

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 544 527**

51 Int. Cl.:

A61K 47/48 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 5/02 (2006.01)

C07K 16/46 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

C07K 16/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.07.2003 E 11165204 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2015 EP 2353611**

54 Título: **Conjugados de fármacos y su uso para tratar el cáncer, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa**

30 Prioridad:

31.07.2002 US 400403 P

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

01.09.2015

73 Titular/es:

**SEATTLE GENETICS, INC. (100.0%)
21823 30th Drive, S.E.
Bothell, WA 98021, US**

72 Inventor/es:

**SENER, PETER D.;
DORONINA, SVETLANA y
TOKI, BRIAN E.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 544 527 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 fármacos y su uso para tratar el cáncer, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa

1. CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a conjugados de fármaco-conector-ligando y a compuestos de fármaco-conector, a composiciones que comprenden un conjugado de fármaco-conector-ligando o un compuesto de fármaco-conector, y al uso de los mismos para tratar el cáncer, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa.

2. ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 Se han aislado varios compuestos peptídicos cortos de fuentes naturales y se ha descubierto que éstos poseen actividad biológica. También se han preparado análogos de estos compuestos y se descubrió que algunos tenían actividad biológica. Por ejemplo, la auristatina E (patente US 5.635.483 de Pettit et al.) es un análogo sintético del producto marino natural dolastatina 10, un agente que inhibe la polimerización de la tubulina uniéndose al mismo sitio en la tubulina que el fármaco contra el cáncer vincristina (G. R. Pettit, Prog. Chem. Org. Nat. Prod, 70: 1-79 (1997). La dolastatina 10, la auristatina PE y la auristatina E son péptidos lineales que tienen cuatro aminoácidos, de los cuales tres son exclusivos de la clase dolastatina de los compuestos. Tanto la dolastatina 10 como la auristatina 15 PE están siendo utilizadas en ensayos clínicos en humanos para tratar el cáncer. Las diferencias estructurales entre la dolastatina 10 y la auristatina E residen en el residuo terminal C, en el que el grupo tiazolfeniletilamino de la dolastatina 10 se sustituye por una unidad de norefedrina en la auristatina E.

Las siguientes referencias describen compuestos de dolastatina y auristatina y sus análogos, y su uso para tratar el cáncer:

20 Publicación Internacional nº WO 96/33212 A1 a nombre de Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd.;

Publicación Internacional nº WO 96/14856 A1 a nombre de Arizona Board of Regents;

Publicación de patente europea nº EP 695757 A2 a nombre de Arizona Board of Regents;

Publicación de patente europea nº EP 695758 A2 a nombre de Arizona Board of Regents;

Publicación de patente europea nº EP 695759 A2 a nombre de Arizona Board of Regents;

25 Publicación Internacional nº WO 95/09864 A1 a nombre de Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd.;

Publicación Internacional nº WO 93/03054 A1 a nombre de Teikoku Hormone Mfg. Co., Ltd.;

Patente US 6.323.315 B1 a nombre de Pettit et al.;

G.R. Pettit et al., Anti-Cancer Drug Des. 13(4): 243-277 (1998);

G.R. Pettit et al., Anti-Cancer Drug Des. 10(7): 529-544 (1995); y

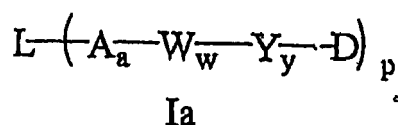
30 K. Miyazaki et al., Chem. Pharm. Bull. 43(10), 1706-18 (1995).

A pesar de los datos in vitro de los compuestos de la clase de la dolastatina y sus análogos, los importantes efectos tóxicos generales en las dosis necesarias para lograr un efecto terapéutico comprometen su eficacia en estudios clínicos. En consecuencia, existe una clara demanda en la técnica de derivados de dolastatina que tengan una toxicidad significativamente menor pero una eficacia terapéutica útil, en comparación con las terapias con fármacos de dolastatina actuales.

35 El enunciado de cualquier referencia en la Sección 2 de esta solicitud no quiere decir que se admita que la referencia constituya la técnica anterior a esta solicitud.

3. SUMARIO DE LA INVENCION

En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de la fórmula general Ia:



40

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos en los que,

L- es una unidad de ligando;

-A- es una unidad de extensor;

a es 0 o 1;

cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

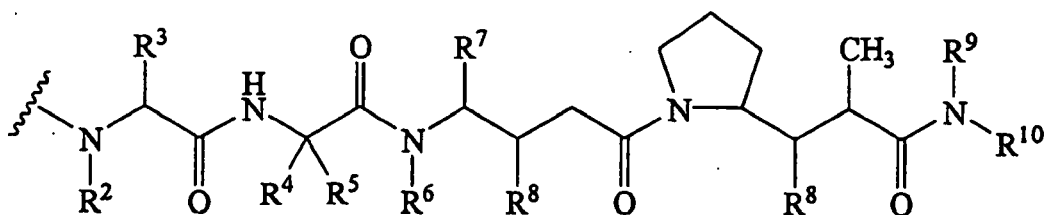
5 -Y- es una unidad de separador;

w es un número entero que varía de 0 a 12;

y es 0, 1 o 2;

p varía de 1 a aproximadamente 20; y

-D es una unidad de fármaco de la fórmula



donde, de forma independiente en cada lugar:

R² se selecciona de -hidrógeno y -C₁-C₈ alquilo;

R³ se selecciona de -hidrógeno, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

15 R⁴ se selecciona de -hidrógeno, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquilo-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo,

o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

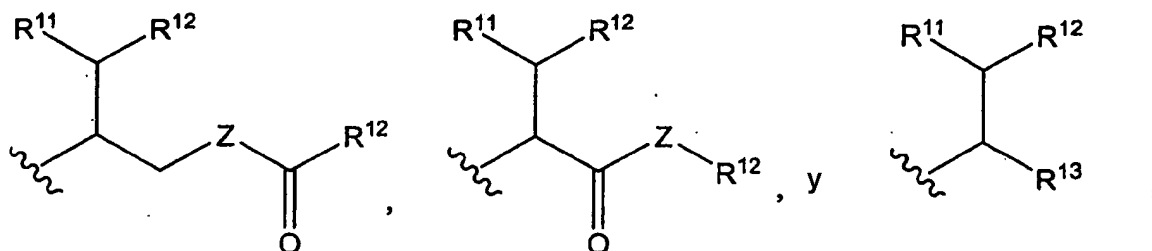
R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

25 R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁰ se selecciona de



Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

30 R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un

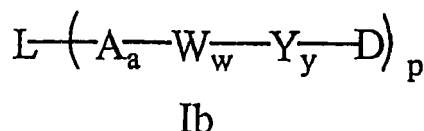
átomo de oxígeno que forma una unidad carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al que está unido y un átomo de hidrógeno de este átomo de carbono es sustituido por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

5 R¹³ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); y

cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo.

La presente invención proporciona compuestos de la fórmula general Ib:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos en los que,

10 L- es una unidad de ligando;

-A- es una unidad de extensor;

a es 0 o 1;

cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

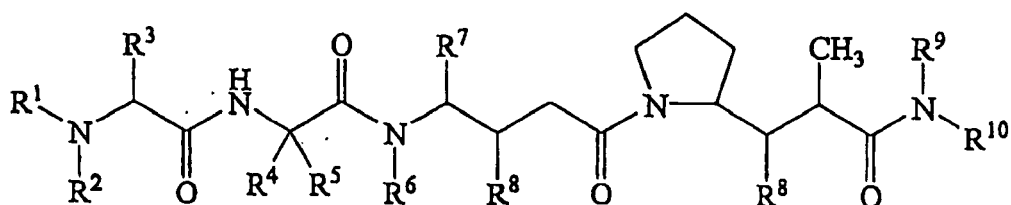
-Y- es una unidad de separador;

15 w es un número entero que varía de 2 a 12;

y es 0, 1 o 2;

p varía de 1 a aproximadamente 20; y

-D es una unidad de fármaco de la fórmula



20 donde, de forma independiente en cada lugar:

R¹ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo; y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

25 R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo), donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo;

30 o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

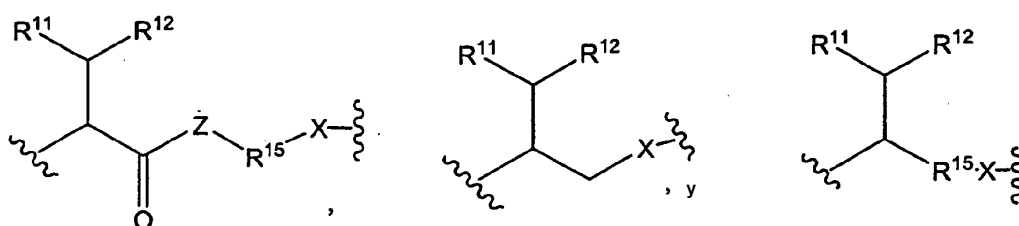
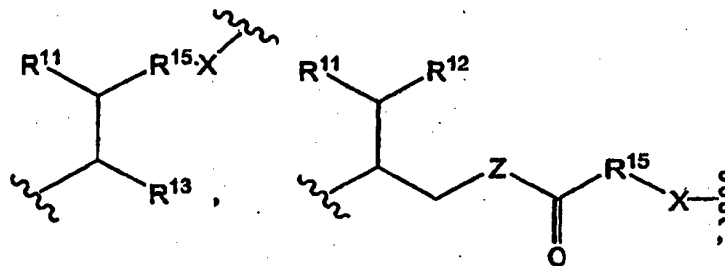
R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R^{10} se selecciona de



5

X es -O-, -S-, -NH- o -N(R^{14})-, donde X está unido a Y cuando y es 1 o 2, o X se une a W cuando y es 0;

Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R^{14})-;

R^{11} se selecciona de -H, -OH, NH_2 , -NHR¹⁴, -N(R^{14})₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

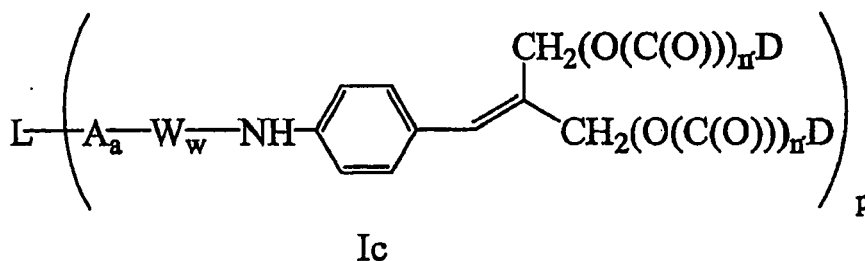
10

cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

R^{13} se selecciona de -H, -OH, NH_2 , -NHR¹⁴, -N(R^{14})₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

15 cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo; y

R^{15} es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-. También se describen compuestos de fórmula general Ic:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde,

20 L - es una unidad de ligando;

-A- es una unidad de extensor;

a es 0 o 1;

cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

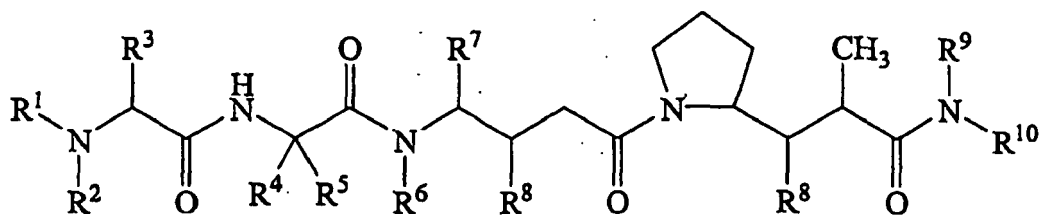
w es un número entero que varía de 0 a 12;

cada n es independientemente 0 o 1;

p varía de 1 a aproximadamente 20; y

5 cada -D- es independientemente:

(a) una unidad de fármaco de la fórmula:



donde, de forma independiente en cada lugar:

R¹ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

10 o R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

15 R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo), donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo; o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

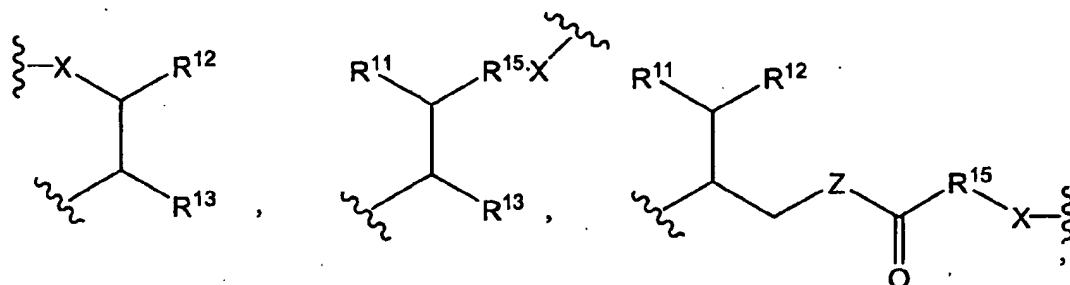
R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

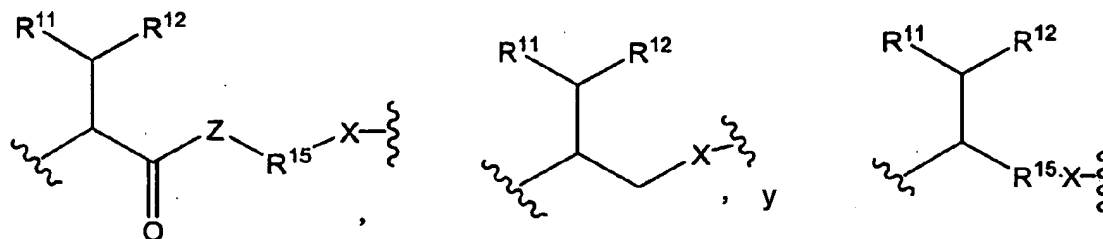
20 R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁰ se selecciona de





X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-, donde X está unido a -C(O)- cuando y es 1 o 2, o X se une a -CH₂- cuando n es 0;

Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

5 R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o

R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

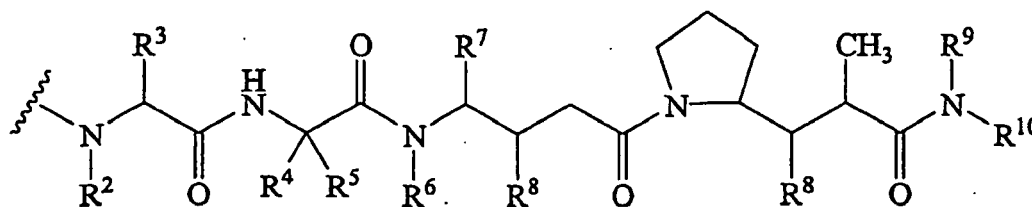
cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

10 R¹³ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁵ es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-; o

(b) una unidad de fármaco de la fórmula:



15 donde, de forma independiente en cada lugar:

R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

20 R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo), donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo;

o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

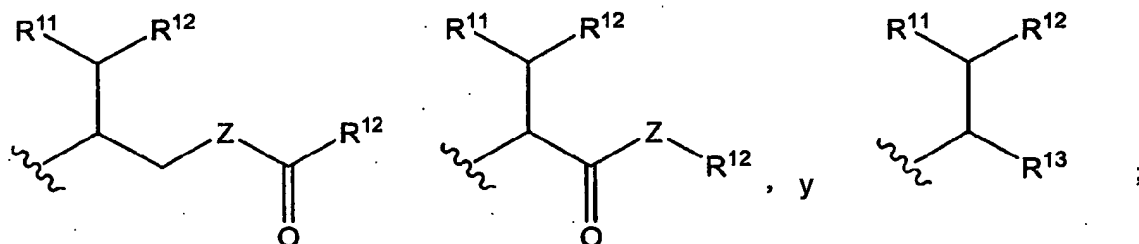
R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

25 R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁰ se selecciona de



Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

- 5 R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

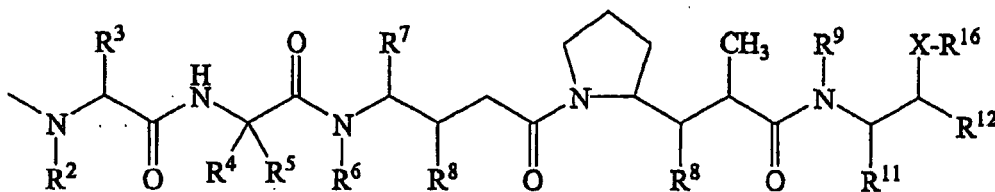
cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

- 10 R¹³ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); y

cada R¹⁴ es independientemente -H, o -C₁-C₈ alquilo.

Un compuesto de la fórmula Ia, la fórmula Ib, la fórmula Ic o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo (un conjugado de "fármaco-conector-ligando") es útil para tratar o prevenir el cáncer, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa en un animal.

- 15 También se describen los compuestos de la fórmula IIa:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

- 20 R¹ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

- 25 R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo;

o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

- 30 R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

- 5 R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo; y

R¹⁶ es -Y_w-W-A'

donde

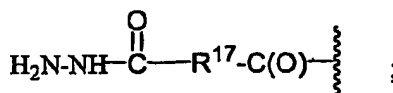
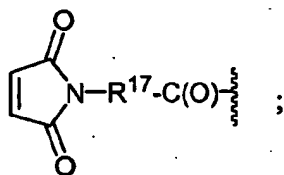
- 10 cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

-Y- es una unidad de separador;

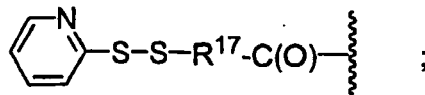
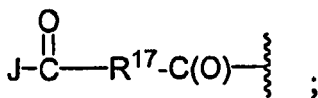
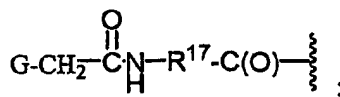
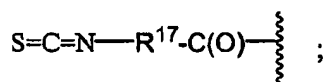
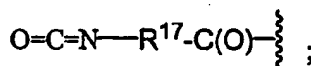
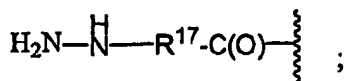
w es un número entero que varía de 0 a 12;

y es 0, 1 o 2; y

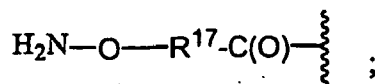
-A' se selecciona de



15



y



20

donde

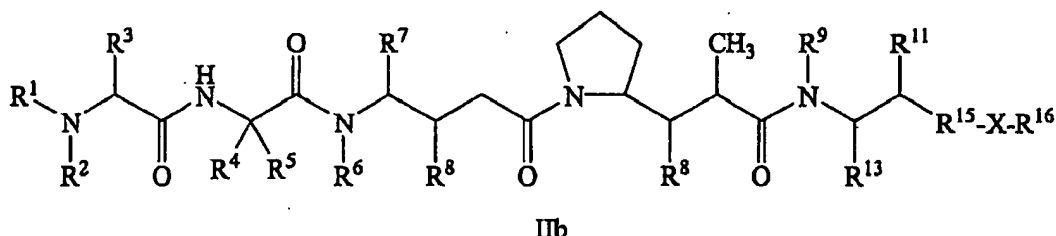
G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía de 1-10; y

5 R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula IIb:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

10 R¹ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

15 R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo;

o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

20 R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

25 X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)₂;

R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

30 R¹³ se selecciona de hidrógeno, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, C₁-C₈ alquilo, C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, alquil-arilo, alquil-(C₃-C₈ carbociclo), C₃-C₈ heterociclo y alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁵ es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-; y

R¹⁶ es -Y_w-W_w-A';

35 donde

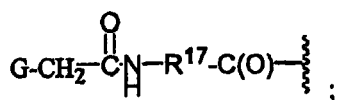
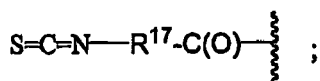
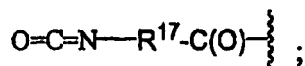
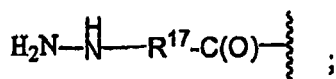
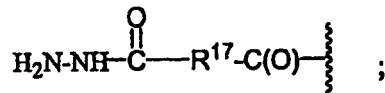
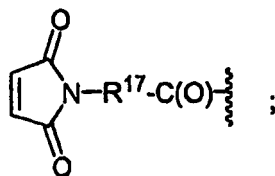
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

-Y- es una unidad de separador;

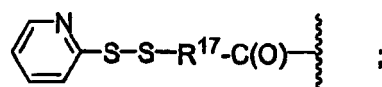
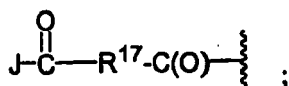
w es un número entero que varía de 0 a 12;

y es 0, 1 o 2; y

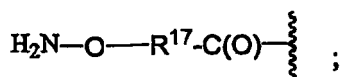
-A' se selecciona de



5



y



donde

10 G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

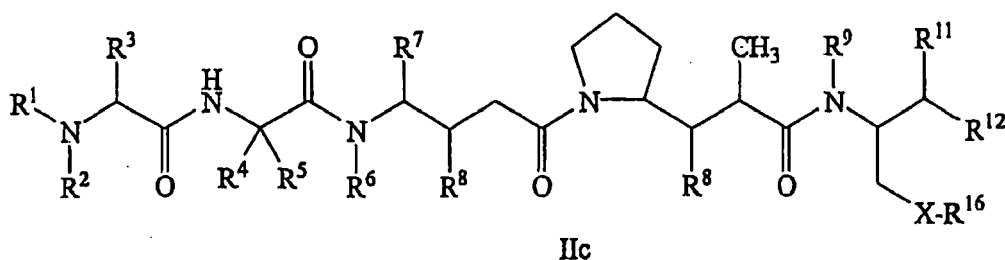
J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -OC(O)-OR¹⁸;

15 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)- y

-(CH₂CH₂O)-CH₂-; r es un número entero que varía de 1-10; y

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula IIc:



IIc

20 y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

R^1 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R^2 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R^1 y R^2 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

5 R^3 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), - arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterocilo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

R^4 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), - arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterocilo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo), donde R^5 se selecciona de -H y metilo;

10 o R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R^6 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R^7 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), - arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterocilo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

15 cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

20 R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R^{16} es -Y_w-W_w-A'

25 donde

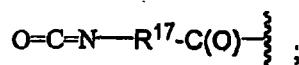
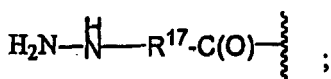
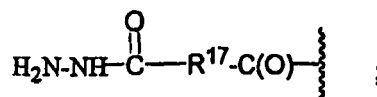
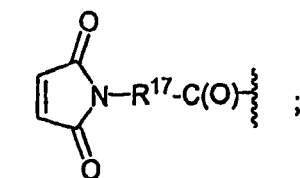
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

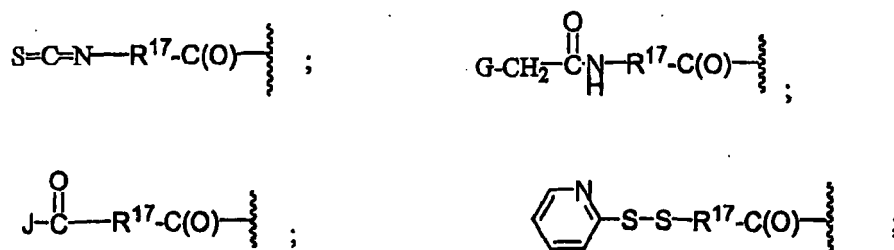
-Y- es una unidad de separador;

w es un número entero que varía de 0 a 12;

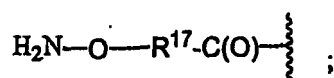
y es 0, 1 o 2; y

30 -A' se selecciona de





y

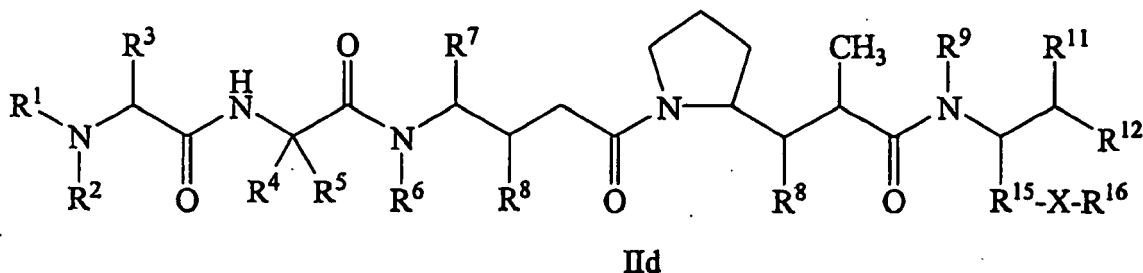


5 donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;10 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r y-(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía de 1-10; yR¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula II d:



15

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

20 R¹ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo;25 o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- en donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R^7 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

5 X es -O-, -S-, -NH- o -N(R^{14})-;

R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R^{14})₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

10 cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R^{15} es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-;

R^{16} es -Y_Y-W_W-A'

donde

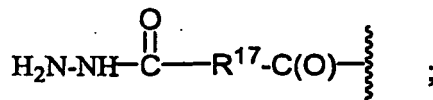
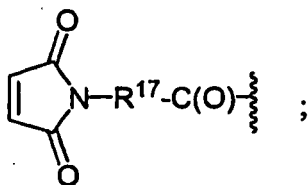
15 cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

-Y- es una unidad de separador;

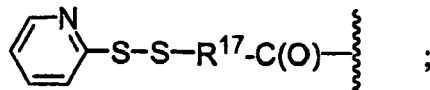
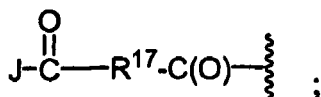
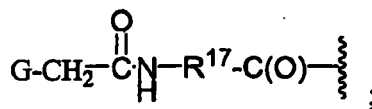
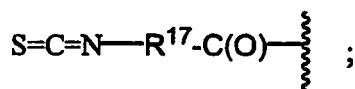
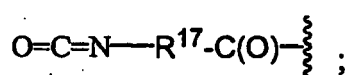
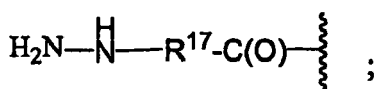
w es un número entero que varía de 0 a 12;

y es 0, 1 o 2; y

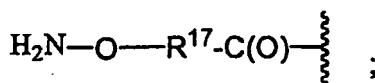
-A' se selecciona de



20



y



25

donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

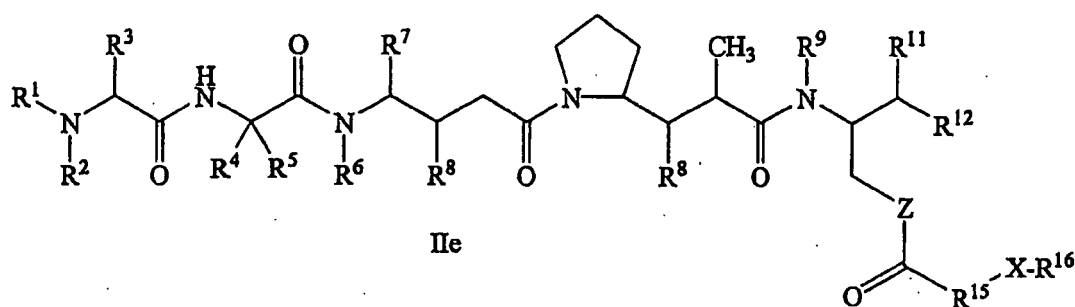
J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

5 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r- y

-(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía de 1-10; y

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula IIe:



10 y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

R¹ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

15 R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo;

20 o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

25 cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-

Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-

30 R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

35 R¹⁵ es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-;

R¹⁶ es -Y_Y-W_W-A'

donde

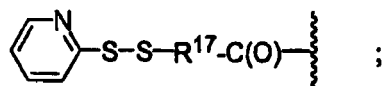
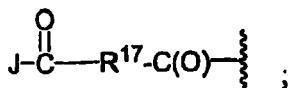
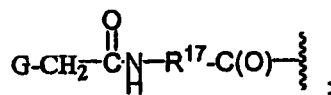
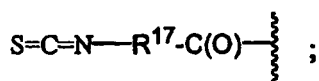
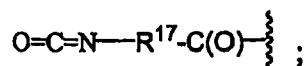
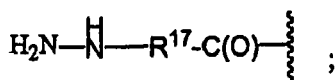
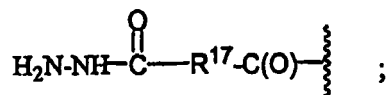
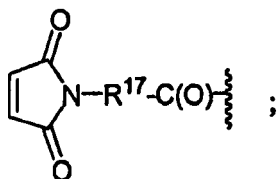
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

-Y- es una unidad de separador;

w es un número entero que varía de 0 a 12;

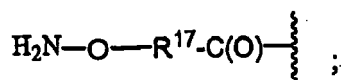
5 y es 0, 1 o 2; y

-A' se selecciona de



10

y



donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

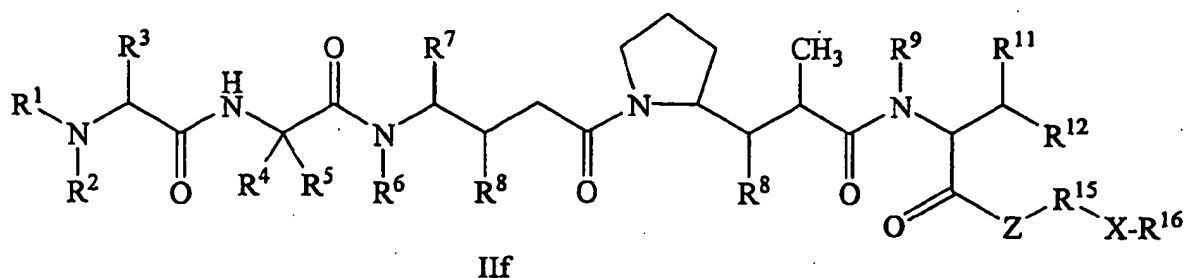
15 J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r y

20 -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía de 1-10; y

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula II f:

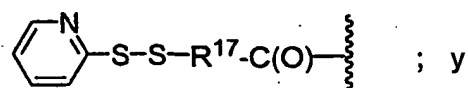
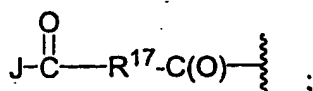
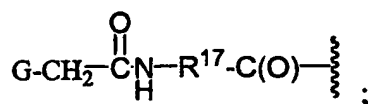
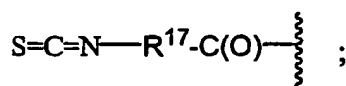
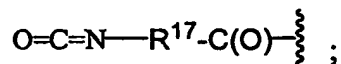
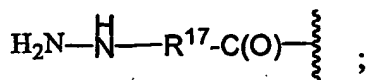
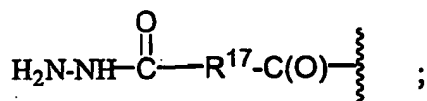
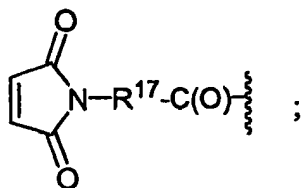


y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

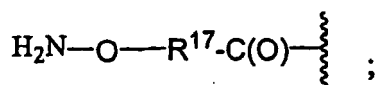
donde, de forma independiente en cada lugar:

- 5 R^1 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo; y R^2 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo; o R^1 y R^2 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ en donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, C_1-C_8 alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;
 R^3 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8$ alquilo), -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ carbociclo), $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ heterociclo);
- 10 R^4 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8$ alquilo), -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ carbociclo), $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ heterociclo) donde R^5 se selecciona de -H y -metilo;
 o R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;
- 15 R^6 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;
 R^7 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8$ alquilo), -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ carbociclo), $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ heterociclo);
 cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo y $-O-(C_1-C_8$ alquilo);
 R^9 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;
- 20 X es -O-, -S-, -NH- o $-N(R^{14})-$;
 Z es -O-, -S-, -NH- o $-N(R^{14})-$;
 R^{11} se selecciona de -H, -OH, $-NH_2$, $-NHR^{14}$, $-N(R^{14})_2$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8$ alquilo), -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ carbociclo), $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo ($C=O$) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble ($C=O$);
- 25 cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y $-C_3-C_8$ heterociclo;
 cada R^{14} es independientemente -H o $-C_1-C_8$ alquilo;
 R^{15} es -arileno-, $-C_3-C_8$ carbociclo- o $-C_3-C_8$ heterociclo-;
 R^{16} es $-Y_W-W-A'$
- 30 donde
 cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;
 -Y- es una unidad de separador;
 w es un número entero que varía de 0 a 12;
 y es 0, 1 o 2; y

-A' se selecciona de



5



donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

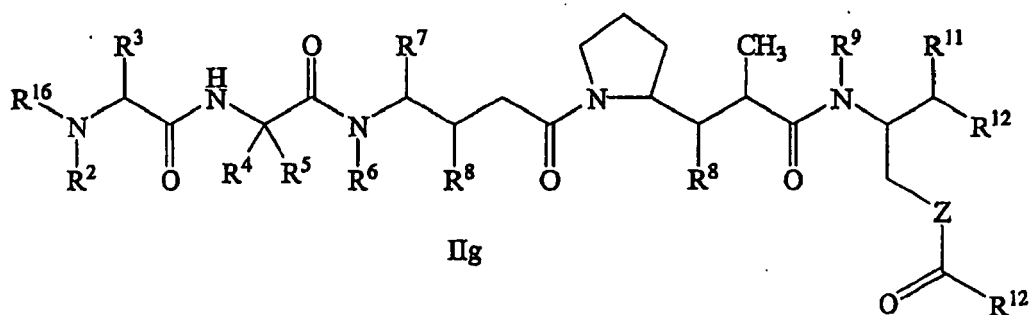
10 J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquilen-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquilen-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquilen-, -C₁-C₁₀ alquilen-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquilen-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquilen-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquilen-, -(CH₂CH₂O)- y

$-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r\text{-CH}_2\text{-}$; r es un número entero que varía de 1-10; y

15 R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula IIg:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos donde, independientemente en cada lugar:

R^2 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

R^3 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo);

- 5 R^4 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo) donde R^5 se selecciona de -H y -metilo;

o R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R^6 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

- 10 R^7 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo y $-O-(C_1-C_8)$ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

Z es $-O-$, $-S-$, $-NH-$ o $-N(R^{14})-$;

- 15 R^{11} se selecciona de -H, -OH, $-NH_2$, $-NHR^{14}$, $-N(R^{14})_2$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo ($C=O$) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble ($C=O$);

cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y $-C_3-C_8$ heterociclo;

- 20 cada R^{14} es independientemente -H o $-C_1-C_8$ alquilo;

R^{16} es $-Y_W-W-A'$

donde

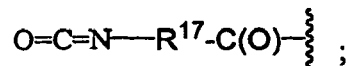
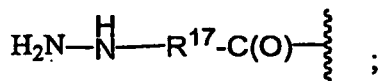
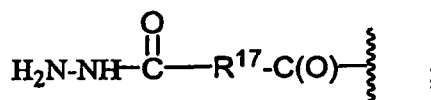
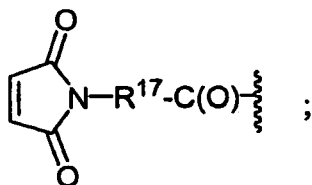
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

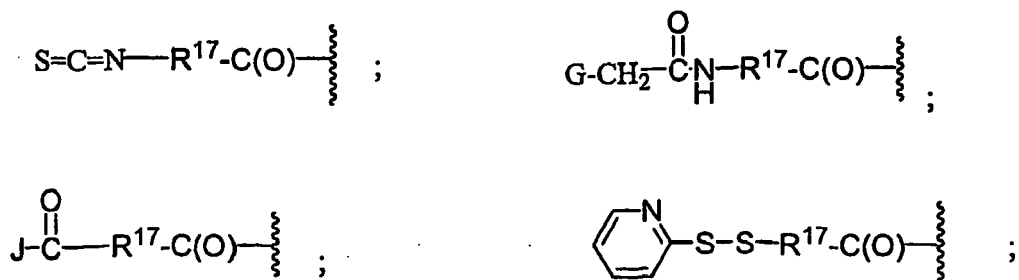
-Y- es una unidad de separador;

- 25 w es un número entero que varía de 0 a 12;

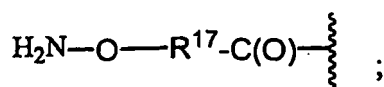
y es 0, 1 o 2; y

-A' se selecciona de





y

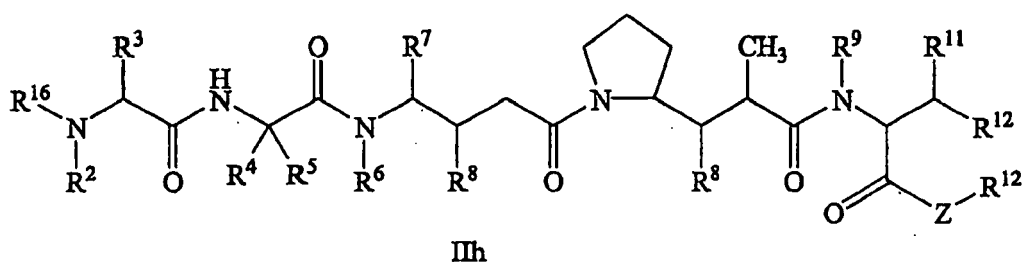


5 donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;10 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r y-(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía de 1-10; yR¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula IIIh:



15

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;20 R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo; oR⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;25 R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

- 5 R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

- 10 R^{16} es -Y_w-W_w-A'

donde

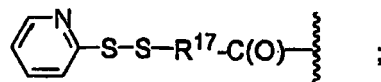
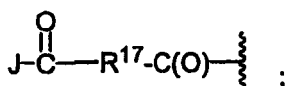
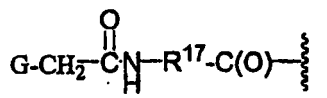
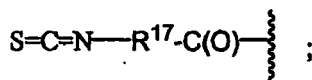
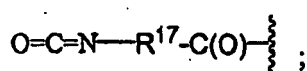
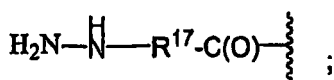
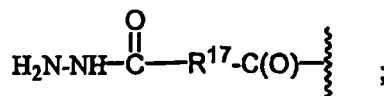
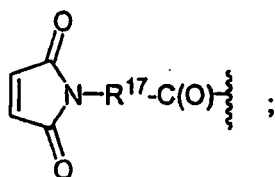
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

-Y- es una unidad de separador;

w es un número entero que varía de 0 a 12;

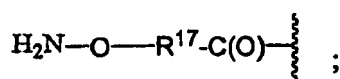
- 15 y es 0, 1 o 2; y

-A' se selecciona de



20

y



donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

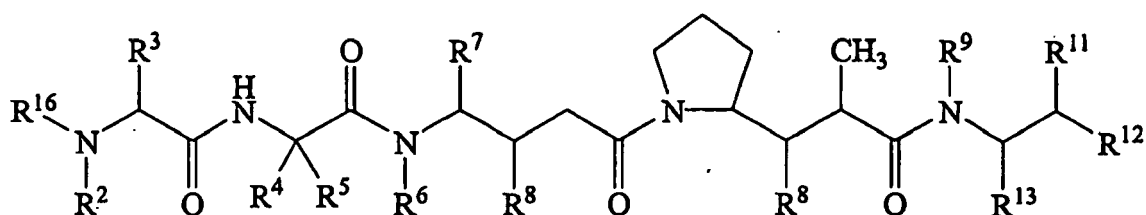
J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

5 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r- y

-(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía de 1-10; y

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula



III

10 y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

15 R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo; o

R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

20 R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

25 R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

30 R¹³ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁶ es -Y_r-W_w-A'

donde

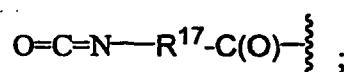
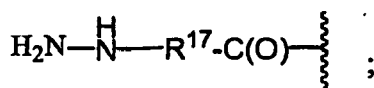
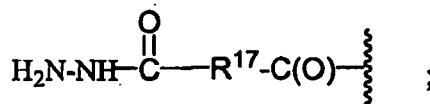
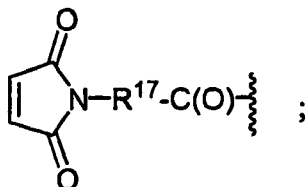
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

35 -Y- es una unidad de separador;

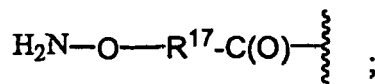
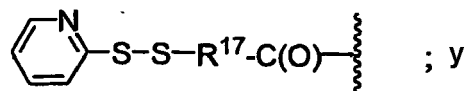
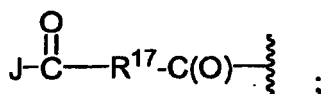
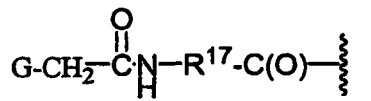
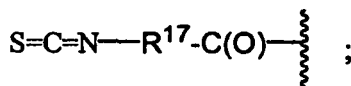
w es un número entero que varía de 0 a 12;

y es 0, 1 o 2; y;

-A' se selecciona de



5



donde

10 G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

15 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r y

-(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía de 1-10; y

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

20 Un compuesto de la fórmula IIa-i o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo (un "compuesto de fármaco-conector") es útil para tratar el cáncer, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa en un animal o sirve como intermediario para la síntesis de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones que comprenden una cantidad eficaz de un conjugado de fármaco-conector-ligando y un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable.

También se describen composiciones que comprenden una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector y un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable.

25 También se describen métodos para eliminar o inhibir la multiplicación de una célula tumoral o célula cancerosa, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector.

También se describen métodos para eliminar o inhibir la multiplicación de una célula tumoral o célula cancerosa, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

5 También se describen métodos para tratar el cáncer, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector.

También se describen métodos para tratar el cáncer, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

10 También se describen métodos para eliminar o inhibir la replicación de una célula que exprese un anticuerpo autoinmune, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector.

También se describen métodos para eliminar o inhibir la replicación de una célula que exprese un anticuerpo autoinmune, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

15 También se describen métodos para tratar una enfermedad autoinmune, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector.

También se describen métodos para tratar una enfermedad autoinmune, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

También se describen métodos para tratar una enfermedad infecciosa, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector.

20 También se describen métodos para tratar una enfermedad infecciosa, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

También se describen métodos para prevenir la multiplicación de una célula tumoral o célula cancerosa, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector.

25 También se describen métodos para prevenir la multiplicación de una célula tumoral o célula cancerosa, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

También se describen métodos para prevenir el cáncer, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector.

30 También se describen métodos para prevenir el cáncer, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

También se describen métodos para prevenir la multiplicación de una célula que exprese un anticuerpo autoinmune, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector.

35 También se describen métodos para prevenir la multiplicación de una célula que exprese un anticuerpo autoinmune, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

También se describen métodos para prevenir una enfermedad autoinmune, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector.

40 También se describen métodos para prevenir una enfermedad autoinmune, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

También se describen métodos para prevenir una enfermedad infecciosa, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de fármaco-conector.

También se describen métodos para prevenir una enfermedad infecciosa, que comprenden administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

45 También se describe un compuesto de fármaco-conector que puede ser utilizado como producto intermedio para la síntesis de un conjugado de fármaco-conector-ligando.

La presente invención se puede entender con más detalle con referencia a la siguiente descripción detallada, las figuras y los ejemplos ilustrativos, que están destinados a ilustrar las realizaciones de la invención.

4. DESCRIPCION BREVE DE LOS DIBUJOS

FIG. 1 muestra la citotoxicidad del compuesto **49** y del compuesto **53** contra la línea celular H3396. La línea -D- representa el compuesto **49** y la línea -o- representa el compuesto **53**.

5 FIG. 2 muestra la citotoxicidad de los compuestos **64**, **65**, **68** y **69** contra la línea celular H3396. La línea -♦- representa el compuesto **64**, la línea -■- representa el compuesto **65**, la línea -▲- representa el compuesto **68**, y la línea -X- representa el compuesto **69**.

FIG. 3 muestra la citotoxicidad de los compuestos **64**, **65**, **68** y **69** contra la línea celular HCT-116. La línea -♦- representa el compuesto **64**, la línea -■- representa el compuesto **65**, la línea -▲- representa el compuesto **68**, y la línea -X- representa el compuesto **69**.

10 FIG. 4 muestra la citotoxicidad de los compuestos **66** y **68** contra la línea celular H3396. La línea -□- representa el compuesto **66** y la línea -*- representa el compuesto **68**.

FIG. 5 muestra la citotoxicidad de los compuestos **66**, **68** y **69** contra la línea celular colorrectal humana Karpas. La línea -♦- representa el compuesto **66**, la línea -▲- representa el compuesto **68** y la línea -X- representa el compuesto **69**.

15 FIG. 6 muestra la citotoxicidad de los compuestos **66** y **67** contra la línea celular H3396 en función de la duración de exposición.

Las células se expusieron a los conjugados durante todo el tiempo que duró el ensayo, sin lavar (96 horas), o fueron expuestas a los conjugados durante 2 horas, lavadas y luego incubadas durante otras 94 horas. Al final del período de 96 horas, las células fueron pulsadas con azul Alamar para determinar la viabilidad celular. La línea -0- representa el compuesto **66** con una exposición de 2 h, la línea -- representa el compuesto **67** con una exposición de 2 h, la línea -*- representa el compuesto **66** con una exposición de 96 h, y la línea - - representa el compuesto **67** con una exposición de 96 h.

20 FIG. 7 muestra el efecto de los compuestos **66-69** en el crecimiento de tumores en un aloinjerto de adenocarcinoma pulmonar humano L2987, que se implantaron en ratones atímicos. La línea -X- representa el tumor sin tratar, la línea -▼- representa el compuesto **66**, la línea -♦- representa el compuesto **68**, la línea -V- representa el compuesto **67** y la línea -0- representa el compuesto **69**.

25 FIG. 8 muestra los efectos de los compuestos **66-69** en el crecimiento de tumores en un aloinjerto de linfoma de células grandes anaplásico humano que se implantaron en ratones atímicos. La línea -X- representa el tumor sin tratar, la línea -A- representa el compuesto **67**, la línea -*- representa el compuesto **69**, la línea -Δ- representa el compuesto **66** y la línea -o- representa el compuesto **68**.

5. DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

5.1 DEFINICIONES

Los ejemplos de un "animal" incluyen, aunque no exclusivamente, humano, rata, ratón, cobaya, mono, cerdo, cabra, vaca, caballo, perro, gato, pájaro y aves de corral.

35 "Ariilo" se refiere a un grupo aromático carbocíclico. Los ejemplos de grupos ariilo incluyen, aunque no exclusivamente, fenilo, naftilo y antracenilo. Un grupo aromático carbocíclico o un grupo aromático heterocíclico puede estar sustituido o no sustituido con uno o más grupos, incluyendo, aunque no exclusivamente, -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN, donde cada R' se selecciona independientemente de -C₁-C₈ alquilo y ariilo.

40 El término "C₁-C₈ alquilo", como se usa aquí se refiere a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada, saturado o insaturado que tiene de 1 a 8 átomos de carbono. Los grupos "C₁-C₈ alquilo" representativos incluyen, aunque no exclusivamente, -metilo, -etilo, -n-propilo, -n-butilo, -n-pentilo, -n-hexilo, -n-heptilo, -n-octilo, -n-nonilo y -n-decilo; mientras que los C₁-C₈ alquilos ramificados incluyen, aunque no exclusivamente, -isopropilo, -sec-butilo, -isobutilo, -terc-butilo, -isopentilo, 2-metilbutilo, los C₁-C₈ alquilos insaturados incluyen, aunque no exclusivamente, -vinilo, -alilo, -1-butenilo, -2-butenilo, -isobutilenilo, -1-pentenilo, -2-pentenilo, -3-metil-1-butenilo, -2-metil-2-butenilo, -2,3-dimetil-2-butenilo, 1-hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, -acetilenilo, -propinilo, -1-butinilo, -2-butinilo, -1-pentinilo, -2-pentinilo, -3-metil-1-butinilo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, isohexilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, 3,3-dimetilpentilo, 2,3,4-trimetilpentilo, 3-metilhexilo, 2,2-dimetilhexilo, 2,4-dimetilhexilo, 2,5-dimetilhexilo, 3,5-dimetilhexilo, 2,4-dimetilpentilo, 2-metilheptilo, 3-metilheptilo, n-heptilo, isoheptilo, n-octilo, e isooctilo. Un grupo C₁-C₈ alquilo puede estar sustituido o no sustituido con uno o más grupos, incluyendo, aunque no exclusivamente, -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -

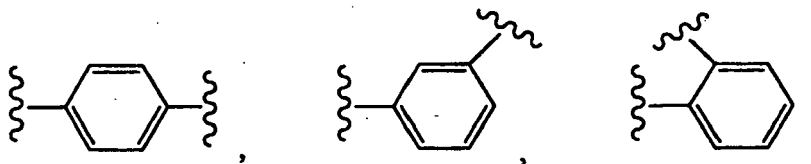
NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN, donde cada R' se selecciona independientemente de -C₁-C₈ alquilo y arilo.

Un "C₃-C₈ carbociclo" es un anillo de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros carbocíclico no aromático saturado o insaturado. Los C₃-C₈ carbociclos representativos incluyen, aunque no exclusivamente, -ciclopropilo, -ciclobutilo, -ciclopentilo, -ciclopentadienilo, -ciclohexilo, -ciclohexenilo, -1,3-ciclohexadienilo, -1,4-ciclohexadienilo, -cicloheptilo, -1,3-cicloheptadienilo, -1,3,5-cicloheptatrienilo, -ciclooctilo y -ciclooctadienilo. Un grupo C₃-C₈ carbociclo puede estar sustituido o no sustituido con uno o más grupos, incluyendo, aunque no exclusivamente, -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN, donde cada R' se selecciona independientemente de -C₁-C₈ alquilo y arilo.

Un "C₃-C₈ carbociclo" se refiere a un grupo C₃-C₈ carbociclo definido arriba donde uno de los átomos de hidrógeno de los grupos carbociclo es sustituido por un enlace.

Un "C₁-C₁₀ alquilenos" es un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal de la fórmula -(CH₂)₁₋₁₀-. Los ejemplos de un grupo C₁-C₁₀ alquilenos incluyen metileno, etileno, propileno, butileno, pentileno, hexileno, heptileno, octileno, nonileno y decaleno.

Un "arileno" es un grupo arilo que tiene dos enlaces covalentes y pueden estar en las configuraciones orto, meta, o para como se muestra en las siguientes estructuras:



en el que el grupo fenilo puede estar sustituido o no sustituido con hasta cuatro grupos, incluyendo, aunque no exclusivamente, -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN, donde cada R' se selecciona independientemente de -C₁-C₈ alquilo y arilo.

Un "C₃-C₈ heterociclo" se refiere a un carbociclo aromático o no aromático C₃-C₈ en el que de uno a cuatro de los átomos de carbono son independientemente sustituidos por un heteroátomo del grupo formado por O, S y N. Los ejemplos representativos de un C₃-C₈ heterociclo incluyen benzofuranilo, benzotiofeno, indolilo, benzopirazolilo, cumarinilo, isoquinolinilo, pirrolilo, tiofenilo, furanilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, quinolinilo, pirimidinilo, piridinilo, piridonilo, pirazinilo, piridazinilo, isotiazolilo, isoxazolilo y tetrazolilo. Un grupo C₃-C₈ heterociclo puede estar sustituido o no sustituido con hasta siete grupos, incluyendo, -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN, donde cada R' se selecciona independientemente de -C₁-C₈ alquilo y arilo.

Un "C₃-C₈ heterociclo" se refiere a un grupo C₃-C₈ heterociclo definido arriba donde uno de los átomos de hidrógeno de los grupos heterociclo es sustituido por un enlace. Un grupo C₃-C₈ heterociclo puede estar sustituido o no sustituido con hasta seis grupos, incluyendo -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN, donde cada R' se selecciona independientemente de -C₁-C₈ alquilo y arilo.

Un "compuesto de la invención" es un compuesto de fármaco-conector o un conjugado de fármaco-conector-ligando.

En una forma de realización, los compuestos de la invención están en forma aislada o purificada. Como se usa aquí, "aislado", significa separado de los demás componentes de (a) una fuente natural, tal como una célula vegetal o animal o cultivo celular, o (b) una mezcla de reacción química orgánica sintética. Como se usa aquí, "purificado" significa que cuando se aísla, el aislado contiene al menos el 95%, preferentemente al menos 98%, de un compuesto de la invención en peso del producto aislado.

Los ejemplos de un "grupo protector hidroxilo" incluyen, éter metoximetílico, éter 2-metoxietoximetílico, éter tetrahidropirranílico, éter bencílico, éter p-metoxibencílico, éter trimetilsilílico, éter triisopropilsilílico, éter t-butildimetilsilílico, éter trifenilmetsilílico, éster de acetato, ésteres de acetato sustituidos, pivalato, benzoato, metanosulfonato y p-toluenosulfonato.

"Grupo saliente" se refiere a un grupo funcional que puede estar sustituido por otro grupo funcional. Tales grupos salientes son muy conocidos en la técnica, y los ejemplos incluyen, un haluro (por ejemplo, cloruro, bromuro, yoduro), metanosulfonilo (mesilo), p-toluenosulfonilo (tosilo), trifluorometilsulfonilo (triflato), y trifluorometilsulfonato.

El término "anticuerpo", como se usa aquí, se refiere a una molécula de inmunoglobulina de longitud completa o una parte inmunológicamente activa de una molécula de inmunoglobulina de longitud completa, es decir, una molécula que contiene un sitio de unión del antígeno que se une inmuno-específicamente a un antígeno de una diana de interés o parte de la misma, y estas dianas incluyen células cancerosas o células que producen autoanticuerpos autoinmunes asociados con una enfermedad autoinmune. La inmunoglobulina descrita en la presente memoria puede ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase de molécula de inmunoglobulina. Las inmunoglobulinas pueden provenir de cualquier especie. Preferiblemente, sin embargo, la inmunoglobulina es de origen humano, murino o de conejo. Los anticuerpos útiles en la invención son monoclonales, e incluyen, anticuerpos policlonales, monoclonales, 5 bis-específicos, humanos, humanizados o quiméricos, anticuerpos monocatenarios, fragmentos Fv, Fab, fragmentos F(ab'), fragmentos F(ab')₂, fragmentos producidos por una biblioteca de expresión Fab, anticuerpos anti-idiotipo (anti-id), CDR, y fragmentos de unión de epítopos de cualquiera de los anteriores que se una inmuno-específicamente a antígenos de células cancerosas, antígenos virales o antígenos microbianos.

La frase "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa aquí, se refiere a sales orgánicas o inorgánicas farmacéuticamente aceptables de un compuesto de la invención. Los compuestos de la invención contienen al menos un grupo amino, y en consecuencia, se pueden formar sales de adición ácidas con este grupo amino. Las sales preferidas incluyen sales de sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato ácido, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formato, benzoato, 10 glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato y pamoato (es decir, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). Una sal farmacéuticamente aceptable puede implicar la inclusión de otra molécula como un ion de acetato, un ion de succinato u otros contraiones. El contraión puede ser cualquier resto orgánico o inorgánico que estabilice la carga en el compuesto original. Además, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener más de un átomo cargado en su estructura. Los casos en que varios átomos cargados son parte de la sal farmacéuticamente aceptable pueden tener varios contraiones. Así pues, una sal farmacéuticamente 25 aceptable puede tener uno o más átomos cargados y/o uno o más contraiones.

"Solvato farmacéuticamente aceptable" se refiere a una asociación de una o más moléculas solventes y un compuesto de la invención. Los ejemplos de solventes que forman solvatos farmacéuticamente aceptables incluyen, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético y etanolamina.

En el contexto del cáncer, el término "tratamiento" incluye cualquiera o todo de lo siguiente: prevenir el crecimiento de células tumorales o células cancerosas, prevenir la replicación de las células tumorales o células cancerosas, disminuir el volumen total del tumor y mejorar uno o más síntomas asociados con la enfermedad.

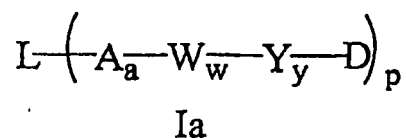
En el contexto de una enfermedad autoinmune, el término "tratamiento" incluye cualquiera o todo de lo siguiente: prevenir la replicación de las células asociadas con un estado de enfermedad autoinmune, incluyendo, aunque no exclusivamente, las células capaces de producir un anticuerpo autoinmune, disminuir la cantidad de anticuerpos autoinmunes y mejorar uno o más síntomas de una enfermedad autoinmune.

En el contexto de una enfermedad infecciosa, el término "tratamiento" incluye cualquiera o todo de lo siguiente: prevenir el crecimiento, multiplicación o replicación del patógeno que causa la enfermedad infecciosa y mejorar uno o más síntomas de una enfermedad infecciosa.

Las siguientes abreviaturas se utilizan en la presente memoria y tienen las definiciones que se indican: AE es auristatina E, Boc es *N*-(*t*-butoxicarbonilo), cit es citrulina, dap es dolaproina, DCC es 1,3-diciclohexilcarbodiimida, DCM es diclorometano, DEA es dietilamina, DEAD es dietilazodicarboxilato, DEPC es dietilfosforilcianidato, DIAD es diisopropilazodicarboxilato, DIEA es *N,N*-diisopropiletilamina, dil es dolaisoleuina, DMAP es 4-dimetilaminopiridina, DME es éter dimetílico de etilenglicol (o 1,2-dimetoxietano), DMF es *N,N*-dimetilformamida, DMSO es 30 dimetilsulfóxido, doe es dolafenina, dov es *N,N*-dimetilvalina, DTNB es 5,5'-ditiobis(ácido 2-nitrobenzoico), DTPA es ácido dietilentriaminopentaacético, DTT es ditiotreitól, EDCI es hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, EEDQ es 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina, ES-MS es espectrometría de masas con electrospray, EtOAc es acetato de etilo, Fmoc es *N*-(9-fluorenilmetoxicarbonilo), gly es glicina, HATU es hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N,N'*-tetrametiluronio, HOBt es 1-hidroxibenzotriazol, HPLC es cromatografía líquida de alta presión, ile es isoleucina, lys es lisina, MeCN es acetonitrilo, MeOH es metanol, Mtr es 4-anisildifenilmetilo (o 4-metoxitritilo), nor es (1*S*,2*R*)-(+)-norefedrina, PAB es *p*-aminobencilo, PBS es solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4), PEG es polietilenglicol, Ph es fenilo, Pnp es *p*-nitrofenilo, MC es 6-maleimidocaproilo, Ph es fenilo, phe es *L*-fenilalanina, PyBop es hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidino-fosfonio, SEC es cromatografía de exclusión por tamaño, Su es succinimida, TFA es ácido trifluoroacético, TLC es 55 cromatografía de capa fina, UV es ultravioleta, val es valina.

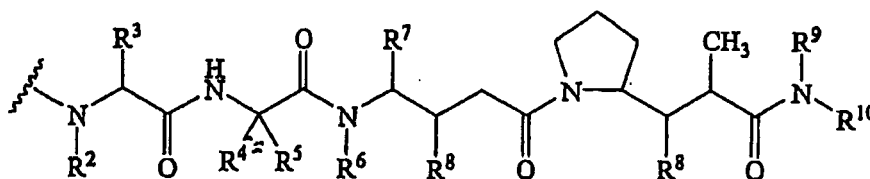
5.2 CONJUGADOS DE FÁRMACO-CONECTOR-LIGANDO

Como se ha indicado arriba, la invención proporciona compuestos de la fórmula Ia:



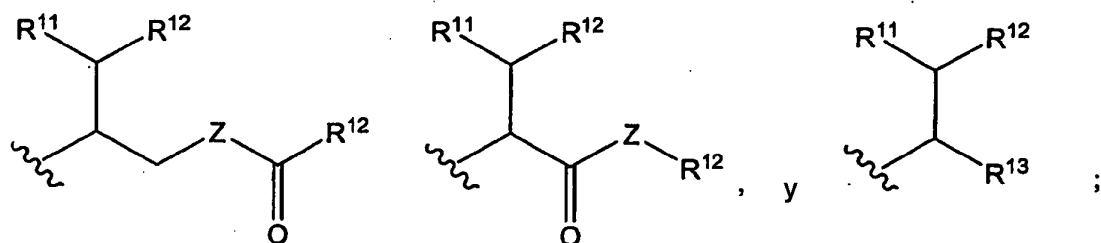
y sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos en los que

- 5 L- es una unidad de ligando;
 -A- es una unidad de extensor;
 a es 0 o 1;
 cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;
 -Y- es una unidad de separador;
 10 w es un número entero de 0 a 12;
 y es 0, 1 o 2;
 p varía de 1 a aproximadamente 20; y
 -D es una unidad de fármaco de la fórmula



- 15 donde, de forma independiente en cada lugar:
 R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;
 R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);
 20 R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo; o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;
 R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;
 25 R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);
 cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);
 R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁰ se selecciona de



Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

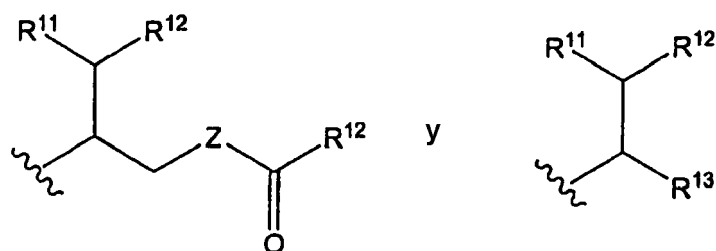
- 5 R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

- 10 R¹³ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo.

En una forma de realización R¹⁰ se selecciona de



En otra forma de realización, w es un número entero que varía de 2 a 12.

- 15 En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 8.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 3.

En otra forma de realización, p varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5.

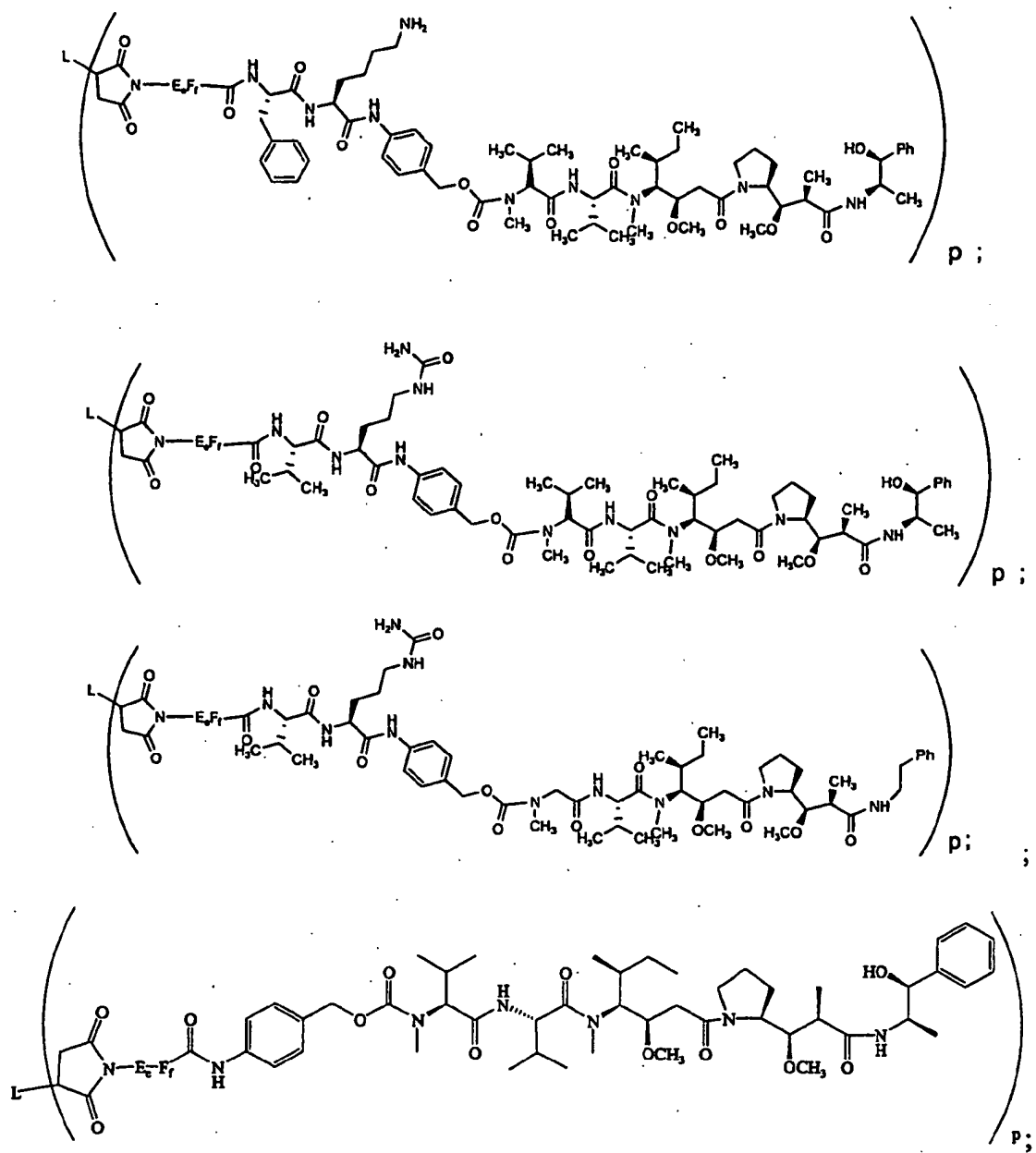
En otra forma de realización más, p varía de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

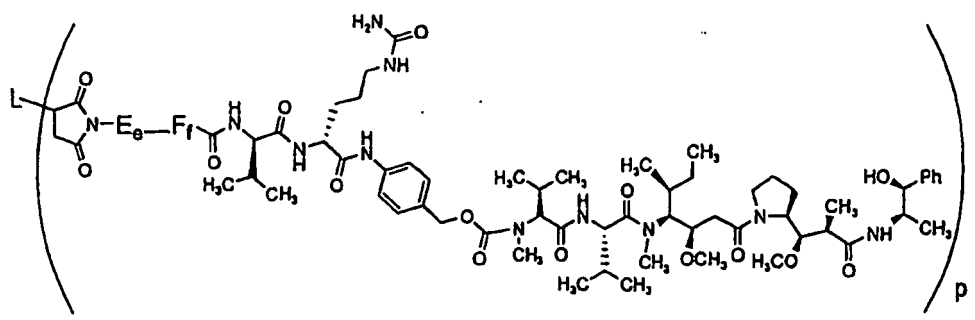
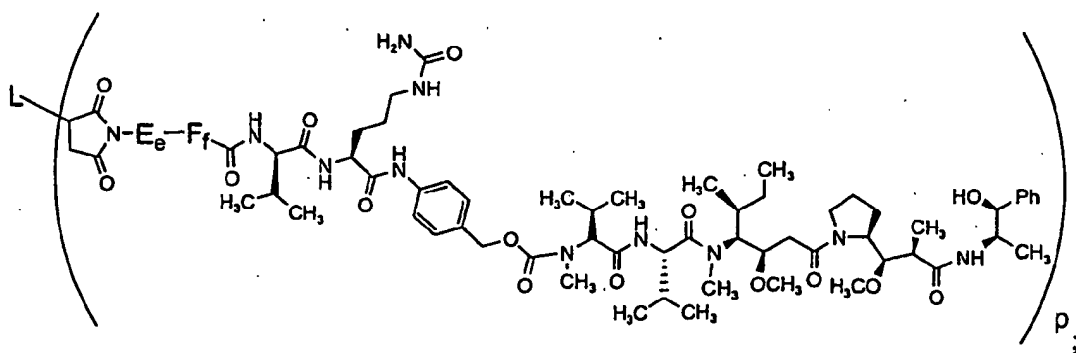
En otra forma de realización, p es aproximadamente 8.

- 20 En otra forma de realización, p es aproximadamente 4.

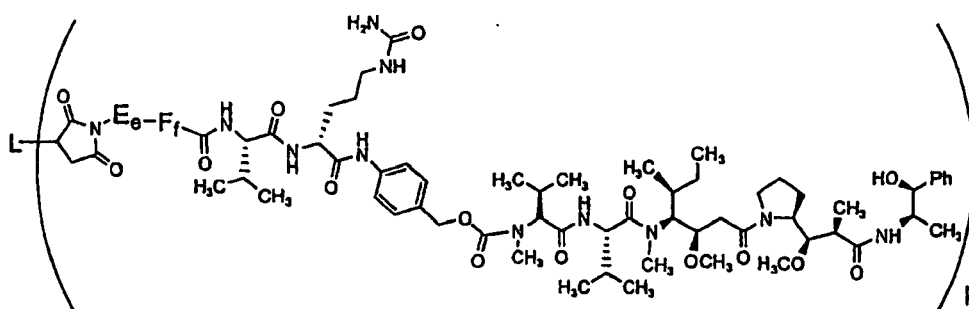
En otra forma de realización, p aproximadamente es 2.

Las clases ilustrativas de compuestos de la fórmula la tienen las estructuras:





y



5 y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde L es una unidad de ligando, E es $-\text{CH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, e es un número entero que varía de 0-10 cuando E es $-\text{CH}_2-$, o de 1-10 cuando E es $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, F es $-\text{CH}_2-$, f es 0 o 1, y p varía de 1 a aproximadamente 20.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 8.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 3.

10 En otra forma de realización, p varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5.

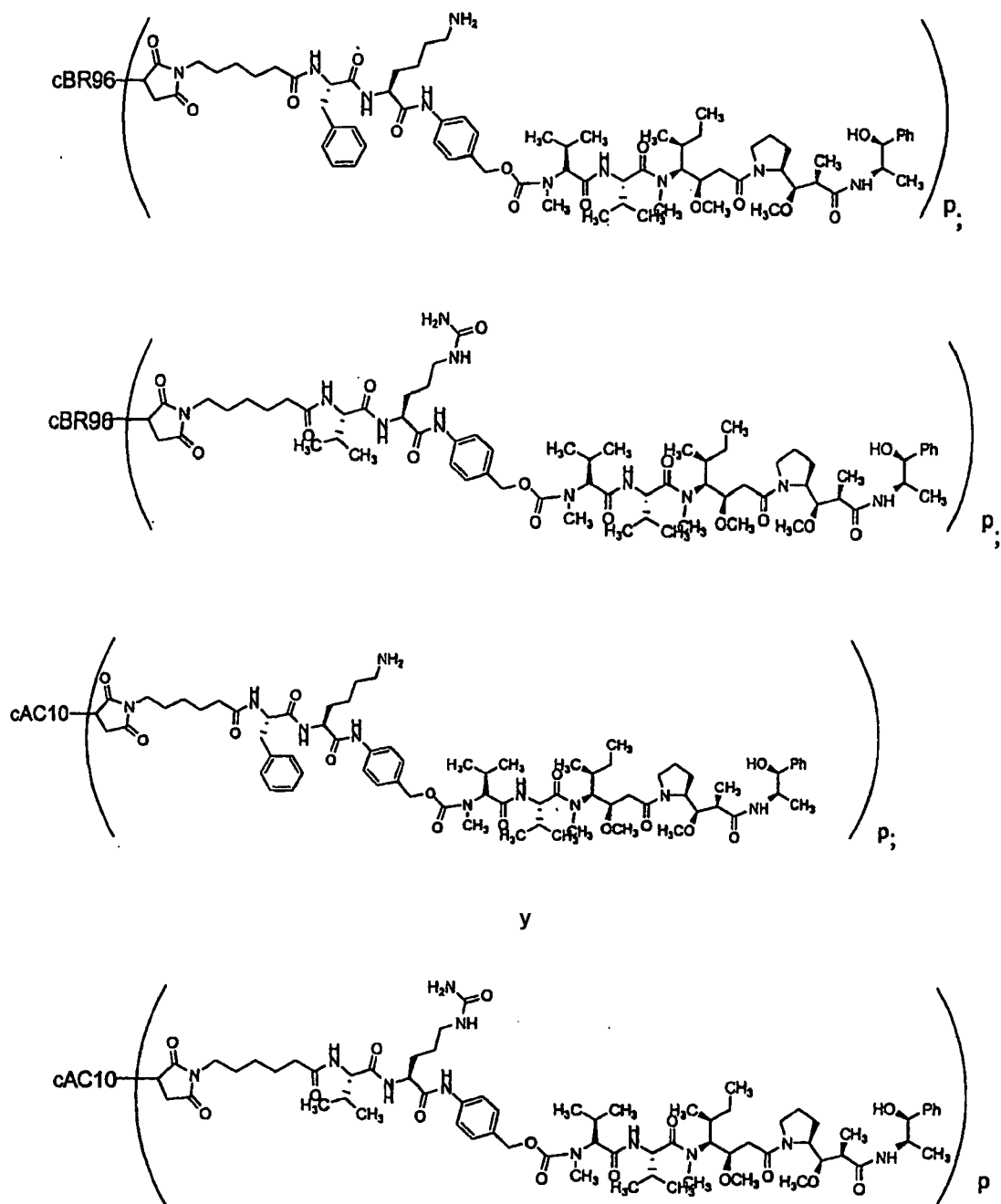
En otra forma de realización más, p varía de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 8.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 4.

En otra forma de realización, L es cBR96, cAC10 o 1F6.

Los compuestos ilustrativos de la fórmula la tienen la estructura:



5

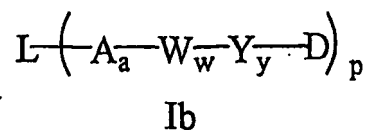
y

10 En otra forma de realización, p varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5. En otra forma de realización, p es aproximadamente 8.

En otra forma de realización más, p es aproximadamente 4.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 2.

La presente invención proporciona compuestos de la fórmula general Ib:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde,

5 L- es una unidad de ligando;

-A- es una unidad de extensor;

a es 0 o 1;

cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

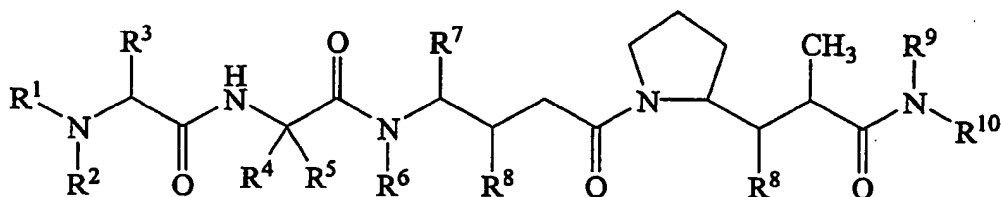
-Y- es una unidad de separador;

10 w es un número entero que varía de 2 a 12;

y es 0, 1 o 2;

p varía de 1 a aproximadamente 20; y

-D es una unidad de fármaco de la fórmula



15 donde, de forma independiente en cada lugar:

R¹ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o

R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

20 R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo;

25 o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₁-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

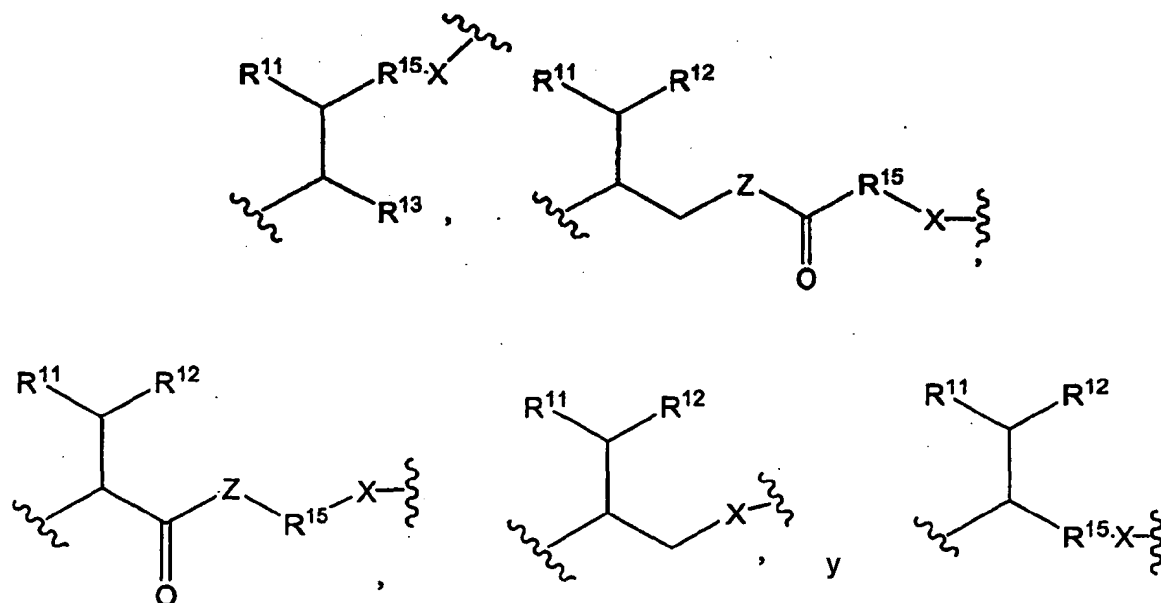
R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

30 cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁰ se selecciona de



X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-, donde X está unido a Y cuando y es 1 o 2, o X se une a W cuando y es 0;

5 Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

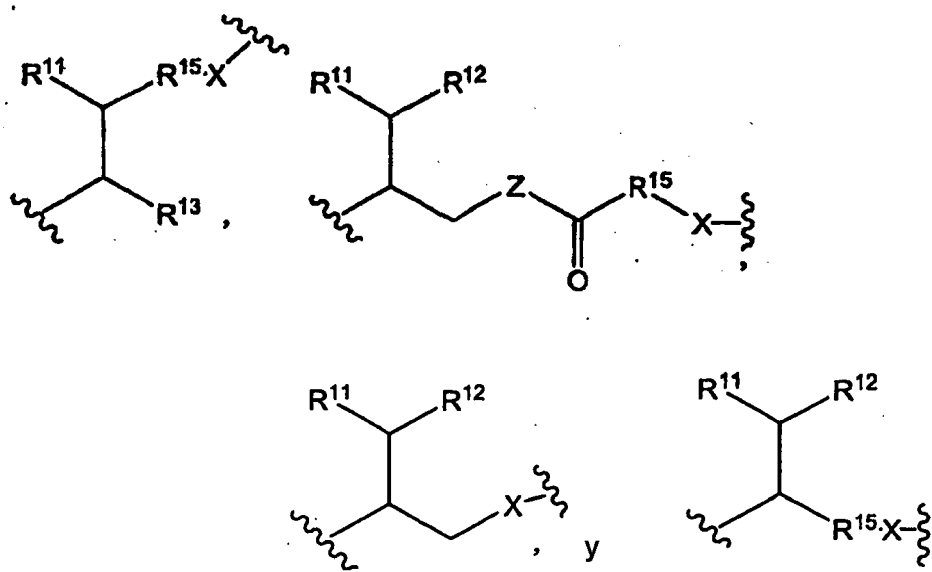
10 cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

R¹³ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo; y

R₁₅ es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-.

15 En una forma de realización, cuando R¹ es -H, R¹⁰ se selecciona de:



En otra forma de realización, w es un número entero que varía de 2 a 12.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 8.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 3.

En otra forma de realización, p varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5.

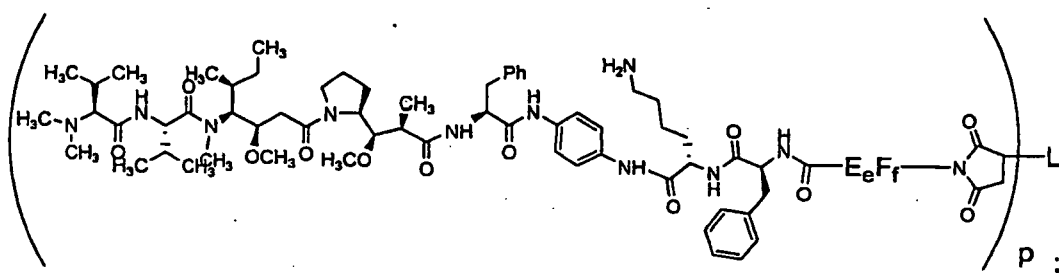
5 En otra forma de realización más, p varía de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 8.

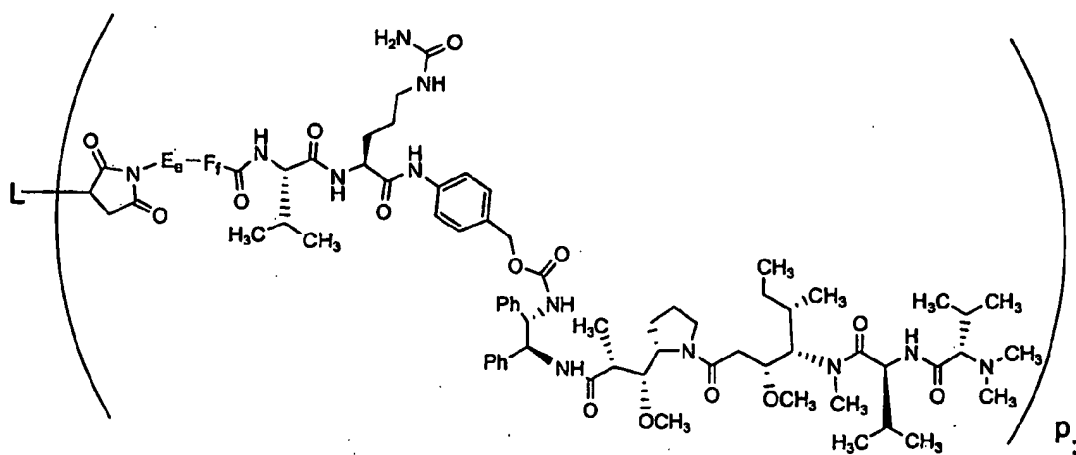
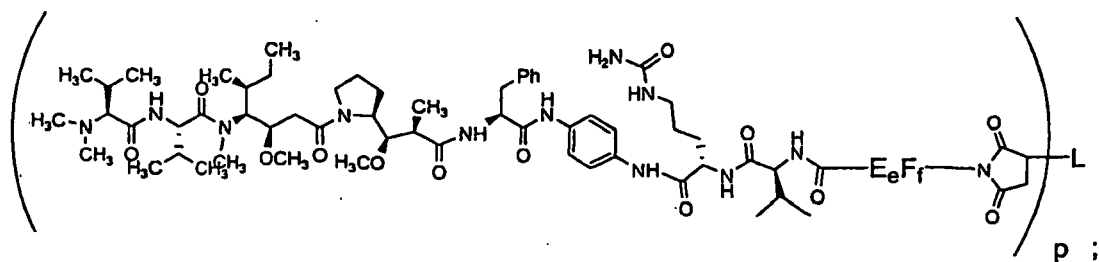
En otra forma de realización, p es aproximadamente 4.

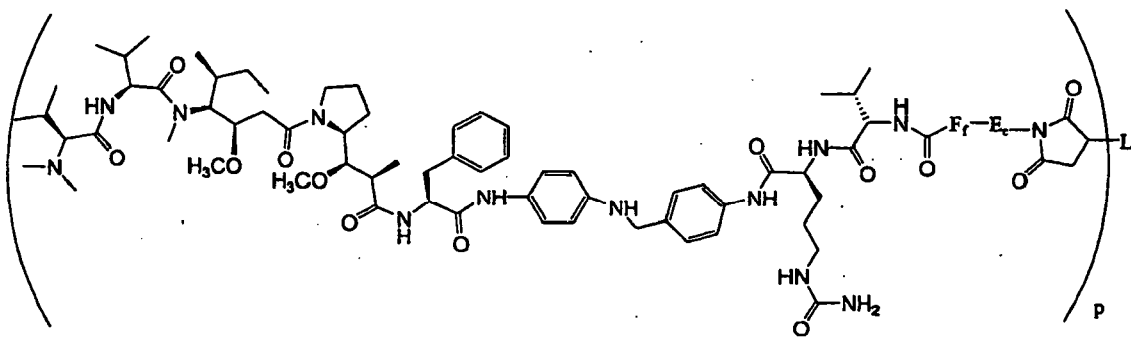
En otra forma de realización, p es aproximadamente 2.

Las clases ilustrativas de compuestos de la fórmula Ib tienen la estructura:

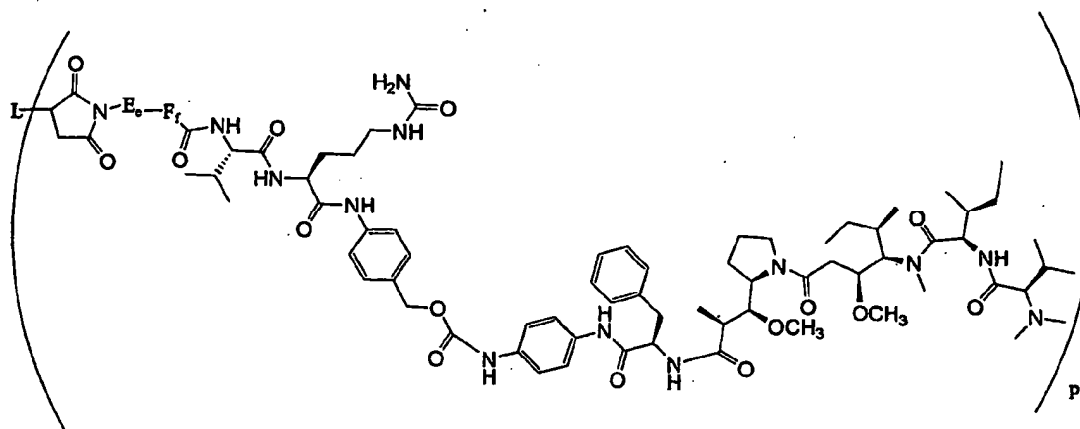


10





y



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

- 5 donde L es una unidad de ligando, E es $-\text{CH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, e es un número entero entre 0-10 cuando E es $-\text{CH}_2-$, o entre 1-10 cuando E es $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, F es $-\text{CH}_2-$, f es 0 o 1, y p varía de 1 a aproximadamente 20.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 8.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 3.

En otra forma de realización, p varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5.

- 10 En otra forma de realización más, p varía de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

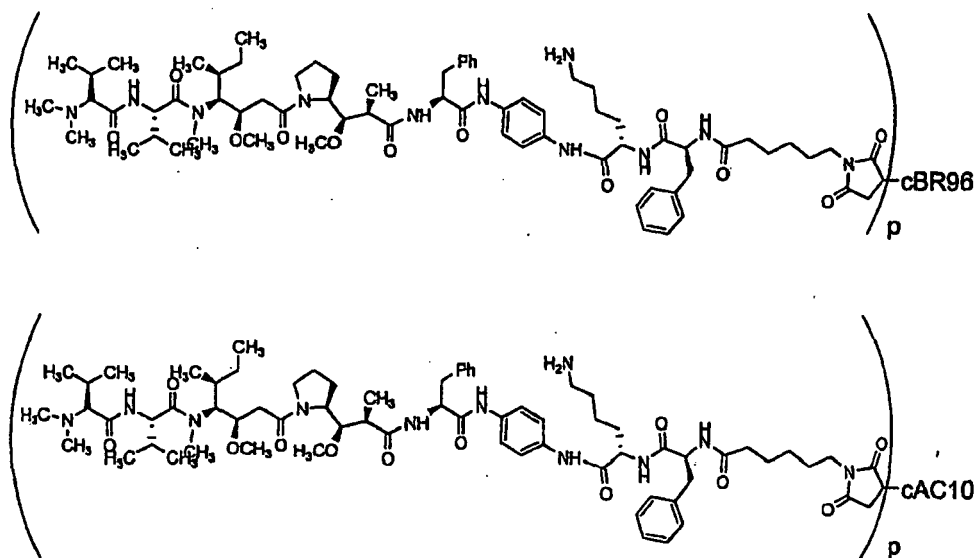
En otra forma de realización, p es aproximadamente 8.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 4.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 2.

En otra forma de realización, L es cBR96, cAC10 o 1F6.

Los compuestos ilustrativos de la fórmula Ib tienen la estructura:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

5 donde p varía de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

En una forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 3.

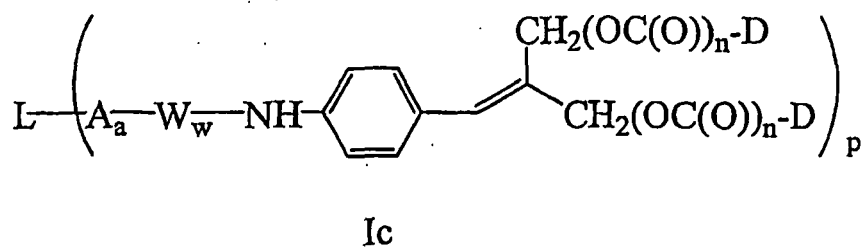
En otra forma de realización, p varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 8.

En otra forma de realización más, p es aproximadamente 4.

10 En otra forma de realización, p es aproximadamente 2.

También se describen los compuestos de la fórmula general Ic:



L- es una unidad de ligando;

-A- es una unidad de extensor;

15 a es 0 o 1;

cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

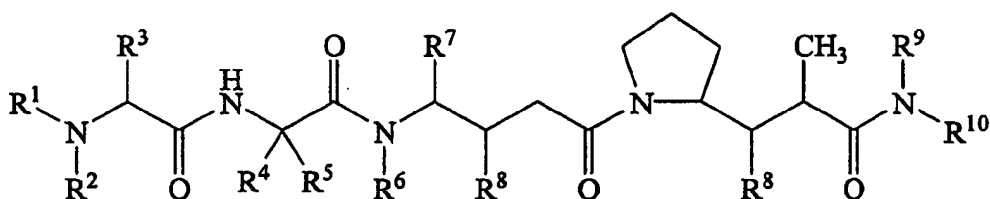
w es un número entero que varía de 0 a 12;

cada n es independientemente 0 o 1;

p varía de 1 a aproximadamente 20; y

20 cada -D- es independientemente:

(a) una unidad de fármaco de la fórmula:



donde, de forma independiente en cada lugar:

5 R^1 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R^2 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R^1 y R^2 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

R^3 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

10 R^4 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); donde R^5 se selecciona de -H y -metilo; o R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

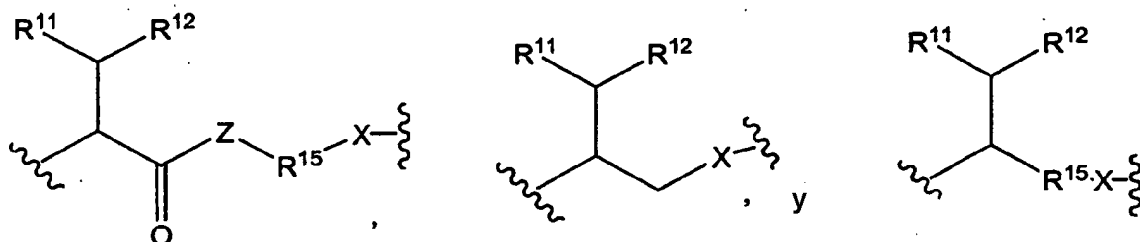
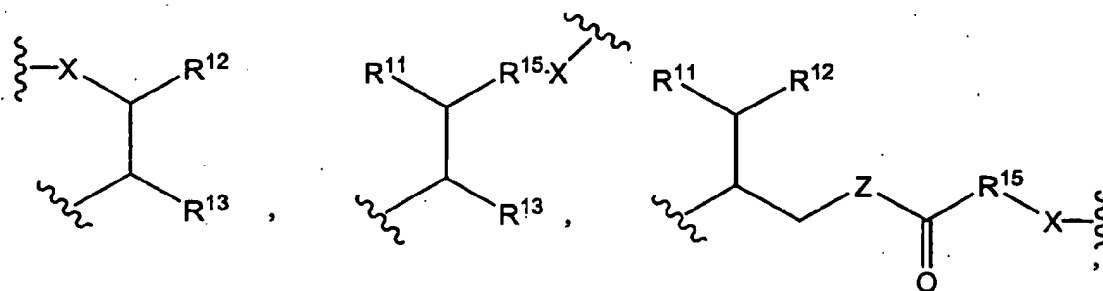
R^6 se selecciona de -H y C₁-C₈ alquilo;

15 R^7 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R^{10} se selecciona de



20

X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-, donde X se une a -C(O)- cuando y es 1 o 2, o X se une a -CH₂- cuando n es 0;

Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo ($C=O$) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble ($C=O$);

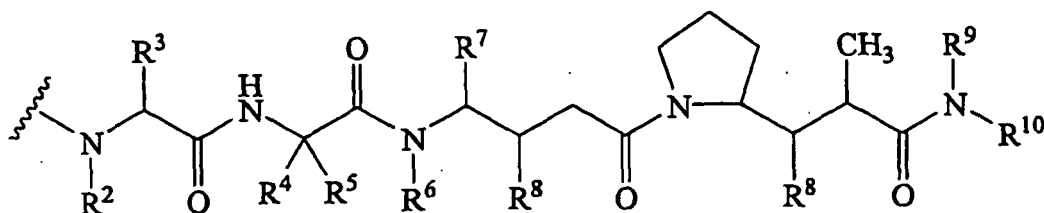
cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y - C_3 - C_8 heterociclo;

5 R^{13} se selecciona de -H, -OH, - NH_2 , - NHR^{14} , - $N(R^{14})_2$, - C_1 - C_8 alquilo, - C_3 - C_8 carbociclo, -O-(C_1 - C_8 alquilo), -arilo, - C_1 - C_8 alquil-arilo, - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 carbociclo), - C_3 - C_8 heterociclo y - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 heterociclo);

cada R^{14} es independientemente -H o - C_1 - C_8 alquilo; y

R_{15} es -arileno-, - C_3 - C_8 carbociclo- o - C_3 - C_8 heterociclo-; o

(b) una unidad de fármaco de la fórmula:



10 donde, de forma independiente en cada lugar:

R^2 se selecciona de -H y - C_1 - C_8 alquilo;

R^3 se selecciona de -H, - C_1 - C_8 alquilo, - C_3 - C_8 carbociclo, -O-(C_1 - C_8 alquilo), -arilo, - C_1 - C_8 alquil-arilo, - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 carbociclo), - C_3 - C_8 heterociclo y - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 heterociclo);

15 R^4 se selecciona de -H, - C_1 - C_8 alquilo, - C_3 - C_8 carbociclo, -O-(C_1 - C_8 alquilo), -arilo, - C_1 - C_8 alquil-arilo, - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 carbociclo), - C_3 - C_8 heterociclo y - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 heterociclo) donde R^5 se selecciona de -H y -metilo; o

R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, - C_1 - C_8 alquilo y - C_3 - C_8 carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

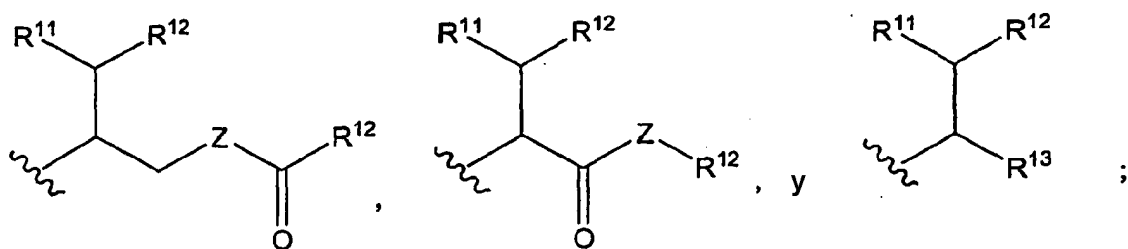
R^6 se selecciona de -H y - C_1 - C_8 alquilo;

20 R^7 se selecciona de -H, - C_1 - C_8 alquilo, - C_3 - C_8 carbociclo, -O-(C_1 - C_8 alquilo), -arilo, - C_1 - C_8 alquil-arilo, - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 carbociclo), - C_3 - C_8 heterociclo y - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, - C_1 - C_8 alquilo, - C_3 - C_8 carbociclo y -O-(C_1 - C_8 alquilo);

R^9 se selecciona de -H y - C_1 - C_8 alquilo;

R^{10} se selecciona de



25 Z es -O-, -S-, -NH- o - $N(R^{14})$ -;

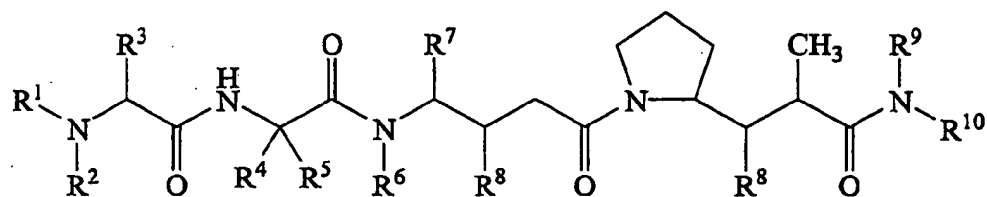
R^{11} se selecciona de -H, -OH, - NH_2 , - NHR^{14} , - $N(R^{14})_2$, - C_1 - C_8 alquilo, - C_3 - C_8 carbociclo, -O-(C_1 - C_8 alquilo), -arilo, - C_1 - C_8 alquil-arilo, - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 carbociclo), - C_3 - C_8 heterociclo y - C_1 - C_8 alquil-(C_1 - C_8 heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo ($C=O$) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble ($C=O$);

30 cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y - C_3 - C_8 heterociclo;

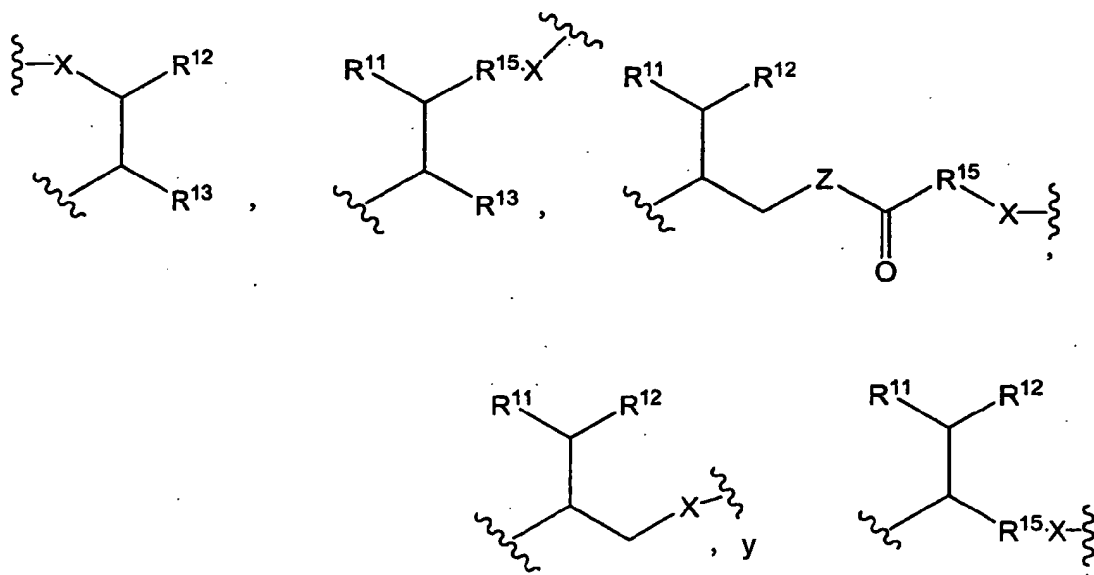
R^{13} se selecciona de -H, -OH, - NH_2 , - NHR^{14} , - $N(R^{14})_2$, - C_1 - C_8 alquilo, - C_3 - C_8 carbociclo, -O-(C_1 - C_8 alquilo), -arilo, - C_1 - C_8 alquil-arilo, - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 carbociclo), - C_3 - C_8 heterociclo y - C_1 - C_8 alquil-(C_3 - C_8 heterociclo); y

cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo.

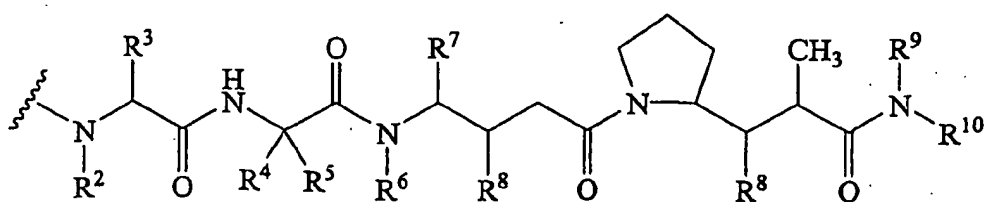
En una forma de realización, cuando la unidad de fármaco tiene la fórmula:



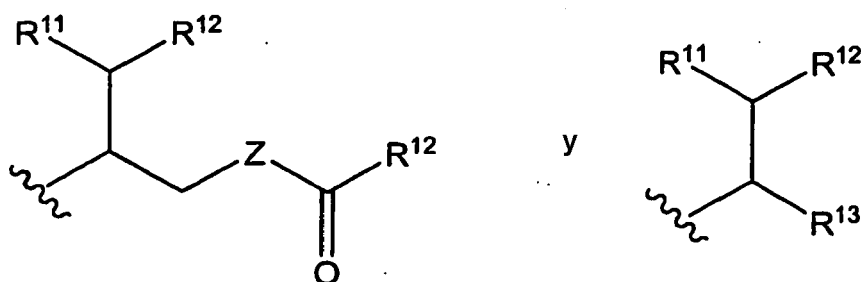
y R^1 es -H, R^{10} se selecciona de:



En otra forma de realización, cuando la unidad de fármaco tiene la fórmula:



R^{10} se selecciona de



En otra forma de realización, w es un número entero que varía de 2 a 12.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 8.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 3.

En otra forma de realización, p varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5.

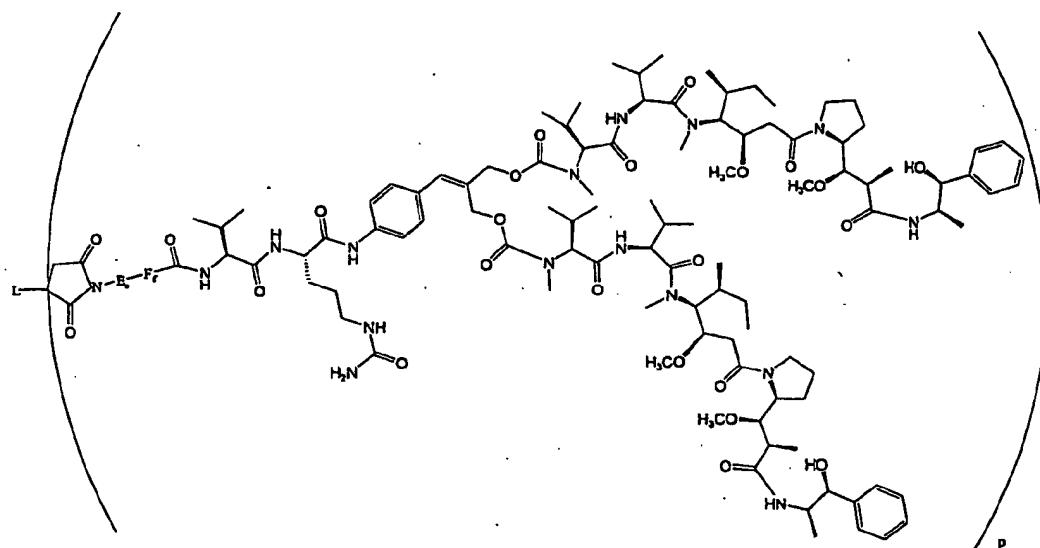
En otra forma de realización más, p varía de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 8.

5 En otra forma de realización, p es aproximadamente 4.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 2.

Un compuesto ilustrativo de la fórmula Ic tiene la estructura:



10 donde cuando L es la unidad de ligando, E es $-\text{CH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, e es un número entero que varía de 0-10 cuando E es $-\text{CH}_2-$, o 1-10 cuando E es $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, F es $-\text{CH}_2-$, f es 0 o 1, y p varía de 1 a aproximadamente 20.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 8.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 3.

En otra forma de realización, p varía aproximadamente de 3 a aproximadamente 5.

En otra forma de realización más, p varía de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

15 En otra forma de realización, p es aproximadamente 8.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 4.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 2.

En otra forma de realización, L es cBR96, cAC10 o 1F6.

20 Los conjugados de fármaco-conector-ligando son útiles para tratar o prevenir el cáncer, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa en un animal.

Se entiende que p es el número promedio de unidades de $\text{A}_a\text{-W}_w\text{-Y}_y\text{-D}$ por ligando en un conjugado de fármaco-conector-ligando de las fórmulas Ia, Ib y Ic.

En una forma de realización, p varía de 1 a 15.

En otra forma de realización, p varía de 1 a 10.

25 En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 8.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 5.

En otra forma de realización, p varía de 1 a aproximadamente 3.

En una forma de realización, p varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5.

En una forma de realización, p varía de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

En otra forma de realización, p es aproximadamente 8.

En otra forma de realización más, p es aproximadamente 4.

- 5 En otra forma de realización más, p es aproximadamente 2.

Los conjugados de fármaco-conector-ligando de las fórmulas Ia, Ib y Ic pueden existir en forma de mezclas, donde cada componente de una mezcla tiene un valor de p diferente. Por ejemplo, un conjugado de fármaco-conector-ligando puede existir como una mezcla de dos conjugados separados, con un componente del conjugado en el que p es 7 y el otro componente del conjugado en el que p es 8.

- 10 En una forma de realización, un conjugado de fármaco-conector-ligando existe como una mezcla de tres conjugados separados en la que p para los tres conjugados separados es 1, 2 y 3, respectivamente.

En otra forma de realización, un conjugado de fármaco-conector-ligando existe como una mezcla de tres conjugados separados en la que p para los tres conjugados separados es 3, 4 y 5, respectivamente.

- 15 En otra forma de realización, un conjugado de fármaco-conector-ligando existe como una mezcla de tres conjugados separados en la que p para los tres conjugados separados es 5, 6 y 7, respectivamente.

En otra forma de realización más, un conjugado de fármaco-conector-ligando existe como una mezcla de tres conjugados separados en la que p para los tres conjugados separados es 7, 8 y 9, respectivamente.

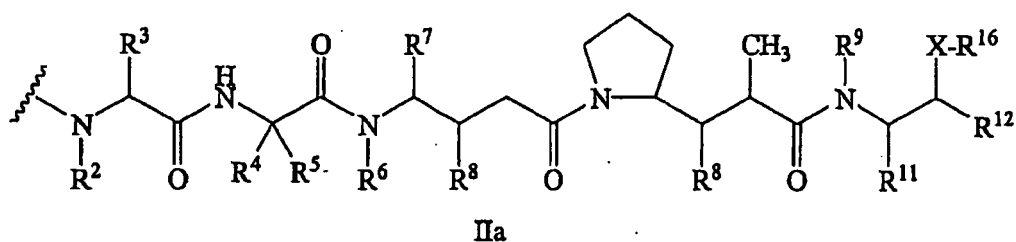
En otra forma de realización más, un conjugado de fármaco-conector-ligando existe como una mezcla de tres conjugados separados en la que p para los tres conjugados separados es 9, 10 y 11, respectivamente.

- 20 En otra forma de realización más, un conjugado de fármaco-conector-ligando existe como una mezcla de tres conjugados separados en la que p para los tres conjugados separados es 11, 12 y 13, respectivamente.

En otra forma de realización, un conjugado de fármaco-conector-ligando existe como una mezcla de tres conjugados separados en la que p para los tres conjugados separados es 13, 14 y 15, respectivamente.

5.3 COMPUESTOS DE FÁRMACO-CONECTOR

- 25 También se describen los compuestos de la fórmula IIa:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

- 30 R^1 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo; y R^2 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo; o R^1 y R^2 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

R^3 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8$ alquilo), -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ carbociclo), $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ heterociclo);

- 35 R^4 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8$ alquilo), -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ carbociclo), $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- $(C_3-C_8$ heterociclo) donde R^5 se selecciona de -H y -metilo; o

R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R^6 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

R^7 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

5 X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-, donde X está unido a Y cuando y es 1 o 2, o X se une a W cuando y es 0;

R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

10 cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R^{16} es -Y_y-W_w-A'

donde

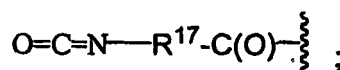
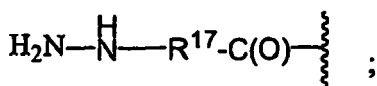
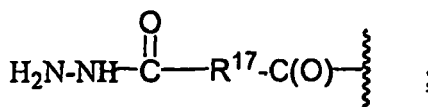
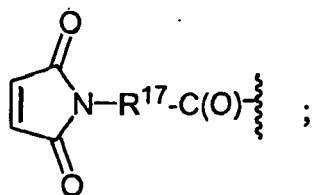
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

15 -Y- es una unidad de separador;

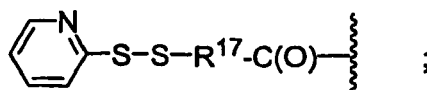
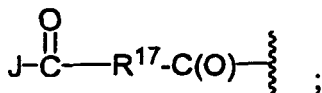
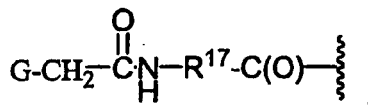
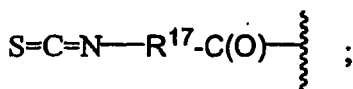
w es un número entero que varía de 0 a 12;

y es 0, 1 o 2; y

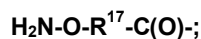
-A' se selecciona de



20



y



25 donde

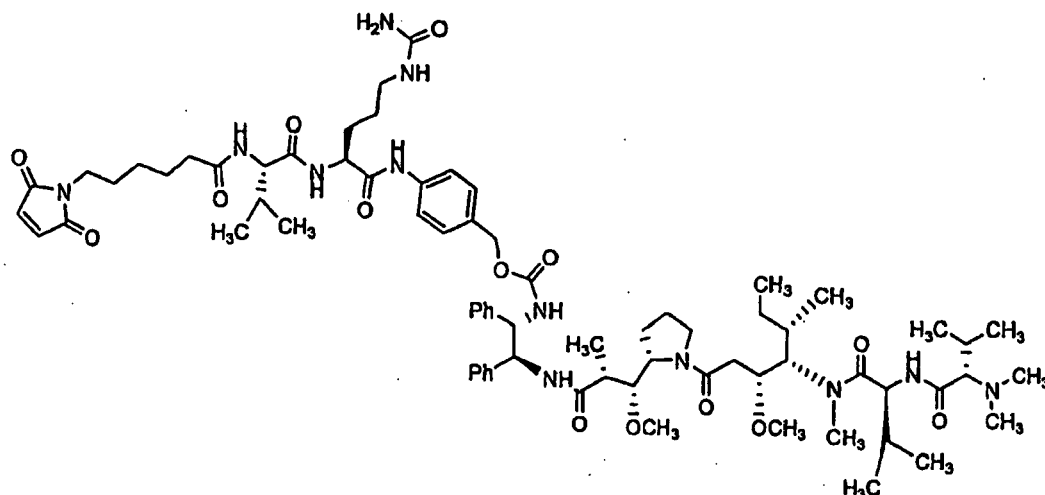
G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

- 5 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-, y - (CH₂CH₂O)_r-CH₂-, r es un número entero que varía entre 1-10; y

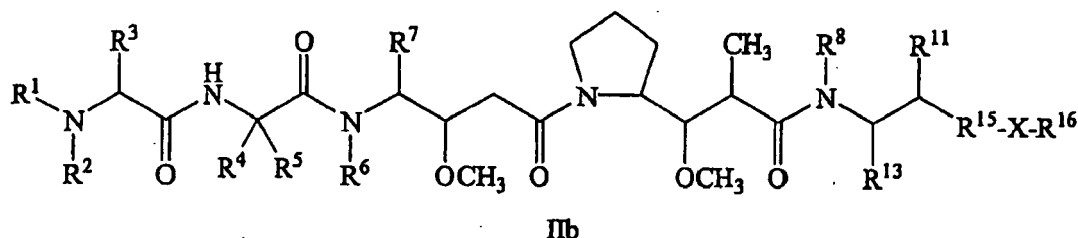
R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

Un compuesto ilustrativo de la fórmula IIa tiene la estructura:



- 10 y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

También se describen los compuestos de la fórmula IIb:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

- 15 R¹ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;
- R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);
- 20 R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo; o
- R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;
- R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;
- 25 R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

- 5 R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

R^{13} se selecciona de hidrógeno, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, C₁-C₈ alquilo, C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, alquil-arilo, alquil-(C₃-C₈ carbociclo), C₃-C₈ heterociclo y alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

- 10 cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R^{15} es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-;

R^{16} es -Y_w-W_w-A'

donde

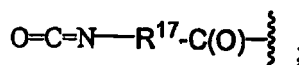
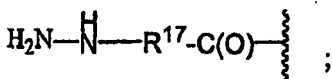
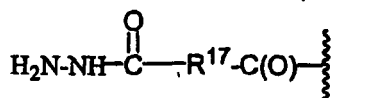
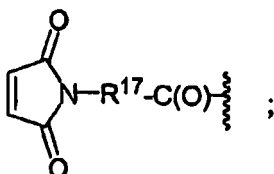
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

- 15 -Y- es una unidad de separador;

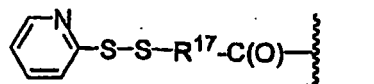
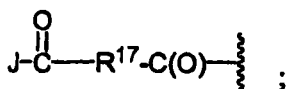
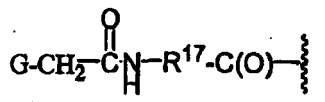
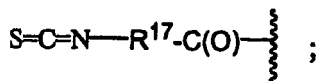
w es un número entero que varía de 0 a 12;

y es 0, 1 o 2; y

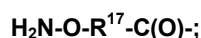
-A' se selecciona de



20



y



- 25 donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

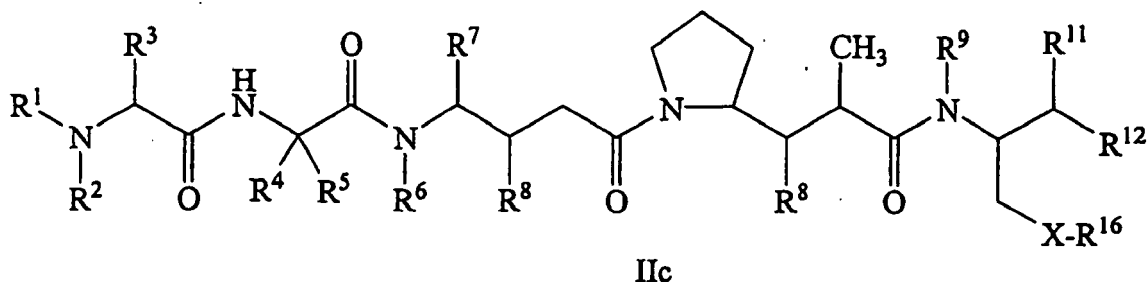
R^{17} se selecciona de $-C_1-C_{10}$ alquileo-, $-C_3-C_8$ carbociclo-, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo-,

-arileno-, $-C_1-C_{10}$ alquileo-arileno-, -arileno- $-C_1-C_{10}$ alquileo-, $-C_1-C_{10}$ alquileo- $(-C_3-C_8)$ carbociclo-, $(-C_3-C_8)$ carbociclo- $-C_1-C_{10}$ alquileo-, $-C_3-C_8$ heterociclo-, $-C_1-C_{10}$ alquileo- $(-C_3-C_8)$ heterociclo-, $(-C_3-C_8)$ heterociclo- $-C_1-C_{10}$ alquileo-, $-(CH_2CH_2O)_r$, y

5 $-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$; r es un número entero que varía de 1-10; y

R^{18} es $-C_1-C_8$ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula IIc:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

10 donde, de forma independiente en cada lugar:

R^1 se selecciona de $-H$, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo; y R^2 se selecciona de $-H$ y

$-C_1-C_8$ alquilo; o R^1 y R^2 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de $-H$, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

15 R^3 se selecciona de $-H$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo), $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo);

R^4 se selecciona de $-H$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo), $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo) donde R^5 se selecciona de $-H$ y -metilo; o

20 R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de $-H$, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R^6 se selecciona de $-H$ y $-C_1-C_8$ alquilo;

R^7 se selecciona de $-H$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo), $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de $-H$, $-OH$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo y $-O-(C_1-C_8)$ alquilo);

25 R^9 se selecciona de $-H$ y $-C_1-C_8$ alquilo;

X es $-O-$, $-S-$, $-NH-$ o $-N(R^{14})-$;

R^{11} se selecciona de $-H$, $-OH$, $-NH_2$, $-NHR^{14}$, $-N(R^{14})_2$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo), $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo ($C=O$) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble ($C=O$);

30 cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y $-C_3-C_8$ heterociclo;

cada R^{14} es independientemente $-H$ o $-C_1-C_8$ alquilo;

R^{16} es $-Y_W-W-A'$

donde

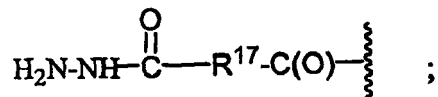
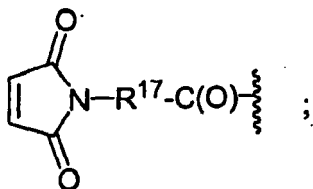
35 cada $-W-$ es independientemente una unidad de aminoácido;

-Y- es una unidad de separador;

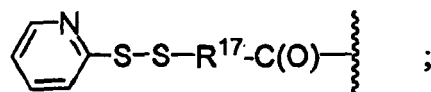
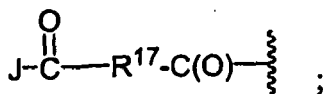
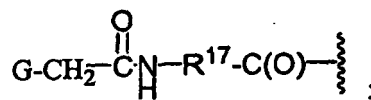
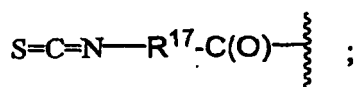
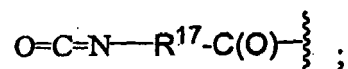
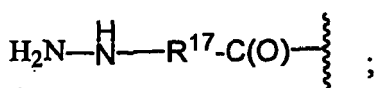
w es un número entero que varía de 0 a 12;

y es 0, 1 o 2; y

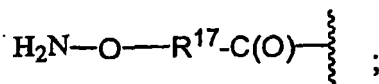
-A' se selecciona de



5



y



10

donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

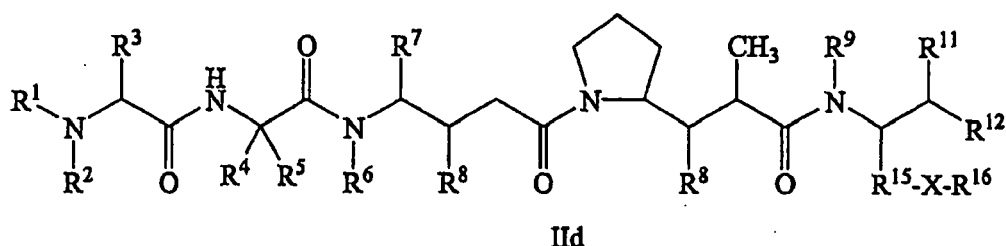
15 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-,

-arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía entre 1-10; y

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

20

También se describen los compuestos de la fórmula IId:



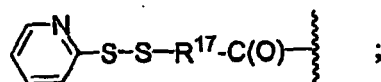
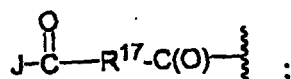
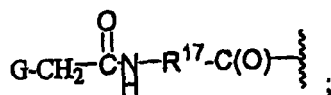
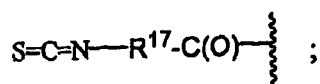
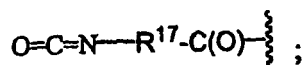
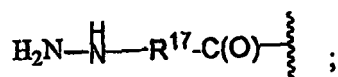
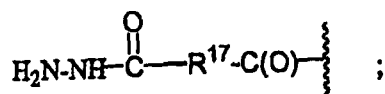
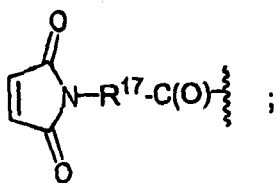
y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

- 5 R^1 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R^2 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R^1 y R^2 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;
- 10 R^3 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);
- R^4 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R^5 se selecciona de -H y -metilo;
- 15 o R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;
- R^6 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;
- R^7 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);
- cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);
- 20 R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;
- X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;
- R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);
- 25 cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;
- cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;
- R^{15} es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-;
- R^{16} es -Y_w-W_w-A'
- 30 donde
- cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;
- Y- es una unidad de separador;
- w es un número entero que varía de 0 a 12;
- y es 0, 1 o 2; y

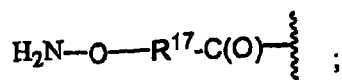
35

-A' se selecciona de



5

y



donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

10 J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

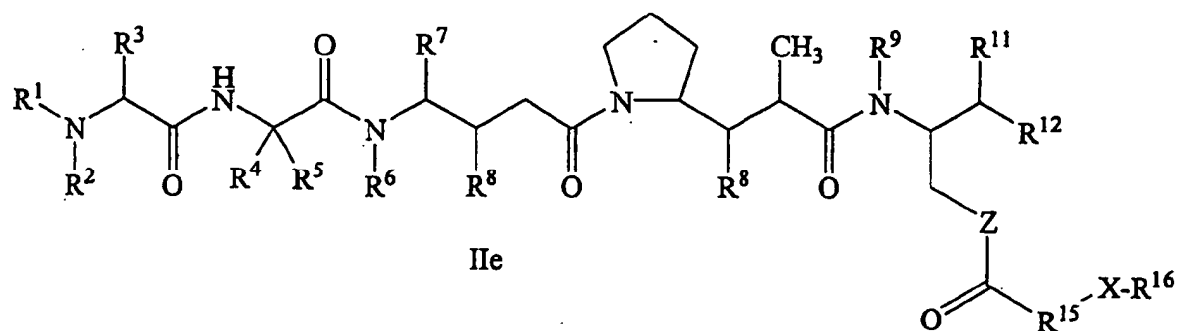
R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-,

-arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía entre 1-10; y

15

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula IIe:

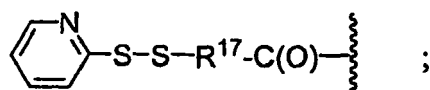
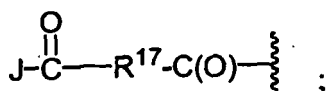
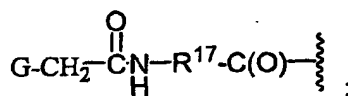
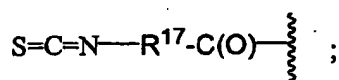
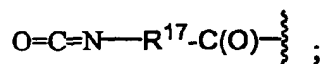
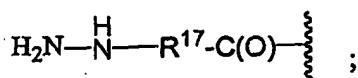
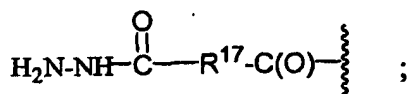
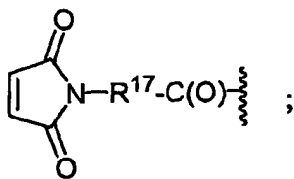


y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

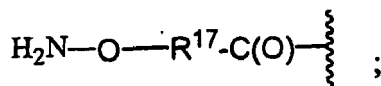
- 5 R^1 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R^2 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R^1 y R^2 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;
 R^3 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);
- 10 R^4 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R^5 se selecciona de -H y -metilo; o
 R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;
 R^6 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;
- 15 R^7 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);
cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);
 R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;
X es -O-, -S-, -NH- o -N(R^{14})-;
- 20 Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R^{14})-;
 R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R^{14})₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);
- 25 cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;
cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;
 R^{15} es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-;
 R^{16} es -Y_w-W_w-A'
donde
- 30 cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;
-Y- es una unidad de separador;
w es un número entero que varía de 0 a 12;
y es 0, 1 o 2; y

-A' se selecciona de



5

y



donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

10 J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

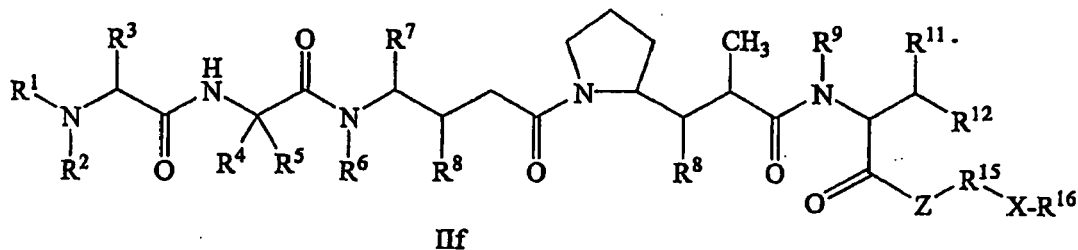
R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-,

-arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂; r es un número entero que varía entre 1-10; y

15

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula II_f:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

20 donde, de forma independiente en cada lugar:

R^1 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R^2 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R^1 y R^2 juntos tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

5 R^3 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

R^4 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R^5 se selecciona de -H y -metilo; o

R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

10 R^6 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R^7 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

15 X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

20 cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R^{15} es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-;

R^{16} es -Y_Y-W_W-A'

25 donde

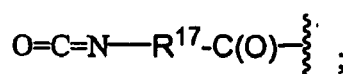
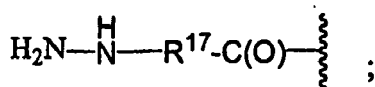
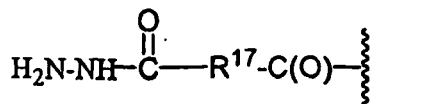
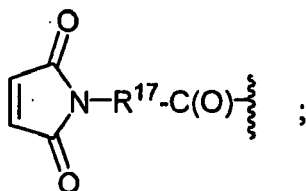
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

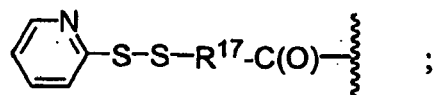
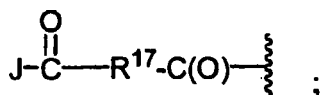
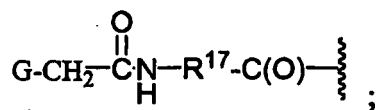
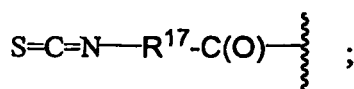
-Y- es una unidad de separador;

w es un número entero que varía de 0 a 12;

y es 0, 1 o 2; y

30 -A' se selecciona de





y



5

donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

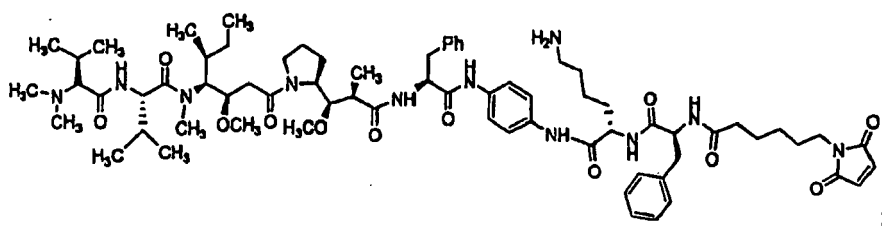
10 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-,

-arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía entre 1-10; y

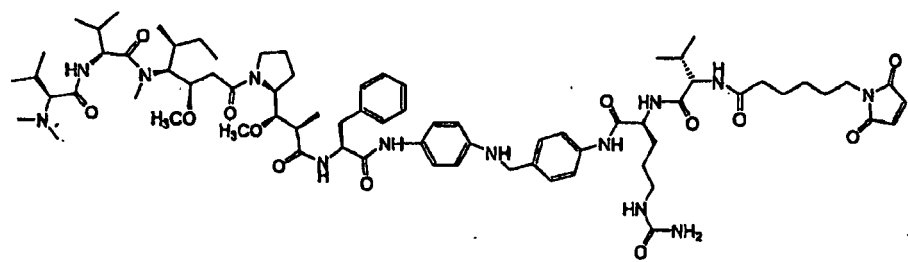
R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

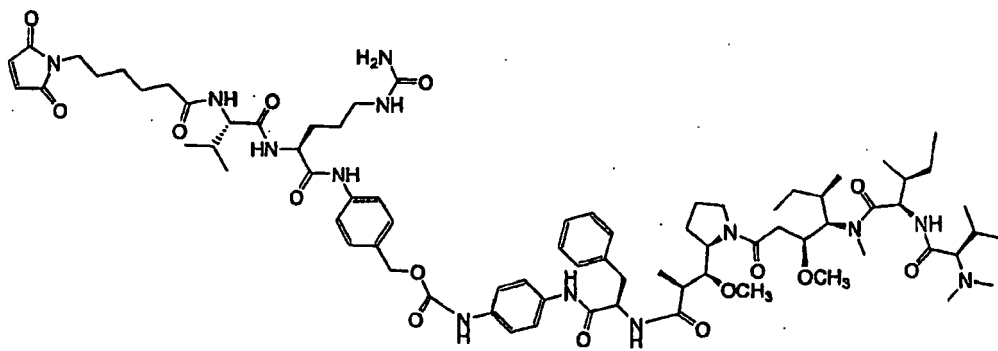
15 En una forma de realización R¹ se selecciona de -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos.

Los compuestos ilustrativos de la fórmula IIf tienen la estructura:

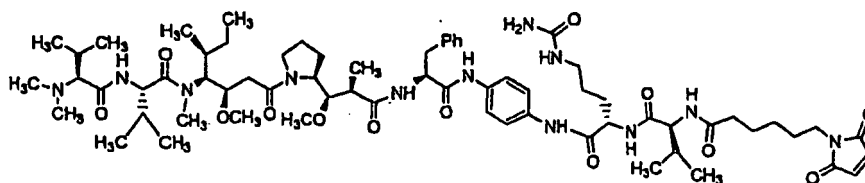


20



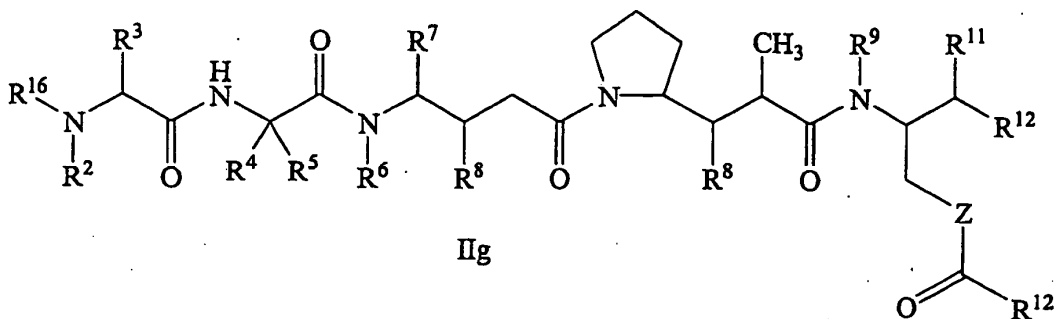


y



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 También se describen los compuestos de la fórmula IIg:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

10 R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo;

o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos:

R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

20 cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

5 R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁶ es -Yy-Ww-A'

10 donde

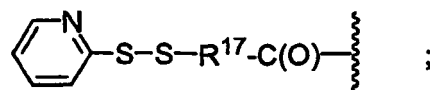
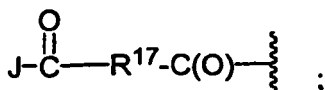
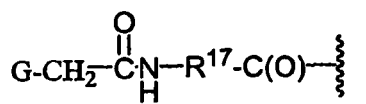
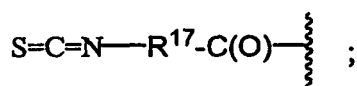
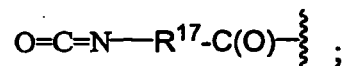
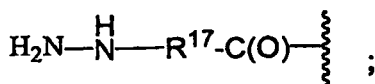
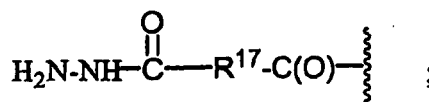
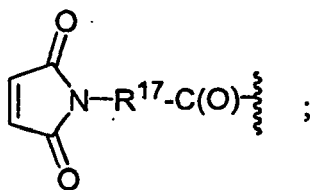
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

-Y- es una unidad de separador;

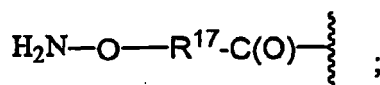
w es un número entero que varía de 0 a 12;

y es 0, 1 o 2; y

15 -A' se selecciona de



20 y



donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

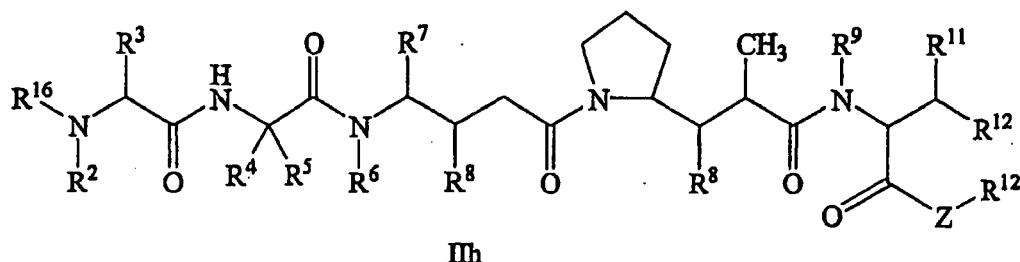
J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-,

- 5 -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂; r es un número entero que varía entre 1-10; y

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula IIIh:



- 10 y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

- 15 R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo; o

R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

- 20 R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

- 25 R¹¹ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

- 30 cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁶ es -Y_w-W_w-A'

donde

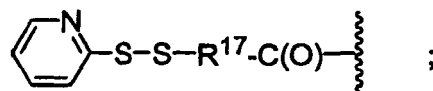
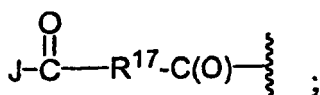
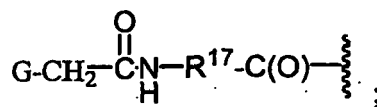
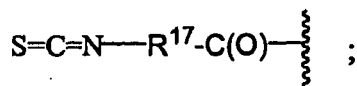
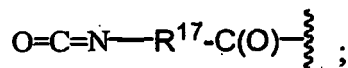
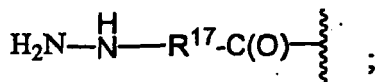
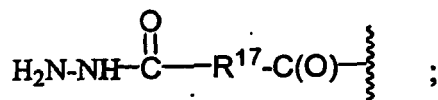
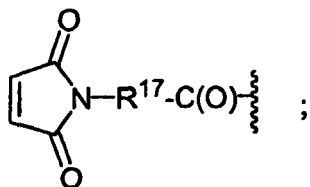
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

-Y- es una unidad de separador;

- 35 w es un número entero que varía de 0 a 12;

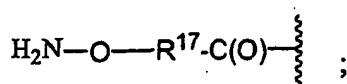
y es 0, 1 o 2; y

-A' se selecciona de



5

y



donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

10 J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

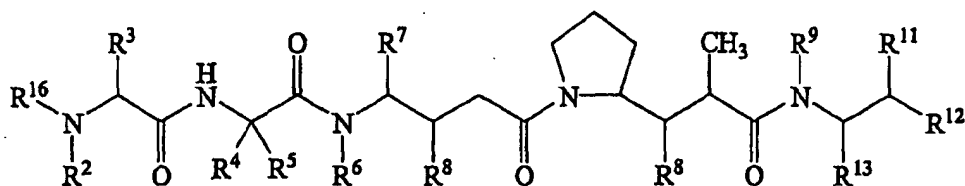
R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-,

-arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂; r es un número entero que varía entre 1-10; y

15

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

También se describen los compuestos de la fórmula Iii:



Iii

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos,

donde, de forma independiente en cada lugar:

R^2 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

R^3 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo);

- 5 R^4 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo) donde R^5 se selecciona de -H y -metilo; o

R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R^6 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

- 10 R^7 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo y $-O-(C_1-C_8)$ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

- 15 R^{11} se selecciona de -H, -OH, $-NH_2$, $-NHR^{14}$, $-N(R^{14})_2$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo ($C=O$) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble ($C=O$);

cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y $-C_3-C_8$ heterociclo;

- 20 R^{13} se selecciona de hidrógeno, -OH, $-NH_2$, $-NHR^{14}$, $-N(R^{14})_2$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, alquil-arilo, alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y alquil- (C_3-C_8) heterociclo);

cada R^{14} es independientemente -H o $-C_1-C_8$ alquilo;

R^{16} es $-Y_W-W-A'$

donde

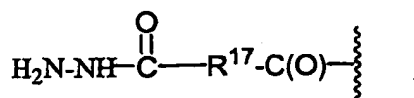
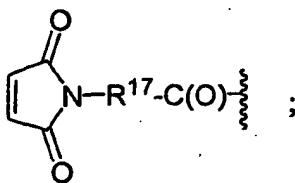
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

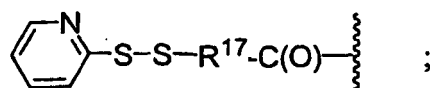
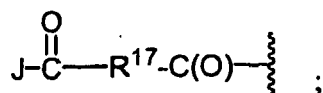
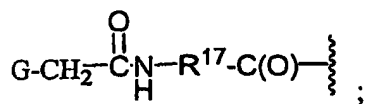
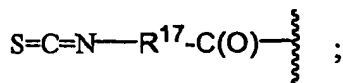
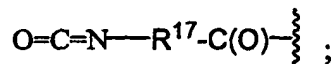
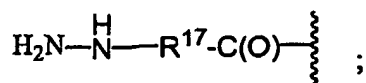
- 25 -Y- es una unidad de separador;

w es un número entero que varía de 0 a 12;

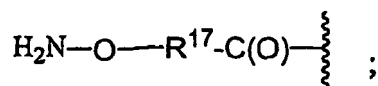
y es 0, 1 o 2; y

-A' se selecciona de





y



5

donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

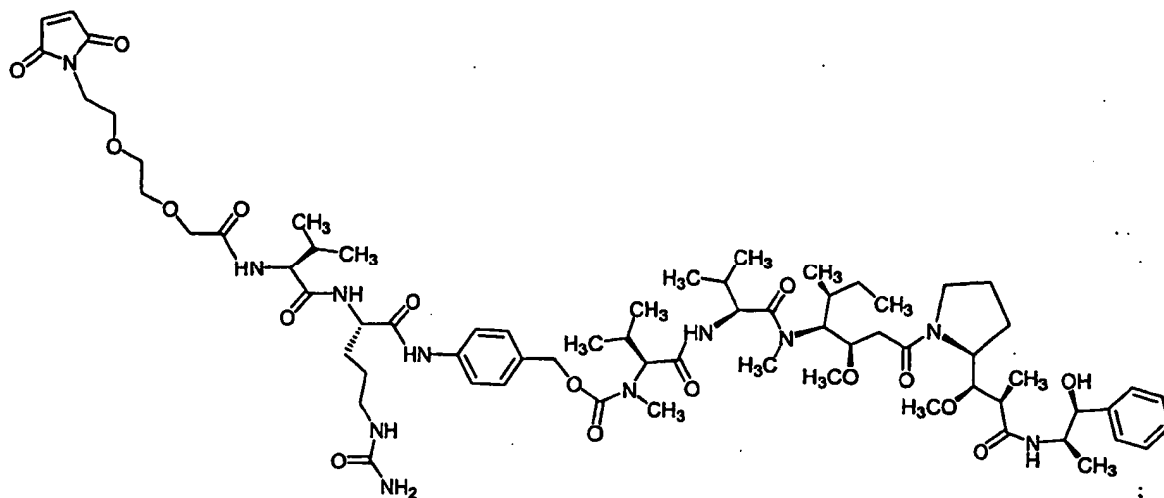
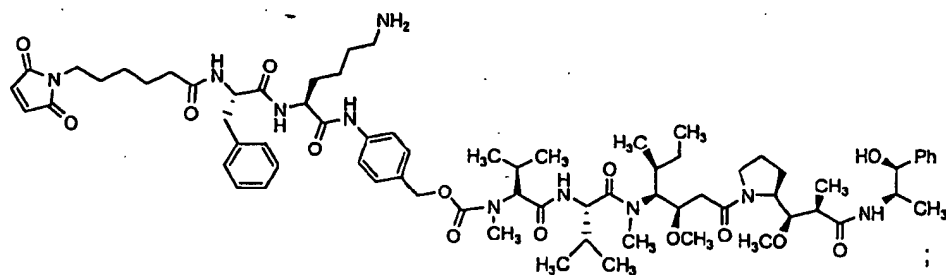
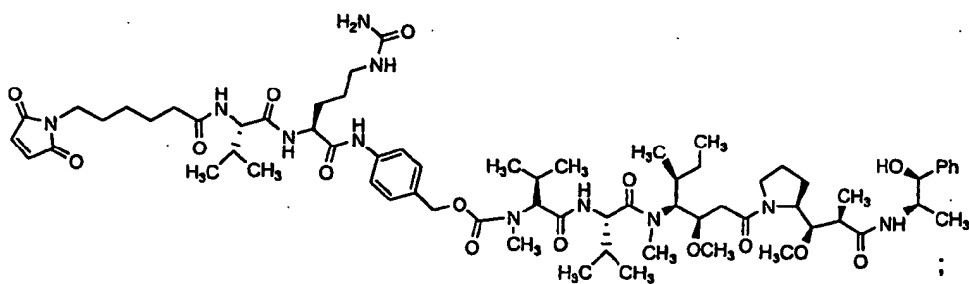
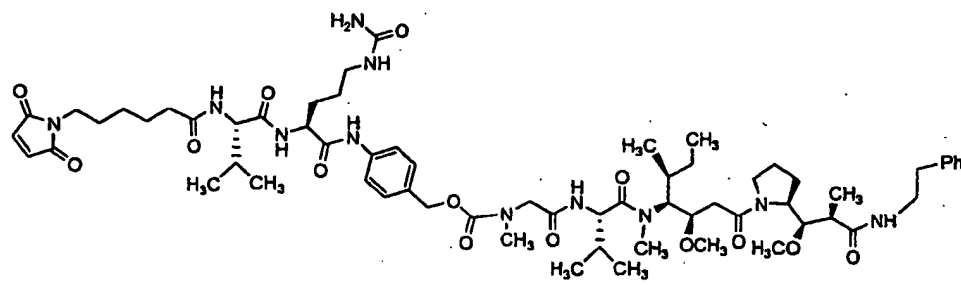
10 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-,

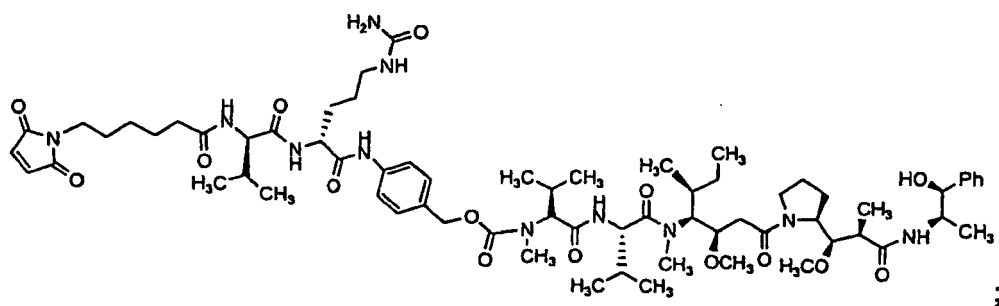
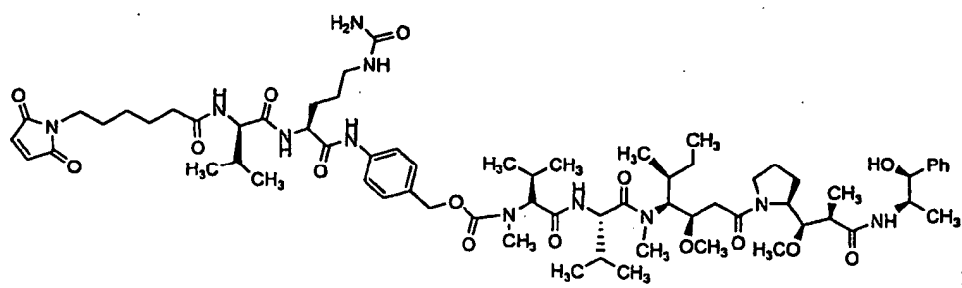
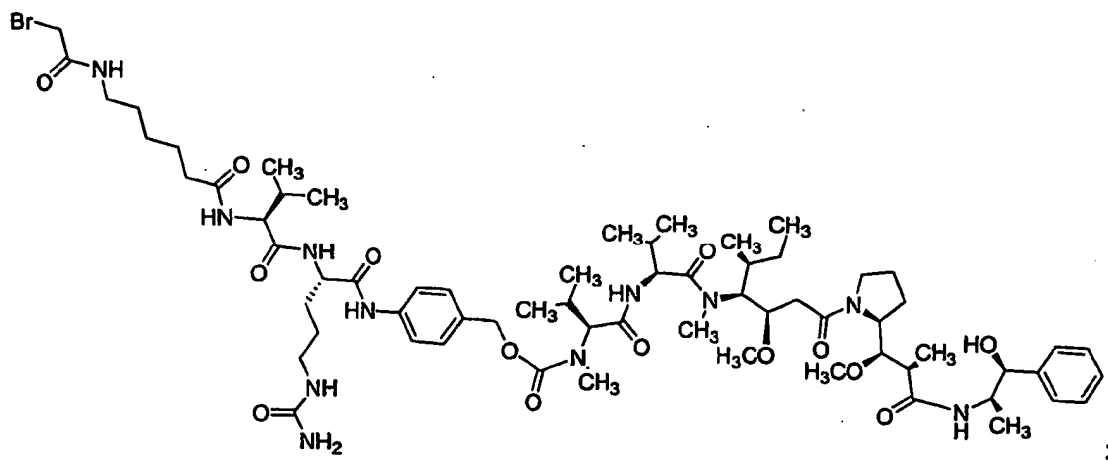
-arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía entre 1-10; y

R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

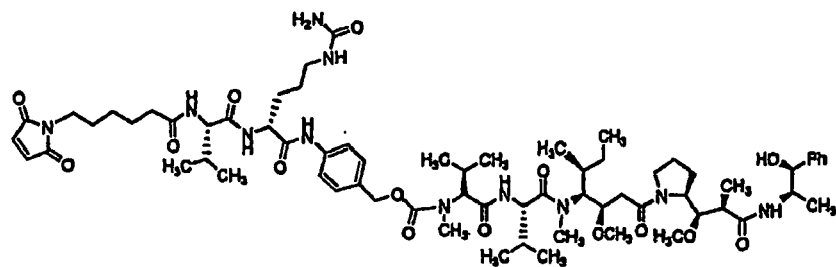
15

Los compuestos ilustrativos de la fórmula III tienen las estructuras:





y



5

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los compuestos de las fórmulas IIa-i son útiles para tratar o prevenir el cáncer, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa en un animal.

5.4 LA UNIDAD DE CONECTOR

La unidad de conector del conjugado de fármaco-conector-ligando conecta la unidad de fármaco y la unidad de ligando y tiene la fórmula:



5 donde:

-A- es una unidad de extensor;

a es 1;

cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

w es independientemente un número entero que varía de 2 a 12;

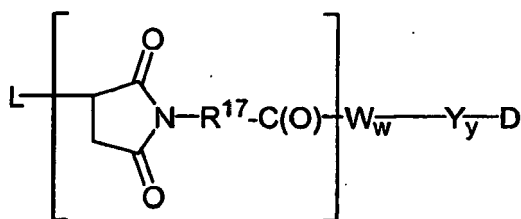
10 -Y- es una unidad de separador; y

y es 0, 1 o 2;

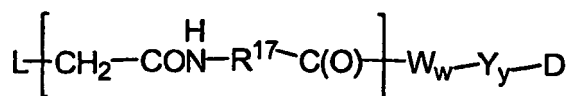
5.4.1 LA UNIDAD DE EXTENSOR

La unidad de extensor (-A-), cuando está presente, conecta una unidad de ligando a una unidad de aminoácido (-W-). A este respecto, un ligando (L) tiene un grupo funcional que puede formar una unión con un grupo funcional de un extensor. Los grupos funcionales útiles que pueden estar presentes en un ligando, ya sea naturalmente o por medio de manipulación química incluyen, sulfhidrilo (-SH), amino, hidroxilo, carboxi, el grupo hidroxilo anomérico de un carbohidrato, y carboxilo. Los grupos funcionales del ligando preferidos son sulfhidrilo y amino. Los grupos sulfhidrilo pueden ser generados por la reducción de un enlace disulfuro intramolecular de un ligando. Como alternativa, los grupos sulfhidrilo pueden ser generados por la reacción de un grupo amino de un resto lisina de un ligando utilizando 2-iminotiolano (reactivo de Traut) u otro reactivo que genere sulfhidrilo.

En una forma de realización, la unidad de extensor forma un enlace con un átomo de azufre de la unidad de ligando. El átomo de azufre se pueden derivar de un grupo sulfhidrilo de un ligando. Las unidades de extensor representativas de esta forma de realización se representan dentro de los corchetes de las fórmulas (IIIa) y (IIIb), donde L-, -W-, -Y-, -D, w e y son como se han definido anteriormente y R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; r es un número entero que varía de 1-10.

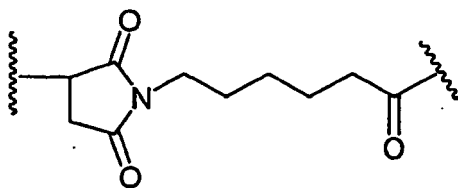


(IIIa)

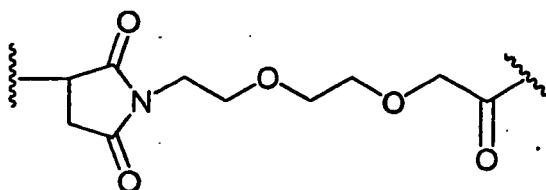


(IIIb)

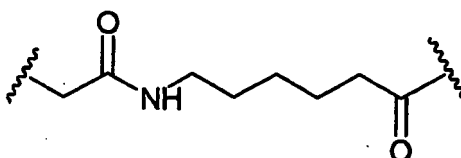
Una unidad de extensor ilustrativa es la de la fórmula (IIIa) donde R¹⁷ es -(CH₂)₅-:



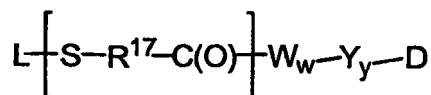
Otra unidad de extensor ilustrativa es la de la fórmula (IIIa) donde R^{17} es $-(CH_2CH_2O)-CH_2-$; y r es 2:



Otra unidad de extensor ilustrativa es la de la fórmula (IIIb) en donde R^{17} es $-(CH_2)_5-$:

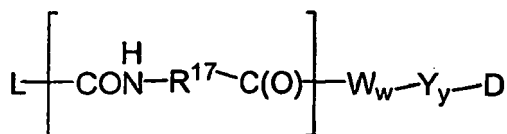


- 5 En otra forma de realización, la unidad de extensor se conecta a la unidad de ligando mediante un puente disulfuro entre un átomo de azufre de la unidad de ligando y un átomo de azufre de la unidad de extensor. Una unidad de extensor representativa de esta forma de realización se representa dentro de los corchetes de la fórmula (IV), donde R^{17} , L-, -W-, -Y-, -D, w e y son como se ha definido anteriormente.

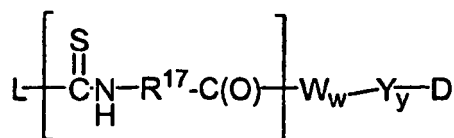


(IV)

- 10 En otra forma de realización, el grupo reactivo del extensor contiene un sitio reactivo que puede formar una unión con un grupo amino primario o secundario de un ligando. Los ejemplos de estos sitios reactivos incluyen, aunque no exclusivamente, ésteres activados, tales como ésteres de succinimida, ésteres 4-nitrofenílicos, ésteres pentafluorofenílicos, ésteres tetrafluorofenílicos, anhídridos, cloruros de ácidos, cloruros de sulfonilo, isocianatos e isotiocianatos. Las unidades de extensor representativas de esta forma de realización se representan dentro de los corchetes de las fórmulas (Va) y (Vb), donde $-R^{17}$ -, L-, -W-, -Y-, -D, w e y son como se han definido anteriormente;
- 15

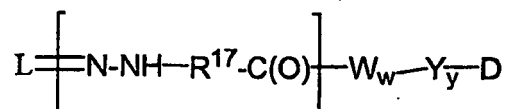


(Va)

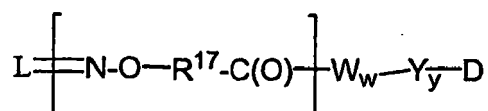


(Vb)

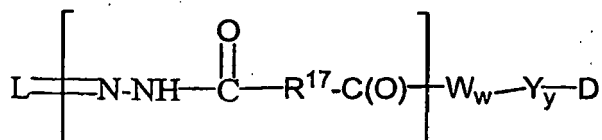
- 5 En otro aspecto más de la invención, el grupo reactivo del extensor contiene un sitio reactivo que reacciona con un grupo carbohidrato (-CHO) que puede estar presente en un ligando. Por ejemplo, un carbohidrato puede ser ligeramente oxidado usando un reactivo como el peryodato de sodio y la unidad resultante (-CHO) del carbohidrato oxidado puede condensarse con un extensor que contenga una funcionalidad como una hidrazida, una oxima, una amina primaria o secundaria, una hidrazina, una tiosemicarbazona, un carboxilato de hidracina, y una arilhidracida, tales como las descritas por Kaneko, T. et al. Bioconjugate Chem 1991, 2, 133-141. Las unidades de extensor representativas de esta forma de realización se representan dentro de los corchetes de las fórmulas (VIa) y (VIb), donde -R¹⁷-, L-, -W-, -Y-, -D, w e y son como se han definido anteriormente.



(VIa)



(VIb)

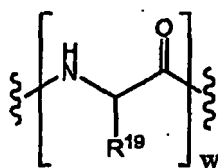


(VIc)

5.4.2 LA UNIDAD DE AMINOÁCIDO

- 15 La unidad de aminoácido (-W-) conecta la unidad de extensor a la unidad de separador si la unidad de separador está presente, conecta la unidad de extensor con la unidad de fármaco si la unidad de separador está ausente, y conecta la unidad de lignado con la unidad de fármaco si la unidad de extensor y la unidad del separador están ausentes.

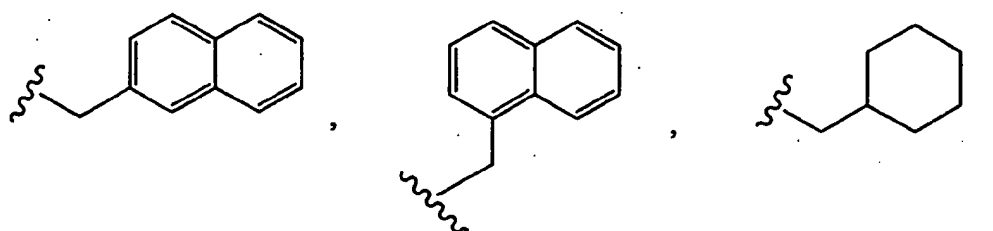
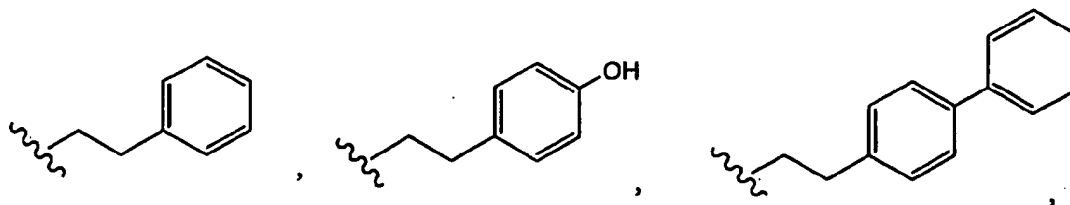
-W- es una unidad de dipéptido, tripéptido, tetrapéptido, pentapéptido, hexapéptido, heptapéptido, octapéptido, nonapéptido, decapeptido, undecapéptido o dodecapéptido. Cada unidad -W- tiene independientemente la fórmula indicada abajo entre corchetes y w es un número entero que varía de 2 a 12:



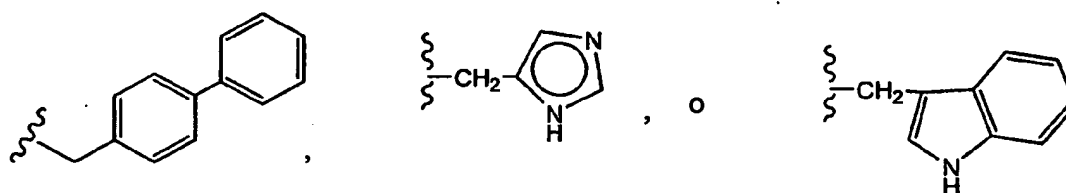
20 donde R¹⁹ es hidrógeno, metilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, bencilo, p-hidroxibencilo, -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -CH₂CH₂SCH₃, -CH₂CONH₂, -CH₂COOH,

-CH₂CH₂CONH₂, -CH₂CH₂COOH, -(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₃NH₂,

$-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC(=NH)NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$,
 $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$,
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH(OH)CH}_2\text{NH}_2$, 2-piridilmetil-, 3-piridilmetil-, 4-piridilmetil-, fenilo, ciclohexilo,

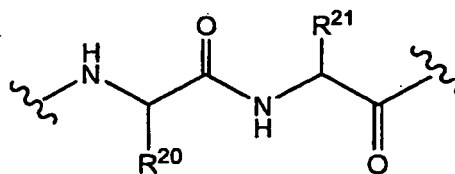


5



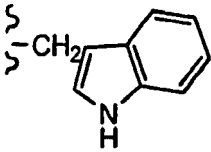
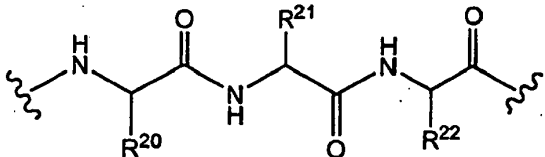
La unidad de aminoácido de los compuestos de la invención puede ser escindida enzimáticamente por una o más enzimas, incluyendo una proteasa asociada a tumor, para liberar la unidad de fármaco (-D), que en una forma de realización es protonada *in vivo* una vez liberada para proporcionar un fármaco (D).

10 Las unidades de W_w ilustrativas están representadas por las fórmulas (VII) - (IX):



(VII)

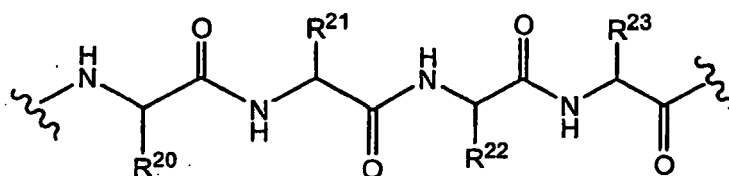
donde R^{20} y R^{21} son como sigue:

R^{20}	R^{21}
bencilo	$(CH_2)_4NH_2$;
metilo	$(CH_2)_4NH_2$;
isopropilo	$(CH_2)_4NH_2$;
isopropilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
bencilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
isobutilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
sec-butilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
bencilo	metilo, y
bencilo	$(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$;
	

(VIII)

donde R^{20} , R^{21} y R^{22} son como sigue:

R^{20}	R^{21}	R^{22}
bencilo	bencilo	$(CH_2)_4NH_2$
isopropilo	bencilo	$(CH_2)_4NH_2$; y
H	bencilo	$(CH_2)_4NH_2$



(IX)

donde R^{20} , R^{21} , R^{22} y R^{23} son como sigue:

R^{20}	R^{21}	R^{22}	R^{23}
H	bencilo	isobutilo	H; e
metilo	isobutilo	metilo	isobutilo

Las unidades de aminoácido preferidas incluyen, aunque no exclusivamente, las unidades de la fórmula (VII) donde: R^{20} es bencilo y R^{21} es $-(CH_2)_4NH_2$; R^{20} es isopropilo y R^{21} es $-(CH_2)_4NH_2$; R^{20} es isopropilo y R^{21} es $-(CH_2)_3NHCONH_2$. Otra unidad de aminoácido preferida es una unidad de la fórmula (VIII) donde R^{20} es bencilo, R^{21} es bencilo, y R^{22} es $-(CH_2)_4NH_2$.

Las unidades de $-W_W-$ útiles en la presente invención pueden ser diseñadas y optimizadas en su selectividad para la escisión enzimática por enzimas particulares, por ejemplo, una proteasa asociada a tumor. En una forma de realización, una unidad de $-W_W-$ es aquella cuya escisión es catalizada por cathepsina B, C y D, o una plasmina proteasa.

En una forma de realización, $-W_W-$ es un dipéptido, tripéptido o pentapéptido.

Si R^{19} , R^{20} , R^{21} , R^{22} o R^{23} es diferente de hidrógeno, el átomo de carbono al que R^{19} , R^{20} , R^{21} , R^{22} o R^{23} se une es quiral.

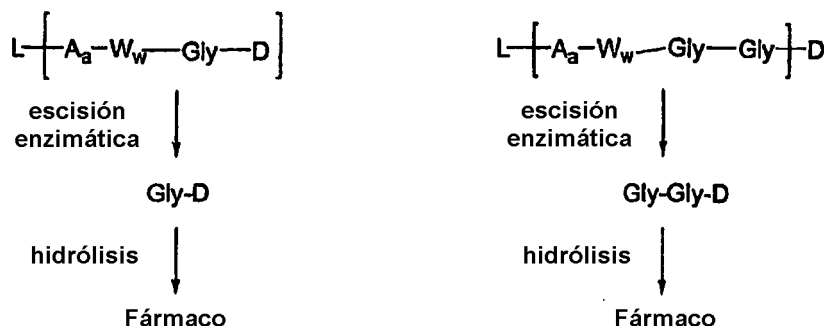
Cada átomo de carbono al que R^{19} , R^{20} , R^{21} , R^{22} o R^{23} se une tiene independientemente la configuración (S) o (R).

5.4.3 LA UNIDAD DE SEPARADOR

La unidad de separador ($-Y-$), cuando está presente, conecta una unidad de aminoácido con la unidad de fármaco. Las unidades de separador son de dos tipos generales: autoinmoladora y no autoinmoladora. Una unidad de separador autoinmoladora es aquella en la que parte o toda la unidad de separador permanece unida a la unidad de fármaco después de la escisión, particularmente enzimática, de una unidad de aminoácido del conjugado de fármaco-conector-ligando o del compuesto de fármaco-conector. Los ejemplos de una unidad de separador no autoinmoladora incluyen una unidad de separador de (glicina-glicina) y una unidad de separador de glicina (ambas representadas en el Esquema 1). Cuando un compuesto de la invención que contiene una unidad de separador de glicina-glicina o una unidad de separador de glicina sufre escisión enzimática a través de una proteasa asociada a células tumorales, una proteasa asociada a células cancerosas o una proteasa asociada a linfocitos, se escinde un resto de glicina-glicina-fármaco o un resto de glicina-fármaco de $L-A_a-W_W-$. En una forma de realización, una reacción de hidrólisis independiente tiene lugar dentro de la célula diana, escindiendo el enlace de la unidad de glicina-fármaco y liberando el fármaco.

En una forma de realización preferida, $-Y-$ es una unidad de alcohol p-aminobencílico (PAB) (ver Esquemas 2 y 3), cuya porción de fenileno es sustituida con Q_m donde Q es C_1-C_8 alquilo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, $-halógeno$, nitro o ciano-, y m es un número entero que varía entre 0-4.

Esquema 1



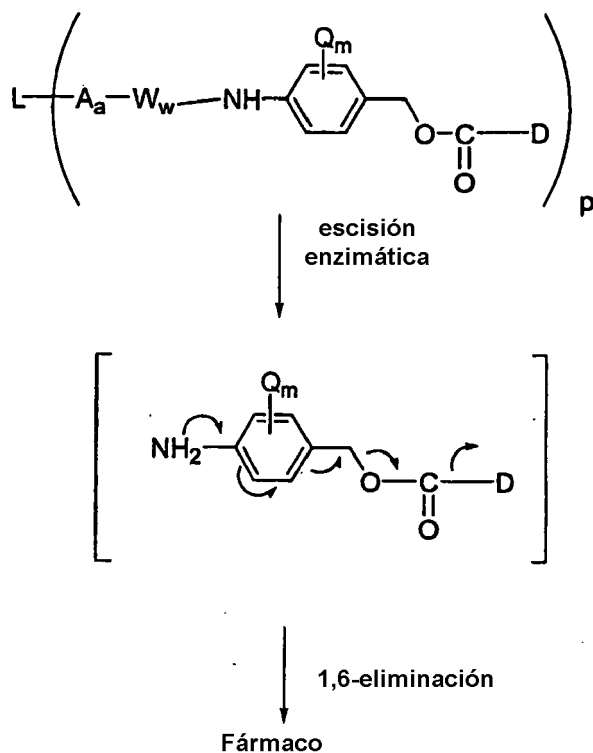
En una forma de realización, una unidad de separador no autoinmoladora ($-Y-$) es $-Gly-Gly-$.

En otra forma de realización, una unidad de separador no autoinmoladora ($-Y-$) es $-Gly-$.

En una forma de realización, la invención proporciona un conjugado de fármaco-conector-ligando en el que la unidad de separador está ausente ($y = 0$), o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

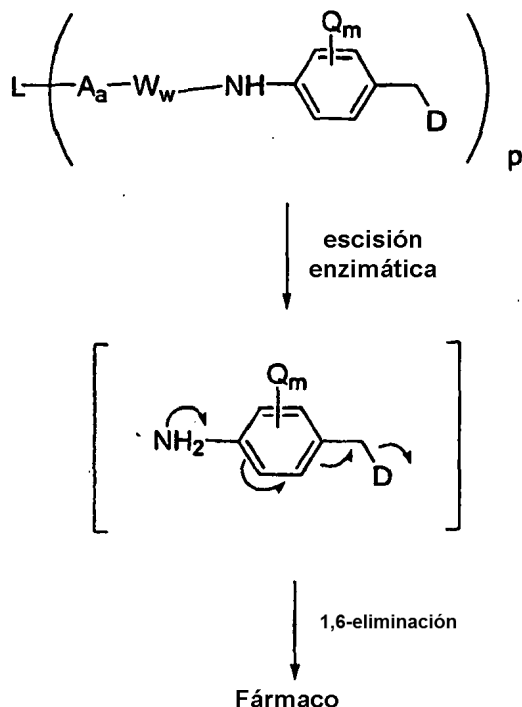
Como alternativa, un compuesto de la invención que contenga una unidad de separador autoinmoladora puede liberar -D sin necesidad de una etapa de hidrólisis separada. En esta forma de realización, -Y- es un grupo PAB que se conecta a -W_w- a través del átomo de nitrógeno del grupo amino PAB, y se conecta directamente a -D a través de un grupo carbonato, carbamato o éter. Sin pretender imponer ninguna teoría, el Esquema 2 muestra un posible mecanismo de liberación del fármaco de un grupo PAB que se une directamente a -D a través de un grupo carbamato o carbonato.

5

Esquema 2

donde Q es -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -halógeno, -nitro o -ciano; m es un número entero que varía de 0-4; y p varía de 1 a aproximadamente 20.

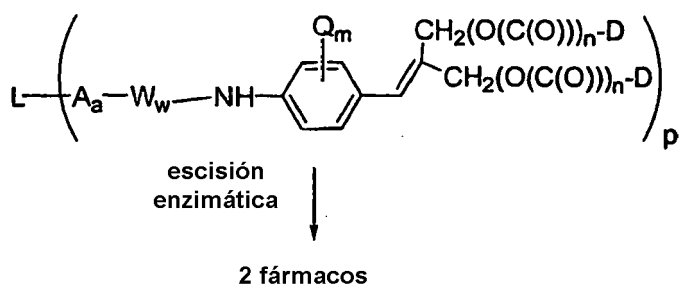
10 Sin pretender imponer ninguna teoría, el Esquema 3 representa un posible mecanismo de liberación del fármaco de un grupo PAB que se une directamente a -D a través de un enlace éter o amínico.

Esquema 3

donde Q es -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -halógeno, -nitro o -ciano; m es un número entero que varía de 0-4; y p varía de 1 a aproximadamente 20.

- Otros ejemplos de separadores autoinmoladores incluyen compuestos aromáticos que son electrónicamente similares al grupo PAB como los derivados de 2-aminoimidazol-5-metanol (véase Hay et al. Bioorg. Med. Chem. Lett., 1999, 9, 2237) y orto o para-aminobencilacetales. Se pueden utilizar separadores que se someten a ciclación tras la hidrólisis del enlace amídico, como las amidas de ácido 4-aminobutírico sustituidas y no sustituidas (Rodrigues et al., Chemistry Biology, 1995, 2, 223), sistemas de anillos apropiadamente sustituidos de biciclo[2.2.1] y biciclo[2.2.2] (Storm, et al., J. Amer. Chem. Soc., 1972, 94, 5815) y amidas de ácido 2-aminofenilpropiónico (Amsberry, et al., J. Org. Chem., 1990, 55, 5867). La eliminación de los fármacos que contienen aminas que están sustituidas en la posición α de la glicina (Kingsbury, et al., J. Med. Chem. 1984, 27, 1447) son también ejemplos de separadores autoinmoladores útiles en los compuestos de la invención.

En una forma de realización preferida, la unidad de separador es una unidad de bis(hidroximetil)estireno (BHMS) ramificada como se muestra en el Esquema 4, que se puede utilizar para incorporar y liberar múltiples fármacos.

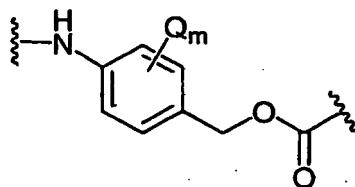
Esquema 4

donde Q es -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -halógeno, -nitro o -ciano; m es un número entero que varía de 0-4; y p varía de 1 a aproximadamente 20.

En una forma de realización, los restos -D son iguales.

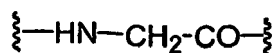
En otra forma de realización, los restos -D son diferentes.

- 5 Las unidades separadoras (-Y_p-) preferidas están representadas por las fórmulas (X) - (XII):

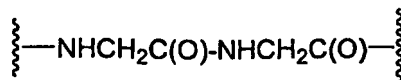


(X)

donde Q es -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -halógeno, -nitro o -ciano; m es un número entero que varía de 0-4;



(XI); y

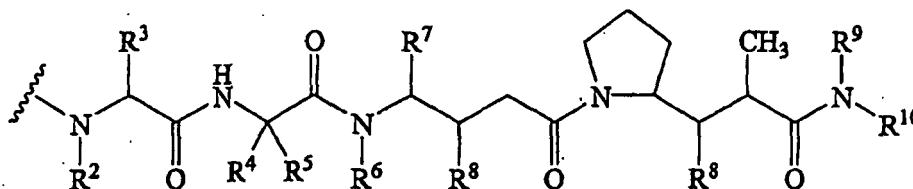


(XII).

10 5.5 LA UNIDAD DE FÁRMACO

-D es una unidad de fármaco que tiene un átomo de nitrógeno o de oxígeno que puede formar un enlace con la unidad de separador cuando y = 1 o 2, o con el grupo carbonilo N-terminal de una unidad de aminoácidos cuando y = 0.

También se describen compuestos en los que -D está representada por la fórmula:



- 15 donde, de forma independiente en cada lugar:
- R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;
- R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);
- 20 R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo; o
- R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

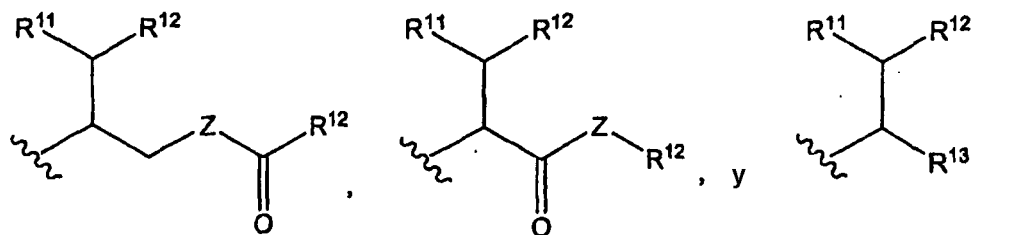
R^6 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

R^7 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo y $-O-(C_1-C_8)$ alquilo);

5 R^9 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

R^{10} se selecciona de



Z es -O-, -S-, -NH- o $-N(R^{14})$;

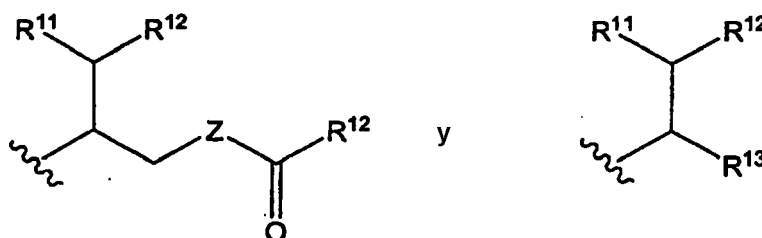
10 R^{11} se selecciona de -H, -OH, $-NH_2$, $-NHR^{14}$, $-N(R^{14})_2$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo ($C=O$) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble ($C=O$);

cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y $-C_3-C_8$ heterociclo;

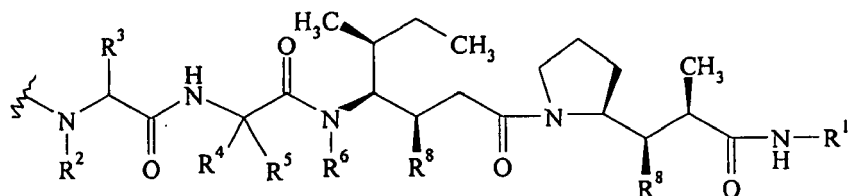
15 R^{11} se selecciona de -H, -OH, $-NH_2$, $-NHR^{14}$, $-N(R^{14})_2$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo); y

cada R^{14} es independientemente -H o $-C_1-C_8$ alquilo.

En una forma de realización, R^{10} se selecciona de



También se describen compuestos en los que -D tiene la fórmula



20

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, donde, independientemente en cada lugar:

R^2 se selecciona de -H y -metilo;

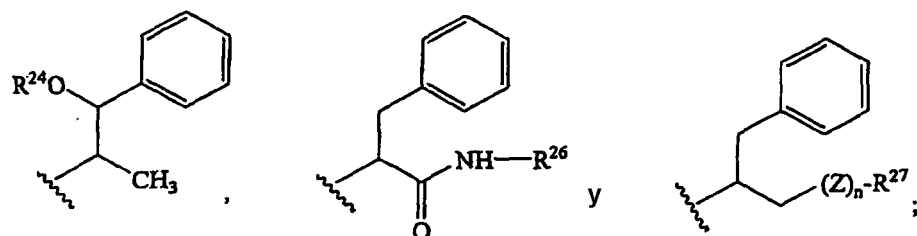
R^3 se selecciona de -H, -metilo e -isopropilo;

25 R^4 se selecciona de -H y -metilo; R^5 se selecciona de -isopropilo, -isobutilo, -sec-butilo, -metilo y -t-butilo; o R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R⁶ se selecciona de -H y -metilo;

cada R⁸ se selecciona independientemente de -OH, -metoxi y -etoxi;

R¹⁰ se selecciona de



- 5 R²⁴ se selecciona de -H y -C(O)R²⁵, donde R²⁵ se selecciona de -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

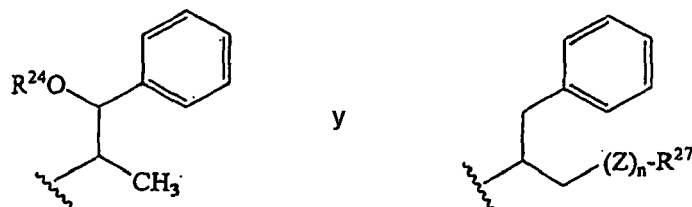
R²⁶ se selecciona de -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

Z es -O-, -NH-, -OC(O)-, -NHC(O)- o -N(R²⁸)C(O)-; donde R²⁸ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

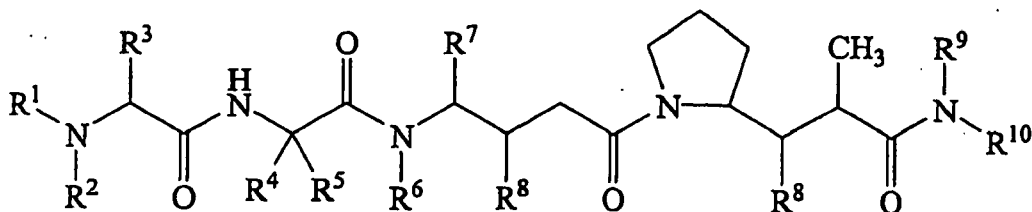
- 10 n es 0 o 1; y

R²⁷ se selecciona de -H, -N₃, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) cuando n es 0; y R²⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) cuando n es 1.

- 15 En una forma de realización, R¹⁰ se selecciona de



La presente invención proporciona compuestos en los que -D está representado por la fórmula:



donde, de forma independiente en cada lugar:

- 20 R¹ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo; y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

- 25 R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo) donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo;

o R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

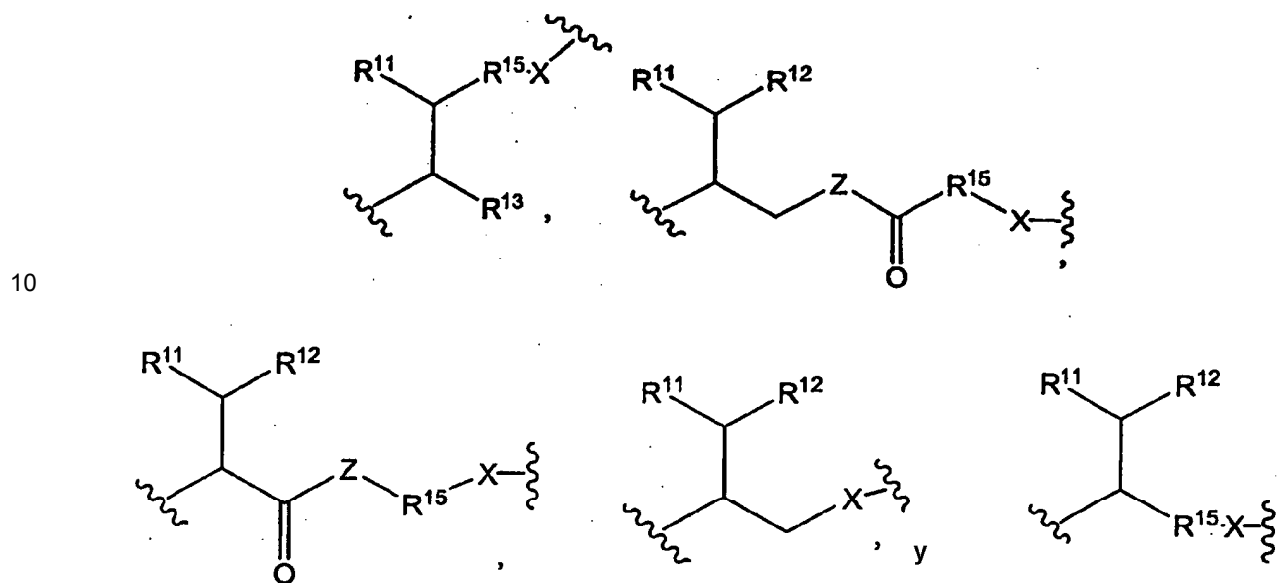
R^6 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

- 5 R^7 se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R^{10} se selecciona de



X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-; donde X forma un enlace con una unidad de conector;

Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, NHR¹⁴, N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo;

- 15 -O-(C₁-C₈ alquilo); -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

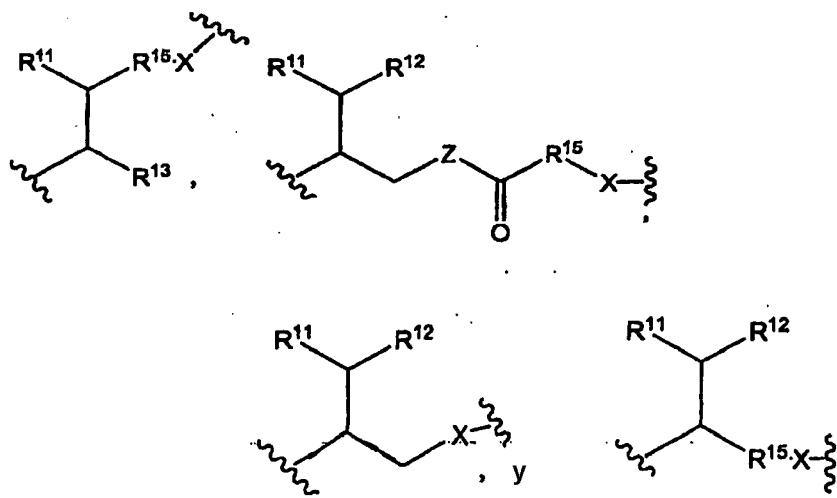
cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

- 20 R^{13} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, NHR¹⁴, N(R¹⁴)₂, -O-(C₁-C₈ alquilo), -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

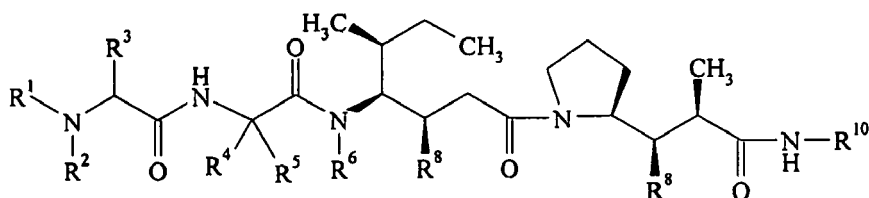
cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo; y

R^{15} es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-.

En una forma de realización, cuando R^1 es-H, R^{10} se selecciona entre:



En una forma de realización preferida, -D tiene la fórmula



5

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, donde, independientemente en cada lugar:

R^1 se selecciona de -H, y -metilo;

R^2 se selecciona de -H, y -metilo;

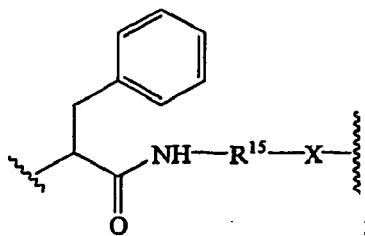
R^3 se selecciona de -H, -metilo e -isopropilo;

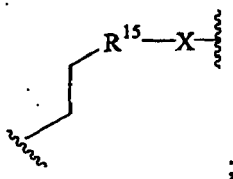
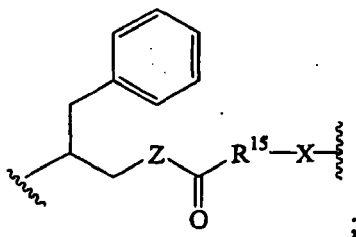
10 R^4 se selecciona de -H y -metilo; R^5 se selecciona de -isopropilo, -isobutilo, -sec-butilo, -metilo y -t-butilo; o R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R^6 se selecciona de -H, y -metilo;

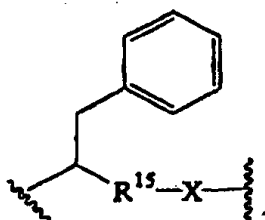
cada R^8 se selecciona independientemente de -OH, -metoxi y -etoxi;

15 R^{10} se selecciona de





y



5 donde X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)- y forma un enlace con Y cuando y es 1 o 2, o con W cuando y es 0;

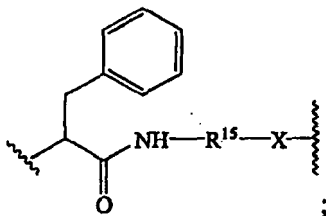
Z es -O-, -NH- o =N(R¹⁴)-;

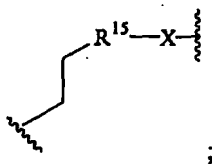
R¹³ es -H o -metilo;

R¹⁴ es C₁-C₈ alquilo; y

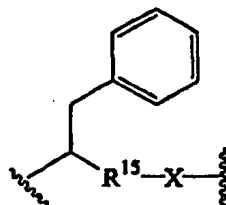
R¹⁵ es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-.

10 En una forma de realización, cuando R¹ es -metilo, R¹⁰ se selecciona de





y



donde X es -O-, -NH- o -N(R¹⁴)- y forma un enlace con Y cuando y es 1 o 2, y con W cuando y es 0;

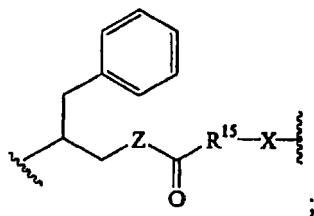
5 Z es -O-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

R¹³ es -H o -metilo;

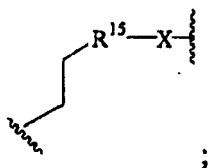
R¹⁴ es C₁-C₈ alquilo; y

R¹⁵ es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-.

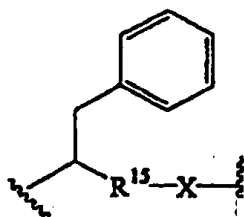
En otra forma de realización, cuando R¹ es -H, R¹⁰ se selecciona de:



10



y



donde X es -O-, -NH- o -N(R¹⁴)- y forma un enlace con Y cuando y es 1 o 2, y con W cuando y es 0;

15 Z es -O-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

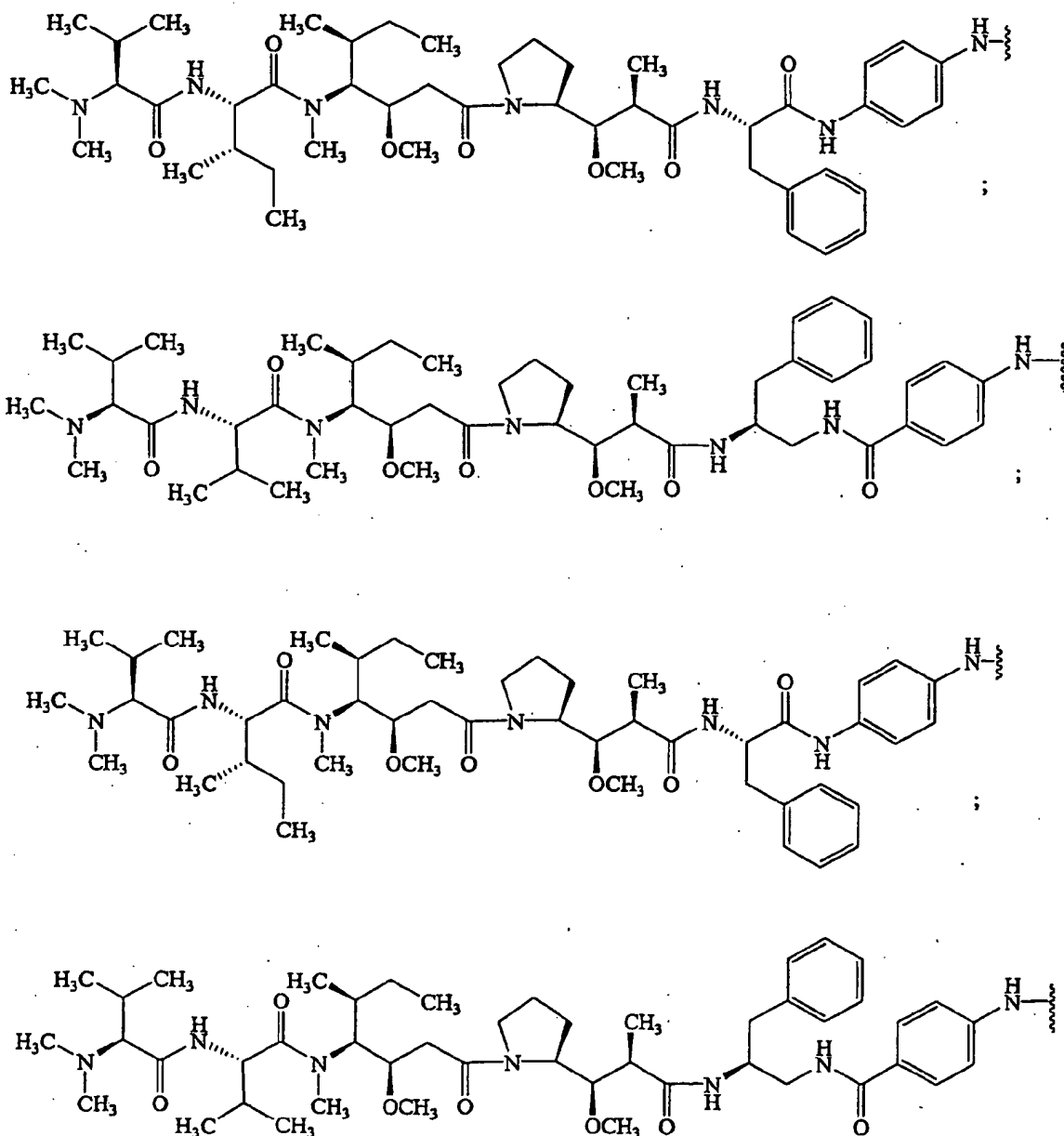
R¹³ es -H o -metilo;

R^{14} es C_1 - C_8 alquilo; y

R^{15} es -arileno-, $-C_3$ - C_8 carbociclo- o $-C_3$ - C_8 heterociclo-.

Una unidad de fármaco puede formar un enlace con una unidad de conector a través de un átomo de nitrógeno de un grupo amino primario o secundario del fármaco, a través de un átomo de oxígeno del grupo hidroxilo del fármaco, o a través de un átomo de azufre del grupo sulfhidrido del fármaco para formar un compuesto de fármaco-conector.

En una forma de realización preferida, las unidades de fármaco tienen la fórmula



5.6 LA UNIDAD DE LIGANDO

La unidad de ligando (L-) incluye en su ámbito cualquier unidad de un ligando (L) que se une o se asocia o forma un complejo reactivamente con un receptor, antígeno u otra porción receptiva asociada a una determinada población de células diana. Un ligando puede ser cualquier molécula que se une, forma un complejo o reacciona con un resto de una población de células que se pretende que sea modificada terapéutica o biológicamente de otra forma. La unidad de ligando actúa para suministrar la unidad de fármaco a la población particular de células diana con la que la unidad de ligando reacciona. Estos ligandos incluyen proteínas de gran peso molecular, tales como, por ejemplo,

anticuerpos de longitud completa, fragmentos de anticuerpos, proteínas de peso molecular más pequeño, polipéptidos o péptidos y lectinas.

Una unidad de ligando puede formar un enlace con una unidad de extensor o con una unidad de aminoácido de un conector. Una unidad de ligando puede formar un enlace con una unidad de conector a través de un heteroátomo del ligando. Los heteroátomos que pueden estar presentes en una unidad de ligando incluyen azufre (en una forma de realización, de un grupo sulfhidrilo de un ligando), oxígeno (en una forma de realización, de un grupo carbonilo, carboxilo o hidroxilo de un ligando) y nitrógeno (en una forma de realización, de un grupo amino primario o secundario de un ligando). Estos heteroátomos pueden estar presentes en el ligando en el estado natural del ligando, por ejemplo un anticuerpo de origen natural, o pueden ser introducidos en el ligando a través de una modificación química.

En una forma de realización preferida, un ligando tiene un grupo sulfhidrilo y el ligando se une a la unidad de conector a través del átomo de azufre del grupo sulfhidrilo.

En otra forma de realización, el ligando puede tener uno o más grupos carbohidratos que pueden ser modificados químicamente para tener uno o más grupos sulfhidrilo. La unidad de ligando se une a la unidad de extensor a través del átomo de azufre del grupo sulfhidrilo.

En otra forma de realización más, el ligando puede tener uno o más grupos carbohidratos que pueden ser oxidados para proporcionar un grupo aldehído (-CHO) (véase Laguzza, et al., J. Med. Chem. 1989, 32(3), 548-55). El aldehído correspondiente puede formar un enlace con un sitio reactivo en un extensor. Los sitios reactivos en un extensor que pueden reaccionar con un grupo carbonilo en un ligando incluyen, aunque no exclusivamente, hidracina e hidroxilamina.

Los ligandos de proteínas, polipéptidos, o péptidos no inmunorreactivos útiles incluyen, aunque no exclusivamente, la transferrina, los factores de crecimiento epidérmico ("EGF"), la bombesina, la gastrina, el péptido liberador de la gastrina, el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, el IL-2, el IL6, los factores de crecimiento transformante ("TGF"), tales como el TGF- α y el TGF- β , el factor de crecimiento de vaccinia ("VGF"), la insulina, y los factores de crecimiento similares a la insulina I y II, las lectinas, y la apoproteína a partir de la lipoproteína de baja densidad.

Los ligandos de anticuerpos policlonales útiles son poblaciones heterogéneas de moléculas de anticuerpos derivadas de los sueros de animales inmunizados. Para la producción de anticuerpos policlonales contra un antígeno de interés, se pueden utilizar diversos procedimientos muy conocidos en la técnica. Por ejemplo, para la producción de anticuerpos policlonales, diversos animales hospedantes pueden ser inmunizados por medio de una inyección con un antígeno de interés o derivados del mismo, entre los que se incluyen, aunque no exclusivamente, los conejos, los ratones, las ratas, y las cobayas. Se pueden emplear diversos adyuvantes con el fin de aumentar la respuesta inmunológica, dependiendo de la especie hospedante, entre los que se incluyen, aunque no exclusivamente, adyuvante de Freund (completo e incompleto), geles minerales, tales como el hidróxido de aluminio; las sustancias tensioactivas, tales como la lisolectina, los polioles plurónicos, los polianiones, los péptidos, las emulsiones oleosas, las hemocianinas de lapa californiana, el dinitrofenol; así como los adyuvantes humanos potencialmente útiles, tales como el BCG (bacilo de Calmette-Guerin), y *Corynebacterium parvum*. Tales adyuvantes son muy conocidos en la técnica.

Los ligandos de anticuerpos monoclonales útiles son poblaciones heterogéneas de anticuerpos contra un antígeno particular (por ejemplo, un antígeno de células cancerosas, un antígeno viral, un antígeno microbiano ligado de manera covalente con una segunda molécula). Se puede preparar un anticuerpo monoclonal (mAb) contra un antígeno de interés empleando cualquier técnica conocida en la técnica que proporcione la producción de moléculas de anticuerpos mediante líneas celulares continuas en cultivo. Éstas incluyen, aunque no exclusivamente, la técnica del hibridoma, descrita originalmente por Kohler y Milstein (1975 *Nature* 256, 495-497), la técnica del hibridoma celular humano-B (Kozbor et al., 1983, *Immunology Today* 4: 72), y la técnica del hibridoma-EBV (Cole et al., 1985, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., pág. 77-96). Tales anticuerpos pueden ser de cualquier clase de inmunoglobulina, incluidas IgG, IgM, IgE, IgA, e IgD, y cualquier subclase de las mismas. El hibridoma que produce los mAb empleados en esta invención puede ser cultivado *in vitro* o *in vivo*.

Los ligandos de anticuerpos monoclonales útiles incluyen, aunque no exclusivamente, los anticuerpos monoclonales humanos o los anticuerpos monoclonales quiméricos humano-ratón (u otras especies). Los anticuerpos monoclonales humanos pueden producirse mediante cualquiera de las numerosas técnicas conocidas en la técnica (por ejemplo, Teng et al., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. de EEUU* 80, 7.308-7.312; Kozbor et al., 1983, *Immunology Today* 4, 72-79; y Olsson et al., 1982, *Meth. Enzymol.* 92, 3-16).

El ligando también puede ser un anticuerpo biespecífico. Los métodos para la producción de anticuerpos biespecíficos son conocidos en la técnica. La producción tradicional de anticuerpos biespecíficos de longitud completa se basa en la expresión conjunta de dos pares de cadena ligera-cadena pesada de inmunoglobulina, donde las dos cadenas tienen diferentes especificidades. (Milstein et al., 1983, *Nature* 305:53.7-539). Debido a la conjugación aleatoria de las cadenas ligeras y pesadas de la inmunoglobulina, estos hibridomas (cuadromas) producen una mezcla potencial de 10 moléculas de anticuerpos diferentes, de las que solo una tiene la estructura

biespecífica correcta. La purificación de la molécula correcta, la cual se lleva a cabo habitualmente empleando etapas de una cromatografía por afinidad, es más bien compleja, y los rendimientos del producto son bajos. En la publicación internacional n° WO 93/08829, y en Traunecker et al., EMBO J. 10:3.655-3.659 (1991) se divulgan procedimientos similares.

Según un enfoque diferente, y más preferido, los dominios variables de los anticuerpos con las especificidades de unión deseadas (sitios de combinación anticuerpo-antígeno) se fusionan con secuencias de dominio constante de la inmunoglobulina. La fusión se da preferiblemente con un dominio constante de cadena pesada de la inmunoglobulina, comprendiendo, al menos, parte de la bisagra, regiones CH2 y CH3. Se prefiere que la primera región constante de cadena pesada (CH1) contenga el sitio necesario para la unión de la cadena ligera, presente en, al menos, una de las fusiones. Los ADN que codifican las fusiones de cadena pesada de la inmunoglobulina y, si se desea, la cadena ligera de la inmunoglobulina, se introducen en vectores de expresión separados, y se lleva a cabo su transfección conjunta a un organismo hospedante adecuado. Esto proporciona una gran flexibilidad en el ajuste de las proporciones mutuas de los tres fragmentos de polipéptidos en formas de realización en las que las relaciones desiguales de las tres cadenas de polipéptidos empleadas en la construcción proporcionan los resultados óptimos. Sin embargo, es posible introducir las secuencias de codificación para dos o las tres cadenas de polipéptidos en un vector de expresión cuando la expresión de, al menos, dos cadenas de polipéptidos en proporciones iguales produzca rendimientos elevados, o cuando las relaciones no sean de especial importancia.

En una forma de realización preferida de este procedimiento, los anticuerpos biespecíficos tienen una cadena pesada de inmunoglobulina híbrida con una primera especificidad de unión en un brazo, y un par de cadena ligera-cadena pesada de inmunoglobulina híbrida (que provee una segunda especificidad de unión) en el otro brazo. Esta estructura asimétrica facilita la separación del compuesto biespecífico deseado de las combinaciones de cadenas de inmunoglobulina no deseadas, puesto que la presencia de una cadena ligera de inmunoglobulina solo una mitad de la molécula biespecífica proporciona un modo sencillo de separación (publicación internacional n° WO 94/04690).

Para obtener información más detallada acerca de la generación de anticuerpos biespecíficos, véase, por ejemplo, Suresh et al., *Methods in Enzymology*, 1986, 121:210. Mediante la utilización de tales técnicas, los ligandos de anticuerpos biespecíficos pueden ser preparados para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades tal y como se define en la presente memoria.

Los anticuerpos bifuncionales aparecen también descritos en la publicación de patente europea n° EP A 0 105 360. Tal y como se divulga en esta referencia, los anticuerpos híbridos o bifuncionales pueden derivarse bien biológicamente, esto es, mediante técnicas de fusión celular, bien químicamente, en particular con agentes de entrecruzamiento o reactivos de formación de puentes de disulfuro, y pueden comprender anticuerpos enteros o fragmentos de los mismos. Los métodos para la obtención de tales anticuerpos híbridos se divulgan, por ejemplo, en la publicación internacional WO 83/03679, y la publicación de patente europea n° EP A 0 217 577.

El ligando puede ser un fragmento, derivado o análogo activo funcionalmente de un anticuerpo que se una de manera inmuno-específica a antígenos de células cancerosas, antígenos virales, o antígenos microbianos. A este respecto, "activo funcionalmente" significa que el fragmento, derivado o análogo puede suscitar anticuerpos anti-antidiotipos que reconozcan el mismo antígeno que reconoce el anticuerpo del cual esté derivado el fragmento, derivado, o análogo. De manera específica, en una forma de realización preferida, la antigenicidad del idiotipo de la molécula de inmunoglobulina puede aumentarse eliminando la estructura y secuencias de la CDR (región determinante de la complementariedad) que sean C-terminales con respecto a la secuencia de CDR que reconoce de manera específica el antígeno. Con el fin de determinar qué secuencias de CDR se unen al antígeno, se pueden utilizar péptidos sintéticos que contengan las secuencias de CDR en los ensayos de unión con el antígeno por medio de cualquier método de ensayo de unión conocido en la técnica (por ejemplo, el ensayo del núcleo BIA).

Se pueden producir otros ligandos útiles que incluyan fragmentos de anticuerpos tales como, aunque no exclusivamente, fragmentos F(ab')₂, que contengan la región variable, la región constante de cadena ligera y el dominio CH1 de la cadena pesada, mediante la digestión con pepsina de la molécula del anticuerpo, y fragmentos Fab, que pueden ser generados reduciendo los puentes de disulfuro de los fragmentos F(ab')₂. Otros ligandos útiles son los dímeros de cadena pesada y de cadena ligera de anticuerpos, o cualquier fragmento mínimo de los mismos, tales como Fv o anticuerpos monocatenarios (SCA), (por ejemplo, tal y como se describe en la patente US 4.946.778; Bird, 1988, *Science* 242:423-42; Huston et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. de EEUU* 85:5.879-5.883; y Ward et al., 1989, *Nature* 334: 544-54), o cualquier otra molécula con la misma especificidad que el anticuerpo.

De manera adicional, los anticuerpos recombinantes, tales como los anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados, que comprendan tanto partes humanas como no humanas, los cuales pueden ser producidos utilizando técnicas de ADN recombinante convencionales, son ligandos útiles. Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que diferentes partes provienen de diferentes especies animales, tales como aquellas que tienen una región variable derivada de un anticuerpo monoclonal murino y una región constante de inmunoglobulina humana. (Véase, por ejemplo, Cabilly et al., patente US 4.816.567; y Boss et al., patente US 4.816.397). Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpos de especies no humanas que tienen una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de las especies no humanas, así como una región de marco de una molécula de inmunoglobulina humana. (Véase, por ejemplo, Queen, patente US 5.585.089). Tales anticuerpos monoclonales

químicos y humanizados pueden ser producidos mediante técnicas de ADN recombinante conocidas en la técnica, por ejemplo, utilizando métodos descritos en la publicación internacional nº WO 87/02671; la publicación de patente europea nº 184.187; la publicación de patente europea nº 171.496; la publicación de patente europea nº 173.494; la publicación de patente internacional nº WO 86/01533; la patente estadounidense nº 4.816.567; la publicación de patente europea nº 125.023; Berter et al., 1988, *Science* 240:1041-1043; Liu et al., 1987, *Proc. Natl Acad. Sci. de EEUU* 84:3.439-3.443; Liu et al., 1987, *J. Immunol.* 139:3.521-3.526; Sun et al., 1987, *Proc. Natl Acad. Sci. de EEUU* 84:214-218; Nishimura et al., 1987, *Canc. Res.* 47:999-1.005; Wood et al., 1985, *Nature* 314:446-449; y Shaw et al., 1988, *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-1559; Morrison, 1985, *Science* 229:1202-1207; Oi et al., 1986, *BioTechniques* 4:214; patente US 5.225.539; Jones et al., 1986, *Nature* 321: 552-525; Verhoeyan et al. (1988) *Science* 239:1.534; y Beidler et al., 1988, *J. Immunol.* 141:4053-4060.

Los anticuerpos completamente humanos son especialmente preferidos para los ligandos. Tales anticuerpos pueden ser producidos empleando ratones transgénicos que no puedan expresar genes de cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina endógenos, pero que sí puedan expresar genes humanos de cadena pesada y ligera. Los ratones transgénicos son inmunizados del modo normal con un antígeno seleccionado, por ejemplo, todo o parte de un polipéptido de la invención. Los anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno pueden obtenerse utilizando la tecnología convencional del hibridoma. Los transgenes de inmunoglobulina humana portados por el ratón transgénico se redisponen durante la diferenciación de las células B y, a continuación, son sometidos a una conmutación de clase y a una mutación somática. Así, utilizándose tal técnica, es posible producir anticuerpos IgG, IgA, IgM e IgE terapéuticamente útiles. Si se desea un análisis de esta tecnología para la producción de anticuerpos humanos, véase Lonberg y Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.*, 13:65-93). Para un análisis detallado de esta tecnología para la producción de anticuerpos humanos y anticuerpos monoclonales humanos, así como de los protocolos para la producción de tales anticuerpos, véase, por ejemplo, la patente US 5.625.126; la patente US 5.633.425; la patente US 5.569.825; la patente US 5.661.016; y la patente US 5.545.806. Otros anticuerpos humanos se pueden obtener comercialmente de, por ejemplo, Abgenix, Inc. (Freemont, California) y Genphann (San José, California).

Los anticuerpos completamente humanos que reconozcan un epítipo seleccionado pueden ser generados utilizando una técnica conocida como "selección guiada". En este procedimiento, se utiliza un anticuerpo monoclonal no humano seleccionado, por ejemplo, un anticuerpo de un ratón, para guiar la selección de un anticuerpo completamente humano que reconozca el mismo epítipo [Jespers et al. (1994) *Biotechnology* 12:899-903].

En otras formas de realización, el ligando es una proteína de fusión de un anticuerpo, o un fragmento activo funcionalmente del mismo, por ejemplo, en el cual el anticuerpo se condensa a través de un enlace covalente (por ejemplo, un enlace peptídico), en el N-terminal o en el C-terminal, con una secuencia de aminoácidos de otra proteína (o una parte de la misma, preferiblemente, una parte de, al menos 10, 20 o 50 aminoácidos de la proteína) que no sea el anticuerpo. Preferiblemente, el anticuerpo o fragmento del mismo está unido de manera covalente a la otra proteína en el N-terminal del dominio constante.

Los anticuerpos del ligando incluyen análogos y derivados que están modificados, esto es, mediante el enlace covalente de cualquier tipo de molécula, siempre y cuando tal enlace covalente permita que el anticuerpo conserve su inmunoespecificidad de unión al antígeno. Por ejemplo, sin que deba entenderse como una limitación, los derivados y análogos de los anticuerpos incluyen aquellos que hayan sido modificados en mayor medida, por ejemplo, mediante glicosilación, acetilación, pegilación, fosfilación, amidación, derivatización a través de grupos protectores/bloqueadores conocidos, fragmentación proteolítica, enlace a una unidad de ligando celular o a otra proteína, etc. Cualquiera de una serie de modificaciones químicas puede ser llevada a cabo mediante técnicas conocidas, entre las que se incluyen, aunque no exclusivamente, la fragmentación química específica, la acetilación, la formilación, la síntesis metabólica de tunicamicina, etc. De modo adicional, el análogo o derivado puede contener uno o más aminoácidos no naturales.

Los anticuerpos del ligando incluyen anticuerpos que tengan modificaciones (por ejemplo, sustituciones, deleciones o adiciones) en restos aminoácidos que interactúen con receptores Fc. En particular, los anticuerpos del ligando incluyen anticuerpos que tienen modificaciones en restos aminoácidos identificados como participantes en la interacción entre el dominio Fc y el receptor FcRn (véase, por ejemplo, la publicación internacional nº WO 97/34631).

Los anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de célula cancerosa pueden obtenerse comercialmente, por ejemplo, de Genentech (San Francisco, California), o producirse mediante cualquier método conocido para un experto en la materia tales como, por ejemplo, las técnicas de expresión recombinante o de síntesis química. La secuencia de nucleótidos que codifica anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de una célula cancerígena puede ser obtenida, por ejemplo, de la base de datos de GenBank, o una base de datos similar, de las publicaciones de la literatura, o por clonación y secuenciación rutinarias.

En una forma de realización específica, se utilizan anticuerpos conocidos para el tratamiento o prevención del cáncer de conformidad con las composiciones y métodos de la invención. Los anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de una célula cancerosa pueden obtenerse comercialmente, o producirse mediante cualquier método conocido para un experto en la materia tales como, por ejemplo, las técnicas de síntesis química o de expresión recombinante. La secuencia de nucleótidos que codifica anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de una célula cancerosa puede obtenerse, por ejemplo, de la base de datos de GenBank, o una base de datos similar, de

las publicaciones de la literatura, o por clonación y secuenciación rutinarias. Los ejemplos de anticuerpos disponibles para el tratamiento del cáncer incluyen, aunque no exclusivamente, HERCEPTIN (Trastuzumab; Genentech, California), el cual es un anticuerpo monoclonal anti-HER2 humanizado para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico [Stebbing, J., Copson, E., y O'Reilly, S. "Herceptin (trastuzumab) in advanced breast cancer" *Cancer Treat Rev.* 26, 287-90, 2000]; RITUXAN (rituximab; Genentech), el cual es un anticuerpo monoclonal anti-CD20 quimérico para el tratamiento de pacientes con linfoma no hodgkiniano; OvaRex (AltaRex Corporation, Massachusetts), el cual es un anticuerpo murino para el tratamiento del cáncer de ovarios; Panorex (Glaxo Wellcome, Carolina del Norte), el cual es un anticuerpo IgG_{2a} murino para el tratamiento del cáncer colorrectal; BEC2 (ImClone Systems Inc., Nueva York), el cual es un anticuerpo IgG murino para el tratamiento del cáncer de pulmón; IMC-C225 (Imclone Systems Inc., Nueva York), el cual es un anticuerpo IgG quimérico para el tratamiento del cáncer de cabeza y cuello; Vitaxin (MedImmune, Inc., Maryland), el cual es un anticuerpo humanizado para el tratamiento del sarcoma; Campath I/H (Leukosite, Massachusetts), el cual es un anticuerpo IgG₁ humanizado para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (LLC); Smart MI95 (Protein Design Labs, Inc., California), el cual es un anticuerpo IgG humanizado para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (LMA); LymphoCide (Immunomedics, Inc., Nueva Jersey), el cual es un anticuerpo IgG humanizado para el tratamiento del linfoma no hodgkiniano; Smart ID 10 (Protein Design Labs, Inc., California), el cual es un anticuerpo humanizado para el tratamiento del linfoma no hodgkiniano; Oncolym (Techniclone, Inc., California), el cual es un anticuerpo murino para el tratamiento del linfoma no hodgkiniano; Allomune (BioTransplant, California), el cual es un mAb anti-CD2 humanizado para el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin o del linfoma no hodgkiniano; anti-VEGF (Genentech, Inc., California), el cual es un anticuerpo humanizado para el tratamiento del cáncer de pulmón y colorrectal; CEAcide (Immunomedics, Nueva Jersey), el cual es un anticuerpo anti-CEA humanizado para el tratamiento del cáncer colorrectal, IMC-1C11 (ImClone Systems, Nueva Jersey), el cual es un anticuerpo quimérico anti-KDR para el tratamiento del cáncer colorrectal, los cánceres de pulmón, y el melanoma; y Cetuximab (ImClone, Nueva Jersey), el cual es un anticuerpo quimérico anti-EGFR para el tratamiento de los cánceres positivos al factor de crecimiento epidérmico.

Otros anticuerpos útiles en el tratamiento del cáncer incluyen, aunque no exclusivamente, los anticuerpos contra los siguientes antígenos: CA125 (ovárico), CA15-3 (carcinomas), CA19-9 (carcinomas), L6 (carcinomas), Lewis Y (carcinomas), Lewis X (carcinomas), alfafetoproteína (carcinomas), CA 242 (colorrectal), fosfatasa alcalina placentaria (carcinomas), antígeno específico prostático (próstata), fosfatasa ácida prostática (próstata), factor de crecimiento epidérmico (carcinomas), MAGE1 (carcinomas), MAGE-2 (carcinomas), MAGE-3 (carcinomas), MAGE-4 (carcinomas), receptor de la antitransferrina (carcinomas), p97 (melanoma), MUC1-KLH (cáncer de mama), CEA (colorrectal), gp100 (melanoma), MART1 (melanoma), PSA (próstata), receptor de IL-2 (leucemia de células T y linfomas), CD20 (linfoma no hodgkiniano), CD52 (leucemia), CD33 (leucemia), CD22 (linfoma), gonadotropina coriónica humana (carcinoma), CD38 (mieloma múltiple), CD40 (linfoma), mucina (carcinomas), P21 (carcinomas), MPG (melanoma), y producto oncogénico Neu (carcinomas). Algunos anticuerpos útiles específicos incluyen, aunque no exclusivamente, BR96 mAb (Trail, P. A., Willner, D., Lasch, S. J., Henderson, A. J., Hofstead, S. J., Casazza, A. M., Firestone, R. A., Hellström, I., Hellström, K. E., "Cure of Xenografted Human Carcinomas by BR96-Doxorubicin Immunoconjugates" *Science* 1993, 261, 212-215), BR64 (Trail, P. A., Willner, D., Knipe, J., Henderson, A. J., Lasch, S. J., Zoeckler, M. E., Trailsmith, M. D., Doyle, T. W., King, H. D., Casazza, A. M., Braslawsky, G. R., Brown, J. P., Hofstead, S. J.), (Greenfield, R. S., Firestone, R. A., Mosure, K., Kadow, D. F., Yang, M. B., Hellstrom, K. E., y Hellstrom, L. "Effect of Linker Variation on the Stability, Potency, and Efficacy of Carcinoma-reactive BR64 Doxorubicin Immunoconjugates" *Cancer Research* 1997, 57, 100-105), el mAbs contra el antígeno CD40, por ejemplo, el S2C6 mAb (Francisco, J. A., Donaldson, K. L., Chace, D., Siegall, C. B., y Wahl, A. F. "Agonistic properties and in vivo antitumor activity of the anti-CD-40 antibody, SGN-14" *Cancer Research* 2000, 60, 3.225-3.231), mAb contra el antígeno CD70, por ejemplo, el 1F6 mAb, y mAb contra el antígeno CD30, por ejemplo, el AC10 (Bowen, M. A., Olsen, K. J., Cheng, L., Avila, D., y Podack, E. R. "Functional effects of CD30 on a large granular lymphoma cell line YT" *J. Immunol.*, 151, 5896-5906, 1993). Otros muchos anticuerpos internalizadores que se unen a antígenos asociados a tumores pueden ser empleados en esta invención, y han sido reseñados (Franke, A. E., Sievers, E. L., y Scheinberg, D. A., "Cell surface receptor-targeted therapy of acute myeloid leukemia: a review" *Cancer Biother Radiopharm.* 2000, 15, 459-76; Murray, J. L., "Monoclonal antibody treatment of solid tumors: a coming of age" *Semin Oncol.* 2000, 27, 64-70; Breitling, F., y Dubel, S., *Recombinant Antibodies*, John Wiley, and Sons, New York, 1998).

En otra forma de realización específica, se usan anticuerpos conocidos para el tratamiento o la prevención de una enfermedad autoinmune de conformidad con las composiciones y usos de la invención. Los anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de una célula que es responsable de la producción de anticuerpos autoinmunes pueden obtenerse de cualquier organización (por ejemplo, un científico de una universidad, o una empresa como Genentech) o producirse mediante cualquier método conocido para un experto en la materia tales como, por ejemplo, técnicas de síntesis química o de expresión recombinante. En otra forma de realización, los anticuerpos de ligando útiles que son inmunoespecíficos para el tratamiento de enfermedades autoinmunes incluyen, aunque no exclusivamente, el anticuerpo antinuclear; el anti-ADNbc; el anti-ADNmc, el anticuerpo anticardiolipina IgM, IgG; el anticuerpo antifosfolípido IgM, IgG; el anticuerpo anti-SM; el anticuerpo antimitocondrial; el anticuerpo tiroideo; el anticuerpo microsomático; el anticuerpo de la tiroglobulina; el anti SCL-70; el anti-Jo; el anti-U₁RNP; el anti-La/SSB; el anti-SSA; el anti-SSB; el anticuerpo anti-células peritales; el antihistonas; el anti-RNP; el C-ANCA; el P-ANCA; el anticentrómero; el antifibrilarina, y el anticuerpo anti-GBM.

En algunas formas de realización preferidas, los anticuerpos útiles en los presentes usos pueden unirse tanto a un receptor como a un complejo de receptor expresado sobre un linfocito activado. El receptor o complejo de receptor puede comprender un miembro de la superfamilia de genes de las inmunoglobulinas, un miembro de la superfamilia de los receptores TNF, una integrina, un receptor de citoquinas, un receptor de quimioquinas, una proteína del complejo mayor de histocompatibilidad, una lectina, o una proteína de control del complemento. Los ejemplos no limitantes de miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas adecuados son la CD2, la CD3, la CD4, la CD8, la CD19, la CD22, la CD28, la CD79, la CD90, la CD152/CTLA-4, la PD-1, y la ICOS. Los ejemplos no limitantes de miembros de la superfamilia de los receptores TNF adecuados son el CD27, el CD40, el CD95/Fas, el CD134/OX40, el CD137/4-1BB, el TNF-R1, el TNFR-2; el RANK, el TACI, el BCMA, la osteoprotegerina, el Apo2/TRAIL-R1, el TRAIL-R2, el TRAIL-R3, el TRAIL-R4, y el APO-3. Los ejemplos no limitantes de las integrinas adecuadas son la CAD11a, la CD11b, la CD11c, la CD18, la CD29, la CD41, la CD49a, la CD49b, la CD49c, la CD49d, la CD49e, la CD49f, la CD103, y la CD104. Los ejemplos no limitantes de las lectinas adecuadas son la lectina del tipo C, del tipo S, y del tipo I.

En una forma de realización, el ligando es un anticuerpo que se une a un linfocito activado que esté asociado a una enfermedad autoinmune.

En otra forma de realización específica, los anticuerpos de ligando útiles que son inmuno-específicos para un antígeno viral o microbiano son anticuerpos monoclonales. De manera preferida, los anticuerpos de ligando que son inmuno-específicos para un antígeno viral o microbiano son anticuerpos monoclonales humanos o humanizados. Tal y como se emplea en la presente memoria, la expresión "antígeno viral" incluye, aunque no exclusivamente, cualquier péptido, proteína o polipéptido viral [por ejemplo, HIV gp120, HIV nef, la glicoproteína RSV F, la neuraminidasa del virus de la gripe, la hemaglutinina del virus de la gripe, HTLV tax, la glicoproteína del virus del herpes simplex (por ejemplo, gB, gC, gD, y gE) y el antígeno de la superficie de la hepatitis B] que pueda provocar una respuesta inmune. Tal y como se emplea en la presente memoria, la expresión "antígeno microbiano" incluye, aunque no exclusivamente, cualquier péptido, polipéptido, proteína, sacárido, polisacárido, o molécula de lípido microbianos (por ejemplo, un polipéptido bacteriano, de hongo, de protozoos patógenos, o de levadura, entre los que se incluyen, por ejemplo, el LPS y el polisacárido capsular 5/8) que pueda provocar una respuesta inmune.

Los anticuerpos inmuno-específicos para un antígeno viral o microbiano pueden obtenerse comercialmente, por ejemplo, de Genentech (San Francisco, California), o producirse mediante cualquier método conocido para un experto en la materia tal como, por ejemplo, las técnicas de síntesis química o de expresión recombinante. La secuencia de nucleótidos que codifica anticuerpos que son inmuno-específicos para un antígeno viral o microbiano puede obtenerse, por ejemplo, de la base de datos de GenBank, o una base de datos similar, de las publicaciones de la literatura, o por clonación y secuenciación rutinarias.

En una forma de realización específica, los anticuerpos de ligando útiles son aquellos que son útiles para el tratamiento o la prevención de una infección viral o microbiana según la invención. Los ejemplos de anticuerpos disponibles útiles para el tratamiento de una infección viral o infección microbiana incluyen, aunque no exclusivamente, SYNAGIS (MedImmune, Inc., Maryland), el cual es un anticuerpo monoclonal del virus sincitial antirrespiratorio (RSV) humanizado, útil para el tratamiento de pacientes con infección del RSV; PRO542 (Progenics), el cual es un anticuerpo de fusión con CD4, útil para el tratamiento de la infección con el VIH; OSTAVIR (Protein Design Labs, Inc., California), el cual es un anticuerpo humano útil para el tratamiento del virus de la hepatitis B; PROTOVIR (Protein Design Labs, Inc., California), el cual es un anticuerpo IgG₁ humanizado útil para el tratamiento del citomegalovirus (CMV); y los anticuerpos anti-LPS.

Otros anticuerpos útiles en el tratamiento de enfermedades infecciosas incluyen, aunque no exclusivamente, anticuerpos contra los antígenos de cepas patógenas de bacterias (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenas*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter (Vibrio) fetus*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Edwardsiella tarda*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Treponema pallidum*, *Treponema pertenue*, *Treponema carateneum*, *Borrelia vincentii*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira icterohemorrhagiae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pneumocystis carinii*, *Francisella tularensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella melitensis*, *Mycoplasma spp.*, *Rickettsia prowazeki*, *Rickettsia tsutsugumushi*, *Chlamydia spp.*); hongos patógenos (*Coccidioides immitis*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*); protozoos (*Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*, *Trichomonas tenax*, *Trichomonas hominis*, *Trichomonas vaginalis*, *Trypanosoma gambiense*, *Trypanosoma rhodesiense*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania braziliensis*, *Pneumocystis pneumonia*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*); o helmintos (*Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichinella spiralis*, *Strongyloides stercoralis*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, y anquilostomas).

Otros anticuerpos útiles en esta invención para el tratamiento de enfermedades virales incluyen, aunque no exclusivamente, anticuerpos contra antígenos de virus patógenos, entre los que se incluyen a modo de ejemplo, aunque no exclusivamente: *Poxviridae*, *Herpesviridae*, el virus del herpes simplex 1, el virus del herpes simplex 2,

Adenoviridae, *Papovaviridae*, *Enteroviridae*, *Picornaviridae*, *Parvoviridae*, *Reoviridae*, *Retroviridae*, el virus de la gripe, el virus de la parainfluenza, las paperas, el sarampión, el virus sincitial respiratorio, la rubéola, *Arboviridae*, *Rhabdoviridae*, *Arenaviridae*, el virus de la hepatitis A, el virus de la hepatitis B, el virus de la hepatitis C, el virus de la hepatitis E, el virus de la hepatitis no A/no B, *Rhinoviridae*, *Coronaviridae*, *Rotoviridae*, y el Virus de Inmunodeficiencia Humana.

Los anticuerpos adecuados para su uso en la invención pueden ser producidos mediante cualquier método conocido en la técnica para la síntesis de anticuerpos, en especial, por síntesis química o por expresión recombinante, y son producidos preferiblemente mediante técnicas de expresión recombinante.

5.6.1 PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS RECOMBINANTES

Los anticuerpos de ligando de la invención pueden ser producidos utilizando cualquier método que sea conocido en la técnica por su utilidad para la síntesis de anticuerpos, en especial, mediante síntesis química o expresión recombinante, y son producidos preferiblemente mediante técnicas de expresión recombinante.

La expresión recombinante de los anticuerpos de ligando, o un fragmento, derivado o análogo de los mismos, requiere la construcción de un ácido nucleico que codifique el anticuerpo. Si se conoce la secuencia de nucleótidos del anticuerpo, un ácido nucleico que codifique el anticuerpo puede ser ensamblado a partir de oligonucleótidos sintetizados químicamente (por ejemplo, tal y como se describe en Kutmeier et al., 1994, *Bio Techniques* 17:242), lo cual comprende la síntesis de oligonucleótidos solapantes que contengan partes de la secuencia que codifica el anticuerpo, la hibridación y el ligamiento de tales oligonucleótidos y después la amplificación de los oligonucleótidos ligados por PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

De modo alternativo, una molécula de ácido nucleico que codifique un anticuerpo puede ser generada a partir de una fuente adecuada. Si un clon que contenga el ácido nucleico que codifica el anticuerpo particular no está disponible, pero se conoce la secuencia del anticuerpo, un ácido nucleico que codifique el anticuerpo puede ser obtenido a partir de una fuente adecuada (por ejemplo, una biblioteca de ADNc de anticuerpos, o biblioteca de ADNc generada a partir de cualquier tejido o célula que exprese la inmunoglobulina) mediante amplificación por PCR usando cebadores sintéticos que pueden hibridarse con los extremos 3' y 5' de la secuencia, o mediante clonación usando una sonda de oligonucleótido específica para la secuencia de genes concreta.

En el caso de que un anticuerpo que reconozca de modo específico un antígeno particular (o una fuente para una biblioteca de ADNc para clonar un ácido nucleico que codifique tal inmunoglobulina) no esté disponible comercialmente, se pueden generar anticuerpos específicos para un antígeno particular por medio de cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, mediante la inmunización de un animal como un conejo, con el fin de generar anticuerpos policlonales o, de manera más preferida, mediante la generación de anticuerpos monoclonales, por ejemplo, tal y como describen Kohler y Milstein (1975, *Nature* 256:495-497), o tal y como describen Kozbor et al. (1983 *Immunology Today* 4:72), o Cole et al. (1985, en *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc., pág. 77-96). De manera alternativa, un clon que codifique, al menos, el fragmento Fab del anticuerpo puede ser obtenido seleccionando las bibliotecas de expresión Fab (por ejemplo, tal y como se describe en Huse et al., 1989, *Science* 256:1.275-1.281) para clones de fragmentos Fab que se unan al antígeno específico, o seleccionando bibliotecas de anticuerpos (véase, por ejemplo, Clackson et al., 1991, *Nature* 352: 624; Hane et al., 1997 *Proc. Natl. Acad. Sci. de EEUU*. 94:4937).

Una vez que se haya obtenido una secuencia de ácido nucleico que codifique, al menos, el dominio variable del anticuerpo, ésta puede ser introducida en un vector que contenga la secuencia de nucleótidos que codifica las regiones constantes del anticuerpo (véase, por ejemplo, la publicación internacional nº WO 86/05807; la publicación internacional nº WO 89/01036; y la patente US 5.122.464). Los vectores que contienen la cadena ligera o pesada completa que permiten la expresión de una molécula de anticuerpo completa están disponibles. Entonces, el ácido nucleico que codifica el anticuerpo puede ser utilizado para introducir las sustituciones o deleciones de nucleótidos necesarias con el fin de sustituir (o delecionar) el o los restos de cisteína de la región variable que participan en un puente de disulfuro dentro de la cadena por un resto aminoácido que no contenga un grupo sulfhidilo. Tales modificaciones pueden ser llevadas a cabo mediante cualquier método conocido en la técnica para la introducción de mutaciones o deleciones específicas en una secuencia de nucleótidos, por ejemplo, aunque no exclusivamente, la mutagénesis química y la mutagénesis dirigida al sitio *in vitro* (Hutchinson et al., 1978, *J. Biol. Chem.*, 253:6.551).

Asimismo, se pueden emplear las técnicas desarrolladas para la producción de "anticuerpos quiméricos" (Morrison et al., 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81:851-85.5; Neuberger et al., 1984, *Nature* 312:604-608; Takeda et al., 1985, *Nature* 314:452-454) mediante el corte y empalme de genes de una molécula de anticuerpo de un ratón de especificidad del antígeno apropiada con genes de una molécula de anticuerpo humano de actividad biológica apropiada. Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que distintas partes provienen de diferentes especies animales, tales como aquellos que tienen una región variable derivada de un anticuerpo monoclonal murino y una región constante de una inmunoglobulina humana, por ejemplo, anticuerpos humanizados.

De modo alternativo, las técnicas descritas para la producción de anticuerpos monocatenarios (patente US 4.694.778; Bird, 1988, *Science* 242:423-42; Huston et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. de EEUU* 85:5.879-5.883; y

Ward et al., 1989, *Nature* 334:544-54) pueden ser adaptadas para producir anticuerpos monocatenarios. Los anticuerpos monocatenarios se forman por la unión de los fragmentos de cadena pesada y ligera de la región Fv a través de un puente de aminoácidos, dando como resultado un polipéptido monocatenario. También se pueden utilizar las técnicas para el ensamblaje de fragmentos Fv funcionales en *E. coli* (Skerra et al., 1988, *Science* 242:1.038-1.041).

Los fragmentos del anticuerpo que reconocen los epítomos específicos pueden ser generados por medio de técnicas conocidas. Por ejemplo, tales fragmentos incluyen, aunque no exclusivamente, los fragmentos F(ab')₂ que puedan ser producidos mediante la digestión con pepsina de la molécula del anticuerpo, así como los fragmentos Fab que puedan ser generados mediante la reducción de los puentes de disulfuro de los fragmentos F(ab')₂.

Una vez que se haya obtenido una secuencia de ácido nucleico que codifique un anticuerpo de ligando, el vector para la producción del anticuerpo puede ser producido mediante tecnología de ADN recombinante utilizando técnicas muy conocidas en la técnica. Se pueden utilizar métodos muy conocidos para los expertos en la materia para construir vectores de expresión que contengan las secuencias de codificación del anticuerpo y señales de control de la transcripción y de la traducción apropiadas. Estos métodos incluyen, por ejemplo, las técnicas de ADN recombinante *in vitro*, técnicas sintéticas, y la recombinación genética *in vivo*. Véase, por ejemplo, las técnicas descritas en Sambrook et al. (1990, *Molecular Cloning*, Manual de laboratorio, 2ª edición, Laboratorio Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor, Nueva York) y Ausubel et al. (eds., 1998, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Nueva York).

Se puede transferir un vector de expresión que comprenda la secuencia de nucleótidos de un anticuerpo, o la secuencia de nucleótidos de un anticuerpo a una célula hospedante mediante técnicas convencionales (por ejemplo, electroporación, transfección liposómica, y precipitación con fosfato cálcico), y las células transfectadas son entonces cultivadas por medio de técnicas convencionales para producir el anticuerpo. En formas de realización específicas, la expresión del anticuerpo es regulada por un promotor constitutivo, inducible, o tisular específico.

Las células hospedantes usadas para expresar el anticuerpo de ligando recombinante pueden ser células bacterianas, tales como la *Escherichia coli*, o, de manera preferida, células eucarióticas, en especial para la expresión de la molécula de inmunoglobulina recombinante entera. En especial, las células mamíferas tales como las células ováricas del hámster chino (CHO), junto con un vector tal como el elemento promotor del gen temprano-intermedio mayor del citomegalovirus humano es un sistema de expresión efectivo para las inmunoglobulinas (Foecking et al., 198, *Gene* 45:101; Cockett et al., 1990, *Bio Technology* 8:2).

Se puede utilizar una variedad de sistemas de vectores de expresión-hospedante para expresar los ligandos de inmunoglobulina. Tales sistemas de expresión-hospedante representan vehículos por medio de los cuales las secuencias de codificación del anticuerpo pueden ser producidas y, a continuación, purificadas, pero también representan células que pueden, cuando sean transformadas o transfectadas con las secuencias de codificación de nucleótidos adecuadas, expresar una molécula de inmunoglobulina del ligando *in situ*. Estos incluyen, aunque no exclusivamente, microorganismos tales como bacterias (por ejemplo, *E. coli* y *B. subtilis*) transformadas con ADN de bacteriófago, ADN de plásmido, o vectores de expresión de ADN de cósmido recombinante que contiene secuencias de codificación de la inmunoglobulina; levadura (por ejemplo, *Saccharomyces*, *Pichia*) transformada con vectores de expresión de levadura recombinantes que contienen secuencias de codificación de inmunoglobulina; sistemas celulares de insectos infectados con vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, baculovirus) que contienen secuencias de codificación de inmunoglobulina; sistemas celulares vegetales infectados con vectores de expresión de virus recombinantes [por ejemplo, el virus del mosaico de la coliflor (CaMV) y el virus del mosaico del tabaco (TMV)], o transformados con vectores de expresión de plásmidos recombinantes (por ejemplo, plásmido Ti) que contienen secuencias de codificación de inmunoglobulina; o sistemas de células de mamífero (por ejemplo, las células COS, CHO, BH, 293, 293T, 3T3) que portan constructos de expresión recombinantes que contienen promotores derivados del genoma de células de mamífero (por ejemplo, el promotor de la metalotioneína) o de virus de mamífero (por ejemplo, el promotor tardío del adenovirus; el promotor 7.5K del virus de vaccinia).

En los sistemas bacterianos, una serie de vectores de expresión pueden ser seleccionados ventajosamente dependiendo del uso pretendido para el anticuerpo que se está expresando. Por ejemplo, cuando haya que producir una gran cantidad de tal proteína, pueden ser deseables los vectores que dirigen la expresión de niveles elevados de productos de proteína de fusión que se purifiquen con facilidad. Tales vectores incluyen, aunque no exclusivamente, el vector de expresión de *E.coli* pUR278 (Ruther et al., 1983, *EMBO J.* 2:1.791), en el que la secuencia de codificación del anticuerpo puede ser acoplada individualmente al vector dentro del marco con la región de codificación de lac Z, de modo que se produce una proteína de fusión; los vectores pIN (Inouye & Inouye, 1985, *Nucleic Acids Res.* 13:3.101-3.109; Van Heeke & Schuster, 1989, *J. Biol. Chem.* 24:550 5.509); y similares. Los vectores pGEX también pueden emplearse para expresar polipéptidos extraños como proteínas de fusión con glutatión S-transferasa (GST). En general, tales proteínas de fusión son solubles y pueden ser purificadas fácilmente a partir de células lisadas por adsorción y unión a una matriz de esferas de glutatión-agarosa, seguido de elución en presencia de glutatión libre. Los vectores pGEX son diseñados para incluir sitios de ruptura para las proteasas trombina o factor Xa, de modo que el producto del gen diana clonado pueda ser liberado de la fracción de GST.

En un sistema de insecto se utiliza el virus de la polihedrosis nuclear de *Autographa californica* (AcNPV) o el virus análogo de *Drosophila melanogaster* como vector para expresar genes extraños. El virus crece en células de *Spodoptera frugiperda*. La secuencia de codificación del anticuerpo puede ser clonada individualmente en regiones no esenciales (por ejemplo, el gen de la polihedrina) del virus y puesta bajo el control de un promotor AcNPV (por ejemplo, el promotor de la polihedrina).

En las células hospedantes de mamífero, se puede utilizar una serie de sistemas de expresión de base viral. En casos en los que se utilice un adenovirus como vector de expresión, la secuencia de codificación del anticuerpo de interés puede ser ligada a un complejo de control de la transcripción/traducción del adenovirus, por ejemplo, el promotor tardío y la secuencia líder tripartita. Este gen quimérico puede entonces ser introducido en el genoma del adenovirus por recombinación *in vitro* o *in vivo*. La inserción en una región no esencial del genoma viral (por ejemplo, la región E1 o E3) produce un virus recombinante que es viable y que puede expresar la molécula de la inmunoglobulina en hospedantes infectados (por ejemplo, véase Logan & Shenk, 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* 81:355-359). Las señales de iniciación específicas también pueden requerirse para la traducción eficiente de secuencias de codificación del anticuerpo insertado. Estas señales incluyen el codón de iniciación ATG y secuencias adyacentes. Asimismo, el codón de iniciación debe estar en fase con el marco de lectura de la secuencia de codificación deseada con el fin de asegurar la traducción del inserto completo. Estas señales de control de la traducción y los codones de iniciación exógenos pueden tener una diversidad de orígenes, tanto naturales como sintéticos. La eficiencia de la expresión puede ser mejorada por la inclusión de elementos potenciadores de la transcripción adecuados, terminadores de la transcripción, etc. (véase Bittner et al., 1987, *Methods in Enzymol.* 153:51-544).

Asimismo, se puede escoger una cepa de células hospedantes para modular la expresión de las secuencias introducidas, o modificar y procesar el producto genético de la manera deseada. Tales modificaciones (por ejemplo, glicosilación) y procesamiento (por ejemplo, fragmentación) de producto proteínicos pueden ser de importancia para la función de la proteína. Diferentes células hospedantes tienen mecanismos característicos y específicos para el procesamiento posterior a la traducción y la modificación de proteínas y productos genéticos. Se pueden escoger líneas celulares o sistemas de hospedantes apropiados para asegurar la modificación y el procesamiento correctos de la proteína extraña expresada. Para tal fin, se pueden usar células hospedantes eucarióticas que posean la maquinaria celular para el procesamiento adecuado del transcrito primario, la glicosilación y la fosforilación del producto genético. Tales células hospedantes de mamífero incluyen, aunque no exclusivamente, CHO, VERY, BH, Hela, COS, MDCK, 293, 293T, 3T3, WI38, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 y T47D, CRL7030 y Hs578Bst.

Para la producción a largo plazo de alto rendimiento de proteínas recombinantes, se prefiere la expresión estable. Por ejemplo, las líneas celulares que expresen de manera estable un anticuerpo pueden ser producidas por ingeniería. Más que usar vectores de expresión que contengan orígenes virales de la replicación, las células hospedantes pueden ser transformadas con ADN controlado por elementos de control de la expresión apropiados (por ejemplo, promotor, intensificador, secuencias, terminadores de la transcripción, sitios de poliadenilación, etc.), y un marcador seleccionable. A continuación de la introducción del ADN extraño, se puede permitir que las células producidas por ingeniería crezcan durante 1-2 días en un medio enriquecido y, después, son trasladadas a un medio selectivo. El marcador seleccionable en el plásmido recombinante confiere resistencia a la selección, y permite que las células integren establemente el plásmido en sus cromosomas y crezcan para formar focos que, a su vez, pueden ser clonados y expandidos al interior de líneas celulares. Este método puede ser utilizado de manera ventajosa para producir por ingeniería líneas celulares que expresen el anticuerpo. Tales líneas celulares producidas por ingeniería pueden ser especialmente útiles en el examen y evaluación de antígenos tumorales que interactúan directa o indirectamente con el ligando del anticuerpo.

Se puede utilizar una serie de sistemas de selección entre los que se incluyen, aunque no exclusivamente, aquellos en los que pueden emplearse los genes de la timidina quinasa del virus del herpes simplex (Wigler et al., 1977, *Cell* 11:223), la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (Szybalska & Szybalski, 1972, *Proc. Natl. Acad. Sci. de EEUU* 48:202), y la adenina-fosforribosiltransferasa (Lowy et al., 1980, *Cell* 22:817) en células tk, hgprt, o aprt, respectivamente. Además, la resistencia a los antimetabolitos puede ser utilizada como base para la selección de los siguientes genes: el dhfr, el cual confiere resistencia al metotrexato (Wigler et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. de EEUU* 77:357; O'Hare et al., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. de EEUU* 78:1527); el gpt, el cual confiere resistencia al ácido micofenólico (Mulligan & Berg, 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. de EEUU* 78:2072); el neo, el cual confiere resistencia al aminoglucósido G418 (*Clinical Pharmacy* 12:488-505; Wu y Wu, 1991, *Biotherapy* 3:87-95; Tolstoshev, 1993, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596; Mulligan, 1993, *Science* 260:926-932; y Morgan y Anderson, 1993, *Ann. Rev. Biochem.* 62: 191-217; May, 1993, *TIB TECH* 11 (5):155-215), e hygro, el cual confiere resistencia a la higromicina (Santerre et al., 1984, *Genes* 30:147). Los métodos conocidos comúnmente en la técnica de la tecnología de ADN recombinante que pueden utilizarse están descritos en Ausubel et al. (eds., 1993, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Nueva York; Kriegler, 1990, *Gene Transfer and Expression, manual de laboratorio*, Stockton Press, Nueva York; y, en los capítulos 12 y 13, Dracopoli et al. (eds), 1994, *Current Protocols in Human Genetics*, John Wiley & Sons, Nueva York.; Colberre-Garapin et al., 1981, *J. Mol. Biol.* 150:1).

Los niveles de expresión de un anticuerpo pueden aumentarse mediante amplificación con vectores (si se desea consultar un análisis, véase Bebbington y Hentschel, *The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning*, Vol. 3. (Academic Press, Nueva York, 1987)).

Cuando un marcador del sistema de vectores que expresa un anticuerpo es amplificable, un aumento del nivel de inhibidor presente en el cultivo de la célula hospedante aumentará el número de copias del gen marcador. Puesto que la región amplificada está asociada con la secuencia de nucleótidos del anticuerpo, también aumentará la producción del anticuerpo (Crouse et al., 1983, *Mol. Cell. Biol.* 3:257).

- 5 La célula hospedante puede ser transfectada junto con dos vectores de expresión de la invención, en los que el primer vector codifica un polipéptido derivado de la cadena pesada, y el segundo vector codifica un polipéptido derivado de la cadena ligera. Los dos vectores pueden contener marcadores seleccionables idénticos que permitan la misma expresión de los polipéptidos de las cadenas ligera y pesada. De modo alternativo, un único vector puede ser utilizado para codificar tanto polipéptidos de cadena ligera como pesada. En tales situaciones, la cadena ligera debería estar situada antes que la cadena pesada con el fin de evitar un exceso de cadena pesada libre tóxica (Proudfoot, 1986, *Nature* 322:52; Kohler, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. de EEUU* 77:2.197). Las secuencias de codificación para las cadenas ligera y pesada pueden comprender ADNc o ADN genómico.

- 15 Una vez que el anticuerpo haya sido expresado de manera recombinante, puede ser purificado utilizando cualquier método conocido en la técnica para la purificación de un anticuerpo, por ejemplo, por cromatografía (por ejemplo, cromatografía por intercambio de iones, afinidad, en especial, por afinidad para el antígeno específico tras la proteína A, y por columnas de exclusión molecular), centrifugado, solubilidad diferencial, o mediante cualquier otra técnica convencional para la purificación de proteínas.

En una forma de realización preferida, el ligando es un anticuerpo.

En una forma de realización más preferida, el ligando es un anticuerpo monoclonal.

- 20 En cualquier caso, los anticuerpos híbridos tienen una especificidad dual, preferiblemente con uno o más sitios de unión específica para el hapteno de elección, o uno o más sitios de unión específica para un antígeno diana, por ejemplo, un antígeno asociado a un tumor, una enfermedad autoinmune, un organismo infeccioso, u otro estadio de la enfermedad.

5.7 SÍNTESIS DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION

- 25 Tal y como se describe más detalladamente a continuación, los compuestos de la invención son preparados de manera conveniente mediante el uso de un conector que tenga dos o más sitios reactivos para la unión al fármaco y al ligando. En un aspecto de la invención, un conector tiene un sitio reactivo, el cual tiene un grupo electrofílico que es reactivo con un grupo nucleofílico presente sobre un ligando. Los grupos nucleofílicos útiles sobre un ligando incluyen, aunque no exclusivamente, los grupos sulfhidrilo, hidroxilo y amino. El heteroátomo del grupo nucleofílico de un ligando es reactivo con un grupo electrofílico sobre un conector, y forma un enlace covalente con una unidad de conector. Los grupos electrofílicos útiles incluyen, aunque no exclusivamente, los grupos maleimidos y haloacetamidos. El grupo electrofílico proporciona un sitio conveniente para la unión al ligando.

- 35 En otra forma de realización, un conector tiene un sitio reactivo, el cual tiene un grupo nucleofílico que es reactivo a un grupo electrofílico presente sobre un ligando. Los grupos electrofílicos útiles sobre un ligando incluyen, aunque no exclusivamente, los grupos aldehído y cetona carbonilo. El heteroátomo de un grupo nucleofílico de un conector puede reaccionar con un grupo electrofílico sobre un ligando, y formar un enlace covalente con una unidad de ligando. Los grupos nucleofílicos útiles sobre un conector incluyen, aunque no exclusivamente, la hidracida, la oxima, el amino, la hidracina, la tiosemicarbazona, el carboxilato de hidracina, y la arilhidracida. El grupo electrofílico sobre un ligando proporciona un sitio conveniente para la unión a un conector.

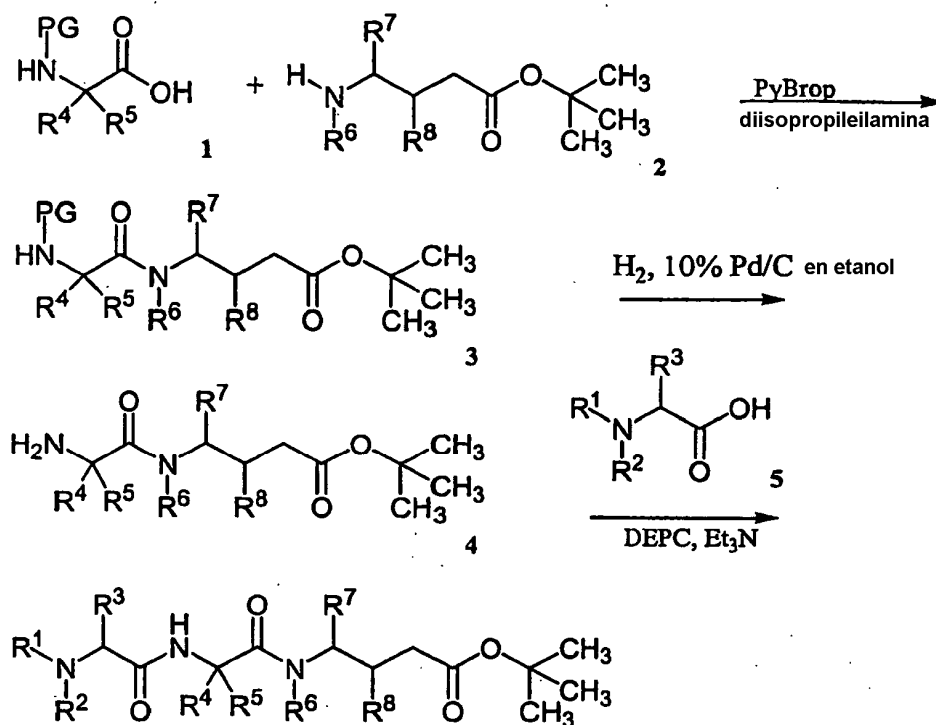
- 40 Los grupos funcionales de ácido carboxílico y los grupos funcionales de cloroformiato también son sitios reactivos útiles para un conector, ya que pueden reaccionar con grupos amino primarios o secundarios de un fármaco para formar un enlace amídico. También es útil como sitio reactivo un grupo funcional carbonato sobre un conector que pueda reaccionar con un grupo amino o grupo hidroxilo de un fármaco para formar un enlace carbamato o un enlace carbonato, respectivamente. De modo similar, un resto fenol del fármaco puede reaccionar con el conector, existente como alcohol, bajo condiciones de Mitsunobu.

- 45 Habitualmente, los fármacos basados en péptidos pueden ser preparados mediante la formación de un enlace peptídico entre dos o más aminoácidos y/o fragmentos de péptidos. Tales enlaces peptídicos pueden prepararse, por ejemplo, de conformidad con el método de la síntesis en fase líquida (véase E. Schröder y K. Lübke, "The Peptides", volumen 1, pág. 76-136, 1965, Academic Press), que es muy conocido en el campo de la química de los péptidos.

- 50 En una forma de realización, se prepara un fármaco mediante la combinación de aproximadamente un equivalente estequiométrico de un dipéptido y un tripéptido, preferiblemente, en una reacción en un único recipiente bajo condiciones de condensación apropiadas. Este procedimiento aparece ilustrado en los siguientes esquemas 5-7. Así, el tripéptido **6** puede ser preparado tal y como se muestra en el esquema 5, y el dipéptido **9** puede ser preparado tal y como se muestra en el esquema 6. Los dos fragmentos **6** y **9** pueden ser condensados para proveer un fármaco **10** como aparece mostrado en la figura 7.

La síntesis de un extensor ilustrativo con un grupo maleimido electrofílico aparece ilustrada en los esquemas 8-9. Los métodos sintéticos generales útiles para la síntesis de un conector se describen en el esquema 10. El esquema 11 muestra la construcción de una unidad de conector con un grupo val-cit, un grupo maleimido electrofílico, y un grupo separador autoinmolador PAB. El esquema 12 representa la síntesis de un conector con un grupo phe-lys, un grupo maleimido electrofílico, con y sin el grupo espaciador autoinmolador PAB. El esquema 13 presenta un resumen general para la síntesis de un compuesto de fármaco-conector, mientras que el esquema 14 presenta una vía alternativa para la preparación de un compuesto de fármaco-conector. El esquema 15 representa la síntesis de un conector ramificado que contiene un grupo BHMS. El esquema 16 ilustra la unión de un ligando a un compuesto de fármaco-conector para formar un conjugado de fármaco-conector-ligando, y el esquema 17 ilustra la síntesis de los conjugados de fármaco-conector-ligando con 2 o 4 fármacos por ligando.

Esquema 5



Como se ilustra en el Esquema 5, un aminoácido protegido 1 (donde PG representa un grupo amino protector, R^4 se selecciona de hidrógeno, C_1-C_8 alquilo, C_3-C_8 carbociclo, $-O-(C_1-C_8$ alquilo), -arilo, alquil-arilo, alquilo- $(C_3-C_8$ carbociclo), C_3-C_8 heterociclo, alquil- $(C_3-C_8$ heterociclo), donde R^5 se selecciona de H y metilo; o R^4 y R^5 juntos tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de hidrógeno, C_1-C_8 alquilo y C_3-C_8 carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos) es acoplado al éster t-butilico 2 (donde R^6 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo; y R^7 se selecciona de hidrógeno, C_1-C_8 alquilo, C_3-C_8 carbociclo, $-O-(C_1-C_8$ alquilo), -arilo, alquil-arilo, alquil- $(C_3-C_8$ carbociclo), C_3-C_8 heterociclo y alquil- $(C_3-C_8$ heterociclo)) bajo condiciones adecuadas de acoplamiento, por ejemplo, en presencia de PyBrop y diisopropiletilamina, o utilizando DCC (véase, por ejemplo, Miyazaki, K. et. al. *Chem. Pharm. Bull.* 1995, 43(10), 1706-1718).

Los grupos protectores PG adecuados y los métodos de síntesis adecuados para proteger a un grupo amino con un grupo protector son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Greene, TW y Wuts, P.G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2ª edición, 1991, John Wiley & Sons. Los aminoácidos protegidos preferidos 1 son PG-Ile y, en particular, PG-Val, mientras que otros aminoácidos protegidos apropiados incluyen, sin limitación: PG-ciclohexilglicina, PG-ciclohexilalanina, ácido PG-aminociclopropano-1-carboxílico, ácido PG-aminoisobutírico, PG-fenilalanina, PG-fenilglicina y PG-terc-butilglicina. Z es un grupo protector preferido. Fmoc es otro grupo protector preferido. Un éster t-butilico preferido 2 es el éster t-butilico de dolaisoleuina.

El dipéptido 3 puede ser purificado, por ejemplo, usando cromatografía, y, posteriormente, se desprotege, por ejemplo, utilizando H_2 y Pd al 10%-C en etanol cuando el PG es benciloxycarbonilo, o utilizando dietilamina para la eliminación de un grupo protector Fmoc. La amina resultante 4 fácilmente forma un enlace peptídico con un aminoácido 5 (donde R^1 se selecciona de -H, -alquilo C_1-C_8 y C_3-C_8 carbociclo, y R^2 se selecciona de -H y C_1-C_8

alquilo, o R^1 y R^2 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$, donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, C_1-C_8 alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos, y R^3 se selecciona de hidrógeno, C_1-C_8 alquilo, C_3-C_8 carbociclo, $-O-(C_1-C_8$ alquilo), -arilo, alquil-arilo, alquilo- $(C_3-C_8$ carbociclo), heterociclo C_3-C_8 y alquilo- $(C_3-C_8$ heterociclo)). Los aminoácidos preferidos **5** son los aminoácidos de *N,N*-dialquilo, como *N,N*-dimetil-valina disponible en el mercado. Otros aminoácidos de *N,N*-dialquilo pueden ser preparados por bis-alquilación reductora utilizando procedimientos conocidos (véase, por ejemplo, Bowman, RE, Stroud, HH *J. Chem. Soc.*, 1950, 1342-1340). Fmoc-Me-L-Val y Fmoc-Me-L-glicina son dos aminoácidos preferidos **5** útiles para la síntesis de derivados *N*-monoalquílicos. La amina **4** y el aminoácido **5** reaccionan para proporcionar el tripéptido **6** utilizando el reactivo de acoplamiento DEPC con trietilamina como base.

La metodología ilustrativa de acoplamiento con DEPC y la metodología de acoplamiento con PyBrop mostradas en el Esquema 5 se describen a continuación en el Procedimiento General A y Procedimiento General B, respectivamente. La metodología ilustrativa para la desprotección de una amina protegida en Z a través de hidrogenación catalítica se describe a continuación en el Procedimiento General C.

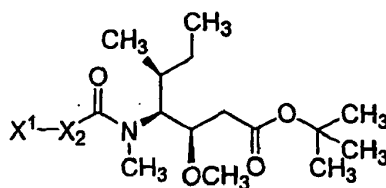
Procedimiento General A: Síntesis de péptidos utilizando DEPC. Se disuelven el aminoácido o péptido **4** *N*-protegido o *N,N*-disustituido (1,0 eq.) y una amina **5** (1,1 eq.) con un solvente orgánico aprótico, tal como el diclorometano (0,1 a 0,5 M). Entonces se añade una base orgánica tal como trietilamina o diisopropiletilamina (1,5 eq.) seguido de DEPC (1,1 eq.). La solución resultante se agita, preferiblemente en atmósfera de argón, durante 12 horas mientras se controla por HPLC o TLC. El solvente se elimina *al vacío* a temperatura ambiente, y el producto bruto se purifica mediante, por ejemplo, HPLC o cromatografía de columna de resolución rápida (columna de gel de sílice). Las fracciones pertinentes se combinan y se concentran al vacío para producir el tripéptido **6**, que se seca al vacío durante la noche.

Procedimiento general B: Síntesis de péptidos utilizando PyBrop. El aminoácido **2** (1,0 eq.), que tiene opcionalmente un grupo protector carboxilo, se diluye con un solvente orgánico aprótico tal como diclorometano o DME para proporcionar una solución con una concentración de entre 0,5 y 1,0 mM, luego se añade diisopropiletilamina (1,5 eq.). Se añade el aminoácido **1** protegido con Fmoc o Z (1,1 eq.) como un sólido en una porción, entonces se añade PyBrop (1,2 eq.) a la mezcla resultante. La reacción se controla por TLC o HPLC, seguido de un procedimiento de tratamiento similar al descrito en el Procedimiento General A.

Procedimiento general C: Eliminación de Z por hidrogenación catalítica. Se diluye el aminoácido protegido con Z o péptido **3** con etanol para proporcionar una solución con una concentración de entre 0,5 y 1,0 mM en un recipiente adecuado, como un matraz de fondo redondo y pared gruesa. Se añade paladio al 10% sobre carbono (5-10 % en peso/peso) y la mezcla de reacción se coloca bajo una atmósfera de hidrógeno. El avance de la reacción se controla mediante HPLC y se completa generalmente en 1-2 h. La mezcla de reacción se filtra a través de una lecho corto de Celite prelavado y el Celite se lava de nuevo con un solvente orgánico polar, tal como metanol, después de la filtración. La solución eluyente se concentra al vacío para dar un residuo que se diluye con un solvente orgánico, preferiblemente tolueno. El solvente orgánico se elimina al vacío para dar la amina desprotegida **4**.

La Tabla 1 enumera los ejemplos representativos de los productos intermedios de tripéptido (compuestos 39-43) que se prepararon según el Esquema 5.

Tabla 1

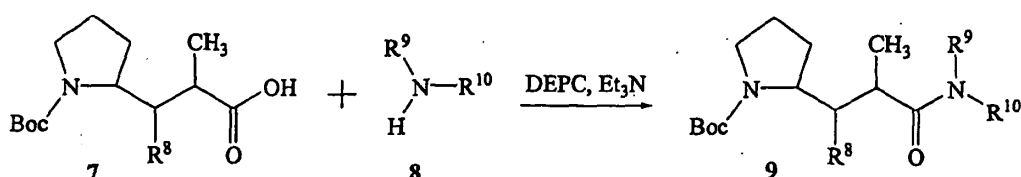


Compuesto	X ¹	X ²
39	Fmoc-N-Me-L-val	L-val
40	Fmoc-N-Me-L-val	L-ile
41	Fmoc-N-Me-Gly	L-ile
42	dov	L-val
43	dov	L-ile

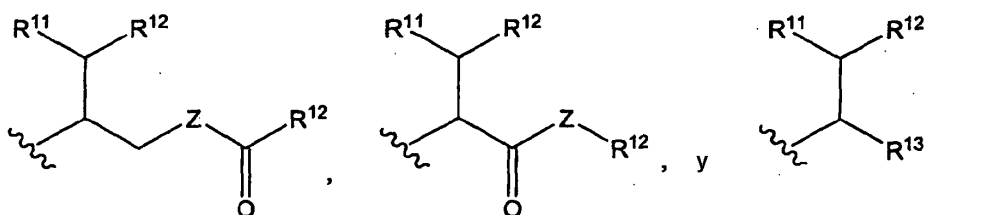
^adov=N,N-dimetil-L-valina

El dipéptido **9** se pueden preparar fácilmente por condensación del aminoácido modificado con Boc-Dolaproina **7** (véase, por ejemplo, Pettit, GR, et al. *Synthesis*, 1996, 719-725), con (1S, 2R)-norefedrina, L- o D-fenilalaninol, o con p-acetilfenetilamina **8** sintética (Patente US 3.445.518 a nombre de Shavel et al.) usando agentes de condensación muy conocidos en la química de péptidos, como, por ejemplo, DEPC en presencia de trietilamina, como se muestra en el Esquema 6. El compuesto **7** también se puede condensar con los compuestos disponibles en el mercado de esta manera para formar dipéptidos de la fórmula **9**. Los ejemplos de compuestos disponibles comercialmente que sirven para este propósito incluyen, aunque no exclusivamente, norefedrina, efedrina, y estereoisómeros de las mismas (Sigma-Sigma-Aldrich), L- o D-fenilalaninol (Sigma-Aldrich), 2-feniletilamina (Sigma-Aldrich), 2-(4-aminofenil)etilamina (Sigma-Aldrich), 1,2-etanodiamina-1,2-difenilo (Sigma-Aldrich), o 4-(2-aminoetil)fenol (Sigma-Aldrich), o con p-acetilfenetilamina, arilo- y heterociclo-amidas preparadas sintéticamente de L-fenilalanina, 1-azidometil-2-feniletilamina (preparada a partir de fenilalaninol según un procedimiento general descrito en *J. Chem. Research* (S), 1992, 391), y 1-(4-hidroxifenil)-2-feniletilamina (publicación de patente europea n° 0356035 A2), entre otros.

Esquema 6



donde R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo); R^9 se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; y R^{10} se selecciona de:



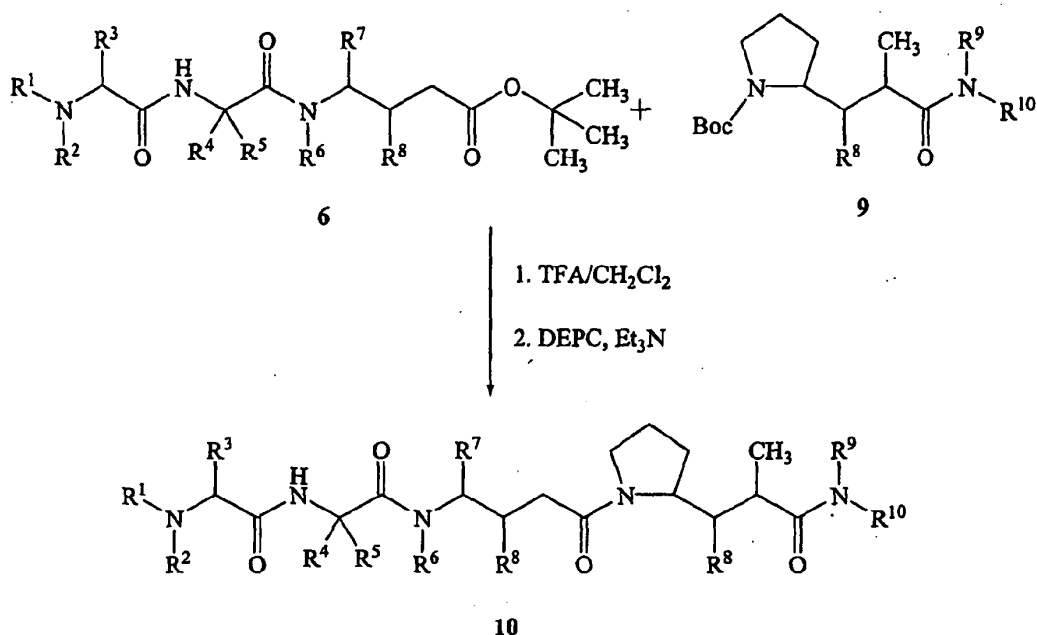
donde Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-; R^{11} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo; -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R^{11} es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O); cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo; R^{13} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); y cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo.

La Tabla 2 enumera ejemplos representativos de dipéptidos (compuestos **44-48**) que fueron preparados según el Esquema 6.

Tabla 2

Compuesto		Compuesto	
Y		Y	
44		47	
45		48	
46			

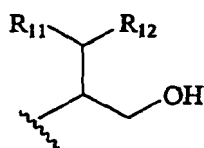
5 El Esquema 7 ilustra un procedimiento útil para el acoplamiento del tripéptido **6** y dipéptido **9** para formar un fármaco **10**. El acoplamiento de **6** y **9** se puede lograr utilizando un ácido fuerte, por ejemplo, TFA, para facilitar la escisión de Boc y el éster t-butílico, del dipéptido **9** y del tripéptido **6**, respectivamente, seguido por las condiciones de condensación, por ejemplo, la utilización de DEPC, o un reactivo de acoplamiento similar, en presencia de exceso de base (triethylamina o equivalente) para proporcionar el fármaco **10**.

Esquema 7

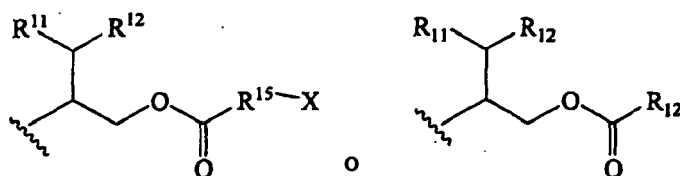
Un procedimiento ilustrativo para la síntesis del fármaco **10** como se representa en el Esquema 7 se detalla a continuación en el Procedimiento General D.

- El grupo R^{10} de un fármaco de la fórmula general **10** se puede modificar, si así se desea, para incluir a un grupo funcional que permite que el fármaco se una a un conector. Los ejemplos de modificaciones útiles del grupo R^{10} de un fármaco **10**, incluyen, aunque no exclusivamente, las transformaciones químicas que se describen a continuación.

Cuando R^{10} es

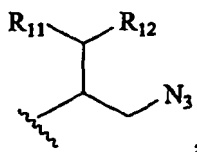


- el grupo hidroxilo de R^{10} puede hacerse reaccionar con ácidos carboxílicos comerciales o derivados sintéticamente o derivados de ácidos carboxílicos, incluyendo, aunque no exclusivamente, ésteres carboxílicos, cloruros de ácidos, anhídridos y carbonatos, para proporcionar los ésteres correspondientes de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica. Los reactivos de acoplamiento, incluyendo, aunque no exclusivamente, DCC/DMAP y EDCI/HOBt, pueden servir en este tipo de reacciones de acoplamiento entre alcoholes y ácidos carboxílicos o derivados de ácidos carboxílicos. En una forma de realización preferida, los ácidos carboxílicos son ácidos aril-carboxílicos sustituidos o no sustituidos, por ejemplo, ácido 4-aminobenzoico. Por lo tanto, la condensación de un grupo hidroxilo del grupo R^{10} mostrada arriba con ácidos carboxílicos proporciona fármacos de la estructura general **10**, donde R^{10} es

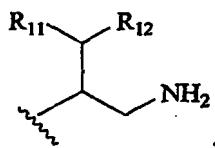


- y donde R^{11} , R^{12} , R^{14} y R^{15} son como se describieron anteriormente en la presente memoria y X se selecciona de -OH, -NH₂ y NHR¹⁴.

Cuando R^{10} es

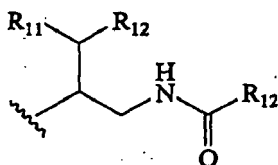


el grupo azido del fármaco puede reducirse (por ejemplo, véase J. Chem. Research (S), 1992, 391) para proporcionar el derivado amino correspondiente donde R^{10} es

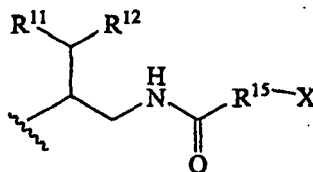


5

cuyo grupo amino se puede hacer reaccionar con el grupo carboxilo de un ácido carboxílico bajo condiciones de acoplamiento generales del péptido para proporcionar fármacos de la estructura general **10**, donde R^{10} es



o



10

y donde R^{11} , R^{12} , R^{14} y R^{15} son como se describieron anteriormente en la presente memoria y X se selecciona de -OH, $-NH^2$ y NHR^{14} .

Los ácidos carboxílicos útiles en el sentido anterior incluyen, aunque no exclusivamente, ácido 4-aminobenzoico, ácido p-acetilbenzoico y 2-amino-4-tiazolcarboxílico (Tyger Scientific, Inc., Ewing, NJ).

15 Un grupo amino protegido con Fmoc puede estar presente en un grupo R^{10} que contenga una amina del fármaco **10** (por ejemplo, como se muestra en la Tabla 2). El grupo Fmoc se puede quitar de la amina protegida con dietilamina (ver Procedimiento General E como un ejemplo ilustrativo que se describe a continuación).

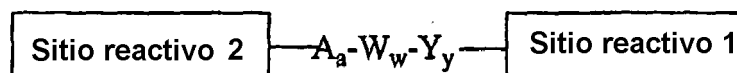
Procedimiento general D: Síntesis del fármaco. Se diluye una mezcla de dipéptido **9** (1,0 eq.) y tripéptido **6** (1 eq.) con un solvente orgánico aprótico, tal como diclorometano, para formar una solución 0,1 M, a continuación se añade un ácido fuerte, como el ácido trifluoroacético (1/2 v/v) y la mezcla resultante se agita bajo una atmósfera de nitrógeno durante dos horas a 0 °C. La reacción se puede controlar con TLC o, preferentemente, HPLC. El solvente se elimina al vacío y el residuo resultante se seca azeotrópicamente dos veces, preferiblemente con tolueno. El residuo resultante se seca a alto vacío durante 12 horas y luego se diluye con un solvente orgánico aprótico, tal como el diclorometano. Entonces se añade una base orgánica tal como trietilamina o diisopropiletilamina (1,5 eq.) seguido de PyBrop (1,2 eq.) o DEPC (1,2 eq.) dependiendo de la funcionalidad química sobre el resto. La mezcla de reacción se controla por TLC o HPLC, y una vez terminada, la reacción se somete a un procedimiento de tratamiento similar o idéntico al descrito en el Procedimiento General A.

Procedimiento general E: Eliminación de Fmoc utilizando dietilamina. Se diluye un fármaco protegido con Fmoc **10** con un solvente orgánico aprótico tal como diclorometano y a la solución resultante se le añade dietilamina (1/2 en v/v). El avance de la reacción se controla por TLC o HPLC y se suele completar en 2 horas. La mezcla de reacción se concentra al vacío y el residuo resultante se seca azeotrópicamente, preferiblemente utilizando tolueno, luego se seca a alto vacío para proporcionar el fármaco **10** que tiene un grupo amino desprotegido.

30

Por lo tanto, los métodos anteriores son útiles para hacer fármacos que pueden ser utilizados en la presente invención.

Para preparar un compuesto de fármaco-conector de la presente invención, el fármaco se hace reaccionar con un sitio reactivo en el conector. En general, el conector puede tener la estructura:

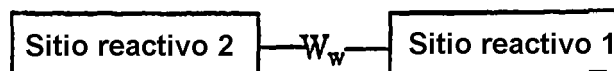


5 cuando tanto una unidad de separador (-Y) como una unidad de extensor (-A-) están presentes. Como alternativa, el conector puede tener la estructura:



cuando la unidad de separador (-Y) está ausente.

10 Ek conector también puede tener la estructura:



cuando tanto la unidad de extensor (-A-) como la unidad de separador (-Y) están ausentes.

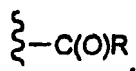
En general, un conector adecuado tiene una unidad de aminoácido unida a una unidad de extensor opcional y una unidad de separador opcional. El sitio reactivo 1 está presente en el extremo del espaciador, y el sitio reactivo 2 está presente en el extremo del extensor. Si una unidad de espaciador no está presente, entonces el sitio reactivo 1 está presente en el extremo C-terminal de la unidad de aminoácido.

En una forma de realización de la invención, el sitio reactivo nº 1 reacciona con un átomo de nitrógeno del fármaco, y el sitio reactivo nº 2 reacciona con un grupo sulfhidrilo en el ligando. Los sitios reactivos 1 y 2 pueden reaccionar con los diferentes grupos funcionales.

20 En un aspecto de la invención, el sitio reactivo nº 1 es

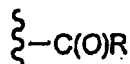


En otro aspecto de la invención, el sitio reactivo nº 1 es



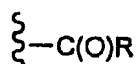
donde R es -Br, -Cl, -O-Su o -O-(4-nitrofenilo).

25 En una forma de realización, el sitio reactivo nº 1 es



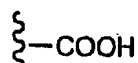
donde R es -Br, -Cl, -O-Su o -O-(4-nitrofenilo), cuando una unidad de separador (-Y-) está ausente.

Los conectores que tienen

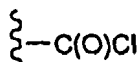


30

en el sitio reactivo nº 1, donde R es -Br o -Cl, pueden ser preparados a partir de conectores que tienen

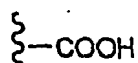


en el sitio reactivo nº 1 mediante la reacción del grupo -COOH con PX_3 o PX_5 , donde X es -Br o -Cl. Como alternativa, los conectores que tienen



5

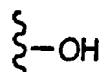
en el sitio reactivo nº 1 pueden ser preparados a partir de conectores que tienen



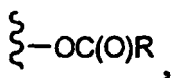
10

en el sitio reactivo nº 1 mediante la reacción del grupo -COOH con cloruro de tionilo. Para una explicación general de la conversión de los ácidos carboxílicos en haluros de acilo, véase March, Advanced Organic Chemistry - Reaction, Mechanisms and Structure, 4ª Ed., 1992, John Wiley and Sons, New York, p. 437-438.

En otro aspecto de la invención, el sitio reactivo nº 1 es



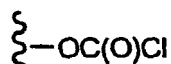
En otro aspecto más de la invención, el sitio reactivo nº 1 es



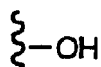
15

donde R es -Cl, -O-CH(Cl)CCl₃ o -O-(4-nitrofenilo).

Los conectores que tienen

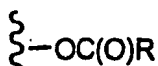


en el sitio reactivo nº 1 pueden ser preparados a partir de conectores que tienen



20

en el sitio reactivo nº 1 mediante la reacción del grupo -OH con fosgeno o trifosgeno para formar el cloroformiato correspondiente. Los conectores que tienen



en el sitio reactivo nº 1, donde R es -O-CH(Cl)CCl₃ o -O-(4-nitrofenilo) pueden ser preparados a partir de conectores que tienen



25

en el sitio reactivo nº 1 mediante la reacción del grupo -OC(O)Cl con HO-CH(Cl)CCl₃ u HO-(4-nitrofenilo), respectivamente. Para una explicación general de esta química véase March, Advanced Organic Chemistry - Reaction, Mechanisms and Structure, 4ª Ed., 1992, John Wiley and Sons, New York, p. 392.

En otro aspecto de la invención, el sitio reactivo nº 1 es



donde X es -F, -Cl, -Br, -I, o un grupo saliente, como -O-mesilo, -O-tosilo u -O-triflato.

Los conectores que tienen



5

en el sitio reactivo nº 1, donde X es -O-mesilo, -O-tosilo y O-triflato pueden ser preparados a partir de conectores que tienen



10

en el sitio reactivo nº 1 mediante la reacción del grupo -OH con reactivos diferentes, incluyendo HCl, SOCl₂, PCl₅, PCl₃ y POCl₃ (donde X es Cl); HBr, PBr₃, PBr₅ y SOBr₂ (donde X es Br), HI (donde X es I), y CH₃CH₂NSF₃ (DAST), SF₄, SeF₄ y fluoruro de p-toluensulfonilo (donde X es F). Para una explicación general de la conversión de los alcoholes en haluros de alquilo, véase March, Advanced Organic Chemistry -Reaction, Mechanisms and Structure, 4ª Ed., 1992, John Wiley and Sons, New York, p. 431-433.

Los conectores que tienen



15

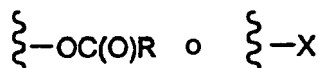
en el sitio reactivo nº 1, donde X es -O-mesilo, -O-tosilo y O-triflato pueden ser preparados a partir de conectores que tienen



20

en el sitio reactivo nº 1 mediante la reacción del grupo -OH con varios reactivos de mesilación, tosilación y triflación, respectivamente. Estos reactivos y métodos para su uso son muy conocidos para un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Para una explicación general sobre el mesilo, tosilo y triflatos como grupos salientes, véase March, Advanced Organic Chemistry -Reaction, Mechanisms and Structure, 4ª Ed., 1992, John Wiley and Sons, New York, p. 353-354.

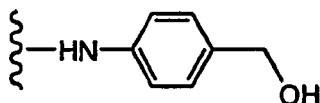
En una forma de realización, cuando una unidad de separador (-Y) está presente, el sitio reactivo nº 1 es



25

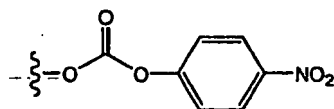
donde R es -Cl, -O-CH(Cl)CCl₃ o -O-(4-nitrofenilo) y X es -F, -Cl, -Br, -I, o un grupo saliente, como -O-mesilo, -O-tosilo u O-triflato.

En otro aspecto de la invención, el sitio reactivo nº 1 es

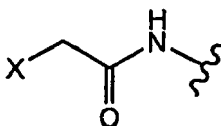


30

En otro aspecto más de la invención, el sitio reactivo nº 1 es un carbonato de p-nitrofenilo que tiene la fórmula

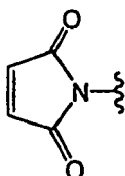


En un aspecto de la invención, el sitio reactivo nº 2 es un grupo aceptor de tiol. Los grupos aceptores de tiol adecuados incluyen grupos haloacetamida que tienen la fórmula



5

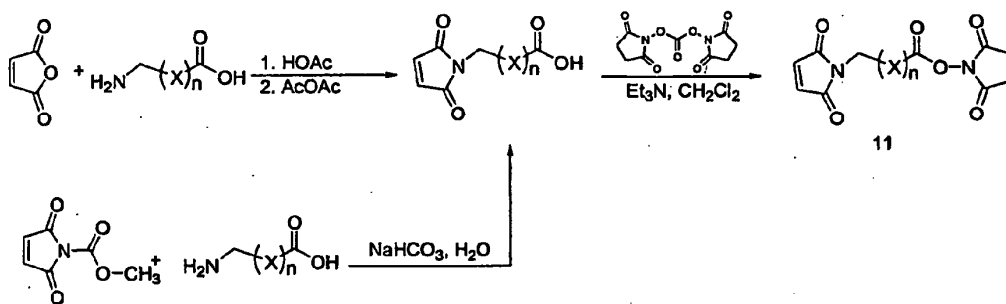
donde X representa un grupo saliente, preferentemente O-mesilo, O-tosilo, -Cl, -Br, o I, o bien un grupo maleimida que tiene la fórmula



Los conectores útiles se pueden obtener a través de fuentes comerciales, tales como de Molecular Biosciences Inc. (Boulder, CO), o sintetizarse de acuerdo con los procedimientos descritos en la Patente US 6.214.345 a nombre de Firestone et al., resumidos en los Esquemas 8-10 que siguen.

10

Esquema 8

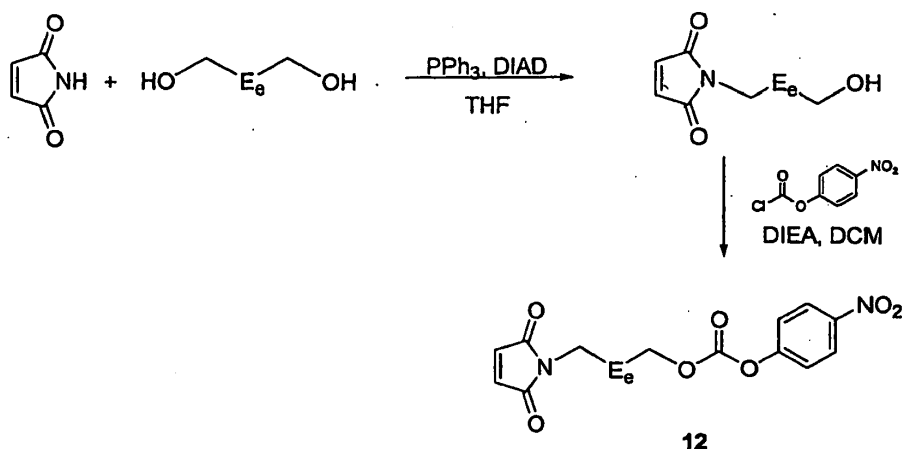


donde X es -CH₂- o -CH₂OCH₂-, y n es un número entero de 0-10 cuando X es -CH₂-, o 1-10 cuando X es -CH₂OCH₂-.

El método que se muestra en el Esquema 9 combina la maleimida con un glicol bajo condiciones de Mitsunobu para hacer un extensor de maleimida y polietilenglicol (véase, por ejemplo, Walker, M.A. *J Org. Chem.* 1995, 60, 5352-5), seguido de la instalación de un grupo con sitio reactivo de carbonato de p-nitrofenilo.

15

Esquema 9

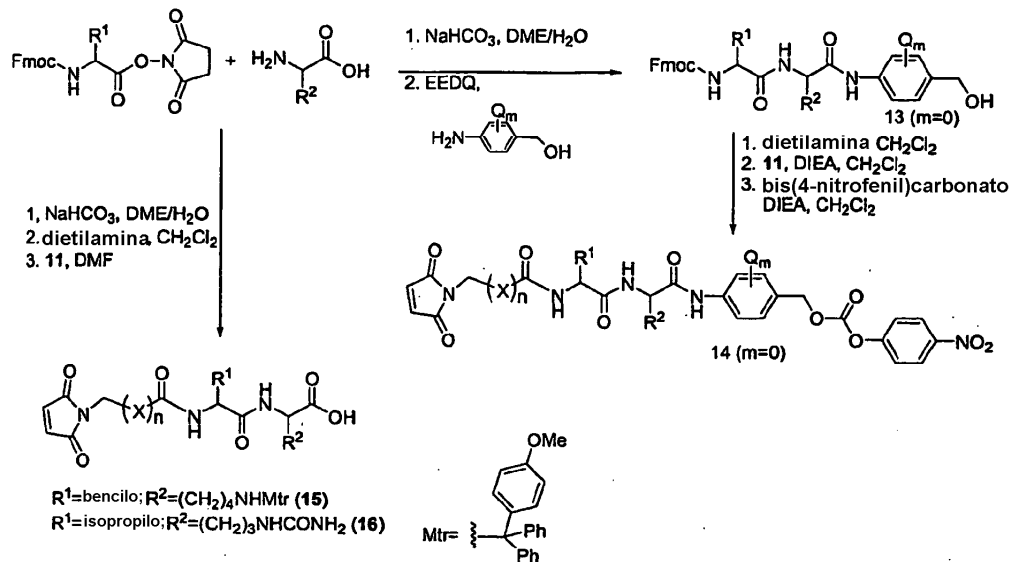


donde E es $-\text{CH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{OCH}_2-$, y e es un número entero que varía de 0-8.

Como alternativa, los extensores de PEG-maleimida y PEG-haloacetamida se pueden preparar como han descrito Frisch, et al. *Bioconjugate Chem.* 1996, 7, 180-186.

- 5 El Esquema 10 ilustra una síntesis general de una unidad de conector ilustrativa que contiene un grupo extensor de maleimida y, opcionalmente, un separador autoinmolador de éter p-aminobencílico.

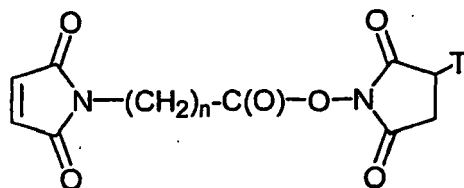
Esquema 10



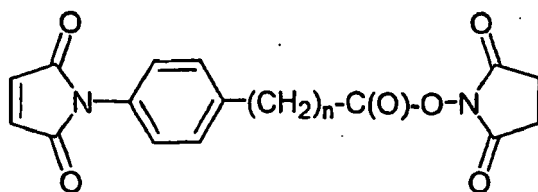
donde Q es $-\text{C}_1-\text{C}_8$ alquilo, $-\text{O}-(\text{C}_1-\text{C}_8)$ alquilo, -halógeno, -nitro o -ciano; m es un número entero que varía de 0-4; y n es un número entero que varía de 0-10.

- 10 Los extensores útiles pueden ser incorporados en un conector utilizando productos intermedios disponibles en el mercado de Molecular Biosciences (Boulder, CO) que se describen a continuación utilizando técnicas conocidas de síntesis orgánica.

Los extensores de la fórmula (IIIa) se pueden introducir en un conector haciendo reaccionar los siguientes productos intermedios con el N-terminal de una unidad de aminoácido como se representa en los Esquemas 11 y 12:

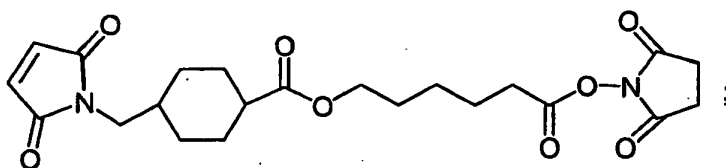
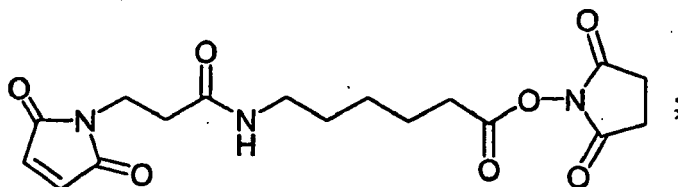
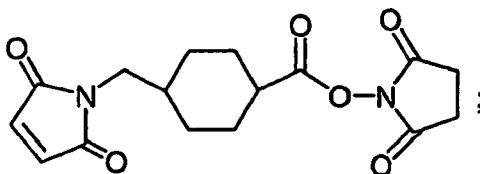


donde n es un número entero que varía de 1-10 y T es -H o -SO₃Na;

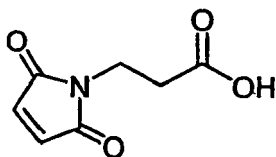


5

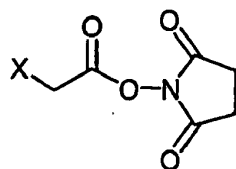
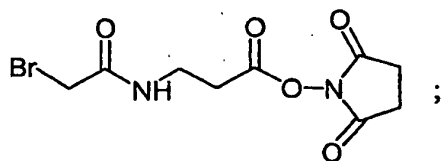
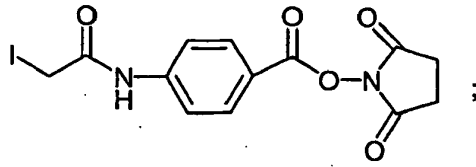
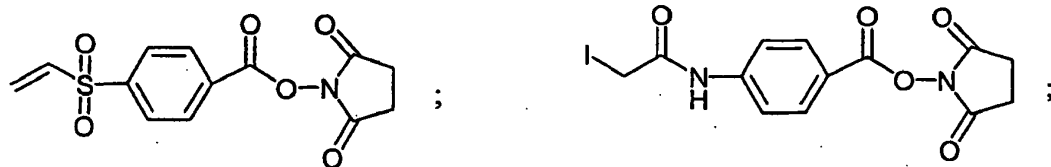
donde n es un número entero que varía de 0-3;



10 y

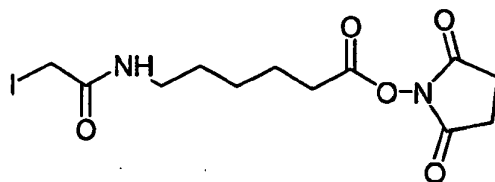


Las unidades de extensor de la fórmula (IIIb) pueden ser introducidas en un conector haciendo reaccionar los siguientes productos intermedios con el N-terminal de una unidad de aminoácido:

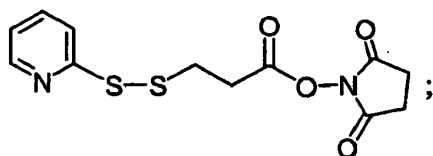


5

donde X es -Br o I; y

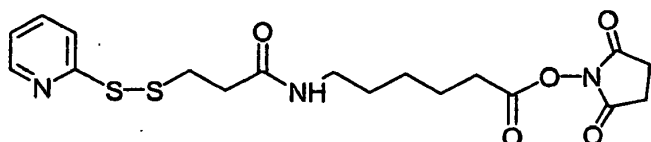


Las unidades de extensor de la fórmula (IV) pueden ser introducidas en un conector haciendo reaccionar los siguientes productos intermedios con el N-terminal de una unidad de aminoácido:

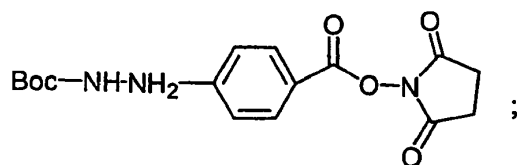


10

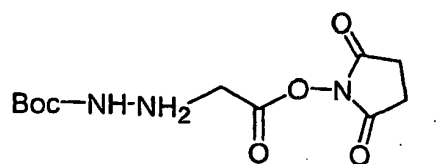
y



Las unidades de extensor de la fórmula (Va) pueden ser introducidas en un conector haciendo reaccionar los siguientes productos intermedios con el N-terminal de una unidad de aminoácido:

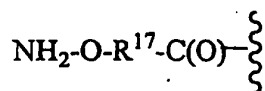


y



5

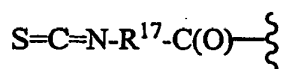
Se pueden sintetizar otros extensores útiles en la invención según procedimientos conocidos. Los extensores de aminooxi de la fórmula que se muestra a continuación se pueden preparar mediante el tratamiento de haluros de alquilo con N-Boc-hidroxilamina de acuerdo con los procedimientos descritos por Jones, DS et al, *Tetrahedron Letters*, 2000, 41 (10), 1531-1533; y Gilon, C. et al., *Tetrahedron*, 1967, 23 (11), 4441-4447.



10

donde -R¹⁷- se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-, -arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r-, -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; y r es un número entero que varía de 1-10;

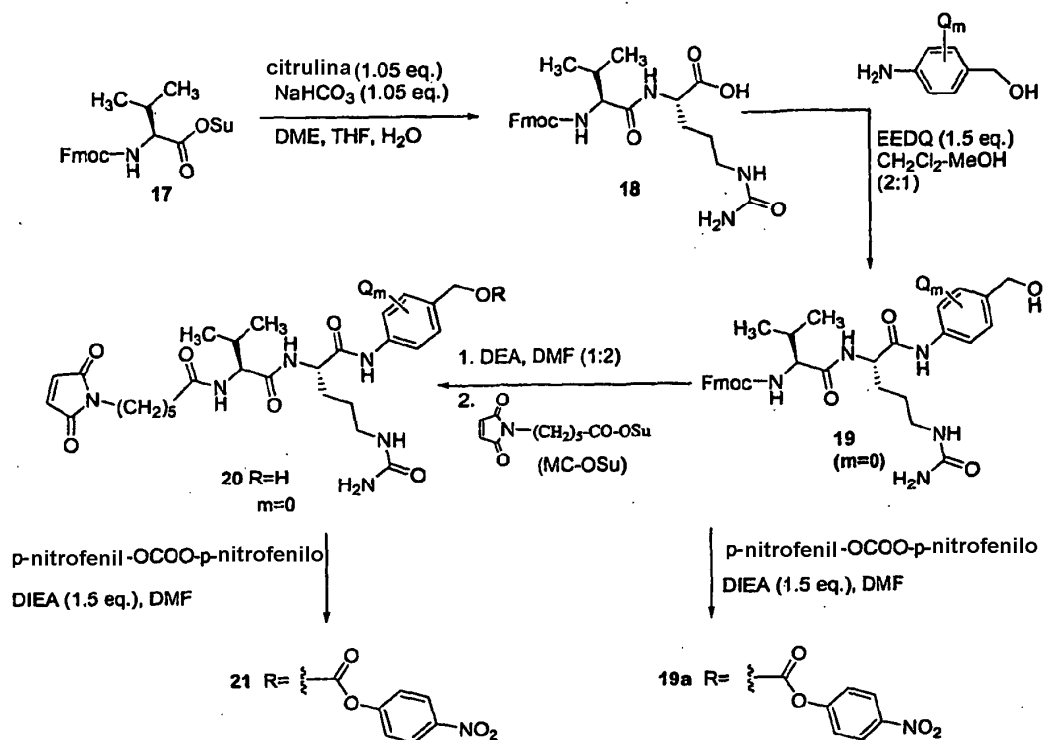
15 Los extensores de isotiocianato de la fórmula que se muestra a continuación pueden ser preparados a partir de cloruros de ácido isotiocianatocarboxílico como se describe en *Angew. Chem.*, 1975, 87 (14), 517.



donde -R¹⁷-es como se describe en esta memoria.

El Esquema 11 muestra un método para la obtención de un conector de dipéptido val-cit que tiene un extensor de maleimida y, opcionalmente, un separador autoinmolador de p-aminobencilo.

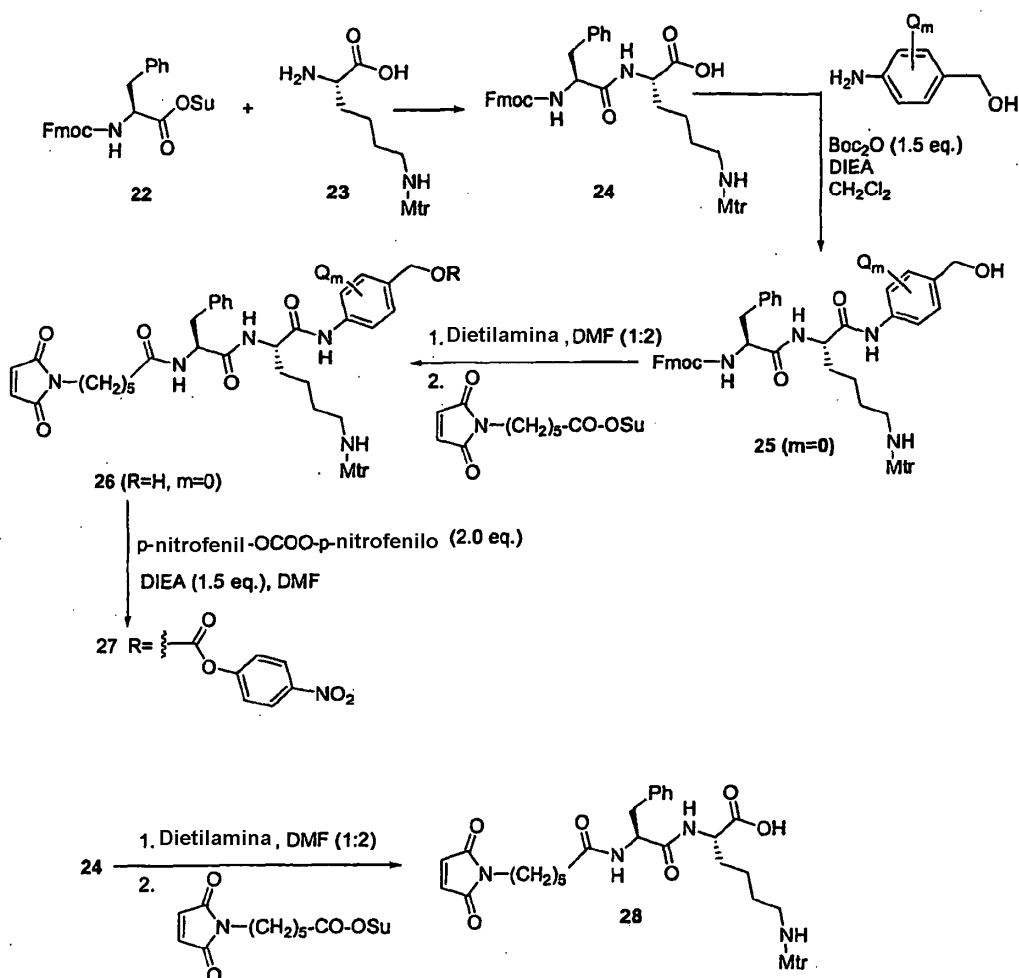
Esquema 11



donde Q es -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -halógeno, -nitro o -ciano; y m es un número entero que varía de 0-4.

- 5 El Esquema 12 ilustra la síntesis de una unidad de conector de dipéptido phe-lys(Mtr) que tiene una unidad de extensor de maleimida y una unidad de separador autoinmolador de p-aminobencilo. El material de partida **23** (Lys(Mtr)) está disponible comercialmente (Bachem, Torrance, CA) o puede prepararse según Dubowchik, et al. *Tetrahedron Letters* 1997, 38, 5257-60.

Esquema 12



donde Q es -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -halógeno, -nitro o -ciano; y m es un número entero que varía de 0-4.

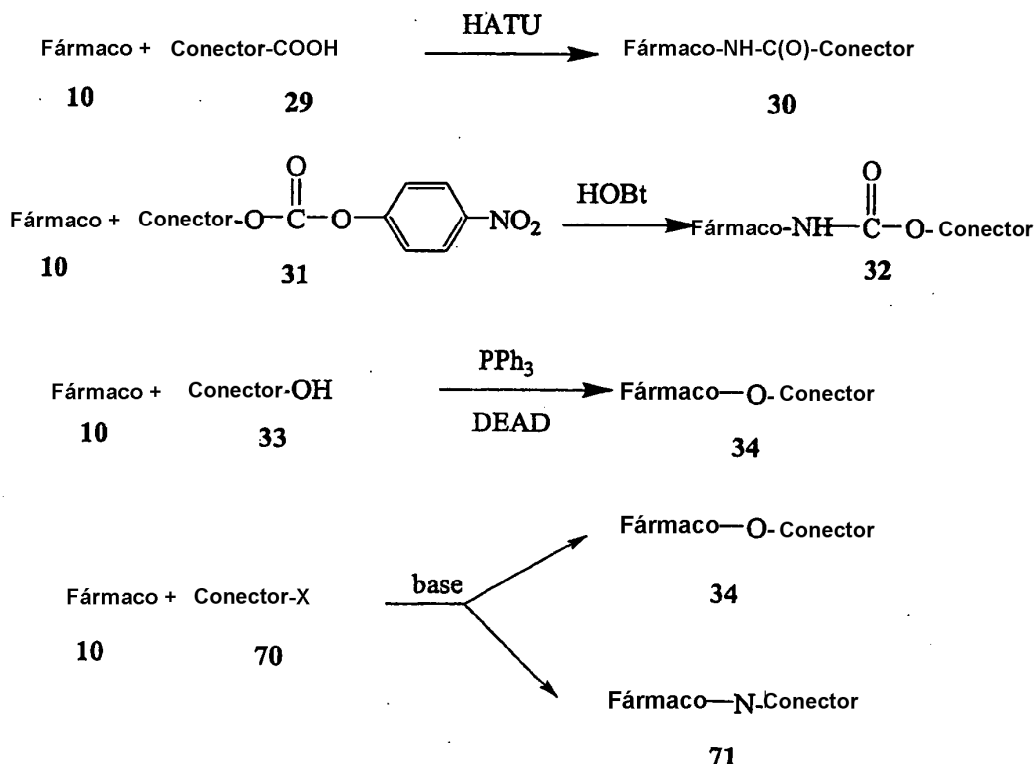
Como se muestra en el Esquema 13, se puede hacer reaccionar un conector con un grupo amino de un fármaco **10** para formar un compuesto de fármaco-conector que contiene un grupo amida o carbamato, que conecta la unidad de fármaco a la unidad del conector. Cuando el sitio reactivo nº 1 es un grupo de ácido carboxílico, como en el conector **29**, la reacción de acoplamiento se puede realizar utilizando HATU o PyBrop y una base de amina apropiada, lo que produce un compuesto de fármaco-conector **30**, que contiene una unión amida entre la unidad de fármaco y la unidad conectora. Cuando el sitio reactivo nº 1 es un carbonato, como en el conector **31**, el conector puede acoplarse al fármaco utilizando HOBt en una mezcla de DMF/piridina para proporcionar un compuesto de fármaco-conector **32**, que contiene un enlace carbamato entre la unidad de fármaco y la unidad de conector.

Cuando el sitio reactivo nº 1 es un grupo hidroxilo, como en el conector **33**, el conector puede acoplarse a un grupo fenol de un fármaco utilizando la química de Mitsunobu para proporcionar un compuesto de fármaco-conector **34** que tiene un enlace éter entre la unidad de fármaco y la unidad de conector.

Como alternativa, cuando el sitio reactivo nº 1 es un buen grupo saliente, como en el conector **70**, el conector puede acoplarse a un grupo hidróxilo o a un grupo amina de un fármaco a través de un proceso de sustitución nucleofílica para proporcionar un compuesto de fármaco-conector que tiene un enlace éter (**34**) o un enlace amina (**71**) entre la unidad de fármaco y la unidad de conector.

Los métodos ilustrativos que sirven para conectar un fármaco a un ligando para formar un compuesto de fármaco-conector se representan en el Esquema 13 y se describen en los procedimientos generales G-J.

Esquema 13



Procedimiento general G: Formación de amida utilizando HATU. Se diluyen un fármaco **10** (1,0 eq.) y un conector protegido en N que contiene un sitio reactivo de ácido carboxílico (1,0 eq.) con un solvente orgánico adecuado, tal como el diclorometano, y la solución resultante se trata con HATU (1,5 eq.) y una base orgánica, preferiblemente piridina (1,5 eq.). Se deja agitar la mezcla de reacción bajo una atmósfera inerte, preferiblemente argón, durante 6 horas, tiempo durante el cual la mezcla de reacción se controla por HPLC. La mezcla de reacción se concentra y el residuo resultante se purifica utilizando HPLC para obtener la amida **30**.

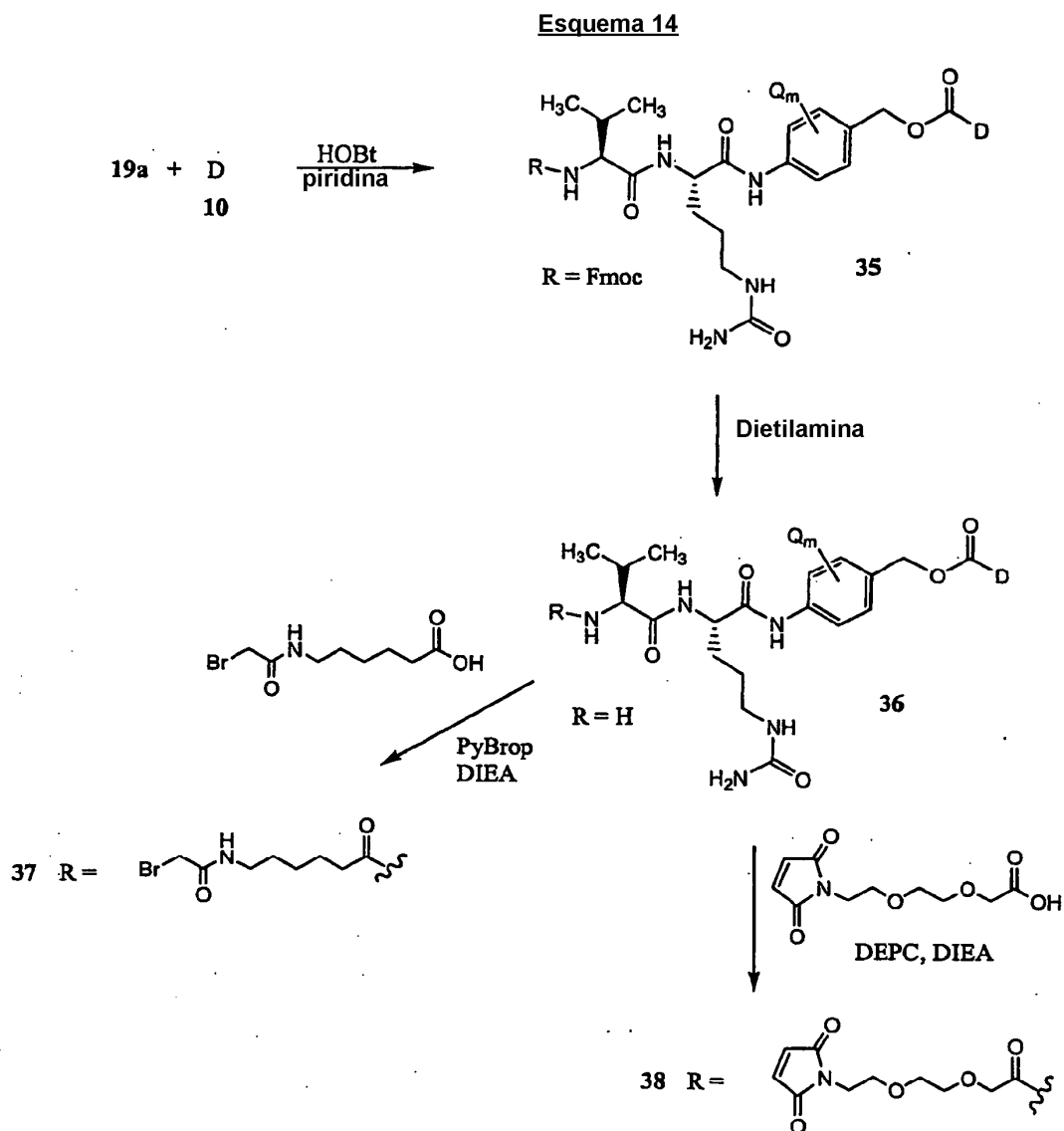
Procedimiento general H: Formación de carbamato utilizando HOBt. Se diluye una mezcla de un conector **31** que tiene un sitio reactivo de carbonato de p-nitrofenilo (1,1 eq.) y el fármaco **10** (1,0 eq.) con un solvente orgánico aprótico, tal como DMF, para proporcionar una solución con una concentración de 50-100 mM, y la solución resultante se trata con HOBt (2,0 eq.) y se coloca bajo una atmósfera inerte, preferiblemente argón. Se deja agitar la mezcla de reacción durante 15 min, luego se añade una base orgánica, tal como piridina (1/4 en v/v) y el avance de la reacción se controla por HPLC. El conector se consume normalmente a las 16 h. La mezcla de reacción se concentra al vacío y el residuo resultante se purifica utilizando, por ejemplo, HPLC para obtener el carbamato **32**.

Procedimiento general I: Formación de éter utilizando la química de Mitsunobu. Se diluye un fármaco de la fórmula general **10**, que contiene un grupo hidroxilo libre, con THF para hacer una solución de 1,0 M y a esta solución se añade un conector (1,0 eq.), que contiene un grupo hidroxilo en el sitio reactivo nº 1 (**33**), seguido de trietilfosfina (1,5 eq.). La mezcla de reacción se pone bajo una atmósfera de argón y se enfría a 0 °C. Entonces se añade DEAD (1,5 eq.) gota a gota con una jeringa y la reacción se deja en agitación a temperatura ambiente mientras se controla utilizando HPLC. La reacción se completa normalmente a las 0,5-12 h, dependiendo de los sustratos. La mezcla de reacción se diluye con agua (en un volumen igual al del THF) y la mezcla de reacción se extrae en EtOAc. La capa de EtOAc se lava sucesivamente con agua y salmuera, después se seca sobre MgSO₄ y se concentra. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna de resolución rápida utilizando un eluyente adecuado para proporcionar el éter **34**.

Procedimiento general J: Formación de éter/amina por sustitución nucleofílica. Un fármaco de la fórmula general **10**, que contiene un grupo hidroxilo libre o un grupo amina libre, se diluye con un solvente aprótico polar, tal como THF, DMF o DMSO, para hacer una solución de 1,0 M y a esta solución se añade una base no nucleofílica (alrededor de 1,5 eq.), tal como piridina, diisopropiletilamina o trietilamina. La mezcla de reacción se deja en agitación durante 1 hora aproximadamente, y a la solución resultante se le añade una solución de aproximadamente 1,0 M de conector **70** en un solvente polar aprótico, tal como THF, DMF o DMSO. La reacción resultante se agita en una atmósfera inerte, mientras se controla utilizando TLC o HPLC. La reacción se completa normalmente a las 0,5-12 h, dependiendo de los sustratos. La mezcla de reacción se diluye con agua (en un volumen igual al del volumen de reacción) y se extrae en EtOAc. La capa de EtOAc se lava sucesivamente con agua, 1N de HCl, agua y salmuera,

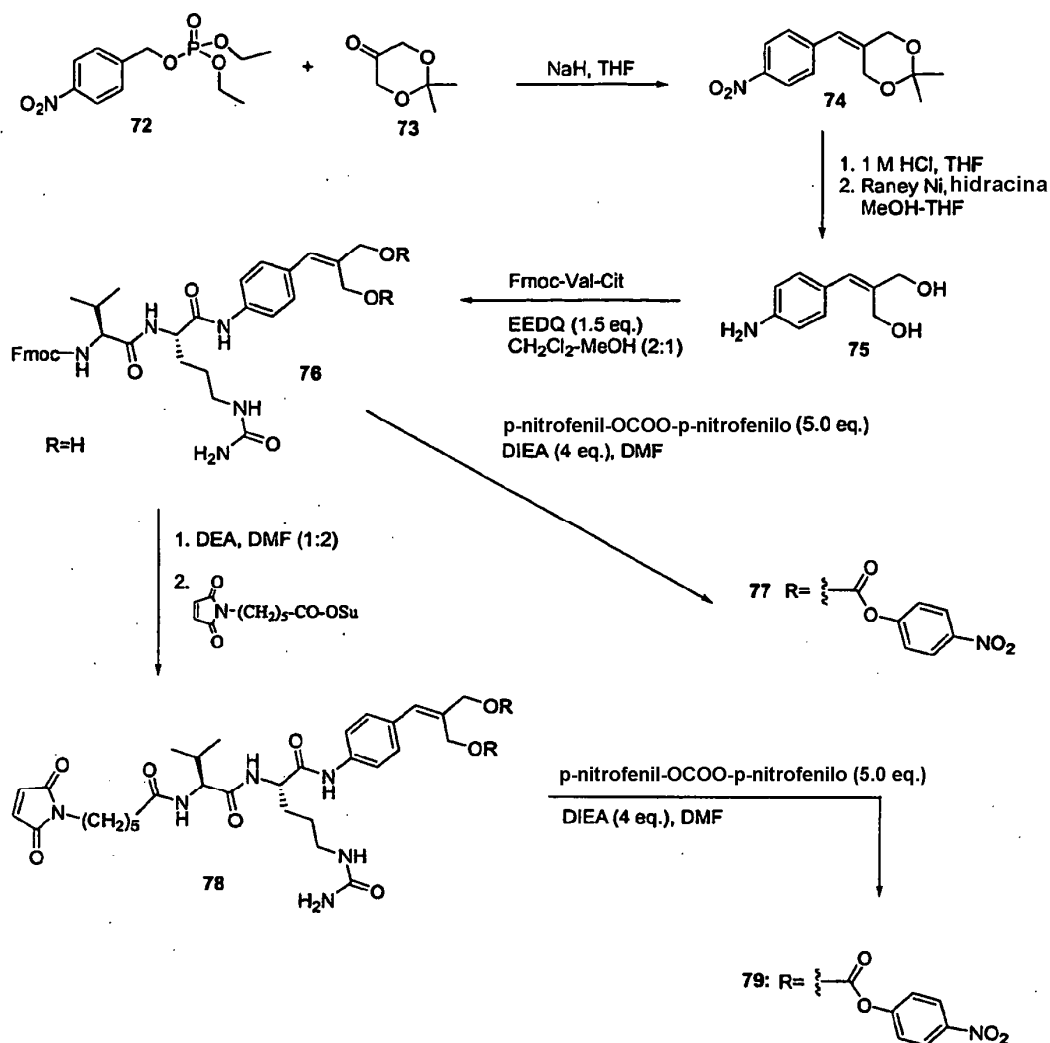
después se seca sobre MgSO_4 y se concentra. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna de resolución rápida utilizando un eluyente adecuado para proporcionar un éter de la fórmula **34** o una amina de la fórmula **71**, dependiendo de si el fármaco **10** contiene un grupo hidroxilo libre o un grupo amino libre.

- 5 Un método alternativo para la preparación de compuestos de fármaco-conector de la invención se describe en el Esquema 14. Utilizando el método del Esquema 14, el fármaco se une a una unidad de conector parcial (19a, por ejemplo), que no tiene una unidad de extensor unida. Esto proporciona el producto intermedio **35**, que tiene una unidad de aminoácido que tiene un N-terminal protegido con Fmoc. El grupo Fmoc se elimina y la amina intermediaria resultante **36** se fija a una unidad de extensor a través de una reacción de acoplamiento catalizada con PyBrop o DEPC. La construcción de los compuestos de fármaco-conector que contienen un extensor de bromoacetamida **39** o un extensor de maleimida PEG **38** se ilustra en el Esquema 14.
- 10



donde Q es -C₁-C₈ alquilo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -halógeno, -nitro o -ciano; y m es un número entero que varía de 0-4.

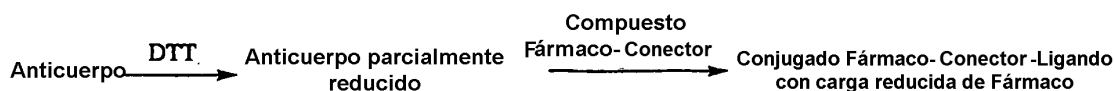
La metodología útil para la preparación de una unidad de conector que contiene un separador ramificado se muestra en el Esquema 15.



El Esquema 15 ilustra la síntesis de un conector de dipéptido val-cit que tiene una unidad de extensor de maleimida y una unidad de bis(4-hidroxitometil)estireno (BHMS). La síntesis del producto intermedio BHMS (**75**) se ha mejorado a partir de los procedimientos de la literatura anterior (véase la Publicación Internacional n° WO 98 13059 de Firestone et al., y Crozet, MP.; Archaimbault, G.; Vanelle, P.; Nougier, R. *Tetrahedron Lett.* 1985, 26, 5133-5134) y utiliza como materiales de partida, disponibles en el mercado, dietil (4-nitrobencil)fosfonato (**72**) y 2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-ona (**73**). Los conectores **77** y **79** se pueden preparar a partir del producto intermedio **75** mediante la metodología descrita en el Esquema 11.

El esquema 16 ilustra la metodología útil para hacer conjugados de fármaco-conector-ligando de la invención que tienen de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 fármacos por anticuerpo.

Esquema 16



Procedimiento general K: Preparación de conjugados con aproximadamente 2 a aproximadamente 4 fármacos por anticuerpo.

Reducción parcial del anticuerpo

5 En general, para preparar conjugados que tienen dos fármacos por anticuerpo, el anticuerpo pertinente se reduce con un agente reductor tal como ditioneitol (DTT) o tricarbonyltilfosfina (TCEP) (alrededor de 1,8 equivalentes) en PBS con 1 mM DTPA, ajustado a pH 8 con 50 mM de borato. La solución se incuba a 37 °C durante 1 hora, se purifica utilizando una columna de 50 ml de G25 de desalación equilibrada en PBS/1mM DTPA a 4° C. La concentración de tior se puede determinar según el Procedimiento General M, la concentración de proteínas puede determinarse dividiendo el valor de A280 entre el coeficiente de extinción de 1,58 (mg/ml), y la relación de tior a anticuerpo puede determinarse según el Procedimiento General N.

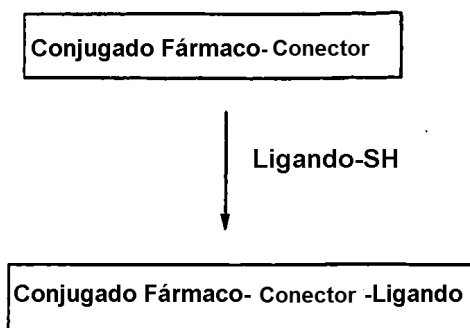
10 Los conjugados que tienen 4 fármacos por anticuerpo se pueden hacer utilizando la misma metodología, con alrededor de 4,2 equivalentes de un agente reductor adecuado para reducir parcialmente el anticuerpo.

Conjugación del fármaco-conector al anticuerpo parcialmente reducido

15 Las muestras de anticuerpo parcialmente reducido pueden conjugarse con el correspondiente compuesto de fármaco-conector con alrededor de 2,4 y alrededor de 4,6 equivalentes molares de compuesto de fármaco-conector por anticuerpo para preparar los conjugados de 2 y 4 fármacos por anticuerpo, respectivamente. Las reacciones de conjugación se incuban en hielo durante 1 hora, se extinguen con un exceso en cerca de 20 veces de cisteína para el fármaco, y se purifica por elución en una columna de desalación G25 a aproximadamente 4 °C. Los conjugados de fármaco-conector-ligando resultantes se concentran a cerca de 3 mg/ml, se pasan por un filtro estéril, se dividen en partes alícuotas y se almacenan congelados.

20 El esquema 17 muestra la construcción de un conjugado de fármaco-conector-ligando mediante la reacción del grupo sulfhidrilo de un ligando con un grupo aceptor tior sobre el grupo conector de un compuesto de fármaco-conector.

Esquema 17



25 Los métodos ilustrativos para unir un anticuerpo de ligando a un compuesto de fármaco-conector se describen en los procedimientos generales L-R.

30 **Procedimiento general L: Unión de un ligando de anticuerpo a un compuesto de fármaco-conector.** Todas las etapas de la reacción se llevan a cabo típicamente a 4 °C. Cuando el ligando es un anticuerpo monoclonal que tiene uno o más puentes disulfuro, las soluciones del anticuerpo monoclonal (5-20 mg/ml) en solución salina tamponada con fosfato, pH, 7,2, se reducen con ditioneitol (10 mM final) a 37 °C durante 30 minutos (véase el Procedimiento General M) y la separación de los agentes de bajo peso molecular se logra mediante cromatografía de exclusión molecular en columnas Sephadex G25 en PBS que contienen 1 mM de ácido dietiltriainopentaacético.

35 El contenido de sulfhidrilo en el ligando se puede determinar utilizando ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) (DTNB) como se describe en el Procedimiento General M (véase Riddles, P.W., Blakeley, RL, y Zemer, B. (1979) Anal. Biochem. 94, 75-81). A una solución de PBS de ligando reducido según el Procedimiento General L se añade un compuesto de fármaco-conector en MeCN de manera que la solución sea de 20% de MeCN/PBS (en vol/vol). La cantidad de compuesto de fármaco-conector es aproximadamente un 10% más que el número total de grupos sulfhidrilo en un ligando. Después de 60 min a 4 °C, la cisteína se añade (20 veces en exceso frente a la concentración del compuesto de fármaco-conector), la solución se concentra por ultrafiltración, y todos los agentes de bajo peso molecular se eliminan por filtración en gel. El número de compuestos de fármaco-conector por anticuerpo se determina por espectroscopia de uv/vis utilizando fórmulas derivadas de los coeficientes de extinción relativa de los ligandos y los compuestos de fármaco-conector como se describe en el Procedimiento General O. La

cantidad de compuesto de fármaco-conector extinguido se determina entonces como se describe en el Procedimiento General P utilizando HPLC de fase inversa. El estado de agregación de los anticuerpos de ligando de los conjugados de fármaco-conector-ligando se puede determinar utilizando HPLC de exclusión por tamaño como se describe en el Procedimiento General R. Los conjugados de fármaco-conector-ligando pueden utilizarse sin purificación adicional.

Procedimiento general M: Reducción de los puentes disulfuro entre cadenas de un anticuerpo. A una solución de 24 mg de un anticuerpo (2,4 ml de 10 mg/ml de solución) en el tampón adecuado se añade 300 µl de solución tampón de borato (500 mM de borato de sodio/500 mM de cloruro de sodio, pH 8,0), seguido de 300 µl de ditioneitol (DTT, una solución de 100 mM en H₂O). La mezcla de reacción se agita con un instrumento de formación de vórtice y se incuba a 37 °C durante 30 min. Se equilibran tres columnas PD10 con PBS que contiene 1 mM de DTPA (en PBS) y el anticuerpo reducido se eluye a través de las tres columnas PD10 y se recoge en 4,2 ml de solución de PBS/DTPA (1,4 ml por columna). El anticuerpo reducido se almacena luego en hielo. El número de tioles por anticuerpo y la concentración de anticuerpos se determinan según el Procedimiento General N.

Procedimiento general N: Determinación del número de tioles por ligando.

Una muestra de referencia de un ligando o una muestra de un anticuerpo reducido según el Procedimiento General L se diluye a aproximadamente 1:40 (en peso/peso) en PBS, y la absorbancia UV de la solución se mide a 280 nm utilizando métodos espectroscópicos de UV. Preferentemente, la relación de ligando:PBS en la solución es tal que la absorbancia UV oscila entre aproximadamente 0,13-0,2 UA (unidades de absorbancia).

Una muestra de ensayo de un ligando o una muestra de ensayo de un anticuerpo reducido según el Procedimiento General L se diluye a aproximadamente 1:20 con una solución de PBS que contiene aproximadamente 15 µl de solución madre de DTNB/ml de PBS. Entonces se prepara una muestra en blanco que contiene DTNB en la misma concentración que la solución de ensayo (es decir, 15 µl de solución madre de DTNB/ml de PBS). El espectrofotómetro se pone como referencia a cero nm con la muestra en blanco, entonces la absorbancia de la muestra se mide a 412 nm.

La concentración molar del anticuerpo se determina mediante la fórmula: $[\text{Ligando}] = (\text{OD}_{280}/2,24\text{e}^5) \times \text{factor de dilución}$.

La concentración molar de tiol se determina mediante la fórmula:

$[\text{-SH}] = (\text{OD}_{412}/1,415\text{e}^4) \times \text{factor de dilución}$.

Entonces se calcula la relación $[\text{SH}]/[\text{ligando}]$. Un ligando de anticuerpo monoclonal reducido puede tener de 1 a 20 grupos sulfhidrilo, pero por lo general tiene entre 6 a 9 grupos sulfhidrilo. En una forma de realización preferida, el intervalo de la relación de $[\text{SH}]/[\text{ligando}]$ es de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

Se entiende que la relación de $[\text{SH}]/[\text{ligando}]$ es el número promedio de unidades de -A_a-W_w-Y_y-D por unidad de ligando.

Procedimiento general O: Determinación del número de moléculas de fármaco por anticuerpo en un conjugado de fármaco-conector-anticuerpo. La relación de fármaco:anticuerpo para un conjugado de fármaco-conector-anticuerpo se determina midiendo el número de tioles reducibles con ditioneitol (DTT) que quedan después de la conjugación, utilizando el siguiente método: Se trata una muestra de 200 ml de un conjugado de fármaco-conector-anticuerpo con DTT (solución de 100 mM en agua) para llevar la concentración a 10 mM de DTT. La solución resultante se incuba a 37 °C durante 30 minutos, luego se eluye a través de una columna PD10 con PBS/DTPA como eluyente. Entonces se mide el OD₂₈₀ del conjugado reducido y se mide la concentración molar según el Procedimiento General P.

La concentración molar de tiol se determina usando DTNB como se describe en el procedimiento general M. Se calcula la relación de la concentración de tiol a la concentración de anticuerpo, y la relación de fármaco:ligando es la diferencia entre la relación tiol:anticuerpo (determinada utilizando el procedimiento general N) y la relación fármaco:anticuerpo como se determinó en el párrafo anterior.

Procedimiento General P: Determinación de la cantidad de compuesto de fármaco-conector extinguido en un conjugado de fármaco-conector-anticuerpo. Este ensayo proporciona una determinación cuantitativa del fármaco-conector en el conjugado de fármaco-conector-anticuerpo que no se une covalentemente al anticuerpo. Asumiendo que todos los grupos maleimida del fármaco-conector en la mezcla de reacción se han extinguido con cisteína, el fármaco no unido es el aducto extinguido de cisteína del compuesto de fármaco-conector, es decir, fármaco-conector-Cys. El conjugado proteínico de fármaco-conector-anticuerpo se desnaturaliza, se precipita, y se aísla por centrifugación en condiciones en las que el fármaco-conector-Cys es soluble. El fármaco-conector-Cys no unido se detecta cuantitativamente por HPLC, y el cromatograma resultante se compara con una curva patrón para determinar la concentración fármaco-conector-Cys no unido en la muestra. Esta concentración se divide entre la concentración total del fármaco en el conjugado, tal como se determinó utilizando el Procedimiento General O y el Procedimiento General Q.

Específicamente, se preparan 100 ml de "solución de trabajo" de un aducto de 100 μM de fármaco-conector-Cys añadiendo 1 μl de 100 mM de cisteína en PBS/DTPA y un volumen adecuado de solución madre de un compuesto de fármaco-conector a 98 μl de metanol/PBS al 50%. El "volumen apropiado" en litros se calcula utilizando la fórmula: $V = 1\text{e-}8/[\text{fármaco-conector}]$. Se etiquetan seis tubos como sigue: "0", "0,5", "1", "2", "3", y "5", y se coloca la cantidad apropiada de solución de trabajo en cada tubo y se diluye con metanol al 50%/PBS para obtener un volumen total de 100 ml en cada tubo. Las etiquetas indican la concentración en μM de los patrones.

Se recogen 50 μl de una solución de un conjugado de fármaco-conector-anticuerpo y 50 μl de una solución de la mezcla de reacción de cisteína extinguida ("qrm") en tubos de ensayo por separado y cada uno se diluye con 50 μl de metanol que ha sido enfriado hasta -20°C . Las muestras se enfrían hasta -20°C a lo largo de 10 min.

Las muestras se centrifugan a 13.000 rpm en una centrífuga de sobremesa durante 10 minutos. Los sobrenadantes se transfieren a viales de HPLC, y se analizan partes alícuotas de 90 μl de cada muestra por separado por HPLC (columna C12 RP (Phenomenex) y se controlan a la máxima absorbancia del compuesto de fármaco-conector utilizando un caudal de 1,0 ml/min. El eluyente utilizado es un gradiente lineal de MeCN que varía de 10 a 90% en solución acuosa de fosfato de amonio 5 mM, pH 7,4, a lo largo de 10 minutos, luego 90% de MeCN a lo largo de 5 min.; luego se vuelve a las condiciones iniciales). El aducto de fármaco-conector-Cys eluye generalmente entre aproximadamente 7 y aproximadamente 10 minutos.

Se prepara una curva patrón trazando el área de los pico de los patrones frente a su concentración (en μM). Se realiza el análisis de regresión lineal para determinar la ecuación y el coeficiente de correlación de la curva patrón. Los valores de R^2 son típicamente $> 0,99$. A partir de la ecuación de regresión se determina la concentración del aducto de fármaco-conector-Cys en la muestra de HPLC y en el conjugado, utilizando las fórmulas:

$$[\text{Fármaco-Conector-Cys}]_{(\text{muestra HPLC})} = (\text{área Pico} - \text{intercepción})/\text{inclinación}$$

$$[\text{Fármaco-Conector-Cys}]_{(\text{conjugado})} = 2 \times [\text{Fármaco-Conector-Cys}]_{(\text{muestra HPLC})}$$

El porcentaje del aducto de fármaco-conector-Cys se puede determinar mediante la fórmula:

$$\% \text{ Fármaco-Conector-Cys} = 100 \times [\text{Fármaco-Conector-Cys}]_{(\text{conjugado})}/[\text{fármaco}]$$

donde $[\text{fármaco}] = [\text{conjugado}] \times \text{fármaco/Anticuerpo}$, $[\text{conjugado}]$ se determina utilizando el ensayo de concentración de conjugado, y la relación fármaco:anticuerpo se determina usando el ensayo de relación de fármaco:anticuerpo.

Procedimiento General Q: Determinación de la concentración de conjugado de fármaco-conector-anticuerpo para conectores de fármacos con absorbancia de uv mínima a 280 nm. La concentración de conjugado fármaco-conector-anticuerpo se puede determinar de la misma manera que la concentración del anticuerpo de origen, mediante la medición de la absorbancia a 280 nm de una dilución adecuada, utilizando la siguiente fórmula:

$$[\text{Conjugado}] \text{ (mg/ml)} = \text{OD}_{280} \times \text{factor de dilución}/1,4 \times 0,9$$

Determinación de la concentración de conjugado de fármaco-conector-anticuerpo para conectores de fármacos con absorbancia de uv substancial a 280 nm (por ejemplo, compuestos 68 y 69). Debido a que las absorbancias de los compuestos 68 y 69 se solapan con las absorbancias de un anticuerpo, la determinación espectrofotométrica de la concentración del conjugado es más útil cuando la medición se realiza utilizando las absorbancias tanto a 270 nm como a 280 nm. Utilizando estos datos, la concentración molar del conjugado de fármaco-conector-ligando viene dada por la siguiente fórmula:

$$[\text{Conjugado}] = (\text{OD}_{280} \times 1,23 \text{e}^{-5} - \text{OD}_{270} \times 9,35 \text{e}^{-6}) \times \text{factor de dilución}$$

donde los valores $1,23\text{e}^{-5}$ y $9,35\text{e}^{-6}$ se calculan a partir de los coeficientes de extinción molar del fármaco y el anticuerpo, que se calcula como:

$$\epsilon_{270} \text{ Fármaco} = 2,06\text{e}^4 \quad \epsilon_{270} \text{ Anticuerpo} = 1,87\text{e}^5$$

$$\epsilon_{280} \text{ Fármaco} = 1,57\text{e}^4 \quad \epsilon_{280} \text{ Anticuerpo} = 2,24\text{e}^5$$

Procedimiento general R: Determinación del estado de agregación del anticuerpo en un conjugado de fármaco-conector-anticuerpo. Una cantidad adecuada (aproximadamente 10 μg) de un conjugado de fármaco-conector-anticuerpo se eluye a través de una columna de cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) (Tosoh Biosep SW3000 4,6 mm x 30 cm eluida a 0,35 ml/min. con PBS) en condiciones normales. Los cromatogramas se obtienen a 220 nm y 280 nm y se calcula la relación $\text{OD}_{280}/\text{OD}_{220}$. El agregado correspondiente por lo general tiene un tiempo de retención de entre unos 5,5 y 7 minutos, y tiene aproximadamente la misma relación de $\text{OD}_{280}/\text{OD}_{220}$ que el conjugado monomérico de fármaco-conector-anticuerpo.

5.8 COMPOSICIONES

En otros aspectos, la presente invención proporciona una composición que comprende una cantidad efectiva de un compuesto de la invención y un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable. Por comodidad, se puede llamar a las unidades de fármaco, a los compuestos de fármaco-conector y a los conjugados de fármaco-conector-ligando de la invención simplemente compuestos de la invención. Las composiciones son adecuadas para la administración veterinaria o humana.

Las composiciones de la presente invención pueden tener cualquier forma que permita que la composición se administre a un animal. Por ejemplo, la composición puede ser en forma de un sólido, líquido o gas (aerosol). Las vías típicas de administración incluyen, sin limitación, la oral, tópica, parenteral, sublingual, rectal, vaginal, ocular e intranasal. La administración parenteral incluye inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares, intraesternales o técnicas de infusión. Preferiblemente, las composiciones se administran por vía parenteral. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse con el fin de permitir que un compuesto de la invención sea biodisponible tras la administración de la composición a un animal. Las composiciones pueden tomar la forma de una o más unidades de dosificación, donde, por ejemplo, un comprimido puede ser una unidad de dosis única, y un recipiente de un compuesto de la invención en forma de aerosol puede tener una pluralidad de unidades de dosificación.

Los materiales utilizados en la preparación de las composiciones farmacéuticas pueden ser no tóxicos en las cantidades utilizadas. Será evidente para los expertos en la materia que la dosis óptima del o de los ingredientes activos en la composición farmacéutica dependerá de una variedad de factores. Los factores pertinentes incluyen, sin limitación, el tipo de animal (por ejemplo, humano), la forma particular del compuesto de la invención, la forma de administración, y la composición empleada.

El vehículo o portador farmacéuticamente aceptable puede estar en partículas, de modo que las composiciones estén, por ejemplo, en forma de comprimido o en polvo. El o los vehículos pueden ser líquidos, siendo las composiciones, por ejemplo, un jarabe oral o líquido inyectable. Además, el o los vehículos pueden ser gaseosos, con el fin de proporcionar una composición de aerosol que sirva para, por ejemplo, la administración inhalatoria.

Cuando se destina a la administración oral, la composición se encuentra preferiblemente en forma sólida o líquida, donde las formas semisólida, semilíquida, suspensión o gel se incluyen dentro de las formas que se consideran sólidas o líquidas en esta memoria.

Como composición sólida para la administración oral, la composición puede ser formulada en forma de polvo, gránulos, comprimidos prensados, píldoras, cápsulas, chicles, obleas o forma similar. Esta composición sólida contiene normalmente uno o más diluyentes inertes. Además, puede contener uno o más de lo siguiente: aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina o gelatina; excipientes tales como almidón, lactosa o dextrinas, agentes disgregantes tales como ácido algínico, alginato de sodio, Primogel, almidón de maíz y similares; lubricantes tales como estearato de magnesio o Sterotex; deslizantes tales como dióxido de silicio coloidal, agentes edulcorantes tales como sacarosa o sacarina, un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja, y un agente colorante.

Cuando la composición está en forma de cápsula, por ejemplo, una cápsula de gelatina, ésta puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un vehículo líquido tal como polietilenglicol, ciclodextrina o un aceite graso.

La composición puede estar en forma de líquido, por ejemplo, un elixir, jarabe, solución, emulsión o suspensión. El líquido puede ser útil para la administración oral o para suministrarlo por inyección. Cuando se destina a la administración oral, una composición puede comprender uno o más agentes edulcorantes, conservantes, tintes/colorantes y potenciadores del sabor. En una composición para la administración por inyección, también se pueden incluir uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, dispersante, agente de suspensión, tampón, estabilizador y agente isotónico.

Las composiciones líquidas de la invención, ya se trate de soluciones, suspensiones u otra forma similar, también puede incluir uno o más de los siguientes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferiblemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites fijos, tales como mono- o diglicéridos sintéticos que pueden servir como medio disolvente o de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, ciclodextrina, propilenglicol u otros solventes, agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabeno, antioxidantes como ácido ascórbico o bisulfito de sodio, agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético, tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. Una composición parenteral puede estar encerrada en una ampolla, una jeringa desechable o un matraz de dosis múltiples de vidrio, plástico u otro material. La solución salina fisiológica es un adyuvante preferido. Una composición inyectable es preferiblemente estéril.

La cantidad del compuesto de la invención que es eficaz en el tratamiento de una enfermedad o trastorno en particular dependerá de la naturaleza de la enfermedad o trastorno, y puede ser determinada por técnicas clínicas convencionales. Además, se pueden emplear opcionalmente ensayos *in vitro* o *in vivo* para ayudar a identificar los

intervalos óptimos de dosificación. La dosis precisa que hay que emplear en las composiciones dependerá también de la vía de administración y la gravedad de la enfermedad o trastorno, y debería decidirse según el criterio del profesional habilitado y las circunstancias de cada paciente.

Las composiciones comprenden una cantidad efectiva de un compuesto de la invención de tal manera que se obtenga una dosificación adecuada. Típicamente, esta cantidad es de al menos 0,01% de un compuesto de la invención en peso de la composición. Cuando se destina a la administración oral, esta cantidad puede variar en un intervalo de alrededor de 0,1% a aproximadamente 80% en peso de la composición. Las composiciones orales preferidas pueden comprender desde aproximadamente el 4% hasta aproximadamente el 50% del compuesto de la invención en peso de la composición. Las composiciones preferidas de la presente invención se preparan de tal manera que una unidad de dosificación parenteral contenga aproximadamente 0,01% a aproximadamente 2% en peso del compuesto de la invención.

Para la administración intravenosa, la composición puede comprender desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 250 mg de un compuesto de la invención por kg de peso corporal del animal. Preferiblemente, la cantidad administrada estará en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal del compuesto de la invención.

En general, la dosificación del compuesto de la invención administrada a un animal es de alrededor de 0,1 mg/kg a aproximadamente 250 mg/kg de peso corporal del animal. Preferiblemente, la dosis administrada a un animal es entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal del animal, más preferiblemente de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del animal.

Los compuestos o composiciones de la invención se pueden administrar por cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en embolada, por absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa bucal, mucosa rectal e intestinal, etc.) La administración puede ser sistémica o local. Se conocen varios sistemas de suministro, por ejemplo, la encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, cápsulas, etc. y se pueden utilizar para administrar un compuesto o composición de la invención. En algunas formas de realización, se administra más de un compuesto o composición de la invención a un animal. Los métodos de administración incluyen, aunque no exclusivamente, la administración oral y parenteral, y la administración parenteral incluye, aunque no se limita a la administración intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, sublingual, intranasal, intracerebral, intratecal, intraventricular, intravaginal, transdérmica, rectal, por inhalación o por vía tópica para los oídos, la nariz, los ojos o la piel. El modo preferido de administración se deja a la discreción del profesional habilitado, y dependerá en parte del sitio del trastorno médico (por ejemplo, el sitio del cáncer o enfermedad autoinmune).

En una forma de realización preferida, los presentes compuestos o composiciones de la invención se administran por vía parenteral.

En una forma de realización preferida, los presentes compuestos o composiciones de la invención se administran por vía intravenosa.

En unas formas de realización específicas, puede ser deseable administrar uno o más compuestos o composiciones de la invención de forma local en el área que necesite tratamiento. Esto se puede lograr, por ejemplo, aunque no exclusivamente, por infusión local durante la cirugía, aplicación tópica, por ejemplo, junto con un vendaje para heridas después de la cirugía, por inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio; o por medio de un implante, estando fabricado el implante con un material poroso, no poroso o gelatinoso, incluyendo membranas, como membranas o fibras silásticas. En una forma de realización, la administración puede ser por inyección directa en el sitio (o en un sitio anterior) de un cáncer, tumor o tejido neoplásico o preneoplásico. En otra forma de realización, la administración puede ser por inyección directa en el sitio (o en un sitio anterior) de una manifestación de una enfermedad autoinmune.

En algunas formas de realización, puede ser deseable introducir uno o más compuestos o composiciones de la invención en el sistema nervioso central por cualquier vía adecuada, incluyendo la inyección intraventricular e intratecal. La inyección intraventricular puede ser facilitada por un catéter intraventricular, por ejemplo, unido a un depósito, como un depósito Ommaya.

También se puede emplear la administración pulmonar, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o un nebulizador, y la formulación con un agente aerosolizante, o a través de la perfusión en un tensioactivo pulmonar de fluorocarbono o sintético. En algunas formas de realización, los compuestos o composiciones de la invención pueden ser formulados en forma de supositorio, con aglutinantes y vehículos tradicionales como los triglicéridos.

En otra forma de realización, los compuestos de la invención pueden ser suministrados en una vesícula, en particular un liposoma (véase Langer, *Science* 249:3327 = 1533 - (1990); Treat et al., en *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer*, Lopez-Berestein y Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989); Lopez-Berestein, *ibid.*, pp. 317-327; véase *ibidem* generalmente)

En otra forma de realización más, los compuestos o composiciones de la invención pueden suministrarse en un sistema de liberación controlada. En una forma de realización, se puede utilizar una bomba (véase Langer, *supra*; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14: 201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)). En otra forma de realización, se pueden utilizar materiales poliméricos (véase Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61 (1983), véase también Levy et al, Science 228:190 (1985); During et al, Ann. Neurol. 25:351 (1989), Howard et al, J. Neurosurg. 71:105 (1989)). En otra forma de realización más, se puede colocar un sistema de liberación controlada cerca del objetivo de los compuestos o composiciones de la invención, por ejemplo, el cerebro, lo que requiere sólo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, en Medical Applications of Controlled Release, *supra*, vol 2, pp. 115-138 (1984)). Se pueden usar otros sistemas de liberación controlada explicados en el análisis de Langer (Science 249:1527-1533 (1990)).

El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante o excipiente, con el que se administra un compuesto de la invención. Tales vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos, como agua y aceites, incluyendo los de origen del petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como el aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los vehículos pueden ser solución salina, goma arábiga, gelatina, pasta de almidón, talco, queratina, sílice coloidal, urea, y similares. Además, se pueden utilizar agentes auxiliares, estabilizantes, espesantes, lubricantes y colorantes. En una forma de realización, cuando se administra a un animal, los compuestos o composiciones de la invención y los vehículos farmacéuticamente aceptables son estériles. El agua es un vehículo preferido cuando los compuestos de la invención se administran por vía intravenosa. También se puede emplear soluciones salinas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los vehículos farmacéuticos adecuados incluyen también excipientes tales como almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, yeso, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerina, propileno, glicol, agua, etanol y similares. Si se desea, las presentes composiciones también pueden contener pequeñas cantidades de agentes humectantes o emulsionantes o agentes reguladores del pH.

Las presentes composiciones pueden tomar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, gránulos, cápsulas, cápsulas que contengan líquidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, supositorios, emulsiones, aerosoles, pulverizados, suspensiones o cualquier otra forma adecuada para su uso. En una forma de realización, el vehículo farmacéuticamente aceptable es una cápsula (véase, por ejemplo, la Patente US 5.698.155). Otros ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables han sido descritos en "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin.

En una forma de realización preferida, los compuestos de la invención se formulan de acuerdo con los procedimientos rutinarios como una composición farmacéutica adaptada para la administración intravenosa a los animales, especialmente a los seres humanos. Por lo general, los vehículos o portadores para la administración intravenosa son soluciones tampón acuosas isotónicas estériles. Cuando sea necesario, las composiciones pueden incluir también un agente solubilizante. Las composiciones para la administración por vía intravenosa, opcionalmente pueden incluir un anestésico local como la lignocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Generalmente, los ingredientes se suministran por separado o mezclados en forma de dosis unitarias, por ejemplo, como un polvo seco liofilizado o concentrado sin agua en un recipiente herméticamente cerrado, como una ampolla o sobrecito indicando la cantidad de ingrediente activo. Cuando un compuesto de la invención se administra por infusión, se puede dispensar, por ejemplo, con una botella de infusión que contenga agua o solución salina estéril de calidad farmacéutica. Cuando el compuesto de la invención se administra por inyección, se pueden proporcionar una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina para que los ingredientes puedan ser mezclados antes de su administración.

Las composiciones para la administración oral puede tener forma de comprimidos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, gránulos, polvos, emulsiones, cápsulas, jarabes o elixires, por ejemplo. Las composiciones para la administración oral pueden contener uno o más agentes, por ejemplo, opcionalmente, agentes edulcorantes como fructosa, aspartamo o sacarina, aromatizantes como menta, aceite de gaulteria, o cereza, colorantes y conservantes, para proporcionar una preparación farmacéuticamente agradable al paladar. Además, cuando tienen la forma de comprimido o píldora, las composiciones pueden ser recubiertas para retardar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal proporcionando así una acción sostenida durante un período prolongado de tiempo. Las membranas selectivamente permeables que rodean un compuesto conductor osmóticamente activo también son adecuadas para los compuestos administrados por vía oral. En estas últimas plataformas, el compuesto de conducción imbebe el líquido del ambiente que rodea la cápsula, con lo que se hincha para desplazar el agente o la composición agente a través de una abertura. Estas plataformas de distribución pueden proporcionar un perfil de distribución prácticamente de orden cero en comparación con los perfiles marcados de las formulaciones de liberación inmediata. También se puede utilizar un material de retardo tal como el monoestearato de glicerol o estearato de glicerol. Las composiciones orales pueden incluir vehículos convencionales, tales como manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio, etc. Estos vehículos son preferiblemente de calidad farmacéutica.

Las composiciones pueden estar destinadas a la administración por vía tópica, en cuyo caso el vehículo puede estar en forma de solución, emulsión, ungüento o base de gel. La base, por ejemplo, puede comprender uno o más de los siguientes: vaselina, lanolina, polietilenglicoles, cera de abejas, aceite mineral, diluyentes tales como agua y alcohol, y emulsionantes y estabilizantes. Los agentes espesantes pueden estar presentes en una composición para la administración tópica. Si se destina a la administración transdérmica, la composición puede tener forma de parche transdérmico o dispositivo de iontoforesis. Las formulaciones tópicas pueden contener una concentración de un compuesto de la invención de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% en p/v (peso por unidad de volumen de la composición).

La composición puede destinarse a la administración rectal, en forma, por ejemplo, de un supositorio que se fundirá en el recto y liberará el compuesto de la invención. La composición para la administración rectal puede contener una base oleaginosa como un excipiente no irritante adecuado. Estas bases incluyen, sin limitación, lanolina, manteca de cacao y polietilenglicol.

La composición puede incluir diversos materiales que modifiquen la forma física de una unidad de dosificación sólida o líquida. Por ejemplo, la composición puede incluir materiales que formen una capa de recubrimiento alrededor de los ingredientes activos. Los materiales que forman la capa de recubrimiento son generalmente inertes, y pueden ser seleccionados de, por ejemplo, azúcar, goma laca, y otros agentes de recubrimiento entérico. Como alternativa, los principios activos pueden ser encerrados en una cápsula de gelatina.

Las composiciones pueden consistir en unidades de dosificación gaseosa, por ejemplo, pueden estar en forma de aerosol. El término aerosol se utiliza para referirse a una variedad de sistemas que van desde los de naturaleza coloidal a sistemas que consisten en envases presurizados. La distribución puede ser por un gas licuado o comprimido o por un sistema adecuado de bombeo que dispense los ingredientes activos. Los aerosoles de los compuestos de la invención pueden ser distribuidos en sistemas monofásicos, bifásicos o trifásicos con el fin de administrar el o los compuestos de la invención. La distribución del aerosol incluye el recipiente, activadores, válvulas, recipientes secundarios, y separadores necesarios, y similares, que pueden formar juntos un kit. Los aerosoles preferidos pueden ser determinados por un experto en la materia, sin experimentación excesiva.

Ya sea en forma sólida, líquida o gaseosa, las composiciones de la presente invención pueden comprender un agente farmacológico utilizado en el tratamiento del cáncer, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa.

Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar usando una metodología bien conocida en la técnica farmacéutica. Por ejemplo, una composición destinada a ser administrada por inyección puede ser preparada combinando un compuesto de la invención con agua para formar una solución. Se puede añadir un tensioactivo para facilitar la formación de una solución o suspensión homogénea. Los tensioactivos son compuestos que interactúan de forma no covalente con un compuesto de la invención con el fin de facilitar la disolución o suspensión homogénea del compuesto activo en el sistema acuoso de suministro.

5.9 USOS TERAPÉUTICOS DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION

Los compuestos de la invención son útiles para tratar el cáncer, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa en un animal.

5.10 TRATAMIENTO DEL CÁNCER

Los compuestos de la invención son útiles para inhibir la multiplicación de células tumorales o células cancerosas o para tratar el cáncer en un animal. Los compuestos de la invención pueden utilizarse, por lo tanto, en una variedad de opciones para el tratamiento de cánceres en animales. Los conjugados de fármaco-conector-ligando pueden utilizarse para administrar un fármaco o unidad de fármaco a una célula tumoral o célula cancerosa. Sin pretender imponer ninguna teoría, en una realización, la unidad de ligando de un compuesto de la invención se une o se asocia al antígeno asociado a la célula cancerosa o célula tumoral, y el compuesto de la invención puede absorberse hacia el interior de una célula cancerosa o célula tumoral a través de endocitosis mediada por un receptor. El antígeno se puede unir a una célula cancerosa o célula tumoral o puede ser una proteína de la matriz extracelular asociada a la célula cancerosa o célula tumoral. Una vez dentro de la célula, una o más secuencias de péptidos específicas dentro de la unidad de conector son escindidas hidrolíticamente por una o más proteasas asociadas a las células tumorales o células cancerosas, generando la liberación de un fármaco o un compuesto de fármaco-conector. El fármaco o compuesto de fármaco-conector liberado es entonces libre de migrar en el citosol e inducir actividades citotóxicas. En una forma de realización alternativa, el fármaco o unidad de fármaco se escinde del compuesto de la invención fuera de la célula tumoral o célula cancerosa, y el fármaco o compuesto de fármaco-conector penetra después en la célula.

En una forma de realización, la unidad de ligando se une a la célula tumoral o célula cancerosa.

En otra forma de realización, la unidad de ligando se une a un antígeno de la célula tumoral o célula cancerosa que se encuentra en la superficie de la célula tumoral o célula cancerosa.

En otra forma de realización, la unidad de ligando se une a un antígeno de la célula tumoral o célula cancerosa que es una proteína de matriz extracelular asociada a la célula tumoral o célula cancerosa.

En una forma de realización, la célula tumoral o la célula cancerosa es del tipo del tumor o cáncer para el cual el animal necesita tratamiento o prevención.

- 5 La especificidad de la unidad de ligando de una célula tumoral o célula cancerosa puede ser importante para la determinación de aquellos tumores o cánceres que se tratan con mayor eficacia. Por ejemplo, los compuestos de la invención que tienen una unidad de ligando BR96 pueden ser útiles para el tratamiento de carcinomas positivos al antígeno, incluyendo los de pulmón, mama, colon, ovarios y páncreas. Los compuestos de la invención que tienen una unidad de ligando anti-CD30 o anti-CD40 pueden ser útiles para el tratamiento de neoplasias hematológicas.
- 10 Otros tipos particulares de cánceres que pueden tratarse con los compuestos de la invención incluyen, aunque no exclusivamente, los descritos en la Tabla 3.

TABLA 3

Tumores sólidos, incluyendo, aunque no exclusivamente:

	fibrosarcoma
15	mixosarcoma
	liposarcoma
	condrosarcoma
	sarcoma osteogénico
	cordoma
20	angiosarcoma
	endoteliosarcoma
	linfangiosarcoma
	linfangioendoteliosarcoma
	sinovioma
25	mesotelioma
	tumor de Ewing
	leiomiosarcoma
	rabdomiosarcoma
	cáncer de colon
30	cáncer colorrectal
	cáncer de riñón
	cáncer de páncreas
	cáncer de hueso
	cáncer de mama
35	cáncer de ovario
	cáncer de próstata
	cáncer de esófago
	cáncer de estómago
	cáncer oral
40	cáncer nasal

	cáncer de garganta
	carcinoma de células escamosas
	carcinoma de células basales
	adenocarcinoma
5	carcinoma de glándulas sudoríparas
	carcinoma de glándulas sebáceas
	carcinoma papilar
	adenocarcinomas papilares
	cistoadenocarcinoma
10	carcinoma medular
	carcinoma broncogénico
	carcinoma de células renales
	hepatoma
	carcinoma del conducto biliar
15	coriocarcinoma
	seminoma
	carcinoma embrionario
	tumor de Wilms
	cáncer de cuello uterino
20	cáncer de útero
	cáncer testicular
	carcinoma pulmonar de células pequeñas
	carcinoma de vejiga
	cáncer de pulmón
25	carcinoma epitelial
	glioma
	glioblastoma multiforme
	astrocitoma
	meduloblastoma
30	craneofaringioma
	ependimoma
	pinealoma
	hemangioblastoma
	neuroma acústico
35	oligodendroglioma
	meningioma

	cáncer de piel
	melanoma
	neuroblastoma
	retinoblastoma
5	cánceres de origen sanguíneo incluyendo, aunque no exclusivamente:
	leucemia linfoblástica aguda "LLA"
	leucemia linfoblástica aguda de células B
	leucemia linfoblástica aguda de células T
	leucemia mieloblástica aguda "LMA"
10	leucemia promielocítica aguda "APL"
	leucemia monoblástica aguda
	leucemia eritroleucémica aguda
	leucemia megacarioblástica aguda
	leucemia mielomonocítica aguda
15	leucemia no linfocítica aguda
	leucemia indiferenciada aguda
	leucemia mielocítica crónica "LMC"
	leucemia linfocítica crónica "LLC"
	leucemia de células peludas
20	mieloma múltiple
	leucemias agudas y crónicas:
	linfoblástica
	mielógena
	linfocítica
25	leucemias mielocíticas
	Linfomas:
	Enfermedad de Hodgkin
	Linfoma no hodgkiniano
	Mieloma múltiple
30	Macroglobulinemia de Waldenström
	Enfermedad de cadena pesada
	Policitemia vera

35 Los compuestos de la invención también pueden ser utilizados como quimioterapéuticos en forma no selectiva. Por ejemplo, los propios fármacos o compuestos de fármaco-conector son útiles para tratar cánceres o tumores de ovario, sistema nervioso central, riñón, pulmón, colon, melanoma, o hematológicos.

Los compuestos de la invención proporcionan una conjugación específica selectiva del tumor o cáncer, reduciendo así la toxicidad general de estos compuestos. Las unidades de conector estabilizan los compuestos de la invención en la sangre, aunque pueden ser rotos por las proteasas específicas del tumor dentro de la célula, liberando un fármaco.

5.10.1 TERAPIA MULTIMODAL PARA EL CÁNCER

El cáncer, incluyendo, aunque no exclusivamente, un tumor, metástasis, o cualquier otra enfermedad o trastorno caracterizado por el crecimiento incontrolado de células, puede tratarse o prevenirse con la administración de un compuesto de la invención.

- 5 En otras formas de realización, la invención proporciona los usos de los compuestos de la invención para el tratamiento o la prevención del cáncer, comprendiendo administrar a un animal que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto de la invención y un agente quimioterapéutico. En una forma de realización, el agente quimioterapéutico es aquel con el cual no se ha constatado que el tratamiento del cáncer sea refractario. En otra forma de realización, el agente quimioterapéutico es aquel con el cual se ha constatado que el tratamiento de cáncer es refractario. Los compuestos de la invención pueden ser administrados a un animal que también haya sido sometido a cirugía como tratamiento para el cáncer.

En una forma de realización, el método adicional de tratamiento es la radioterapia.

- 15 En una forma de realización específica, el compuesto de la invención se administra simultáneamente con el agente quimioterapéutico o con radioterapia. En otra forma de realización específica, el agente quimioterapéutico o la radioterapia se administra antes o después de la administración de un compuesto de la invención, preferiblemente al menos una hora, cinco horas, 12 horas, un día, una semana, un mes, más preferiblemente varios meses (por ejemplo, hasta tres meses), antes o después de la administración de un compuesto de la invención.

- 20 Un agente quimioterapéutico puede ser administrado en una serie de sesiones, pudiéndose administrar cualquiera o una combinación de los agentes quimioterapéuticos que se relacionan en la Tabla 4. Con respecto a la radiación, se puede utilizar cualquier protocolo de radioterapia en función del tipo de cáncer a tratar. Por ejemplo, aunque no exclusivamente, se puede administrar radiación de rayos X, en particular se puede utilizar con megavoltaje de alta energía (radiación de mayor energía que 1 MeV) para tumores profundos, y se puede utilizar radiación de haz de electrones y de rayos X con ortovoltaje para el cáncer de piel. También se pueden administrar radioisótopos que emitan rayos gamma, tales como isótopos radiactivos de radio, cobalto y otros elementos.

- 25 Además, la invención proporciona los usos para el tratamiento del cáncer con un compuesto de la invención como una alternativa a la quimioterapia o radioterapia cuando la quimioterapia o la radioterapia hayan demostrado o pudieran demostrar resultados demasiado tóxicos, por ejemplo, que den como resultado efectos secundarios inaceptables o intolerables para el sujeto que está siendo tratado. El animal tratado puede, opcionalmente, ser tratado con otro tratamiento para el cáncer, como cirugía, radioterapia o quimioterapia, dependiendo de que el tratamiento demuestre ser aceptable o tolerable.

- 30 Los compuestos de la invención también pueden ser utilizados in vitro o ex vivo, como para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer, incluyendo, aunque no exclusivamente, las leucemias y los linfomas, y tales tratamientos implican trasplantes autólogos de células madre. Esto puede implicar un proceso de múltiples pasos en el que las células madre autólogas hematopoyéticas del animal se cosechan y purgan de todas las células cancerosas, luego se erradica la población restante de células de la médula ósea del paciente a través de la administración de una dosis elevada de un compuesto de la invención con o sin el acompañamiento de una terapia de alta dosis de radiación, y el injerto de células madre se vuelve a inyectar en el animal. Entonces se proporciona cuidado de apoyo mientras se restablece la función de la médula ósea y el animal se recupera.

5.10.2 TERAPIA POLIFARMACOLÓGICA PARA EL CÁNCER

- 40 La presente invención incluye los usos para el tratamiento del cáncer, mediante la administración a un animal que lo necesite de una cantidad efectiva de un compuesto de la invención y otro agente terapéutico que es un agente contra el cáncer. Los agentes contra el cáncer incluyen, aunque no exclusivamente, metotrexato, taxol, L-asparaginasa, mercaptopurina, tioguanina, hidroxiurea, citarabina, ciclofosfamida, ifosfamida, nitrosoureas, cisplatino, carboplatino, mitomicina, dacarbazina, procarbina, topotecano, iperitas, citoxán, etopósido, 5-fluorouracilo, BCNU, irinotecán, camptotecinas, bleomicina, doxorubicina, idarubicina, daunorubicina, dactinomicina, plicamicina, mitoxantrona, asparaginasa, vinblastina, vincristina, vinorelbina, paclitaxel y docetaxel. En una forma de realización preferida, el agente contra el cáncer incluye, aunque no exclusivamente, un fármaco listado en la Tabla 4.

TABLA 4

Agentes alquilantes	
Iperitas:	ciclofosfamida
	Ifosfamida
	trofosfamida
	Clorambucil
Nitrosoureas:	carmustina (BCNU)
	Lomustina (CCNU)
Alquilsulfonatos	busulfán
	Treosulfán
Triacenos:	Dacarbazina
Compuestos que contienen platino:	Cisplatino
	carboplatino
Alcaloides vegetales	
Alcaloides de vinca:	vincristina
	Vinblastina
	Vindesina
	Vinorelbina
Taxoides:	paclitaxel
	Docetaxol
Inhibidores de la ADN topoisomerasa	
Epipodofilinas:	etopósido
	Tenipósido
	Topotecán
	9-aminocamptotecina
	camptotecina
	crisnatol
mitomicinas:	Mitomicina C
Antimetabolitos	
Agentes alquilantes	
Antifolatos:	
Inhibidores de la DHFR:	metotrexato
	Trimetrexato
Inhibidores de la IMP deshidrogenasa:	

	ácido micofenólico
	Tiazofurina
	Ribavirina
	EICAR
Inhibidores de la ribonucleótido reductasa:	
	hidroxiurea
	deferoxamina
Análogos de la pirimidina:	
Análogos de uracilo	5-Fluorouracilo
	Floxuridina
	Doxifluridina
	Ratitrexed
Análogos de la citosina:	citarabina (ara-C)
	Arabinósido de citosina
	fludarabina
Análogos de la purina:	mercaptopurina
	Tioguanina
Terapias hormonales:	
Antagonistas de receptores:	
Antiestrógeno	Tamoxifeno
	Raloxifeno
	megestrol
Agonistas de la LHRH:	goserclín
	Acetato de leuprolida
Antiandrógenos:	flutamida
	bicalutamida
Retinoides/Deltoides	
Análogos de la vitamina D3	EB 1089
	CB 1093
	KH 1060
Terapias fotodinámicas:	vertoporfina (BPD-MA)
	Ftalocianina
	fotosensibilizador Pc4
	Desmetoxi-hipocrelina A
	(2BA-2-DMHA)
Citocinas:	Interferón α

	Interferón- γ
	Factor de necrosis tumoral
Otros:	
Inhibidores de la isoprenilación:	
	Lovastatina
Neurotoxinas dopaminérgicas:	
	ión 1-metil-4-fenilpiridinio
Inhibidores del ciclo celular:	estaurosporina
Actinomicinas:	Actinomicina D
	Dactinomicina
Bleomicinas:	Bleomicina A2
	Bleomicina B2
	Peplomicina
Antraciclinas:	daunorrubicina
Agentes alquilantes	
	Doxorrubicina (adriamicina)
	Idarrubicina
	Epirubicina
	Pirarrubicina
	Zorrubicina
	Mitoxantrona
Inhibidores de la MDR:	verapamilo
Inhibidores de la ATPasa Ca^{2+} :	tapsigargina

5.11 TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Los compuestos de la invención son útiles para eliminar o inhibir la replicación de una célula que produce una enfermedad autoinmune o para tratar una enfermedad autoinmune. Los compuestos de la invención pueden utilizarse, por lo tanto, en una variedad de opciones para el tratamiento de una enfermedad autoinmune en un animal. Los conjugados de fármaco-conector-ligando pueden utilizarse para administrar un fármaco a una célula diana. Sin pretender imponer ninguna teoría, en una forma de realización, el conjugado de fármaco-conector-ligando se asocia a un antígeno en la superficie de una célula diana, y el compuesto de la invención es llevado hasta el interior de la célula diana mediante endocitosis mediada por un receptor. Una vez dentro de la célula, una o más secuencias de péptidos específicas dentro de la unidad de conector son escindidas enzimática o hidrolíticamente, generando la liberación de un fármaco. El fármaco liberado es entonces libre de migrar en el citosol e inducir actividades citotóxicas. En una forma de realización alternativa, el fármaco se escinde del compuesto de la invención fuera de la célula diana, y el fármaco penetra después en la célula.

En otra forma de realización, la unidad de ligando se une al antígeno autoinmune.

En otra forma de realización, la unidad de ligando se une a un antígeno autoinmune que se encuentra en la superficie de una célula.

En otra forma de realización, la célula diana es el tipo de célula que produce el antígeno autoinmune que causa la enfermedad en el animal que necesita de su tratamiento o prevención.

En una forma de realización preferida, el ligando se une a linfocitos activos que se asocian con el estado de la enfermedad autoinmune.

En otra forma de realización, los compuestos de la invención eliminan o inhiben la multiplicación de las células que producen un anticuerpo autoinmune asociado a una enfermedad autoinmune en particular.

Los tipos particulares de enfermedades autoinmunes que pueden ser tratadas con los compuestos de la invención incluyen, aunque no exclusivamente, los trastornos relacionados con los linfocitos Th2 (por ejemplo, dermatitis atópica, asma atópico, rinitis rinoconjuntivitis alérgica, síndrome de Omenn, esclerosis sistémica y enfermedad del injerto contra el receptor); los trastornos relacionados con los linfocitos Th1 (por ejemplo, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, psoriasis, síndrome de Sjorgren, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, cirrosis biliar primaria, granulomatosis de Wegener, y tuberculosis); los trastornos relacionados con los linfocitos B activados (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Goodpasture, artritis reumatoide y diabetes tipo I), y los que se describen en la Tabla 5.

TABLA 5

	Hepatitis crónica activa
	Enfermedad de Addison
	Alveolitis alérgica
15	Reacción alérgica
	Rinitis alérgica
	Síndrome de Alport
	Anafilaxia
	Espondilitis anquilosante
20	Síndrome antifosfolípido
	Artritis
	Ascariasis
	Aspergilosis
	Alergia atópica
25	Dermatitis atópica
	Rinitis atópica
	Enfermedad de Behcet
	Neumopatía del avicultor
	Asma bronquial
30	Síndrome de Caplan
	Cardiomiopatía
	Enfermedad celíaca
	Enfermedad de Chagas
	Glomerulonefritis crónica
35	Síndrome de Cogan
	Enfermedad de aglutininas frías
	Infección de rubéola congénita
	Síndrome de CREST
	Enfermedad de Crohn
40	Crioglobulinemia

	Síndrome de Cushing
	Dermatomiositis
	Lupus discoide
	Síndrome de Dressler
5	Síndrome de Eaton-Lambert
	Infección por echovirus
	Encefalomielitis
	Oftalmopatía endocrina
	Infección por el virus de Epstein-Barr
10	Obstrucción de las vías aéreas en equinos
	Eritematosis
	Síndrome de Evan
	Síndrome de Felty
	Fibromialgia.
15	Ciclitis de Fuch
	Atrofia gástrica
	Alergia gastrointestinal
	Arteritis de células gigantes
	Glomerulonefritis
20	Síndrome de Goodpasture
	Enfermedad del injerto contra el receptor
	Enfermedad de Graves
	Enfermedad de Guillain-Barre
	Tiroiditis de Hashimoto
25	Anemia hemolítica
	Púrpura de Schönlein-Henoch
	Atrofia suprarrenal idiopática
	Fibritis pulmonar idiopática
	Nefropatía por IgA
30	Enfermedades inflamatorias del intestino
	Diabetes mellitus insulín dependiente
	Artritis juvenil
	Diabetes mellitus juvenil (Tipo I)
	Síndrome de Lambert-Eaton
35	Laminitis
	Liquen plano

	Hepatitis lupoide
	Lupus
	Linfopenia
	Enfermedad de Meniere
5	Enfermedad mixta del tejido conectivo
	Esclerosis Múltiple
	Miastenia Grave
	Anemia perniciosa
	Síndromes poliglandulares
10	Demencia presenil
	Agammaglobulinemia primaria
	Cirrosis biliar primaria
	Psoriasis
	Artritis psoriática
15	Fenómeno de Raynaud
	Aborto recurrente
	Síndrome de Reiter
	Fiebre reumática
	Artritis reumatoide
20	Síndrome de Sampter
	Esquistosomiasis
	Síndrome de Schmidt
	Esclerodermia
	Síndrome de Shulman
25	Síndrome de Sjorgen
	Síndrome de la persona rígida
	Oftalmía simpática
	Lupus eritematoso sistémico
	Arteritis de Takayasu
30	Arteritis de la temporal
	Tiroiditis
	Trombocitopenia
	Tirotoxicosis
	Necrólisis epidérmica tóxica
35	Resistencia a la Insulina de Tipo B
	Diabetes mellitus de tipo I

Colitis ulcerosa
 Uveítis
 Vitiligo
 Macroglobulemia de Waldenstrom
 Granulomatosis de Wegener

5

5.11.1 TERAPIA POLIFARMACOLÓGICA DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES

La presente invención también incluye el uso para el tratamiento de una enfermedad autoinmune, mediante la administración a un animal que lo necesite de una cantidad efectiva de un compuesto de la invención y otro agente terapéutico conocido para el tratamiento de una enfermedad autoinmune. En una forma de realización, el agente

10

contra la enfermedad autoinmune incluye, aunque no exclusivamente, los agentes que enumeran en la Tabla 6.

Tabla 6

ciclosporina
 ciclosporina A
 micofenolato mofetilo
 sirolimus
 tacrolimus
 enanercept
 prednisona
 azatioprina
 metotrexato ciclofosfamida
 prednisona
 ácido aminocaproico
 cloroquina
 hidroxiclороquina
 hidrocortisona
 dexametasona
 clorambucil
 DHEA
 danazol
 bromocriptina
 meloxicam
 infliximab

15

20

25

30

5.12 TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Los compuestos de la invención son útiles para eliminar o inhibir la multiplicación de una célula que produce una enfermedad infecciosa o para tratar una enfermedad infecciosa. Los compuestos de la invención pueden utilizarse, por lo tanto, en una variedad de opciones para el tratamiento de una enfermedad infecciosa en un animal. Los conjugados de fármaco-conector-ligando pueden utilizarse para administrar un fármaco a una célula diana. Sin pretender imponer ninguna teoría, en una forma de realización, el conjugado de fármaco-conector-ligando se asocia a un antígeno en la superficie de una célula diana, y el compuesto de la invención es llevado hasta el interior de la célula diana mediante endocitosis mediada por un receptor. Una vez dentro de la célula, una o más secuencias de péptidos específicas dentro de la unidad de conector son escindidas enzimática o hidrolíticamente, generando la

35

40

liberación de un fármaco. El fármaco liberado es entonces libre de migrar en el citosol e inducir actividades citotóxicas. En una forma de realización alternativa, el fármaco se escinde del compuesto de la invención fuera de la célula diana, y el fármaco penetra después en la célula.

En una forma de realización, la unidad de ligando se une a la célula de la enfermedad infecciosa.

- 5 En una forma de realización, la enfermedad infecciosa es el tipo de enfermedad infecciosa para la cual el animal necesita tratamiento o prevención.

En otra forma de realización, los compuestos de la invención eliminan o inhiben la multiplicación de células que producen una enfermedad infecciosa en particular.

- 10 Los tipos particulares de enfermedades infecciosas que pueden tratarse con los compuestos de la invención incluyen, aunque no exclusivamente, los descritos en la Tabla 7.

TABLA 7

Enfermedades bacterianas:

	Difteria
	Tos ferina
15	Bacteriemia oculta
	Infección del tracto urinario
	Gastroenteritis
	Celulitis
	Epiglotitis
20	Traqueítis
	Hipertrofia adenoide
	Absceso retrofaringeo
	Impétigo
	Ectima
25	Neumonía
	Endocarditis
	Artritis séptica
	Enfermedad neumocócica
	Peritonitis
30	Bacteremia
	Meningitis
	Meningitis purulenta aguda
	Uretritis
	Cervicitis
35	Proctitis
	Faringitis
	Salpingitis
	Epididimitis
	Gonorrea

	Sífilis
	Listeriosis
	Ántrax
	Nocardiosis
5	Salmonela
	Fiebre Tifoidea
	Disentería
	Conjuntivitis
	Sinusitis
10	Brucelosis
	Tularemia
	Cólera
	Peste bubónica
	Tétanos
15	Enteritis necrotizante
	Actinomicosis
	Infecciones por anaerobios mixtos
	Sífilis
	Fiebre recurrente
20	Leptospirosis
	Enfermedad de Lyme
	Fiebre por mordedura de rata
	Tuberculosis
	Linfadenitis
25	Lepra
	Clamidia
	Neumonía por clamidia
	Tracoma
	Conjuntivitis de inclusión
30	Enfermedades sistémicas por hongos:
	Histoplasmosis
	Coccidioidomicosis
	Blastomicosis
	Esporotricosis
35	Criptococosis
	Candidiasis sistémica

	Aspergilosis
	Mucormicosis
	Micetoma
	Cromomicosis
5	Enfermedades por rickettsias:
	Tifus
	Fiebre de las Montañas Rocosas
	Erliquiosis
	Rickettsiosis transmitidas por garrapatas
10	Rickettsiosis pustulosa
	Fiebre Q
	Bartonelosis
	Enfermedades parasitarias:
	Malaria
15	Babesiosis
	Enfermedad africana del sueño
	Enfermedad de Chagas
	Leishmaniasis
	Fiebre dum-dum
20	Toxoplasmosis
	Meningoencefalitis
	Queratitis
	Entamebiasis
	Giardiasis
25	Criptosporidiasis
	Isosporiasis
	Ciclosporiasis
	Microsporidiosis
	Ascariasis
30	Infección por tricocéfalos
	Infección por uncinarias
	Infección por oxiuros
	Infección por larva migrans ocular
	Triquinosis
35	Enfermedad del gusano de Guinea
	Filariasis linfática

	Loiasis
	Ceguera de los ríos
	Infección del gusano del corazón canino
5	Esquistosomiasis
	Prurito del nadador
	Duela pulmonar oriental
	Duela hepática Oriental
	Fascioliasis
10	Fasciolopsiasis
	Opistorquiasis
	Infecciones por tenia
	Enfermedad hidatídica
	Enfermedad hidatídica alveolar
	Enfermedades virales:
15	Sarampión
	Panencefalitis esclerosante subaguda
	Resfriado Común
	Paperas
	Rubéola
20	Roséola
	Eritema infeccioso
	Varicela
	Infección por virus respiratorio sincicial
	Crup
25	Bronquiolitis
	Mononucleosis infecciosa
	Poliomielitis
	Herpangina
	Fiebre aftosa
30	Enfermedad de Bornholm
	Herpes genital
	Verrugas genitales
	Meningitis aséptica
	Miocarditis
35	Pericarditis
	Gastroenteritis

	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA)
	Síndrome de Reye
	Síndrome de Kawasaki
	Gripe
5	Bronquitis
	Neumonía "errante" vírica
	Enfermedad respiratoria febril aguda
	Fiebre faringoconjuntival aguda
	Queratoconjuntivitis epidémica
10	Virus del herpes simplex 1 (HSV-1)
	Virus del herpes simplex 2 (HSV-2)
	Herpes zoster
	Enfermedad de inclusión citomegálica
	Rabia
15	Leucoencefalopatía multifocal progresiva
	Kuru
	Insomnio familiar fatal
	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob
	Enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker
20	Paraparesia espástica tropical
	Encefalitis equina occidental
	Encefalitis de California
	Encefalitis de San Luis
	Fiebre Amarilla
25	Dengue
	Coriomeningitis linfocítica
	Fiebre de Lassa
	Fiebre hemorrágica
	Síndrome pulmonar por hantavirus
30	Infecciones por virus de Marburg
	Infecciones por virus del Ébola
	Viruela

5.12.1 TERAPIA POLIFARMACOLÓGICA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

35 La presente invención también incluye los usos para el tratamiento de una enfermedad infecciosa, mediante la administración a un animal que lo necesite de un compuesto de la invención y otro agente terapéutico, que es un agente contra la enfermedad infecciosa. En una forma de realización, el agente contra la enfermedad infecciosa es, aunque no exclusivamente, un agente listado en la Tabla 8.

TABLA 8 Agentes antibacterianos:

Antibióticos β -lactámicos:	
5	Penicilina G
	Penicilina V
	Cloxacilina
	Dicloxacilina
	Metecilina
10	Nafcilina
	Oxacilina
	Ampicilina
	Amoxicilina
	Bacampicilina
15	Azlocilina
	Carbenicilina
	Mezlocilina
	Piperacilina
	Ticarcilina
Aminoglucósidos:	
20	Amicacina
	Gentamicina
	Kanamicina
	Neomicina
	Netilmicina
25	Estreptomicina
	Tobramicina
Macrólidos:	
30	Azitromicina
	Claritromicina
	Eritromicina
	Lincomicina
	Clindamicina
Tetraciclinas:	
35	Demeclociclina
	Doxiciclina
	Minociclina
	Oxitetraciclina

		Tetraciclina
	Quinolonas:	
		Cinoxacina
		Ácido nalidíxico
5	Fluoroquinolonas:	
		Ciprofloxacina
		Enoxacina
		Grepafloxacina
		Levofloxacina
10		Lomefloxacina
		Norfloxacina
		Ofloxacina
		Esparfloxacina
		Trovafloxicina
15	Polipéptidos:	
		Bacitracina
		Colistina
		Polimixina B
	Sulfonamidas:	
20		Sulfisoxazol
		Sulfametoxazol
		Sulfadiazina
		Sulfametizol
		Sulfacetamida
25	Varios agentes antibacterianos:	
		Trimetoprim
		Sulfametazol
		Cloranfenicol
		Vancomicina
30		Metronidazol
		Quinupristina
		Dalfopristina
		Rifampicina
		Espectinomicina
35		Nitrofurantoína
	Agentes antivirales:	

Agentes antivirales generales:

	Idoxuradina
	Vidarabina
	Trifluridina
5	Aciclovir
	Famciclovir
	Penciclovir
	Valaciclovir
	Ganciclovir
10	Foscarnet
	Ribavirina
	Amantadina
	Rimantadina
	Cidofovir
15	Oligonucleótidos antisentido
	Inmunoglobulinas
	Interferones

Fármacos para la infección por el VIH:

	Zidovudina
20	Didanosina
	Zalcitabina
	Estavudina
	Lamivudina
	Nevirapina
25	Delavirdina
	Saquinavir
	Ritonavir
	Indinavir
	Nelfinavir

30 **5.13 OTROS AGENTES TERAPÉUTICOS**

Los presentes usos pueden comprender además un compuesto de la invención y otro agente terapéutico o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos. El compuesto de la invención y el agente terapéutico pueden actuar de forma acumulativa o, más preferiblemente, en sinergia. En una forma de realización preferida, una composición que comprende un compuesto de la invención se administra simultáneamente con la administración de uno o más agentes terapéuticos adicionales, que pueden ser parte de la misma composición, o en una composición diferente de la que comprende el compuesto de la invención. En otra forma de realización, un compuesto de la invención se administra antes o después de la administración de otro u otros agentes terapéuticos.

Para el tratamiento del cáncer, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa, el agente terapéutico puede ser un agente antiemético. Los agentes antieméticos apropiados incluyen, aunque no exclusivamente, metoclopramida, domperidona, proclorperazina, prometazina, clorpromazina, trimetobenzamida, ondansetrón, granisetron, hidroxizina, acetil-leucina, monoetanolamina, alizaprida, azasetron, benzquinamida, bietanautina,

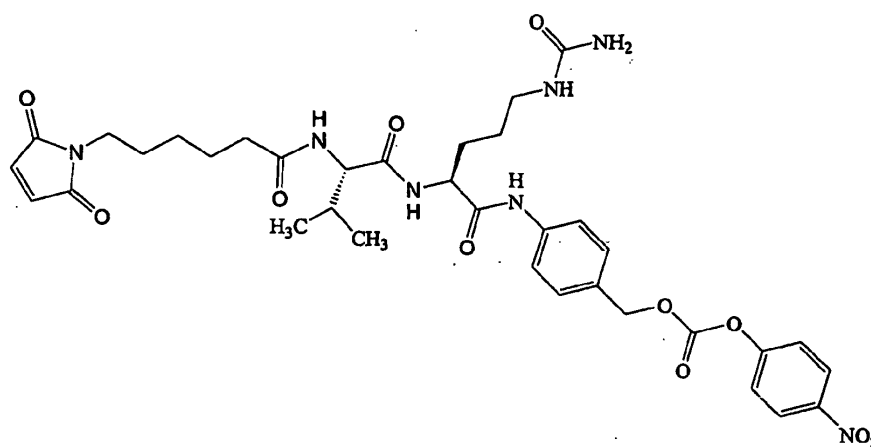
bromoprida, buclizina, cleboprida, ciclicina, dimenhidrinato, difenidol, dolasetrón, meclizina, metalatal, metopimazina, nabilona, oxiperndil, pipamazina, escopolamina, sulpirida, tetrahydrocannabinoles, tietilperacina, tioproperacina y tropisetrón.

- 5 En otra forma de realización, el agente terapéutico puede ser un factor estimulante de colonias hematopoyéticas. Los factores estimulantes de colonias hematopoyéticas adecuados incluyen, aunque no exclusivamente, filgrastim, sargramostim, molgamostim y eritropoyetina alfa.

- 10 En otra forma de realización, el agente terapéutico puede ser un agente analgésico opioide o no opioide. Los agentes analgésicos opioides adecuados incluyen, aunque no exclusivamente, morfina, heroína, hidromorfona, hidrocodona, oximorfona, oxicodona, metopon, apomorfina, normorfina, etorfina, buprenorfina, meperidina, lopermida, anileridina.

EJEMPLO 1

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 21



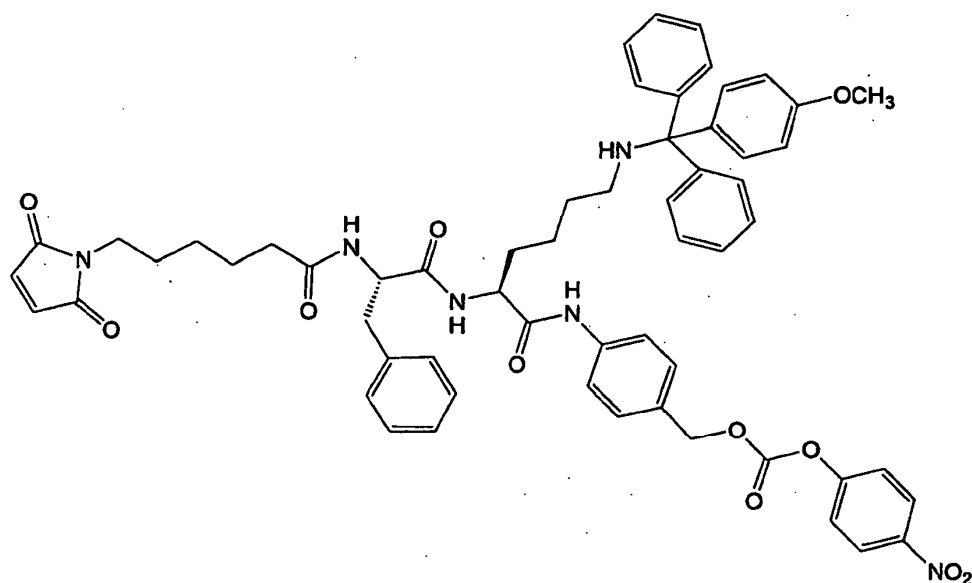
21

- 15 Se diluyó Fmoc-(L)-val-(L)-cit-PAB-OH (19) (14,61 g, 24,3 mmol, 1,0 eq., Pat. US 6.214.345 a nombre de Firestone et al.) con DMF (120 ml, 0,2 M) y a esta solución se le añadió una dietilamina (60 ml). La reacción se controló por HPLC y se constató que se completó en 2 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se precipitó con acetato de etilo (aproximadamente 100 ml) bajo sonicación durante 10 minutos. Se añadió éter (200 ml) y el precipitado se sometió de nuevo a sonicación durante 5 min. La solución se dejó reposar durante 30 min. sin agitación y se filtró y se secó a alto vacío para proporcionar Val-cit-PAB-OH, que se utilizó en el paso siguiente sin purificación adicional. Rendimiento: 8,84 g (96 %).
- 20 Se diluyó Val-cit-PAB-OH (8,0 g, 21 mmol) con DMF (110 ml) y la solución resultante se trató con MC-OSu (Willner et al. *Bioconjugate Chem.* 4, 521, 1993, 6,5 g, 21 mmol, 1,0 eq.). La reacción se completó según una HPLC después de 2 h. La mezcla de reacción se concentró y el aceite resultante se precipitó con acetato de etilo (50 ml). Después de una sonicación durante 15 min., se añadió éter (400 ml) y la mezcla se sometió de nuevo a sonicación hasta que todas las partículas grandes se rompieron. La solución se filtró y el sólido se secó para proporcionar el compuesto **20** como un sólido blancuzco. Rendimiento: 11,63 g (96 %), ES-MS m/z 757,9 [MH]⁺
- 25

- 30 El compuesto **20** (8,0 g, 14,0 mmol) se diluyó con DMF (120 ml, 0,12 M) y a la solución resultante se le añadió bis(4-nitrofenil)carbonato (8,5 g, 28,0 mmol, 2,0 eq.) y diisopropiletilamina (3,66 ml, 21,0 mmol, 1,5 eq.). La reacción se completó en 1 h según una HPLC. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar un aceite que se precipitó con acetato de etilo, y luego se trituró utilizando EtOAc (aproximadamente 25 ml). El soluto se precipitó aún más con éter (aproximadamente 200 ml) y se trituró durante 15 min. El sólido se filtró y se secó a alto vacío para proporcionar el compuesto **21**, que tuvo una pureza del 93% según una HPLC y se utilizó en el paso siguiente sin purificación adicional. Rendimiento: 9,7 g (94 %).

EJEMPLO 2

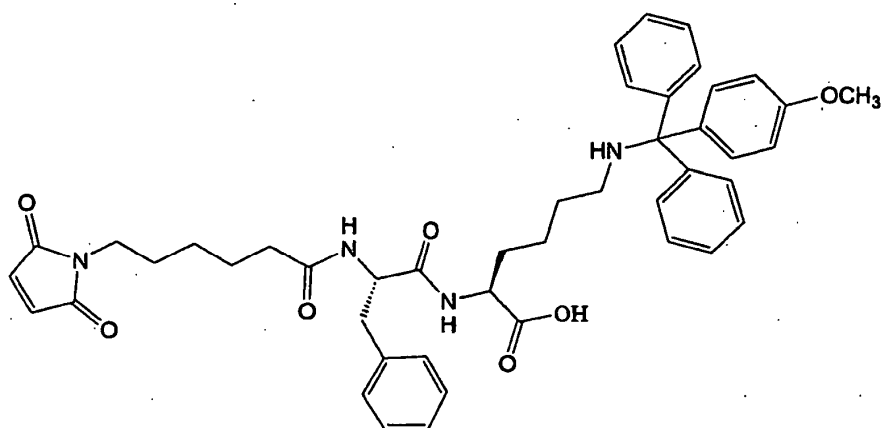
PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 27

**27**

5 El compuesto **26** (2,0 g, 2,31 mmol, 1,0 eq.) se diluyó con diclorometano (30 ml), y a la solución resultante se le añadió bis(4-nitrofenil)carbonato (2,72 g, 8,94 mmol, 3,8 eq.) seguido de diisopropiletilamina (1,04 ml, 5,97 mmol, 2,6 eq.). La reacción se completó en 3 d, según una HPLC. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se trituró con éter, luego se filtró y secó a alto vacío para proporcionar el compuesto **27** como un sólido amarillo (2,37 g, 97%).

EJEMPLO 3

10 PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 28

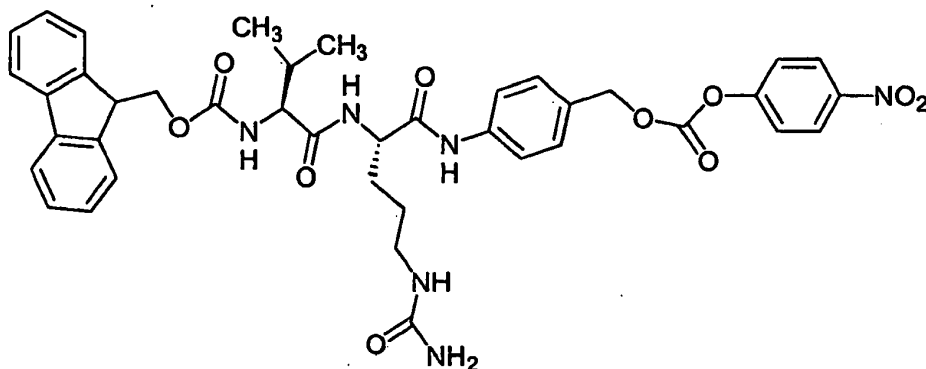
**28**

15 Se diluyó Fmoc-Phe-Lys(Mtr)-OH (**24**) (0,5 g, 0,63 mmol, Pat. US 6.214.345 a nombre de Firestone et al.) con diclorometano a una concentración de 0,5 M y a esta solución se le añadió dietilamina en una cantidad que fue de aproximadamente un tercio del volumen del compuesto **24**/solución de diclorometano. La reacción se dejó en agitación y se controló utilizando HPLC. Se demostró que se completó por HPLC en 3 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo resultante se diluyó con acetato de etilo y luego se reconcentró. El residuo resultante se trituró con éter y se filtró. El sólido residual se diluyó con diclorometano hasta una concentración de 0,2 M, y a la solución resultante se le añadió MC-OSu (0,20 g, 0,63 mmol, 1,0 eq.) y diisopropiletilamina (0,12 ml, 0,70 mmol, 1,1 eq.). La mezcla de reacción se dejó en agitación bajo una atmósfera de nitrógeno durante 16 horas, tras lo cual la
20 HPLC mostró muy poco material de partida. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se trituró con

éter para proporcionar el compuesto **28** como un sólido coloreado. Rendimiento: 100 mg (21%), ES-MS m/z 757,9 $[M+H]^+$.

EJEMPLO 4

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 19A

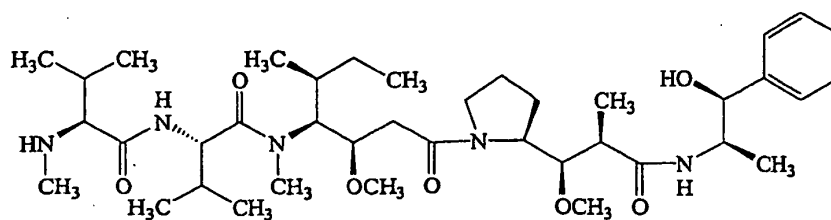
**19A**

El compuesto **19** (1,0 g, 1,66 mmol) se diluyó con DMF (10 ml) y a la solución resultante se le añadió bis (4-nitrofenil)carbonato (1,0 g, 3,3 mmol, 2,0 eq.).

La mezcla de reacción se trató inmediatamente con diisopropiletilamina (0,43 ml, 2,5 mmol, 1,5 eq.) y la reacción se dejó en agitación bajo una atmósfera de argón. La reacción se completó en 2,5 h según una HPLC. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar un aceite de color marrón claro que precipitó con acetato de etilo (5 ml), y luego precipitó de nuevo con éter (100 ml). El precipitado resultante se dejó reposar durante 30 minutos y se filtró y se secó a alto vacío para proporcionar el compuesto **19a** como un polvo blancuzco. Rendimiento: 1,05 g (83 %), ES-MS m/z 767,2 $[M+H]^+$; $UV\lambda_{max}$ 215, 256 nm.

EJEMPLO 5

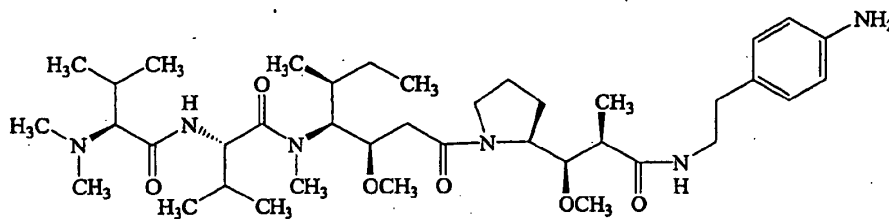
PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 49

**49**

El compuesto **49** se hizo según el Procedimiento General D utilizando Fmoc-Me-val-val-dil-O-*t*-Bu **39** (0,40 g, 0,57 mmol) como el tripéptido y Boc-dap-nor **44** (0,26 g, 0,62 mmol, 1,1 eq.) como el dipéptido. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía en columna de resolución rápida (columna de gel de sílice, eluyente EtOAc al 100%). Dos productos contenían Fmoc eluido: el derivado de Fmoc del compuesto **49** (R_f 0,17 en EtOAc al 100%) y lo que se creyó que era el derivado de Fmoc del acetato de TFA del compuesto **49** (R_f 0,37). Los productos se combinaron para proporcionar una espuma blanca que fue sometida al procedimiento general E. La reacción se completó después de 2 h. Los solventes se eliminaron para proporcionar un aceite que se purificó mediante cromatografía en columna de resolución rápida (eluyente - diclorometano-metanol 9:1) para proporcionar el compuesto **49**.

EJEMPLO 6

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 50

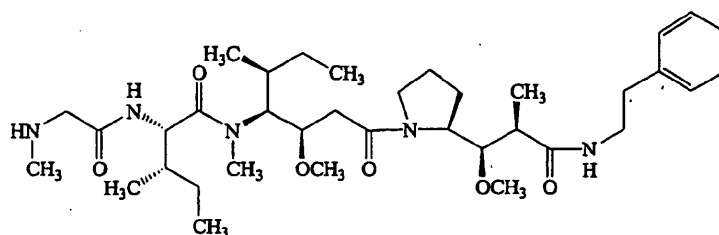
**50**

El compuesto **50** se preparó haciendo reaccionar el tripéptido **42** y el dipéptido **48** según el Procedimiento General D usando trietilamina (5,0 eq.) como base. Después de la concentración de la mezcla de reacción, el residuo resultante se inyectó directamente en una columna de HPLC preparativa en fase inversa (columna Varian Dynamax 21,4 mm x 25 cm, 5 μ , 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y 0,1 M de TEA/CO₂ a 20 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Las fracciones pertinentes se agruparon y concentraron y el residuo resultante se diluyó con 10 ml de diclorometano-éter (1:1). La solución se enfrió hasta 0 °C y se añadió 1,0 M de HCl etéreo, gota a gota (aproximadamente 10 eq.). El precipitado, el compuesto **50**, se filtró y secó demostrando ser sustancialmente puro por HPLC. Rendimiento: 71 mg (43 %); ES-MS m/z 731,6 [M+H]⁺; UV $\lambda_{\max}$ 215, 238, 290 nm. Anal. Calc. C₄₀H₇₀N₆O₆·4H₂O·2HCl: C, 54,84; H, 9,20; N, 9,59.

Hallado: C, 55,12; H, 9,41; N, 9,82.

EJEMPLO 7

15 PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 51

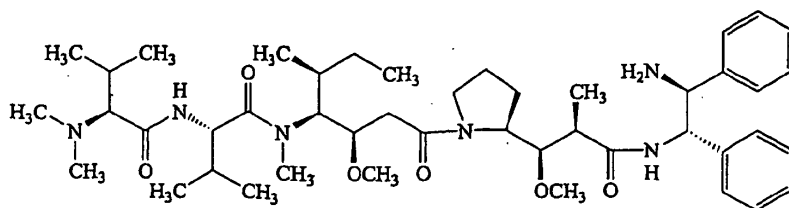
**51**

El compuesto **51** se preparó haciendo reaccionar el tripéptido de Fmoc **41** y el dipéptido **46** según el Procedimiento General D usando trietilamina como base. Después de la concentración de la mezcla de reacción, el residuo se inyectó directamente en una columna de HPLC preparativa en fase inversa (columna Varian Dynamax 21,4 mm x 25 cm, 5 μ , 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y 0,1 M de TEA/CO₂ a 20 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar un producto intermedio sólido blanco que se utilizó en el paso siguiente sin purificación adicional. ES-MS m/z 882,9 [M+NH₄]⁺, 899,9 [M+Na]⁺; UV $\lambda_{\max}$ 215, 256 nm.

La desprotección del producto intermedio sólido blanco se realizó según el Procedimiento General E. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa (columna Varian Dynamax 21,4 mm x 25 cm, 5 μ , 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y 0,1 M de TEA/CO₂ a 20 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar el compuesto **51** como un sólido pegajoso. ES-MS m/z 660,1 [M+H]⁺, 682,5 [M+Na]⁺; UV $\lambda_{\max}$ 215 nm.

EJEMPLO 8

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 52



52

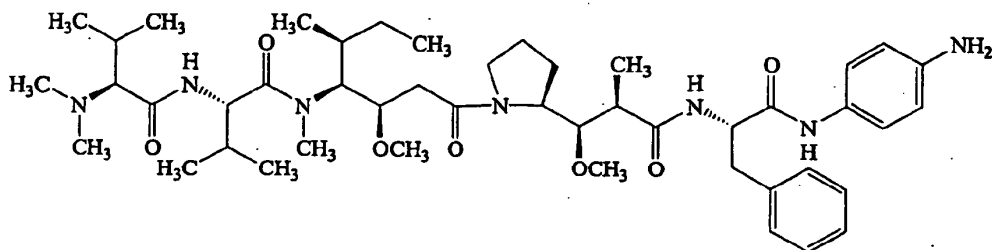
Se diluyó Boc-dolaproína (0,33 g, 1,14 mmol) y (1S, 2S)-(-)-1,2-difeniletlenodiamina (0,5 g, 2,28 mmol, 2,0 eq.) con diclorometano (10 ml) y a la solución resultante se le añadió trietilamina (0,32 ml, 2,28 mmol, 2,0 eq.) y luego DEPC (0,39 ml, 2,28 mmol, 2,0 eq.). Después de 4 horas, se añadió más DEPC (0,39 ml) y la reacción se dejó agitando durante la noche. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se purificó mediante HPLC preparativa (columna Varian Dynamax C₁₈ 21,4 mm x 25 cm, 5 µ, 100 Å, con un gradiente de ejecución de MeCN y agua a 20 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar un intermedio peptídico sólido gomoso amarillo que se utilizó sin purificación adicional. R_f 0,15 (EtOAc al 100 %), ES-MS *m/z* 482,4 [M+H]⁺; UVλ_{max} 215, 256 nm.

El intermedio peptídico gomoso amarillo (0,24 g, 0,50 mmol) se diluyó con diclorometano, y a la solución resultante se le añadió diisopropiletilamina (0,18 ml, 1,0 mmol, 2,0 eq.) y Fmoc-Cl (0,15 g, 0,55 mmol, 1,1 eq.). La reacción se dejó en agitación durante 3 horas, tras lo cual una HPLC mostró una reacción completa. La mezcla de reacción se concentró en un aceite y el aceite se diluyó con EtOAc y se extrajo posteriormente con una solución acuosa de ácido cítrico al 10%, agua, bicarbonato sódico acuoso saturado y salmuera. La capa de EtOAc se secó, se filtró y se concentró y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de resolución rápida (gel de sílice con malla de 230-400; gradiente eluyente 4:1 hexanos-EtOAc a 1:1 hexanos-EtOAc) para proporcionar el compuesto 45 como un sólido blanco. Rendimiento: 0,37 g (46% total); R_f 0,47 (1:1 hexano-EtOAc), ES-MS *m/z* 704,5 [M+H]⁺, 721,4 [M+NH₄]⁺; UVλ_{max} 215, 256 nm.

El compuesto 52 se preparó haciendo reaccionar el compuesto tripéptido 42 (94 mg, 0,13 mmol) y el compuesto de dipéptido 45 (65 mg, 0,13 mmol) según el Procedimiento General D (con 3,6 eq. de diisopropiletilamina como base). Después de la concentración de la mezcla de reacción, el residuo resultante se diluyó con EtOAc y se lavó posteriormente con ácido cítrico acuoso al 10%, agua, bicarbonato sódico acuoso saturado y salmuera. La fase orgánica se secó, se filtró y se concentró para proporcionar un residuo sólido blanco que se diluyó con diclorometano y se desprotegió según el Procedimiento General E. Según una HPLC, la reacción se completó después de 2 h. La mezcla de reacción se concentró en un aceite. El aceite se diluyó con DMSO y la solución resultante se purificó utilizando una columna de HPLC preparativa en fase inversa (columna Varian Dynamax 21,4 mm x 25 cm, 5 µ, 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y TFA al 0,1 % a 20 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Se aislaron dos productos que tenían espectros UV similares. El producto principal, el compuesto 52, se proporcionó como un sólido blancuzco. Rendimiento total: 24 mg (23 %); ES-MS *m/z* 793,5 [M+H]⁺; UVλ_{max} 215 nm.

EJEMPLO 9

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 53



53

Se añadió Boc-fenilalanina (1,0 g, 3,8 mmol) a una suspensión de 1,4-diaminobenceno-HCl (3,5 g, 19,0 mmol, 5,0 eq.) en trietilamina (10,7 ml, 76,0 mmol, 20 eq.) y diclorometano (50 ml). A la solución resultante se añadió DEPC (3,2 ml, 19,0 mmol, 5,0 eq.) mediante una jeringa. Una HPLC no mostró ningún resto de Boc-Phe pasadas 24 h. La

mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar un sólido oscuro. El residuo sólido oscuro se dividió entre 1:1 EtOAc-agua y la capa de EtOAc se lavó sucesivamente con agua y salmuera. La capa de EtOAc se secó y se concentró para proporcionar un residuo oscuro marrón/rojo que se purificó mediante HPLC (columna Varian Dynamax 41,4mm x 25 cm, 5 μ , 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y agua a 45 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar un producto intermedio sólido de color rojizo tostado. Rendimiento: 1,4 g (100%); ES-MS m/z 355,9 $[M+H]^+$; $UV\lambda_{max}$ 215, 265 nm; 1H RMN ($CDCl_3$) δ 7,4₈ (1H, br s), 7,22-7,37 (5 H, m), 7,12 (2 H, d, $J=8,7$ Hz), 7,61 (2 H, d, $J=8,7$ Hz), 5,19 (1H, br s), 4,39-4,48 (1H, m), 3,49 (2 H, s), 3,13 (2 H, d, $J=5,7$ Hz), 1,43 (9 H, s).

El producto intermedio sólido de color rojizo tostado (0,5 g, 1,41 mmol) y diisopropiletilamina (0,37 ml, 2,11 mmol, 1,5 eq.) se diluyeron con diclorometano (10 ml), y a la solución resultante se le añadió Fmoc-Cl (0,38 g, 1,41 mmol). La reacción se dejó en agitación y se formó un precipitado sólido blanco después de unos minutos. La reacción se completó según una HPLC después de 1 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para proporcionar un aceite. El aceite se precipitó con EtOAc, proporcionando un producto intermedio blanco rojizo, que fue recogido por filtración y se secó al vacío. Rendimiento: 0,75 g (93 %); ES-MS m/z 578,1 $[M+H]^+$, 595,6 $[M+NH_4]^+$.

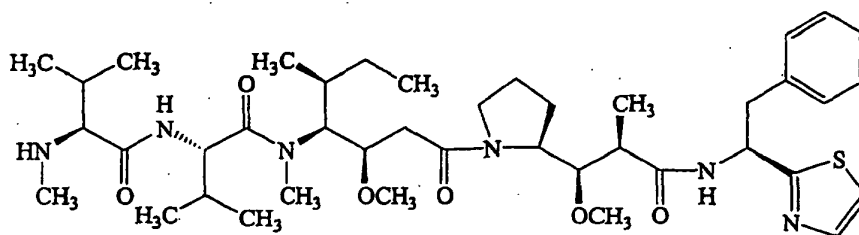
El producto intermedio blanco rojizo (0,49 g, 0,85 mmol) se diluyó con 10 ml de diclorometano, y después se trató con 5 ml de ácido trifluoroacético. La reacción se completó en 30 minutos según una HPLC en fase inversa. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se precipitó con éter para proporcionar un sólido blancuzco. El sólido blancuzco se filtró y secó para proporcionar un polvo amorfo, que se añadió a una solución de Boc-dap (0,24 g, 0,85 mmol) en diclorometano (10 ml). A esta solución se le añadió trietilamina (0,36 ml, 2,5 mmol, 3,0 eq.) y PyBrop (0,59 g, 1,3 mmol, 1,5 eq.). La mezcla de reacción se controló utilizando HPLC de fase inversa. Una vez completada, la mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se diluyó con EtOAc, y se lavó posteriormente con ácido cítrico acuoso al 10%, agua, bicarbonato sódico acuoso saturado, agua y salmuera. La capa de EtOAc se secó ($MgSO_4$), se filtró y se concentró. El residuo resultante se purificó mediante una cromatografía en columna de resolución rápida (gel de sílice) para proporcionar el compuesto **47** como un polvo blanco. Rendimiento: 0,57 g (88 %); ES-MS m/z 764,7 $[M+NH_4]^+$; $UV\lambda_{max}$ 215, 265 nm; 1H RMN ($DMSO-d_6$) δ 10,0-10,15 (1H, m), 9,63 (1H, br s), 8,42 (1/2 H, d, $J=8,4$ Hz), 8,22 (1/2 H, d, $J=8,4$ Hz), 7,89 (2 H, d, $J=7,2$ Hz), 7,73 (2H, d, $J=7,6$ Hz), 7,11-7,55 (13 H, m), 4,69-4,75 (1H, m), 4,46 (2 H, d, $J=6,8$ Hz), 4,29 (1H, t, $J=6,4$ Hz), 3,29 (3 H, s), 2,77-3,47 (7 H, m), 2,48-2,50 (3 H, m), 2,25 (2/3 H, dd, $J=9,6$, 7,2 Hz), 1,41-1,96 (4 H, m), 1,36 (9 H, s), 1,07 (1H, d, $J=6,4$ Hz, isómero rotatorio), 1,00 (1H, d, $J=6,4$ Hz, isómero rotatorio).

El compuesto de tripéptido **42** (55 mg, 0,11 mmol) y el compuesto de dipéptido **47** (85 mg, 0,11 mmol) se hicieron reaccionar según el Procedimiento General D (utilizando 3,0 eq. de diisopropiletilamina). Después de la concentración de la mezcla de reacción, el residuo resultante se diluyó con EtOAc y se lavó posteriormente con ácido cítrico acuoso al 10%, agua, bicarbonato sódico acuoso saturado y salmuera. La capa de EtOAc se secó, se filtró y se concentró para proporcionar un aceite de color amarillo.

El aceite de color amarillo se diluyó con diclorometano (10 ml) y se desprotegió según el Procedimiento General E. Según una HPLC, la reacción se completó después de 2 h. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar un aceite. El aceite se diluyó con DMSO y el DMSO se purificó utilizando una columna de HPLC preparativa en fase inversa (columna Varian Dynamax 21,4 mm x 25 cm, 5 μ , 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y TFA al 0,1 % a 20 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar el compuesto **53** como un sólido blancuzco. Rendimiento total: 42 mg (44% total); ES-MS m/z 837,8 $[M+H]^+$, 858,5 $[M+Na]^+$; $UV\lambda_{max}$ 215, 248 nm.

EJEMPLO 10

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **54**

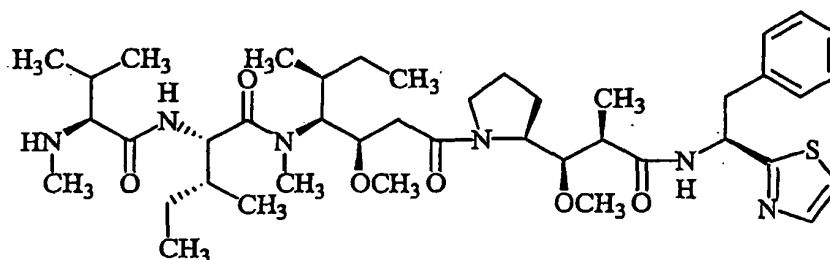


54

El compuesto **54** se preparó según Miyazaki K., et al. *Chem. Pharm. Bull.* 1995, 43(10), 1706-18.

EJEMPLO 11

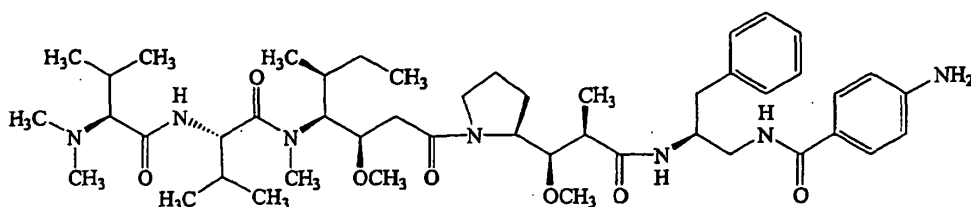
PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 55

**55**

5 El compuesto **55** se sintetizó de la misma manera que el compuesto **54**, pero sustituyendo FmocMeVal-Ile-Dil-tBu (**40**) por FmocMeVal-Val-Dil-tBu (**39**) como material de partida.

EJEMPLO 12

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 56

**56**

10 Se diluyó el éster [(1S)-1-(azidometil)-2-fenil]-1,1-dimetiletilico del ácido carbámico (0,56 g, 2 mmol, preparado como se describe en *J. Chem. Research* (S), 1992, 391) con una solución de 4 M de HCl en dioxano (10 ml) y la solución resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Entonces se añadió tolueno (10 ml) a la reacción, la mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se secó al vacío azeotrópicamente utilizando tolueno (3 x 15 ml), para proporcionar un producto intermedio sólido blanco. ES-MS m/z 177,1 $[M+H]^+$.

15 El producto intermedio sólido blanco se diluyó con diclorometano (5 ml) y a la solución resultante se le añadió posteriormente N-Boc-Dolaproína (0,58 g, 1 eq.), trietilamina (780 μ l, 3 eq.) y DEPC (406 μ l, 1,2 eq.), y la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 2 horas a temperatura ambiente. La reacción se controló utilizando HPLC en fase inversa. Al término de la reacción según lo determinado por HPLC, la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (30 ml), la capa de diclorometano se lavó sucesivamente con ácido cítrico acuoso al 10% (20 ml), NaHCO_3 acuoso saturado (20 ml) y agua (20 ml). La capa de diclorometano se concentró y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de resolución rápida utilizando un gradiente de metanol al 0-5% en diclorometano. Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar un producto intermedio sólido 0,78 g (88%). ES-MS m/z 446,1 $[M+H]^+$, 468,3 $[M+Na]^+$.

25 El producto intermedio sólido (450 mg, 1 mmol) y el tripéptido **42** (534 mg, 1,1 eq.) se diluyeron con una solución al 50% de TFA en diclorometano. (10 ml), y la reacción resultante se dejó en agitación durante 2 horas a temperatura ambiente. Se añadió tolueno (10 ml) a la reacción y la mezcla de reacción se concentró. La amina intermedia resultante se secó azeotrópicamente utilizando tolueno (3 x 20 ml) y se secó al vacío durante la noche.

30 La amina intermedia resultante se diluyó con diclorometano (2 ml) y a la solución resultante se le añadió trietilamina (557 μ l, 4 eq.), seguido de DEPC (203 μ l, 1,4 eq.). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 4 h a temperatura ambiente y el avance de la reacción se controló por HPLC. Al término de la reacción, la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (30 ml) y la capa de diclorometano se lavó secuencialmente utilizando NaHCO_3 acuoso saturado (20 ml) y NaCl acuoso saturado (20 ml). La capa de diclorometano se concentró y el residuo resultante se purificó utilizando una cromatografía en columna de resolución rápida en un gradiente de metanol al 0-5% en diclorometano. Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron y el residuo resultante se secó utilizando diclorometano:hexano (1:1) para proporcionar un producto intermedio sólido blanco, 0,64 g (84 %). ES-MS m/z 757,5 $[M+H]^+$.

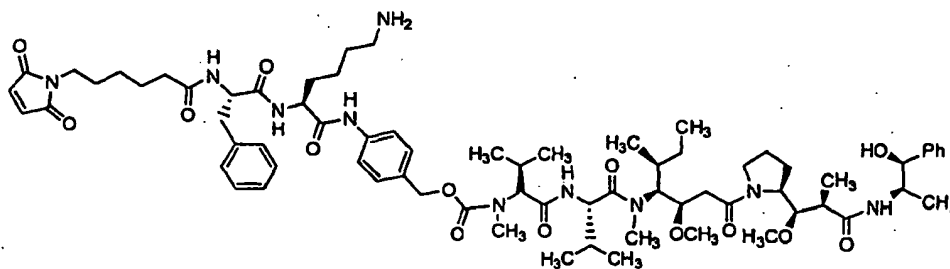
El producto intermedio sólido blanco (536 mg, 0,73 mmol) se diluyó con metanol y a la solución resultante se le añadió Pd al 10%/C (100 mg). La reacción se colocó en una atmósfera de hidrógeno y se dejó en agitación a presión atmosférica y a temperatura ambiente durante 2 h. El avance de la reacción se siguió por HPLC y se completó en 2 h. El matraz de reacción se purgó con argón y la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho corto de Celite. El lecho corto de Celite se lavó posteriormente con metanol (30 ml) y los filtrados combinados se concentraron para producir un producto intermedio sólido gris que se utilizó sin purificación adicional. Rendimiento = 490 mg (91%). ES-MS m/z 731,6 $[M+H]^+$, 366,6 $[M+2H]^{2+}/2$.

Se diluyó el producto intermedio sólido gris (100 mg, 1,136 mmol), ácido N-Boc-aminobenzoico (39 mg, 1,2 eq.) y trietilamina (90 μ l, 4 eq.) con diclorometano (2 ml), y a la solución resultante se le añadió DEPC (28 μ l, 1,2 eq.). La mezcla de reacción se dejó agitando a temperatura ambiente durante 2 h, y a continuación, la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (30 ml). La capa de diclorometano se lavó posteriormente con NaHCO_3 acuoso saturado (20 ml) y NaCl acuoso saturado (20 ml). La capa de diclorometano se concentró y el residuo resultante se purificó mediante una cromatografía en columna de resolución rápida utilizando un gradiente discontinuo de 0-5% en diclorometano. Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron y el residuo resultante se secó utilizando diclorometano:hexano (1:1) para proporcionar un producto intermedio sólido blanco: ES-MS m/z 950,7 $[M+H]^+$.

El producto intermedio sólido blanco se diluyó con una solución al 50% de TFA en diclorometano y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se añadió tolueno (10 ml) a la reacción y la mezcla de reacción se concentró. El residuo resultante se secó azeotrópicamente utilizando tolueno (3 x 15 ml), para proporcionar un aceite amarillo que se purificó mediante HPLC preparativa (columna Varian Dynamax C₁₈-RP, 5 μ , 100 Å, gradiente lineal de MeCN desde 10% al 95% en 0,05 M de tampón carbonato de trietilamonio, pH 7,0, en 30 minutos a un caudal de 10 ml/min). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron y el residuo resultante se secó utilizando MeCN (3 x 20 ml) para proporcionar el compuesto **56** como un sólido blanco: 101 mg (87 % en 2 pasos). ES-MS m/z 850,6 $[M+H]^+$, 872,6 $[M+Na]^+$.

EJEMPLO 13

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **57**



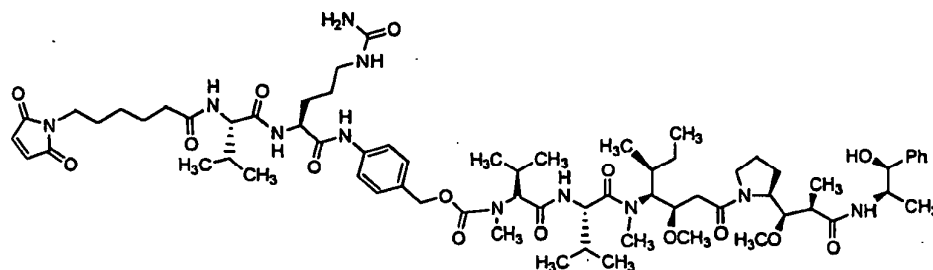
57

El compuesto **49** (100 mg, 0,14 mmol), el compuesto **27** (160 mg, 0,15 mmol, 1,1 eq.) y HOBt (19 mg, 0,14 mmol, 1,0 eq.) se diluyeron con DMF (2 ml). Después de 2 minutos se añadió piridina (0,5 ml) y la mezcla de reacción se controló utilizando HPLC de fase inversa. Ni el compuesto **49** ni el compuesto **27** se detectó después de 24 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se purificó utilizando HPLC preparativa en fase inversa (columna Varian Dynamax de 21,4 min x 25 cm, 5 μ , 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y $\text{Et}_3\text{N}-\text{CO}_2$ (pH 7) a 20 ml/min desde 10% al 100% a lo largo de 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min.). Las fracciones pertinentes se agruparon y se concentraron para proporcionar un producto intermedio sólido blancuzco. ES-MS m/z 1608,7 $[M+H]^+$.

El producto intermedio sólido blancuzco se diluyó con MeCN/agua/TFA en una relación de 85:5:10, respectivamente. La mezcla de reacción fue controlada por HPLC y se completó en 3 h. La mezcla de reacción se concentró directamente y el residuo resultante se purificó utilizando una columna de HPLC preparativa en fase inversa (columna Varian Dynamax 21,4 mm x 25 cm, 5 μ , 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y TFA al 0,1 % a 20 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar el compuesto **57** como un polvo blancuzco. Rendimiento: 46 mg (32 % total), ES-MS m/z 1334,8 $[M+H]^+$; $\text{UVA}_{\lambda_{\text{max}}}$ 215, 256 nm.

EJEMPLO 14

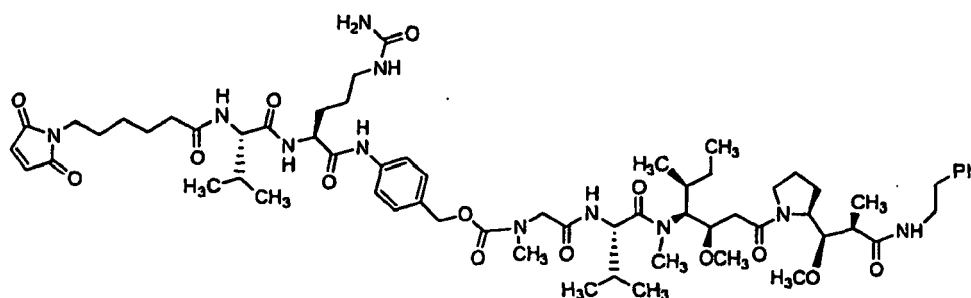
PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 58

**58**

El compuesto **49** (1,69 mg, 2,35 mmol), el compuesto **21** (2,6 g, 3,52 mmol, 1,5 eq.) y HOBt (64 mg, 0,45 mmol, 0,2 eq.) se diluyeron con DMF (25 ml). Después de 2 minutos se añadió piridina (5 ml) y la reacción se controló utilizando HPLC en fase inversa. La reacción demostró completarse en 24 h. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar un aceite oscuro, que se diluyó con 3 ml de DMF. La solución de DMF se purificó mediante cromatografía en columna de resolución rápida (gel de sílice, gradiente eluyente: 100% de diclorometano hasta diclorometano-metanol 4:1). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar un aceite que se solidificó a alto vacío para proporcionar una mezcla del compuesto **58** y compuesto **49** sin reaccionar, como un sólido de color amarillo sucio (R_f 0,40 en 9:1 de diclorometano-metanol). El sólido amarillo sucio se diluyó con DMF y se purificó utilizando HPLC preparativa en fase inversa (columna Varian Dynamax C₁₈ de 41,4 mm x 25 cm, 8 μ m, 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y TFA acuoso al 0,1 % a 45 ml/min del 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100 % durante 20 minutos) para proporcionar el compuesto **58** como un polvo blanco amorfo (R_f 0,40 en 9:1 de diclorometano-metanol), que tuvo una pureza > 95 % por HPLC y que contenía menos del 1% del compuesto **49**. Rendimiento: 1,78 g (57 %); ES-MS m/z 1316,7 $[M+H]^+$; UV λ_{max} 215, 248 nm.

EJEMPLO 15

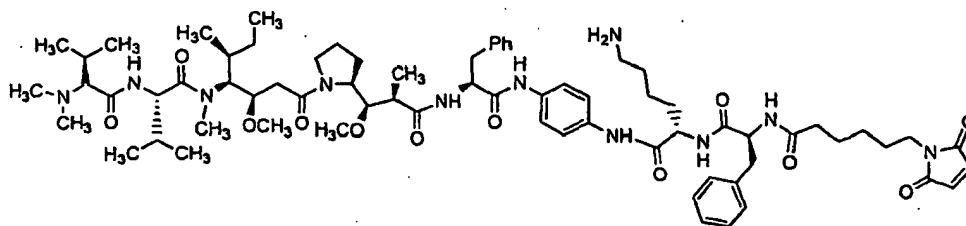
PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 59

**59**

La sal clorhidrato del compuesto **51** (11 mg, 15,2 mmol) y el compuesto **21** (11 mg, 15,2 mmol) se diluyeron con 1-metil-2-pirolidinona (1 ml) y a la solución resultante se le añadió diisopropilamina (5,3 ml, 30,3 mmol, 2,0 eq.). La mezcla se dejó en agitación bajo una atmósfera de argón durante 3 días mientras se controlaba utilizando HPLC. Después de este tiempo, aún quedaba mucho material de partida sin reaccionar, se añadió HOBt (1,0 eq.) y la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 24 h, después de lo cual no quedó ningún material de partida según una HPLC. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se purificó mediante HPLC preparativa (columna Varian Dynamax C₁₈ de 21,4 mm x 25 cm, 5 μ m, 100 Å, con un gradiente de ejecución de MeCN y agua a 20 ml/min de un 10% a 100% durante 30 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar el compuesto **59** como un sólido blanco. Rendimiento: 13 mg (67 %); ES-MS m/z 1287,2 $[M+H]^+$, 1304,3 $[M+NH_4]^+$; UV λ_{max} 215, 248 nm.

EJEMPLO 16

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 60



60

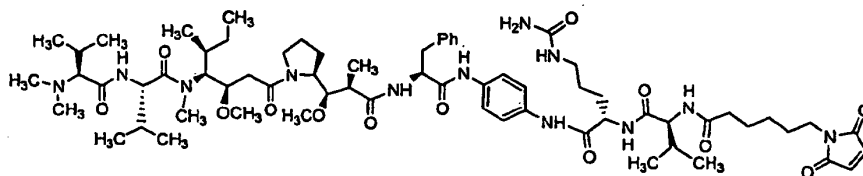
El compuesto **53** (9 mg, 10,8 μmol) y el compuesto **28** (5,2 mg, 10,8 μmol) se diluyeron con diclorometano (1 ml) y a la solución resultante se le añadió HATU (6,3 mg, 16,1 μmol , 1,5 eq.), seguido de piridina (1,3 μl , 16,1 μmol , 1,5 eq.). La mezcla de reacción se dejó en agitación bajo una atmósfera de argón, mientras se controlaba utilizando HPLC. La reacción se completó después de 6 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se diluyó con DMSO. La solución de DMSO se purificó utilizando HPLC preparativa en fase inversa (columna Varian Dynamax de 21,4 mm x 25 cm, 5 μ , 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y TFA al 0,1% a 20 ml/min desde 10% al 100% durante 40 min seguido de MeCN al 100% durante 20 min) y las fracciones pertinentes se combinaron y concentraron para proporcionar un producto intermedio sólido blancuzco que tuvo una pureza > 95% según una HPLC.

El producto intermedio sólido blancuzco se diluyó con diclorometano (2 ml) y la solución resultante se trató con TFA (0,5 ml). La reacción se controló por HPLC, y se completó en 2 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se diluyó con DMSO y se purificó en las mismas condiciones que las descritas en el Ejemplo 13. Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar el compuesto **60** como un polvo blancuzco.

Rendimiento: 14,9 mg (90 %); ES-MS m/z 1304,6 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $\text{UV}_{\lambda_{\text{max}}}$ 215, 275 nm.

EJEMPLO 17

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 61



61

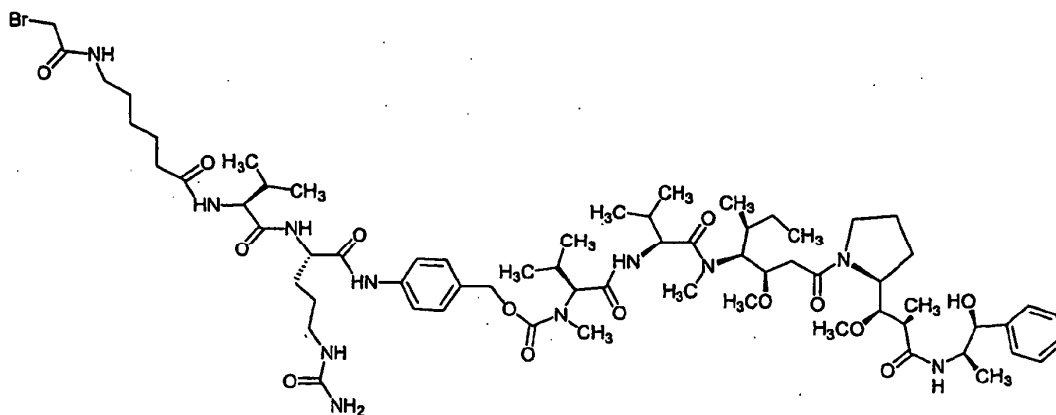
La sal trifluoroacetato del compuesto **53** (0,37 g, 0,39 mmol, 1,0 eq.) y el compuesto **18** (0,30 g, 0,58 mmol, 1,5 eq.) se diluyeron con DMF (5 ml, 0,1 M), y a la solución resultante se le añadió piridina (95 μl , 1,2 mmol, 3,0 eq.). HATU (0,23 g, 0,58 mmol, 1,5 eq.) se añadió entonces como un sólido y la mezcla de reacción se dejó en agitación bajo una atmósfera de argón, mientras que se controlaba utilizando HPLC. La reacción avanzó lentamente y 4 horas más tarde se añadió 1,0 eq. de diisopropiletilamina. La reacción se completó en 1 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo resultante se purificó mediante HPLC preparativa (columna Varian Dynamax C_{18} de 41,4 mm x 25 cm, 5 μ , 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y TFA acuoso al 0,1 % a 45 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min) para proporcionar un producto intermedio sólido rosa claro.

El producto intermedio sólido rosa se diluyó con DMF (30 ml) y a la solución resultante se le añadió dietilamina (15 ml). La reacción se completó por HPLC en 2 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se lavó dos veces con éter. El producto intermedio sólido se secó a alto vacío y luego se usó directamente en el siguiente paso.

El producto intermedio sólido se diluyó con DMF (20 ml) y a la solución resultante se le añadió MC-OSu (0,12 g, 0,39 mmol, 1,0 eq.). Después de 4 d., la mezcla de reacción se concentró para proporcionar un aceite que se purificó mediante HPLC preparativa (columna Varian Dynamax C_{18} de 41,4 mm x 25 cm, 5 μ , 100 Å, con un gradiente de

ejecución de MeCN y TFA acuoso al 0,1 % a 45 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). El compuesto **61** se aisló como un sólido escamoso blanco. Rendimiento: 0,21 g (38 % total); ES-MS m/z 1285,9 $[M+H]^+$, 13.07.8 $[M+Na]^+$; $UV\lambda_{\max}$ 215, 266 nm.

EJEMPLO 18

5 PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **62****62**

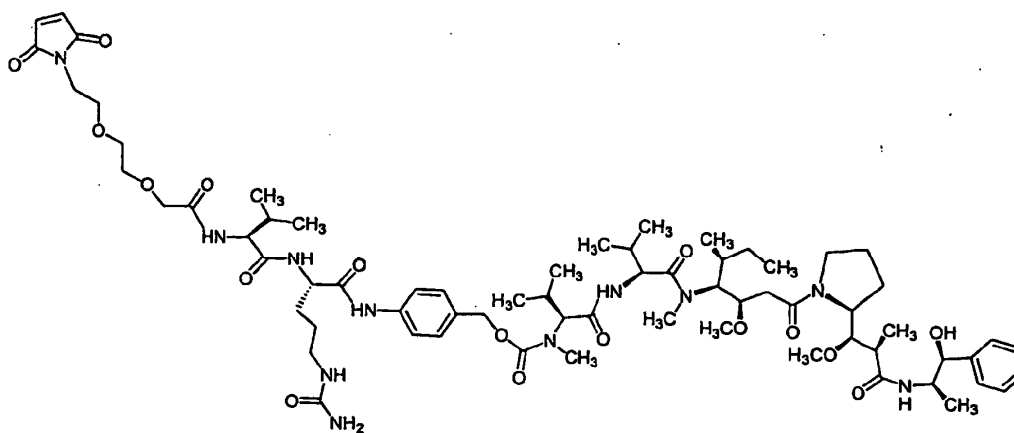
Se diluyó Fmoc-val-cit-PAB-OCO-Pnp (**19a**) (0,65 g, 0,85 mmol, 1,1 eq.), el compuesto **49** (0,55 g, 0,77 mmol, 1,0 eq.) y HOBt (21 mg, 0,15 mmol, 2,0 eq.) con DMF (2,0 ml) y se disolvieron utilizando sonicación. A la solución resultante se añadió piridina (0,5 ml) y la reacción se controló utilizando HPLC. Después de 24 h, se añadió diisopropiletilamina (1,0 eq.) y la reacción se dejó en reposo, sin agitación durante 24 h. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar un residuo de aceite. El residuo de aceite se purificó utilizando HPLC preparativa en fase inversa (columna Varian Dynamax 41,4 mm x 25 cm, 5 μ , 100 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y TFA al 0,1 % a 45 ml/min desde 10% al 100% durante 40 min seguido de MeCN al 100% durante 20 min.) Las fracciones deseadas se agruparon y se concentraron para dar un aceite que se precipitó con éter para proporcionar un producto intermedio sólido blancuzco. Rendimiento: 0,77 g (74 %), ES-MS m/z 1345,7 $[M+H]^+$; $UV\lambda_{\max}$ 215, 254 nm.

El producto intermedio sólido blancuzco (aproximadamente 85 mg) se desprotegió con dietilamina (1 ml) en DMF (3 ml). Después de 1 h, la reacción se completó. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se precipitó en 1 ml de EtOAc seguido por la adición de éter abundante (aproximadamente 20 ml). La amina intermedia se filtró y se secó a alto vacío y se utilizó en el paso siguiente sin purificación adicional.

La amina intermedia (70 mg, 61 μ mol, 1,0 eq.) se recogió en DMF (10 ml), y a la solución resultante se le añadió posteriormente ácido bromoacetamidocaproico (17 mg, 67 μ mol, 1,1 eq.), PyBrop (32 mg, 67 μ mol, 1,1 eq.) y diisopropiletilamina (16 μ l, 92 μ mol, 1,5 eq.). Después de 24 h, se añadió 1,0 eq. adicional de ácido bromoacetamidocaproico. La reacción se paró después de 30 h. La mezcla de reacción se concentró en un aceite que se purificó utilizando HPLC preparativa de fase inversa (columna Synergi MaxRP C₁₂ de 21,4 mm x 25 cm, 5 μ , 80 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y TFA acuoso al 0,1 % a 20 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar el compuesto **62** como un sólido blanco. Rendimiento: 23 mg (27 %), ES-MS m/z 1356,7 $[M+H]^+$; $UV\lambda_{\max}$ 215, 247 nm.

EJEMPLO 19

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 63



63

Se sometió Fmoc-val-cit-PAB-OC(O)-Me-val-val-dil-dap-nor (aproximadamente 48 mg, obtenido según el Ejemplo 18) a la eliminación de Fmoc mediante el tratamiento con dietilamina (1 ml) en DMF (3 ml). Después de 1 h, la reacción se completó. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se precipitó utilizando 1 ml de EtOAc seguido por la adición de éter abundante (aproximadamente 20 ml). La amina intermedia se filtró y se secó a alto vacío y se utilizó en el paso siguiente sin purificación adicional.

La amina intermedia (35 μ mol, 1,1 eq.) se diluyó con DMF (2 ml), y a la solución resultante se le añadió posteriormente maleimido-ácido PEG (Frisch, B.; Boeckler, C.; Schuber, F. *Bioconjugate Chem.* 1996, 7, 180-6; 7,8 mg, 32 μ mol, 1,0 eq), DEPC (10,7 μ l, 64 μ mol, 2,0 eq), y diisopropiletilamina (11,3 μ l, 64 μ mol, 2,0 eq.). La reacción se completó en 15 min según una HPLC. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar un aceite. El aceite se diluyó con 1 ml de DMSO y se purificó utilizando HPLC preparativa en fase inversa (columna Synergi MaxRP C₁₂ de 21,4 mm x 25 cm, 5 μ , 80 Å, utilizando un gradiente de ejecución de MeCN y TFA al 0,1% a 20 ml/min desde 10% al 100% durante 40 minutos, seguido de MeCN al 100% durante 20 min). Las fracciones pertinentes se combinaron y se concentraron para proporcionar el compuesto 63 como un sólido blanco.

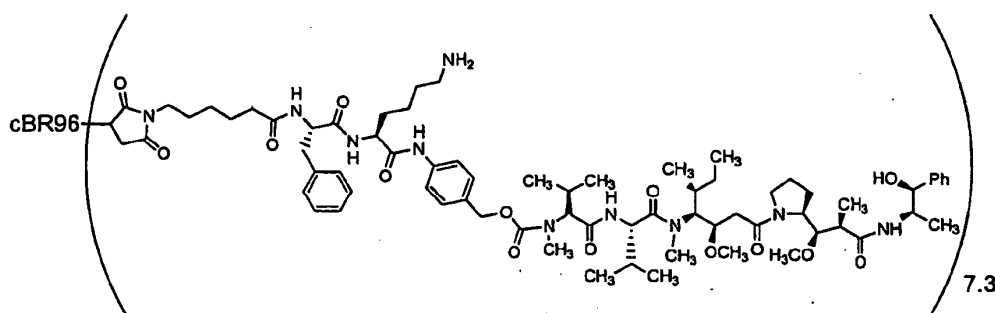
Rendimiento: 16,2 mg (34 %), ES-MS m/z 1348,6 $[M+H]^+$; UV λ_{max} 215, 247 nm.

Los ejemplos 20-25 describen la conjugación de los anticuerpos monoclonales cBR96 y cAC10 para un compuesto de fármaco-conector. Estos anticuerpos se obtuvieron como se describe en Bowen, et al., *J. Immunol.* 1993, 151, 5896, y Trail, et al, *Science* 1993, 261, 212, respectivamente.

El número de fracciones de fármaco-conector por ligando en un conjugado de fármaco-conector-ligando varía según la reacción de conjugación, pero por lo general oscila de aproximadamente 7 a aproximadamente 9, en particular cuando el ligando es cBR96 o cAC10.

EJEMPLO 20

25 PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 64



64

El anticuerpo cBR96 (24 mg) se redujo utilizando DTT como se describe en el Procedimiento General L, entonces se determinaron el número de tioles por anticuerpo y la concentración de anticuerpo como se describe en el Procedimiento General M y en el Procedimiento General N, respectivamente.

Resultados: $[Ab] = 4,7 \text{ mg/ml} = 29,4 \text{ } \mu\text{M}$; $[\text{tiol}] = 265 \text{ } \mu\text{M}$, $\text{SH}/\text{Ab} = 9,0$ (el intervalo típico de SH/Ab es de aproximadamente 7,8 a aproximadamente 9,5).

Conjugación:

Se añadió una solución de PBS/DTPA (2,2 ml), como se definió anteriormente en esta memoria, a 4,2 ml de anticuerpo reducido y la solución resultante se enfrió hasta 0°C utilizando un baño de hielo. En un matraz separado se diluyó una solución madre de 130,5 ml del compuesto **57** (8,4 mM en DMSO, 8,5 mol de compuesto **57** por mol de anticuerpo reducido) con MeCN (1,48 ml, previamente enfriado a 0°C en un baño de hielo). La solución de MeCN del compuesto **57** se añadió rápidamente a la solución de anticuerpo y la mezcla de reacción se agitó con un aparato de formación de vórtice durante 5-10 seg., se devolvió al baño de hielo y se agitó a 0°C durante 1 h., tras lo cual se añadió 218 μl de una solución de cisteína (100 mM en PBS/DTPA), para detener la reacción. Se reservaron 60 μl de la mezcla de reacción extinguida como una muestra "qrm".

Mientras la reacción avanzaba, se colocaron tres columnas PD10 (Sephadex G25, disponibles en Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) en un espacio frío y se equilibró con PBS (que había sido previamente enfriado a 0°C utilizando un baño de hielo).

La mezcla de reacción extinguida, que contenía el compuesto **64**, se concentró a $\leq 3 \text{ ml}$ por ultracentrifugación utilizando dos dispositivos de filtración con centrifuga Ultrafree 4 (membrana de separación de 30K de peso molecular, Millipore Corp., Bedford, MA; utilizada según las instrucciones del fabricante), que se enfriaron previamente a 4°C en un refrigerador y la mezcla de reacción concentrada se eluyó a través de las tres columnas PD10 previamente enfriadas utilizando PBS como eluyente (1 ml por cada columna). El conjugado eluido se recogió en un volumen de 1,4 ml por columna, para un volumen total de 4,2 ml de eluido. La solución del conjugado eluido se filtró utilizando un filtro con jeringa final de 0,2 micras, se apartaron 250 μl de solución de conjugado para su análisis, y el resto de la solución del conjugado fue congelada en viales estériles.

Se determinaron la concentración del compuesto **64**, el número de moléculas de fármaco por anticuerpo, la cantidad de fármaco-conector extinguida y el porcentaje de agregados utilizando los Procedimientos Generales P, N, O y Q, respectivamente.

Resultados del ensayo:

$[\text{Compuesto } \mathbf{64}] = 3,8 \text{ mg/mlg}$

% Agregado= traza

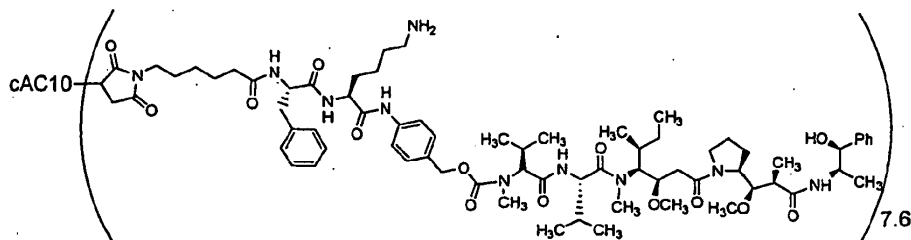
Titulación de tiol residual: Tioles residuales = $1,7/\text{Ab Fármaco}/\text{Ab aprox. } 9,0 - 1,7 = 7,3$

Fármaco-conector extinguido: indetectable

Rendimiento: 4,2 ml, 16 mg, 66 %.

EJEMPLO 21

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **65**



65

El anticuerpo cAC10 (24 mg) se redujo utilizando DTT como se describe en el Procedimiento General L, entonces se determinaron el número de tioles por anticuerpo y la concentración de anticuerpo como se describe en el Procedimiento General M y en el Procedimiento General N, respectivamente.

Resultados: $[Ab] = 4,9 \text{ mg/ml} = 30,7 \text{ } \mu\text{M}$;

[Tiol] = 283 μ M, 9,2 SH/Ab

Conjugación:

Una solución de PBS/DTPA (2,2 ml) como se definió anteriormente en esta memoria, se añadió a 4,2 ml de anticuerpo reducido y la solución resultante se enfrió a 0 °C utilizando un baño de hielo. En un matraz separado se diluyó una solución madre de 125 μ l del compuesto **57** (8,4 mM en DMSO, 8,5 mol de compuesto **57** por mol de anticuerpo reducido) con MeCN (1,48 ml, previamente enfriado a 0 °C en un baño de hielo). La solución de MeCN del compuesto **57** se añadió rápidamente a la solución de anticuerpo y la mezcla de reacción se agitó con un aparato de formación de vórtice durante 5-10 seg., luego se devolvió al baño de hielo y se agitó a 0 °C durante 1 hora, tras lo cual se añadió 218 μ l de una solución de cisteína (100 mM en PBS/DTPA), para detener la reacción. Se reservaron 60 μ l de la mezcla de reacción extinguida como una muestra "qrm".

Mientras la reacción avanzaba, se colocaron cuatro columnas PD10 (Sephadex G25, ofrecida por Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) en un espacio frío y se equilibraron con PBS (que había sido previamente enfriado a 0 °C utilizando un baño de hielo).

La mezcla de reacción extinguida, que contenía el compuesto **65**, se concentró a < 3 ml por ultracentrifugación utilizando dos dispositivos de filtración con centrifuga Ultrafree 4 (membrana de separación de 30K de peso molecular, Millipore Corp., Bedford, MA; utilizada según las instrucciones del fabricante), que se enfriaron previamente a 4 °C en un refrigerador y la mezcla de reacción concentrada se eluyó a través de las cuatro columnas PD10 previamente enfriadas utilizando PBS como eluyente (1 ml por cada columna). El conjugado eluido se recogió en un volumen de 1,4 ml por columna, para un volumen total de 5,6 ml de eluido. La solución del conjugado eluido se filtró utilizando un filtro con jeringa final de 0,2 micras, se apartaron 250 μ l de solución de conjugado para su análisis, y el resto de la solución del conjugado fue congelada en viales estériles.

Se determinaron la concentración del compuesto **65**, el número de moléculas de fármaco por anticuerpo, la cantidad de fármaco-conector extinguida y el porcentaje de agregados utilizando los Procedimientos Generales P, N, O y Q, respectivamente.

Resultados del ensayo:

[Compuesto **65**] = 2,8 mg/ml

% Agregado= traza

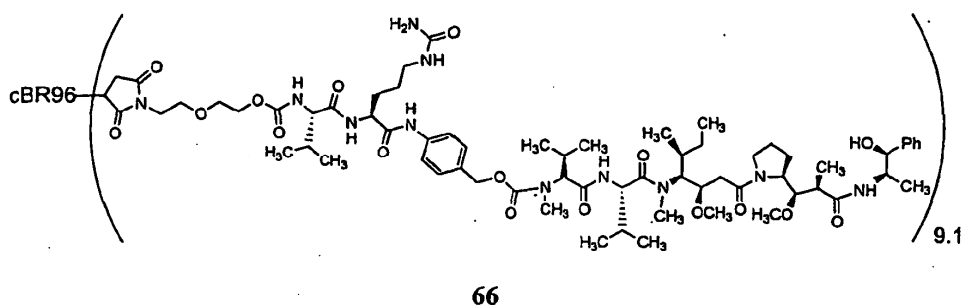
Titulación de tioles residuales: Tioles residuales = 1,6/Ab. Fármaco/Ab aprox. 9,2 - 1,6 = 7,6

Fármaco-conector no unido covalentemente: indetectable

Rendimiento: 5,6 ml, 15,7 mg, 65 %.

EJEMPLO 22

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **66**



66

Se redujo el anticuerpo cBR96 (24 mg) utilizando DTT como se describe en el Procedimiento General L, entonces se determinaron el número de tioles por anticuerpo y la concentración de anticuerpo como se describe en el Procedimiento General M y en el Procedimiento General N, respectivamente.

Resultados: [Ab] = 3,7 mg/ml = 23,1 μ M; [tiol] = 218 μ M; 9,4 SH/Ab

Conjugación:

Una solución de PBS/DTPA (2,2 ml) como se definió anteriormente en esta memoria, se añadió a 4,2 ml de anticuerpo reducido y la solución resultante se enfrió a 0 °C utilizando un baño de hielo. En un matraz separado se

diluyó una solución madre de 145,5 µl del compuesto **58** (8,3 mM en DMSO, 9,0 mol de compuesto **58** por mol de anticuerpo reducido) con MeCN (1,48 ml, previamente enfriado a 0 °C en un baño de hielo). La solución de MeCN del compuesto **58** se añadió rápidamente a la solución de anticuerpo y la mezcla de reacción se agitó con un aparato de formación de vórtice durante 5-10 seg., entonces se devolvió al baño de hielo y se agitó a 0 °C durante 1 hora, tras lo cual se añadió 249 µl de una solución de cisteína (100 mM en PBS/DTPA), para detener la reacción. Se reservaron 60 µl de la mezcla de reacción extinguida como una muestra "qrm".

Mientras la reacción avanzaba, se colocaron tres columnas PD10 (Sephadex G25, ofrecida por Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) en un espacio frío y se equilibraron con PBS (que había sido previamente enfriado a 0 °C utilizando un baño de hielo).

La mezcla de reacción extinguida, que contenía el compuesto **66**, se concentró a < 3 ml por ultracentrifugación utilizando dos dispositivos de filtración con centrifuga Ultrafree 4 (membrana de separación de 30K de peso molecular, Millipore Corp., Bedford, MA; utilizada según las instrucciones del fabricante), que se enfriaron previamente a 4 °C en un refrigerador y la mezcla de reacción concentrada se eluyó a través de las tres columnas PD10 previamente enfriadas utilizando PBS como eluyente (1 ml por cada columna). El conjugado eluido se recogió en un volumen de 1,4 ml por columna, para un volumen total de 4,2 ml de eluido. La solución del conjugado eluido se filtró utilizando un filtro con jeringa final de 0,2 micras, se apartaron 250 µl de solución de conjugado para su análisis, y el resto de la solución del conjugado fue congelada en viales estériles.

Se determinaron la concentración del compuesto **66**, el número de moléculas de fármaco por anticuerpo, la cantidad de fármaco-conector extinguida y el porcentaje de agregados utilizando los Procedimientos Generales P, N, O y Q, respectivamente.

Resultados del ensayo:

[Compuesto **66**] = 3,0 mg/ml

% Agregado= traza

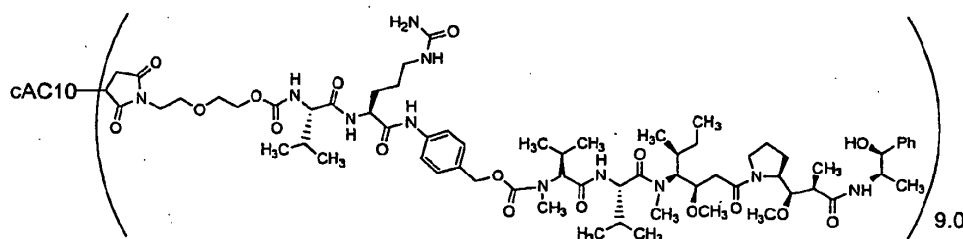
Titulación de tioles residuales: Tioles residuales = 0,4/Ab. Fármaco/Ab aprox. 9,5 - 0,4 = 9,1

Fármaco-conector no unido covalentemente: 0,3% de aducto de 57-Cys

Rendimiento: 5,3 ml, 15,9 mg, 66 %.

EJEMPLO 23

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **67**



67

El anticuerpo cAC10 (24 mg) se redujo utilizando DTT como se describe en el Procedimiento General L, entonces se determinaron el número de tioles por anticuerpo y la concentración de anticuerpo como se describe en el Procedimiento General M y en el Procedimiento General N, respectivamente.

Resultados: [Ab] = 3,9 mg/ml = 24,5 µM; [tiol] = 227 µM; 9,3 SH/Ab

Conjugación:

Una solución de PBS/DTPA (2,2 ml) como se definió anteriormente en esta memoria, se añadió a 4,2 ml de anticuerpo reducido y la solución resultante se enfrió a 0 °C utilizando un baño de hielo. En un matraz separado se diluyó una solución madre de 154,4 µl del compuesto **58** (8,3 mM en DMSO, 9,0 mol de compuesto **58** por mol de anticuerpo reducido) con MeCN (1,46 ml, previamente enfriado a 0 °C en un baño de hielo). La solución de MeCN del compuesto **58** se añadió rápidamente a la solución de anticuerpo y la mezcla de reacción se agitó con un aparato de formación de vórtice durante 5-10 seg., entonces se devolvió al baño de hielo y se agitó a 0 °C durante 1

hora, tras lo cual se añadió 249 µl de una solución de cisteína (100 mM en PBS/DTPA), para detener la reacción. Se reservaron 60 µl de la mezcla de reacción extinguida como una muestra "qrm".

Mientras la reacción avanzaba, se colocaron cuatro columnas PD10 (Sephadex G25, ofrecida por Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) en un espacio frío y se equilibraron con PBS (que había sido previamente enfriado a 0 °C utilizando un baño de hielo).

La mezcla de reacción extinguida, que contenía el compuesto **67**, se concentró a < 3 ml por ultracentrifugación utilizando dos dispositivos de filtración con centrifuga Ultrafree 4 (membrana de separación de 30K de peso molecular, Millipore Corp., Bedford, MA; utilizada según las instrucciones del fabricante), que se enfriaron previamente a 4 °C en un refrigerador y la mezcla de reacción concentrada se eluyó a través de las tres columnas PD10 previamente enfriadas utilizando PBS como eluyente (1 ml por cada columna). El conjugado eluido se recogió en un volumen de 1,4 ml por columna, para un volumen total de 5,6 ml de eluido. La solución del conjugado eluido se filtró utilizando un filtro con jeringa final de 0,2 micras, se apartaron 250 µl de solución de conjugado para su análisis, y el resto de la solución del conjugado fue congelada en viales estériles.

Se determinaron la concentración del compuesto **67**, el número de moléculas de fármaco por anticuerpo, la cantidad de fármaco-conector extinguida y el porcentaje de agregados utilizando los Procedimientos Generales P, N, O y Q, respectivamente.

Resultados del ensayo:

[Compuesto **67**] = 3,0 mg/ml

% Agregado= traza

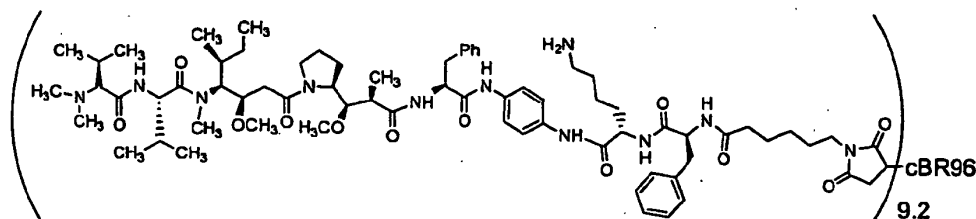
Titulación de tioles residuales: Tioles residuales = 0,5/Ab. Fármaco/Ab aprox. 9,5 - 0,5 = 9,0

Fármaco-conector extinguido: 1,1% de aducto de 58-Cys

Rendimiento: 5,3 ml, 15,9 mg, 66 %.

EJEMPLO 24

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **68**



68

El anticuerpo cBR96 (24 mg) se redujo utilizando DTT como se describe en el Procedimiento General L, entonces se determinaron el número de tioles por anticuerpo y la concentración de anticuerpo como se describe en el Procedimiento General M y en el Procedimiento General N, respectivamente.

Resultados: [Ab] = 4,4 mg / ml = 27,2 µM; [tiol] = 277 µM; 10,2 SH/Ab

Conjugación:

El anticuerpo reducido se diluyó con DMSO (1,47 ml, previamente enfriado a 0 °C en un baño de hielo) para que la solución resultante fuera de DMSO al 20 %. La solución se dejó en agitación durante 10 min. a 0 °C, y luego se añadieron rápidamente 127,8 µl de una solución madre del compuesto **60** (7,6 mM de solución en DMSO, 9 mol de Compuesto **60** por mol de anticuerpo). La mezcla de reacción se agitó inmediatamente utilizando un aparato de formación de vórtice y se devolvió al baño de hielo y se agitó a 0 °C durante 1 hora, tras lo cual se añadieron 213 µl de una solución de cisteína (100 mM en PBS/DTPA), para extinguir la reacción. Se reservaron 60 µl de la mezcla de reacción extinguida como una muestra "qrm".

Mientras la reacción avanzaba, se colocaron cuatro columnas PD10 (Sephadex G25, ofrecida por Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) en un espacio frío y se equilibraron con PBS (que había sido previamente enfriado a 0 °C utilizando un baño de hielo).

La mezcla de reacción extinguida, que contenía el compuesto **68**, se concentró a < 3 ml por ultracentrifugación utilizando dos dispositivos de filtración con centrifuga Ultrafree 4 (membrana de separación de 30K de peso molecular, Millipore Corp., Bedford, MA; utilizada según las instrucciones del fabricante), que se enfriaron previamente a 4 °C en un refrigerador y la mezcla de reacción concentrada se eluyó a través de las cuatro columnas PD10 previamente enfriadas utilizando PBS como eluyente (1 ml por cada columna). El conjugado eluido se recogió en un volumen de 1,4 ml por columna, para un volumen total de 5,6 ml de eluido. La solución del conjugado eluido se filtró utilizando un filtro con jeringa final de 0,2 micras, se apartaron 250 µl de solución de conjugado para su análisis, y el resto de la solución del conjugado fue congelada en viales estériles.

Se determinaron la concentración del compuesto **68**, el número de moléculas de fármaco por anticuerpo, la cantidad de fármaco-conector extinguida y el porcentaje de agregados utilizando los Procedimientos Generales P, N, O y Q, respectivamente.

Debido a que las absorbancias del compuesto **60** y del anticuerpo se superponen en gran medida, la determinación espectrofotométrica de la concentración de conjugado requiere la medición de la absorbancia a 270 y 280 nm. La concentración molar de conjugado viene dada por la siguiente fórmula:

$$[\text{Conjugado}] = (\text{OD}_{280} \times 1,08 \times 10^{-5} - \text{OD}_{270} \times 8,20 \times 10^{-6}) \times \text{factor de dilución}$$

donde los valores $1,08 \times 10^{-5}$ y $8,20 \times 10^{-6}$ se calculan a partir de los coeficientes de extinción molar del fármaco y el anticuerpo, que se calculan como:

$$\epsilon_{270} \text{ Compuesto } 60 = 2,06 \times 10^4$$

$$\epsilon_{270} \text{ cBR96} = 1,87 \times 10^5$$

$$\epsilon_{280} \text{ Compuesto } 60 = 1,57 \times 10^4$$

$$\epsilon_{280} \text{ cBR96} = 2,24 \times 10^5$$

Resultados del ensayo:

[Compuesto **68**] = 3,2 mg/ml

% Agregado = traza

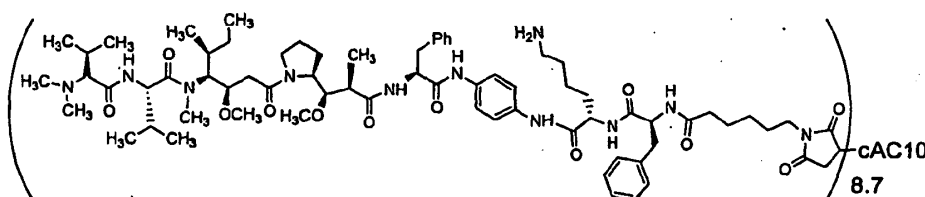
Titulación de tioles residuales: Tioles residuales = 1,0/Ab. Fármaco/Ab aprox. 10,2 - 1,0 = 9,2

Fármaco-conector extinguido: traza

Rendimiento: 5,6 ml, 17,9 mg, 75%.

EJEMPLO 25

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **69**



69

El anticuerpo cAC10 (24 mg) se redujo utilizando DTT como se describe en el Procedimiento General L, entonces se determinaron el número de tioles por anticuerpo y la concentración de anticuerpo como se describe en el Procedimiento General M y en el Procedimiento General N, respectivamente.

Resultados: [Ab] = 4,8 mg/ml = 29,8 µM; [tiol] = 281 µM; 9,4 SH/Ab

Conjugación:

El anticuerpo reducido se diluyó con DMSO (1,47 ml, previamente enfriado a 0 °C en un baño de hielo) para que la solución resultante fuera de DMSO al 20 %. La solución se dejó en agitación durante 10 min. a 0 °C, y luego se añadieron rápidamente 140 µl de una solución madre del compuesto **60** (7,6 mM de solución en DMSO, 8,5 mol de Compuesto **60** por mol de anticuerpo). La mezcla de reacción se agitó inmediatamente utilizando un aparato de formación de vórtice y se devolvió al baño de hielo y se dejó agitar durante 1 h a 0 °C, tras lo cual se añadieron 213 µl de una solución de cisteína (100 mM en PBS/DTPA), para extinguir la reacción. Se reservaron 60 µl de la mezcla de reacción extinguida como una muestra "qrm".

Mientras la reacción avanzaba, se colocaron cuatro columnas PD10 (Sephadex G25, ofrecida por Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) en un espacio frío y se equilibraron con PBS (que había sido previamente enfriado a 0 °C utilizando un baño de hielo).

La mezcla de reacción extinguida, que contenía el compuesto **69**, se concentró a < 3 ml por ultracentrifugación utilizando dos dispositivos de filtración con centrifuga Ultrafree 4 (membrana de separación de 30K de peso molecular, Millipore Corp., Bedford, MA; utilizada según las instrucciones del fabricante), que se enfriaron previamente a 4 °C en un refrigerador y la mezcla de reacción concentrada se eluyó a través de las cuatro columnas PD10 previamente enfriadas utilizando PBS como eluyente (1 ml por cada columna). El conjugado eluido se recogió en un volumen de 1,4 ml por columna, para un volumen total de 5,6 ml de eluido. La solución del conjugado eluido se filtró utilizando un filtro con jeringa final de 0,2 micras, se apartaron 250 µl de solución de conjugado para su análisis, y el resto de la solución del conjugado fue congelada en viales estériles.

Se determinaron la concentración del compuesto **69**, el número de moléculas de fármaco por anticuerpo, la cantidad de fármaco-conector extinguida y el porcentaje de agregados utilizando los Procedimientos Generales P, N, O y Q, respectivamente.

Debido a que las absorbancias del compuesto **60** y del anticuerpo se superponen en gran medida, la determinación espectrofotométrica de la concentración de conjugado requiere la medición de la absorbancia a 270 y 280 nm. La concentración molar de conjugado viene dada por la siguiente fórmula:

$$[\text{Conjugado}] = (\text{OD}_{280} \times 1,08\text{e}^{-5} - \text{OD}_{270} \times 8,20\text{e}^{-6}) \times \text{factor de dilución},$$

donde los valores $1,08\text{e}^{-5}$ y $8,20\text{e}^{-6}$ se calculan a partir de los coeficientes de extinción molar del fármaco y el anticuerpo, que se calculan como:

$$\epsilon_{270} \text{ Compuesto 60} = 2,06\text{e}^4 \quad \epsilon_{270} \text{ cAC10} = 2,10\text{e}^5$$

$$\epsilon_{280} \text{ Compuesto 60} = 1,57\text{e}^4 \quad \epsilon_{280} \text{ cAC10} = 2,53\text{e}^5$$

Resultados del ensayo:

[Compuesto 69] = 3,0 mg/ml

% Agregado= traza

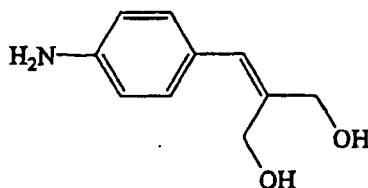
Titulación de tioles residuales: Tioles residuales = 0,7/Ab. Fármaco/Ab aprox. 9,4 - 0,7 = 8,7

Fármaco-conector extinguido: traza

Rendimiento: 5,6 ml, 16,8 mg, 70 %.

EJEMPLO 26

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **75**



75

Se diluyó dietil-(4-nitrobencilo)fosfonato (1,1 g, 4,02 mmol) en THF anhidro (4 ml) y la mezcla resultante se enfrió a 0 °C. Se añadió hidruro de sodio (0,17 g, 4,22 mmol, 1,05 eq., dispersión al 60% en aceite mineral) y la reacción resultante se dejó en agitación durante 5 min. En este momento la evolución de gas de la mezcla de reacción había cesado. Entonces se añadió 2,2-dimetil-1,3-dioxan-5-ona (0,52 g, 4,02 mmol) en 1 ml de THF anhidro a la mezcla de reacción a través de una jeringa y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente con agitación. Se añadió más THF (1 ml) después de 30 minutos para ayudar a diluir el precipitado resultante y la mezcla resultante se agitó durante otros 30 min. y se transfirió a un embudo de separación que contenía EtOAc (10 ml) y agua (10 ml). La fase orgánica se recogió, se lavó con salmuera, y los extractos acuosos combinados se lavaron con acetato de etilo (2x). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y concentraron para proporcionar un

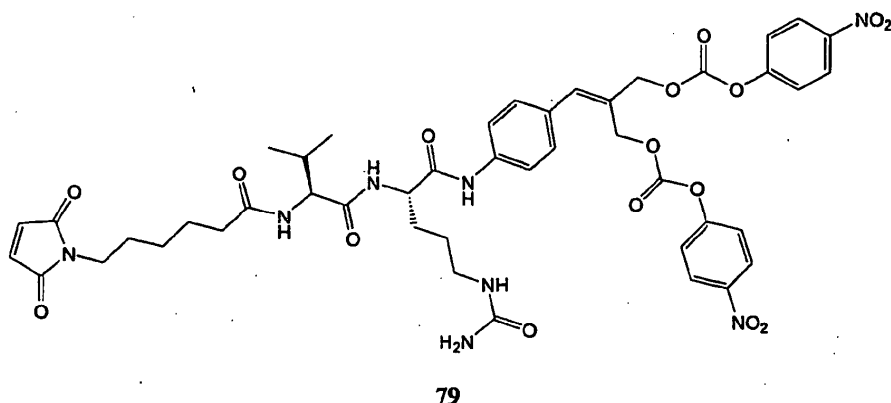
aceite bruto rojo oscuro que se purificó mediante cromatografía de resolución rápida en columna de gel de sílice (300 x 25 mm) y eluyendo con hexanos-EtOAc 9:1 para proporcionar un producto intermedio sólido amarillo pálido.

Rendimiento: 0,57 g (57 %); R_f 0,24 (9:1 hexanos-EtOAc); $UV\lambda_{max}$ 225, 320 nm. 1H RMN ($CDCl_3$) δ 8,19 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,24 (2H, d, J = 8,4 Hz), 6,33 (1H, s), 4,62 (2H, s), 4,42 (2H, s), 1,45 (6H, s). ^{13}C RMN ($CDCl_3$) δ 146,6, 142,7, 141,3, 129,4, 123,9, 121,1, 99,9, 64,4, 60,8, 24,1.

El producto intermedio sólido amarillo pálido (0,25 g, 1,0 mmol) se diluyó con THF (20 ml), la mezcla resultante se trató con 1 N de HCl (10 ml) y se dejó agitar durante 5 min. A la mezcla de reacción se le añadió éter dietílico (150 ml) y agua y la mezcla resultante se transfirió a un embudo de separación. La capa orgánica se secó ($MgSO_4$), se filtró y se concentró para dar un aceite. El diol resultante se recogió en THF-metanol (1:1, 4 ml cada uno, 0,3 M), seguido de la adición de níquel Raney (100 μ l, 100 μ l/mmol grupo nitro, suspensión en agua al 50%) e hidracina (74 μ l, 1,5 eq.) La evolución de gas se produjo mientras la mezcla de reacción se calentaba a 50-60 °C. Después de 30 minutos y 1 hora se agregó 1,5 eq. de hidracina cada vez. La mezcla amarilla se filtró a través de Celite y se lavó con metanol. El filtrado se concentró para proporcionar el compuesto **75** como un aceite que cristalizó después en un sólido amarillo. Rendimiento: 0,14 g (78 %); $UV\lambda_{max}$ 215, 260 nm. 1H RMN (DMSO) δ 7,00 (2H, d, J = 8,4 Hz), 6,51 (2H, d, J = 8,4 Hz), 6,33 (1H, s), 5,20 (2H, sa), 4,64 (2H, da), 4,04 (2H, s). ^{13}C RMN (DMSO) δ 147,2, 138,1, 129,6, 126,1, 124,6, 113,7, 63,6, 57,5.

EJEMPLO 27

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **79**



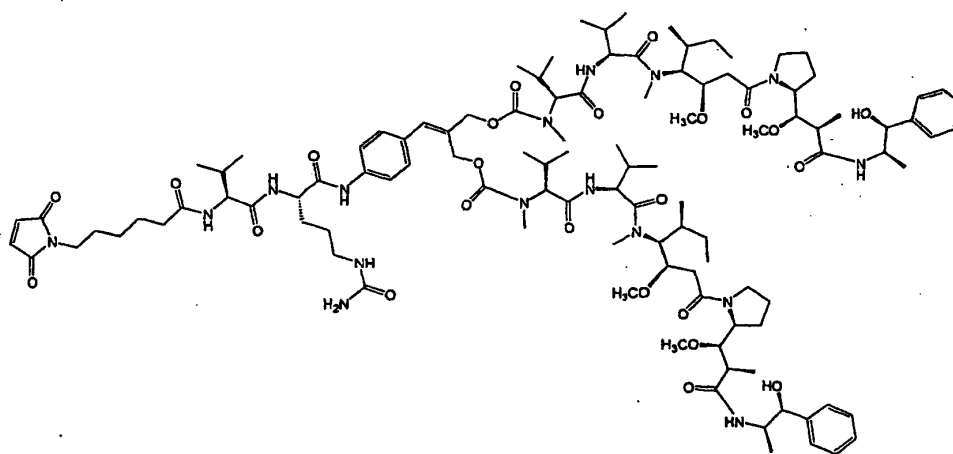
A una mezcla del compuesto **75** (BHMS, 0,12 g, 0,67 mmol) en metanol-diclorometano (1:2, 4,5 ml en total) se añadió Fmoc-Val-Cit (0,33 g, 0,67 mmol), seguido de EEDQ (0,25 g, 1,0 mmol, 1,5 eq.) y la reacción resultante se dejó en agitación durante 15 horas bajo una atmósfera inerte. Entonces se añadió más EEDQ (1,5 eq.) y Fmoc-Val-Cit (1,0 eq.) debido a la presencia de BHMS sin reaccionar y la reacción resultante se dejó en agitación durante 2 días y se concentró. El residuo resultante se trituro utilizando éter para proporcionar un producto intermedio sólido marrón. ES-MS m/z 659 $[M+H]^+$, 681 $[M+Na]^+$; $UV\lambda_{max}$ 215, 270 nm. 1H RMN (DMSO) δ 10,04 (1H, s), 8,10 (1H, d, J = 7,2 Hz), 7,87 (2H, d, J = 7,6 Hz), 7,72 (2H, t, J = 7,6 Hz), 7,55 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,37-7,43 (3H, m), 7,30 (2H, t, J = 7,2 Hz), 7,24 (2H, d, J = 8,4 Hz), 6,47 (1H, s), 5,96 (1H, t, J = 5,2 Hz), 5,39 (1H, s), 4,83 (1H, t, J = 5,2 Hz), 4,78 (1H, t, J = 5,2 Hz), 4,40 (1H, dd, J = 5,2, 8,0 Hz), 4,20-4,30 (3H, m), 4,11 (2H, d, J = 4,4 Hz), 4,04 (2H, d, J = 5,2 Hz), 3,91 (1H, t, J = 7,2 Hz), 2,84-3,06 (2H, m), 1,91-2,03 (1H, m), 1,29-1,74 (4H, m), 0,86 (3H, d, J = 6,8 Hz), 0,84 (3H, d, J = 6,8 Hz).

El producto intermedio sólido marrón se diluyó con DMF (10 ml) y la mezcla resultante se trató con dietilamina (5 ml), se dejó agitar durante 1 hora y se concentró para proporcionar un sólido marrón que se secó a alto vacío durante 3 días. El sólido marrón se trituro utilizando EtOAc (10 ml) y se precipitó adicionalmente con éter (80 ml) para proporcionar un residuo bruto que se filtró a través de un embudo de cristal sinterizado y se secó al vacío para dar un producto intermedio marrón claro. ES-MS m/z 436 $[M+H]^+$, 458 $[M+Na]^+$; $UV\lambda_{max}$ 215, 270 nm.

El producto intermedio marrón claro se diluyó con DMF (10 ml) y se trató con éster hidroxisuccinimídico del ácido 6-maleimidocaproico (0,16 g, 0,53 mmol, 1 eq.). La reacción se dejó en agitación durante 18 h, se añadió más diisopropiletilamina (1,0 eq) seguido de más éster hidroxisuccinimídico del ácido 6-maleimidocaproico (0,5 eq.). La reacción resultante se dejó en agitación durante 4 horas, después de lo cual la HPLC indicó que el material de partida se había consumido. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar un residuo bruto que se trituro utilizando EtOAc (10 ml) y luego se precipitó adicionalmente con éter (75 ml). El precipitado se secó durante la noche para proporcionar un producto intermedio marrón/naranja en polvo. Rendimiento total: 0,42 g (cuant.). ES-MS m/z 629 $[M+H]^+$, 651 $[M+Na]^+$; $UV\lambda_{max}$ 215, 270 nm.

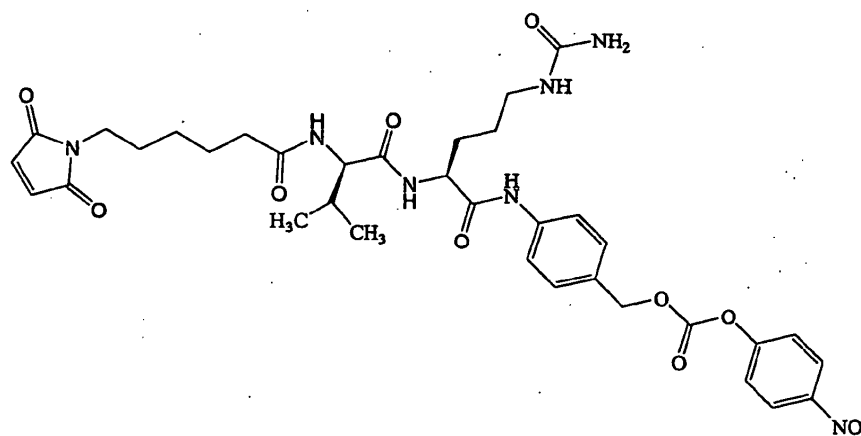
El producto intermedio en polvo marrón/naranja (0,40 g, 0,64 mmol) se disolvió parcialmente en DMF (20 ml) y a la mezcla resultante se le añadió bis(4-nitrofenil)carbonato (0,98 g, 3,2 mmol, 5,0 eq.) y diisopropiletilamina (0,45 ml, 2,5 mmol, 4,0 eq.). La reacción resultante se dejó en agitación durante unas 4 horas, tras lo cual, el control por HPLC indicó que no quedó material de partida y que la mezcla de reacción contenía 2 productos en una relación de 3:2 (el bis-carbonato deseado y la 1,3-dioxan-2-ona, respectivamente). La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se trituró utilizando EtOAc (10 ml), y luego se precipitó adicionalmente con éter (80 ml) en un solo proceso. La mezcla de EtOAc-éter se filtró y el sólido se secó para proporcionar el compuesto **79** como un polvo marrón que se utilizó sin purificación adicional.

EJEMPLO 28

10 PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **80****80**

El compuesto **49** (202 mg, 0,22 μ mol, 2,0 eq., 80% de pureza) y el compuesto **79** (180 mg, 0,11 mmol, 1,0 eq, 60% de pureza) se suspendieron en DMF seco (2 ml, 0,1 M) y a la mezcla resultante se le añadió HOBt (3 mg, 22 μ mol, 0,2 eq.) seguido de piridina (400 μ l, 1/4 v/v DMF). La reacción resultante se dejó en agitación durante 16 h, se diluyó con DMSO (2 ml) y la mezcla resultante se purificó mediante HPLC preparativa (columna C₁₈-RP, 5 μ , 100 Å, gradiente lineal de MeCN en agua desde 10% al 100% en 40 min seguido de 20 minutos a 100%, con un caudal de 50 ml/min) para proporcionar el compuesto **80** como un sólido blanco. Rendimiento: 70 mg (18%). MALDI-TOF MS m/z 2138,9 [M+Na]⁺, 2154,9 [M+K]⁺.

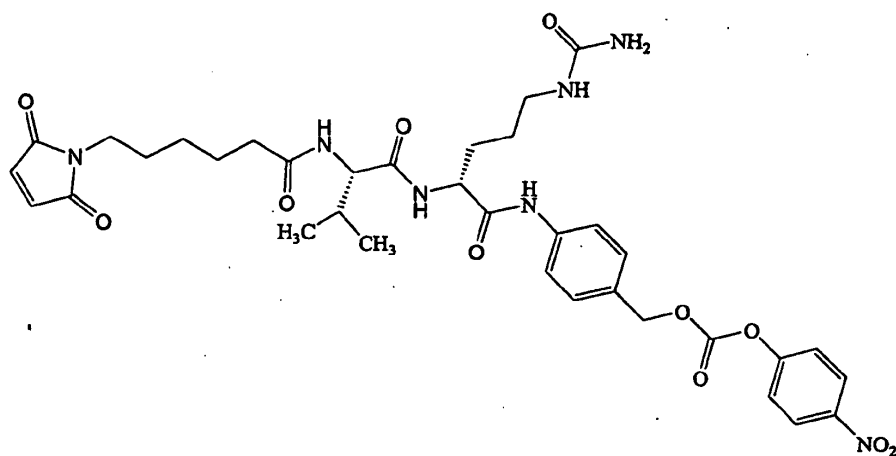
EJEMPLO 29

20 PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **81****81**

El compuesto **81** se preparó utilizando el método descrito en el Ejemplo 1 y sustituyendo Fmoc-(D)-val-(L)-cit-PABOH por el Compuesto **19**.

EJEMPLO 30

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 82

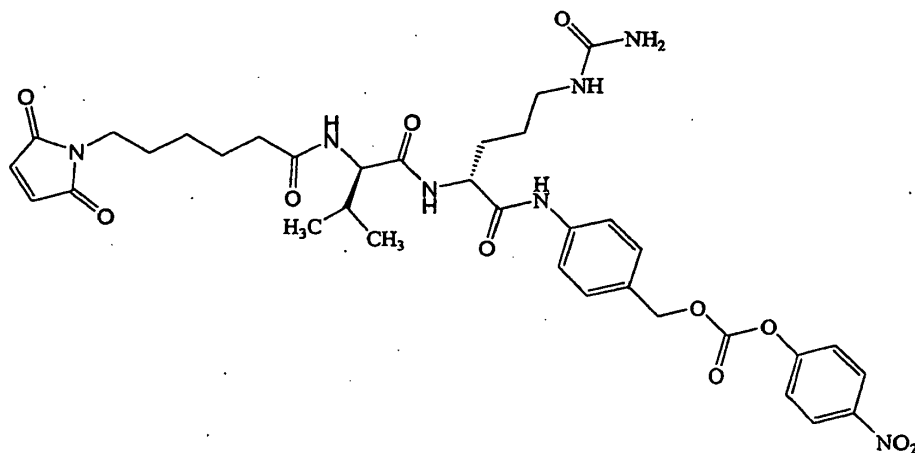


82

5 El compuesto **82** se preparó utilizando el método descrito en el Ejemplo 1 y sustituyendo Fmoc-(L)-val-(D)-cit-PABOH por el Compuesto **19**.

EJEMPLO 31

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 83

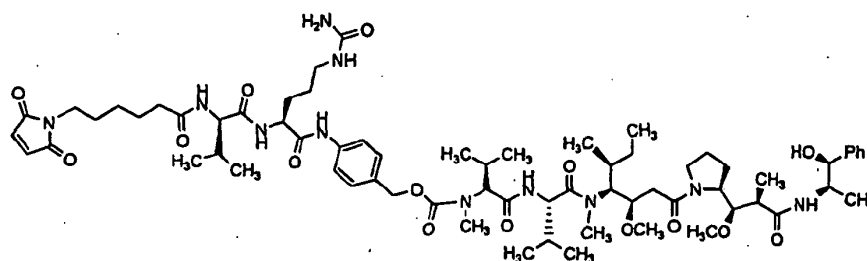


83

10 El compuesto **83** se preparó utilizando el método descrito en el Ejemplo 1 y sustituyendo Fmoc-(D)-val-(D)-cit-PABOH por el Compuesto **19**.

EJEMPLO 32

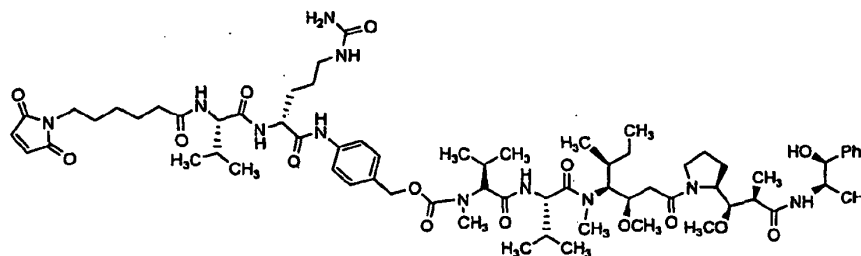
PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 84



84

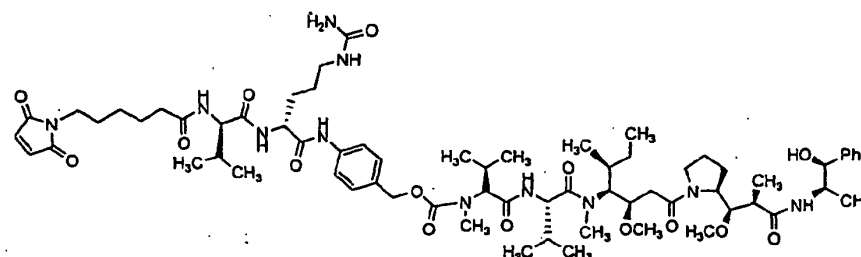
El compuesto **84** se preparó utilizando el método descrito en el Ejemplo 14 y sustituyendo el compuesto **81** por el compuesto **21**.

EJEMPLO 33

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **85****85**

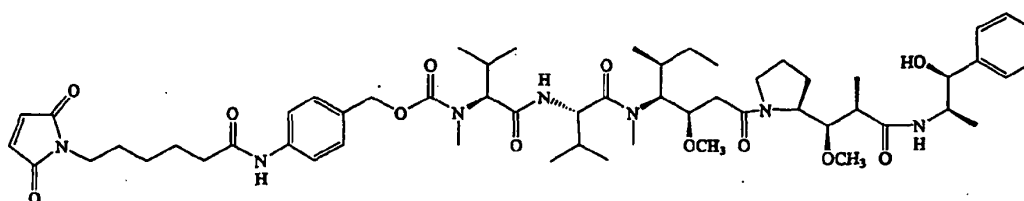
El compuesto **85** se preparó utilizando el método descrito en el Ejemplo 14 y sustituyendo el compuesto **82** por el compuesto **21**.

EJEMPLO 34

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **86****86**

El compuesto **86** se preparó utilizando el método descrito en el Ejemplo 14 y sustituyendo el compuesto **83** por el compuesto **21**.

EJEMPLO 35

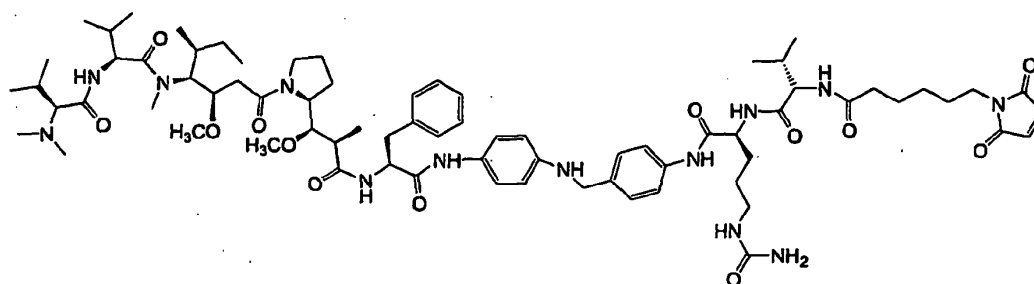
PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **87****87**

Se diluyó una mezcla de ácido 6-maleimidocaproico (1,00 g, 4,52 mmol, 1,0 eq.), alcohol p-aminobenílico (1,11 g, 9,04 mmol, 2,0 eq.) y EEDQ (2,24 g, 9,04 mmol, 2,0 eq.) en diclorometano (13 ml). La reacción resultante se agitó durante aproximadamente 16 h., luego se concentró y se purificó utilizando cromatografía en columna de resolución rápida de un gradiente discontinuo de EtOAc de 25-100% en hexano para proporcionar un producto intermedio sólido. Rendimiento: 1,38 g (96 %); ES-MS m/z 317,22 $[M+H]^+$, 339,13 $[M+Na]^+$; $UV\lambda_{max}$ 215, 246 nm.

Se diluyó el producto intermedio sólido (0,85 g, 2,69 mmol, 1,0 eq.) y bis(4-nitrofenil)carbonato (2,45 g, 8,06 mmol, 3,0 eq.) en DMF (10 ml), y a la mezcla resultante se le añadió diisopropiletilamina (0,94 ml, 5,37 mmol, 2,0 eq.). La reacción resultante se agitó durante aproximadamente 1 h., tras lo cual una RP-HPLC indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo bruto resultante se trituró con éter dietílico (unos 250 ml) para proporcionar un producto intermedio sólido blanco tras la filtración. Rendimiento: 1,25 g (96 %); $UV\lambda_{max}$ 215, 252 nm.

Se diluyó el producto intermedio sólido blanco (259 mg, 0,0538 mmol, 1,0 eq.), MMAE (464 mg, 0,646 mmol, 1,2 eq.) y HOBt (14,5 mg, 0,108 mmol, 0,2 eq.) en piridina/DMF (1:5, 6 ml), y la reacción resultante se agitó durante 10 h, tras lo cual una RP-HPLC indicó una reacción incompleta. La mezcla de reacción se concentró, el residuo bruto resultante se diluyó utilizando DMF (3 ml), y a la mezcla resultante se le añadió diisopropiletilamina (0,469 ml, 0,538 mmol, 1,0 eq.) y la reacción resultante se dejó en agitación durante unas 16 h. La mezcla de reacción se purificó directamente utilizando Chromatotron® (cromatografía radial en capa fina) con un gradiente (0-5% de metanol en diclorometano), para proporcionar el compuesto **87** como un sólido blanco. Rendimiento: 217 mg (38 %); ES-MS m/z 1082,64 $[M+Na]^+$; $UV\lambda_{max}$ 215, 248 nm.

EJEMPLO 36

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **88****88**

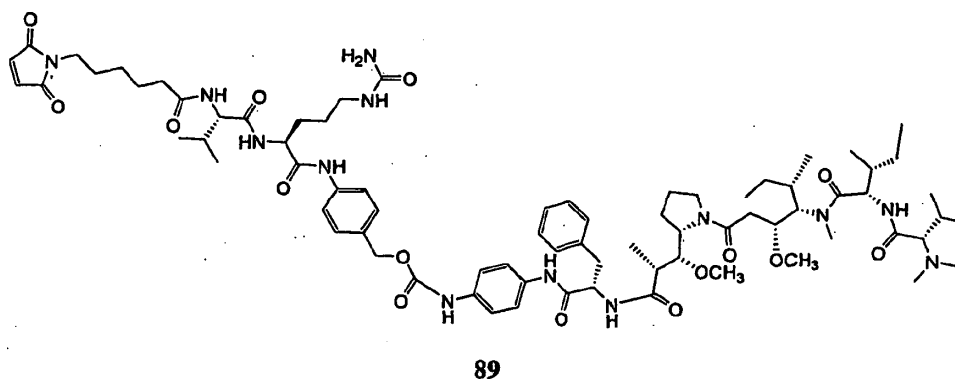
Se suspendió Fmoc-val-cit (Patente US 6.214.345 a nombre de Firestone et al.) en diclorometano (50 ml) y la mezcla resultante se trató con HBr al 33% en HOAc (20 ml), que se añadió a través de una pipeta durante unos 5 minutos. Después de agitar durante unos 10 minutos, se demostró que la mezcla de reacción se había completado utilizando HPLC. La mezcla de reacción se diluyó con hielo (unos 500 ml) y se añadió bicarbonato sódico acuoso saturado lentamente mientras se agitaba hasta que la evolución de gas cesó. La masa gelatinosa resultante se filtró y lavó con agua destilada para proporcionar un sólido que se secó a alto vacío, en presencia de P_2O_5 durante 24 h. El producto intermedio en polvo marrón (Fmoc-val-cit-PAB-Br) tuvo una pureza de aproximadamente 70 % por HPLC y se utilizó sin purificación adicional.

El producto intermedio en polvo marrón (30 mg, 40,6 μ mol) y el compuesto **53** (34 mg, 40,6 μ mol) se disolvieron en DMF (1 ml), y a la mezcla resultante se le añadió diisopropiletilamina (21 μ l, 0,12 mmol, 3,0 eq.). La reacción resultante se dejó en agitación durante 6 h., se diluyó en DMSO (1 ml) y se purificó inmediatamente usando HPLC preparativa (columna C_{12} -RP, 5 μ , 100 Å, gradiente lineal de MeCN en agua (que contenía ácido fórmico al 0,1%) desde 10% al 100% en 40 min seguido de 20 minutos a 100%, con un caudal de 25 ml/min) para proporcionar un producto intermedio en polvo marrón claro. Rendimiento: 5 mg (8 %); ES-MS m/z 14207,2 $[M+H]^+$, 1443 $[M+Na]^+$; $UV\lambda_{max}$ 205, 258 nm.

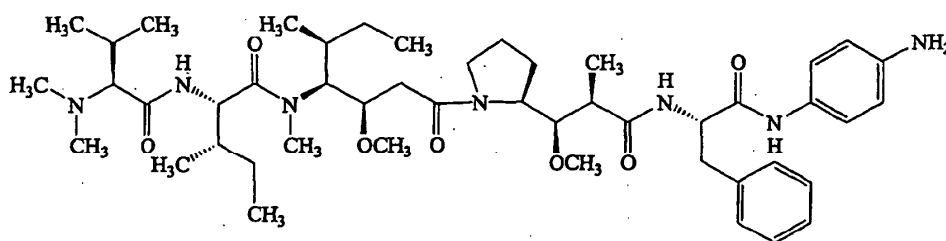
El producto intermedio en polvo marrón claro (4 mg, 9,5 μ mol) se diluyó con DMF (1 ml) y la mezcla resultante se trató con dietilamina (0,5 ml). La reacción resultante se completó en 1 h según una HPLC. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar un residuo sólido oleoso que se trituró con éter (3x) para proporcionar un residuo bruto. El residuo bruto se diluyó con DMF (1 ml) y a la mezcla resultante se le añadió éster hidroxisuccinimídico del ácido 6-maleimidocaproico (3 mg, 9,5 μ mol). La reacción resultante se dejó agitar la reacción a temperatura ambiente durante unas 16 h. La mezcla de reacción se purificó directamente utilizando HPLC preparativa (columna C_{12} -RP, 5 μ , 100 Å, gradiente lineal de MeCN en agua (conteniendo ácido fórmico al 0,1%) desde 10% al 100% en 40 min seguido de 20 minutos a 100%, con un caudal de 25 ml/min) para proporcionar el compuesto **88** como un sólido ligeramente marrón. Rendimiento: 3,9 mg (cuant); ES-MS m/z 1391 $[M+H]^+$; $UV\lambda_{max}$ 205, 250 nm.

EJEMPLO 37

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 89



PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 89 A



5

El compuesto **89A** se preparó utilizando el método descrito en el Ejemplo 9 y sustituyendo el compuesto de tripéptido **43** por el producto intermedio del compuesto de tripéptido **42**.

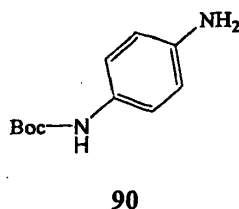
Preparación del Compuesto 89

El compuesto **89a** (0,13 g, 0,15 μ mol, 1,0 mmol), el compuesto **21** (0,12 g, 0,17 mmol, 1,1 eq.) y HOBt (4 mg, 31 μ mol, 0,2 eq.) se suspendieron en DMF/piridina (2 ml/0,5 ml, respectivamente). La reacción resultante se dejó en agitación durante unas 4 h., luego se le añadió diisopropiletilamina (27 μ l, 0,15 mmol, 1,0 eq.) y la reacción resultante se dejó en agitación durante unas 54 h, y se concentró a vacío. El aceite bruto resultante se diluyó con DMSO y se purificó utilizando HPLC preparativa (columna C₁₂-RP, 5 μ , 100 Å, gradiente lineal de MeCN en agua (que contenía TFA al 0,1%) desde 10% al 100% en 40 min seguido de 20 minutos a 100%, con un caudal de 25 ml/min) para proporcionar un aceite de color amarillo que se recogió en una cantidad mínima de diclorometano y se precipitó con abundante éter para producir el compuesto **89** como un polvo marrón.

Rendimiento: 0,15 mg (68 %). ES-MS m/z 1449,14 $[M+H]^+$; UV λ_{max} 215, 258 nm.

EJEMPLO 38

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO 90



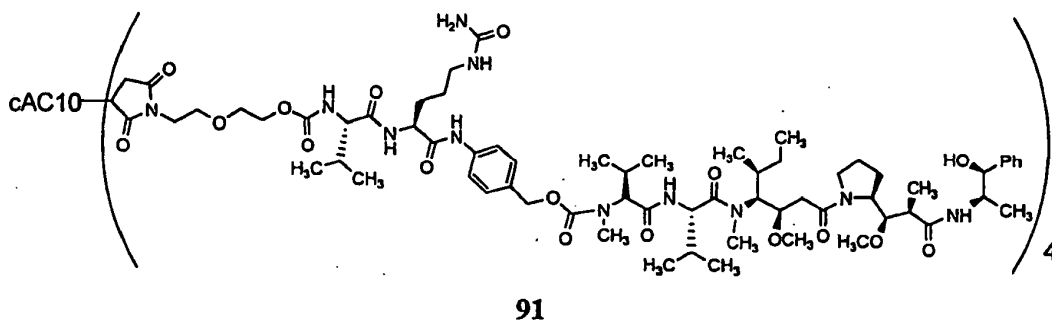
20

Se diluyó dihidrocloruro de 1,4-fenilendiamina (3,06 g, 17 mmoles) y dicarbonato di-t-butilico (3,69 g, 17 mmoles) con 30 ml de diclorometano. A la mezcla resultante se le añadió diisopropiletilamina (8,83 ml, 50,7 mmol, 3,0 eq.) y la reacción resultante se dejó en agitación durante 1 h. La mezcla de reacción se transfirió a un embudo de separación y la fase orgánica se lavó con agua (3 x 10 ml). La capa orgánica se conservó a 4 °C durante 15 h y se produjo la cristalización del producto. Los cristales se recogieron por filtración y se lavaron con diclorometano frío

25

para proporcionar el compuesto **90** como un sólido cristalino. (1,2 g, 34 %). $UV\lambda_{max}$ 215, 250 nm. 1H RMN (DMSO) δ 8,78 (1 H, sa), 7,04 (2 H, bd, $J = 7,2$ Hz), 6,43 (2H, d, $J = 7,2$ Hz), 4,72 (2H, s), 1,41 (9 H, s).

EJEMPLO 39

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **91**

5

10

Una solución de cAC10 (10 mg/ml en 25 mM de citrato sódico, 250 mM de cloruro de sodio, Tween 80 al 0,02 %, pH 6,5) se ajustó a pH 7,5 por adición de 0,3 M de fosfato de sodio dibásico. A esta solución de cAC10 con el pH ajustado se le añadió EDTA para una concentración final de 5 mM. Entonces la solución de cAC10 se calentó previamente a 37 °C por incubación en un horno de temperatura controlada. Después de equilibrar la temperatura de la solución de cAC10 a 37 °C, se añadió DTT (de una solución madre de 10 mM) para alcanzar una relación molar de DTT a cAC10 de alrededor de 3,0 en la reacción de reducción (se utilizó un peso molecular de 148.500 Da para cAC10). Se dejó que la reacción de reducción se desarrollase durante 2 horas a 37 °C.

15

20

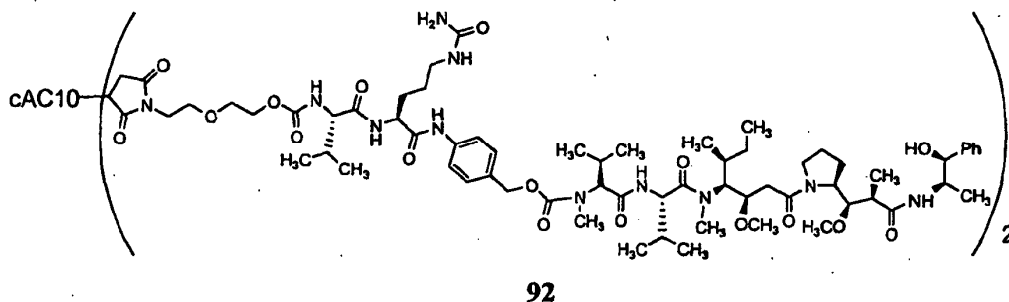
Al final de la incubación, la reacción de reducción se enfrió a una temperatura interna de 2 a 8 °C en un baño de hielo-agua. La temperatura de la solución se mantuvo entre 2 y 8 °C en todo el resto de los pasos de conjugación. La reacción de reducción fría se sometió a una diafiltración de volumen constante para eliminar el exceso de DTT utilizando una membrana de 30 kDa y el tampón se cambió por una solución salina tamponada con fosfato pH 7,4 (PBS). Después de la diafiltración, se determinó la concentración de tioles libres en el cAC10 reducido y diafiltrado utilizando el Procedimiento General M. La conjugación se realizó entonces mediante la adición de un exceso molar del 15% del compuesto **58** (de una solución madre de 13 mg/ml en DMSO) en relación con los tioles totales determinados mediante el Procedimiento General M. Se añadió más DMSO a la reacción de conjugación para lograr una concentración final de DMSO del 15% (v/v). Se dejó que la reacción de conjugación se desarrollase durante un total de 30 min.

25

Al final de la reacción de conjugación, se extinguió cualquier excedente del compuesto de fármaco-conector sin reaccionar por la adición de abundante cisteína (exceso molar de 2X con respecto a los tioles totales determinados utilizando el Procedimiento General M, realizado en el cAC10 reducido y diafiltrado para producir la mezcla de reacción extinguida. La mezcla de reacción extinguida se purificó eliminando los contaminantes de molécula pequeña a través de una diafiltración de volumen constante utilizando una membrana de 30 kDa y el tampón se cambió por PBS, pH 7,4. Después de la diafiltración, el conjugado se pasó por un filtro estéril utilizando un filtro de 0,22 micras para proporcionar el compuesto **91** en una solución clara e incolora.

30

EJEMPLO 40

PREPARACIÓN DEL COMPUESTO **92**

El compuesto **92** se preparó utilizando el método descrito en el Ejemplo 39 utilizando una cantidad de DTT (de una solución madre de 10 mM), que proporcionó una relación molar final de DTT-cAC10 de aproximadamente 1,5 en la reacción de reducción.

6.2 EXPERIMENTOS DE CITOTOXICIDAD IN VITRO

- 5 Las líneas celulares utilizadas fueron carcinoma de mama humano H3396 (positivo al antígeno cBR96, negativo al antígeno cAC10), carcinoma colorrectal humano HCT-116 (negativo al antígeno cBR96 y cAC10) y linfoma anaplásico de células grandes humano Karpas (LACG) (negativo al antígeno cBR96, positivo al antígeno cAC10). Estas líneas celulares son suministradas por el ATCC. La línea celular L540 de la enfermedad de Hodgkin (HD) de positiva a CD30 y la línea celular Karpas 299 se obtuvieron de la Deutsche Sammlung von und Mikroorganism Zellkulturen GmbH (Braunschweig, Alemania). L540cy, un derivado de la L540 HD adaptado al crecimiento de aloinjertos, fue proporcionado por el Dr. Phil Thorpe (Universidad de Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX). Las líneas celulares se cultivaron en medio RPMI-1640 (Life Technologies Inc., Gaithersburg, MD), complementadas con suero fetal bovino al 10%. Se sembraron las células H3396 en RPMI con suero fetal bovino al 10% (al que se llamará medio) en placas de 96 pocillos a aproximadamente 3.000-10.000 células/pocillo y se dejó que se adhirieran durante toda la noche. La línea celular Karpas no adherente se sembró en aproximadamente 10.000 células/pocillo al inicio del ensayo. Se añadieron varias concentraciones de los compuestos ilustrativos de la invención en el medio por triplicado, y después de los tiempos indicados en las figuras 1-7, se retiró el medio y las células se lavaron con medio fresco tres veces. Después de un período de 96 horas de incubación a 37 °C, se añadió azul Alamar y se determinó la viabilidad celular 4 horas más tarde según lo descrito por Ahmed SA, Gogal RM Jr, Walsh JE., J. Immunol. Methods, 170, 211-224, 1994.

Se utilizaron ratones C.B.-17 SCID (Harlan, Indianapolis, IN) para los experimentos in vivo.

EJEMPLO 41

DATOS DE CITOTOXICIDAD IN VITRO

- 25 Los efectos citotóxicos del compuesto **49** y el compuesto **53** en las células de carcinoma de mama humano H3396 se muestran en la figura 1. Los datos muestran que después de la exposición durante 1 hora, el compuesto **53** es más citotóxico que el compuesto **49** en concentraciones de hasta 0,01 mM. Los compuestos muestran sustancialmente la misma citotoxicidad a concentraciones entre 0,01 mM y 1,0 mM.

EJEMPLO 42

DATOS DE CITOTOXICIDAD IN VITRO

- 30 La figura 2 muestra los efectos citotóxicos de los compuestos **64**, **65**, **68** y **69** en células de carcinoma de mama humano H3396 (positivo al antígeno cBR96, negativo al antígeno cAC10). Los datos muestran que los compuestos **64** y **68** demuestran una citotoxicidad similar y significativa, mientras que los compuestos **65** y **69** son menos eficaces, pero citotóxicos contra las células H3396 en este ensayo en particular.

EJEMPLO 43

- 35 **DATOS DE CITOTOXICIDAD IN VITRO**

La figura 3 muestra los efectos citotóxicos de los compuestos **64**, **65**, **68** y **69** en células de carcinoma colorrectal humano HCT-116 (negativo al antígeno cBR96, negativo al antígeno cAC10). Los datos ilustran que ninguno de los compuestos **64**, **65**, **68** y **69** es citotóxico hacia las células HCT-116 con el negativo al antígeno en este ensayo.

EJEMPLO 44

- 40 **DATOS DE CITOTOXICIDAD IN VITRO**

La figura 4 ilustra los efectos citotóxicos de los compuestos **66** y **68** en células de carcinoma de mama humano H3396 (positivo al antígeno cBR96). Los datos muestran que ambos compuestos son altamente citotóxicos a concentraciones superiores a 0,1 mM y que el Compuesto **68** muestra una mayor citotoxicidad que el compuesto **66** en concentraciones entre 0,01 mg/ml y 0,4 mg/ml.

- 45 **EJEMPLO 45**

DATOS DE CITOTOXICIDAD IN VITRO

- La figura 5 ilustra la citotoxicidad de los compuestos **66**, **68** y **69** en el linfoma anaplásico de células grandes humano Karpas (negativo al antígeno cBR96, positivo al antígeno cAC10). Los datos muestran que el compuesto **69** era más citotóxico hacia las células Karpas en comparación con los compuestos **68** y **66** en este ensayo. El compuesto **69** demostró una citotoxicidad significativa con concentraciones superiores a 0,001 mM, mientras que el compuesto **66** y el compuesto **68** no fueron citotóxicos a concentraciones inferiores a 1,0 mg/ml.

EJEMPLO 46

DATOS DE CITOTOXICIDAD IN VITRO

La figura 6 ilustra la citotoxicidad de los compuestos **66** y **67** a las 2 h. y 96 h. en células de carcinoma de mama humano H3396 (positivo al antígeno cBR96, negativo al antígeno cAC10). Los datos muestran que el compuesto **66** es altamente citotóxico a concentraciones superiores a 100 mg/ml en una exposición a corto plazo (2 h) mg/ml, y en concentraciones superiores a 100 mg/ml durante la exposición a largo plazo (96 h). El compuesto **67** no demostró citotoxicidad contra las células H3396 en este ensayo en concentraciones de hasta 1000 mg/ml.

Procedimiento general S: Prueba in vivo de una selección de conjugados de fármaco-conector-anticuerpo.

Para la línea celular de adenocarcinoma humano L2987, a unos ratones atímicos (de 8-10 semanas de edad) se les implantaron tumores o células tumorales de aloinjerto. Para el modelo de linfoma anaplásico de células grandes humano Karpas, se implantaron a ratones CB-17 SCID subcutáneamente con 5×10^6 células. En los dos modelos tumorales, la terapia se inició una vez que los tumores alcanzaron un volumen medio de 100 mm³. Los grupos de ratones fueron inyectados con uno de los compuestos **66-69** en solución salina tamponada con fosfato por vía intravenosa cada cuatro días para un total de 6 inyecciones para los animales con L2987 y dos inyecciones para los animales con Karpas. El volumen tumoral se calculó utilizando la fórmula: $0,5 \text{ (dimensión mayor} \times \text{dimensión}^2 \text{ perpendicular)}$. Los ratones se retiraron del estudio cuando los tumores fueron de aproximadamente 1.000 mm³, momento en el que el tamaño medio del tumor en el grupo en particular dejó de representarse en el gráfico.

EJEMPLO 47

EFICACIA TERAPÉUTICA IN VIVO EN TUMORES L2987

La figura 7 muestra los efectos terapéuticos de los compuestos **66-69** en tumores de aloinjertos de adenocarcinoma pulmonar humano L2987 (positivo al antígeno cBR96, negativo al antígeno cAC10) implantados en ratones atímicos. Se siguió el Procedimiento general S utilizando tumores pulmonares humanos L2987 subcutáneos (para su transferencia in vivo). A los ratones se les administró por inyección uno de los compuestos **66, 67, 68** o **69** a intervalos de cuatro días para un total de 6 inyecciones. La primera inyección fue a los 15 días posteriores al implante del tumor. Los datos ilustran que la administración del compuesto **66** y el compuesto **68** reduce notablemente el volumen del tumor sin que se observara ningún crecimiento adicional en los ratones tratados durante aproximadamente 25 días después de la última inyección. El compuesto **67** y el compuesto **69** fueron menos eficaces, pero inhibieron la multiplicación de las células tumorales en los ratones tratados. La prueba se detuvo en los animales que recibieron los compuestos **67** y **69** cuando el volumen del tumor superó 1.000 mm³.

EJEMPLO 48

EFICACIA TERAPÉUTICA IN VIVO EN TUMORES KARPAS

La figura 8 muestra los efectos terapéuticos de los compuestos **66-69** en tumores de aloinjertos de linfoma anaplásico de células grandes humano Karpas (positivo al antígeno cAC10, negativo al antígeno cBR96) implantados en ratones atímicos. Se siguió el Procedimiento General S utilizando el modelo de linfoma anaplásico de células grandes humano Karpas, implantando a ratones CB-17 SCID subcutáneamente con 5×10^6 células. A los ratones se les administró por vía intravenosa uno de los compuestos **66, 67, 68** o **69** a intervalos de cuatro días para un total de 2 inyecciones empezando en el día 8. Los datos ilustran que los compuestos **67** y **69** indujeron regresiones completas y que los tumores progresaron en los animales que recibieron cantidades sustancialmente equivalentes de los compuestos **66** y **68**.

EJEMPLO 49

DETERMINACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD DE UNA SELECCIÓN DE COMPUESTOS EN CÉLULAS CD30- Y CD30+

Después de su caracterización física, se evaluó la citotoxicidad in vitro de los compuestos **67, 91** y **92** en células CD30⁺ Karpas 299 y CD30⁻ Raji utilizando el ensayo con azul Alamar como se describió anteriormente. El porcentaje de células viables se representó en un gráfico frente a la concentración de cada molécula para determinar la IC₅₀ (definida como la concentración de mAb con la que se obtuvo una eliminación del 50% de las células).

El compuesto **67** demostró actividad contra de las células Karpas 299 con un IC₅₀ de 4 ng/ml. El IC₅₀ fue inversamente proporcional a la carga del fármaco, ya que aumentó de 4 ng/ml para el compuesto **67** a 7 ng/ml para el Compuesto **91** y a 40 ng/ml para el compuesto **92**. La selectividad de los compuestos probados se evaluó utilizando la línea celular Raji con el negativo al antígeno, que fue insensible para todos los compuestos que contenían cAC10 con valores de IC₅₀ > 1000 ng/ml para los compuestos **67, 91** y **92**.

EJEMPLO 50

CITOTOXICIDAD EN UNA SELECCIÓN DE COMPUESTOS EN MODELOS DE ALOINJERTOS DE HD Y ALCL

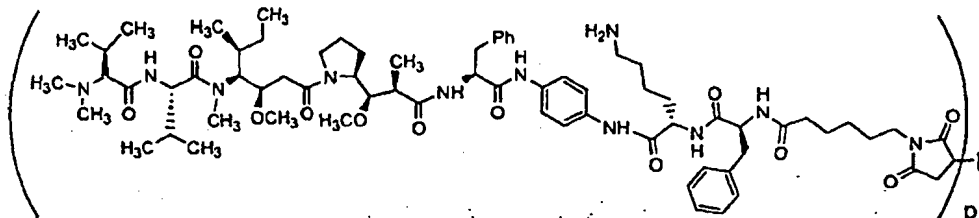
Se evaluó la citotoxicidad de los compuestos **67**, **91** y **92** en modelos de aloinjertos de enfermedad de Hodgkin L540c2 y de linfoma de células grandes anaplásico humano Karpas 299 en ratones C.B.-17 SCID. Las evaluaciones se iniciaron cuando el volumen de los tumores alcanzó un promedio de 50 a 100 mm³. Las cohortes de ratones portadores de Karpas-299 se inyectaron 4 veces durante 4 días con el compuesto **92**, el compuesto **91** o el compuesto **67** con 0,25 mg/kg o 0,5 mg/kg. Ninguno de los animales tratados con 0,25 mg/kg tuvo una regresión, aunque se produjo un retraso en el crecimiento tumoral, en comparación con los controles no tratados, de los animales tratados con el compuesto **91** y el compuesto **67**. El tratamiento de los tumores Karpas con el compuesto **91** y el compuesto **67** con 0,5 mg/kg 4 veces al día durante 4 días consiguió 5/5 regresiones completas y 4/5 regresiones completas, respectivamente. Se observó un retraso en el crecimiento del tumor, en comparación con los animales no tratados para el Compuesto **92** con 0,5 mg/kg 4 veces al día durante 4 días, pero no se obtuvieron regresiones completas.

También se probó la eficacia en un modelo de Karpas subcutáneo con una selección de compuestos administrados como una dosis única. El compuesto **91** y el compuesto **67** fueron inyectados con dosis única de 0,25, 0,5 y 2,0 mg/kg. En la dosis de 0,25 mg/kg no hubo actividad antitumoral en ninguno de los grupos y el volumen medio del tumor no se desvió de los controles no tratados. Se demostró un retraso en el crecimiento del tumor por las dos moléculas de 0,5 mg/kg, pero no se obtuvieron regresiones completas. El tratamiento de los ratones con el compuesto **91** y el compuesto **67** con 2 mg/kg alcanzó el 100% de las regresiones completas en ambos grupos.

El compuesto **91** y el compuesto **67** se compararon también en ratones portadores de tumores HD humanos L540cy subcutáneos tratados 4 veces al día durante 4 días con el compuesto **91** y el compuesto **67** con 1 y 3 mg/kg. En los ratones tratados con el compuesto **91** y el compuesto **67** con 1 mg/kg se produjeron retrasos significativos en el crecimiento del tumor en comparación con los animales no tratados. Se observaron regresiones completas en los ratones administrados con ambos, el compuestos **91** y el compuesto **67** con 3 mg/kg.

La presente invención también se refiere a las siguientes secciones.

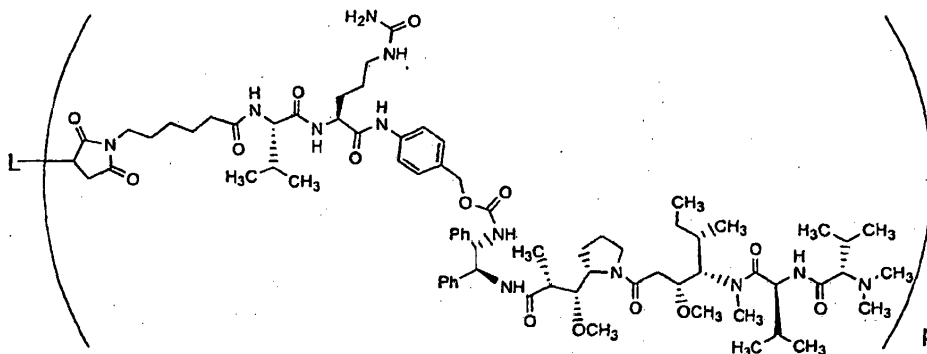
§1. El compuesto que tiene la estructura



en la que p varía de 1 a aproximadamente 20, o uno de sus solvatos o sales farmacéuticamente aceptables.

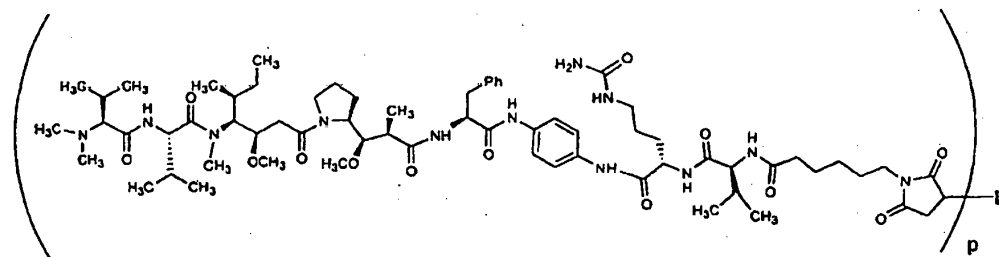
§2. El compuesto que tiene la estructura

en la que p varía de 1 a aproximadamente 20, o uno de sus solvatos o sales farmacéuticamente aceptables.

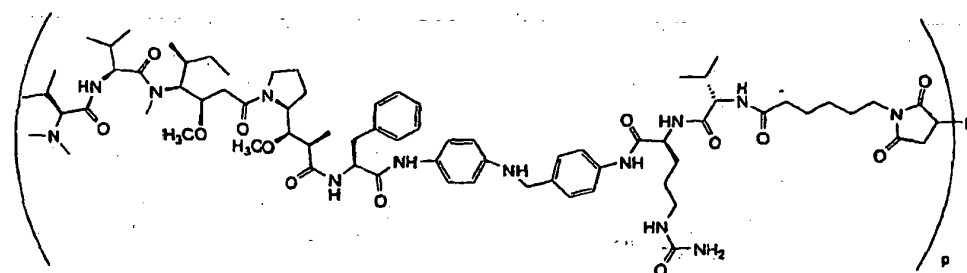


30

§3. El compuesto que tiene la estructura



en la que p varía de 1 a aproximadamente 20, o uno de sus solvatos o sales farmacéuticamente aceptables.



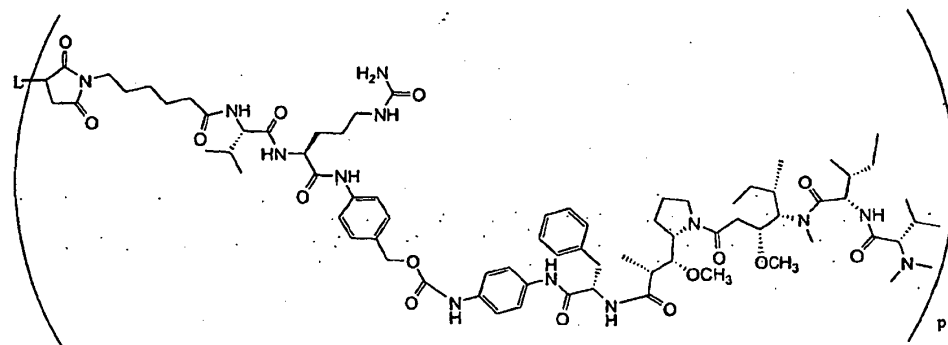
-230-

5 §4. El compuesto que tiene la estructura

en la que p varía de 1 a aproximadamente 20, o uno de sus solvatos o sales farmacéuticamente aceptables.

§5. El compuesto que tiene la estructura

en la que p varía de 1 a aproximadamente 20, o uno de sus solvatos o sales farmacéuticamente aceptables.



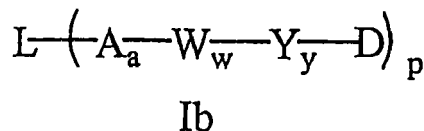
10 §14. El compuesto de una cualquiera de §1-5, en el que p varía de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

§ 15. El compuesto de una cualquiera de §1-5, en el que p varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5.

§16. El compuesto de una cualquiera de §1-5, en el que p varía de 1 a aproximadamente 3.

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de fórmula Ib:



y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo en el que,

5 L- es una unidad de ligando;

-A- es una unidad de extensor;

a es 0 o 1;

cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

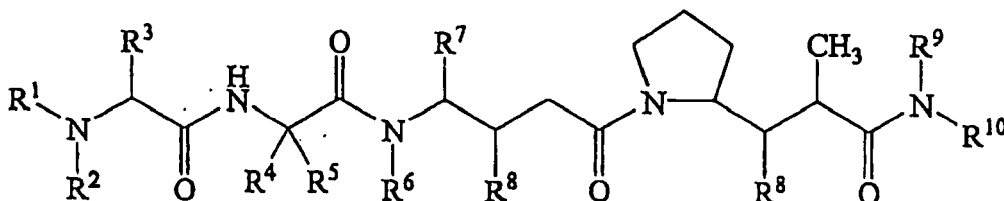
-Y- es una unidad de separador;

10 w es un número entero que varía de 2 a 12;

y es 0, 1 o 2;

p varía de 1 a aproximadamente 20; y

-D es una unidad de fármaco de la fórmula



15 donde, de forma independiente en cada lugar:

R¹ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo; y R² se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo; o R¹ y R² juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

20 R³ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

R⁴ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo), donde R⁵ se selecciona de -H y -metilo;

25 o R⁴ y R⁵ juntos, tienen la fórmula -(CR^aR^b)_n- donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

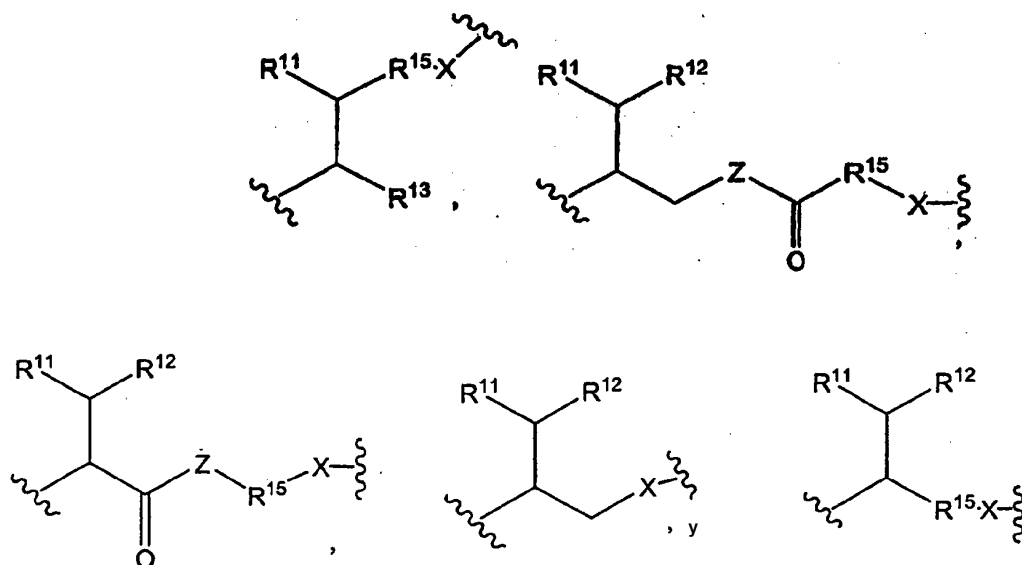
R⁶ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R⁷ se selecciona de -H, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R⁸ se selecciona independientemente de -H, -OH, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo y -O-(C₁-C₈ alquilo);

30 R⁹ se selecciona de -H y -C₁-C₈ alquilo;

R¹⁰ se selecciona de



X es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-, donde X está unido a Y cuando y es 1 o 2, o X se une a W cuando y es 0;

5 Z es -O-, -S-, -NH- o -N(R¹⁴)-;

R¹¹ se selecciona de -H, -OH, NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), -C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo); o R¹¹ es un átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

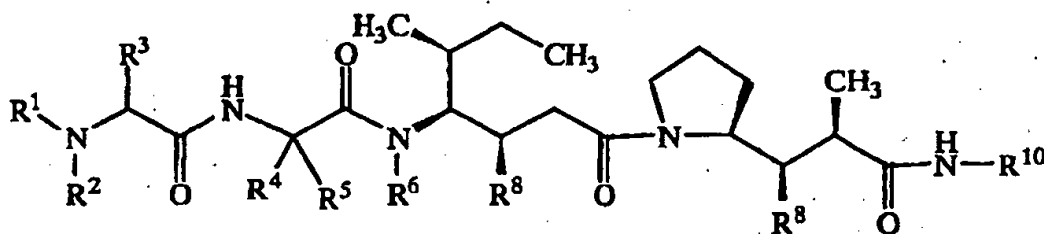
10 cada R¹² se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

R¹³ se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R¹⁴ es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo; y

R¹⁵ se selecciona de -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- o -C₃-C₈ heterociclo-.

15 2.- Un compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 1, en el que -D es una unidad de fármaco que tiene la estructura:



o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

donde, de forma independiente en cada lugar:

R¹ se selecciona de -H, y -metilo;

20 R² se selecciona de -H, y -metilo;

R³ se selecciona de -H, -metilo e -isopropilo;

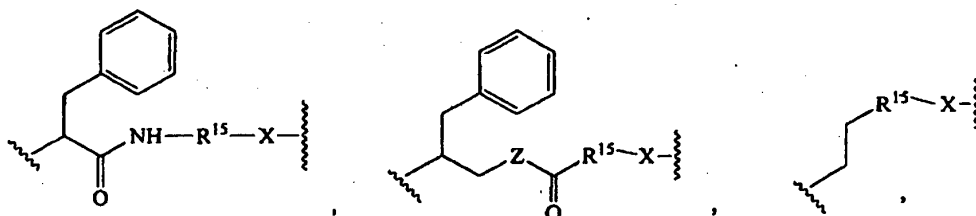
R⁴ se selecciona de -H y -metilo; R⁵ se selecciona de -isopropilo, -isobutilo, -sec-butilo, -metilo y -t-butilo; o

R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, -C₁-C₈ alquilo y -C₃-C₈ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

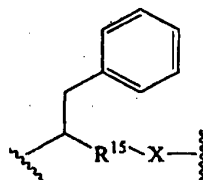
R^6 se selecciona de -H, y -metilo;

5 cada R^8 se selecciona independientemente de -OH, -metoxi y -etoxi;

R^{10} se selecciona de



y



en donde X es -O-, -NH-, o -N(R^{14})- y forma un enlace con Y cuando y es 1 o 2, o con W cuando y es 0;

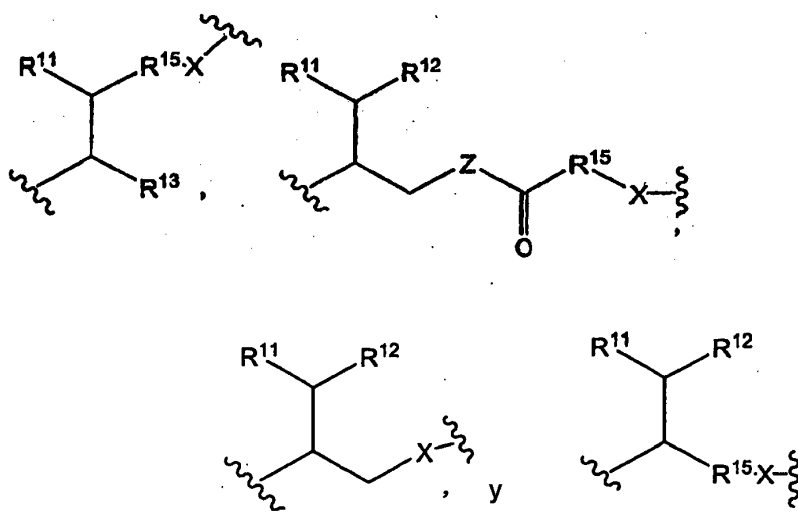
10 Z es -O-, -NH-, o -N(R^{14})-;

R^{13} es -H, o -metilo;

R^{14} es -C₁-C₈ alquilo; y

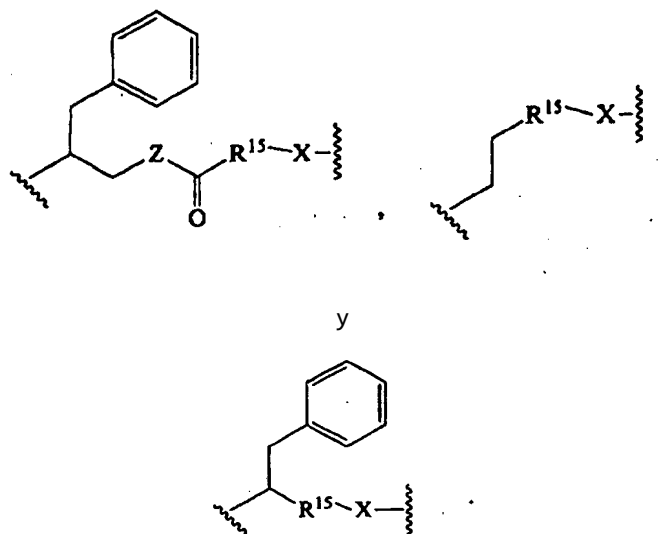
R^{15} es -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo, o -C₃-C₈ heterociclo-.

15 3.- El compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 1, en el que R^1 es -H, R^{10} se selecciona de:



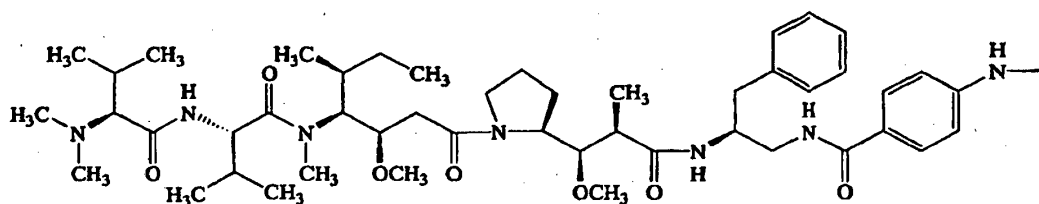
o el

compuesto, un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 2, en el que R^1 es - metilo, R^{10} se selecciona de:

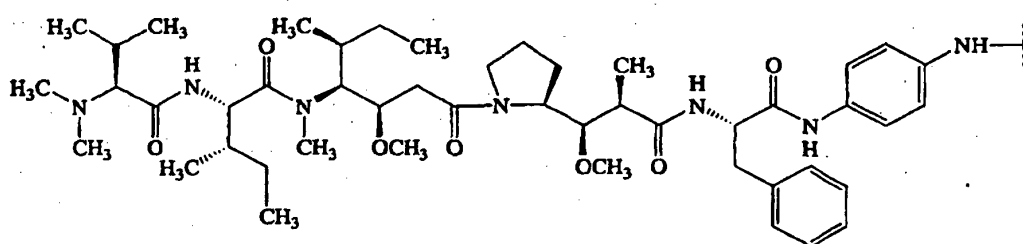


5

4.- Un compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 1, en el que - D es una unidad de fármaco que tiene la estructura:

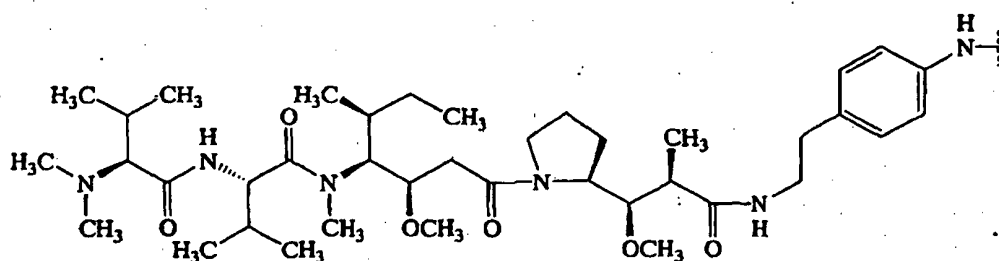


o

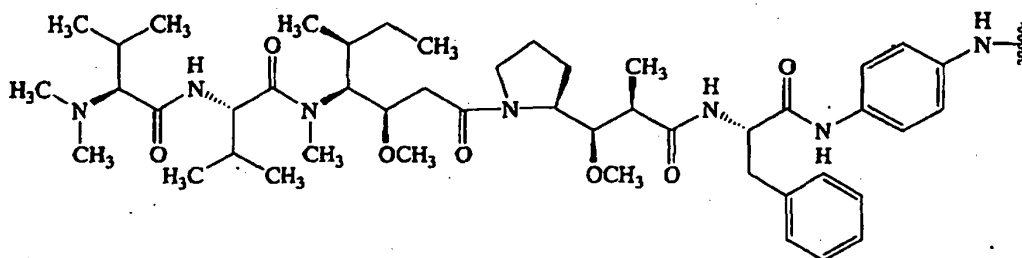


10

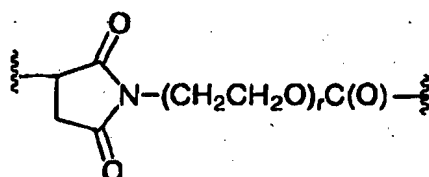
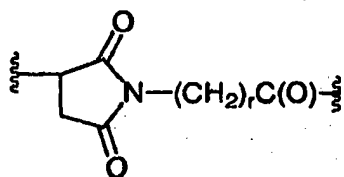
5.- Un compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 1, en el que - D es una unidad de fármaco que tiene la estructura:



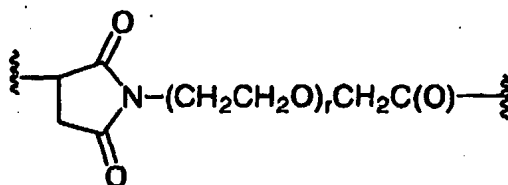
o



6.- El compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las reivindicaciones 1, 2 o 3, en el que -A- está presente y es:

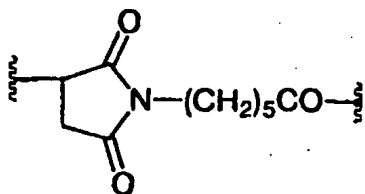


5



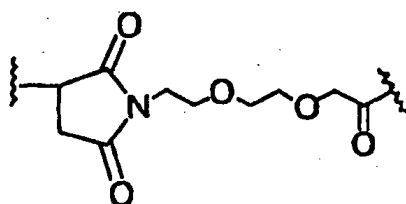
y r es un número entero que varía de 1-10.

7.- El compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las reivindicaciones 1, 2 o 3, en el que -A- está presente y es:



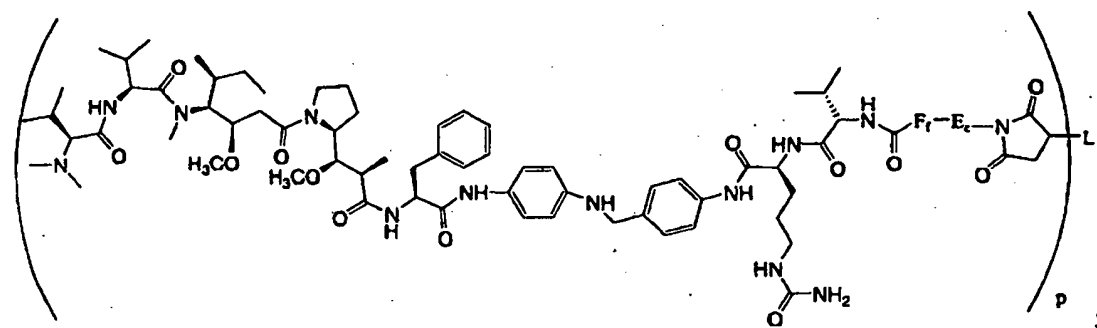
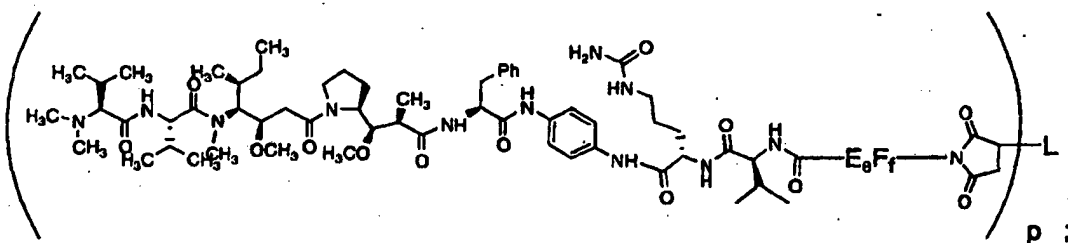
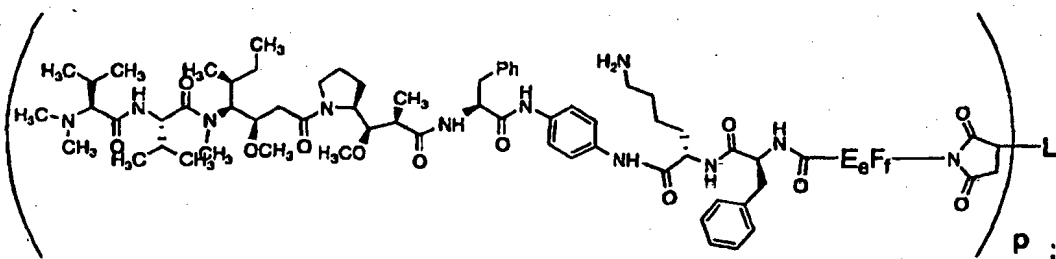
10

O

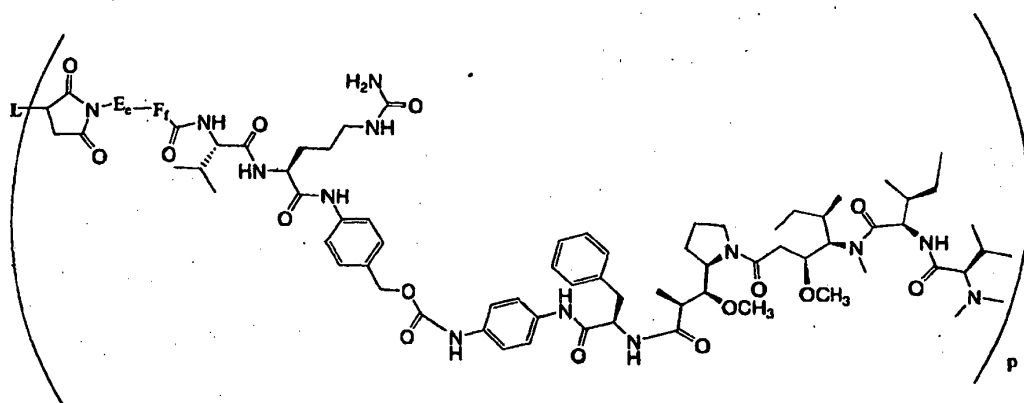


8.- El compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las reivindicaciones 1, 2 o 3, en el que $-W_w-$ es -fenilalanina-lisina-o -valina-citrulina, y el amino terminal de $-W_w-$ forma un enlace con una unidad de extensor cuando a es 1, o con una unidad de ligando si a es 0, y el C-terminal de $-W_w-$ forma un enlace con una unidad de espaciador cuando y es 1 o 2, y con una unidad de fármaco cuando y es 0.

5 9.- El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura:



0

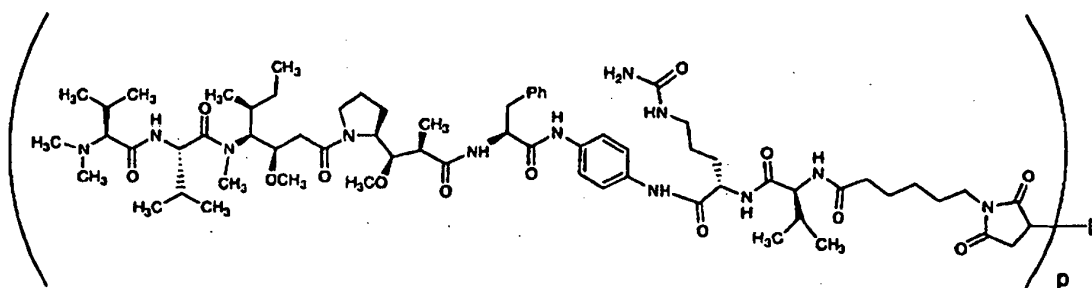
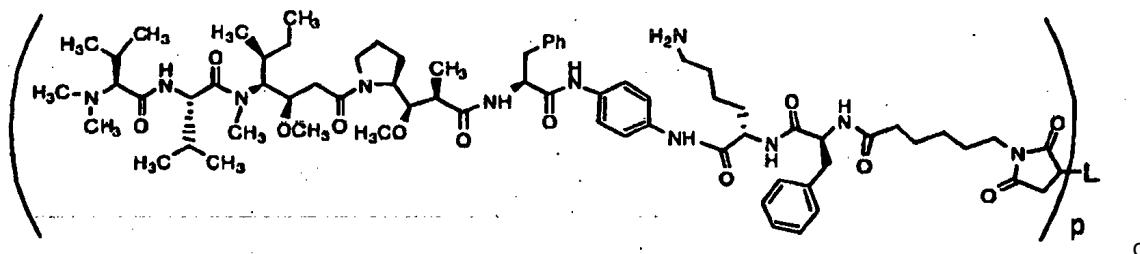


10

o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

en el que L- es una unidad de ligando; E es $-\text{CH}_2-$ o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$; e es un número entero que varía de 0-10 cuando E es $-\text{CH}_2-$, o de 1-10 cuando E es $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$; F es $-\text{CH}_2-$; f es 0 o 1; y p varía de 1 a aproximadamente 20.

10.- El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura:



en el que p varía de 1 a aproximadamente 20, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

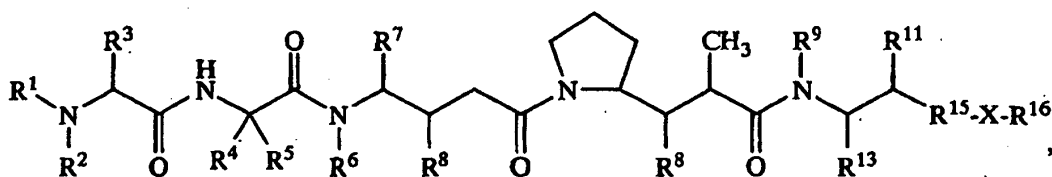
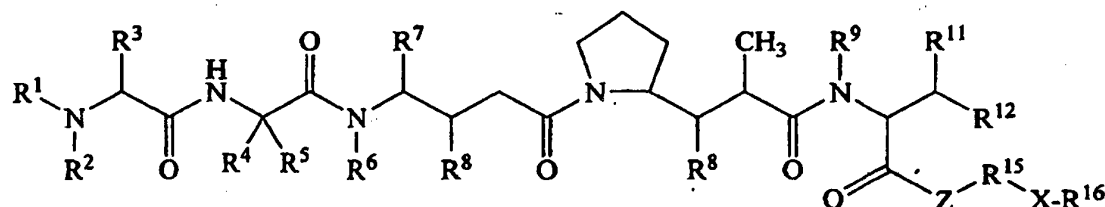
11.- Un compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que la unidad de ligando es una unidad de anticuerpo.

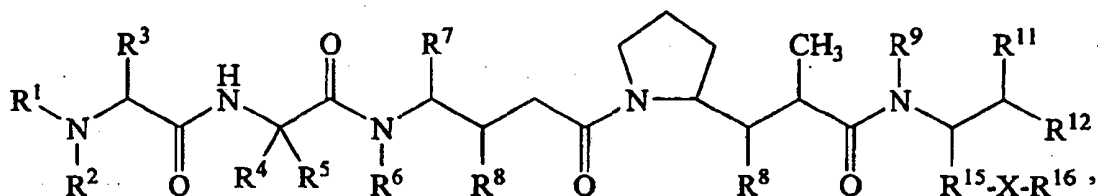
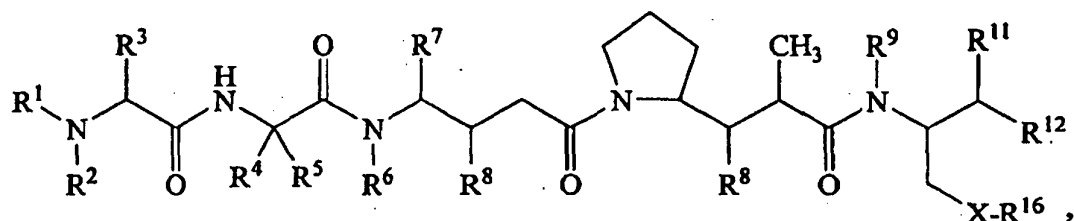
12.- Un compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 11, en el que la unidad de anticuerpo es una unidad de anticuerpo monoclonal.

13.- Un compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 11, en el que la unidad de anticuerpo es inmuno-específica para un antígeno de una célula cancerosa.

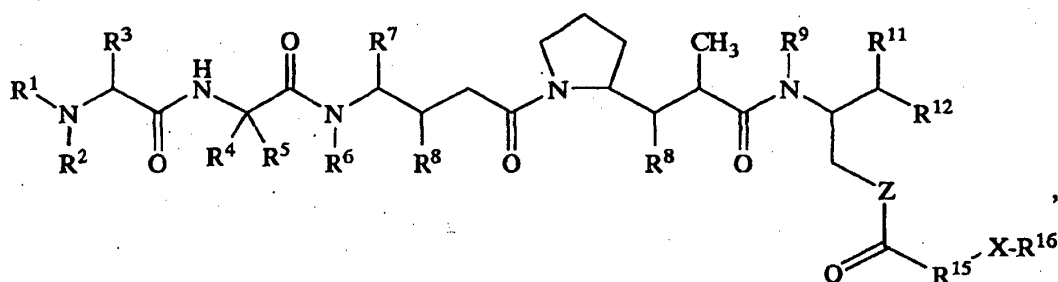
14.- Un compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que p varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5.

15.- Un compuesto de fórmula:





o



- 5 o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
en el que, independientemente en cada lugar:

R^1 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo; y R^2 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo; o R^1 y R^2 juntos tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de nitrógeno al que están unidos;

- 10 R^3 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo);

R^4 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo) donde R^5 se selecciona de -H y -metilo; o

- 15 R^4 y R^5 juntos, tienen la fórmula $-(CR^aR^b)_n$ donde R^a y R^b se seleccionan independientemente de -H, $-C_1-C_8$ alquilo y $-C_3-C_8$ carbociclo y n se selecciona de 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

R^6 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

R^7 se selecciona de -H, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo);

cada R^8 se selecciona independientemente de -H, -OH, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo y $-O-(C_1-C_8)$ alquilo);

- 20 R^9 se selecciona de -H y $-C_1-C_8$ alquilo;

Z es -O-, -S-, -NH- o $-N(R^{14})$ -;

X es -O-, -S-, -NH- o $-N(R^{14})$ -;

R^{11} se selecciona de -H, -OH, $-NH_2$, $-NHR^{14}$, $-N(R^{14})_2$, $-C_1-C_8$ alquilo, $-C_3-C_8$ carbociclo, $-O-(C_1-C_8)$ alquilo, -arilo, $-C_1-C_8$ alquil-arilo, $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) carbociclo, $-C_3-C_8$ heterociclo y $-C_1-C_8$ alquil- (C_3-C_8) heterociclo); o R^{11} es un

átomo de oxígeno que forma una unidad de carbonilo (C=O) con el átomo de carbono al cual está unido y un átomo de hidrógeno en este átomo de carbono se sustituye por uno de los enlaces en el enlace doble (C=O);

cada R^{12} se selecciona independientemente de -arilo y -C₃-C₈ heterociclo;

5 R^{13} se selecciona de -H, -OH, -NH₂, -NHR¹⁴, -N(R¹⁴)₂, -C₁-C₈ alquilo, -C₃-C₈ carbociclo, -O-(C₁-C₈ alquilo), -arilo, -C₁-C₈ alquil-arilo, -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ carbociclo), C₃-C₈ heterociclo y -C₁-C₈ alquil-(C₃-C₈ heterociclo);

cada R^{14} es independientemente -H o -C₁-C₈ alquilo;

R^{15} se selecciona de -arileno-, -C₃-C₈ carbociclo- y -C₃-C₈ heterociclo-;

R^{16} es -Y_Y-W_W-A'

donde

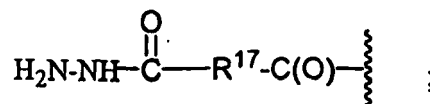
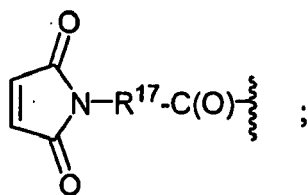
10 cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido;

-Y- es una unidad de separador;

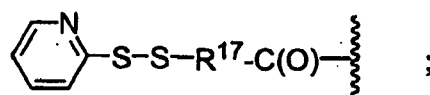
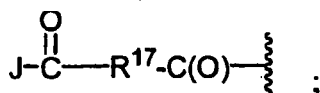
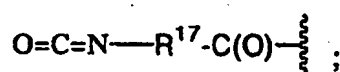
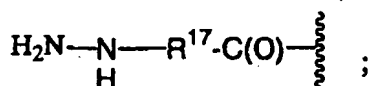
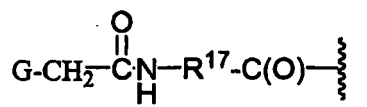
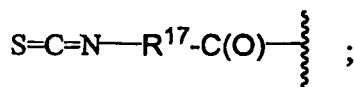
w es un número entero que varía de 2 a 12;

y es 0, 1 o 2; y

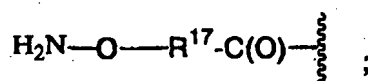
-A' se selecciona de



15



y



donde

G se selecciona de -Cl, -Br, -I, -O-mesilo y -O-tosilo;

J se selecciona de -Cl, -Br, -I, -F, -OH, -O-N-succinimida, -O-(4-nitrofenilo), -O-pentafluorofenilo, -O-tetrafluorofenilo y -O-C(O)-OR¹⁸;

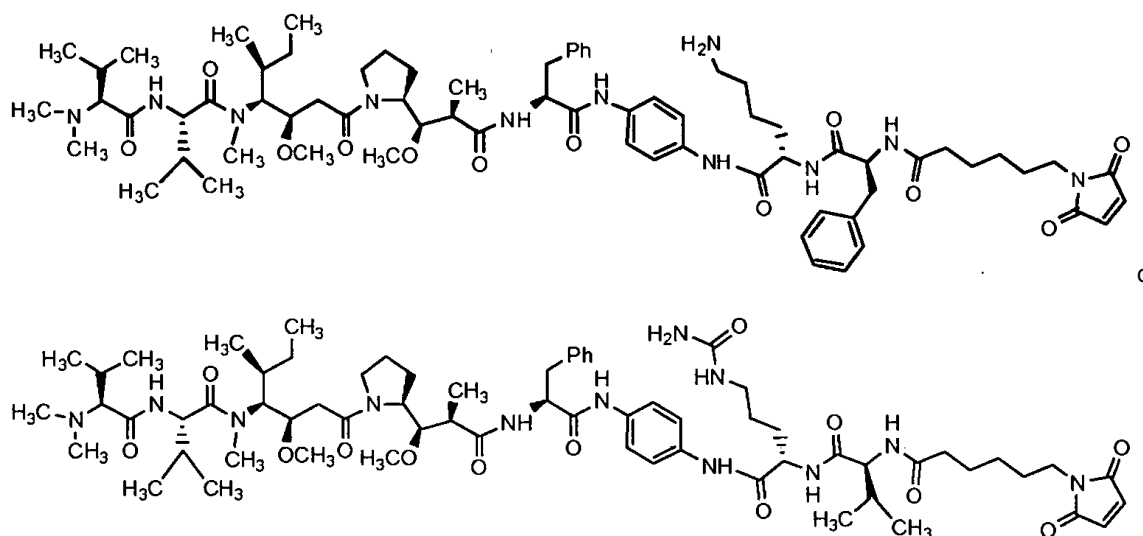
5 R¹⁷ se selecciona de -C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ carbociclo-, -O-(C₁-C₈ alquilo)-,

-arileno-, -C₁-C₁₀ alquileo-arileno-, -arileno-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ carbociclo)-, -(C₃-C₈ carbociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -C₃-C₈ heterociclo-, -C₁-C₁₀ alquileo-(C₃-C₈ heterociclo)-, -(C₃-C₈ heterociclo)-C₁-C₁₀ alquileo-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-;

r es un número entero que varía entre 1-10; y

10 R¹⁸ es -C₁-C₈ alquilo o -arilo.

16.- El compuesto de la reivindicación 15, que tiene la estructura:



o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 17.- Una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto, o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14; y un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable.

**Citotoxicidad en células H3396
ensayo de 1 hora de exposición**

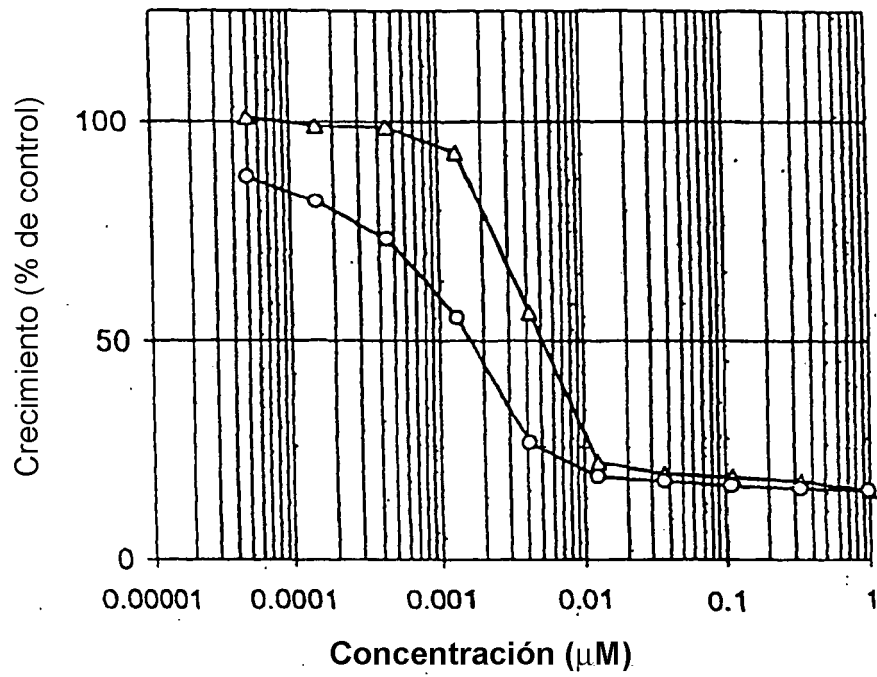


Fig. 1

Citotoxicidad in vitro en células H3396
exposición de 2 horas del conjugado
(cBR96 Ag +, cAC10 Ag -)

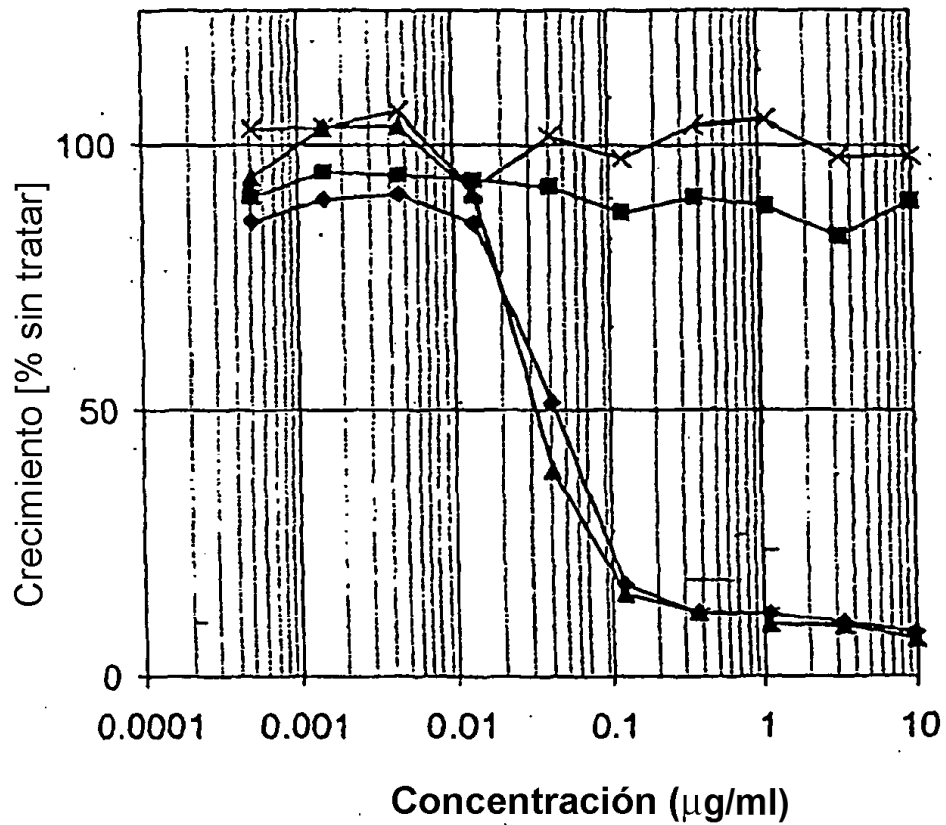


Fig. 2

Citotoxicidad in vitro en células HCT-116
exposición de 2 horas del conjugado
(cBR96 Ag⁻, cAC10 Ag⁻)

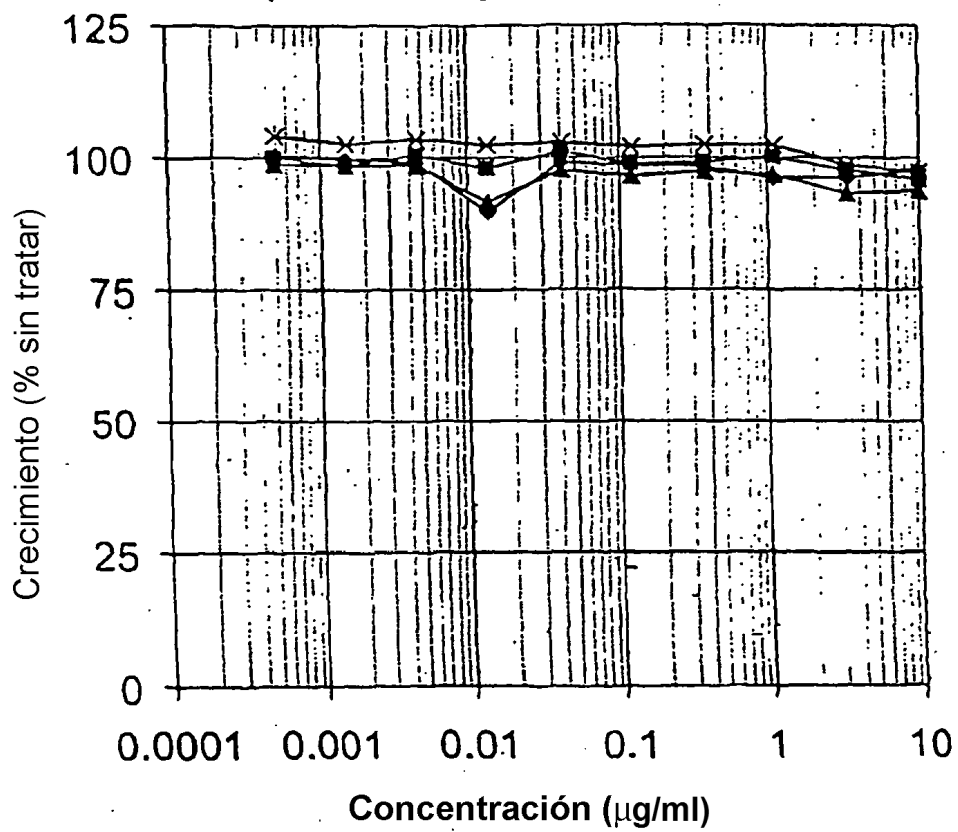


Fig. 3

Citotoxicidad en células H3396
ensayo de 2 horas de exposición
(BR96 Ag +)

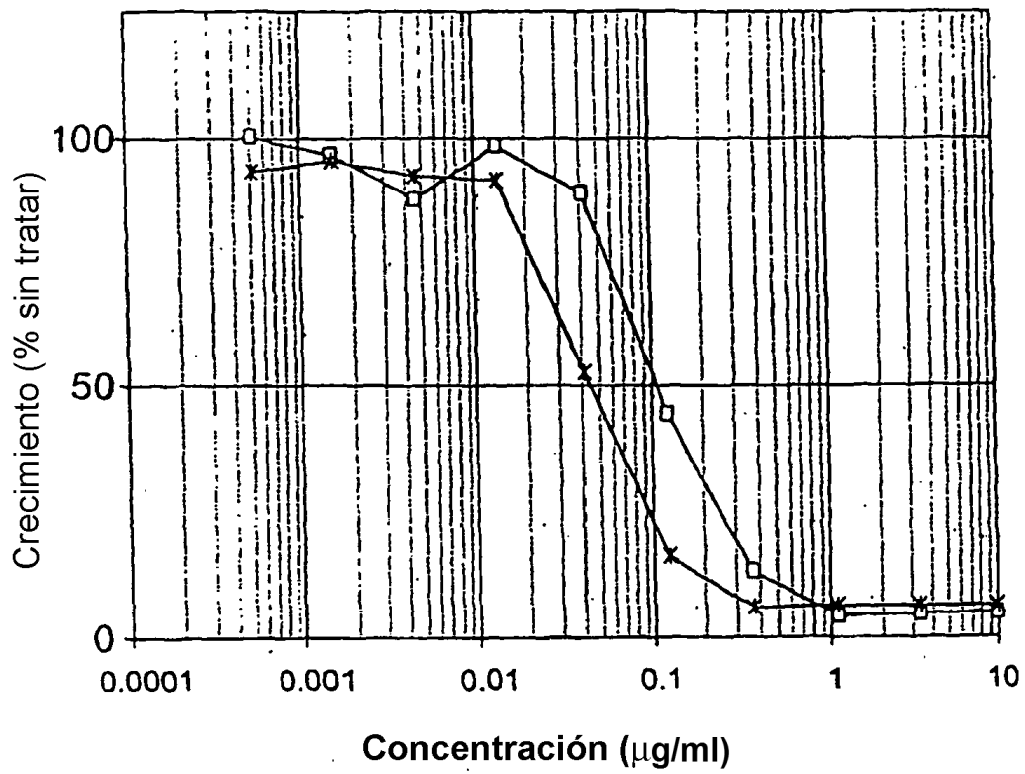


Fig. 4

Citotoxicidad in vitro en células Karpas
exposición de 2 horas del conjugado
(cBR96 Ag -, cAC10 Ag +)

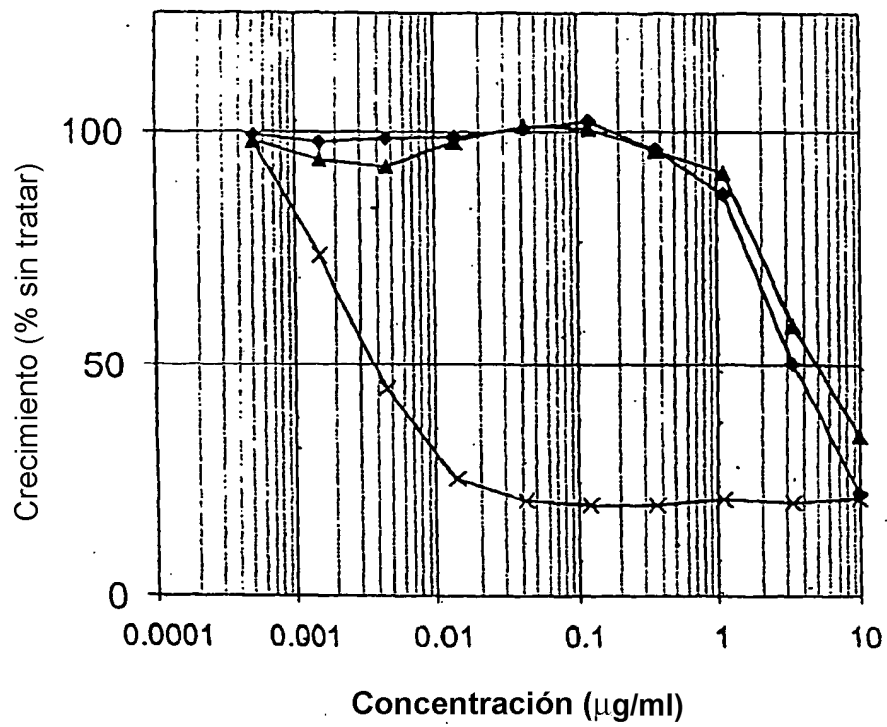


Fig. 5

Citotoxicidad en células H3396
(cBR96 Ag +, cAC10 Ag -)

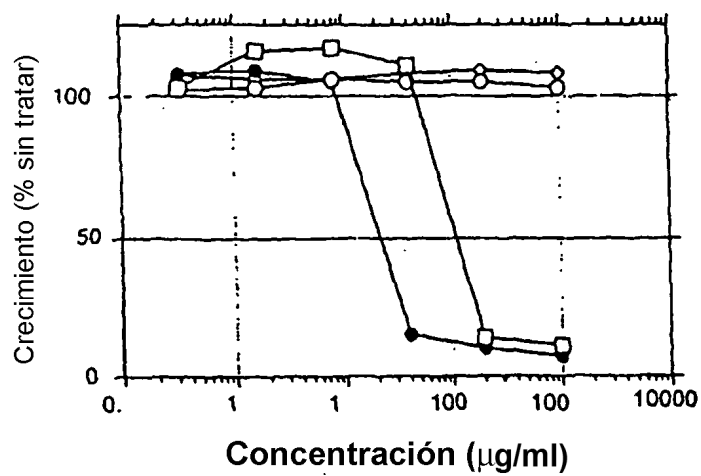


Fig. 6

Terapia in vivo de tumores L2987
(cBR96 Ag +, cAC10 Ag -)

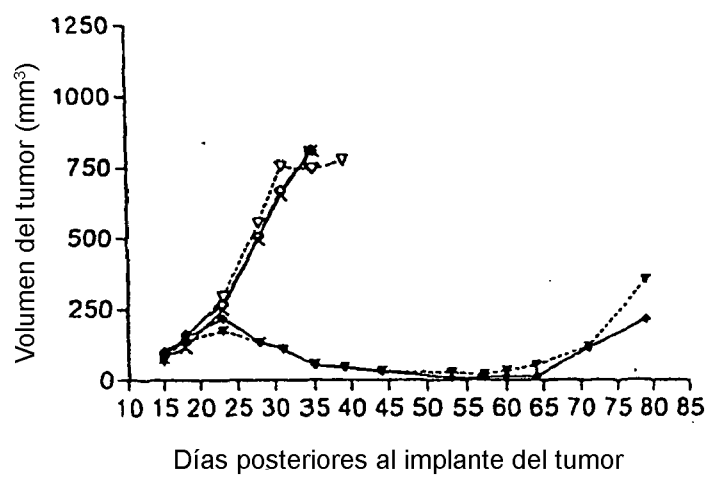


Fig. 7

Terapia in vivo de tumores Karpas
(cAC10 Ag +, cBR96 Ag -)

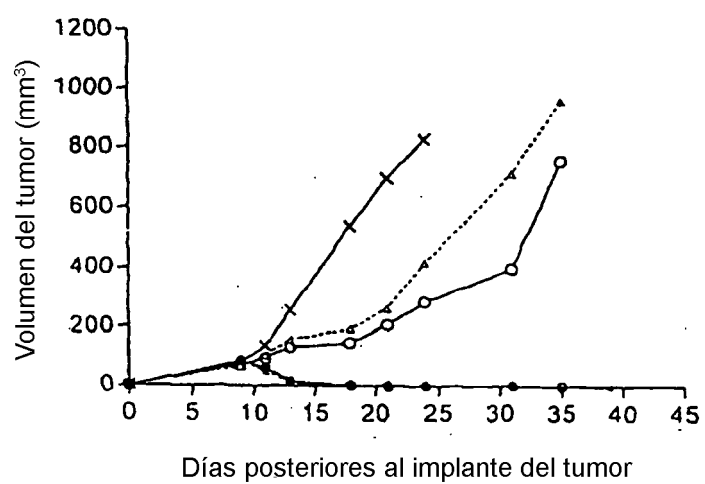


Fig. 8