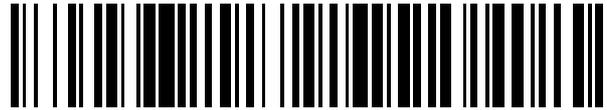


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 468 240**

51 Int. Cl.:

A61K 47/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.08.2006 E 06801981 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2014 EP 1948241**

54 Título: **Conjugados de ligando de múltiples fármacos**

30 Prioridad:

19.08.2005 US 709950 P
30.03.2006 US 787558 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.06.2014

73 Titular/es:

ENDOCYTE, INC. (100.0%)
3000 KENT AVENUE
WEST LAFAYETTE, IN 47906, US

72 Inventor/es:

VLAHOV, IONTCHO RADOSLAVOV y
LEAMON, CHRISTOPHER PAUL

74 Agente/Representante:

ARIZTI ACHA, Monica

ES 2 468 240 T3

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

DESCRIPCIÓN

Conjugados de ligando de múltiples fármacos

CAMPO TÉCNICO

5 La presente invención se refiere a composiciones y métodos para su uso en la administración de fármacos dirigida. En particular, la invención se refiere a conjugados de ligando que incluyen dos o más fármacos, y análogos y derivados de los mismos, tales como conjugados de compuestos de unión a receptor de folato y dos o más fármacos.

ANTECEDENTES

10 El sistema inmunitario de mamíferos proporciona un medio para el reconocimiento y la eliminación de células tumorales, otras células patógenas y patógenos foráneos invasores. Aunque el sistema inmunitario proporciona normalmente una línea de defensa fuerte, hay muchos casos en los que células cancerosas, otras células patógenas o agentes infecciosos evaden la respuesta inmunitaria del huésped y proliferan o persisten con patogenicidad para el huésped concomitante. Se han desarrollado agentes quimioterápicos y radioterapias para eliminar, por ejemplo, neoplasias en replicación. Sin embargo, muchos de los agentes quimioterápicos y regímenes de radioterapia disponibles actualmente tienen efectos secundarios adversos debido a que no sólo funcionan destruyendo células patógenas, sino que también afectan a células normales del huésped, tales como células del sistema hematopoyético. Los efectos secundarios adversos de estos fármacos anticancerígenos resaltan la necesidad del desarrollo de nuevas terapias selectivas para poblaciones de células patógenas y con toxicidad para el huésped reducida. Los investigadores han desarrollado protocolos terapéuticos para destruir células patógenas dirigiendo compuestos citotóxicos a tales células. Muchos de estos protocolos utilizan toxinas conjugadas con anticuerpos que se unen a antígenos únicos para o que se sobreexpresan en las células patógenas en un intento por minimizar la administración de la toxina a células normales. Usando este enfoque, se han desarrollado determinadas inmunotoxinas que consisten en anticuerpos dirigidos a antígenos específicos sobre células patógenas, estando unidos los anticuerpos a toxinas tales como ricina, exotoxina de *Pseudomonas*, toxina diftérica y factor de necrosis tumoral. Estas inmunotoxinas seleccionan como diana células patógenas, tales como células tumorales, que llevan los antígenos específicos reconocidos por el anticuerpo (Olsnes, S., *Immunol. Today*, 10, págs. 291-295, 1989; Melby, E.L., *Cancer Res.*, 53(8), págs. 1755-1760, 1993; Better, M.D., publicación internacional PCT n.º WO 91/07418, publicada el 30 de mayo de 1991).

30 Otro enfoque para seleccionar como diana poblaciones de células patógenas, tales como células cancerosas o patógenos foráneos, en un huésped es potenciar la respuesta inmunitaria del huésped contra las células patógenas para evitar la necesidad de administración de compuestos que puedan presentar también toxicidad para el huésped independiente. Una estrategia notificada para inmunoterapia es unir anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos multiméricos modificados por ingeniería genética, a la superficie de células tumorales para presentar la región constante de los anticuerpos sobre la superficie celular y de ese modo inducir la destrucción de células tumorales por diversos procesos mediados por el sistema inmunitario (De Vita, V.T., *Biologic Therapy of Cancer*, 2ª ed. Filadelfia, Lippincott, 1995; Soullillou, J.P., patente estadounidense n.º 5.672.486). Sin embargo, estos enfoques se han complicado por las dificultades en la definición de antígenos específicos de tumor.

SUMARIO DE LA INVENCION

40 Se describen en el presente documento conjugados de ligando de fármacos, y análogos y derivados de los mismos. Los conjugados incluyen ligandos de unión a receptor celular que se unen covalentemente a dos o más fármacos que pueden dirigirse a células. Los conjugados descritos en el presente documento también incluyen un grupo de unión polivalente para unir los ligandos a los fármacos.

La invención proporciona un conjugado de administración de fármacos de unión a receptor que comprende:

(a) un resto de unión a receptor;

(b) un grupo de unión polivalente; y

(c) dos o más fármacos;

45 en el que el resto de unión a receptor está unido covalentemente al grupo de unión polivalente;

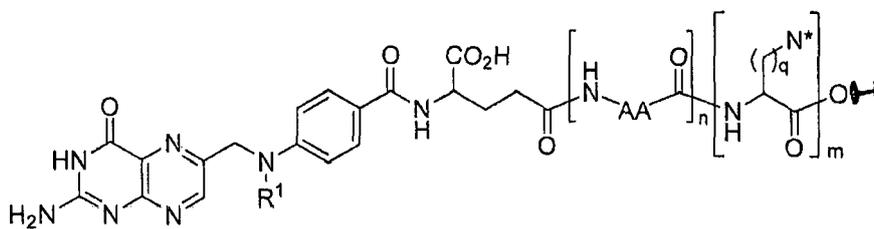
los dos o más fármacos están unidos covalentemente al grupo de unión polivalente; y

el grupo de unión polivalente comprende uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en grupos de unión espaciadores, grupos de unión liberables y grupos de unión de heteroátomos, y combinaciones de los mismos;

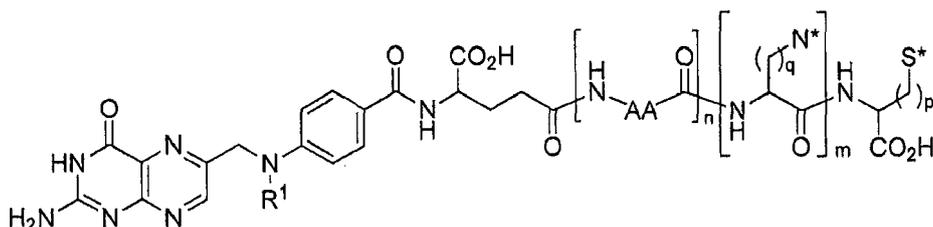
siempre que el grupo de unión polivalente incluya al menos un grupo de unión liberable distinto de un disulfuro; y

en el que el resto de unión a receptor y el grupo de unión polivalente comprenden un radical de fórmula

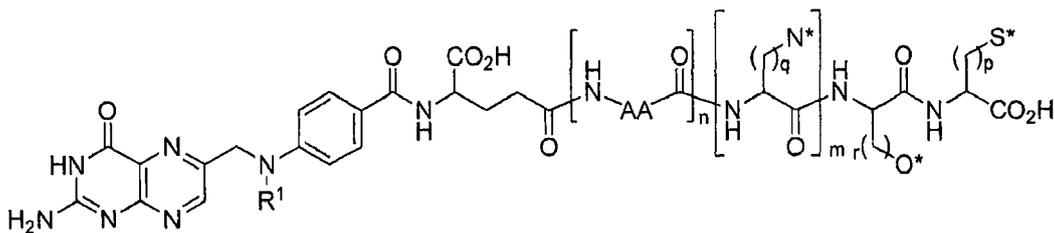
I



II



III

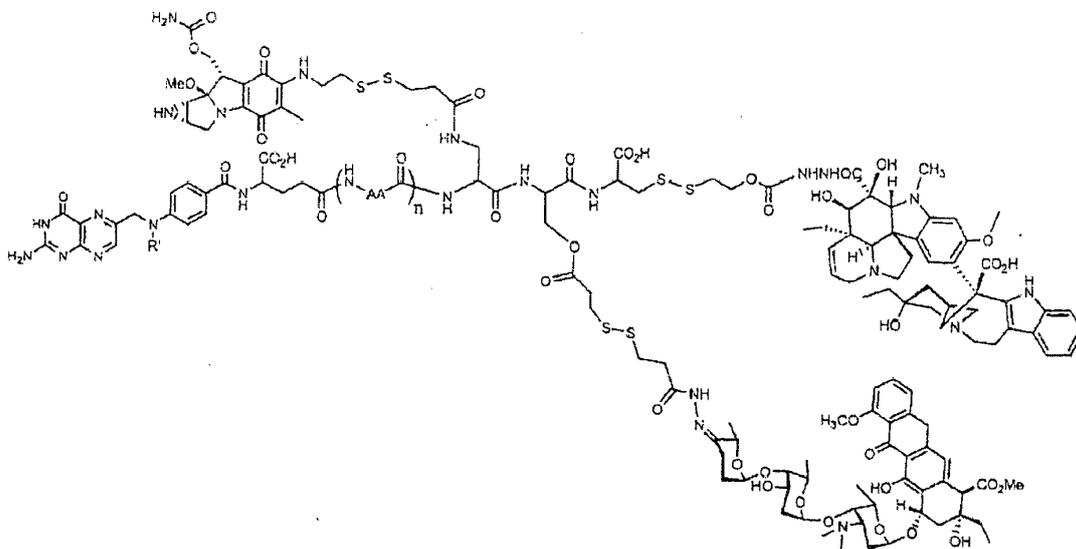


o

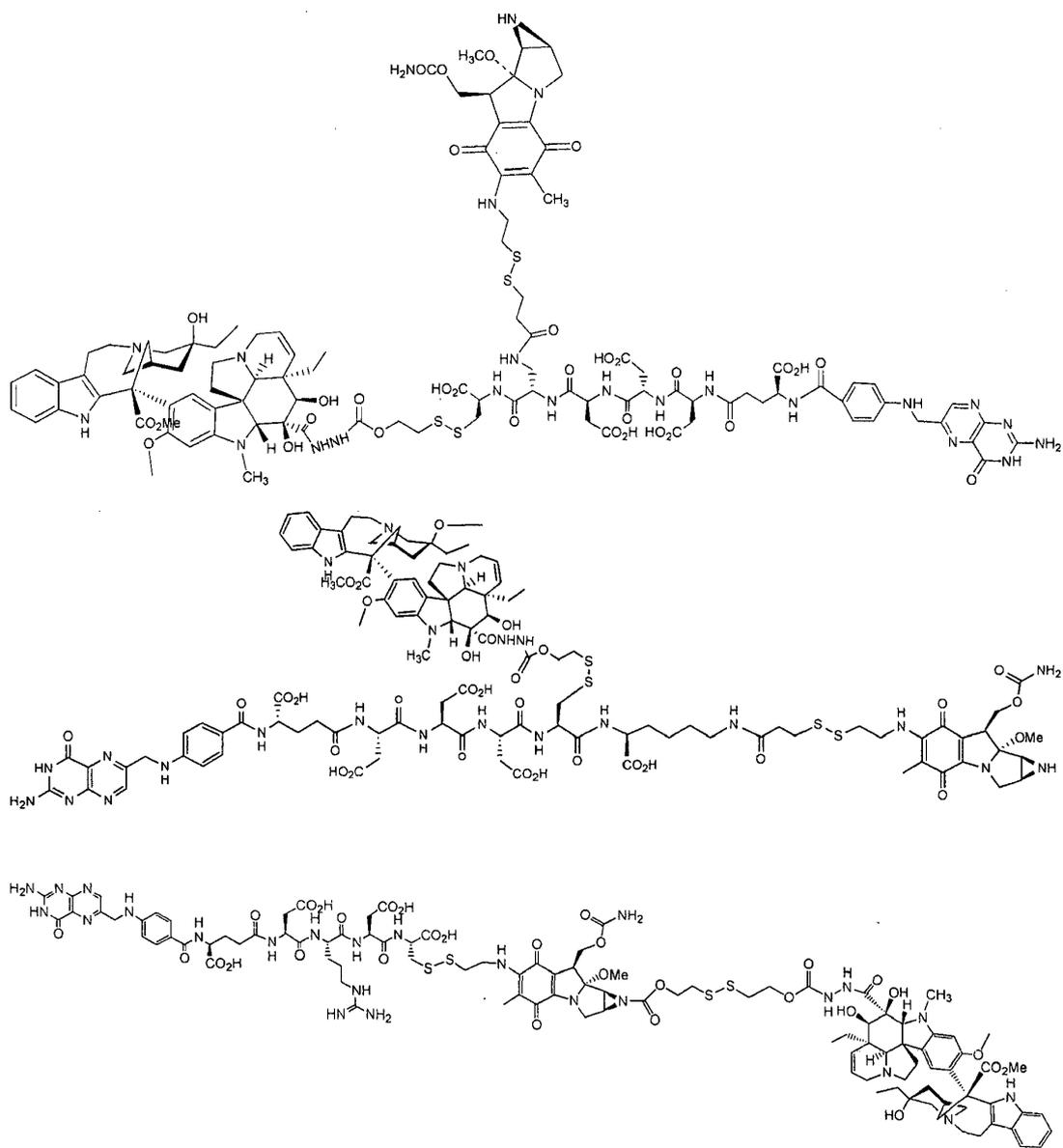
5

en las que m, n, p, q y r son números enteros que se seleccionan independientemente de desde 0 hasta 8; N(H)-AA-C(O) forma un aminoácido, R¹ es hidrógeno, alquilo o un grupo protector de nitrógeno, y los fármacos están unidos, opcionalmente por medio de grupos de unión espaciadores, grupos de unión liberables o grupos de unión de heteroátomos o una combinación de los mismos, a los átomos (*).

10 La invención también proporciona un conjugado de administración de fármacos a un receptor de fórmula:



3



5 En las que: N(H)-AA-C(O) forma un aminoácido y n es un número entero de desde 0 hasta 8.

En una realización ilustrativa de los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento, el grupo de unión polivalente incluye al menos un grupo de unión liberable (I_r). En otra realización ilustrativa de los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento, el grupo de unión polivalente incluye al menos dos grupos de unión liberables (I_r)₂. En otro aspecto ilustrativo, el grupo de unión polivalente (L) incluye al menos un grupo de unión liberable (I_r) que no es un grupo de unión liberable de disulfuro. En otro aspecto ilustrativo, el grupo de unión polivalente (L) tiene al menos dos grupos de unión liberables (I_r)₂ en el que un grupo de unión liberable no es un grupo de unión liberable de disulfuro. Se aprecia que cuando se incluyen más de un grupo de unión liberable en el grupo de unión polivalente, esos grupos de unión liberables pueden estar adyacentes. Se aprecia además que cuando dos grupos de unión liberables están adyacentes en el grupo de unión polivalente, los dos grupos de unión liberables pueden cooperar para provocar la liberación del fármaco.

En otra realización, el grupo de unión polivalente incluye al menos un grupo de unión espaciador que es un péptido formado por aminoácidos. En un aspecto, el péptido incluye aminoácidos que se producen de manera natural, y estereoisómeros de los mismos. En otro aspecto, el péptido está formado sólo por aminoácidos que se producen de manera natural, y estereoisómeros de los mismos.

Los ligandos descritos en el presente documento incluyen generalmente ligandos de receptores de superficie celular de vitamina (folato).

- 5 Los fármacos, y diversos análogos y derivados de los mismos, descritos en el presente documento son generalmente fármacos para eliminar, destruir, interferir con y/o disminuir el crecimiento de una población de células patógenas, incluyendo agentes infecciosos, cánceres, tumores, y similares. Además, los fármacos, y los diversos análogos y derivados de los mismos, útiles en los conjugados descritos en el presente documento pueden tener una amplia variedad de mecanismos de acción, incluyendo pero sin limitarse a agentes alquilantes, inhibidores de microtúbulos, incluyendo los que estabilizan y/o desestabilizan la formación de microtúbulos, incluyendo agentes de beta-tubulina, inhibidores de cinasas dependientes de ciclinas (CDK) tales como CDKN1a, CDKN1b, y similares, inhibidores de topoisomerasas, inhibidores de la síntesis de proteínas, inhibidores de proteína cinasas, incluyendo inhibidores de Ras, Raf, PKC, PI3K, y similares, inhibidores de la transcripción, antifolatos, bloqueantes de proteínas de choque térmico, y similares. En otra realización, se describe una composición farmacéutica. La composición farmacéutica comprende un conjugado de administración de fármacos descrito en el presente documento en combinación con un portador, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable para el mismo.
- 10
- 15 Se proporcionan composiciones de la invención para la eliminación de una población de células patógenas en un animal huésped que alberga la población de células patógenas, en las que los miembros de la población de células patógenas tienen un sitio de unión accesible para una vitamina, o el análogo o derivado de la misma, y ese sitio de unión se expresa de manera única, se sobreexpresa o se expresa preferentemente por las células patógenas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 20 La figura 1A muestra la afinidad de unión relativa del ejemplo 9 (■, 0,24) frente a ácido fólico (●, 1,0) en receptores de ácido fólico.
- La figura 1B muestra la actividad del ejemplo 9 sobre la incorporación de ³H-timidina en células KB con (○) y sin (●) ácido fólico en exceso; la CI₅₀ del ejemplo 9 es de aproximadamente 58 nM.
- 25 La figura 2 muestra la afinidad de unión relativa del ejemplo 11 (■, 0,21) frente a ácido fólico (●, 1,0) en receptores de ácido fólico.
- La figura 3 muestra la actividad del ejemplo 11 (conjugado de múltiples fármacos) sobre la incorporación de ³H-timidina con (○) y sin (●) ácido fólico en exceso; CI₅₀ del ejemplo 11 = 5 nM.
- La figura 4 muestra la actividad citotóxica *in vitro* del ejemplo 11 (a) sobre tres líneas de células tumorales diferentes (KB, 4T-1c12 e ID8-c115) en comparación con el ejemplo 11 + ácido fólico en exceso (b).
- 30 La figura 5A muestra la actividad del ejemplo 11 a 1 μmol/kg TIW (6 dosis) (●) y 2 μmol/kg TIW (6 dosis) (▼) sobre tumores M109 positivos para FR en ratones Balb/c frente a controles no tratados (■).
- La figura 5B muestra la ausencia de un efecto mediante el ejemplo 11 a 1 μmol/kg TIW (6 dosis) (●) y 2 μmol/kg de TIW (6 dosis) (▼) sobre el peso de ratones Balb/c frente a controles no tratados (■).
- 35 La figura 6 muestra la actividad del ejemplo 11 a 1 μmol/kg TIW durante 2 semanas (6 dosis) sobre tumores KB positivos para FR con (□) y sin (■) EC20 40 μmol/kg (complejo de renio) frente a controles no tratados (●); el ejemplo 11 solo, mostró 5/5 respuestas completas; el ejemplo 11 + EC20 mostró 0/5 respuestas completas.
- La figura 7 muestra la ausencia de un efecto mediante el ejemplo 11 a 1 μmol/kg TIW durante 2 semanas (6 dosis) sobre el peso de ratones nu/nu con (□) y sin (■) EC20 40 μmol/kg (complejo de renio) frente a controles no tratados (■).
- 40 La figura 8 muestra la actividad del ejemplo 11 a 1 μmol/kg TIW durante 2 semanas (6 dosis) sobre tumores KB de xenoinjerto humano s.c. implantados en ratones desnudos con (b) y sin (c) EC20 40 μmol/kg (complejo de renio) frente a controles no tratados (a); el ejemplo 11 solo, mostró 5/5 respuestas completas; el ejemplo 11 + EC20 mostró 0/5 respuestas completas.
- La figura 9 muestra la ausencia de un efecto mediante el ejemplo 11 a 1 μmol/kg TIW durante 2 semanas (6 dosis) sobre el peso de ratones desnudos con (b) y sin (c) EC20 40 μmol/kg (complejo de renio) frente a controles no tratados (a).
- 45 La figura 10 muestra la actividad del ejemplo 11 a 2 μmol/kg TIW (e) sobre tumores humanos positivos para receptor de folato en ratones desnudos en comparación con una mezcla de los fármacos base no conjugados, mitomicina C y desacetilvinblastina monohidrazida, a 0,5 μmol/kg TIW (b), 1 μmol/kg TIW (c) y 2 μmol/kg TIW (d), y en comparación con controles no tratados (a).

La figura 11 muestra la ausencia de un efecto mediante el ejemplo 11 a 2 $\mu\text{mol/kg}$ TIW durante 2 semanas (e) sobre el peso de ratones desnudos en comparación con controles (a). La pérdida de peso se produjo a las tres dosis de la mezcla de los fármacos base no conjugados, mitomicina C y desacetilvinblastina monohidrazida (0,5 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (b), 1 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (c), 2 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (d)). Se interrumpió la dosis alta (d) antes del día 20.

- 5 La figura 12 muestra la actividad del ejemplo 11 sobre tres tamaños de tumores KB grandes, de 250 mm^3 (b), 500 mm^3 (c) y 750 mm^3 (d) en ratones nu/nu a 2 $\mu\text{mol/kg}$ TIW durante 2 semanas en comparación con los controles (a).

La figura 13 muestra la actividad del ejemplo 11 (e) en comparación con conjugados de sólo el fármaco individual mitomicina C (b), desacetilvinblastina monohidrazida (c); o una mezcla de esos dos conjugados de fármacos individuales (d), en comparación con los controles (a).

- 10 La figura 14 muestra la ausencia de actividad del ejemplo 11 (b) a 2 $\mu\text{mol/kg}$ TIW durante dos semanas de tratamiento sobre tumores 4T1 negativos para receptor de folato en ratones Bablb/c, en comparación con los controles (a). Los datos en la figura 14 muestran que el ejemplo 11 (b) no tiene ningún efecto sobre los tumores en comparación con los controles (a) debido a la ausencia de receptores de folato en esos tumores.

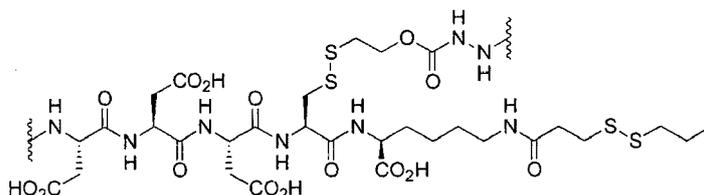
La figura 15 muestra la actividad del ejemplo 12 sobre la incorporación de ^3H -timidina en células KB positivas para FR.

- 15 Descripción detallada

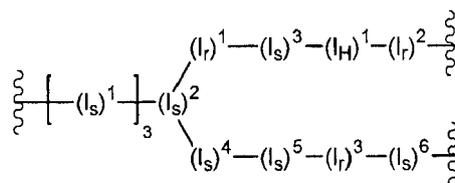
Se describen en el presente documento conjugados de ligando de fármacos, y análogos y derivados de los mismos. Los conjugados incluyen ligandos de unión a receptor celular, incluyendo ligandos de receptores de superficie celular, que se unen covalentemente a dos o más fármacos que pueden dirigirse a células, incluyendo células patógenas. Los conjugados descritos en el presente documento también pueden incluir un grupo de unión polivalente para unir los ligandos a los fármacos.

- 20

Por ejemplo, en una realización ilustrativa de la manera en la que se ensamblan covalentemente grupos de unión para formar el grupo de unión polivalente, o parte del grupo de unión polivalente, se conectan grupos de unión de heteroátomos, grupos de unión espaciadores y grupos de unión liberables para formar un grupo polivalente de fórmula:



- 25 en la que la fórmula también puede representarse como



en la que $(l_s)^1$ es el tripéptido Asp-Asp-Asp, $(l_s)^2$ es Cys, $(l_r)^1$ es S-S, $(l_s)^3$ es CH_2CH_2 , $(l_r)^1$ es O, $(l_r)^2$ es $\text{C}(\text{O})\text{NHNH}$, $(l_s)^4$ es \square -Lys, $(l_s)^5$ es $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2$, $(l_r)^3$ es S-S y $(l_s)^6$ es CH_2CH_2 .

- 30 Los ligandos de receptores de superficie celular útiles en los conjugados descritos en el presente documento incluyen vitaminas, incluyendo folato.

El término "grupo de unión liberable" tal como se usa en el presente documento, y también conocido como grupo de unión escindible, se refiere a un grupo de unión que incluye al menos un enlace que puede romperse en condiciones fisiológicas (por ejemplo, un enlace lábil a pH, lábil a ácido, lábil oxidativamente o lábil a enzimas). Debe apreciarse que tales condiciones fisiológicas que dan como resultado enlácela rotura del enlace incluyen reacciones de hidrólisis química convencionales que se producen, por ejemplo, a pH fisiológico, o como resultado de compartimentalización en un orgánulo celular tal como un endosoma que tiene un pH inferior al pH citosólico.

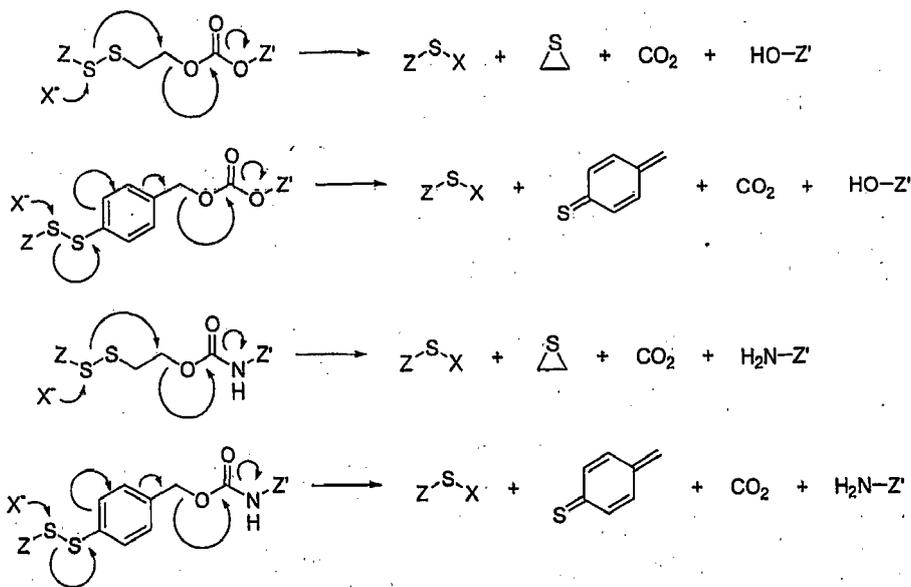
- 35

Se entiende que un enlace escindible puede conectar dos átomos adyacentes dentro del grupo de unión liberable y/o conectar otros grupos de unión o (B, resto de unión a receptor) y/o (D, resto de fármaco), tal como se describe en el presente documento, en cualquiera o ambos extremos del grupo de unión liberable. En el caso en el que un enlace

5 escindible conecta dos átomos adyacentes dentro del grupo de unión liberable, tras la rotura del enlace, el grupo de unión liberable se rompe en dos o más fragmentos. Alternativamente, en el caso en el que un enlace escindible está entre el grupo de unión liberable y otro resto, tal como un grupo de unión de heteroátomo, un grupo de unión espaciador, otro grupo de unión liberable, el fármaco, o análogo o derivado del mismo, o la vitamina, o análogo o derivado de la misma, tras la rotura del enlace, el grupo de unión liberable se separa del otro resto.

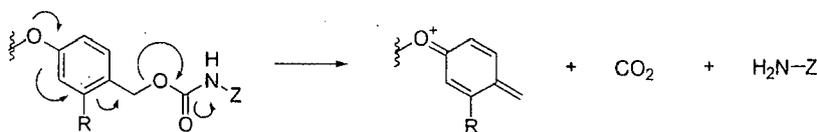
La labilidad del enlace escindible puede ajustarse mediante, por ejemplo, cambios de sustitución en o cerca del enlace escindible, tal como incluyendo la ramificación en alfa adyacente a un enlace disulfuro escindible, aumentando la hidrofobicidad de los sustituyentes sobre el silicio en un resto que tiene un enlace silicio-oxígeno que puede hidrolizarse, homologando grupos alcoxilo que forman parte de un cetral o acetal que puede hidrolizarse, y similares.

10 Los mecanismos ilustrativos para la escisión de los grupos de unión bivalentes descritos en el presente documento incluyen los siguientes mecanismos de fragmentación 1,4 y 1,6

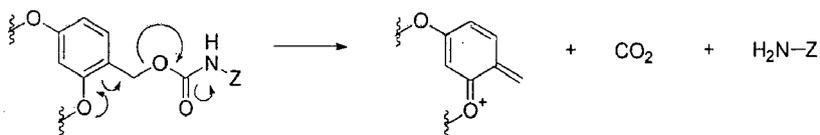


15 en los que X es un nucleófilo exógeno o endógeno, glutatión o agente biorreductor, y similares, y cualquiera de Z o Z' es la vitamina, o análogo o derivado de la misma, o el fármaco, o análogo o derivado del mismo, o una resto de fármaco o vitamina conjuntamente con otras porciones del grupo de unión polivalente. Debe entenderse que aunque los mecanismos de fragmentación anteriores se representan como mecanismos concertados, puede tener lugar cualquier número de etapas diferenciadas para efectuar la fragmentación final del grupo de unión polivalente para dar los productos finales mostrados. Por ejemplo, se aprecia que el enlace escindible también puede producirse mediante eliminación catalizada por ácido del resto carbamato, que puede asistirse de manera anquimérica mediante la estabilización proporcionada por o bien el grupo arilo del azufre beta o bien el disulfuro ilustrado en los ejemplos anteriores. En esas variaciones de esta realización, el grupo de unión liberable es el resto carbamato. Alternativamente, la fragmentación puede iniciarse mediante un ataque nucleófilo sobre el grupo disulfuro, provocando la escisión para formar un tiolato. El tiolato puede desplazar intermolecularmente un resto ácido carbónico o ácido carbámico y formar el correspondiente tiaciciclopropano. En el caso de los grupos de unión polivalentes que contienen bencilo, tras una rotura ilustrativa del enlace disulfuro, el tiolato de fenilo resultante puede fragmentarse adicionalmente para liberar un resto ácido carbónico o ácido carbámico formando un producto intermedio estabilizado por resonancia. En cualquiera de estos casos, la naturaleza liberable de los grupos de unión polivalentes ilustrativos descritos en el presente documento puede desarrollarse mediante cualquier mecanismo que pueda ser relevante para las condiciones químicas, metabólicas, fisiológicas o biológicas presentes.

Otros mecanismos ilustrativos para la escisión del enlace del grupo de unión liberable incluyen escisión asistida por oxonio tal como sigue:

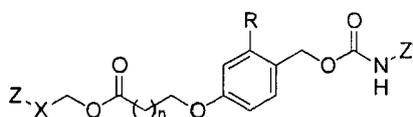


35



5 en las que Z es la vitamina, o análogo o derivado de la misma, o el fármaco, o análogo o derivado del mismo, o cada uno es un resto de fármaco o vitamina conjuntamente con otras porciones del grupo de unión polivalente, tal como un resto de vitamina o fármaco que incluye uno o más grupos de unión espaciadores, grupos de unión de heteroátomos y/u otros grupos de unión liberables. En esta realización, la eliminación catalizada por ácido del carbamato conduce a la liberación de CO₂ y el resto que contiene nitrógeno unido a Z, y a la formación de un catión bencilo, que puede atraparse por agua, o cualquier otra base de Lewis.

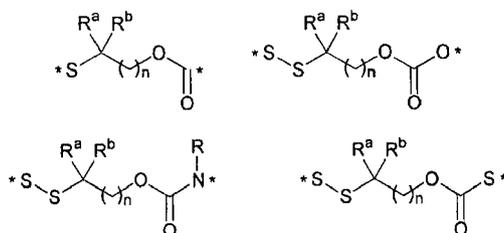
10 Otro mecanismo ilustrativo implica una disposición de los grupos de unión liberables, espaciadores y de heteroátomos de tal modo que posteriormente a la escisión de un enlace en el grupo de unión polivalente, los grupos funcionales liberados asisten químicamente en la rotura o escisión de enlaces adicionales, también denominada rotura o escisión asistida anquimérica. Un ejemplo ilustrativo de un grupo de unión polivalente o porción del mismo incluye compuestos que tienen la fórmula:



15 en la que X es un heteroátomo, tal como nitrógeno, oxígeno o azufre, n es un número entero seleccionado de 0, 1, 2 y 3, R es hidrógeno, o un sustituyente, incluyendo un sustituyente que puede estabilizar una carga positiva inductivamente o mediante resonancia en el anillo de arilo, tal como alcoxilo, y similares, y cualquiera de Z o Z' es la vitamina, o análogo o derivado de la misma, o el fármaco, o análogo o derivado del mismo, o un resto de fármaco o vitamina conjuntamente con otras porciones del grupo de unión polivalente. Se aprecia que pueden estar presentes otros sustituyentes en el anillo de arilo, el carbono del bencilo, el nitrógeno del carbamato, el ácido alcanoico, o el puente de metileno, incluyendo pero sin limitarse a hidroxilo, alquilo, alcoxilo, alquiltio, halo, y similares. La escisión asistida puede incluir mecanismos que implican productos intermedios de bencilio, productos intermedios de bencilo, ciclación de lactona, productos intermedios de oxonio, beta-eliminación, y similares. Se aprecia adicionalmente que, además de la fragmentación posterior a la escisión del grupo de unión liberable, la escisión inicial del grupo de unión liberable puede facilitarse mediante un mecanismo asistido de manera anquimérica.

25 En este ejemplo, el ácido hidroxialcanoico, que puede ciclarse, facilita la escisión del puente de metileno, mediante por ejemplo un ión oxonio, y facilita la escisión del enlace o la posterior fragmentación tras la escisión del enlace del grupo de unión liberable. Alternativamente, la escisión asistida por ión oxonio catalizada por ácido del puente de metileno puede comenzar una cascada de fragmentación de este grupo de unión polivalente ilustrativo, o fragmento del mismo. Alternativamente, la hidrólisis catalizada por ácido del carbamato puede facilitar la beta eliminación del ácido hidroxialcanoico, que puede ciclarse, y facilitar la escisión del puente de metileno, mediante por ejemplo un ión oxonio. Se aprecia que otros mecanismos químicos de escisión o rotura de enlaces en las condiciones metabólicas, fisiológicas o celulares descritas en el presente documento pueden iniciar una cascada de fragmentación de este tipo. Se aprecia que otros mecanismos químicos de escisión o rotura de enlaces en las condiciones metabólicas, fisiológicas o celulares descritas en el presente documento pueden iniciar una cascada de fragmentación de este tipo.

35 Ejemplos de grupos de unión polivalentes descritos en el presente documento son compuestos de las siguientes fórmulas

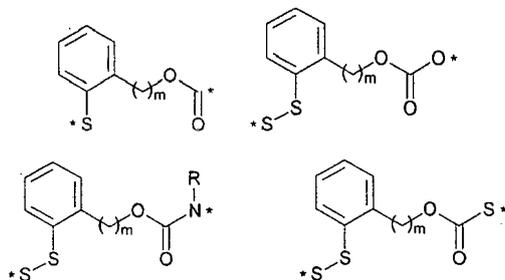


40 en las que n es un número entero seleccionado de desde 1 hasta aproximadamente 4; R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo, incluyendo alquilo inferior tal como alquilo C₁-C₄ que están opcionalmente ramificados; o R^a y R^b se toman juntos con el átomo de carbono unido para formar un anillo carbocíclico; R es un grupo alquilo sustituido opcionalmente, un grupo acilo sustituido opcionalmente o un grupo

protector de nitrógeno seleccionado adecuadamente; y (*) indica puntos de unión para el fármaco, la vitamina, el agente de obtención de imágenes, el agente de diagnóstico, otros grupos de unión polivalentes u otras partes del conjugado.

En otro ejemplo, los grupos de unión polivalentes descritos en el presente documento incluyen compuestos de las siguientes fórmulas

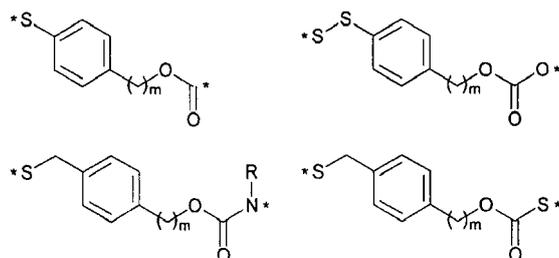
5



10

en las que m es un número entero seleccionado de desde 1 hasta aproximadamente 4; R es un grupo alquilo sustituido opcionalmente, un grupo acilo sustituido opcionalmente o un grupo protector de nitrógeno seleccionado adecuadamente; y (*) indica puntos de unión para el fármaco, la vitamina, el agente de obtención de imágenes, el agente de diagnóstico, otros grupos de unión polivalentes u otras partes del conjugado.

En otro ejemplo, los grupos de unión polivalentes descritos en el presente documento incluyen compuestos de las siguientes fórmulas

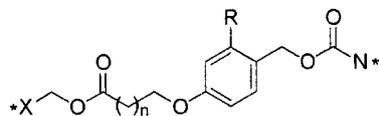


15

en las que m es un número entero seleccionado de desde 1 hasta aproximadamente 4; R es un grupo alquilo sustituido opcionalmente, un grupo acilo sustituido opcionalmente o un grupo protector de nitrógeno seleccionado adecuadamente; y (*) indica puntos de unión para el fármaco, la vitamina, el agente de obtención de imágenes, el agente de diagnóstico, otros grupos de unión polivalentes u otras partes del conjugado.

20

En otro ejemplo, los grupos de unión liberables, espaciadores y de heteroátomos pueden estar dispuestos de tal modo que posteriormente a la escisión de un enlace en el grupo de unión polivalente, los grupos funcionales liberados asisten químicamente en la rotura o escisión de enlaces adicionales, también denominado rotura o escisión asistida anquimérica. Una realización ilustrativa de un grupo de unión polivalente o porción del mismo de este tipo incluye compuestos que tienen la fórmula:

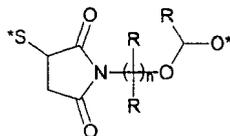


25

en la que X es un heteroátomo, tal como nitrógeno, oxígeno o azufre, n es un número entero seleccionado de desde 0, 1, 2 y 3, R es hidrógeno, o un sustituyente, incluyendo un sustituyente que puede estabilizar una carga positiva inductivamente o mediante resonancia en el anillo de arilo, tal como alcoxilo, y similares, y el símbolo (*) indica puntos de unión para grupos de unión espaciadores, de heteroátomos o liberables adicionales que forman el grupo de unión polivalente, o alternativamente para la unión del fármaco, o análogo o derivado del mismo, o la vitamina, o análogo o derivado de la misma. Se aprecia que otros sustituyentes pueden estar presentes en el anillo de arilo, el carbono del bencilo, el ácido alcanoico, o el puente de metileno, incluyendo pero sin limitarse a hidroxilo, alquilo, alcoxilo, alquiltio, halo, y similares. La escisión asistida puede incluir mecanismos que implican productos intermedios de bencilio, productos intermedios de bencino, ciclación de lactona, productos intermedios de oxonio, beta-eliminación, y similares. Se aprecia además que, además de la fragmentación posterior a la escisión del grupo de unión liberable, la escisión inicial del grupo de unión liberable puede facilitarse mediante un mecanismo asistido de manera anquimérica.

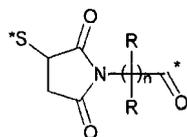
35

En otro ejemplo, el grupo de unión polivalente incluye grupos de unión de heteroátomos, grupos de unión espaciadores y grupos de unión liberables conectados para formar un grupo 3-tiosuccinimid-1-ilalquiloximetiloxilo polivalente, ilustrado mediante la siguiente fórmula



5 en la que n es un número entero de desde 1 hasta 6, el grupo alquilo está sustituido opcionalmente, y el metilo está sustituido opcionalmente con un grupo arilo sustituido opcionalmente o alquilo adicional, cada uno de los cuales se representa mediante un grupo R seleccionado independientemente. Los símbolos (*) indican puntos de unión del fragmento de grupo de unión polivalente a otras partes de los conjugados descritos en el presente documento.

10 En otro ejemplo, el grupo de unión polivalente incluye grupos de unión de heteroátomos, grupos de unión espaciadores y grupos de unión liberables conectados para formar un grupo 3-tiosuccinimid-1-ilalquilcarbonilo polivalente, ilustrado mediante la siguiente fórmula



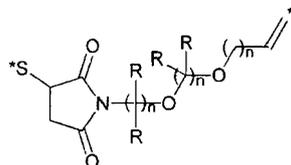
15 en la que n es un número entero de desde 1 hasta 6, y el grupo alquilo está sustituido opcionalmente. Los símbolos (*) indican puntos de unión del fragmento de grupo de unión polivalente a otras partes de los conjugados descritos en el presente documento. En otra realización, el grupo de unión polivalente incluye grupos de unión de heteroátomos, grupos de unión espaciadores y grupos de unión liberables conectados para formar un grupo 3-tioalquilsulfonilalquil(sililo disustituido)oxilo polivalente, en el que el sililo disustituido está sustituido con grupos arilo sustituidos opcionalmente y/o alquilo.

20 En otro ejemplo, el grupo de unión polivalente incluye grupos de unión de heteroátomos, grupos de unión espaciadores y grupos de unión liberables conectados para formar un grupo ditioalquilcarbonilhidrazida polivalente, o una 3-tiosuccinimid-1-ilalquilcarbonilhidrazida polivalente, ilustrada mediante las siguientes fórmulas



25 en las que n es un número entero de desde 1 hasta 6, el grupo alquilo está sustituido opcionalmente y la hidrazida forma una hidrazona con (B), (D) u otra parte del grupo de unión polivalente (L). Los símbolos (*) indican puntos de unión del fragmento de grupo de unión polivalente a otras partes de los conjugados descritos en el presente documento.

En otro ejemplo, el grupo de unión polivalente incluye grupos de unión de heteroátomos, grupos de unión espaciadores y grupos de unión liberables conectados para formar un grupo 3-tiosuccinimid-1-ilalquioxialquioxialquideno polivalente, ilustrado mediante la siguiente fórmula



30 en la que cada n es un número entero seleccionado independientemente de desde 1 hasta 6, cada grupo alquilo se selecciona independientemente y está sustituido opcionalmente, tal como con alquilo o arilo opcionalmente sustituido, y en el que el alquideno forma una hidrazona con (B), (D) u otra parte del grupo de unión polivalente (L). Los símbolos (*) indican puntos de unión del fragmento de grupo de unión polivalente a otras partes de los conjugados descritos en el presente documento.

35 En otro ejemplo, el grupo de unión polivalente incluye grupos de unión de heteroátomos, grupos de unión espaciadores y grupos de unión liberables conectados para formar un grupo 3-tio o 3-ditioarilalquioxicarbonilo polivalente, un grupo 3-

tio o 3-ditioarilalquilaminocarbonilo, un 3-tio o 3-ditioalquioxycarbonilo polivalente o un 3-tio o 3-ditioalquilaminocarbonilo polivalente, en los que el alquilcarbonilo forma un carbonato, un carbamato o urea con (B), (D) u otra parte del grupo de unión polivalente (L). De manera ilustrativa, el grupo alquilo es etilo.

5 En otro ejemplo, el grupo de unión polivalente incluye grupos de unión de heteroátomos, grupos de unión espaciadores y grupos de unión liberables conectados para formar un grupo 3-ditioalquilamino polivalente, en el que el amino forma una amida viníloga con (B), (D) u otra parte del grupo de unión polivalente (L). De manera ilustrativa, el grupo alquilo es etilo.

10 En otro ejemplo, el grupo de unión polivalente incluye grupos de unión de heteroátomos, grupos de unión espaciadores y grupos de unión liberables conectados para formar un grupo 1-alcoxícicloalquilenoxilo polivalente, un grupo carboxilato de alquilenaminocarbonil(dicarboxilarileno) polivalente, un grupo 3-ditioalquioxycarbonilo polivalente, un grupo 3-ditioalquioxycarbonilhidrazida polivalente, un polivalente.

15 En otro ejemplo, el grupo de unión polivalente incluye al menos un grupo de unión espaciador que es un péptido formado por aminoácidos. En un aspecto, el péptido incluye aminoácidos que se producen de manera natural, y estereoisómeros de los mismos. En otro aspecto, el péptido está formado sólo por aminoácidos que se producen de manera natural, y estereoisómeros de los mismos.

Se muestran en la tabla 1 y 2 ejemplos ilustrativos adicionales de grupos de unión liberables y espaciadores, en los que el (*) indica el punto de unión a otro grupo de unión, al alcaloide de la vinca, o análogo o derivado del mismo, o al resto de unión a receptor.

Tabla 1. Grupos de unión de heteroátomos y espaciadores contemplados, y combinaciones de los mismos.

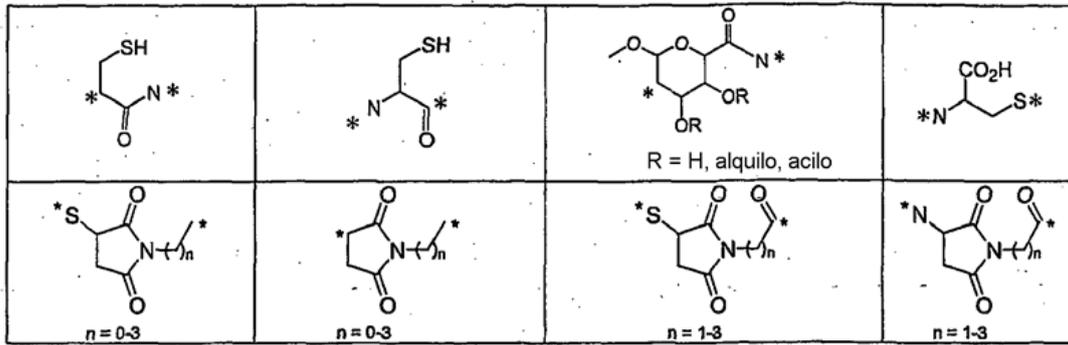


Tabla 2. Grupos de unión de heteroátomos y liberables contemplados, y combinaciones de los mismos.

5 Puede incluirse cualquier variedad de fármacos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento. En una realización ilustrativa, los fármacos se seleccionan basándose en la actividad contra una o más poblaciones de células patógenas. En un aspecto, esas células patógenas son células cancerosas, incluyendo tumores sólidos.

10 En otra realización ilustrativa, los fármacos se seleccionan basándose en la actividad contra una o más poblaciones de células patógenas con un mecanismo de acción particular. Los mecanismos de acción ilustrativos incluyen agentes alquilantes, inhibidores de microtúbulos, incluyendo los que estabilizan y/o desestabilizan la formación de microtúbulos, incluyendo agentes de beta-tubulina, inhibidores de cinasas dependientes de ciclinas (CDK), inhibidores de topoisomerasas, inhibidores de la síntesis de proteínas, inhibidores de proteína cinasas, incluyendo Ras, Raf, PKC, PI3K e inhibidores similares, inhibidor de la transcripción, antifolatos, bloqueantes de proteínas de choque térmico, y similares.

Los agentes alquilantes ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, mitomicinas CBI, y similares. Los inhibidores de cinasas dependientes de ciclinas (CDK) ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, CYC202, seliciclib, R-roscovitina, AGM-1470, y similares. Los inhibidores de topoisomerasas ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, doxorubicina, otras antraciclinas, y similares. Los inhibidores de la síntesis de proteínas ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, bruceantina, y similares. Los inhibidores de proteína cinasas ilustrativos, incluyendo Ras, Raf, PKC, PI3K e inhibidores similares, incluyen pero no se limitan a L-779,450, R115777, y similares. Los inhibidores de la transcripción ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, α -amanatina, actinomicina, y similares. Los antifolatos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, metotrexato, y similares. Los bloqueantes de proteínas de choque térmico ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, geldanamicina, y similares.

10 Inhibidores de microtúbulos ilustrativos, incluyendo los que estabilizan y/o desestabilizan la formación de microtúbulos, incluyendo agentes de α -tubulina, venenos de microtúbulos, y similares. Los venenos de microtúbulos ilustrativos que se unen a receptores seleccionados incluyen, pero no se limitan a, inhibidores que se unen al sitio de unión de la vinca tales como arenastatina, dolastatina, halicondrina B, maitansina, fomopsina A, rizoxina, ustiloxina, vinblastina, vincristina, y similares, estabilizadores que se unen al sitio de unión del taxol tales como discodermolida, epotilona, 15 taxol, paclitaxel, y similares, inhibidores que se unen al sitio de unión de la colchicina tales como, colchicina, combretastatina, curacina A, podofilotoxina, esteganacina, y similares, y otros que se unen a sitios no definidos tales como criptoficina, tubulisinas, y similares.

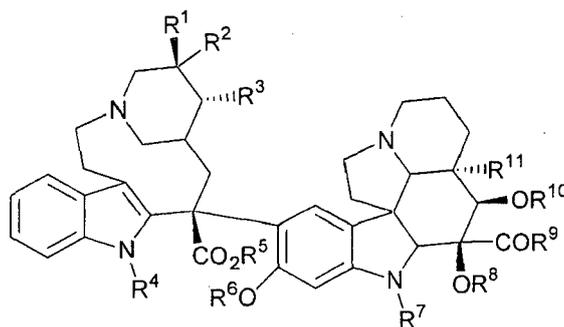
20 En una realización de los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento, al menos uno de los fármacos es un inhibidor de microtúbulos, o un análogo o derivado del mismo. En otra realización, al menos uno de los fármacos es un agente de alquilación del ADN. En otra realización, al menos uno de los fármacos es un agente de alquilación del ADN y al menos otro de los fármacos es un inhibidor de microtúbulos, los alcaloides descritos en el presente documento incluyen todos los miembros de la familia de alcaloides de indol-dihidroindol de la vinca, tales como pero sin limitarse a vindesina, vinblastina, vincristina, catarantina, vindolina, leurosina, vinorelbina, imidocarb, sibutramina, toltrazurilo, ácido vinblastinoico, y similares, y análogos y derivados de los mismos.

25 En otra realización de los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento, al menos uno de los fármacos es un inhibidor de glicoproteína P (PGP). En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un inhibidor de PGP, y al menos otro de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos es un sustrato de PGP. De manera 30 ilustrativa en esta última realización, el sustrato de PGP es un agente alquilante del ADN. En referencia a esta realización, se aprecia que el apareamiento de un inhibidor de PGP con un sustrato de PGP, tal como un agente alquilante del ADN incluyendo, pero sin limitarse a, cualquiera de las mitomicinas como mitomicina C, mitomicina A, y similares puede mejorar el rendimiento global del fármaco que es por lo demás un sustrato de PGP. En los conjugados liberables descritos en el presente documento, el fármaco de inhibidor de PGP y el fármaco de sustrato de PGP se liberan ambos en la célula tras endocitosis. De esa manera, el fármaco inhibidor de PGP puede mejorar la potencia y/o 35 eficacia global del fármaco de sustrato de PGP. Además, el inhibidor de PGP puede reducir la expresión de PGP, que a su vez disminuirá el flujo de uno o más de los fármacos incluidos en los conjugados de múltiples fármacos descritos en el presente documento desde la célula patógena. Se aprecia que las mitomicinas, o análogos o derivados de las mismas, tales como mitomicina C pueden funcionar como inhibidor de PGP, o regulador por disminución de PGP. Se aprecia además que el alcaloide de la vinca, o análogo o derivado del mismo, tal como análogos y derivados de 40 vinblastina, puede ser un sustrato de PGP que está protegido del flujo desde la célula patógena por el regulador por disminución o inhibidor de PGP.

45 En otra realización de los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento, al menos uno de los fármacos es un alcaloide de la vinca, o un análogo o derivado del mismo. Los alcaloides de la vinca descritos en el presente documento incluyen todos los miembros de la familia de alcaloides de indol-dihidroindol de la vinca, tales como pero sin limitarse a vindesina, vinblastina, vincristina, catarantina, vindolina, leurosina, vinorelbina, imidocarb, sibutramina, toltrazuril, ácido vinblastinoico, y similares, y análogos y derivados de los mismos.

50 Tal como se hace referencia en el presente documento, los fármacos de la vinca que pueden usarse en los conjugados descritos en el presente documento incluyen todos los miembros de la familia de alcaloides de indol-dihidroindol de la vinca, tales como vindesina, vinblastina, vincristina, catarantina, vindolina, leurosina, vinorelbina, imidocarb, sibutramina, toltrazuril, ácido vinblastinoico, y similares, y análogos y derivados de los mismos. De manera ilustrativa, tales análogos y derivados incluyen las 3-carboxazidas descritas en la patente estadounidense n.º 4.203.898; el N²-alquilo y otros 55 derivados de 4-desacetilvinblastina-3-carboxhidrazida descritos en la patente estadounidense n.º 4.166.810; leurosina hidrazida descrita en Neuss *et al.* Tetrahedron Lett. 783 (1968); los derivados de hidrazida descritos en Barnett *et al.* J. Med. Chem. 21:88 (1978); los derivados de éster C-4 descritos en las patentes estadounidenses n.ºs 3.392.173 y 3.387.001; los derivados de ácido dicarboxílico que resultan de la oxidación descrita en Langone *et al.* Anal. Biochem. 95:214 (1979); y las hidrazidas de la vinca descritas en el documento EP 0 247 792 A2.

En una realización ilustrativa, los fármacos de la vinca son compuestos de fórmula



en la que:

uno de R^1 y R^2 es OH, y el otro es etilo, y R^3 es H, o R^1 es etilo, R^2 y R^3 se toman juntos para formar -O-;

R^4 , R^7 y R^8 se seleccionan cada uno independientemente de H, alquilo y acilo

5 R^5 y R^6 se seleccionan cada uno independientemente de alquilo;

R^9 es un grupo -NHNHR, en el que R es H, alquilo o acilo;

R^{10} es H o acilo; y

R^{11} es etilo.

10 En un aspecto, los fármacos de la vinca son compuestos de la fórmula anterior en la que R^4 y R^8 son cada uno H; y R^5 , R^6 , R^9 y R^{10} son cada uno metilo.

15 En otra realización, se describe un conjugado de administración de fármacos de unión a receptor que comprende un resto de unión a receptor, un grupo de unión polivalente (L), un fármaco de alcaloide de la vinca, o análogo o derivado del mismo, y otro fármaco, o análogo o derivado del mismo, en el que el resto de unión a receptor, el alcaloide de la vinca y el otro fármaco se unen cada uno al grupo de unión polivalente (L) a través de un grupo de unión de heteroátomo (I_H). El grupo de unión polivalente (L) comprende uno o más grupos de unión espaciadores, grupos de unión de heteroátomos y grupos de unión liberables, y combinaciones de los mismos, en cualquier orden.

20 En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es una aclamicina, o un análogo o derivado de la misma. Puede ser que las aclamicinas y análogos y derivados de las mismas sean sustratos de la bomba de eflujo de PGP. En un aspecto, al menos otro de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un agente alquilante del ADN, tal como una mitomicina o un análogo o derivado de la misma.

25 En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un inhibidor de la síntesis de ADN, o un análogo o derivado del mismo. En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un inhibidor de la formación del huso, o un análogo o derivado del mismo. En un aspecto, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un inhibidor de la síntesis de ADN, o un análogo o derivado del mismo, y al menos otro de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un inhibidor de la formación del huso, o un análogo o derivado del mismo.

30 En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un agente estabilizante de microtúbulos, o un análogo o derivado del mismo. En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un inhibidor de la síntesis de microtúbulos, o un análogo o derivado del mismo. En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un agente desestabilizante de microtúbulos, o un análogo o derivado del mismo.

35 En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un agente inductor de apoptosis, o un análogo o derivado del mismo. En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un taxol, o un análogo o derivado del mismo. En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un antifolato, o un análogo o derivado del mismo. En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de

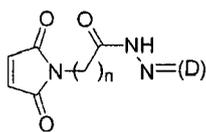
5 fármacos descritos en el presente documento es un metotrexato, o un análogo o derivado del mismo. En un aspecto, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un antifolato, o un análogo o derivado del mismo, tal como metotrexato, y al menos otro de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un taxol, o un análogo o derivado del mismo.

10 En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un folato, o un análogo o derivado del mismo. En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un inhibidor de receptor-2 de factor de crecimiento epidérmico humano (HER-2), o un análogo o derivado del mismo. En otra realización, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un agente de quimioterapia radiomarcado, tal como cisplatino, y similares. En un aspecto, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un antifolato, o un análogo o derivado del mismo, tal como metotrexato, y al menos otro de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un folato, o un análogo o derivado del mismo. En otro aspecto, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un taxol, o un análogo o derivado del mismo, y al menos otro de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un inhibidor de HER-2, o un análogo o derivado del mismo. En otro aspecto, al menos uno de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un taxol, o un análogo o derivado del mismo, al menos otro de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un agente de radioterapia radiomarcado, tal como cisplatino, y al menos otro de los fármacos incluidos en los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento es un inhibidor de HER-2, o un análogo o derivado del mismo.

25 Los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento pueden prepararse mediante métodos de síntesis convencionales. Los métodos de síntesis se eligen dependiendo de la selección de los grupos de unión de heteroátomos, y los grupos funcionales presentes en los grupos de unión espaciadores y los grupos de unión liberables. En general, las reacciones que forman enlaces relevantes se describen en Richard C. Larock, "Comprehensive Organic Transformations, a guide to functional group preparations", VCH Publishers, Inc. Nueva York (1989), y en Theodora E. Greene & Peter G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", 2ª edición, John Wiley & Sons, Inc. Nueva York (1991). Se describen condiciones de reacción y rutas de síntesis adicionales en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US 2005/0002942 A1.

35 De manera ilustrativa, los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento pueden prepararse usando rutas de síntesis tanto lineales como convergentes. Los productos intermedios ilustrativos que pueden usarse en tales rutas incluyen productos intermedios que comprenden un grupo de unión polivalente que incluye un grupo de acoplamiento en cada extremo adecuado para la unión covalente al resto de unión a receptor, o análogo o derivado del mismo, y el alcaloide de la vinca, o análogo o derivado del mismo. Otros productos intermedios ilustrativos que pueden usarse en tales rutas incluyen productos intermedios que comprenden un resto de unión a receptor, o análogo o derivado del mismo, unido a un grupo de unión polivalente, que incluye un grupo de acoplamiento. Otros productos intermedios ilustrativos que pueden usarse en tales rutas incluyen productos intermedios que comprenden un alcaloide de la vinca, o análogo o derivado del mismo, unido a un grupo de unión polivalente, que incluye un grupo de acoplamiento. En cualquier caso, el grupo de acoplamiento puede ser un nucleófilo, un electrófilo o un precursor del mismo.

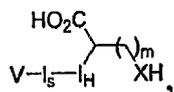
45 En una realización ilustrativa de productos intermedios sintéticos, el grupo de acoplamiento es un aceptor de Michael, y el grupo de unión polivalente incluye un grupo de unión liberable que tiene la fórmula $-C(O)NHN=$, $-NHC(O)NHN=$ o $-CH_2C(O)NHN=$. En un aspecto ilustrativo, el grupo de acoplamiento y el grupo de unión polivalente se toman juntos para formar un compuesto que tiene la fórmula:



50 o un derivado protegido del mismo, en la que (D) es el alcaloide de la vinca, o un análogo o un derivado del mismo, que puede formar una hidrazona tal como se ilustra en el presente documento; y n es un número entero tal como 1, 2, 3 ó 4. En otro aspecto ilustrativo del producto intermedio de conjugado de administración de fármacos de unión a receptor descrito en el presente documento, se une covalentemente un segundo grupo de unión a la fórmula anterior a través de un nucleófilo de alquiltiol incluido en el segundo grupo de unión. En otro aspecto ilustrativo, el resto de unión a receptor, o análogo o derivado del mismo, se une covalentemente a la fórmula anterior a través de un nucleófilo de alquiltiol incluido en ese resto.

En otra realización ilustrativa, el grupo de acoplamiento es un heteroátomo, tal como nitrógeno, oxígeno o azufre, y el grupo de unión polivalente incluye uno o más grupos de unión de heteroátomos y uno o más grupos de unión espaciadores que conectan covalentemente el resto de unión a receptor al grupo de acoplamiento. En un aspecto ilustrativo, el producto intermedio descrito en el presente documento incluye un compuesto que tiene la fórmula:

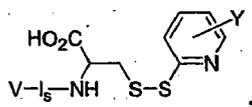
5



o un derivado protegido del mismo, en la que X es oxígeno, nitrógeno o azufre, y m es un número entero tal como 1, 2 ó 3, y en la que (B), I_s y I_H son tal como se definen en el presente documento. En un aspecto ilustrativo, I_H es -NH-, y m es 1. En otro aspecto ilustrativo, I_s es -NH-, m es 1 y X es -S-.

10

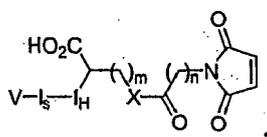
En otra realización ilustrativa, el producto intermedio descrito en el presente documento incluye un compuesto que tiene la fórmula:



o un derivado protegido del mismo, en la que Y es H o un sustituyente, de manera ilustrativa un sustituyente extractor de electrones, incluyendo pero sin limitarse a nitro, ciano, halo, alquilsulfonilo, un derivado de ácido carboxílico, y similares, y en la que (B) y I_s son tal como se definen en el presente documento.

15

En otra realización ilustrativa del producto intermedio descrito en el presente documento, el grupo de acoplamiento es un aceptor de Michael, y el grupo de unión polivalente incluye uno o más grupos de unión de heteroátomos y uno o más grupos de unión espaciadores que conectan covalentemente el resto de unión a receptor al grupo de acoplamiento. En un aspecto ilustrativo, el grupo de acoplamiento y el grupo de unión polivalente se toman juntos para formar un compuesto que tiene la fórmula:

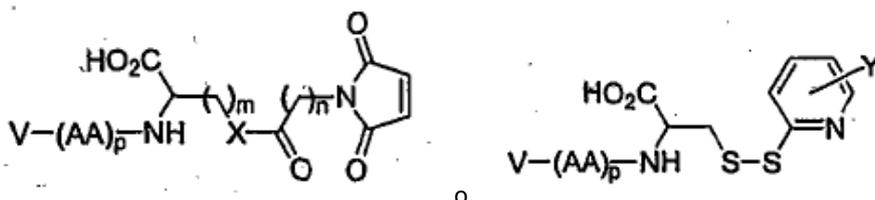


20

o un derivado protegido del mismo, en la que X es oxígeno, nitrógeno o azufre, y m y n son números enteros seleccionados independientemente, tales como 1, 2 ó 3, y en la que (B), I_s y I_H son tal como se definen en el presente documento. En otro aspecto ilustrativo, el alcaloide de la vinca, o análogo o derivado del mismo, se une covalentemente a la fórmula anterior a través de un nucleófilo de alquiltiol incluido en el alcaloide de la vinca.

25

En otro aspecto ilustrativo, el producto intermedio incluye compuestos que tienen las fórmulas:



30

o derivados protegidos de los mismos, en las que AA es uno o más aminoácidos, de manera ilustrativa seleccionados de los aminoácidos que se producen de manera natural, o estereoisómeros de los mismos, X es nitrógeno, oxígeno o azufre; Y es hidrógeno o un sustituyente, de manera ilustrativa un sustituyente extractor de electrones, incluyendo pero sin limitarse a nitro, ciano, halo, alquilsulfonilo, un derivado de ácido carboxílico, y similares, n y m son números enteros seleccionados independientemente, tales como 1, 2 ó 3, y p es un número entero tal como 1, 2, 3, 4 ó 5.

AA puede ser también cualquier otro aminoácido, tal como cualquier aminoácido que tenga la fórmula general:



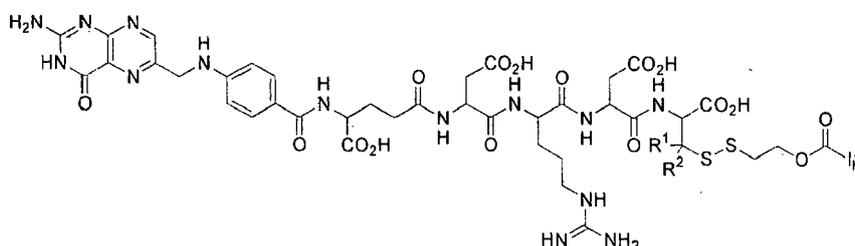
35

en la que R es hidrógeno, alquilo, acilo o un grupo protector de nitrógeno adecuado, R' y R'' son hidrógeno o un sustituyente, cada uno de los cuales se selecciona independientemente en cada aparición, y t es un número entero tal

5 como 1, 2, 3, 4 ó 5. De manera ilustrativa, R¹ y/o R² corresponden independientemente a, pero no se limitan a, hidrógeno o las cadenas laterales presentes en aminoácidos que se producen de manera natural, tales como metilo, bencilo, hidroximetilo, tiometilo, carboxilo, carboxilmetilo, guanidinopropilo, y similares, y derivados y derivados protegidos de los mismos. La fórmula descrita anteriormente incluye todas las variaciones estereoisoméricas. Por ejemplo, el aminoácido puede seleccionarse de asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, lisina, glutamina, arginina, serina, ornitina, treonina, y similares. En otro aspecto ilustrativo del producto intermedio de conjugado de administración de fármacos de unión a receptor de vitamina descrito en el presente documento, el fármaco, o un análogo o un derivado del mismo, incluye un nucleófilo de alquiltiol.

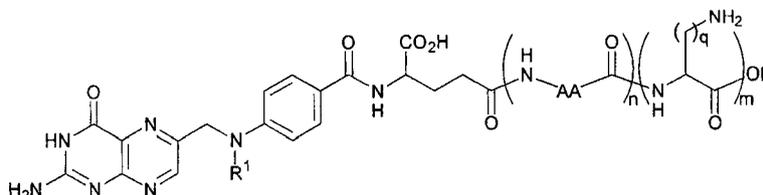
10 Cada uno de los productos intermedios anteriores puede prepararse usando rutas de síntesis convencionales. Se describen condiciones de reacción y rutas de síntesis adicionales en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US 2005/0002942 A1 y la publicación internacional PCT n.º WO 2006/012527.

15 Las realizaciones ilustrativas anteriores pretenden ser ilustrativas y no debe interpretarse o considerarse que limitan de ningún modo la invención tal como se describe en el presente documento y que se define mediante las reivindicaciones. Por ejemplo, compuestos representados generalmente por el siguiente producto intermedio de conjugado de fármaco-vitamina ilustrativo van a incluirse en la invención tal como se describe en el presente documento



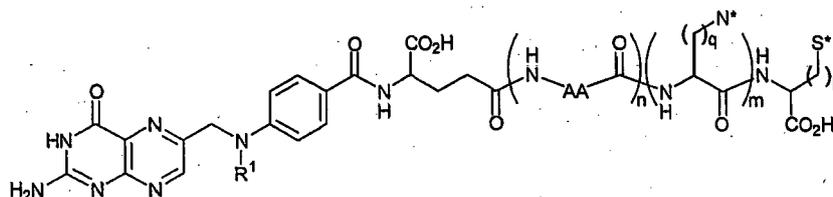
20 en la que R¹ y R² son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo, tal como metilo; y I_H es un heteroátomo, tal como oxígeno, azufre, nitrógeno sustituido opcionalmente o nitrógeno protegido opcionalmente, y similares. Dos o más fármacos, y opcionalmente ligandos de unión a receptor adicionales, tales como folatos y análogos y derivados de los mismos, pueden unirse covalentemente a este producto intermedio ilustrativo en (I_H), o en otros grupos funcionales presentes, tales como el carbonilo o nitrógeno de la amida, el carboxilato de ácido o el grupo amino de la guanidina.

En otra realización, se describe que un producto intermedio de ligando de folato tiene la siguiente fórmula



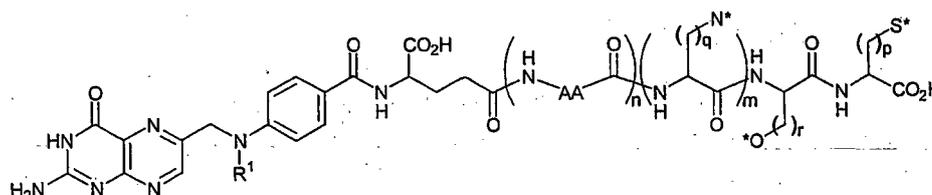
25 en la que m, n y q son números enteros que se seleccionan independientemente del intervalo de 0 a aproximadamente 8; AA es un aminoácido, el residuo R¹ es hidrógeno, alquilo o un grupo protector de nitrógeno, y se unen opcionalmente fármacos a los átomos (*). En un aspecto, AA es un residuo de aminoácido que se produce de manera natural de la configuración o bien natural o bien no natural. En otro aspecto, uno o más de AA en el fragmento (-NH-AA-C(O)-)_n es un residuo de aminoácido hidrófilo. En otro aspecto, uno o más de AA en el fragmento (-NH-AA-C(O)-)_n es un residuo de Asp y/o Arg. En otro aspecto, el número entero o es 1 o mayor. En otro aspecto, el número entero m es 2 o mayor. Los fármacos, o análogos o derivados de los mismos, y opcionalmente grupos de unión adicionales y ligandos de unión a receptor adicionales pueden conectarse a la fórmula anterior en las cadenas laterales NH libres de los fragmentos de ácido 2,□-diaminoalcanoico, o en el carboxilato terminal tal como se indica mediante las valencias libres en el mismo.

En otra realización, se describe un producto intermedio de ligando de folato que tiene la siguiente fórmula



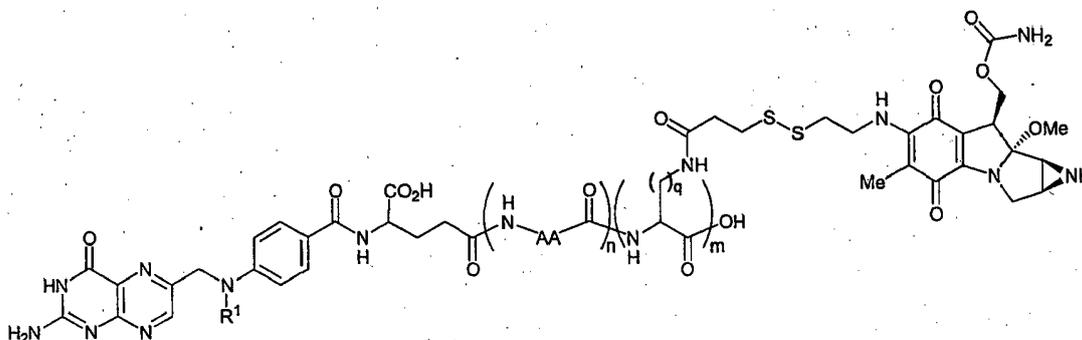
5 en la que m, n, q y p son números enteros que se seleccionan independientemente del intervalo de 0 a aproximadamente 8; AA es un residuo de aminoácido, R¹ es hidrógeno, alquilo o un grupo protector de nitrógeno, y se unen opcionalmente fármacos a los átomos (*). En un aspecto, AA es un residuo de aminoácido que se produce de manera natural de configuración o bien natural o bien no natural. En otro aspecto, uno o más de AA en el fragmento (-NH-AA-C(O)-)_n es un residuo de aminoácido hidrófilo. En otro aspecto, uno o más de AA en el fragmento (-NH-AA-C(O)-)_n es un residuo de Asp y/o Arg. En otro aspecto, los números enteros o y p son 1 o mayor. En otro aspecto, el número entero m es 2 o mayor. Los fármacos, o análogos o derivados de los mismos, y opcionalmente grupos de unión adicionales y ligandos de unión a receptor adicionales pueden conectarse a la fórmula anterior en las cadenas laterales NH libres de los fragmentos de ácido 2,□-diaminoalcanoico, en los grupos cisteiniltiol, o en el carboxilato terminal, tal como se indica mediante las valencias libres en el mismo.

En otra realización, se describe un producto intermedio de ligando de folato que tiene la siguiente fórmula



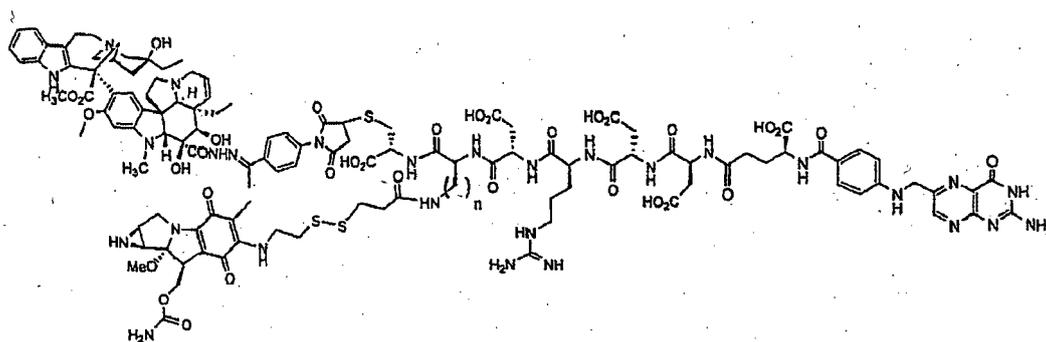
15 en la que m, n, q, p y r son números enteros que se seleccionan independientemente del intervalo de 0 a aproximadamente 8; AA es un residuo de aminoácido, R¹ es hidrógeno, alquilo o un grupo protector de nitrógeno, y se unen opcionalmente fármacos a los átomos (*). En un aspecto, AA es un residuo de aminoácido que se produce de manera natural de configuración o bien natural o bien no natural. En otro aspecto, uno o más de AA en el fragmento (-NH-AA-C(O)-)_n es un residuo de aminoácido hidrófilo. En otro aspecto, uno o más de AA en el fragmento (-NH-AA-C(O)-)_n es un residuo de Asp y/o Arg. En otro aspecto, los números enteros o, p y r son 1 o mayor. En otro aspecto, el número entero m es 2 o mayor. Los fármacos, o análogos o derivados de los mismos, y opcionalmente grupos de unión adicionales y ligandos de unión a receptor adicionales pueden conectarse a la fórmula anterior en las cadenas laterales NH libres de los fragmentos de ácido 2,□-diaminoalcanoico, en los grupos cisteiniltiol, en los grupos serinilhidroxilo o en el carboxilato terminal, tal como se indica mediante las valencias libres en el mismo.

En otra realización, se describe un producto intermedio de ligando de folato que incluye mitomicina como uno de los fármacos y que tiene la siguiente fórmula

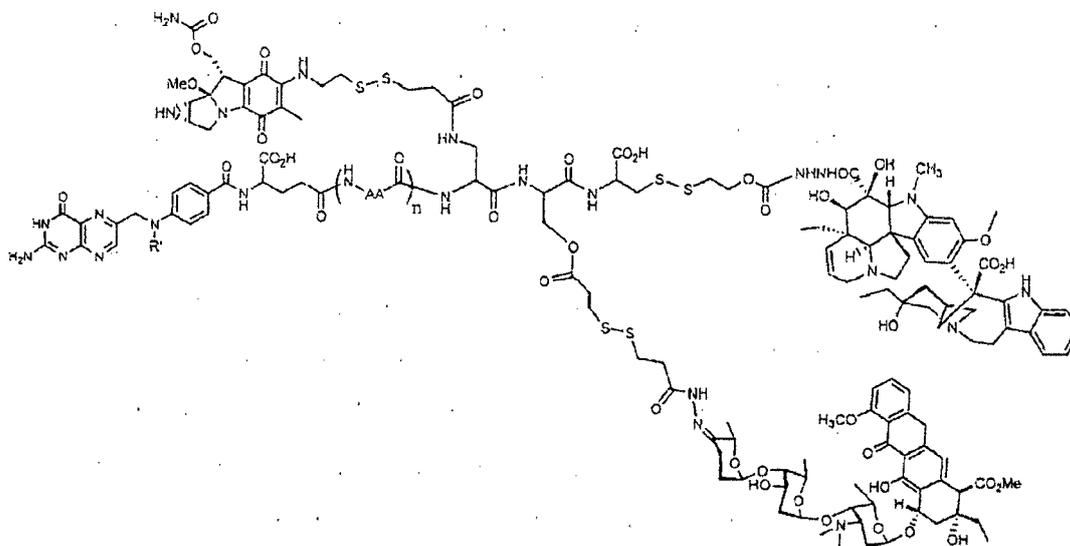


25 en la que m, n y q son números enteros que se seleccionan independientemente del intervalo de 0 a aproximadamente 8; y AA es un residuo de aminoácido. En un aspecto, AA es un residuo de aminoácido que se produce de manera natural de configuración o bien natural o bien no natural. En otro aspecto, uno o más de AA en el fragmento (-NH-AA-C(O)-)_n es un residuo de aminoácido hidrófilo. En otro aspecto, uno o más de AA en el fragmento (-NH-AA-C(O)-)_n es un residuo de Asp y/o Arg. En otro aspecto, el número entero o es 1 o mayor. En otro aspecto, el número entero m es 2 o mayor. Los fármacos, o análogos o derivados de los mismos, y opcionalmente grupos de unión adicionales y ligandos de unión a receptor adicionales pueden conectarse a la fórmula anterior en las cadenas laterales NH libres adicionales de los fragmentos de ácido 2,□-diaminoalcanoico, o en el carboxilato terminal, tal como se indica mediante las valencias libres en el mismo.

35 En otra realización, se describe un conjugado de múltiples fármacos de ligando de folato que incluye una mitomicina y un alcaloide de la vinca y que tiene la siguiente fórmula



En otra realización, se describe un conjugado de múltiples fármacos de ligando de folato que incluye una mitomicina, una aclamicina y un alcaloide de la vinca y que tiene la siguiente fórmula



- 5 En otra realización, se describe una composición farmacéutica. La composición farmacéutica comprende un conjugado de administración de fármacos descrito en el presente documento en combinación con un portador, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable para el mismo.

- 10 Las poblaciones de células patógenas que pueden tratarse usando los métodos descritos en el presente documento incluyen, pero no se limitan a cánceres, tales como cánceres epiteliales del ovario, glándula mamaria, colon, pulmón, nariz, garganta, cerebro, y otros tipos de células tumorales, agentes infecciosos, macrófagos activados, monocitos activados, y similares. Los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento pueden usarse tanto para aplicaciones veterinarias como de medicina clínica en seres humanos. Por tanto, el animal huésped que alberga la población de células patógenas y se trata con los conjugados de administración de fármacos puede ser un ser humano o, en el caso de aplicaciones veterinarias, puede ser un animal de laboratorio, agrícola, doméstico o salvaje.
- 15 Los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento pueden administrarse a animales huésped incluyendo, pero sin limitarse a, seres humanos, animales de laboratorio tales como roedores (por ejemplo, ratones, ratas, hámsteres, etc.), conejos, monos, chimpancés, animales domésticos tales como perros, gatos y conejos, animales agrícolas tales como vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, y animales salvajes en cautividad tales como osos, osos pandas, leones, tigres, leopardos, elefantes, cebras, jirafas, gorilas, delfines y ballenas.
- 20 Los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento pueden usarse para tratar una variedad de patologías y células patógenas en animales huésped. Tal como se usa en el presente documento, "células patógenas" significa células cancerosas, agentes infecciosos tales como bacteria y virus, células infectadas con bacterias o virus, macrófagos activados que pueden provocar un estado patológico y cualquier otro tipo células patógenas que exprese de manera única, exprese preferentemente o sobreexpresen receptores de ligando, tales como receptores de vitamina o receptores que se unen a análogos o derivados de vitaminas. Las células patógenas también pueden incluir cualquier célula que provoque un estado patológico para el que el tratamiento con los conjugados de administración de fármacos dé como resultado una reducción de los síntomas de la enfermedad. Las células patógenas también pueden ser células huésped que son patógenas en algunas circunstancias, tales como células del sistema

inmunitario que son responsables de la enfermedad de injerto contra huésped, pero que no son patógenas en otras circunstancias.

Por tanto, la población de células patógenas puede ser una población de células cancerosas que son tumorigénicas, incluyendo tumores benignos y tumores malignos, o pueden ser no tumorigénicas. La población de células cancerosas puede surgir espontáneamente o mediante procesos tales como mutaciones presentes en la línea germinal del animal huésped o mutaciones somáticas, o puede inducirse químicamente, viralmente o por radiación. La invención puede utilizarse para tratar cánceres tales como carcinomas, sarcomas, linfomas, enfermedad de Hodgkin, melanomas, mesoteliomas, linfoma de Burkitt, carcinomas nasofaríngeos, leucemias y mielomas. La población de células cancerosas puede incluir, pero no se limita a, cáncer oral, de tiroides, endocrino, de piel, gástrico, esofágico, laríngeo, pancreático, de colon, de vejiga, de huesos, de ovario, del cuello del útero, uterino, de mama, testicular, de próstata, rectal, de riñón, de hígado y de pulmón.

En ejemplos en los que la población de células patógenas es una población de células cancerosas, el efecto de la administración del conjugado de administración de fármacos es una respuesta terapéutica medida mediante la reducción o eliminación de la masa tumoral o de la inhibición de la proliferación de células tumorales. En el caso de un tumor, la eliminación puede ser una eliminación de la proliferación de células tumorales. En el caso de un tumor, la eliminación puede ser una eliminación de células del tumor primario o de células que han experimentado metástasis o están en el proceso de disociarse del tumor primario. También se contempla un tratamiento profiláctico con el conjugado de administración de fármacos para prevenir el retorno de un tumor tras su eliminación mediante cualquier enfoque terapéutico incluyendo eliminación quirúrgica del tumor, radioterapia, quimioterapia o terapia biológica. El tratamiento profiláctico puede ser un tratamiento inicial con el conjugado de administración de fármacos, tal como tratamiento en un régimen diario de dosis múltiple, y/o puede ser un tratamiento adicional o una serie de tratamientos tras un intervalo de días o meses tras el/los tratamiento(s) inicial(es). Por consiguiente, la eliminación de cualquiera de las poblaciones de células patógenas descritas anteriormente incluye la reducción en el número de células patógenas, la inhibición de la proliferación de células patógenas, un tratamiento profiláctico que previene el retorno de células patógenas; o un tratamiento de células patógenas que da como resultado una reducción de los síntomas de la enfermedad.

En casos en los que están eliminándose células cancerosas, el método descrito en el presente documento puede usarse en combinación con eliminación quirúrgica de un tumor, radioterapia, quimioterapia o terapias biológicas tales como otras inmunoterapias incluyendo, pero sin limitarse a, terapia con anticuerpos monoclonales, tratamiento con agentes inmunomoduladores, transferencia adoptiva de células efectoras inmunitarias, tratamiento con factores de crecimiento hematopoyéticos, citocinas y vacunación.

El método descrito en el presente documento puede aplicarse también a poblaciones de células patógenas que provocan una variedad de enfermedades infecciosas. Por ejemplo, la presente invención puede aplicarse a poblaciones de células patógenas tales como bacterias, hongos, incluyendo levaduras, virus, células infectadas con virus, micoplasmas y parásitos. Organismos infecciosos que pueden tratarse con los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento son cualquier organismo infeccioso reconocido en la técnica que provoque patógenesis en un animal, incluyendo organismos tales como bacterias que son cocos o bacilos Gram-negativos o Gram-positivos. Por ejemplo, especies de *Proteus*, especies de *Klebsiella*, especies de *Providencia*, especies de *Yersinia*, especies de *Erwinia*, especies de *Enterobacter*, especies de *Salmonella*, especies de *Serratia*, especies de *Aerobacter*, especies de *Escherichia*, especies de *Pseudomonas*, especies de *Shigella*, especies de *Vibrio*, especies de *Aeromonas*, especies de *Campylobacter*, especies de *Streptococcus*, especies de *Staphylococcus*, especies de *Lactobacillus*, especies de *Micrococcus*, especies de *Moraxella*, especies de *Bacillus*, especies de *Clostridium*, especies de *Corynebacterium*, especies de *Eberthella*, especies de *Micrococcus*, especies de *Mycobacterium*, especies de *Neisseria*, especies de *Haemophilus*, especies de *Bacteroides*, especies de *Listeria*, especies de *Erysipelothrix*, especies de *Acinetobacter*, especies de *Brucella*, especies de *Pasteurella*, especies de *Vibrio*, especies de *Flavobacterium*, especies de *Fusobacterium*, especies de *Streptobacillus*, especies de *Calymmatobacterium*, especies de *Legionella*, especies de *Treponema*, especies de *Borrelia*, especies de *Leptospira*, especies de *Actinomyces*, especies de *Nocardia*; especies de *Rickettsia*, y cualquier otra especie bacteriana que provoque una enfermedad en un animal huésped puede tratarse con los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento.

De particular interés son bacterias que son resistentes a antibióticos tales como especies de *Staphylococcus* y especies de *Streptococcus* resistentes a antibióticos, o bacterias que son susceptibles a antibióticos; pero que provocan infecciones recurrentes tratadas con antibióticos de modo que desarrollan finalmente organismos resistentes. Las bacterias que son susceptibles a antibióticos, pero que provocan infecciones recurrentes tratadas con antibióticos de modo que desarrollan finalmente organismos resistentes, pueden tratarse con los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento en ausencia de antibióticos, o en combinación con una dosis de antibióticos inferior a la que se administraría normalmente a un animal huésped, para evitar el desarrollo de estas cepas bacterianas resistentes a antibióticos.

5 Enfermedades provocadas por virus, tales como virus de ADN y ARN, también pueden tratarse con los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento. Tales virus incluyen, pero no se limitan a, virus de ADN tales como virus del papiloma, parvovirus, adenovirus, virus del herpes y virus vaccinia, y virus de ARN, tales como arenavirus, coronavirus, rinovirus, virus sincitiales respiratorios, virus influenza, picornavirus, paramixovirus, reovirus, retrovirus, lentivirus y rabdovirus.

10 Los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento también pueden usarse para tratar enfermedades provocadas por cualquier hongo, incluyendo levaduras, especies de micoplasmas, parásitos u otros organismos infecciosos que provocan enfermedad en animales. Los ejemplos de hongos que pueden tratarse con el método y los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento incluyen hongos que crecen como mohos o son de tipo levadura, incluyendo, por ejemplo, hongos que provocan enfermedades tales como tiña, histoplasmosis, blastomicosis, aspergilosis, criptococosis, esporotricosis, coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis, mucormicosis, cromoblastomicosis, dermatofitosis, prototecosis, fusariosis, pitiriasis, micetoma, paracoccidioidomicosis, feohifomicosis, pseudoaloesqueriasis, esporotricosis, tricosporosis, infección por *Pneumocystis* y candidiasis.

15 Los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento pueden usarse también para tratar infecciones parásitas incluyendo, pero sin limitarse a, infecciones provocadas por cestodos, tales como especies de *Taenia*, *Hymenolepsis*, *Diphyllobothrium* y *Echinococcus*, trematodos, tales como especies de *Fasciolopsis*, *Heterophyes*, *Metagonimus*, *Clonorchis*, *Fasciola*, *Paragonimus* y *Schistosoma*, nematelmintos, tales como especies de *Enterobius*, *Trichuris*, *Ascaris*, *Ancylostoma*, *Necator*, *Strongyloides*, *Trichinella*, *Wuchereria*, *Brugia*, *Loa Onchocerca* y *Dracunculus*, amebas, tales como especies de *Naegleria* y *Acanthamoeba*, y protozoos, tales como especies de *Plasmodium*, *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Toxoplasma*, *Entamoeba*, *Giardia*, *Isospora*, *Cryptosporidium* y *Enterocytozoon*.

25 Las células patógenas a las que se dirigen los conjugados de administración de fármacos pueden ser también células que albergan patógenos endógenos, tales como células infectadas con virus, micoplasmas, parásitos o bacterias, si estas células expresan preferentemente receptores de ligando, tales como receptores para vitaminas, o análogos o derivados de las mismas.

30 En una realización, los conjugados de administración de fármacos pueden internalizarse en las células patógenas seleccionadas como diana tras la unión del ligando a un receptor, transportador u otra proteína presentada en la superficie que se une específicamente al ligando y que se expresa preferentemente sobre las células patógenas. Tal internalización puede producirse, por ejemplo, a través de endocitosis mediada por receptor. Si el conjugado de administración de fármacos contiene un grupo de unión liberable, el ligando y el compuesto de la vinca pueden disociarse intracelularmente y la vinca puede actuar sobre su diana intracelular.

35 En otro ejemplo ilustrativo, el ligando del conjugado de administración de fármacos puede unirse a la célula patógena colocando el compuesto de la vinca en asociación estrecha con la superficie de la célula patógena. El compuesto de la vinca puede liberarse entonces mediante escisión del grupo de unión liberable. Por ejemplo, el compuesto de la vinca puede liberarse mediante una proteína disulfuro isomerasa si el grupo de unión liberable es un grupo disulfuro. El compuesto de la vinca puede captarse entonces por la célula patógena a la que está unido el conjugado de administración de fármacos de unión a receptor, o el compuesto de la vinca puede captarse por otra célula patógena en proximidad estrecha a la misma. Alternativamente, el compuesto de la vinca podría liberarse mediante una proteína disulfuro isomerasa dentro de la célula cuando el grupo de unión liberable es un grupo disulfuro. El compuesto de la vinca también puede liberarse mediante un mecanismo hidrolítico, tal como hidrólisis catalizada por ácido, tal como se describió anteriormente para determinados mecanismos de beta eliminación, o mediante una escisión asistida de manera anquimérica a través de un mecanismo que produce ión oxonio o ión lactonio. La selección del grupo o los grupos de unión liberables establecerá el mecanismo mediante el cual el compuesto de la vinca se libera del conjugado. Se aprecia que una selección de este tipo puede definirse previamente mediante las condiciones en las que se usará el conjugado de administración de fármacos.

45 En otro ejemplo ilustrativo, en el que el grupo de unión no comprende un grupo de unión liberable, el resto de ligando del conjugado de administración de fármacos puede unirse a la célula patógena colocando el compuesto de la vinca sobre la superficie de la célula patógena para seleccionar como diana la célula patógena para el ataque por otras moléculas que pueden unirse al compuesto de la vinca. Alternativamente, en esta realización, los conjugados de administración de fármacos pueden internalizarse en las células seleccionadas como diana tras la unión, y el resto de ligando y el compuesto de la vinca pueden permanecer asociados intracelularmente presentando el compuesto de la vinca sus efectos sin disociación del resto de ligando.

55 Todavía en otro ejemplo, o en combinación con las realizaciones descritas anteriormente, cuando el conjugado de administración de fármacos se une a un receptor de vitamina u otro receptor de ligando, el conjugado puede unirse a receptores de vitamina solubles presentes en el suero o a proteínas séricas, tales como albúmina, dando como resultado una circulación prolongada de los conjugados en relación con el compuesto de la vinca no conjugado, y un

aumento de la actividad de los conjugados hacia la población de células patógenas en relación con el compuesto de la vinca no conjugado.

5 El sitio de unión para el ligando, tal como una vitamina, puede incluir receptores para el ligando que pueden unirse específicamente al ligando en el que el receptor u otra proteína se expresa de manera única, se sobreexpresa o se expresa preferentemente por una población de células patógenas. Una proteína presentada en la superficie expresada de manera única, sobreexpresada o expresada preferentemente por las células patógenas es normalmente un receptor que o bien no está presente o bien está presente a concentraciones inferiores sobre células no patógenas proporcionando un medio para la eliminación selectiva de las células patógenas. Los conjugados de administración de fármacos pueden ser capaces de unirse con alta afinidad a receptores sobre células cancerosas u otros tipos de células patógenas. La unión de alta afinidad puede ser inherente al ligando o la afinidad de unión puede potenciarse mediante el uso de un ligando modificado químicamente.

10 Los conjugados de administración de fármacos descritos en el presente documento pueden administrarse en una terapia de combinación con cualquier otro fármaco conocido, esté dirigido o no el fármaco adicional. Los fármacos adicionales ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, péptidos, oligopéptidos, oligopéptidos retroinversos, proteínas, análogos de proteína en los que al menos un enlace no peptídico reemplaza a un enlace peptídico, apoproteínas, glicoproteínas, enzimas, coenzimas, inhibidores de enzimas, aminoácidos y sus derivados, receptores y otras proteínas de membrana, antígenos y anticuerpos frente a los mismos, haptenos y anticuerpos frente a los mismos, hormonas, lípidos, fosfolípidos, liposomas, toxinas, antibióticos, analgésicos, broncodilatadores, beta-bloqueantes, agentes antimicrobianos, agentes antihipertensores, agentes cardiovasculares incluyendo antiarrítmicos, glicósidos cardiacos, antianginosos, vasodilatadores, agentes del sistema nervioso central incluyendo estimulantes, psicótropos, antimaníacos y depresores, agentes antivirales, antihistamínicos, fármacos contra el cáncer incluyendo agentes quimioterápicos, tranquilizantes, antidepresivos, antagonistas de H-2, anticonvulsivos, antináuseas, prostaglandinas y análogos de prostaglandinas, relajantes musculares, sustancias antiinflamatorias, estimulantes, descongestivos, antieméticos, diuréticos, antiespasmódicos, antiasmáticos, agentes antiparkinsonianos, expectorantes, supresores de la tos, mucolíticos y aditivos minerales y nutricionales.

15 En otro aspecto ilustrativo, el fármaco adicional puede seleccionarse de un compuesto que puede estimular una respuesta inmunitaria endógena. Los compuestos adecuados incluyen, pero no se limitan a, citocinas o factores de crecimiento de células inmunitarias tales como interleucinas 1-18, factor de células madre, FGF básico, EGF, G-CSF, GM-CSF, ligando FLK-2, HILDA, MIP-1 α , TGF- β , TGF- β , M-CSF, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , CD23 soluble, LIF, y combinaciones de los mismos.

20 Pueden usarse combinaciones terapéuticamente eficaces de estos factores inmunoestimuladores. En una realización, por ejemplo, pueden usarse cantidades terapéuticamente eficaces de IL-2, por ejemplo, en cantidades que oscilan entre aproximadamente 0,1 MUI/m²/dosis/día y aproximadamente 15 MUI/m²/dosis/día en un régimen diario de dosis múltiple, e IFN- α , por ejemplo, en cantidades que oscilan entre aproximadamente 0,1 MUI/m²/dosis/día y aproximadamente 7,5 MUI/m²/dosis/día en un régimen diario de dosis múltiples, junto con los conjugados de administración de fármacos para eliminar, reducir o neutralizar células patógenas en un animal huésped que alberga las células patógenas (MUI = millón de unidades internacionales; m² = área de superficie corporal aproximada de un humano promedio). En otra realización pueden usarse IL-12 e IFN- α en las cantidades terapéuticamente eficaces descritas anteriormente para interleucinas e interferones, y en aún otra realización pueden usarse IL-15 e IFN- α en las cantidades terapéuticamente eficaces descritas anteriormente para interleucinas e interferones. En una realización alternativa pueden usarse IL-2, IFN- α o IFN- γ , y GM-CSF en combinación en las cantidades terapéuticamente eficaces descritas anteriormente. Puede usarse también cualquier otra combinación eficaz de citocinas incluyendo combinaciones de otras interleucinas e interferones y factores estimulantes de colonias.

25 Además, el fármaco adicional puede ser cualquier fármaco conocido en la técnica que sea citotóxico o citostático, potencie la permeabilidad del tumor, inhiba la proliferación de células tumorales, promueva la apoptosis, disminuya la actividad antiapoptótica en células dianas, se use para tratar enfermedades provocadas por agentes infecciosos, potencie una respuesta inmunitaria endógena dirigida a la células patógenas o sea útil para tratar un estado patológico provocado por cualquier tipo de célula patógena. Los fármacos adicionales adecuados a modo de ejemplo incluyen adrenocorticoides y corticosteroides, agentes alquilantes, antiandrógenos, antiestrógenos, andrógenos, aclamicina y derivados de aclamicina, estrógenos, antimetabolitos tales como arabinósido de citosina, análogos de purina, análogos de pirimidina y metotrexato, busulfano, carboplatino, clorambucilo, cisplatino y otros compuestos de platino, tamoxifeno, taxol, paclitaxel, derivados de paclitaxel, Taxotere[®], ciclofosfamida, daunomicina, rizoxina, toxina T2, alcaloides vegetales, prednisona, hidroxiaurea, tenipósido, mitomicinas, discodermolidas, inhibidores de microtúbulos distintos de vinca, eptilonas, tubulisina, ciclopropilbenz[e]indolona, seco-ciclopropilbenz[e]indolona, O-Ac-seco-ciclopropilbenz[e]indolona, bleomicina y cualquier otro antibiótico, mostazas de nitrógeno, nitrosureas, colchicina, derivados de colchicina, alocolchicina, tiocolchicina, tritilcisteína, halicondrina B, dolastatinas tales como dolastatina 10, amanitinas tales como α -amanitina, camptotecina, irinotecán y otros derivados de camptotecina de los mismos, geldanamicina y derivados de geldanamicina, estramustina, nocodazol, MAP4, colcemida, vindesina, vinblastina,

- vincristina, catarantina, vindolina, leurosina, vinorelbina, imidocarb, sibutramina, toltrazuril, ácido vinblastinoico, maitansinas y análogos y derivados de las mismas, gemcitabina, agentes inflamatorios y proinflamatorios, inhibidores de la transducción de señales de péptidos y peptidomiméticos, y cualquier otro fármaco o toxina reconocido en la técnica. Otros fármacos que pueden usarse en terapias de combinación incluyen penicilinas, cefalosporinas, vancomicina, eritromicina, clindamicina, rifampina, cloranfenicol, antibióticos de aminoglucósido, gentamicina, anfotericina B, aciclovir, trifluridina, ganciclovir, zidovudina, amantadina, ribavirina, y cualquier otro compuesto antimicrobiano reconocido en la técnica. También pueden usarse análogos o derivados de cualquiera de los fármacos adicionales descritos anteriormente en terapias de combinación.
- En otra realización ilustrativa, se proporcionan composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas comprenden una cantidad de un conjugado de administración de fármacos eficaz para eliminar una población de células patógenas en un animal huésped cuando se administran en una o más dosis. El conjugado de administración de fármacos se administra preferiblemente al animal huésped por vía parenteral, por ejemplo, por vía intradérmica, por vía subcutánea, por vía intramuscular, por vía intraperitoneal, por vía intravenosa o por vía intratecal. Alternativamente, el conjugado de administración de fármacos puede administrarse al animal huésped mediante otros procedimientos útiles médicamente, tales como por vía oral, y puede usarse cualquier dosis eficaz y forma farmacéutica terapéutica adecuada, incluyendo formas farmacéuticas de liberación prolongada. Los excipientes a modo de ejemplo útiles para formas farmacéuticas orales incluyen, pero no se limitan a, almidón de maíz, gelatina, lactosa, estearato de magnesio, bicarbonato de sodio, derivados de celulosa y glicolato sódico de almidón.
- Los ejemplos de formas farmacéuticas parenterales incluyen disoluciones acuosas del agente activo, en una solución salina isotónica, glucosa al 5% u otros portadores líquidos farmacéuticamente aceptables bien conocidos tales como alcoholes líquidos, glicoles, ésteres y amidas. La forma farmacéutica parenteral según esta invención puede estar en forma de un liofilizado reconstituible que comprende la dosis del conjugado de administración de fármacos. En un aspecto de la presente realización, puede administrarse cualquiera de varias formas farmacéuticas de liberación prolongada conocidas en la técnica tales como, por ejemplo, las matrices de hidratos de carbono biodegradables descritas en las patentes estadounidenses n.ºs 4.713.249; 5.266.333; y 5.417.982 o, alternativamente, puede usarse una bomba lenta (por ejemplo, una bomba osmótica).
- El fármaco adicional en la terapia de combinación puede administrarse al animal huésped antes de, después de o al mismo tiempo que los conjugados de administración de fármacos y el fármaco adicional puede administrarse como parte de la misma composición que contiene el conjugado de administración de fármacos o como parte de una composición diferente que el conjugado de administración de fármacos. Puede usarse cualquiera de tales terapias de combinación a una dosis eficaz del fármaco adicional. En otro aspecto ilustrativo, puede usarse más de un tipo de conjugado de administración de fármacos. Por ejemplo, el animal huésped puede tratarse en un protocolo de dosificación conjunta con conjugados con diferentes ligandos tales como, por ejemplo, conjugados de folato-vinca y vitamina B₁₂-vinca en combinación, y similares. En otra realización ilustrativa, el animal huésped puede tratarse con conjugados que comprenden más de un ligando tal como, por ejemplo, múltiples folatos o múltiples moléculas de vitamina B₁₂ en un conjugado, o combinaciones de ligandos en el mismo conjugado tal como un compuesto de la vinca conjugado con ligandos de tanto folato como vitamina B₁₂. Además, pueden usarse conjugados de administración de fármacos con diferentes tipos de compuestos de la vinca en conjugados de administración de fármacos separados.
- La dosificación diaria unitaria del conjugado de administración de fármacos puede variar significativamente dependiendo del estado del huésped, el estado patológico que está tratándose, el peso molecular del conjugado, su vía de administración y distribución tisular, y la posibilidad de uso conjunto de otros tratamientos terapéuticos tales como radioterapia o fármacos adicionales en terapias de combinación. La cantidad eficaz que va a administrarse a un animal huésped se basa en el área de superficie corporal, el peso y la evaluación por el médico del estado del paciente. Las dosis eficaces pueden oscilar, por ejemplo, entre aproximadamente 1 ng/kg y aproximadamente 1 mg/kg, entre aproximadamente 1 µg/kg y aproximadamente 500 µg/kg y entre aproximadamente 1 µg/kg y aproximadamente 100 µg/kg.
- Puede usarse cualquier régimen eficaz para administrar los conjugados de administración de fármacos. Por ejemplo, los conjugados de administración de fármacos pueden administrarse como dosis únicas, o pueden dividirse y administrarse como un régimen diario de dosis múltiple. Además, puede usarse un régimen escalonado, por ejemplo, puede usarse de uno a tres días a la semana como alternativa al tratamiento diario, y para el fin de definir esta invención se considera que tal régimen diario intermitente o escalonado es equivalente al tratamiento cada día y se contempla. En una realización ilustrativa el animal huésped se trata con múltiples inyecciones del conjugado de administración de fármacos para eliminar la población de células patógenas. En una realización, al huésped se le inyecta múltiples veces (preferiblemente de aproximadamente 2 hasta aproximadamente 50 veces) el conjugado de administración de fármacos, por ejemplo, a intervalos de 12-72 horas o a intervalos de 48-72 horas. Pueden administrarse inyecciones adicionales del conjugado de administración de fármacos al animal huésped a un intervalo de días o meses tras la(s) inyección/inyecciones inicial(es) y las inyecciones adicionales pueden prevenir la reaparición del estado patológico provocado por las células patógenas.

En un aspecto ilustrativo, las vitaminas, o análogos o derivados de las mismas, que pueden usarse en los conjugados de administración de fármacos incluyen las que se unen a receptores expresados específicamente sobre macrófagos activados, tales como el receptor de folato que se une a folato, o un análogo o derivado del mismo. Los conjugados unidos a folato, por ejemplo, puede usarse para destruir o suprimir la actividad de macrófagos activados que provocan estados patológicos en el huésped. Tales conjugados que seleccionan como diana macrófagos, cuando se administran a un animal huésped que padece un estado patológico mediado por macrófagos activados, funcionan concentrando y asociando los compuestos de la vinca conjugados en la población de macrófagos activados para destruir los macrófagos activados o suprimir la función de los macrófagos. La eliminación, reducción o desactivación de la población de macrófagos activados funciona deteniendo o reduciendo la patogénesis mediada por macrófagos activados característica del estado patológico que está tratándose. Las enfermedades a modo de ejemplo que se sabe que están mediadas por macrófagos activados incluyen artritis reumatoide, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, psoriasis, osteomielitis, esclerosis múltiples, aterosclerosis, fibrosis pulmonar, sarcoidosis, esclerosis sistémica, rechazo de trasplante de órgano (EICH) e inflamaciones crónicas. La administración del conjugado de administración de fármacos continúa normalmente hasta que los síntomas del estado patológico se reducen o se eliminan.

Los conjugados de administración de fármacos administrados para destruir macrófagos activados o suprimir la función de macrófagos activados pueden administrarse por vía parenteral al animal huésped, por ejemplo, por vía intradérmica, por vía subcutánea, por vía intramuscular, por vía intraperitoneal o por vía intravenosa en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, los conjugados de administración de fármacos pueden administrarse al animal huésped mediante otros procedimientos útiles médicamente y pueden administrarse dosis eficaces en formas farmacéuticas de liberación prolongada o convencional. El método terapéutico puede usarse solo o en combinación con otros métodos terapéuticos reconocidos para el tratamiento de estados patológicos mediados por macrófagos activados.

Los siguientes ejemplos ilustrativos mostrados a modo de ejemplo no pretenden ser y no deben interpretarse como limitativos. Por ejemplo, en cada compuesto presentado en el presente documento, la estereoquímica de aminoácidos usados en la formación del grupo de unión puede seleccionarse opcionalmente de la configuración L natural o la configuración D no natural. Cada ejemplo se caracterizó mediante espectroscopía de RMN, EM y/o UV, y/o HPLC tal como se indica; se indican señales características seleccionadas según sea apropiado.

EJEMPLOS DE MÉTODO

EJEMPLO DE MÉTODO 1. Inhibición del crecimiento tumoral en ratones. Se evaluó la actividad antitumoral de los compuestos descritos en el presente documento, cuando se administran por vía intravenosa (i.v.) a animales que llevan tumores, en ratones Balb/c que llevan tumores M109 subcutáneos. Aproximadamente 11 días tras la inoculación de tumores en la hipodermis de la axila derecha con 1×10^6 células M109 (volumen tumoral promedio a $t_0 = 60 \text{ mm}^3$), se les inyectó a los ratones (5/grupo) por vía i.v. tres veces a la semana (TIW), durante 3 semanas 1500 nmol/kg del conjugado de administración de fármacos o un volumen de dosis equivalente de PBS (control). Se midió el crecimiento tumoral usando calibres a intervalos de 2 días o de 3 días en cada grupo de tratamiento. Se calcularon los volúmenes tumorales usando la ecuación $V = a \times b^2/2$, en la que "a" es la longitud del tumor y "b" es la anchura expresada en milímetros.

EJEMPLO DE MÉTODO 2. Inhibición del crecimiento tumoral en ratones. Se evaluó la actividad antitumoral de los compuestos descritos en el presente documento, cuando se administran por vía intravenosa (i.v.) a animales que llevan tumores, en ratones nu/nu que llevan tumores KB subcutáneos. Aproximadamente 8 días tras la inoculación de tumores en la hipodermis de la axila derecha con 1×10^6 células KB (volumen tumoral promedio a $t_0 = 50\text{-}100 \text{ mm}^3$), se les inyectó a los ratones (5/grupo) por vía i.v. tres veces a la semana (TIW), durante 3 semanas 5 $\mu\text{mol/kg}$ del conjugado de administración de fármacos o un volumen de dosis equivalente de PBS (control). Se midió el crecimiento tumoral usando calibres a intervalos de 2 días o de 3 días en cada grupo de tratamiento. Se calcularon los volúmenes tumorales usando la ecuación $V = a \times b^2/2$, en la que "a" es la longitud del tumor y "b" es la anchura expresada en milímetros.

EJEMPLO DE MÉTODO 3. Inhibición de la síntesis de ADN celular

Se evaluaron los compuestos descritos en el presente documento usando un ensayo de citotoxicidad *in vitro* que predice la capacidad del fármaco para inhibir el crecimiento de células KB positivas para receptor de folato. Los compuestos estaban compuestos por folato unido a un fármaco quimioterápico respectivo, tal como se prepara según los protocolos descritos en el presente documento. Se expusieron las células KB durante hasta 7 h a 37°C a las concentraciones indicadas de conjugado de folato-fármaco en ausencia o presencia de al menos un exceso de 100 veces de ácido fólico. Entonces se enjuagaron las células una vez con medio de cultivo nuevo y se incubaron en medio de cultivo nuevo durante 72 horas a 37°C. Se evaluó la viabilidad celular usando un ensayo de incorporación de ^3H -timidina.

Tal como se muestra en las figuras en el presente documento, podía medirse la citotoxicidad dependiente de la dosis, y en la mayoría de los casos, los valores de CI_{50} (concentración de conjugado de fármaco requerida para reducir la incorporación de ^3H -timidina en ADN recién sintetizado en un 50%) estaban en el intervalo nanomolar bajo. Además, se

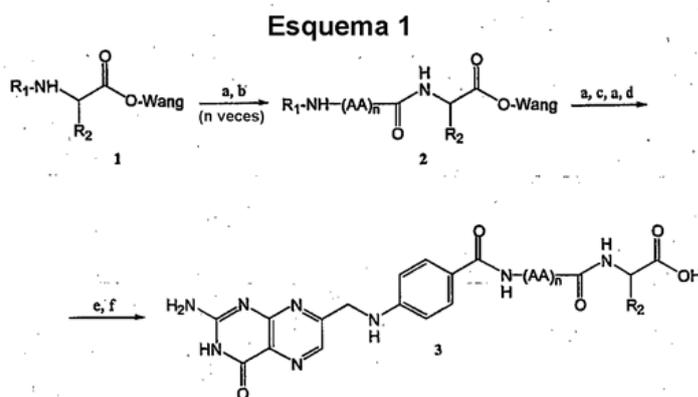
redujeron las citotoxicidades de estos conjugados en presencia de ácido fólico libre en exceso, lo que indica que la destrucción celular observada estaba mediada por la unión al receptor de folato.

5 EJEMPLO DE MÉTODO 4. Ensayo de afinidad relativa. Se determinó la afinidad por receptores de folato (FR) en relación con folato según un método descrito previamente (Westerhof, G. R., J. H. Schornagel, *et al.* (1995) Mol. Pharm. 48: 459-471) con una ligera modificación. En resumen, se sembraron en exceso células KB positivas para FR en placas de cultivo celular de 24 pocillos y se permitió que se adhiriesen al plástico durante 18 h. Se reemplazó el medio de incubación gastado en pocillos designados por RPMI libre de folato (FFRPMI) complementado con ^3H -ácido fólico 100 nM en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de artículo de prueba o ácido fólico. Se incubaron las células durante 60 min a 37°C y entonces se enjuagaron 3 veces con PBS, pH 7,4. Se añadieron quinientos microlitos de SDS al 1% en PBS, pH 7,4, por pocillo. Entonces se recogieron los lisados celulares y se añadieron a viales individuales que contenían 5 ml de cóctel de centelleo, y entonces se contaron para determinar la radiactividad. Los tubos control negativo contenían sólo el ^3H -ácido fólico en FFRPMI (sin competidor). Los tubos control positivo contenían una concentración final de ácido fólico 1 mM, y se restaron las CPM medidas en estas muestras (que representan la unión no específica del marcador) de todas las muestras. De manera notable, se definieron las afinidades relativas como la razón molar inversa de compuesto requerida para desplazar el 50% del ^3H -ácido fólico unido al FR en células KB, y se ajustó la afinidad relativa del ácido fólico por el FR a 1.

20 EJEMPLO DE MÉTODO 5. Ensayo de volumen tumoral de 4T-1. Se obtuvieron ratones de seis a siete semanas de edad (cepa Balb/c hembra) de Harlan, Inc., Indianápolis, IN. Se mantuvieron los ratones con pienso libre de folato de Harlan durante un total de tres semanas antes del comienzo de y durante este experimento. Se inocularon células tumorales 4T-1 negativas para receptor de folato (1×10^6 células por animal) en la hipodermis de la axila derecha. Aproximadamente 5 días tras la inoculación de tumores cuando el volumen tumoral promedio de 4T-1 era de $\sim 100 \text{ mm}^3$, se les inyectó a ratones (5/grupo) por vía i.v. tres veces a la semana (TIW), durante 3 semanas $3 \mu\text{mol/kg}$ de conjugado de administración de fármacos o un volumen de dosis equivalente de PBS (control). Se midió el crecimiento tumoral usando calibres a intervalos de 2 días o de 3 días en cada grupo de tratamiento. Se calcularon los volúmenes tumorales usando la ecuación $V = a \times b^2/2$, en la que "a" es la longitud del tumor y "b" es la anchura expresada en milímetros.

25 EJEMPLO DE MÉTODO 6. Determinación del peso. Se determinó el cambio de peso en porcentaje de los ratones en ratones (5 ratones/grupo) en los días indicados tras la inoculación del tumor (PTI) tal como se muestra en el gráfico para las muestras descritas en el ensayo de volumen tumoral relacionado.

30 EJEMPLO DE MÉTODO 7. Preparación general de folato-péptidos. Se preparan grupos de unión descritos en el presente documento que incluyen un péptido mediante un enfoque secuencial soportado en polímero usando métodos convencionales, tales como la estrategia de Fmoc sobre una resina de Fmoc-AA-Wang sensible a ácido. De manera ilustrativa, se prepara el fragmento de peptidilo que contiene folato Pte-Glu-(AA)_n-NH(CHR₂)CO₂H (3) mediante el método mostrado en el esquema 1 a partir de aminoácidos soportados en resina de Wang y síntesis de aminoácidos protegidos con Fmoc.



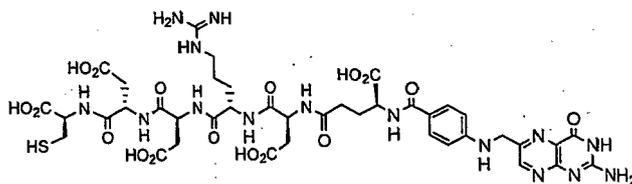
(a) piperidina al 20%/DMF; (b) Fmoc-AA-OH, PyBop, DIPEA, DMF; (c) Fmoc-Glu-O-*t*-Bu or Fmoc-Glu(γ -O-*t*-Bu)-OH, PyBop, DIPEA, DMF; (d) N^t (TFA)-Pte-OH; PyBop, DIPEA, DMSO; (e) TFAA, $(\text{CH}_2\text{SH})_2$, *i*-Pr₃SiH; (f) NH₄OH, pH 9-10.

35 En esta realización ilustrativa de los procedimientos descritos en el presente documento, R₁ es Fmoc, R₂ es la cadena lateral de aminoácido protegida apropiadamente deseada, Wang es una 2-clorotritil-resina y DIPEA es diisopropiletilamina. Se usan procedimientos de acoplamiento convencionales, tales como PyBOP y otros descritos en el presente documento o conocidos en la técnica, en los que el agente de acoplamiento se aplica de manera ilustrativa como reactivo de activación para garantizar un acoplamiento eficaz. Se eliminan los grupos protectores Fmoc tras cada

- etapa de acoplamiento en condiciones convencionales, tales como tras tratamiento con piperidina, fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF), y similares. Se usan elementos estructurales de aminoácidos protegidos apropiadamente, tales como Fmoc-Glu-OtBu, N¹⁰-TFA-Pte-OH, y similares, tal como se describe en el esquema 1, y representados en la etapa (b) por Fmoc-AA-OH. Por tanto, AA se refiere a cualquier material de partida de aminoácido, que esté protegido apropiadamente. Debe entenderse que el término aminoácido tal como se usa en el presente documento pretende referirse a cualquier reactivo que tenga tanto un grupo funcional amina como uno ácido carboxílico separados por uno o más carbonos, e incluye los aminoácidos alfa y beta que se producen de manera natural, así como derivados de aminoácido y análogos de estos aminoácidos. En particular, también pueden usarse aminoácidos que tienen cadenas laterales que están protegidas, tal como serina, treonina, cisteína, aspartato, y similares protegidos, en la síntesis de folato-péptido descrita en el presente documento. Además, pueden incluirse también aminoácidos gamma, delta u homólogos más largos como materiales de partida en la síntesis de folato-péptido descrita en el presente documento. Además, también pueden incluirse análogos de aminoácido que tienen cadenas laterales homólogas, o estructuras de ramificación alternativas, tales como norleucina, isovalina, □-metiltreonina, □-metilcisteína, □,□-dimetilcisteína, y similares, como materiales de partida en la síntesis de folato-péptido descrita en el presente documento.
- La secuencia de acoplamiento (etapas (a) y (b)) que implica aminoácidos protegidos con Fmoc (AA) de fórmula Fmoc-AA-OH se realiza "n" veces para preparar péptido en soporte sólido (2), en el que n es un número entero y puede ser igual a de 0 a aproximadamente 100. Tras la última etapa de acoplamiento, se elimina el grupo Fmoc restante (etapa (a)), y se acopla secuencialmente el péptido a un derivado de glutamato (etapa (c)), se desprotege y se acopla a ácido pterico protegido con TFA (etapa (d)). Posteriormente, se escinde el péptido del soporte polimérico tras tratamiento con ácido trifluoroacético, etanoditil y triisopropilsilano (etapa (e)). Estas condiciones de reacción dan como resultado la eliminación simultánea de los grupos protectores t-Bu, t-Boc y Trt que pueden formar parte de la cadena lateral de aminoácido protegida apropiadamente. Se elimina el grupo protector TFA tras tratamiento con una base (etapa (f)) para proporcionar el fragmento de peptidilo que contiene folato (3).

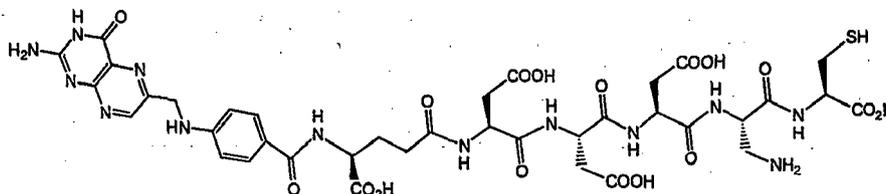
EJEMPLOS DE COMPUESTOS

EJEMPLO 1



- Según el procedimiento general del ejemplo de método 7 (esquema 1), se hizo reaccionar Cys-NH₂ protegido con 4-metoxitritilo (MTT) unido a resina de Wang según la siguiente secuencia: 1) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 2) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 3) a. Fmoc-Arg(Pbf)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 4) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 5) a. Fmoc-Glu-OtBu, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 6) N¹⁰-TFA-ácido pterico, PyBOP, DIPEA. Se eliminaron los grupos protectores MTT, tBu y Pbf con TFA/H₂O/TIPS/EDT (92,5:2,5:2,5:2,5), y se eliminó el grupo protector TFA con NH₄OH acuoso a pH =9,3. ¹H-RMN seleccionada (D₂O) □ (ppm) 8,68 (s, 1H, FA H-7), 7,57 (d, 2H, J = 8,4 Hz, FA H-12 y 16), 6,67 (d, 2H, J = 9 Hz, FA H-13 y 15), 4,40-4,75 (m, 5H), 4,35 (m, 2H), 4,16 (m, 1H), 3,02 (m, 2H), 2,55-2,95 (m, 8H), 2,42 (m, 2H), 2,00-2,30 (m, 2H), 1,55-1,90 (m, 2H), 1,48 (m, 2H); EM (ESI, m+H⁺) 1046.

EJEMPLO 2



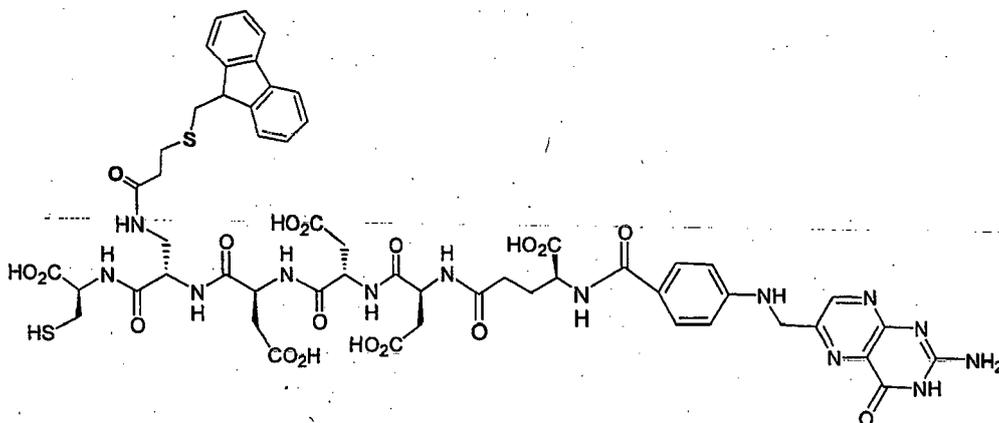
- Según el procedimiento general del ejemplo de método 7 (esquema 1), se hizo reaccionar Cys-NH₂ protegido con 4-metoxitritilo (MTT) unido a resina de Wang según la siguiente secuencia: 1) a. Fmoc-□-aminoalanina(NH-MTT)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 2) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 3) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 4) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 5) a. Fmoc-Glu-OtBu, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 6) N¹⁰-TFA-ácido pterico, PyBOP, DIPEA. Se eliminaron los grupos protectores MTT, tBu y TFA con a. hidrazina al 2%/DMF; b. TFA/H₂O/TIPS/EDT (92,5:2,5:2,5:2,5).

Se usaron los reactivos mostrados en la siguiente tabla en la preparación:

Reactivo	(mmol)	Equivalentes	Cantidad
H-Cys(4-metoxitritil)-2-clorotritil-resina (carga de 0,56 mmol/g)	0,56	1	1,0 g
Fmoc-β-aminoalanina(NH-MTT)-OH	1,12	2	0,653 g
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	1,12	2	0,461 g
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	1,12	2	0,461 g
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	1,12	2	0,461 g
Fmoc-Glu-OtBu	1,12	2	0,477 g
N ¹⁰ TFA-ácido pterico (disolver en 10 ml de DMSO)	0,70	1,25	0,286 g
DIPEA	2,24	4	0,390 ml
PyBOP	1,12	2	0,583 g

- 5 Se realizó la etapa de acoplamiento tal como sigue: En un recipiente de síntesis de péptidos añadir la resina, añadir la disolución de aminoácido, DIPEA y PyBOP. Burbujear argón durante 1 h y lavar 3X con DMF e IPA. Usar piperidina al 20% en DMF para la desprotección de Fmoc, 3X (10 min), antes de cada acoplamiento de aminoácido. Continuar para completar las 6 etapas de acoplamiento. Al final lavar la resina con hidrazina al 2% en DMF 3X (5 min) para escindir el grupo protector TFA en el ácido pterico.
- 10 Escindir el análogo de péptido de la resina usando el siguiente reactivo, TFA al 92,5% (50 ml), H₂O al 2,5% (1,34 ml), triisopropilsilano al 2,5% (1,34 ml), etanodiol al 2,5% (1,34 ml), se realizó la etapa de escisión tal como sigue: Añadir 25 ml de reactivo de escisión y burbujear durante 1,5 h, drenar y lavar 3X con el reactivo restante. Evaporar hasta aproximadamente 5 ml y precipitar en etil éter. Centrifugar y secar. Se realizó la purificación tal como sigue: Columna - Waters NovaPak C₁₈ 300X19 mm; tampón A=acetato de amonio 10 mM, pH 5; B=CAN; del 1% de B al 20% de B en 40 minutos a 15 ml/min, hasta 350 mg (64%); HPLC-RT 10,307 min., puro al 100%, espectro de ¹H-RMN compatible con la estructura asignada y EM (ES-): 1624,8, 1463,2, 1462,3, 977,1, 976,2, 975,1, 974,1, 486,8, 477,8.
- 15

EJEMPLO 3



- 20 Según el procedimiento general del ejemplo de método 7 (esquema 1), se hizo reaccionar Cys-NH₂ protegido con 4-metoxitritilo (MTT) unido a resina de Wang según la siguiente secuencia: 1) a. Fmoc-β-aminoalanina(NH-IvDde)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 2) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 3) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 4) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 5) a. Fmoc-Glu-OtBu, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 6) N¹⁰-TFA-ácido pterico,

PyBOP, DIPEA. Se eliminaron los grupos protectores MTT, tBu y TFA con a. hidrazina al 2%/DMF; b. TFA/H₂O/TIPS/EDT (92,5:2,5: 2,5:2,5).

Se usaron los reactivos mostrados en la siguiente tabla en la preparación:

Reactivo	(mmol)	Equivalentes	Cantidad
H-Cys(4-metoxitritil)-2-clorotritil-resina (carga de 0,56 mmol/g)	0,56	1	1,0 g
Fmoc-β-aminoalanina(NH-IvDde)-OH	1,12	2	0,596 g
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	1,12	2	0,461 g
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	1,12	2	0,461 g
Fmoc-Asp(OtBu)-OH	1,12	2	0,461 g
Fmoc-Glu-OtBu	1,12	2	0,477 g
N ¹⁰ TFA-ácido pterico (disolver en 10 ml de DMSO)	0,70	1,25	0,286 g
Fm-ácido tiopropiónico	0,70	1,25	199,08
DIPEA	2,24	4	0,390 ml
PyBOP	1,12	2	0,583 g

5

Se realizó la etapa de acoplamiento tal como sigue: En un recipiente de síntesis de péptidos añadir la resina, añadir la disolución de aminoácido en DMF, DIPEA y PyBOP. Burbujear argón durante 1 h y lavar 3X10 ml con DMF e IPA. Usar piperidina al 20% en DMF para la desprotección de Fmoc, 3X10 ml (10 min), antes de cada acoplamiento de aminoácido. Continuar hasta completar 6 etapas de acoplamiento. Al final lavar la resina con hidrazina al 2% en DMF 3X10 ml (5 min) para escindir el grupo protector TFA en el ácido pterico y el grupo protector IvDde en la α-aminoalanina. Finalmente, acoplar la amina libre de la α-aminoalanina con el Fmoc-ácido tiopropiónico en DMF usando DIPEA y PyBop. Burbujear argón durante 1 h y lavar 3X10 ml con DMF e IPA. Secar la resina bajo argón durante 30 min.

10

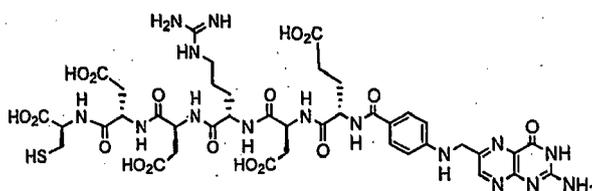
Escindir el análogo de péptido de la resina usando el siguiente reactivo, TFA al 92,5% (50 ml), H₂O al 2,5% (1,34 ml), triisopropilsilano al 2,5% (1,34 ml), etanoditiol al 2,5% (1,34 ml), se realizó la etapa de escisión tal como sigue: Añadir 25 ml de reactivo de escisión y burbujear durante 1,5 h, drenar y lavar 3X con el reactivo restante. Evaporar hasta aproximadamente 5 ml y precipitar en etil éter. Centrifugar y secar.

15

Se realizó la purificación tal como sigue: Columna-Waters NovaPak C₁₈ 300X19 mm; tampón A=acetato de amonio 10 mM, pH 5; B=CAN; del 1% de B al 20% de B en 40 minutos a 15 ml/min, hasta 450 mg (65%); espectro de ¹H-RMN compatible con la estructura asignada.

20

EJEMPLO 4

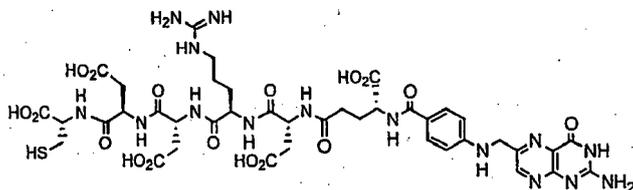


Según el procedimiento general del ejemplo de método 7 (esquema 1), se hizo reaccionar Cys-NH₂ protegido con MTT unido a resina de Wang según la siguiente secuencia: 1) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 2) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 3) a. Fmoc-Arg(Pbf)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 4) a. Fmoc-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 5) a. Fmoc-Glu(γ-OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 6) N¹⁰-TFA-ácido pterico, PyBOP, DIPEA. Se eliminaron

25

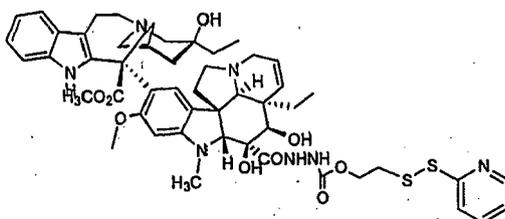
los grupos protectores MTT, tBu y Pbf con TFA/H₂O/TIPS/EDT (92,5:2,5:2,5:2,5), y se eliminó el grupo protector TFA con NH₄OH acuoso a pH =9,3. El espectro de ¹H-RMN era compatible con la estructura asignada.

EJEMPLO 5



- 5 Según el procedimiento general del ejemplo de método 7 (esquema 1), se hizo reaccionar D-Cys-NH₂ protegido con MTT unido a resina de Wang según la siguiente secuencia: 1) a. Fmoc-D-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 2) a. Fmoc-D-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 3) a. Fmoc-D-Arg(Pbf)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 4) a. Fmoc-D-Asp(OtBu)-OH, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 15%/DMF; 5) a. Fmoc-D-Glu-OtBu, PyBOP, DIPEA; b. piperidina al 20%/DMF; 6) N¹⁰-TFA-ácido pterico, PyBOP, DIPEA. Se eliminaron los grupos protectores MTT, tBu y Pbf con TFA/H₂O/TIPS/EDT (92,5:2,5:2,5:2,5), y se eliminó el grupo protector TFA con NH₄OH acuoso a pH=9,3. El espectro de ¹H-RMN era compatible con la estructura asignada.

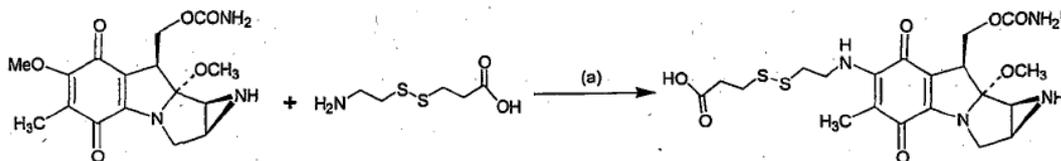
EJEMPLO 6



- 15 Se añadieron secuencialmente 2-[(benzotriazol-1-il-(oxicarbonilo)etil)disulfanil]-piridina HCl (601 mg) y 378 μ l de DIPEA a una disolución de desacetilvinblastina hidrazida (668 mg) en 5 ml de DCM a 0°C. Se permitió que la reacción se calentase hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La CCF (MeOH al 15% en DCM) mostró conversión completa. Se purificó la mezcla mediante cromatografía en gel de sílice (MeOH/DCM 1:9). Se evaporaron las fracciones combinadas, se redisolvieron en DCM y se lavaron con Na₂CO₃ al 10%, salmuera, se secaron (MgSO₄) y se evaporaron hasta 550 mg (80%); HPLC-RT 12,651 min., puro al 91%, espectro de ¹H-RMN compatible con la estructura asignada y EM (ESI⁺): 984,3, 983,3, 982,4, 492,4, 491,9, 141,8. Se describen detalles adicionales de este procedimiento en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US 2005/0002942 A1.

EJEMPLO 7

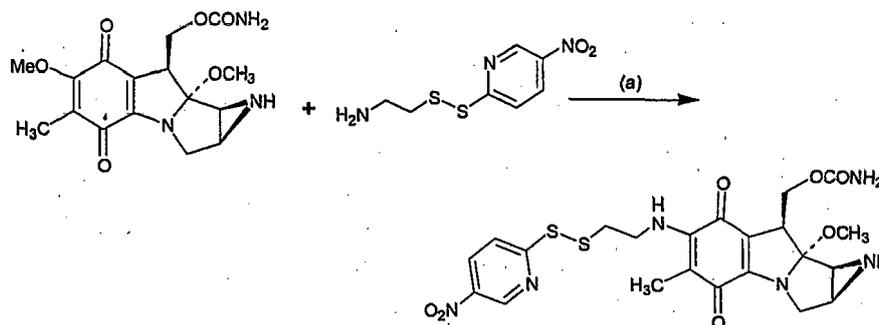
Se preparó mitomicina C-ácido etildisulfuropropiónico según el siguiente esquema



(a) diisopropiletilamina (DIPEA), MeOH

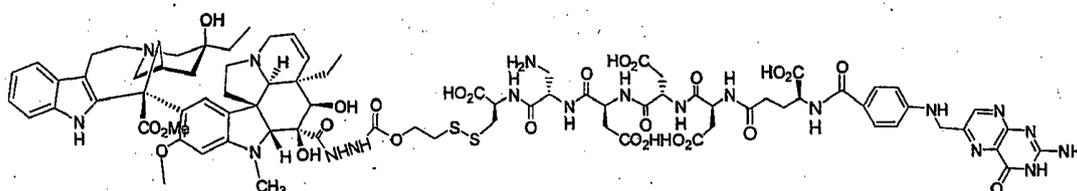
- 25 A una disolución del ácido aminoetildisulfuropropiónico (81 mg, 0,372 mmol) en 2 ml de metanol (MeOH) se le añadió la DIPEA (0,13 ml, 0,746 mmol). A esta disolución se le añadió lentamente la mitomicina-A (100 mg, 0,286 mmol) en MeOH (3,0 ml). Se permitió que la disolución resultante se agitase durante 3 h. El análisis de CCF (MeOH al 20% en CHCl₃) indicó que la reacción era completa. Se eliminó el disolvente a presión reducida y se purificó el residuo usando una columna de sílice. La elución en gradiente (MeOH a del 10% al 20% en CHCl₃/TEA al 0,5% dio fracciones puras del producto (110 mg, 77%). Señales de ¹H-RMN seleccionadas (CDCl₃) \square (ppm) 3,50 (d, 1H), 3,56 (dd, 1H), 3,90 (t, 2H), 4,15 (d, 1H), 4,25 (t, 1H), 4,68 (dd, 1H).

EJEMPLO 8



Preparado según el procedimiento del ejemplo 7.

5 EJEMPLO 9

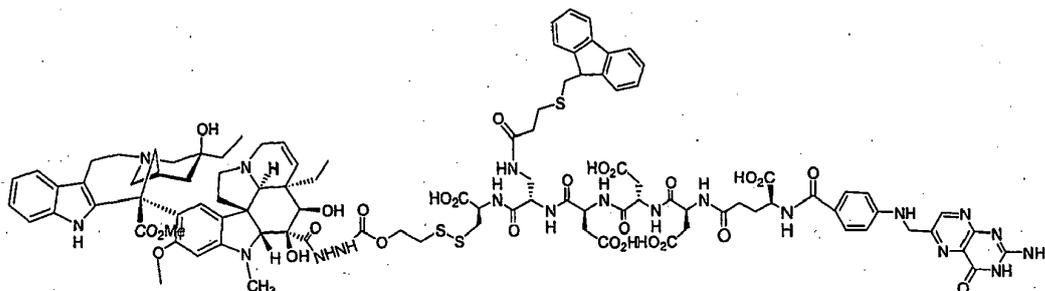


En una botella para centrifuga de polipropileno, se disolvió el ejemplo 2 (82 mg, 0,084 mmol) en 5 ml de agua y se burbujeó con argón durante 10 min. En otro matraz, se burbujeó con argón una disolución de NaHCO_3 0,1 N durante 10 min. Se ajustó el pH de la disolución de grupo de unión a aproximadamente 6,9 usando la disolución de NaHCO_3 0,1 N. Se añadió lentamente el derivado de vinblastina hidrazida (ejemplo 6, 91 mg, 0,092 mM) en 5 ml de tetrahidrofurano (THF) a la disolución anterior. Se agitó la disolución transparente resultante bajo argón durante de 15 min a 1 h. Se monitorizó el progreso de la reacción mediante HPLC analítica (acetato de amonio 10 mM, pH = 7,0 y acetonitrilo). Se evaporó el THF, y se filtró la disolución acuosa y se inyectó en una columna de HPLC prep. (columna XTerra, 19 X 300 mM). La elución con fosfato de sodio 1 mM pH = 7,0 y acetonitrilo dio como resultado fracciones puras que contenían el producto, que se aisló tras liofilizar durante 48 h (78 mg, 50%); $\text{C}_{83}\text{H}_{103}\text{N}_{19}\text{O}_{26}\text{S}_2$; masa exacta: 1845,68; PM: 1846,95; HPLC-RT 15,113 min., puro al 100%, espectro de ^1H -RMN compatible con la estructura asignada y EM (ES⁻): 1846,6, 1845,5, 933,3, 924,2, 923,3, 922,5, 615,6, 614,7, 525,0.

Las figuras 21A y 21B muestran la afinidad de unión relativa para folato frente al ejemplo 9, y los efectos del ejemplo 9 sobre la incorporación de ^3H -timidina, la CI_{50} del conjugado (58 nM) y que el folato compite con el conjugado por la unión al receptor de folato demostrando la especificidad de la unión del conjugado. Se realizaron los ensayos según los ejemplos de métodos 4 y 3, respectivamente.

La figura 1B muestra la actividad del ejemplo 9 sobre la incorporación de ^3H -timidina en células KB con (○) y sin (●) ácido fólico en exceso; la CI_{50} del ejemplo 9 es de aproximadamente 58 nM.

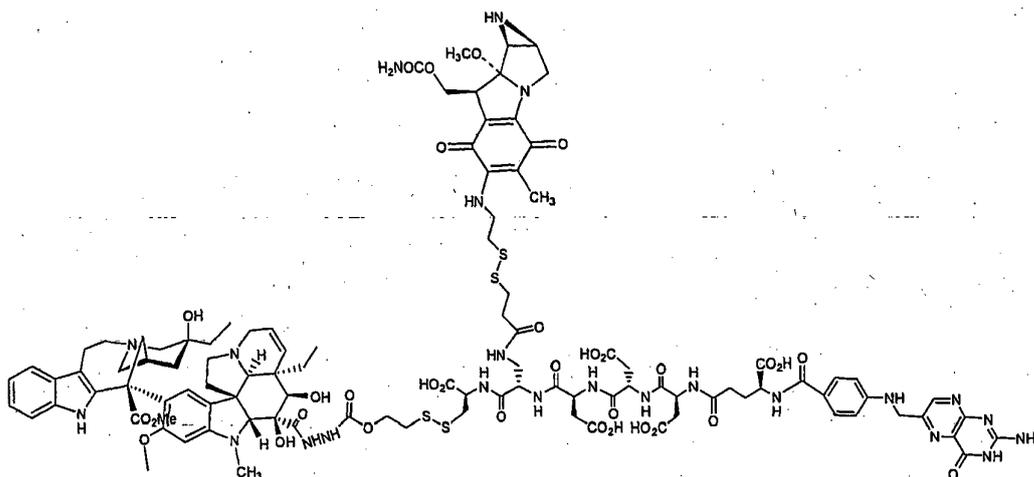
EJEMPLO 10



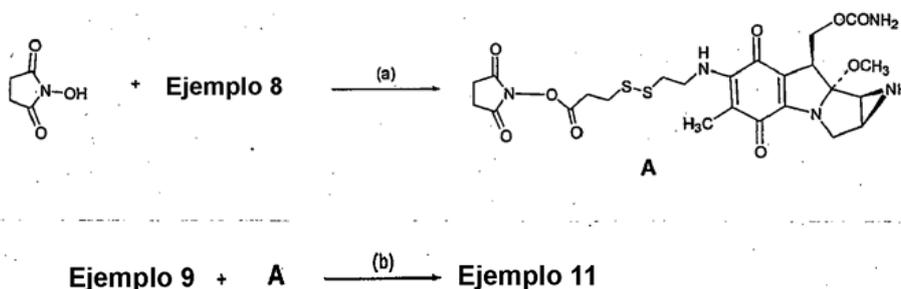
En una botella para centrifuga de polipropileno, se disolvió el ejemplo 3 (56 mg) en 7,5 ml de agua y se burbujeó con argón durante 10 min. En otro matraz, se burbujeó con argón una disolución de NaHCO_3 0,1 N durante 10 min. Se

ajustó el pH de la disolución del ejemplo 3 a 6,9 usando la disolución de NaHCO_3 0,1 N. Se añadió lentamente el ejemplo 6 (44 mg) en 7,5 ml de tetrahidrofurano (THF) a la disolución del ejemplo 3. Se agitó la disolución transparente resultante bajo argón durante de 15 min a 1 h. Se monitorizó el progreso de la reacción mediante HPLC analítica (acetato de amonio 10 mM, pH = 7,0 y acetonitrilo). Se evaporó el THF y se filtró la disolución acuosa y se purificó mediante HPLC prep. La elución con fosfato de sodio 1 mM pH = 7,0 y acetonitrilo dio como resultado fracciones puras, que se reunieron, se evaporaron a temperatura ambiente y se ajustó la disolución acuosa resultante a pH 4,0 usando HCl 0,1 N. Se aisló el ejemplo 10 tras liofilizar durante 48 h (61 mg, 64%). Datos de CL-EM y espectro de ^1H -RMN compatibles con la estructura asignada.

EJEMPLO 11



Método A. Se preparó el ejemplo 11 según el siguiente procedimiento:

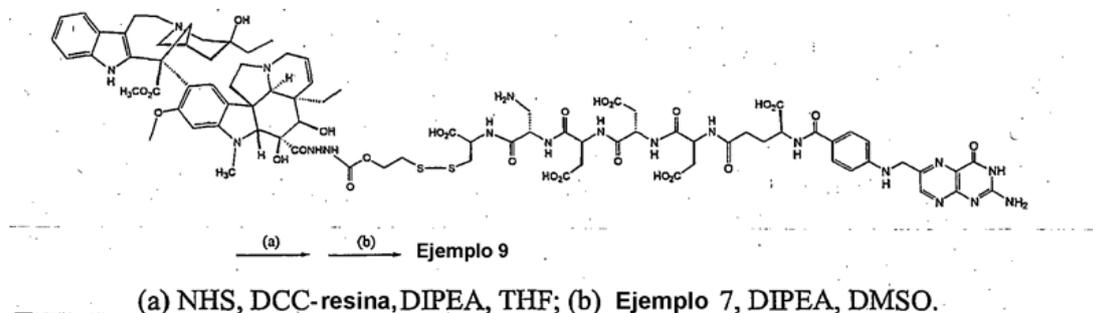


(a) es DCC, DIPEA, THF; y (b) es agua/THF a pH 8,5. Se disolvió mitomicina C-ácido etildisulfuropropiónico (34,4 mg, 0,069 mmol) en THF seco (1 ml) bajo argón. Se añadió N-hidroxisuccinamida (7,9 mg, 0,069 mmol) seguido por dicitclohexilcarbodiimida (14,2 mg, 0,069 mmol). Se añadió diisopropiletilamina (0,024 ml, 0,138 mmol) y se agitó la mezcla resultante durante 3 h. En una botella para centrifuga de polipropileno, se disolvió vinblastina folato (ejemplo 9, 26 mg, 0,014 mmol) en 3 ml de agua. Se ajustó lentamente el pH de la disolución a 8,5 usando NaHCO_3 0,1 N. Se añadió el derivado de mitomicina C activada preparado tal como se describe en el presente documento a la disolución de folato como una disolución en 3 ml de THF. Se agitó la disolución resultante bajo argón durante de 15 min a 1 h, cuando se monitorizó el progreso de la reacción mediante HPLC analítica (acetato de amonio 10 mM y acetonitrilo, pH = 7,0). Se eliminó el THF a presión reducida y se filtró disolución acuosa y se inyectó sobre una columna de HPLC prep. (columna X-terra, 19 X 300 mm). La elución con fosfato de sodio 1 mM (pH = 7,0) y acetonitrilo dio como resultado fracciones puras, que se evaporaron y se liofilizaron durante 48 h hasta 12 mg (50%, basándose en el material de partida recuperado). Los datos de espectros de masas y ^1H -RMN apoyaban que la estructura asignada es tal como se muestra en las figuras 9 y 10 respectivamente. $\text{C}_{103}\text{H}_{127}\text{N}_{23}\text{O}_{32}\text{S}_4$; masa exacta 2325,79; PM 2327,51. HPLC-RT 20,054 min., puro al 99%, espectro de ^1H -RMN compatible con la estructura asignada y EM (ES+): 1552,5, 116,0; 1165,3, 1164,3, 1148,4, 744,9, 746,4, 745,6.

Método B: Se añadió mediante jeringa DMF anhidra (4,5 ml) a una mezcla de ejemplo 10 (103 mg, 48,7 μmol) y ejemplo 8 (NO_2 -PySSCH₂CH₂-MMC; 33,4 mg, 1,25 eq.) a temperatura ambiente bajo argón. A la disolución resultante se le añadió mediante jeringa DIPEA (84,9 μl , 10 eq.) y DBU (72,9 μl , 10 eq.) en tándem. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente bajo argón durante 20 minutos, entonces se transfirió a dietil éter en agitación (50 ml). Se centrifugó la suspensión resultante, se lavó el precipitado con dietil éter (15 ml X 2), entonces se disolvió en tampón

fosfato (9 ml, 1,25 mM, pH 6,8) y se sometió a una HPLC preparativa (columna: Waters XTerra RP18, 7 μ m, 19X300 mm; fases móviles: A = tampón fosfato 1,25 mM, pH 6,8, B = acetonitrilo; método: del 10% de B al 40% de B a lo largo de 25 min a 25 ml/min). Se recogieron las fracciones desde 1-11,72-13,88 minutos y se liofilizaron para proporcionar 105,8 mg de material, que contenían 99,2 mg y 6,6 mg de sales de fosfato.

- 5 Método C. Se preparó el ejemplo 11 según el siguiente procedimiento con un rendimiento del 34%:



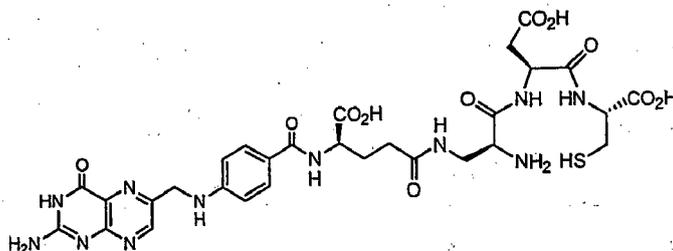
La figura 2 muestra la afinidad de unión relativa para ácido fólico (●, 1,0) frente al ejemplo 11 (■, 0,21). Los datos en la figura 2 muestran que el conjugado tiene una alta unión relativa al receptor de folato. Se realizó el ensayo según el ejemplo de método 4.

- 10 Las figuras 1B y 3 muestran los efectos de los ejemplos 9 (que tiene un único fármaco) y 11 (que tiene un par de fármacos), respectivamente, sobre la incorporación de 3 H-timidina, la CI_{50} de los conjugados del ejemplo 9 (58 nM) y del ejemplo 11 (5 nM). Los datos en las figuras 1B y 3 también muestran que el ácido fólico compite con los conjugados por la unión al receptor de folato demostrando la especificidad de la unión del conjugado. Se realizaron estos ensayos según el ejemplo de método 3. Además, el ejemplo 11 que tenía dos fármacos mostró más de 10 veces más potencia en el receptor de folato que el ejemplo 9 que tenía sólo un único fármaco.

La figura 4 muestra la actividad citotóxica *in vitro* del ejemplo 11 (a) sobre tres líneas de células tumorales diferentes (KB, 4T-1c12 y ID8-c115). Además, la figura 4 muestra que la actividad citotóxica del ejemplo 11 se redujo en presencia de ácido fólico en exceso (b), lo que indica que el ejemplo 11 está actuando en el receptor de folato.

- 20 Las figuras 5A y 5B muestran la actividad del ejemplo 11 a dos dosis diferentes (1 μ mol/kg y 2 μ mol/kg) contra tumores de cáncer de pulmón M109 en ratones Balb/c y sobre el peso de ratones Balb/c (se usaron ratones Balb/c para el ensayo de volumen tumoral de M109). Se realizaron los ensayos según los ejemplos de métodos 1 y 6, respectivamente. El ejemplo 11 inhibía el crecimiento de tumores sólidos, pero tenía poco efecto sobre el peso de los ratones a ambas dosis. Además, la dosis superior (2 μ mol/kg) mostró una fuerte inhibición del crecimiento tumoral, incluso tras terminar la dosificación en el día 20. La línea vertical corresponde al último día de dosificación (día 20). Se sometieron a prueba cinco animales, y a la dosis superior de 2 μ mol/kg, los cinco animales mostraron una respuesta completa.

- La figura 6 muestra la actividad del ejemplo 11 a 1 μ mol/kg TIW durante 2 semanas sobre tumores KB positivos para FR con (b) y sin (c) EC20 40 μ mol/kg (complejo de renio), en comparación con los controles (a). La línea discontinua vertical indica el último día de dosificación. Las figuras muestran que el ejemplo 11 inhibe el crecimiento de tumores sólidos, y que el efecto inhibitor se previene (experimenta competencia) por el complejo de renio EC20. Además, las figuras muestran que el tratamiento con el ejemplo 11 no afectaba al peso del animal de prueba significativamente con respecto a los controles. EC20 (complejo de renio) es el compuesto de fórmula



- 35 quelado con renio. Se describe la preparación de EC20 en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US 2004/0033195 A1. Se realizó el ensayo según el ejemplo de método 2. EC20 actúa como competidor del ejemplo 11 en los receptores de folato, y los resultados muestran la especificidad de los efectos del ejemplo 11.

5 La figura 8 muestra la actividad del ejemplo 11 a 1 $\mu\text{mol/kg}$ TIW sobre tumores KB de xenoinjerto humano implantados por vía s.c. positivos para receptor de folato con (b) y sin (c) EC20 40 $\mu\text{mol/kg}$ (complejo de renio) añadido en ratones desnudos. Los datos en la figura 8 muestran que el ejemplo 11 inhibe el crecimiento de tumores sólidos, y que el efecto inhibitor se previene (experimenta competencia frente a) por el complejo de renio EC20, (b) frente a (c). Además, los datos en la figura 8 muestran que el tratamiento con el ejemplo 11 no afectaba significativamente al peso del modelo animal de ratones desnudos sometidos a prueba en comparación con los controles (a).

10 La figura 10 muestra la actividad del ejemplo 11 a 2 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (e) sobre tumores humanos positivos para receptor de folato en ratones desnudos en comparación con una mezcla de los fármacos base no conjugados, mitomicina C y desacetilvinblastina monohidrazida, a 0,5 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (b), 1 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (c) y 2 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (d), en comparación con controles no tratados (a). Los datos en la figura 10 muestran que el ejemplo 11 inhibe el crecimiento de tumores sólidos y proporciona una respuesta completa en cinco de cinco animales de prueba. En cambio, el tratamiento con la mezcla de fármacos base a 0,5 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (b) o a 1 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (c) no mostró una respuesta completa en ninguno de los cinco animales de prueba. La alta dosis de la mezcla de fármacos base a 2 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (d) se interrumpió antes del día 20 debido a la toxicidad observada, tal como se muestra en la figura 11 que muestra el efecto de los fármacos base y el ejemplo 11 sobre el peso de animales de prueba.

15 La figura 11 muestra que el ejemplo 11 (e) no afectaba significativamente al peso de los animales de prueba durante el tratamiento con respecto a los controles (a). En contraposición al ejemplo 11, los datos en la figura 11 muestran que el tratamiento prolongado con las dosis inferiores de la mezcla de los fármacos base no conjugados, mitomicina C y desacetilvinblastina monohidrazida, a (0,5 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (b) y 1 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (c)) provocaba pérdida de peso en animales de prueba que era significativa en comparación con los controles (a). Además, la alta dosis (2 $\mu\text{mol/kg}$ TIW (d)) de la mezcla de los fármacos base no conjugados provocaba la mayor pérdida de peso, conduciendo a la terminación de esa prueba.

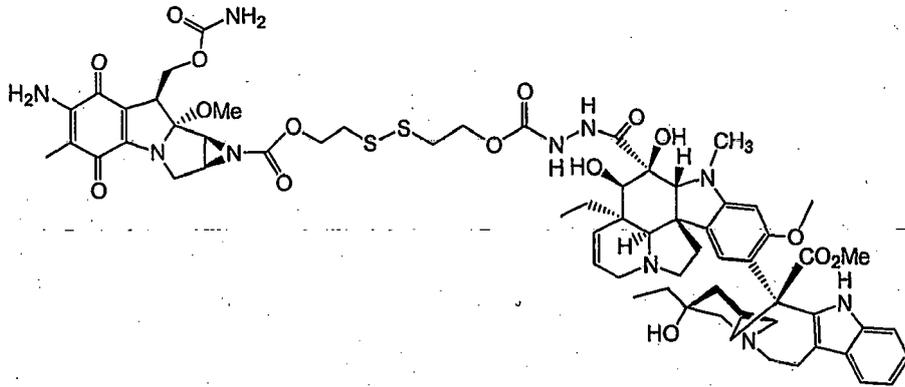
20 Los compuestos descritos en el presente documento pueden ser útiles en el tratamiento de tumores grandes o establecidos. De manera ilustrativa, el ejemplo 11 es eficaz sobre tumores grandes. La figura 12 muestra la actividad del ejemplo 11 a 2 $\mu\text{mol/kg}$ TIW, 2 semanas sobre tumores KB s.c. grandes (250 mm^3 , 500 mm^3 y 750 mm^3). Se inició el tratamiento con el ejemplo 11 cuando los tumores alcanzaron uno de los tres volúmenes diana, tal como se indica mediante las flechas verticales correspondientes al volumen tumoral. Los datos en la figura 12 muestran que el ejemplo 11 inhibe el crecimiento de tumores grandes y proporciona una respuesta completa en animales de prueba.

25 La figura 13 muestra la actividad del ejemplo 11 (e) a 1 $\mu\text{mol/kg}$ TIW durante dos semanas de tratamiento sobre tumores KB s.c. establecidos, en comparación con los controles (a); los conjugados de cada fármaco individual solo, conjugado de mitomicina C (b) y conjugado de desacetilvinblastina monohidrazida (c), o una mixture de esos conjugados de fármacos individuales (d). Se dosificó cada conjugado de fármaco al mismo nivel de 1 $\mu\text{mol/kg}$ TIW durante dos semanas de tratamiento. La figura muestra que el ejemplo 11 funciona mejor que o bien un conjugado de fármaco individual o bien una mezcla de ambos conjugados de fármacos individuales. Sorprendentemente, la mezcla de conjugados de fármacos individuales no funcionaba significativamente mejor que los conjugados de fármacos individuales dosificados individualmente, y ninguno de los regímenes de dosificación de conjugados de fármacos individuales era estadísticamente significativo con respecto a los controles. Sólo el compuesto del ejemplo 11 era superior a los controles. Además, estos datos sugieren un efecto sinérgico de tener tanto un fármaco de la vinca como un fármaco de mitomicina en el conjugado individual.

30 EJEMPLOS 12 a 14

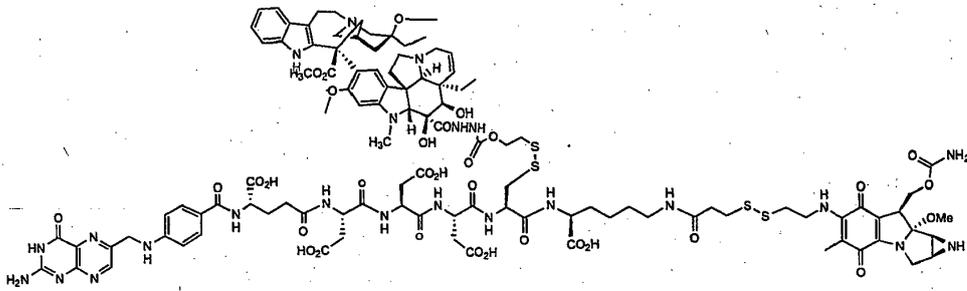
35 Preparados según los procedimientos y condiciones descritos en el presente documento, incluyendo los procedimientos descritos anteriormente en el presente documento para el ejemplo 11. Se describen detalles adicionales para la preparación de los derivados de vinblastina activada con maleimida y vinblastina activada con piridilditio o tiosulfonato requeridos en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US 2005/0002942 A1. Se describen detalles adicionales para la preparación de los derivados de mitomicina requeridos en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US 2005/0165227 A1.

EJEMPLO 12

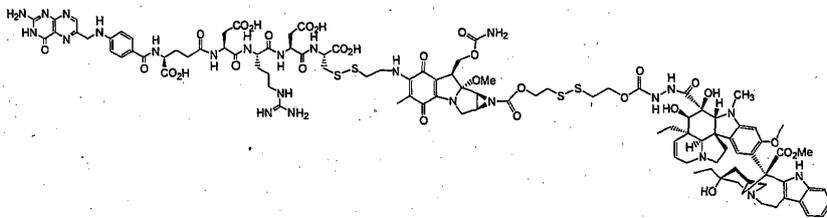


La figura 15 muestra la actividad del ejemplo 12 a 100 nM sobre la incorporación de ³H-timidina en células KB positivas para FR frente al tiempo de pulso. Se realizó el ensayo según el ejemplo de método 3.

5 EJEMPLO 13



EJEMPLO 14



REIVINDICACIONES

1. Conjugado de administración de fármacos de unión a receptor que comprende:

- (a) un resto de unión a receptor;
 (b) un grupo de unión polivalente; y
 (c) dos o más fármacos;

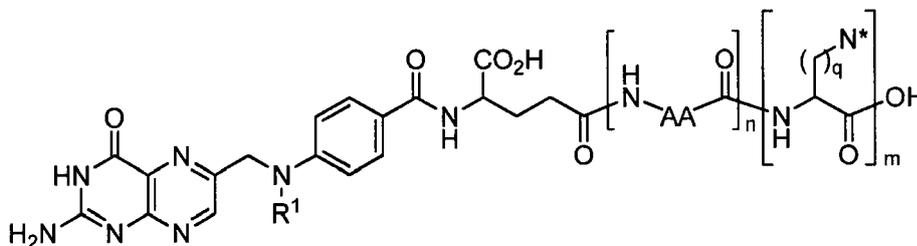
en el que el resto de unión a receptor está unido covalentemente al grupo de unión polivalente;

los dos o más fármacos están unidos covalentemente al grupo de unión polivalente; y el grupo de unión polivalente comprende uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en grupos de unión espaciadores, grupos de unión liberables y grupos de unión de heteroátomos, y combinaciones de los mismos;

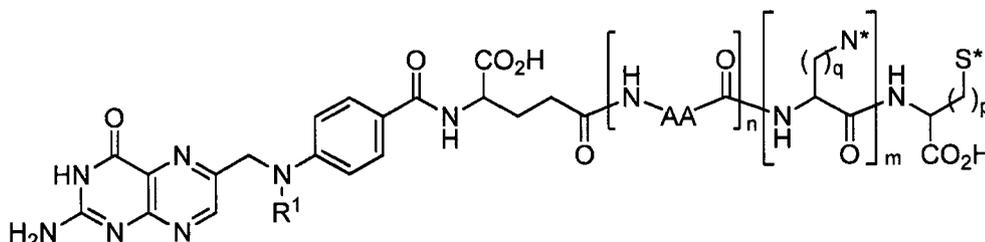
siempre que el grupo de unión polivalente incluya al menos un grupo de unión liberable distinto de un disulfuro; y

en el que el resto de unión a receptor y el grupo de unión polivalente comprenden un radical de fórmula

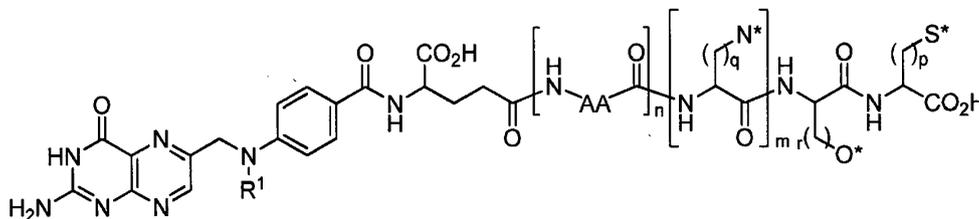
I



II



III



en las que m, n, p, q y r son números enteros que se seleccionan independientemente de desde 0 hasta 8; N(H)-AA-C(O) forma un aminoácido, R¹ es hidrógeno, alquilo o un grupo protector de nitrógeno, y los fármacos están unidos, opcionalmente por medio de grupos de unión espaciadores, grupos de unión liberables o grupos de unión de heteroátomos o una combinación de los mismos, a los átomos (*).

2. Conjugado según la reivindicación 1, en el que q en el radical I es de 1 a 8.

3. Conjugado según la reivindicación 1, en el que en el radical II q y p son de 1 a 8.
4. Conjugado según la reivindicación 1, en el que en el radical III q, p y r son de 1 a 8.
5. Conjugado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que m es 2.
- 5 6. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 1, en el que el grupo de unión polivalente comprende uno o más aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, beta-aminoalanina, ornitina, lisina, arginina, serina, treonina, cisteína, y combinaciones de los mismos.
7. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 1, en el que el grupo de unión polivalente comprende al menos dos grupos de unión liberables.
- 10 8. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 1, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre, o se selecciona del grupo de fórmulas que consisten en $-NHR^1NHR^2-$, $-SO-$, $-S(O)_2-$ y $-NR^3O-$, en las que R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, arilo sustituido, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido y alcoxilalquilo.
- 15 9. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 1, en el que al menos un grupo de unión espaciador se selecciona del grupo que consiste en carbonilo, tionocarbonilo, alquileo, cicloalquileo, alquilencicloalquilo, alquilencarbonilo, cicloalquilencarbonilo, carbonilalquilcarbonilo, 1-alquilensuccinimid-3-ilo, 1-(carbonilalquil)succinimid-3-ilo, alquilensulfoxilo, sulfonilalquilo, alquilensulfoxilalquilo, alquilensulfonilalquilo, carboniltetrahydro-2H-piraniilo, carboniltetrahydrofuranilo, 1-(carboniltetrahydro-2H-piraniil)succinimid-3-ilo y 1-(carboniltetrahydrofuranil)succinimid-3-ilo, en el que cada uno de dichos grupos de unión espaciadores está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X^1 ; en el que cada sustituyente X^1 se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alcoxilo, alcoxilalquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, amino, aminoalquilo, alquilaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, halo, haloalquilo, sulfhidrilalquilo, alquiltioalquilo, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, carboxilo, carboxialquilo, carboxilato de alquilo, alcanoato de alquilo, guanidinoalquilo, R^4 -carbonilo, R^5 -carbonilalquilo, R^6 -acilamino y R^7 -acilaminoalquilo, en los que R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido, y en los que R^6 y R^7 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido.
- 20 10. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 9, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es nitrógeno, y el grupo de unión espaciador se selecciona del grupo que consiste en alquilencarbonilo, cicloalquilencarbonilo, carbonilalquilcarbonilo y 1-(carbonilalquil)succinimid-3-ilo, en el que cada uno de dichos grupos de unión espaciadores está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X^1 y el grupo de unión espaciador se une al nitrógeno para formar una amida.
- 25 11. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 10, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es azufre, y el grupo de unión espaciador se selecciona del grupo que consiste en alquileo y cicloalquileo, en el que cada uno de dichos grupos de unión espaciadores está sustituido opcionalmente con carboxilo, y el grupo de unión espaciador se une al azufre para formar un tiol.
- 30 12. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 10, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es azufre, y el grupo de unión espaciador se selecciona del grupo que consiste en 1-alquilensuccinimid-3-ilo y 1-(carbonilalquil)succinimid-3-ilo, y el grupo de unión espaciador se une al azufre para formar un succinimid-3-iltiol.
- 35 13. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que al menos un grupo de unión liberable se selecciona del grupo que consiste en metileno, 1-alcoxilalquileo, 1-alcoxícicloalquileo, 1-alcoxilalquilencarbonilo, 1-alcoxícicloalquilencarbonilo, carbonilarilcarbonilo, carbonil(carboxiaril)carbonilo, carbonil(biscarboxiaril)carbonilo, haloalquilencarbonilo, alquilen(dialquilsililo), alquilen(alquilarilsililo), alquilen(diarilsililo), (dialquilsilil)arilo, (alquilarilsilil)arilo, (diarilsilil)arilo, oxicarboniloxilo, oxicarboniloxialquilo, sulfonilalquilo, iminoalquilidenilo, carbonilalquilideniminilo, iminocicloalquilidenilo, carbonilcicloalquilideniminilo, alquilensulfonilo, alquilentio, alquilenariltio y carbonilalquiltio, en el que cada uno de dichos grupos de unión liberables está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X^2 ; en el que cada sustituyente X^2 se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alcoxilo, alcoxilalquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, amino, aminoalquilo, alquilaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, halo, haloalquilo, sulfhidrilalquilo, alquiltioalquilo, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, carboxilo, carboxialquilo, carboxilato de alquilo, alcanoato de alquilo, guanidinoalquilo, R^4 -carbonilo, R^5 -carbonilalquilo, R^6 -acilamino y R^7 -acilaminoalquilo, en los que R^4 y R^5 se seleccionan cada
- 40 45 50

uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido, y en los que R⁶ y R⁷ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido.

5 14. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 3, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es nitrógeno, y en el que el sustituyente X² y el nitrógeno se toman juntos con el grupo de unión liberable al que están unidos para formar un heterociclo.

10 15. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es nitrógeno, y en el que al menos un grupo de unión liberable y el grupo de unión de heteroátomo se toman juntos para formar un radical divalente que comprende alquilnaziridin-1-ilo, alquilencarbonilaziridin-1-ilo, carbonilalquilaziridin-1-ilo, alquilensulfoxilaziridin-1-ilo, sulfoxilalquilaziridin-1-ilo, sulfonilalquilaziridin-1-ilo o alquilensulfonilaziridin-1-ilo, en el que cada uno de dichos grupos de unión liberables está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X², en el que cada sustituyente X² se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alcoxilo, alcoxialquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, amino, aminoalquilo, alquilaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, halo, haloalquilo, sulfhidrilalquilo, alquiltioalquilo, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, carboxilo, carboxialquilo, carboxilato de alquilo, alcanoato de alquilo, guanidinoalquilo, R⁴-carbonilo, R⁵-carbonilalquilo, R⁶-acilamino y R⁷-acilaminoalquilo, en los que R⁴ y R⁵ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido, y en los que R⁶ y R⁷ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido.

20 16. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 15, en el que el grupo de unión de heteroátomo es nitrógeno, y el grupo de unión liberable y el grupo de unión de heteroátomo se toman juntos para formar un radical divalente que comprende alquilnaziridin-1-ilo, carbonilalquilaziridin-1-ilo, sulfoxilalquilaziridin-1-ilo o sulfonilalquilaziridin-1-ilo.

25 17. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 16, en el que al menos un grupo de unión espaciador se selecciona del grupo que consiste en carbonilo, tionocarbonilo, alquilencarbonilo, cicloalquilencarbonilo, carbonilalquilcarbonilo y 1-(carbonilalquil)succinimid-3-ilo, en el que cada uno de dichos grupos de unión espaciadores está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X¹; en el que cada sustituyente X¹ se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alcoxilo, alcoxialquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, amino, aminoalquilo, alquilaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, halo, haloalquilo, sulfhidrilalquilo, alquiltioalquilo, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, carboxilo, carboxialquilo, carboxilato de alquilo, alcanoato de alquilo, guanidinoalquilo, R⁴-carbonilo, R⁵-carbonilalquilo, R⁶-acilamino y R⁷-acilaminoalquilo, en los que R⁴ y R⁵ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido, y en los que R⁶ y R⁷ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido; y en el que el grupo de unión espaciador se une al grupo de unión liberable para formar una aziridinamida.

30 18. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que al menos uno de los fármacos es un alcaloide de la vinca seleccionado del grupo que consiste en vinblastina, desacetilvinblastina, vindesina, tiovindesina y análogos y derivados de las mismas; una mitomicina o análogo o derivado de la misma; una epotilona o un análogo o derivado de la misma; o una tubulisina o un análogo o derivado de la misma.

35 19. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que al menos un fármaco es un fármaco o derivado de fármaco del mismo que incluye un átomo de nitrógeno con doble enlace, en el que al menos un grupo de unión liberable se selecciona del grupo que consiste en alquilencarbonilamino y 1-(alquilencarbonilamino)succinimid-3-ilo, y en el que el grupo de unión liberable se une al nitrógeno del fármaco para formar una hidrazona.

40 20. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que al menos un fármaco es un fármaco o derivado de fármaco del mismo que incluye un átomo de azufre, al menos un grupo de unión liberable se selecciona del grupo que consiste en alquilentio y carbonilalquiltio, y en el que el grupo de unión liberable se une al azufre del fármaco para formar un disulfuro.

45 21. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 13, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es oxígeno, y el grupo de unión liberable se selecciona del grupo que consiste en metileno, 1-alcoxialquilenilo, 1-alcoxícicloalquilenilo, 1-alcoxialquilencarbonilo, y 1-alcoxícicloalquilencarbonilo, en el que cada uno de dichos grupos de unión liberables está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X², y el grupo de unión liberable se une al oxígeno para formar un acetal o cetal.

22. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 13, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es oxígeno, y el grupo de unión liberable es metileno, en el que dicho metileno está sustituido con un arilo sustituido opcionalmente, y el grupo de unión liberable se une al oxígeno para formar un acetal o cetal.

23. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 13, en el que al menos un fármaco es un fármaco o derivado de fármaco del mismo que incluye un átomo de nitrógeno, al menos un grupo de unión de heteroátomo es nitrógeno y el grupo de unión liberable se selecciona del grupo que consiste en carbonilarilcarbonilo, carbonil(carboxiaril)carbonilo, carbonil(biscarboxiaril)carbonilo, y el grupo de unión liberable se une al nitrógeno del grupo de unión de heteroátomo para formar una amida, y también se une al nitrógeno del fármaco para formar una amida.

24. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 13, en el que al menos un fármaco es un fármaco o derivado de fármaco del mismo que incluye un átomo de oxígeno, al menos un grupo de unión de heteroátomo es nitrógeno, y el grupo de unión liberable se selecciona del grupo que consiste en carbonilarilcarbonilo, carbonil(carboxiaril)carbonilo, carbonil(biscarboxiaril)carbonilo, y el grupo de unión liberable se une al nitrógeno del grupo de unión de heteroátomo para formar una amida, y también se une al oxígeno del fármaco para formar un éster.

25. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 13, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es nitrógeno, y el grupo de unión liberable se selecciona del grupo que consiste en iminoalquilidenilo, carbonilalquilideniminilo, iminocicloalquilidenilo y carbonilcicloalquilideniminilo, en el que cada uno de dichos grupos de unión liberables está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X^2 , y el grupo de unión liberable se une al nitrógeno para formar una hidrazona.

26. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 13, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es oxígeno, y el grupo de unión liberable se selecciona del grupo que consiste en alquilen(dialquilsililo), alquilen(alquilarilsililo), alquilen(diarilsililo), (dialquilsilil)arilo, (alquilarilsilil)arilo y (diarilsilil)arilo, en el que cada uno de dichos grupos de unión liberables está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X^2 , y el grupo de unión liberable se une al oxígeno para formar un silanol.

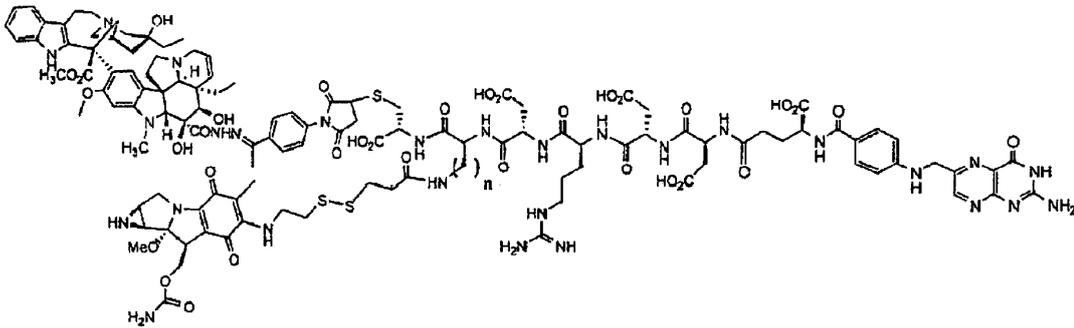
27. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que al menos un fármaco es un fármaco o derivado de fármaco del mismo que incluye un átomo de nitrógeno, y al menos un grupo de unión liberable es haloalquilencarbonilo, sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X^2 ; en el que cada sustituyente X^2 se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alcoxilo, alcoxialquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, amino, aminoalquilo, alquilaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, halo, haloalquilo, sulfhidrilalquilo, alquiltioalquilo, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, carboxilo, carboxialquilo, carboxilato de alquilo, alcanoato de alquilo, guanidinoalquilo, R^4 -carbonilo, R^5 -carbonilalquilo, R^6 -acilamino y R^7 -acilaminoalquilo, en el que R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido, y en los que R^6 y R^7 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido; y el grupo de unión liberable se une al nitrógeno del fármaco o derivado de fármaco para formar una amida.

28. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que al menos un fármaco es un fármaco o derivado de fármaco del mismo que incluye un átomo de oxígeno, y al menos un grupo de unión liberable es alquilenoxicarbonilo o haloalquilencarbonilo, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes X^2 ; en el que cada sustituyente X^2 se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alcoxilo, alcoxialquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, amino, aminoalquilo, alquilaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, halo, haloalquilo, sulfhidrilalquilo, alquiltioalquilo, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, carboxilo, carboxialquilo, carboxilato de alquilo, alcanoato de alquilo, guanidinoalquilo, R^4 -carbonilo, R^5 -carbonilalquilo, R^6 -acilamino y R^7 -acilaminoalquilo, en los que R^4 y R^5 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido, y en los que R^6 y R^7 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido; y el grupo de unión liberable se une al oxígeno del fármaco o derivado de fármaco para formar un carbonato o un éster.

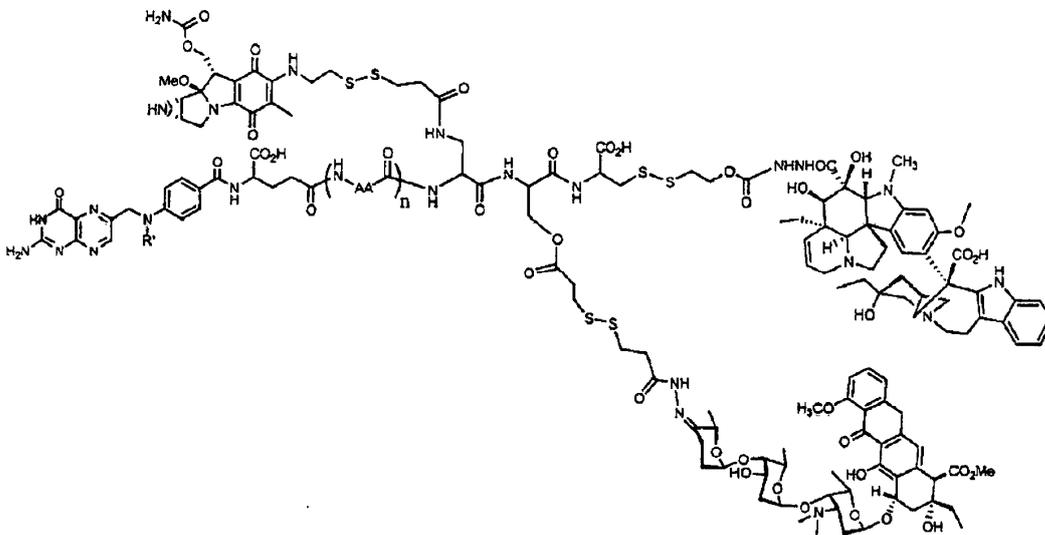
29. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que al menos un grupo de unión de heteroátomo es oxígeno, al menos un grupo de unión espaciador es 1-alquilensuccinimid-3-ilo, sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X^1 , y al menos un grupo de unión liberable se selecciona del grupo que consiste en metileno, 1-alcoxialquileno, 1-alcoxícicloalquileno, 1-alcoxialquilencarbonilo, 1-alcoxícicloalquilencarbonilo, en el que cada uno de dichos grupos de unión liberables está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes X^2 ; en el que cada sustituyente X^2 se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, alcoxilo, alcoxialquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, amino,

- 5 aminoalquilo, alquilaminoalquilo, dialquilaminoalquilo, halo, haloalquilo, sulfhidrilalquilo, alquiltioalquilo, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, carboxilo, carboxialquilo, carboxilato de alquilo, alcanato de alquilo, guanidinoalquilo, R⁴-carbonilo, R⁵-carbonilalquilo, R⁶-acilamino y R⁷-acilaminoalquilo, en los que R⁴ y R⁵ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido, y en los que R⁶ y R⁷ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en un aminoácido, un derivado de aminoácido y un péptido; y en el que el grupo de unión espaciador y el grupo de unión liberable se unen cada uno al grupo de unión de heteroátomo para formar un succinimid-1-ilalquil acetal o cetal.
- 10 30. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión de heteroátomo, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 3-tiosuccinimid-1-ilalquioximetiloxilo, en el que el metilo está sustituido opcionalmente con alquilo o arilo sustituido.
- 15 31. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión de heteroátomo, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 3-tiosuccinimid-1-ilalquilcarbonilo, en el que el carbonilo forma una acilaziridina con el fármaco.
- 20 32. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión de heteroátomo, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 1-alcoxícicloalquilenoxilo.
- 25 33. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión espaciador, un grupo de unión de heteroátomo y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar carboxilato de alquilenaminocarbonil(dicarboxilarileno).
- 30 34. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión liberable, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar ditioalquilcarbonilhidrazida, en el que la hidrazida forma una hidrazona con al menos un fármaco.
- 35 35. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión de heteroátomo, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 3-tiosuccinimid-1-ilalquilcarbonilhidrazida, en el que la hidrazida forma una hidrazona con al menos un fármaco.
- 40 36. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión de heteroátomo, un grupo de unión espaciador, un grupo de unión de heteroátomo, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 3-tioalquilsulfonilalquil(sililo disustituido)oxilo, en el que el sililo disustituido está sustituido con alquilo o arilo opcionalmente sustituido.
- 45 37. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión liberable, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 3-ditioalquioxicarbonilo, en el que el carbonilo forma un carbonato con al menos un fármaco.
- 50 38. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión de heteroátomo, un grupo de unión espaciador, un grupo de unión liberable, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 3-tiosuccinimid-1-ilalquioxialquioxialquilideno, en el que el alquilideno forma una hidrazona con al menos un fármaco, cada alquilo se selecciona independientemente, y el oxialquioxilo está sustituido opcionalmente con alquilo o arilo opcionalmente sustituido.
39. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión liberable, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 3-ditioalquioxicarbonilhidrazida.
- 40 40. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión liberable, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 3-ditioalquilamino, en el que el amino forma una amida vinílica con al menos un fármaco.

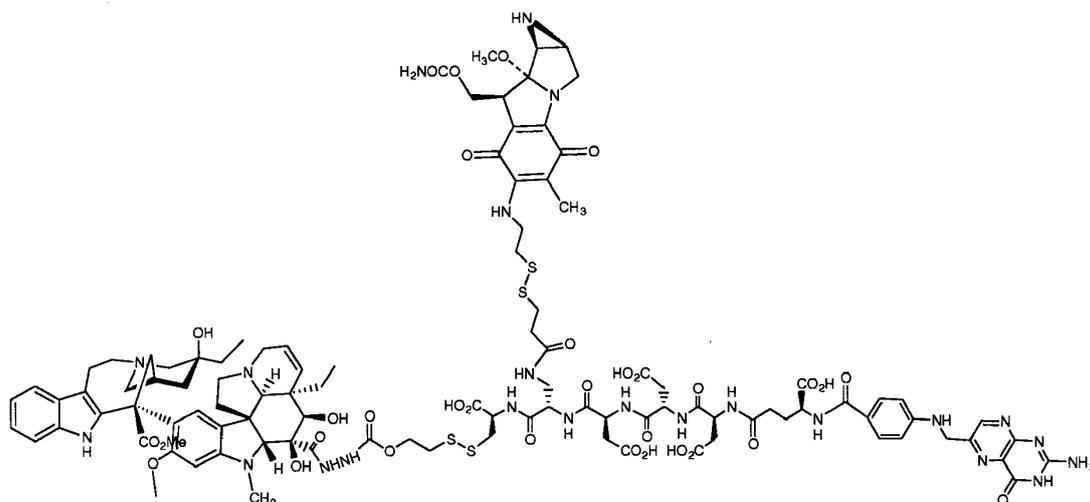
41. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 40, en el que el alquilo es etilo.
42. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión liberable, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 3-ditioalquilaminocarbonilo, en el que el carbonilo forma un carbamato con al menos un fármaco.
43. Conjugado de administración de fármacos según la reivindicación 42, en el que el alquilo es etilo.
44. Conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el grupo de unión polivalente comprende un grupo de unión liberable, un grupo de unión espaciador y un grupo de unión liberable tomados juntos para formar 3-ditioarilalquiloxicarbonilo, en el que el carbonilo forma un carbamato o una carbamoilaziridina con al menos un fármaco.
45. Conjugado según la reivindicación 1 de fórmula



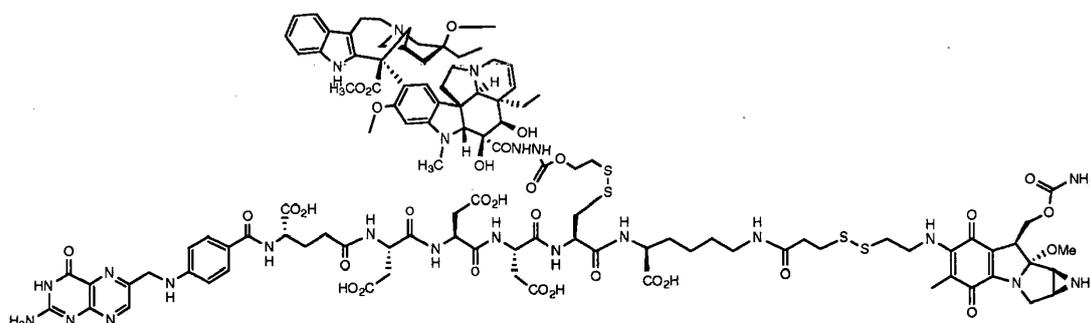
46. Conjugado de administración de fármacos a un receptor de fórmula:



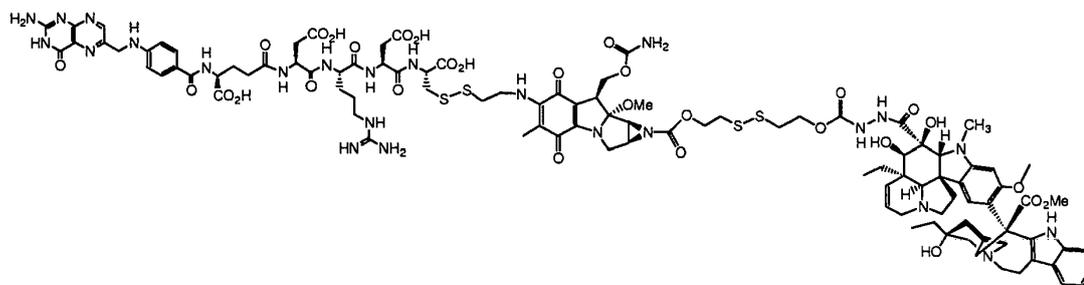
15 o



0



0



5

en las que: N(H)-AA-C(O) forma un aminoácido y n es un número entero de desde 0 hasta 8.

47. Composición farmacéutica que comprende un conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para el mismo, o una combinación de los mismos.

10

48. Uso de un conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, o una composición farmacéutica del mismo para su uso en la fabricación de un medicamento para eliminar una población de células patógenas en un animal huésped que alberga la población de células patógenas en el que los miembros de la población de células patógenas tienen un sitio de unión accesible para una vitamina, o un análogo o un derivado de la misma, y en el que el sitio de unión se expresa de manera única, se sobreexpresa o se expresa preferentemente por las células patógenas.

15

49. Composición que comprende un conjugado de administración de fármacos según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 47 para la eliminación de una población de células patógenas en un animal huésped que alberga la población de células patógenas en la que los miembros de la población de células patógenas

tienen un sitio de unión accesible para una vitamina, o un análogo o un derivado de la misma, y en la que el sitio de unión se expresa de manera única, se sobreexpresa o se expresa preferentemente por las células patógenas.

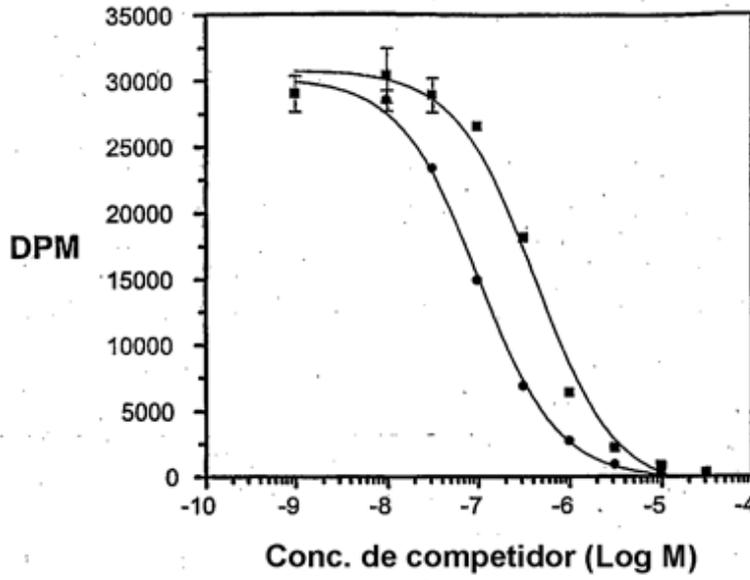


FIG. 1A

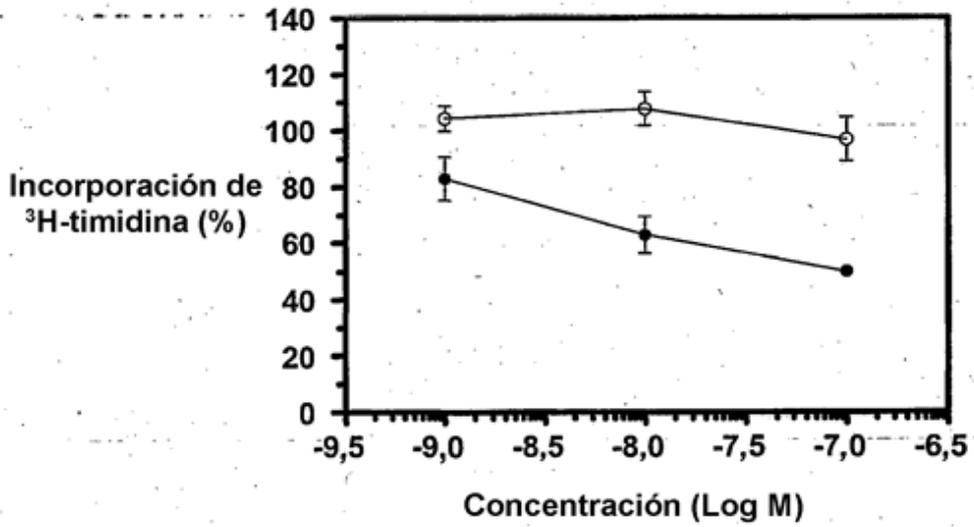


FIG. 1B

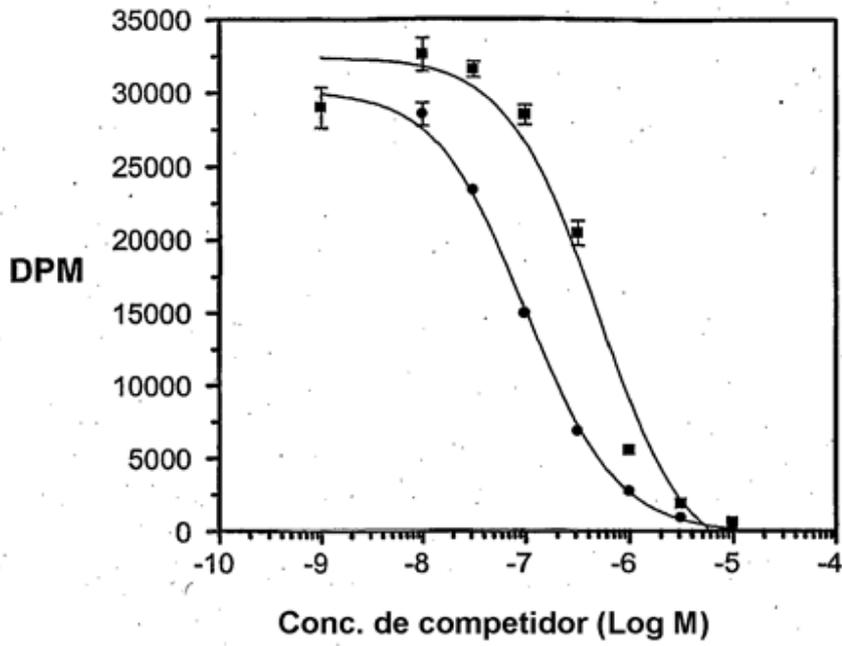


FIG. 2

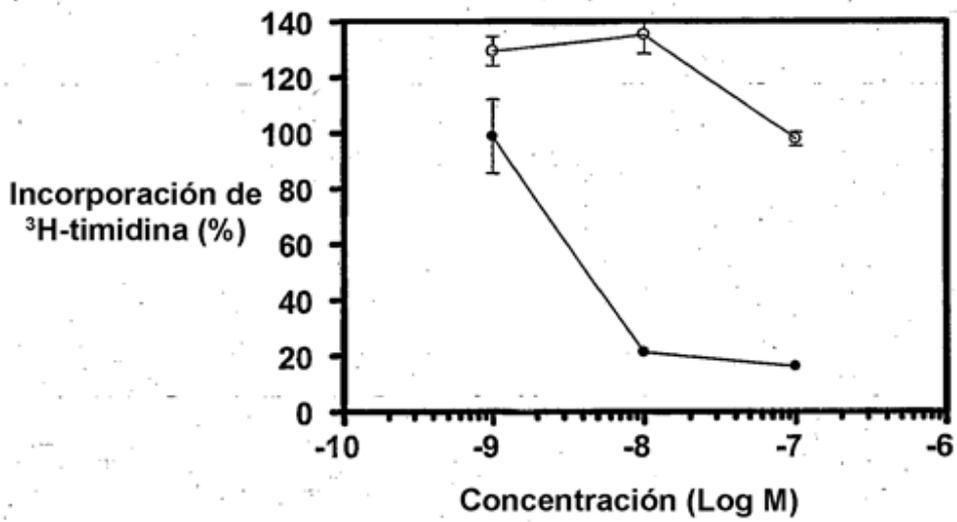


FIG. 3

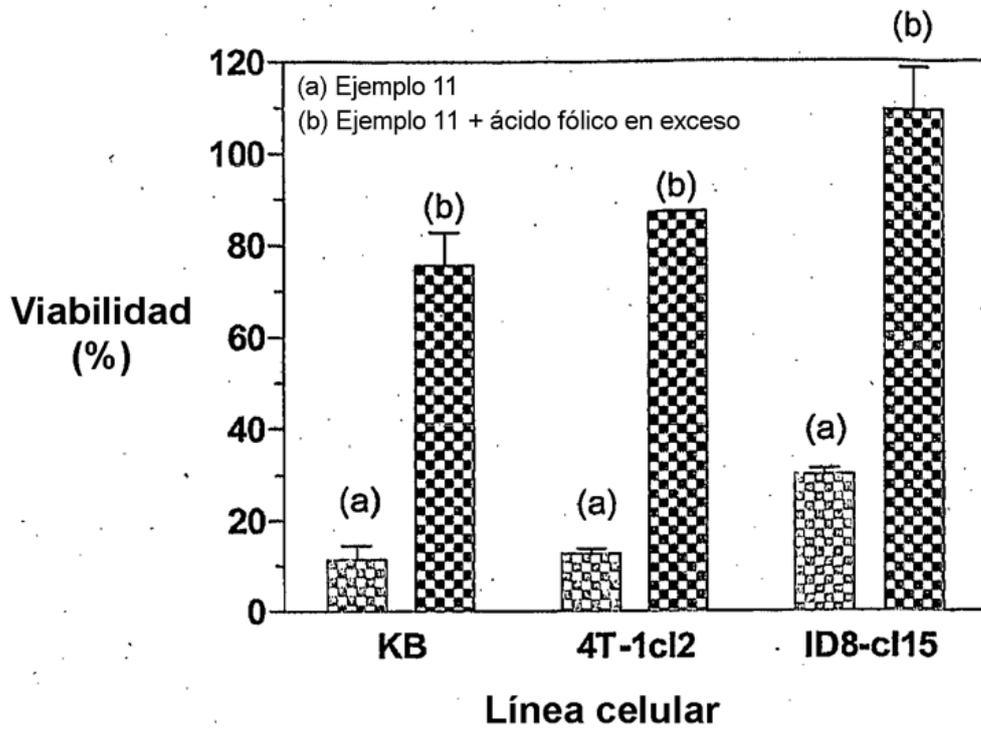


FIG. 4

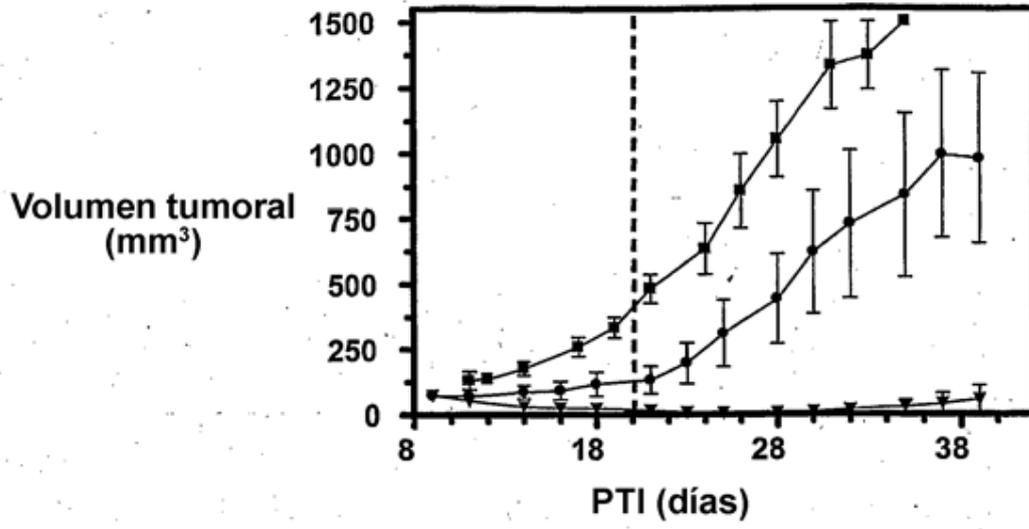


FIG. 5A

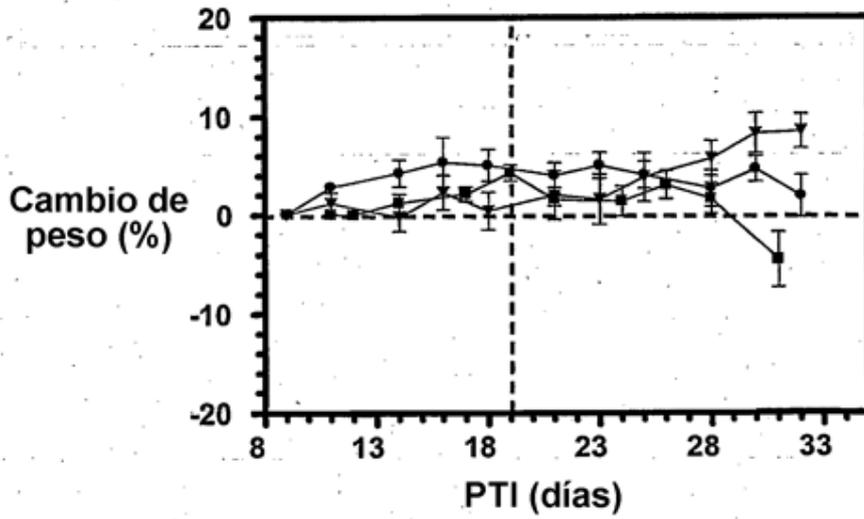


FIG. 5B

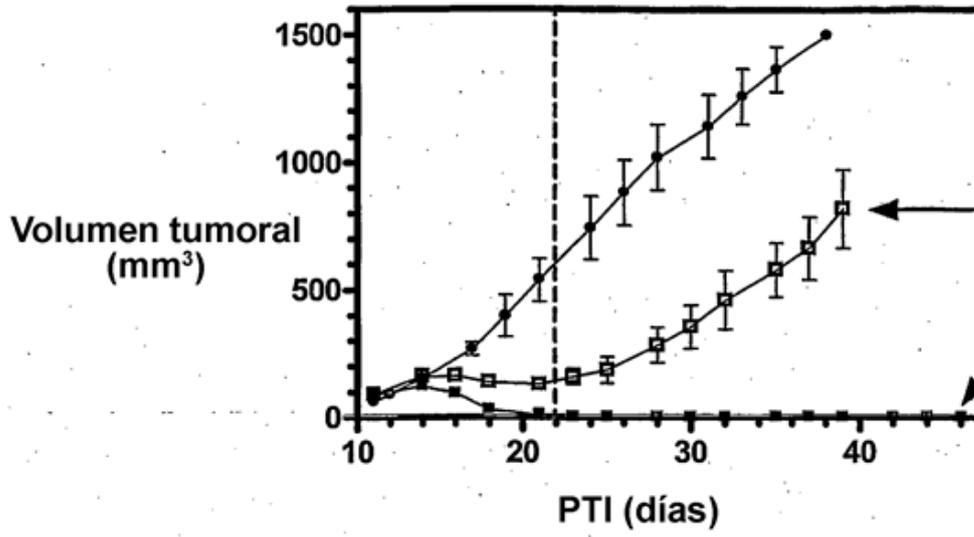


FIG. 6

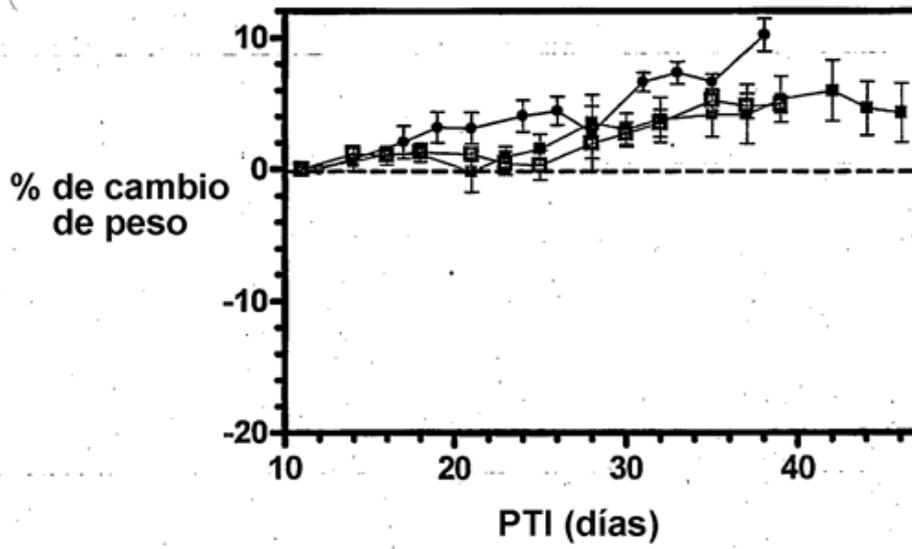


FIG. 7

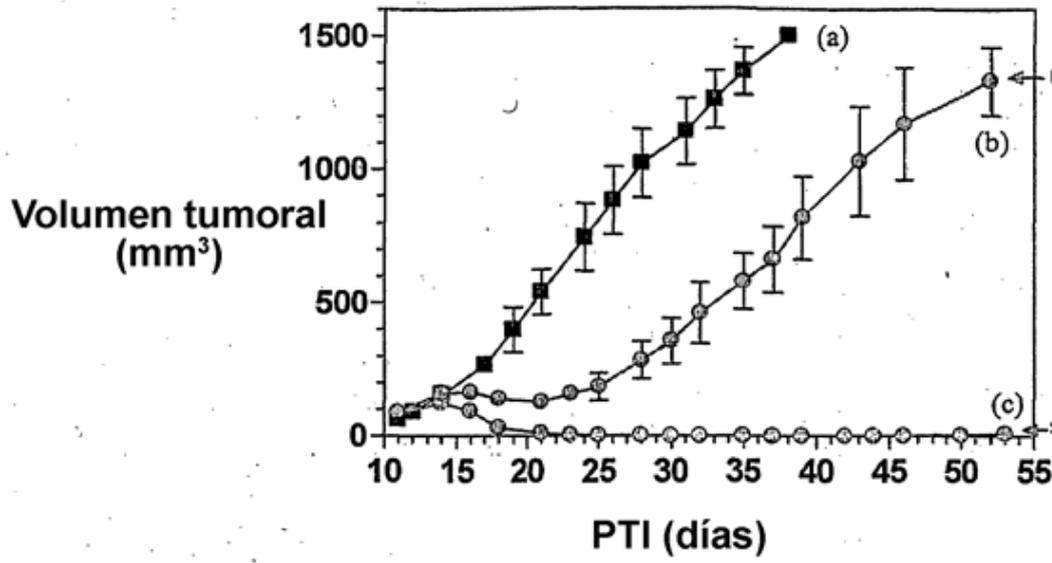


FIG. 8

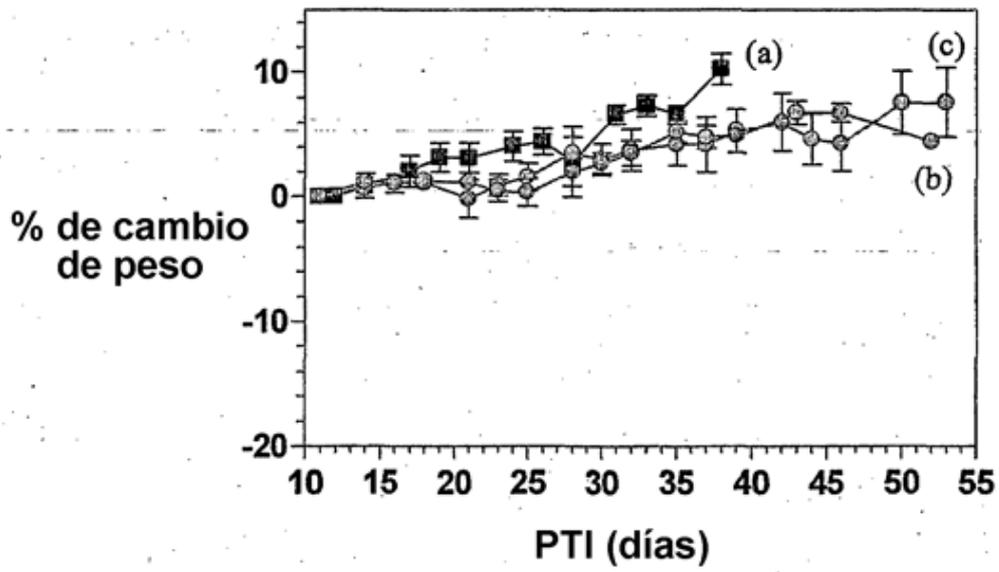


FIG. 9

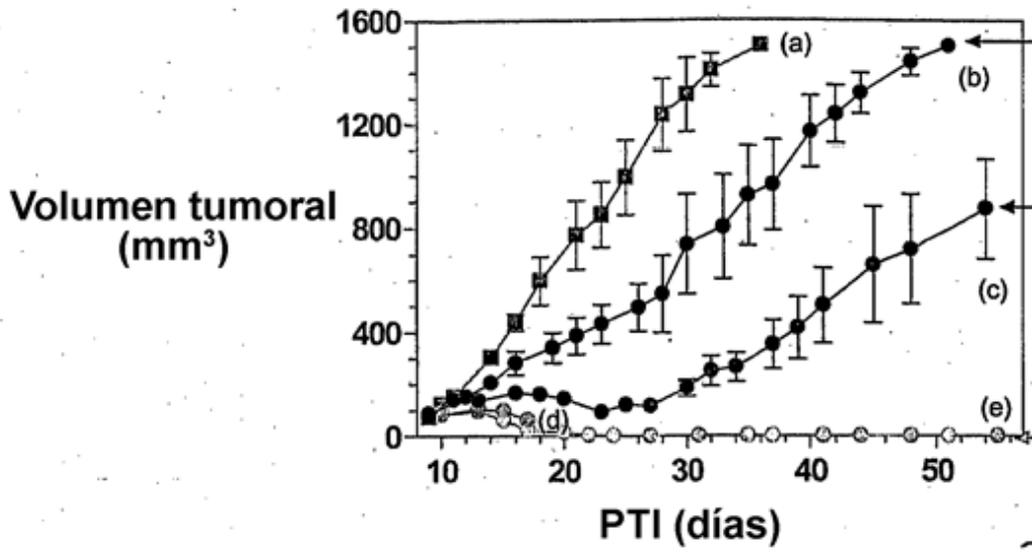


FIG. 10

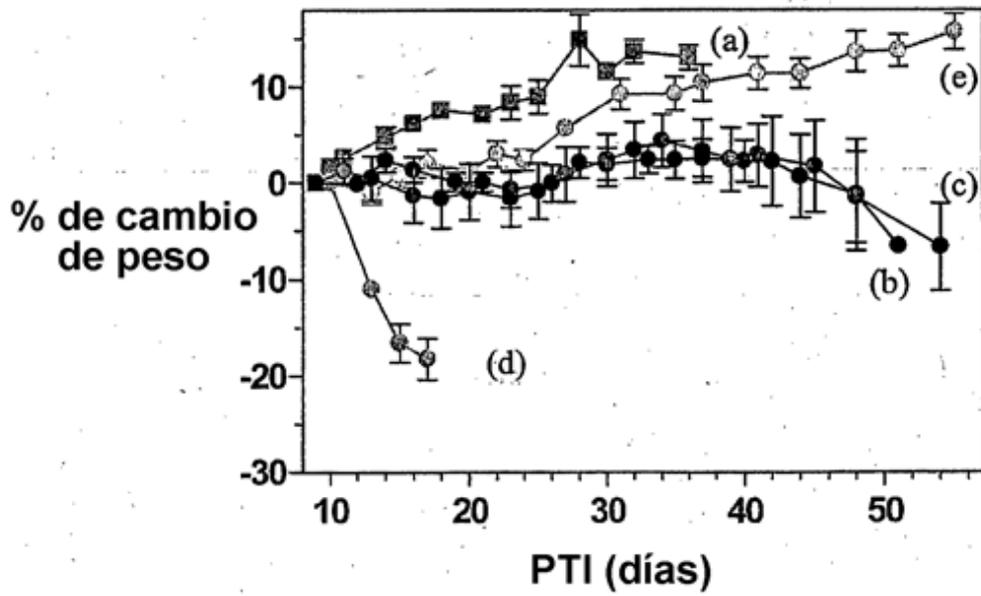


FIG. 11

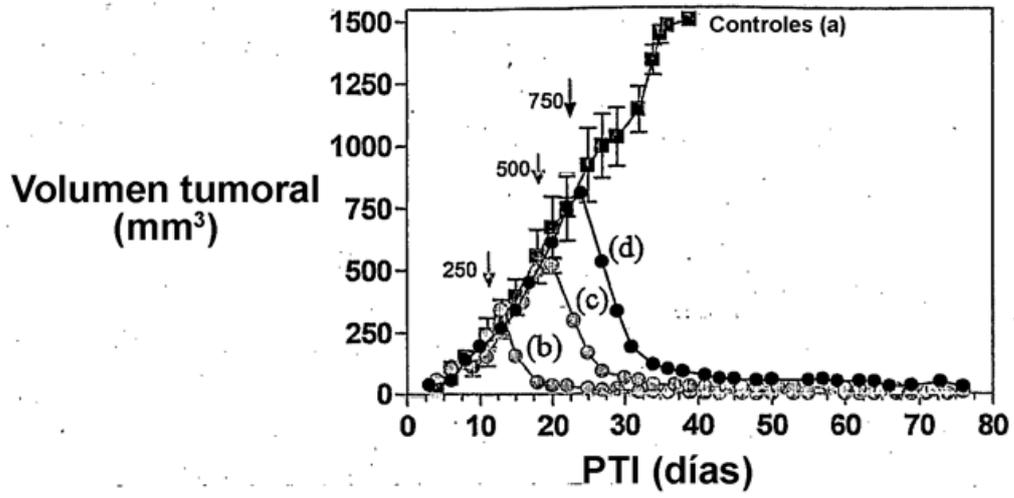


FIG. 12

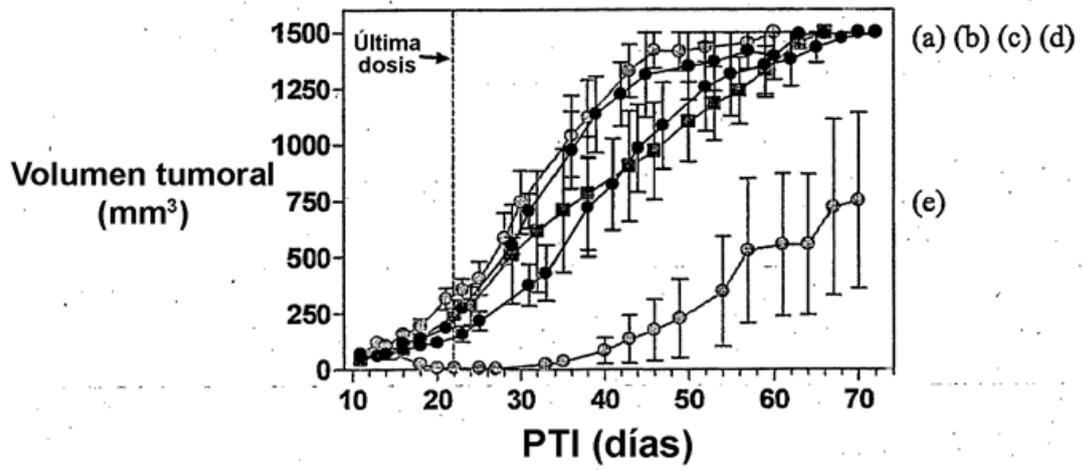


FIG. 13

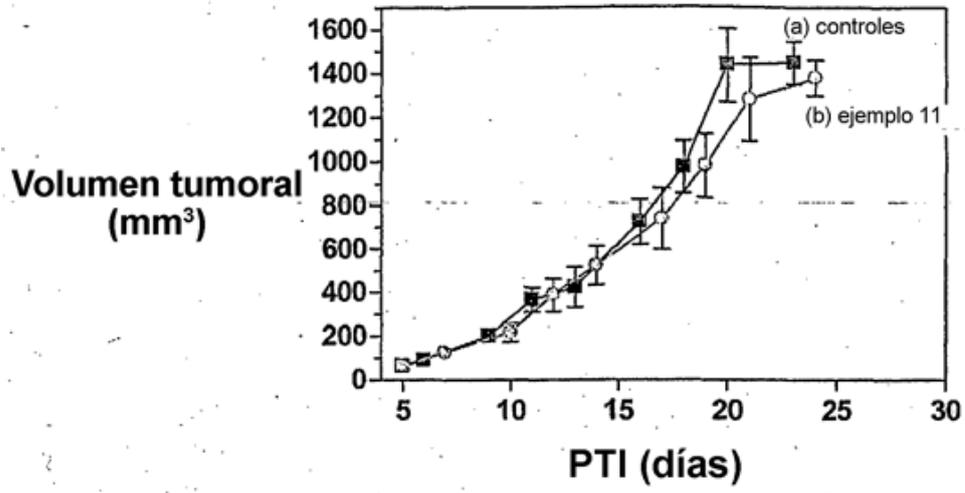


FIG. 14

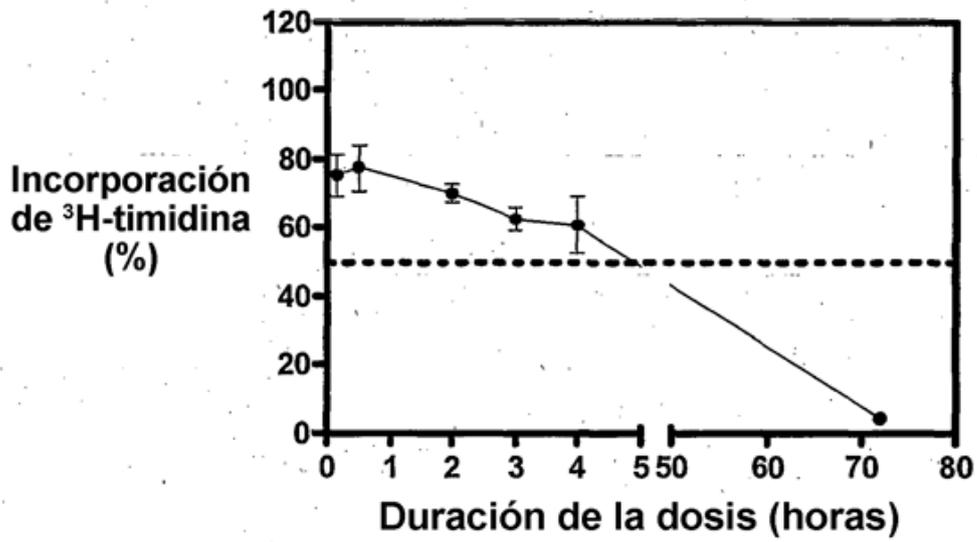


FIG. 15