lentes de contacto. Enfermedades oculares adicionales incluyen degeneración macular relacionada con la edad, histoplasmosis ocular presumida, retinopatía del prematuro o glaucoma neovascular.

Cuando se necesita el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos para ayudar al crecimiento de un tejido perjudicial, la inhibición de la angiogénesis podrá reducir el suministro de sangre al tejido y por lo tanto contribuir a la reducción de la masa de tejido basada en las necesidades el suministro de sangre. El cáncer es un ejemplo en el que la neovascularización es una necesidad continua para el crecimiento del tumor y para establecer la metástasis del tumor. De esta manera, los compuestos dirigidos a integrinas de la presente invención inhiben la angiogénesis de los tejidos tumorales, previniendo por lo tanto la metástasis del tumor y el crecimiento tumoral.

Además de las aplicaciones terapéuticas, los compuestos dirigidos a integrinas de la presente invención también se pueden usar para la formación de imágenes de células o tejidos tales como las células tumorales, como se conoce bien en la técnica. Por lo tanto, dado que es un procedimiento de formación de imágenes de células o tejidos en un individuo en el que dichas células o tejidos expresen una molécula diana de integrina, dicho procedimiento comprende la administración al individuo de una cantidad eficaz del compuesto dirigido a integrinas unido a un radioisótopo adecuado o a un marcador detectable. El radioisótopo o el marcador se pueden unir al componente dirigido o al componente funcional.

Un compuesto dirigido a integrinas de la presente invención se pueden administrar en forma de una composición farmacéutica en la que el compuesto de la presente invención se formula con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en la fabricación de un medicamento. Las composiciones farmacéuticas de los compuestos de la presente invención se pueden formular en forma de soluciones o polvos liofilizados para la administración parenteral. Los polvos se pueden reconstituir mediante la adición de un diluyente adecuado u otro vehículo farmacéuticamente aceptable antes de su uso. Los polvos también se pueden pulverizar en una forma seca. La formulación líquida puede ser una solución tamponada, isotónica y acuosa. Ejemplos de diluyentes adecuados son solución salina isotónica normal, o dextrosa estándar al

5% en agua o tamponada con una solución de acetato sódico o amónico. Dicha formulación es especialmente adecuada para la administración parenteral, pero también se puede utilizar para la administración por vía oral o introducirse en un inhalador o nebulizador de dosis medida para su insuflación. Puede ser deseable la adición de excipientes tales como polivinilpirrolidona, gelatina, hidroxil celulosa, goma arábiga, polietilenglicol, manitol, cloruro sódico o citrato sódico.

De forma alternativa, los compuestos dirigidos a integrinas se pueden encapsular, comprimir o preparar en una emulsión o jarabe para la administración por vía oral. Se pueden añadir vehículos líquidos o sólidos farmacéuticamente aceptables para mejorar o estabilizar la composición, o para facilitar la preparación de la composición. Los vehículos sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato cálcico dihidratado, terra alba, estearato de magnesio o ácido esteárico, talco, pectina, goma arábiga, agar o gelatina. Los vehículos líquidos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, solución salina y agua. El vehículo también puede incluir material de liberación sostenida tal como monoestearato de glicerol o diestearato de glicerol, sólo o con una cera. La cantidad de vehículo sólido varía pero estará comprendida preferentemente entre aproximadamente 20 mg y aproximadamente 1 g por unidad de dosificación. Las preparaciones farmacéuticas se prepararon siguiendo las técnicas convencionales de farmacia que involucran molienda, mezcla, granulación y compresión, cuando sea necesario, para las formas de comprimidos; o molienda, mezcla y relleno para las formas de cápsula de gelatina dura. Cuando se usa un vehículo líquido, la preparación será en forma de un jarabe, elixir, emulsión o suspensión acuosa o no acuosa. Para la administración por vía rectal, los compuestos de la presente invención se pueden combinar con excipientes tales como manteca de cacao, glicerina, gelatina o polietilenglicoles y moldearse en un supositorio.

Los compuestos dirigidos a integrinas de la presente invención se pueden formular para incluir otros fármacos o agentes biológicos médicamente útiles. Los compuestos también se pueden administrar en combinación con la administración de otros fármacos con agentes biológicos útiles para la enfermedad o afección a los que se dirigen los compuestos de la presente invención (véase por ejemplo, el documento de Patente de los Estados Unidos de América N° 6.413.955 para los ingredientes activos útiles para la osteoporosis).

Como se emplea en el presente documento, la frase "una cantidad eficaz", se refiere a una dosis suficiente para proporcionar concentraciones lo suficientemente altas para proporcionar un efecto beneficioso al receptor de la misma. El nivel de dosis terapéuticamente eficaz específico para cualquier sujeto en particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando, la gravedad del trastorno, la actividad del compuesto específico, la vía de administración, la velocidad de aclaramiento del compuesto, la duración del tratamiento, los fármacos usados en combinación o coincidencia con el compuesto, la edad, peso corporal, sexo, dieta y estado general de salud del sujeto, y factores bien conocidos en las técnicas y ciencias médicas. Los expertos en la materia conocen diversas consideraciones generales a tener en cuenta para determinar la "cantidad terapéuticamente eficaz" y se describen, por ejemplo, en Gilman et al., eds., Goodman And Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8ª ed., Pergamon Press, 1990; y Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990. Los niveles de dosificación se sitúan típicamente en el rango de aproximadamente 0,001 hasta 100 mg/kg/día; siendo generalmente aplicables los niveles en el rango de aproximadamente 0,05 hasta 10 mg/kg/día. Se puede administrar un compuesto por vía parenteral, tal como intravascular, intravenosa, intraarterial, intramuscular y subcutánea. La administración también puede ser por vía oral, nasal, rectal, transdérmica o por inhalación mediante un aerosol. La composición se puede administrar en forma de un bolo, o de una infusión lenta.

La administración de un compuesto dirigido a un individuo inmunocompetente puede resultar en la producción de anticuerpos contra el compuesto. Tales anticuerpos pueden dirigirse al componente dirigido, al componente funcional o a cualquier otra entidad asociada con el compuesto. Se puede dirigir la inmunogenicidad de tales compuestos mediante procedimientos bien conocidos en la técnica tales como la unión de separadores basados en cadenas largas de polietilenglicol (PEG), y similares, a uno o más componentes del compuesto. Los polietilenglicoles de cadena larga y otros polímeros se conocen por su capacidad de enmascarar epítopos extraños, dando como resultado una inmunogenicidad reducida de las proteínas terapéuticas que muestran los epítopos extraños (Katre et al., 1990, J. Immunol. 144, 209-213; Francis et al., 1998, Int. J. Hematol. 68, 1-18). Como se ha señalado, el polietilenglicol puede servir como un engarce en los compuestos dirigidos de la presente invención, proporcionando de esta manera tanto la función de engarce como la reducción de la inmunogenicidad. De forma alternativa o además, se puede administrar al individuo un fármaco inmunosupresor tal como la ciclosporina A, un anticuerpo anti-CD3, y similares, para reducir la probabilidad de que se desarrolle una respuesta inmune al compuesto dirigido.

El peptidomimético de RGD se puede utilizar para dirigir liposomas. Esto se puede conseguir mediante la unión química de tales componentes dirigidos a un resto lipídico que permita al componente dirigido asociarse con los lípidos del liposoma. El liposoma encapsulado con un fármaco apropiado se puede dirigir de esa manera de forma más efectiva *in vivo* mediante la ayuda del componente dirigido. Por ejemplo, el tratamiento del sarcoma de Kaposi (SK) con liposomas de ocultación estabilizados estéricamente que contiene doxorubicina (Doxil™) es una de las terapias más efectivas aprobadas para el SK. Esta formulación liposomal proporciona varias ventajas sobre la administración de la doxorubicina libre. Además de una reducción de la toxicidad cardíaca, vómitos, alopecia, neuropatía periférica y mucositis proporcionada por la formulación liposomal, Doxil™ posee la capacidad intrínseca de la dirección pasiva del tumor como resultado del tamaño de partícula y la mejora de la permeabilidad y la ayuda adicional al fenómeno de retención (Matsumura et al., Cancer Res. 46, 6387-6392, 1986) debido al aumento de la

vida media en suero del fármaco.

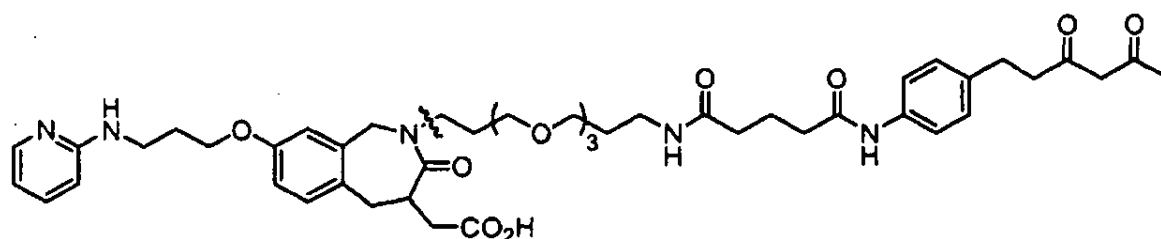
La dirección activa como se desvela en el presente documento puede aumentar la capacidad de dirección pasiva del Doxil™ suministrándose de este modo la carga citotóxica de los liposomas de forma más eficiente al tumor de SK y a su vascularización. Dicha dirección activa del Doxil™ es probable que reduzca la dosificación necesaria para la respuesta clínica limitando de esa manera la toxicidad no específica. La administración de liposomas dirigidos se puede conseguir como se ha descrito previamente (véase, por ejemplo, Allen et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 21, 117-133). Los compuestos dirigidos de la presente invención se pueden utilizar en combinación con otros compuestos o terapias tales como la terapia de radiación.

Sería claramente evidente que los compuestos de la presente invención encontrarán un uso no solamente en terapia médica y diagnóstico humanos sino también en diagnóstico *in vitro*, veterinaria, agricultura, medio ambiente y otras disciplinas. La versatilidad de la presente invención se ilustra mediante los siguientes Ejemplos que ilustran las realizaciones preferentes de la presente invención y no son limitantes de ninguna manera de las reivindicaciones o de la presente memoria descriptiva.

Ejemplo 1: Compuesto de anticuerpo dirigido que comprende un agente dirigido peptidomimético de RGD unido de forma covalente al sitio de unión de un anticuerpo monoclonal de aldolasa 38C2.

El compuesto dirigido a integrinas se preparó en base a la formación de un enlace covalente reversible entre un derivado de engarce de dicetona de un peptidomimético de RGD y la lisina reactiva del anticuerpo de ratón 38C2. El anticuerpo de ratón 38C2 es el prototipo de una nueva clase de anticuerpos catalíticos generados mediante inmunización reactiva y mimetización mecanística de enzimas aldolasa naturales (Barbas et al., Science 278, 2085-2092, 1997). A través de la lisina reactiva, estos anticuerpos catalizan las reacciones aldólicas y retro aldólicas usando el mecanismo enamina de las aldolasas naturales (Wagner et al., Science 270, 1797-1800, 1995; Barbas et al., Science 278, 2085-2092, 1997; Zhong et al., Angew. Chem. Int. Ed. 38, 3738-3741, 1999). Además de su versatilidad y eficacia en química orgánica sintética, los anticuerpos de aldolasa se han usado en la activación de profármacos de camptotecina, doxorubicina, y etoposida *in vitro* e *in vivo* como parte de una estrategia anticáncer (Shabat et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96, 6925-6930, 1999); Shabat, D. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98, 7528-7533, 2001). Otra característica más de estos anticuerpos, en concreto su capacidad para unirse de forma covalente a las dicetonas, ha permanecido en gran medida inexplorada.

El peptidomimético de RGD utilizado (véase el Compuesto 1) es específico para integrinas humanas con una elevada afinidad de unión para $\alpha_v\beta_3$ a 0,9 nM y $\alpha_v\beta_5$ a 0,6 nM (especificidad exhibida mediante unión mínima a $\alpha_{IIb}\beta_3$) (Miller et al., citado anteriormente). La versión modificada del engarce de dicetona del Compuesto 1, designada SCS-873, se preparó como se describe en el Ejemplo 3. A continuación se muestra SCS-873 con el componente dirigido y el engarce identificados por separado.



Agente dirigido

Engarce con el Grupo 1,3 Dicetona

SCS873

Es deseable un antagonista RGD peptidomimético con actividad conocida tanto para la unión de $\alpha_v\beta_3$ como para la de $\alpha_v\beta_5$ porque algunos de estos compuestos se unen tanto a las integrinas murinas como a las humanas. La reactividad cruzada de tales especies permite estudios preclínicos *in vivo* de modelos animales de angiogénesis antes de las pruebas en seres humanos. Además, el compuesto dirigido se puede usar para la terapia del sarcoma de Kaposi que se asocia con la integrina $\alpha_v\beta_3$.

SCS-873 se unió al anticuerpo 38C2 mediante el siguiente procedimiento: se añadió 1 mililitro del anticuerpo 38C2 en tampón fosfato salino (10 mg/ml) a 12 microlitros de una solución patrón de 10 mg/ml de SCS-873 y la mezcla resultante se mantuvo a temperatura ambiente durante 2 horas antes de su uso.

Se evaluó la unión de la mezcla de SCS-873 y 38C2 a células SLK. Efectivamente SCS-873 actuaba de mediador en la unión de 38C2 a las células de superficie. No se detectó unión de 38C2 en ausencia de SCS-873. Los experimentos de control confirmaron que el resto dicetona del engarce es necesario para la unión de SCS-873 a

38C2. Se determinó que SCS-873 retiene la especificidad hacia la integrina del componente dirigido a integrinas, es decir, no se detectó ninguna unión a $\alpha_{IIb}\beta_3$ en el ELISA mientras se descubrió una fuerte unión a $\alpha_V\beta_3$ y a $\alpha_V\beta_3$. Las inyecciones i.p. e i.v. independientes en ratones del compuesto dirigido preparado con SCS-873 y 38C2 frente a cada uno de los componentes solos por separado demostraron la dirección a integrinas *in vivo*. En estos experimentos, la vida media en suero de SCS-873 se extendió en más de dos órdenes de magnitud con la unión a 38C2. El SCS-873 libre no unido a anticuerpo tenía una vida media en suero de solamente unos minutos mientras que la combinación del anticuerpo y la molécula pequeña se pudo detectar en las muestras de suero de hemorragias oculares durante varios días.

Ejemplo 2: Dirección a integrinas con componentes funcionales proteicos.

Los componentes dirigidos a integrinas se pueden unir de forma covalente a componentes funcionales tales como proteínas para desencadenar las funciones efectoras de los canales de estas proteínas. Tales uniones se pueden conseguir mediante las funcionalidades N-hidroxisuccinimida lisina reactiva o maleimida cisteína reactiva.

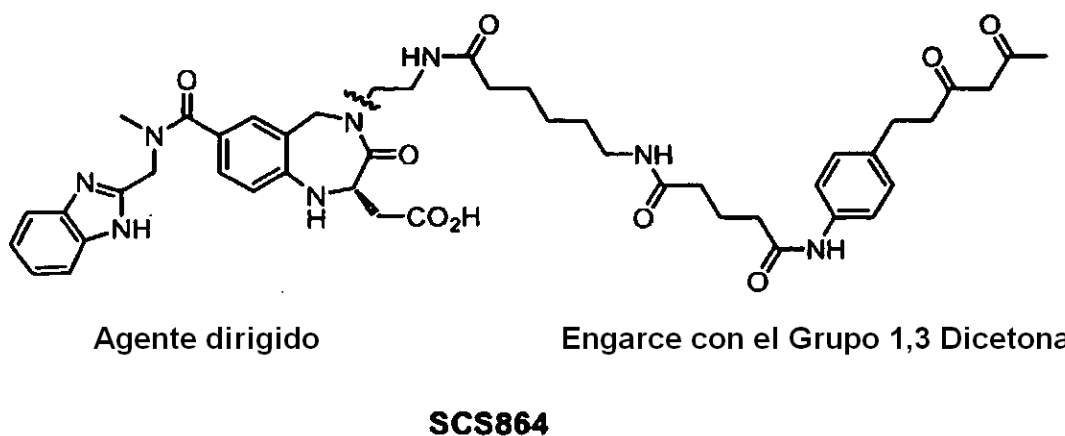
Por ejemplo, la conjugación del compuesto dirigido integrinas con un anticuerpo IgM induce citotoxicidad mediada por complemento; la conjugación con IL-2 da como resultado citotoxicidad mediada por células. Se pueden modificar una diversidad de anticuerpos que neutralizan los factores de crecimiento involucrados en la angiogénesis tumoral en los compuestos dirigidos a integrinas para incrementar su selectividad. Por ejemplo, un anticuerpo monoclonal que neutraliza VEGF es altamente selectivo si se conjuga al compuesto dirigido integrinas. Teniendo en cuenta la inmunogenicidad potencial de estos conjugados, se pueden introducir separadores basados en cadenas largas de polietilenglicol (PEG) entre la proteína reactiva y la funcionalidad dirigida a integrinas. Las cadenas largas de polietilenglicol y otros polímeros se conocen por su capacidad para enmascarar epítomos extraños, que resulta en una inmunogenicidad reducida de las proteínas terapéuticas que muestran los epítomos extraños (Katre et al., 1990, J. Immunol. 144, 209-213; Francis et al., 1998, Int. J. Hematol. 68, 1-18).

Ejemplo 3: Síntesis de moléculas engarce-compuestos dirigido.

Los componentes dirigidos a integrinas mostrados como los compuestos 15 y 4 se sintetizaron como se muestra en la Figura 10 (Esquema 1) y en la Figura 11 (Esquema 2), respectivamente. Se añadió un engarce con un resto reactivo dicetona a estas moléculas dirigidas como se muestra en el Esquema 3 (Figura 12) para formar las moléculas engarce-compuesto dirigido SCS-873 y SCS-1655. La síntesis de **SCS-873** se consiguió en tres etapas partiendo del compuesto **14**. El compuesto **14** se convirtió en **15** como se muestra en el Esquema 1 y el producto en bruto se hizo reaccionar con un éster de N-hidroxisuccinimida (NHS) del compuesto dicetona **23** en CH_3CN -DMF en presencia de Et_3N . La purificación sobre gel de sílice (CH_2Cl_2 -MeOH, 9:1) proporcionó **SCS-873** puro.

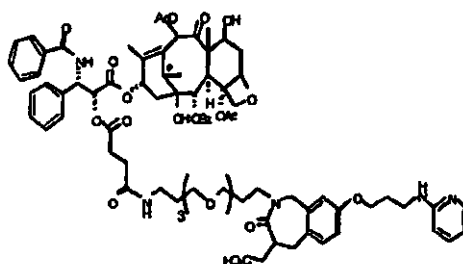
El compuesto **SCS-1655** se sintetizó en cinco etapas a partir de **14** (Esquemas 2 y 3). La desprotección del grupo BOC en el compuesto **14** seguido de la reacción con el éster de NHS del engarce divalente **24** proporcionó el compuesto **25**, que a continuación se desprotegió y reaccionó con **23** como en el caso anterior para proporcionar **SCS-1655**.

La síntesis de las moléculas engarce-componente dirigido a integrinas SCS-864 y SCS-789 se muestra en el Esquema 4 (Figura 13). SCS-864 y SCS-789 se sintetizaron cada una en una etapa a partir del compuesto **4** (Figura 13, esquema 4). La unión del compuesto **4** se consiguió con el éster activado de NHS apropiado. SCS-864 se muestra a continuación con el componente dirigido y el engarce identificados por separado.



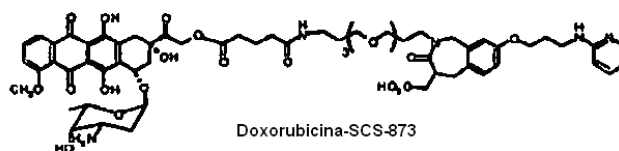
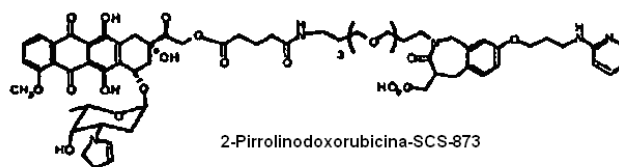
Ejemplo 4: Síntesis de un compuesto dirigido a integrinas con paclitaxel como componente funcional (no es parte de la presente invención)

Se sintetiza el Paclitaxel-SCS-873 partiendo de succinato de taxol preparado como se ha descrito previamente (Deutsch et al., J. Med. Chem. 32, 788-792, 1989). Siguiendo a la activación del grupo carboxi con PyBOP en DMF, la amina de SCS se acopla directamente (Huang et al., Chemistry & Biology 7, 453-461, 2000) proporcionando Paclitaxel-SCS-873. Este derivado es análogo al derivado de paclitaxel dirigido al péptido antagonista de la somatostatina descrito anteriormente (Huang et al., Chemistry & Biology 7, 453-461, 2000) que demostró una buena actividad y dirección, validando de esta manera la estrategia del engarce basado en succinato para este fármaco. Se han descrito con éxito otros profármacos del paclitaxel utilizando un 2'-carbamato en lugar del engarce basado en succinato (de Groot et al., J. Medicinal Chem. 43, 3093-3102, 2000). El Paclitaxel-SCS-873 es considerablemente más soluble que el propio paclitaxel, que adolece de una baja solubilidad. La estructura del Paclitaxel-SCS-873 se muestra a continuación.

**Paclitaxel-SCS-873****Ejemplo 5: Síntesis de un compuesto dirigido a integrinas con doxorubicina o 2-pirrolinodoxorubicina como componente funcional (no es parte de la presente invención)**

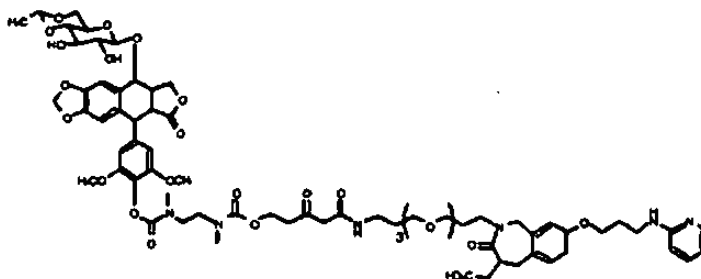
La Doxorubicina-SCS-873 se prepara utilizando un esquema sintético similar al que se describió para los derivados de doxorubicina de conjugados de la somatostatina y de la hormona de liberación de la hormona luteinizante (Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93, 7269-7273, 1996; Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 1794-1799, 1998). El 14-O-hemiglutarato de N-Fmoc-DOX se prepara como se describe por Nagy et al. (Proc Natl. Acad. Sci. 93, 2464-2469, 1996) y se activa posteriormente con PyBOP en DMF seguido de la adición de la amina de SCS y la eliminación del grupo protector Fmoc proporcionando Doxorubicina-SCS-873. La estructura de la Doxorubicina-SCS-873 se muestra a continuación.

La 2-Pirrolinodoxorubicina-SCS-873 se puede preparar a partir de la Doxorubicina-SCS-873 por reacción con 4-yodobutiraldehído como se describe para los conjugados de LH-RH-2-Pirrolinodoxorubicina (Nagy et al., Proc Natl. Acad. Sci. 93, 2464-2469, 1996). También se dispone de una diversidad de otras aproximaciones sintéticas. La actividad probada de los conjugados de LH-RH-2-pirrolinodoxorubicina y doxorubicina de diseño similar confirma el diseño de nuestros derivados dirigidos a integrinas (véanse, por ejemplo, Schally y Nagy, Eur. J. Endocrinology 141, 1-14, 1999 y las referencias en el presente documento para una revisión de los conjugados de fármacos dirigidos a péptidos). La estructura de la 2-Pirrolinodoxorubicina-SCS-873 se muestra a continuación.

**Doxorubicina-SCS-873****2-Pirrolinodoxorubicina-SCS-873****Ejemplo 6: Síntesis de un compuesto dirigido a integrinas con etoposida como componente funcional (no es parte de la presente invención)**

La Etoposida-SCS-873 se va a preparar a partir del carbonato de p-nitrofenilo descrito recientemente para los profármacos de etoposida estructuralmente similares que se activan mediante anticuerpos catalíticos (Shabat et al.,

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98, 7528-7533, 2001). La etapa de reacción de retro Michael se catalizó fácilmente mediante enzimas celulares endógenas así como mediante el anticuerpo catalítico (Shabat et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96, 6925-6930, 1999). El diseño de la Etoposida-SCS-873 se basa en la enzima endógena o en la activación general ácido base a través de una reacción de retro Michael que es seguida de reacciones espontáneas de descarboxilación y formación de lactama que proporcionan la etoposida activa. La estructura de la Etoposida-SCS-873 se muestra a continuación.



Etoposida-SCS-873

Ejemplo 7: Preparación de un compuesto dirigido integrinas para la dirección de liposomas (no es parte de la presente invención)

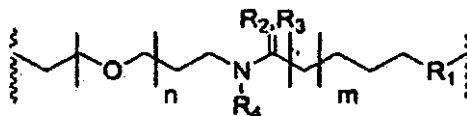
Se asocia Doxil™ que contiene liposomas con un compuesto dirigido de la presente invención como se ha descrito. El compuesto dirigido se une a PEG2000-DSPE con terminación de maleimida (MAL-PEG2000-DSPE). El compuesto MAL-PEG2000-DSPE está disponible en el mercado a través de Shearagua Polymers, Inc. La unión de moléculas dirigidas con terminación de tiol al resto maleimida es espontánea. El derivado PEG-lípido se transfiere a continuación a los liposomas del Doxil™ con una pérdida de fármaco despreciable en una etapa de incubación sencilla.

La unión dirigida de los liposomas a células se estudia mediante análisis FACS a través de la co-incorporación de biotina marcada con MAL-PEG2000-DSPE y la tinción con estreptoavidina marcada con FITC. También se estudian diversas líneas celulares de control para evaluar la unión no específica. Los ensayos de citotoxicidad se realizaron como se ha descrito (Moase et al., 2001) con una diversidad de cargas distintas de las moléculas dirigidas en el liposoma usando las tres líneas celulares del SK. Para estudiar la eficacia de esta aproximación en un modelo animal de SLK, los animales se tratan 1 día después de la implantación celular y después de que se hayan establecido los tumores (200 mm³). Se estudió inicialmente un régimen de dosificación sencillo para evaluar la eficacia relativa del Doxil™ dirigido frente al Doxil™ no dirigido. La dosificación del fármaco varía de 0,5 mg/kg a 5 mg/kg i.v. Se trataron otros grupos de control con liposomas dirigidos vacíos para evaluar el efecto de los propios liposomas multivalentes en la enfermedad. También se incluye un grupo regulador de control. En los estudios de tratamiento múltiple, el fármaco se inyecta en intervalos de 14 días. Se evalúa la toxicidad sistémica como se ha descrito anteriormente.

Se debería considerar que el Doxil™ también se ha aprobado para el tratamiento de cánceres refractarios de ovario. Un estudio reciente de 25 líneas celulares humanas permanentes establecidas a partir de cáncer de ovario avanzado demostraron que toda las líneas eran positivas para la expresión de integrinas (Bruning et al., Hum. Gene Ther. 12, 391-399, 2001). Estos resultados sugieren que la dirección tanto al tumor como a su vascularización de soporte también tiene utilidad en el tratamiento del cáncer de ovario. Los estudios recientes han indicado que existe una expresión muy elevada de $\alpha_v\beta_3$ en tejidos tumorales cervicales malignos humanos (Chattopadhyay y Chatterjee, J. Exp. Clin. Cancer Res. 20, 269-275, 2001), sugiriendo que la estrategia basada en el Doxil™ desvelada en el presente documento tiene utilidad en el tratamiento de cáncer cervical. También se pueden usar otras combinaciones de liposomas polimerizados como los que se describen en Bruehl et al. (Biochemistry, 40: 5964-5971, 2001).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un compuesto dirigido a integrinas, que comprende al menos un componente dirigido a integrinas unido de forma covalente a un engarce lineal o ramificado que está unido de forma covalente a al menos un componente funcional, en el que dicho componente dirigido a integrinas es un peptidomimético de RGD, y en el que dicho al menos un componente funcional es un anticuerpo de aldolasa y dicho al menos un componente dirigido a integrinas está unido de forma covalente mediante el engarce al sitio de unión del anticuerpo.
2. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que el componente dirigido a integrinas está dirigida a $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_3\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, $\alpha_7\beta_1$, $\alpha_8\beta_1$, $\alpha_9\beta_1$, $\alpha_6\beta_4$, $\alpha_4\beta_7$, $\alpha_D\beta_2$, $\alpha_L\beta_2$, $\alpha_M\beta_2$, $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_V\beta_3$, $\alpha_V\beta_5$, $\alpha_V\beta_6$, $\alpha_V\beta_8$, $\alpha_X\beta_2$, $\alpha_{IIb}\beta_3$, ó $\alpha_{IELb}\beta_7$.
- 10 3. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que dicho anticuerpo es de longitud completa.
4. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que dicho anticuerpo es un fragmento de un anticuerpo de longitud completa.
5. El compuesto dirigido de la reivindicación 4 en el que dicho fragmento de un anticuerpo de longitud completa es Fab, Fab' F(ab')₂, Fv o sFv.
- 15 6. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo humano quimérico.
7. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que el componente dirigido a integrinas está unido a dos o más componentes funcionales, siendo el primer componente funcional un anticuerpo.
8. El compuesto dirigido de la reivindicación 7 en el que dicho al menos uno de dichos dos o más componentes funcionales es un agente terapéutico.
- 20 9. El compuesto dirigido de la reivindicación 8 en el que el agente terapéutico está seleccionado entre el grupo que consiste en paclitaxel, doxorubicina, 2-pirrolinodoxorubicina, y etoposida.
10. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que el componente dirigido a integrinas comprende dos o más componentes dirigidos.
- 25 11. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que dicho engarce comprende un tramo lineal de 5 a 100 átomos seleccionados entre el grupo que consiste en C, H, N, O, P, S, Si, F, Cl, Br, e I, o una sal del mismo.
12. El compuesto dirigido de la reivindicación 11 en el que dicho engarce comprende uno o más grupos seleccionados entre alquilo, alquenilo, alquinilo, oxoalquilo, oxoalquenilo, oxoalquinilo, aminoalquilo, aminoalquenilo, aminoalquinilo, sulfoalquilo, sulfoalquenilo, sulfoalquinilo, fosfoalquilo, fosfoalquenilo, y fosfoalquinilo.
- 30 13. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que dicho engarce comprende una unidad de éter que se repite de 2 a 100 unidades.
14. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que dicho engarce comprende una estructura heterocarbilo de fórmula



- 35 en la que
R₂ a R₄ es C, H, N, O, P, S, Si, halógeno (F, Cl, Br, I) o una sal del mismo;
n es 1-100; y
m es 1-100,
15. El compuesto dirigido de la reivindicación 1, en el que el engarce tienen la fórmula

40 X-Y-Z

- en la que
X es una cadena de átomos de conexión lineal o ramificada que comprende cualquiera de C, H, N, O, P, S, Si, F, Cl, Br, e I, o una sal del mismo,
Y, si está presente, es un anillo de 5 o 6 miembros, saturado o insaturado, sencillo o condensado, homo o hetero carbocíclico; y
- 45

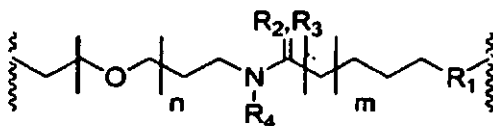
Z es una cetona, dicetona, beta lactama, éster activo, halocetona, lactona, anhídrido, epóxido, aldehído, maleimida disulfuro, o haluro de arilo; y en la que Z es un grupo reactivo para la unión de forma covalente de uno de los componentes al aminoácido reactivo o a otro resto susceptible en el otro de los componentes, uniéndose dicho componente dirigido o componente funcional a X o a Y, si está presente, o tanto a X como a Y, si Y está presente.

16. Un compuesto dirigido de acuerdo con la reivindicación 15, en el que X es una cadena de conexión lineal o ramificada de átomos que comprende cualquiera de C, H, N, O, P, S, Si, F, Cl, Br, e I, o una sal del mismo, y comprende una unidad que se repite de 2 a 100 unidades, e Y, si está presente, es un anillo de 5 o 6 miembros, saturado o insaturado, sencillo o condensado, homo o hetero carbocíclico y se localiza dentro de 1-20 átomos de Z.

17. El compuesto dirigido de la reivindicación 15 ó 16, en el que dichos componentes están unidos de tal modo que retienen la capacidad de unión a la diana y presentan actividad funcional.

18. El compuesto dirigido de la reivindicación 15 ó 16, en el que X comprende un tramo lineal de 5 a 200 átomos.

19. El compuesto dirigido de la reivindicación 15 ó 16, en el que X es una estructura heterocarbilo de fórmula



en la que R₂ a R₄ es C, H, N, O, P, S, Si, halógeno (F, Cl, Br, I) o una sal del mismo; n es 1-100; y m es 1-100.

20. El compuesto dirigido de la reivindicación 15 ó 16, en el que Y es un anillo de seis miembros de fórmula



en la que A, Z, Y, X ó W son independientemente C ó N.

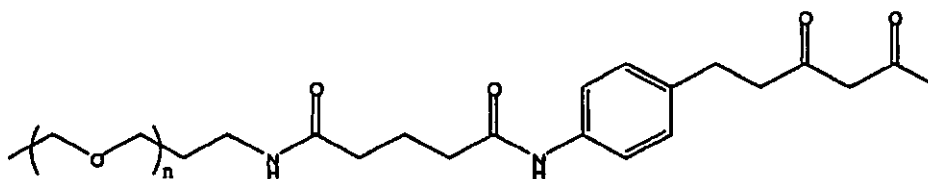
21. El compuesto dirigido de la reivindicación 15 ó 16, en el que Y es un anillo de cinco miembros de fórmula



en la que A, Z, Y ó X son independientemente C, O, N ó S.

22. El compuesto dirigido de la reivindicación 15 ó 16, en el que dicho engarce se ramifica mediante la adición de una o más cadenas de conexión, dicho engarce comprende más de un grupo de reconocimiento, dicho engarce comprende más de un grupo reactivo, o combinaciones del mismo.

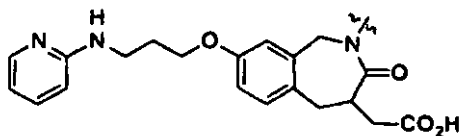
23. El compuesto dirigido de la reivindicación 15 ó 16, en el que dicho engarce tiene la estructura mostrada a continuación, en la que n es de 1 a 100.



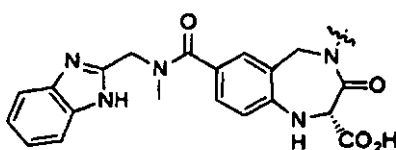
33

24. El compuesto dirigido de la reivindicación 15 ó 16, en el que dicho engarce comprende más de una cadena de conexión, más de un grupo de reconocimiento o más de un grupo reactivo, o combinaciones de los mismos.

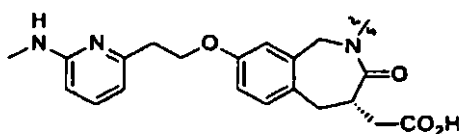
25. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que dicho componente dirigido a integrinas es un peptidomimético de RGD mostrado a continuación como los compuestos 1, 2 ó 3.



1



2



3

- 5
26. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que dicha unión covalente entre dicho componente dirigido y dicho engarce o entre dicho engarce y dicho componente funcional o ambas es no reversible.
27. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que dicha unión covalente entre dicho componente dirigido y dicho engarce o entre dicho engarce y dicho componente funcional o ambas es reversible.
- 10 28. El compuesto dirigido de la reivindicación 1 en el que dicha unión covalente entre dicho componente dirigido y dicho engarce o entre dicho engarce y dicho componente funcional o ambas es lábil.
29. El compuesto dirigido de la reivindicación 21 en el que dicha unión lábil es una unión sensible al pH, es un sustrato para una enzima, o es susceptible de degradación mediante radiación.
- 15 30. Un procedimiento para producir un componente dirigido a integrinas, que comprende la unión covalente de al menos un componente dirigido a integrinas a través de un engarce lineal o ramificado con al menos un componente funcional, en el que dicho componente dirigido a integrinas es un peptidomimético de RGD, y en el que dicho al menos un componente funcional es un anticuerpo de aldolasa y dicho al menos un componente dirigido a integrinas se une de forma covalente a través del engarce al sitio de unión del anticuerpo.
- 20 31. El procedimiento de la reivindicación 30 en el que dicho al menos un componente dirigido se une con dicho al menos un componente funcional de tal manera que retiene la función de unión del componente dirigido y la actividad biológica del componente funcional.
- 25 32. El procedimiento de la reivindicación 30 en el que dicha unión se consigue mediante la preparación de un compuesto engarce-componente dirigido a integrinas que comprende dicho al menos un componente dirigido a integrinas y un engarce, comprendiendo dicho engarce un grupo reactivo para la reacción con el componente funcional, y uniéndose de forma covalente dicho grupo reactivo de dicho engarce al componente funcional.
- 30 33. El procedimiento de la reivindicación 30 en el que dicha unión se consigue mediante la preparación de un compuesto engarce-componente funcional que comprende un componente funcional y un engarce, comprendiendo dicho engarce un grupo reactivo para la reacción con dicho al menos un componente dirigido a integrinas, y uniéndose de forma covalente el grupo reactivo de dicho engarce a dicho al menos un componente dirigido a integrinas.

34. El procedimiento de la reivindicación 30 en el que dicha unión se consigue mediante:
- 5 (a) la preparación de un compuesto engarce-componente dirigido a integrinas que comprende un componente dirigido a integrinas y un engarce que comprende un grupo reactivo; y
 - (b) la preparación de un compuesto engarce-componente funcional que comprende un compuesto funcional y un engarce que comprende un resto químico susceptible de reacción con el grupo reactivo de la etapa (a);
o
 - 10 (c) la preparación de un compuesto engarce-componente funcional que comprende un componente funcional y un engarce que comprende un grupo reactivo; y
 - (d) la preparación de un compuesto engarce-componente dirigido a integrinas que comprende un componente dirigido a integrinas y un engarce que comprende un resto químico susceptible de reacción con dicho grupo reactivo de la etapa (c); y
 - (e) la unión covalente de los engarces de las etapas (a) y (b) o de las etapas (c) y (d) juntos a través de dichos grupos reactivos y susceptibles para formar el compuesto dirigido a integrinas.
- 15 35. Un compuesto dirigido de la reivindicación 1, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección que se asocia con la integrina a la que está dirigida.
36. El compuesto dirigido de la reivindicación 35 en el que dicha enfermedad o afección involucra una deficiencia en la angiogénesis, el metabolismo óseo, la inflamación o el crecimiento celular.
37. El compuesto dirigido de la reivindicación 35 en el que dicha enfermedad o afección es cáncer.
- 20 38. Una formulación farmacéutica que comprende el compuesto dirigido de la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Figura 1

Agente Dirigido (T) — Cadena de Conex. (X)

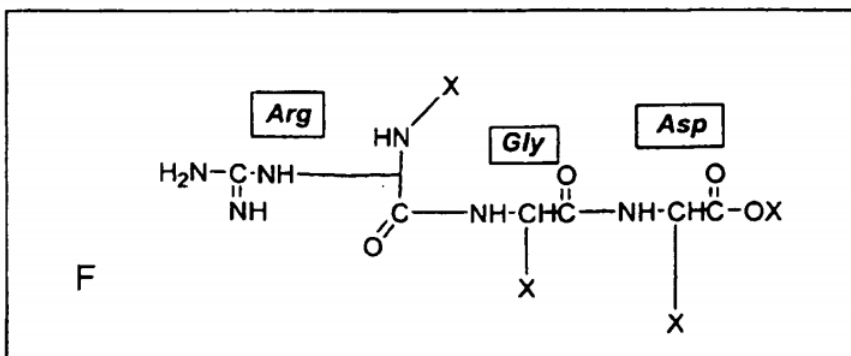
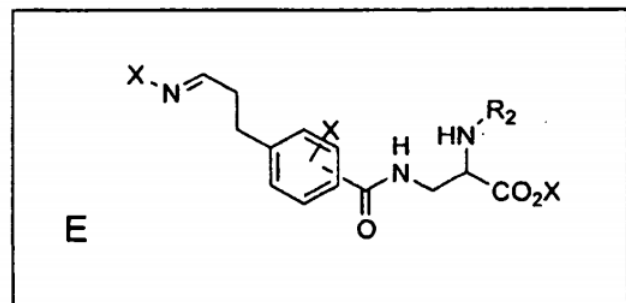
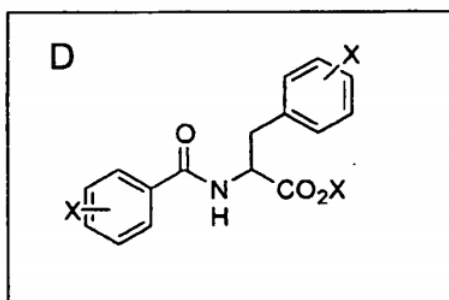
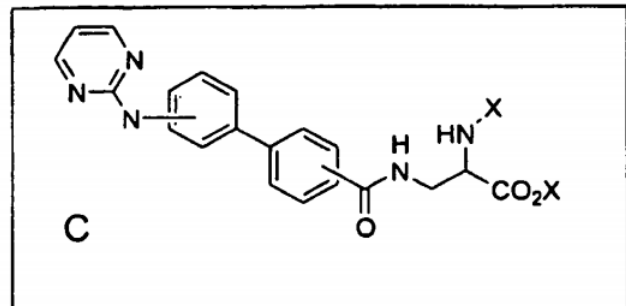
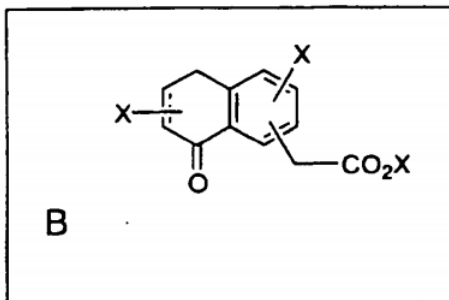
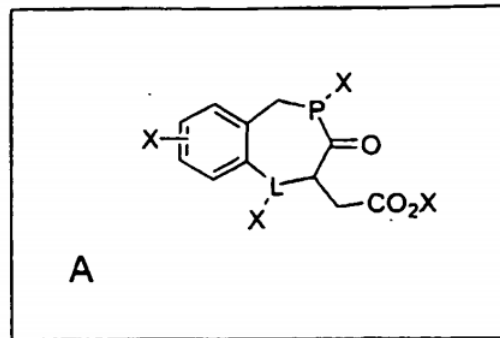
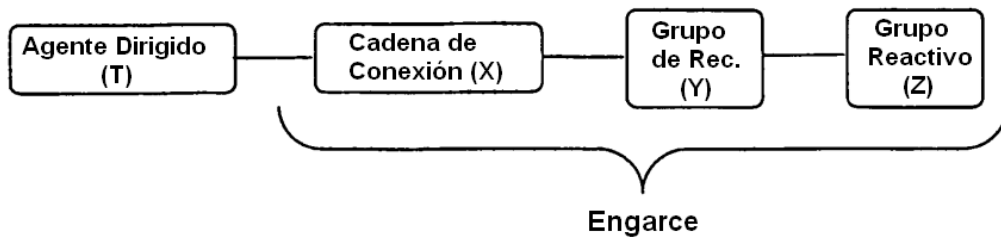
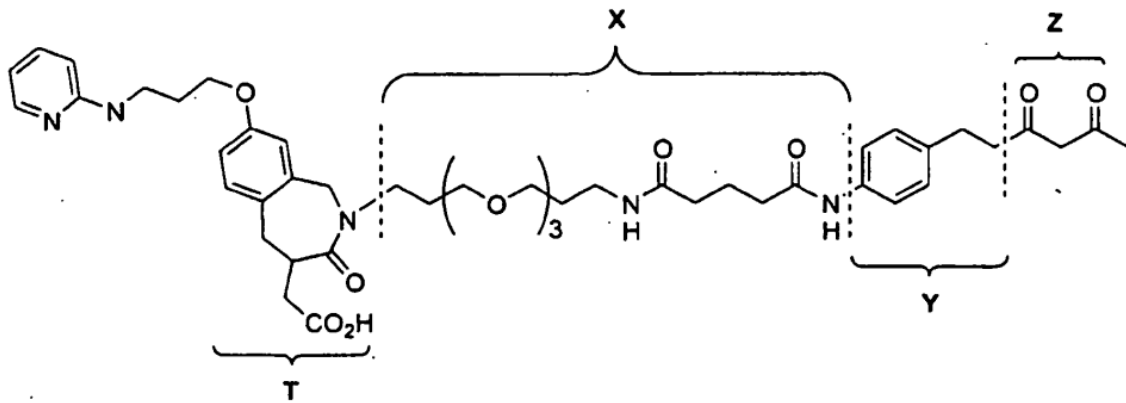


Figura 2

A



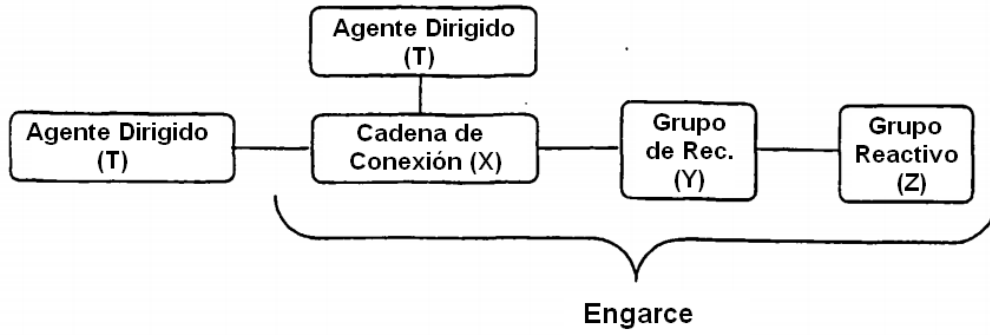
B



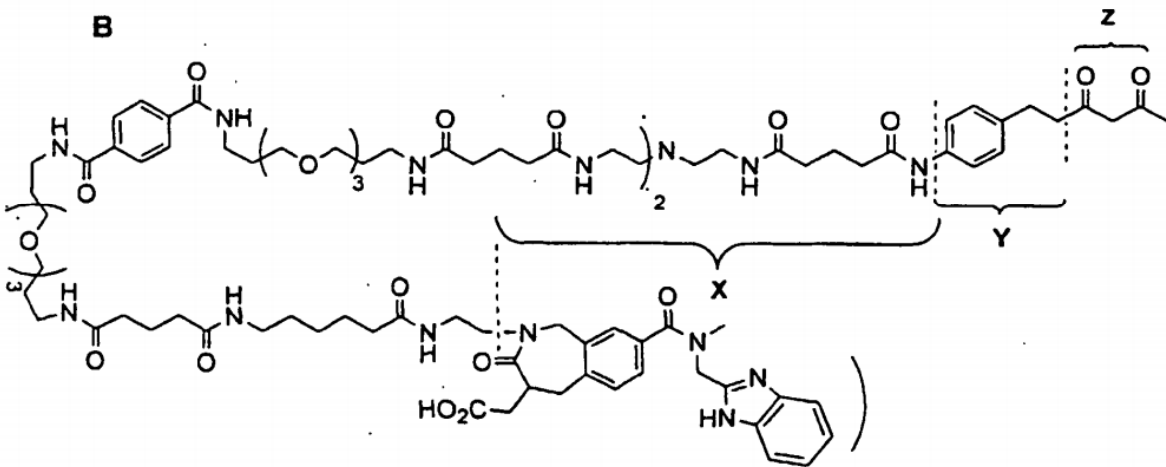
SCS-873

Figura 3

A



B



C

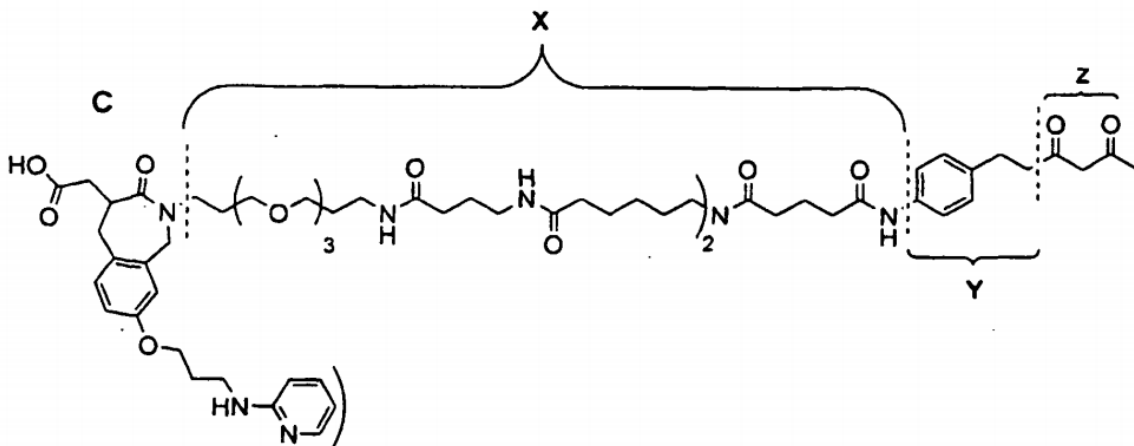


Figura 4

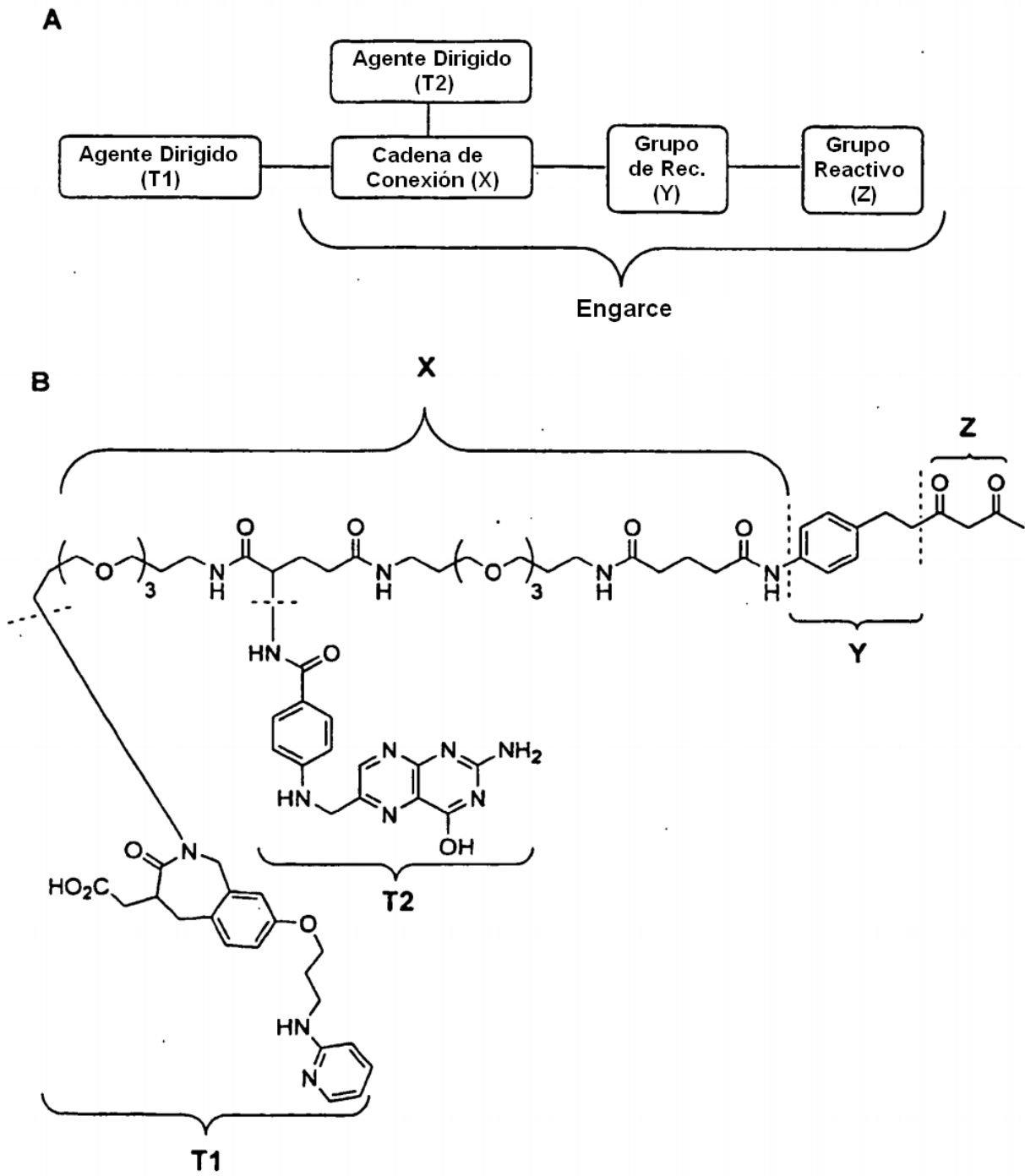
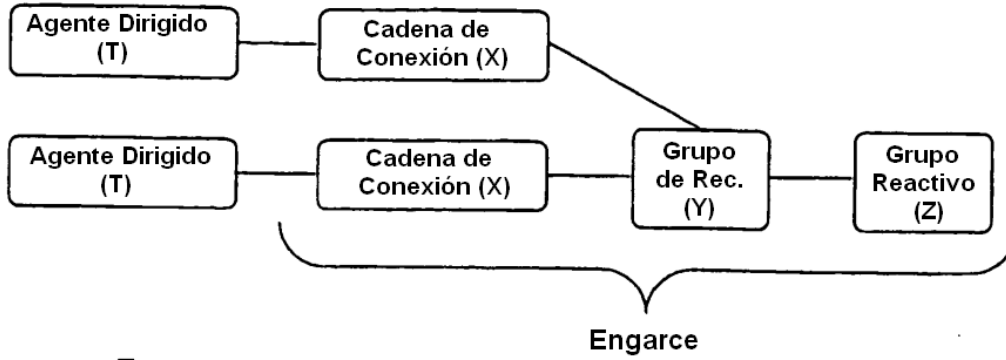


Figura 5

A



B

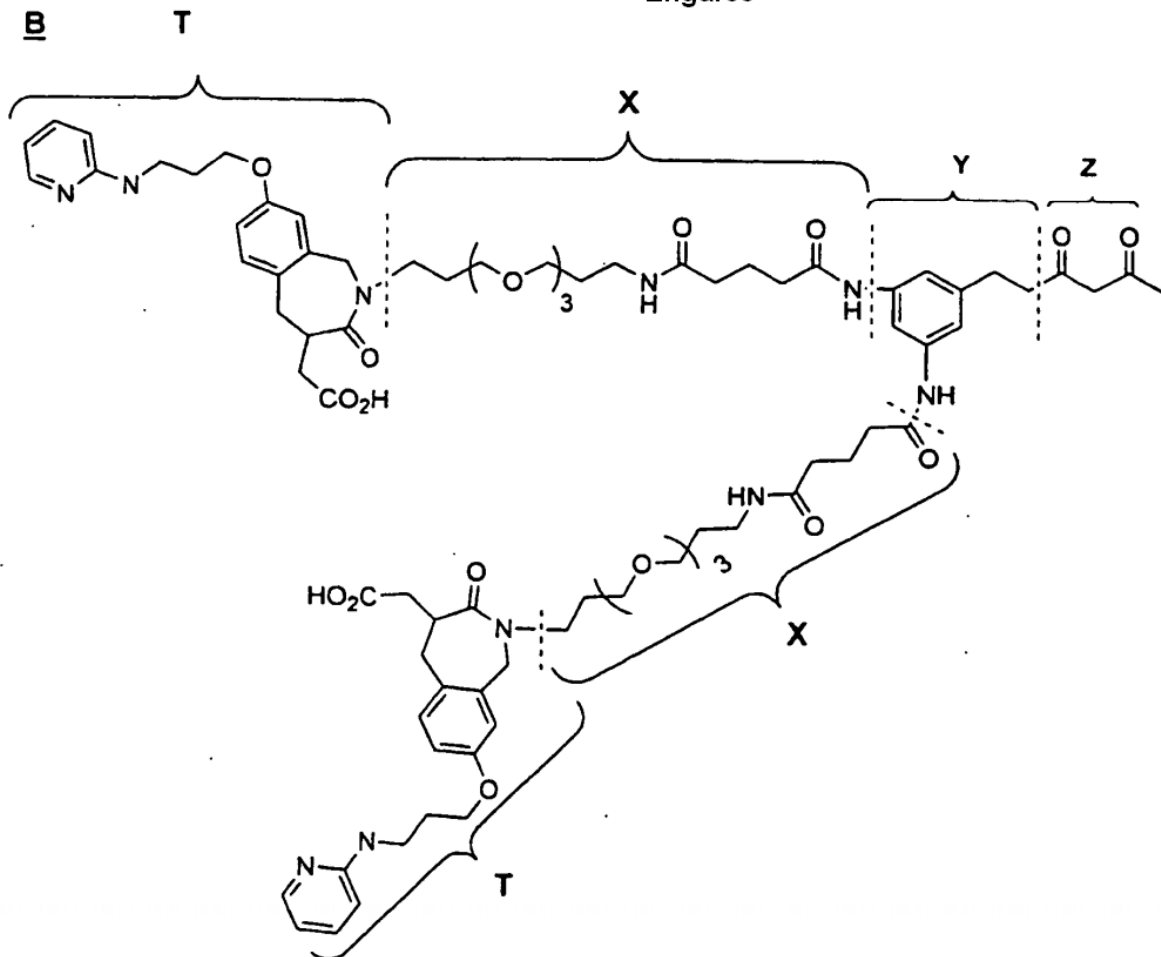


Figura 6

Grupos Reactivos del Engarce (Z)

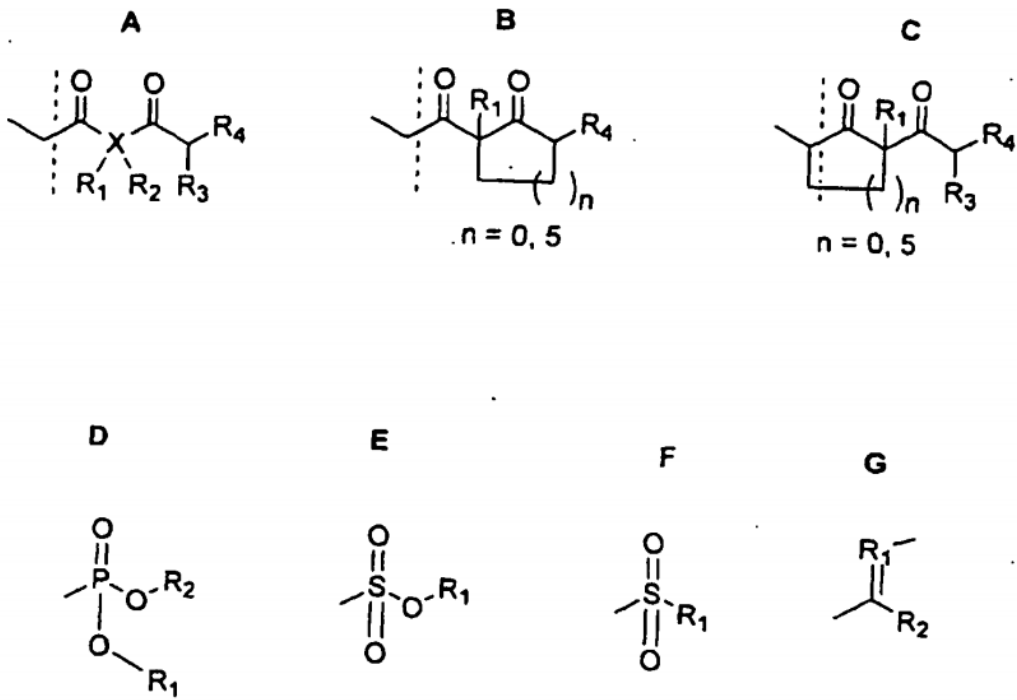


Figura 7

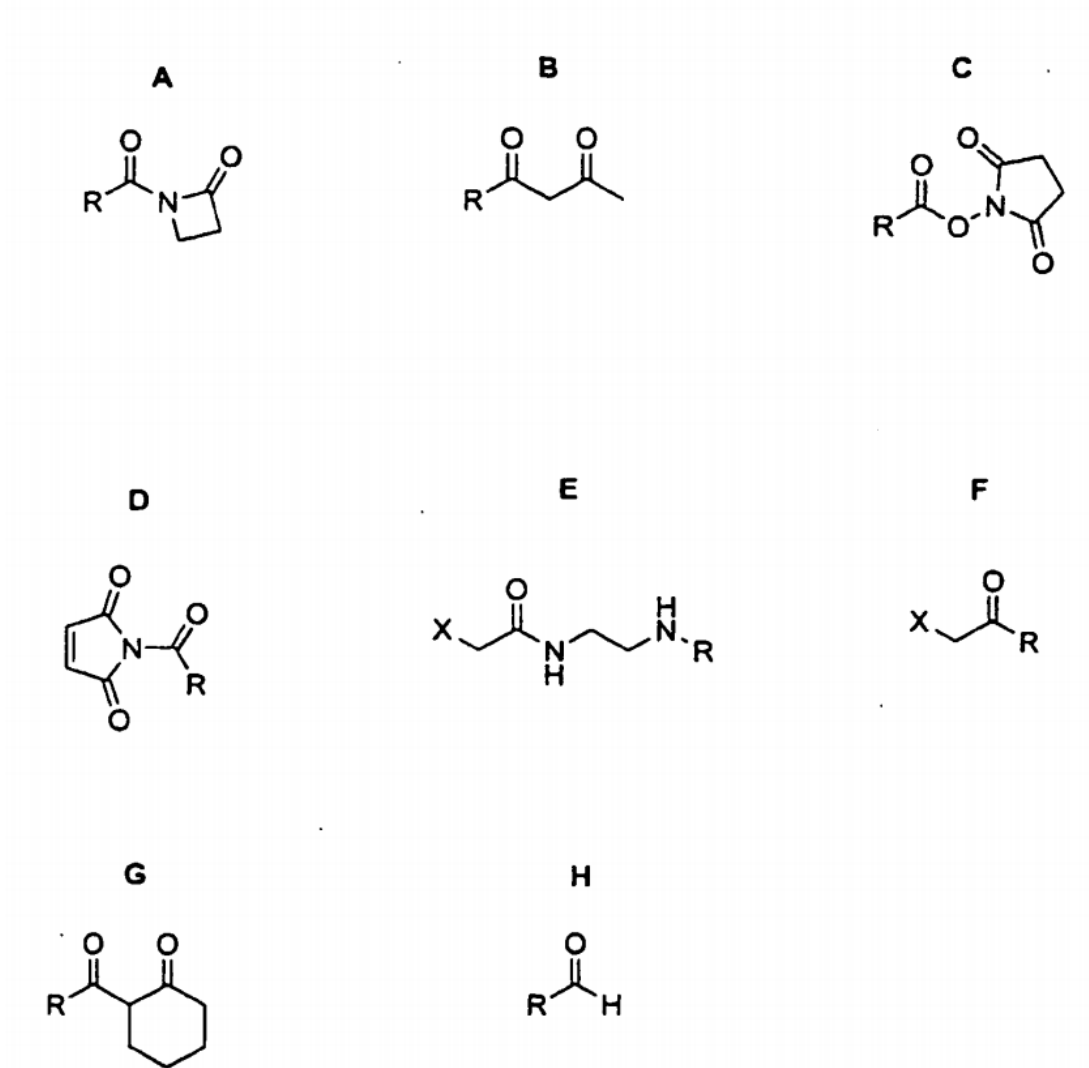


Figura 8

Grupos de Reconocimiento del Engarce (Y)

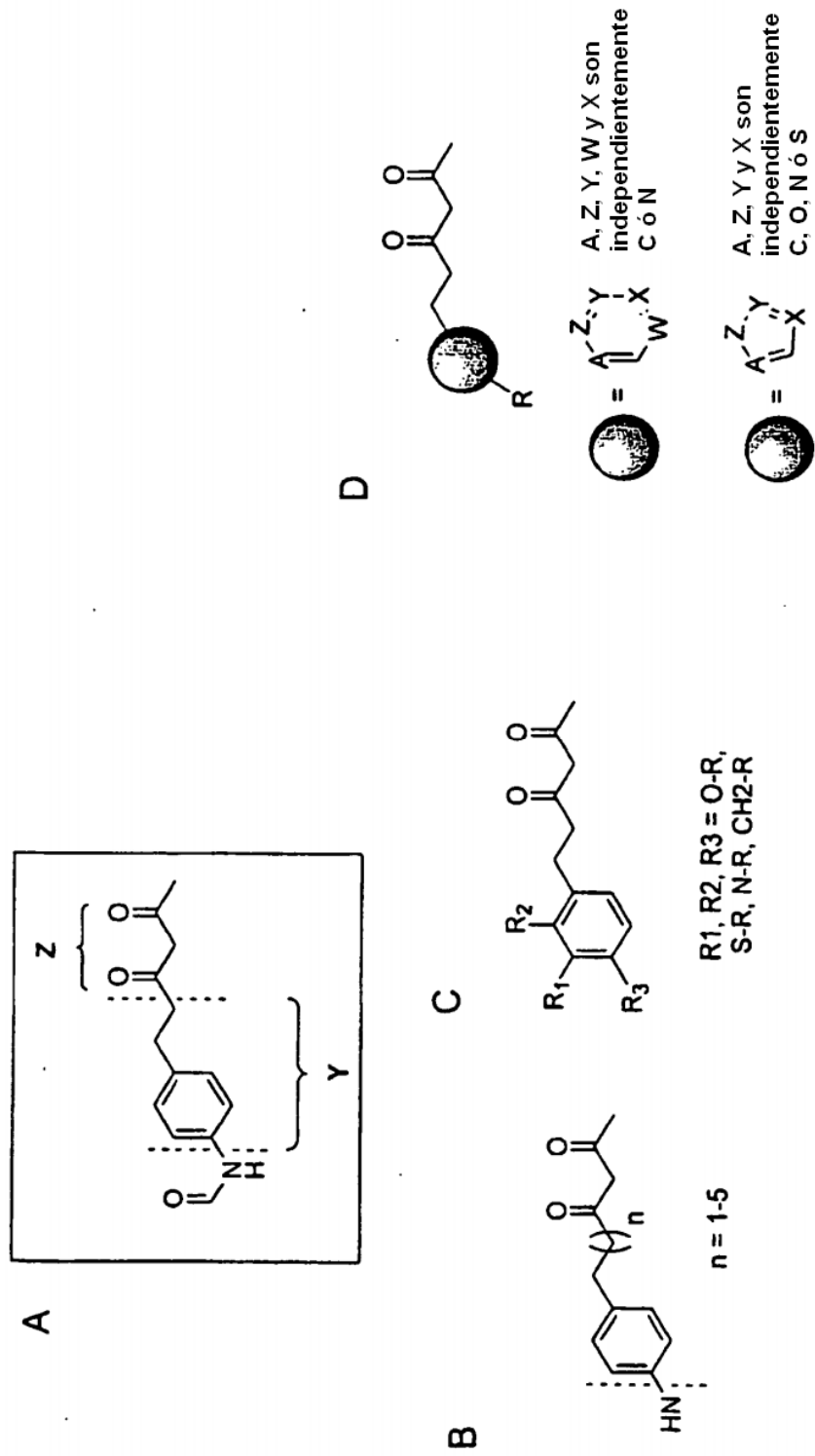
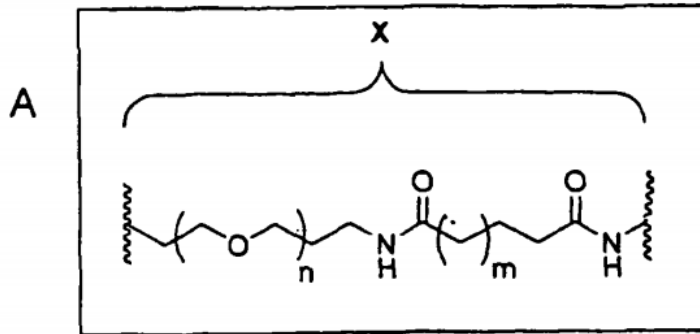
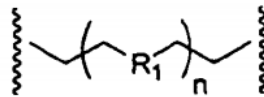


Figura 9

Cadena de Conexión del Engarce (X)

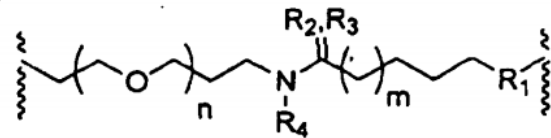


B



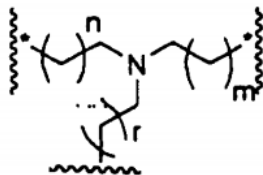
R1 = O, CH2, NR₁R₂,
Si, S, S(O), S(O)₂

D



C

Cadena Ramificada:



E

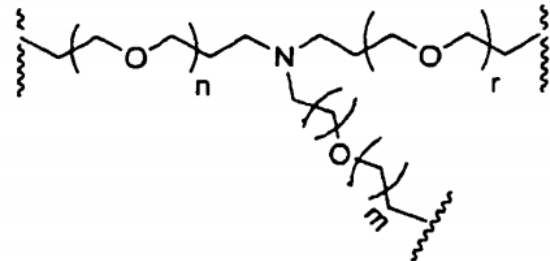


Figura 10 (Esquema 1)

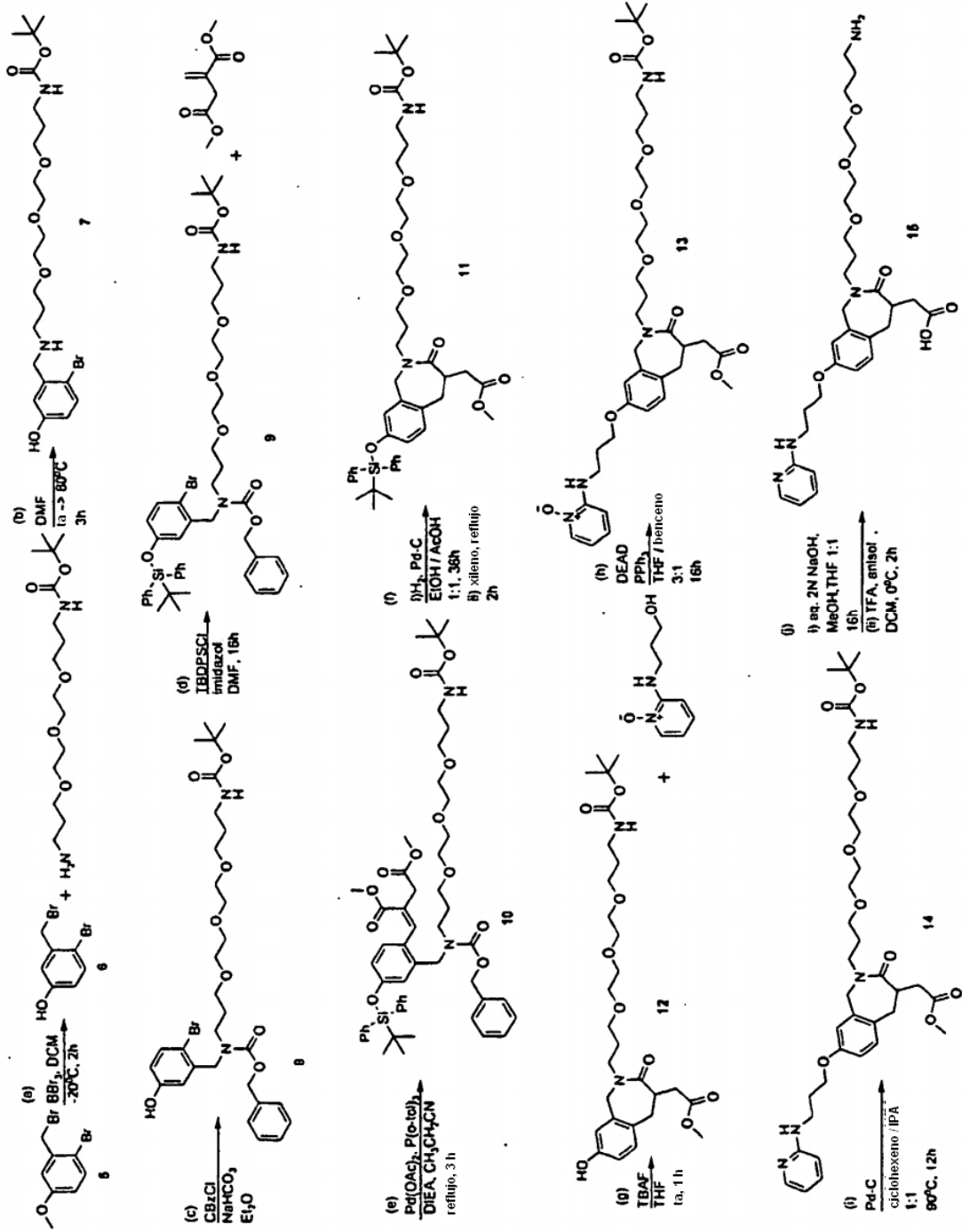


Figura 11 (Esquema 2)

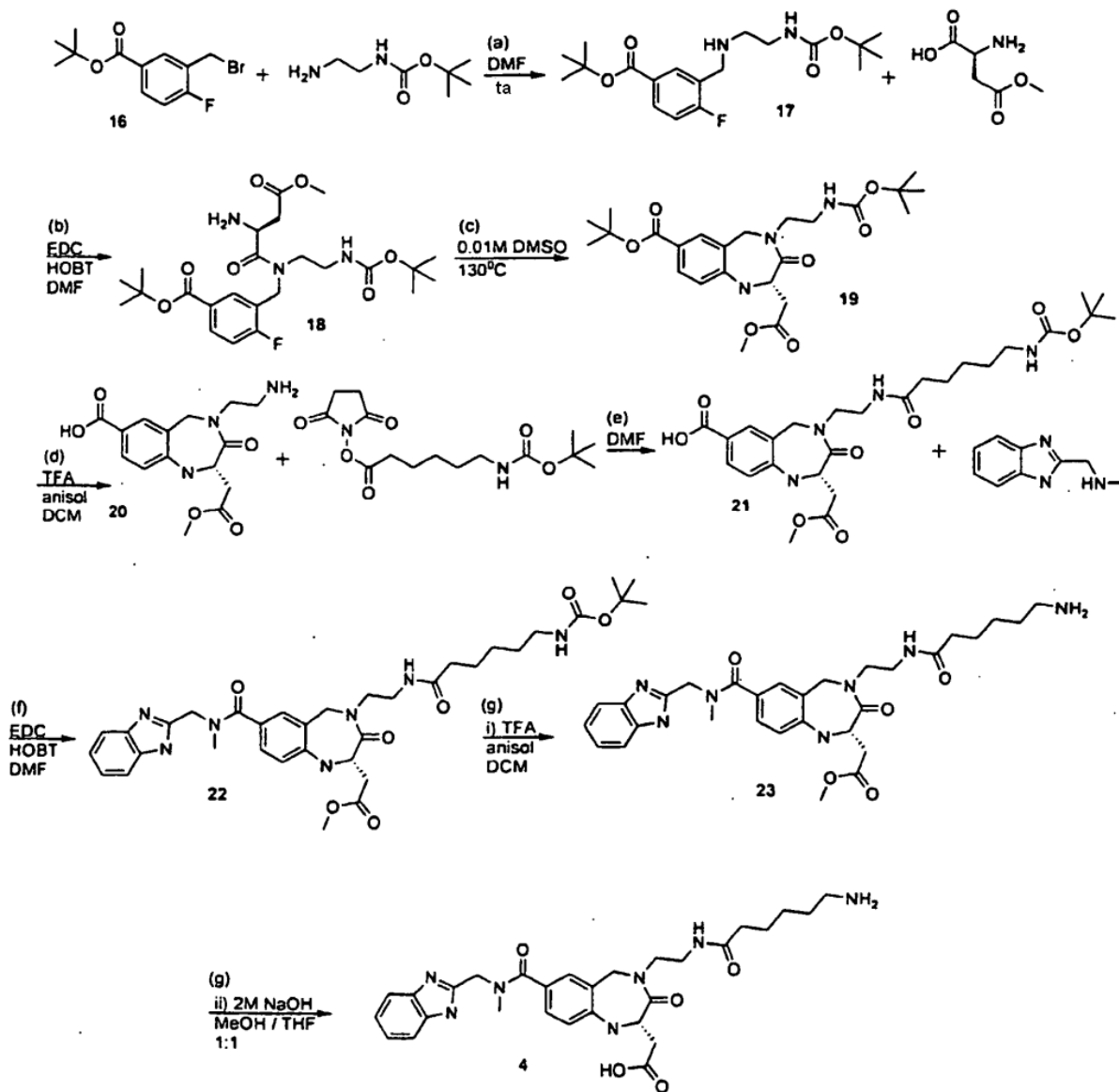


Figura 12 (Esquema 3)

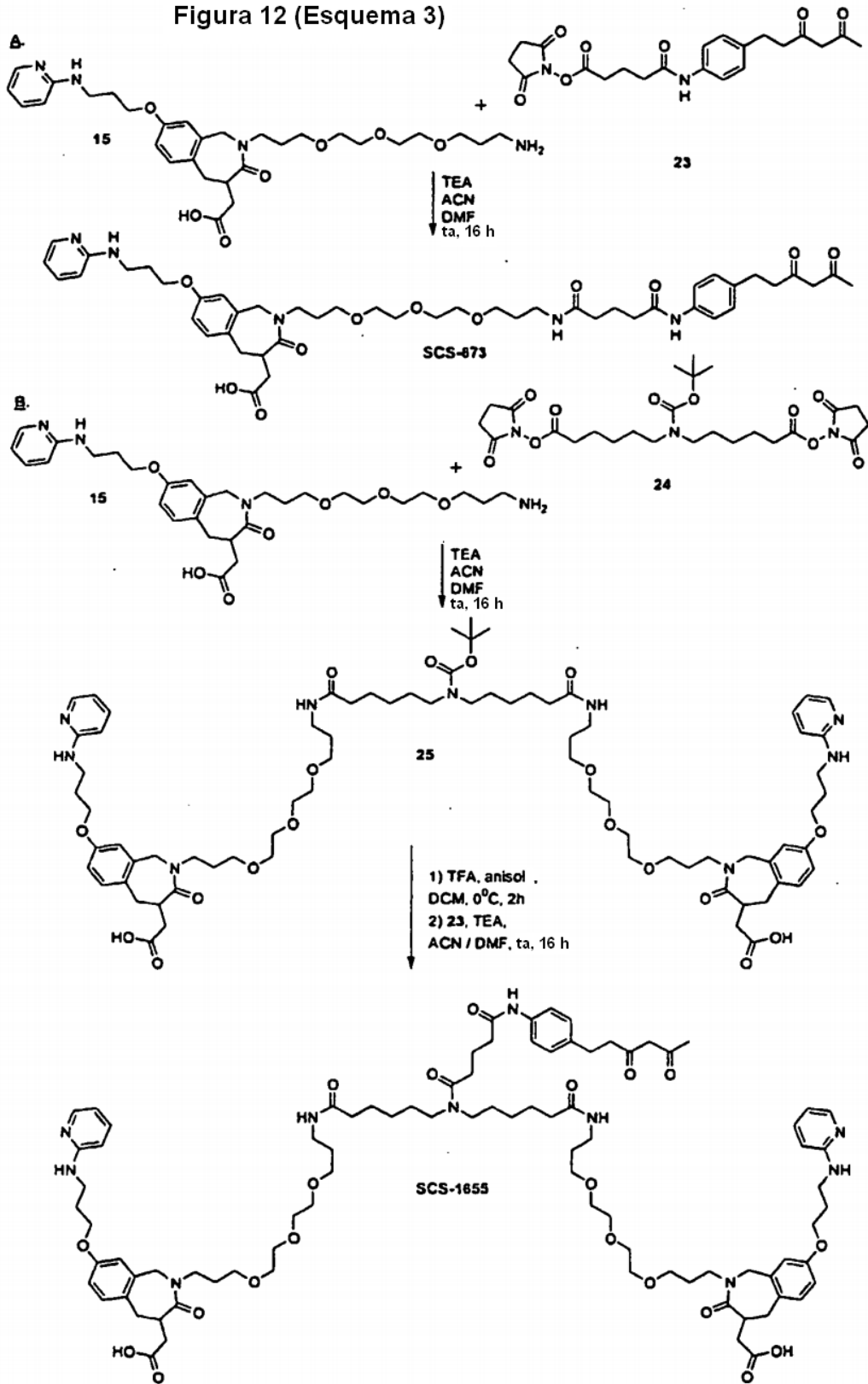


Figura 13 (Esquema 4)

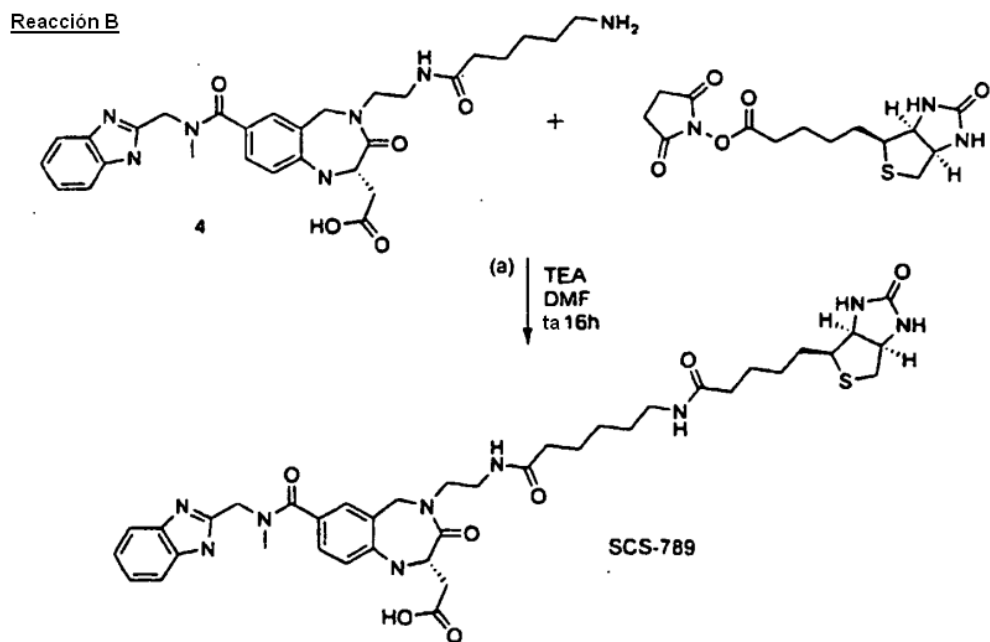
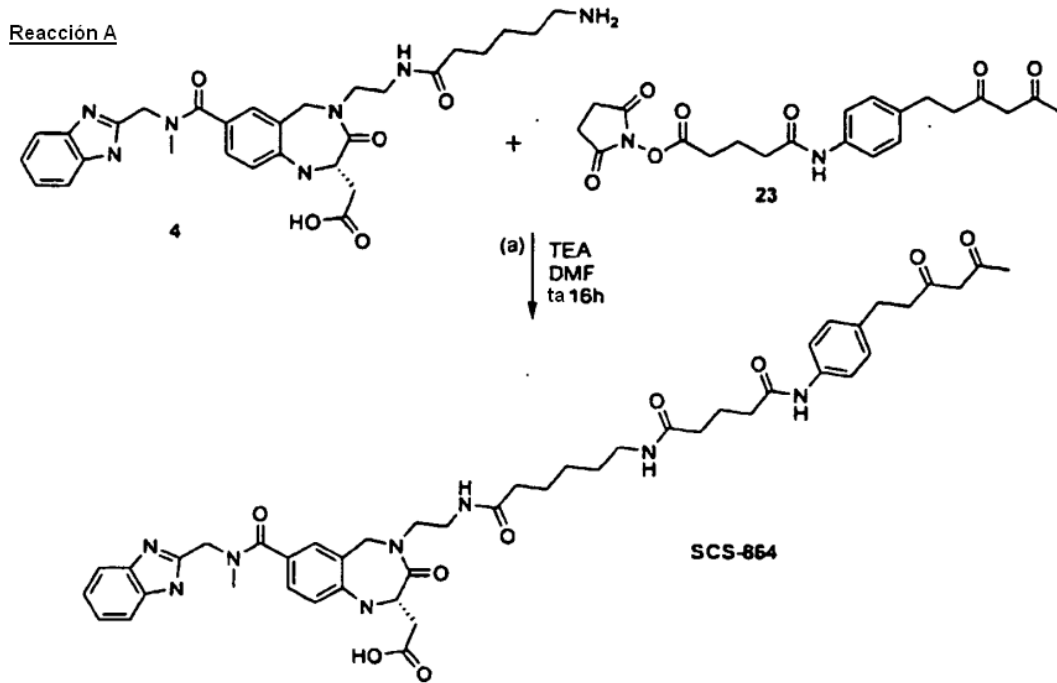
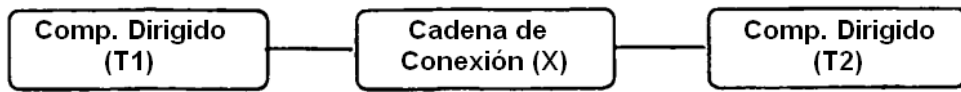


Figura 14

A



B

