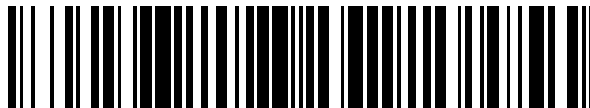


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 428**

51 Int. Cl.:

A61K 31/437 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 47/68 (2007.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.04.2011 E 16154533 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2017 EP 3056203**

54 Título: **Conjugados de análogos de CC-1065 y conectores bifuncionales**

30 Prioridad:

21.04.2010 US 326437 P

10.12.2010 US 421824 P

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

22.03.2018

73 Titular/es:

SYNTARGA B.V. (100.0%)

Toernooiveld 1

6525 ED Nijmegen, NL

72 Inventor/es:

BEUSKER, PATRICK HENRY;

COUMANS, RUDY GERARDUS ELISABETH;

ELGERSMA, RONALD CHRISTIAAN;

MENGE, WIRO MICHAEL PETRUS BERNARDUS;

JOOSTEN, JOHANNES ALBERTUS

FREDERIKUS;

SPIJKER, HENRI JOHANNES y

GROOT DE, FRANCISCUS MARINUS HENDRIKUS

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 660 428 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 análogos de CC-1065 y conectores bifuncionales

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nuevos conjugados del agente de alquilación de ADN CC-1065. Los conjugados se diseñan para liberar su carga (múltiple) después de una o más etapas de activación y / o a una tasa y periodo de tiempo controlados por el conjugado para suministrar de forma selectiva y / o liberar de forma controlable uno o más de dichos agentes de alquilación de ADN. Los conjugados se pueden usar para tratar una enfermedad que se caracteriza por una proliferación (celular) no deseada. Como un ejemplo, los conjugados de la presente invención se pueden usar para tratar un tumor.

15 **Antecedentes de la invención**

Las duocarmicinas, aisladas en primer lugar a partir de un caldo de cultivo de la especie *Streptomyces*, son miembros de una familia de antibióticos antitumorales que también incluye a CC-1065. Estos agentes extremadamente potentes supuestamente obtienen su actividad biológica a partir de una capacidad para alquilar ADN selectivo de secuencia en el N3 de la adenina del surco menor, que inicia una cascada de sucesos que termina en un mecanismo de muerte celular apoptótica.ⁱ

A pesar de que CC-1065 ha mostrado una citotoxicidad y potente, este no se podría usar en el entorno clínico debido a una grave hepatotoxicidad retardada.ⁱⁱ Esta observación conduce al desarrollo de análogos sintéticos de CC-1065 (para derivados de CC-1065 véanse por ejemplo Aristoff *et al.*, *J. Org. Chem.* 1992, 57, 6234; Boger *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996, 6, 2207; Boger *et al.*, *Chem. Rev.* 1997, 97, 787; Milbank *et al.*, *J. Med. Chem.* 1999, 42, 649; Atwell *et al.*, *J. Med. Chem.* 1999, 42, 3400; Wang *et al.*, *J. Med. Chem.* 2000, 43, 1541; Boger *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001, 11, 2021; Parrish *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* 2003, 11, 3815; Daniell *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 177; Tichenor *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 15683; Purnell *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 16, 5677; Bando y Sugiyama, *Acc. Chem. Res.* 2006, 39, 935; Tichenor *et al.*, *Nat. Prod. Rep.* 2008, 25, 220; MacMillan *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 1187; Tietze *et al.*, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* 2009, 9, 304; Gauss *et al.*, *Tetrahedron* 2009, 65, 6591; Robertson *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 2722; Boyle *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 20, 1854; Chavda *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* 2010, 18, 5016; EP 0154445; WO 88/04659; WO 90/02746; WO 97/12862; WO 97/32850; WO 97/45411; WO 98/52925; WO 99/19298; WO 01/83482; WO 02/067937; WO 02/067930; WO 02/068412; WO 02/096910; WO 03/022806; WO 2004/101767; WO 2006/043839; WO 2007/051081; y WO 2010/062171), que por lo general muestran que tienen una citotoxicidad similar, pero una hepatotoxicidad reducida. Amishiro *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* 2000, 8, 1637 desvela una serie de derivados de pirrol de anillo A de duocarmicina, que presentaban una toxicidad en sangre periférica más débil que los derivados que tienen el Seg-B del tipo natural, mientras que la mayoría de estos derivados presentaban una potente actividad antitumoral frente a modelos de tumor murino *in vivo*.

Aún así, no obstante, estos derivados carecen de la suficiente selectividad para las células tumorales, ya que la selectividad que estos agentes - y agentes citotóxicos en general - se basa en una cierta parte en la diferencia en la tasa de proliferación de células tumorales y células normales, y por lo tanto también afectan a las células sanas que muestran una tasa de proliferación relativamente elevada. Por lo general, esto conduce a graves efectos secundarios. Las concentraciones del fármaco que podrían erradicar completamente el tumor no se pueden alcanzar debido a los efectos secundarios de dosis limitante tales como toxicidad en el tracto gastrointestinal y médula ósea. Además, algunos tumores pueden desarrollar resistencia frente a agentes anticáncer después de un tratamiento prolongado. En el desarrollo de fármacos moderno, la dirección de fármacos citotóxicos al sitio del tumor se puede considerar por lo tanto uno de los objetivos principales.

Un enfoque prometedor para obtener un aumento de la selectividad para células tumorales o tejido tumoral es aprovecharse de la existencia de antígenos, receptores y otros restos asociados a tumor, que pueden servir como una diana. Una diana de este tipo se puede regular de forma positiva o puede estar presente hasta cierto grado de forma específica en el tejido tumoral o en un tejido muy asociado, tal como tejido neovascular, con respecto a otros tejidos para conseguir una dirección eficaz. Muchas dianas se han identificado y validado y se han desarrollado varios métodos para identificar y validar dianas.ⁱⁱⁱ Mediante el acoplamiento de un ligando, por ejemplo un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, para tal antígeno, receptor, u otro resto de nivel funcional asociado a tumor con respecto a un agente terapéutico, este agente se puede dirigir de forma selectiva al tejido tumoral.

Otro enfoque prometedor para obtener selectividad para células tumorales o tejido tumoral es aprovecharse de la existencia de enzimas asociadas a tumor. Una enzima que se localiza principalmente en el sitio del tumor puede convertir un profármaco farmacológicamente inactivo, que consiste en un sustrato enzimático unido de forma directa o indirecta al fármaco tóxico, en el fármaco correspondiente en la cercanía o dentro del tumor. A través de este concepto, una concentración elevada de agente anticáncer tóxico se puede generar de forma selectiva en el sitio del tumor. Todas las células tumorales se pueden eliminar si la dosis es lo suficientemente elevada, lo que puede disminuir el desarrollo de células tumorales resistentes a fármacos.

65

Las enzimas también se pueden transportar a las cercanías o dentro de las células diana o tejido diana a través de, por ejemplo, terapia enzimática con profármacos dirigidos por anticuerpos (ADEPT)^{iv}, terapia enzimática con profármacos dirigidos por polímeros (PDEPT) o terapia enzimática con profármacos dirigidos por macromoléculas (MDEPT)^v, terapia enzimática con profármacos dirigidos por virus (VDEPT)^{vi}, o terapia enzimática con profármacos dirigidos por genes (GDEPT)^{vii}. Con ADEPT, por ejemplo, un profármaco no tóxico se convierte de forma selectiva en un compuesto citotóxico en la superficie de las células diana mediante un conjugado de anticuerpo - enzima que se ha dirigido previamente a la superficie de esas células.

Otro enfoque prometedor más para obtener selectividad para células tumorales o tejido tumoral es aprovecharse del aumento del efecto de permeabilidad y retención (EPR). A pesar de que este efecto de EPR, las macromoléculas se acumulan de forma pasiva en tumores sólidos como consecuencia de la patología desorganizada de la vasculatura tumoral angiogénica con su endotelio discontinuo, lo que conduce a hiperpermeabilidad con respecto a macromoléculas grandes, y la falta de drenaje linfático tumoral eficaz.^{viii} Mediante acoplamiento de un agente terapéutico de forma directa o indirecta a una macromolécula, dicho agente se puede dirigir de forma selectiva al tejido tumoral.

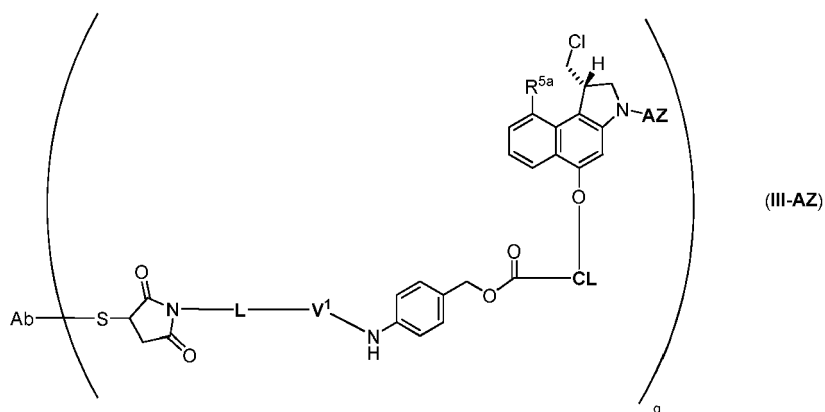
Además de la dirección eficaz, otros criterios importantes para la aplicación satisfactoria de conjugados dirigidos de agentes citotóxicos en terapia tumoral son que el uno o más agentes se liberan de forma eficaz desde el conjugado al sitio del tumor y que el conjugado no excito tóxico o solamente muy poco citotóxico, mientras que el agente citotóxico por sí mismo presenta una citotoxicidad altamente potente. De forma ideal, esto conduce a la generación de moléculas citotóxicas solamente en el sitio del tumor, lo que da como resultado un índice terapéutico y aumentado con respecto al agente citotóxico y dirigir. Otro criterio importante para un conjugado dirigido satisfactorio es que el conjugado debe tener propiedades farmacológicas adecuadas, tales como estabilidad suficiente en la circulación, baja tendencia a la agregación, y buena solubilidad en agua. Una solubilidad en agua e hidrofobia apropiadas del fármaco y/o el conector puede contribuir a una mejora de las propiedades farmacológicas.

Se han descrito varios conjugados de CC-1065 y derivados (para conjugados de derivados de CC-1065 véase por ejemplo Suzawa *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* 2000, 8, 2175; Jeffrey *et al.*, *J. Med. Chem.* 2005, 48, 1344; Wang *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 7854; Tietze *et al.*, *Chem. Eur. J.* 2007, 13, 4396; Tietze *et al.*, *Chem. Eur. J.* 2008, 14, 2811; Tietze *et al.*, *Chem Med Chem* 2008, 3, 1946; Li *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 2009, 50, 2932; Tietze *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010, 49, 7336; Schuster *et al.*, *Org. Biomol. Chem.* 2010, 8, 1833; los documentos WO 91/16324; WO 94/04535; WO 95/31971; US 5.475.092; US 5.585,499; US 5.646.298; WO 97/07097; WO 97/44000; US 5.739,350; WO 98/11101; WO 98/25898; US 5.843.937; US 5.846,545; WO 02/059122; WO 02/30894; WO 03/086318; WO 2005/103040; WO 2005/112919; WO 2006/002895; WO 2006/110476; WO 2007/038658; WO 2007/059404; WO 2008/083312; WO 2008/103693; WO 2009/026274; WO 2009/064908; WO 2009/073533; WO 2009/073524; WO 2009/073546; WO 2009/134977; US 2009/0162372 y WO 2010/062171). En estos conjugados, una o más de las propiedades favorables discutidas en lo que antecede pueden no ser óptimas.

Por consiguiente, sigue existiendo una clara necesidad de conjugados de derivados de CC-1065 que presenten una amplia ventana terapéutica, que contengan derivados de CC-1065 que tengan una citotoxicidad potente y propiedades farmacológicas favorables, y que liberen los derivados de CC-1065 de forma eficaz.

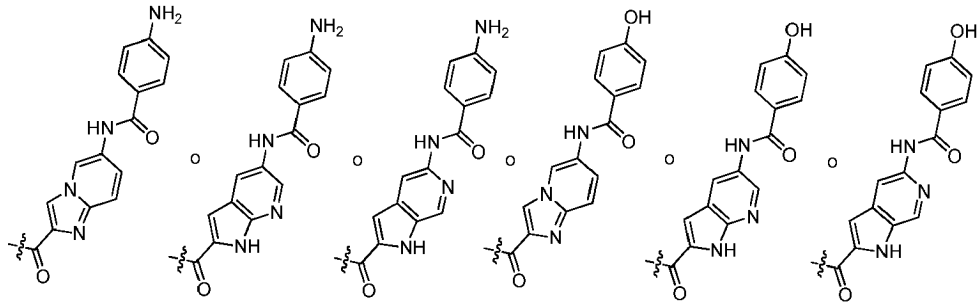
Sumario de la invención

La presente invención satisface la necesidad que se ha mencionado anteriormente de un compuesto de fórmula (III-AZ):

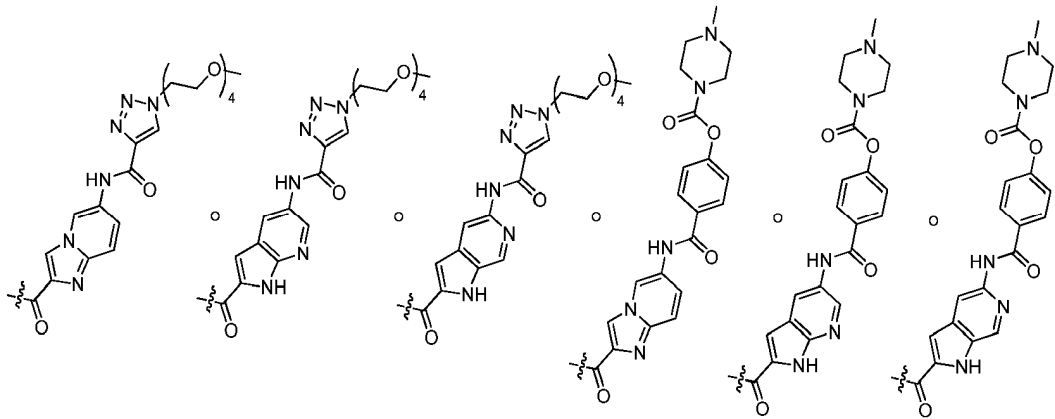
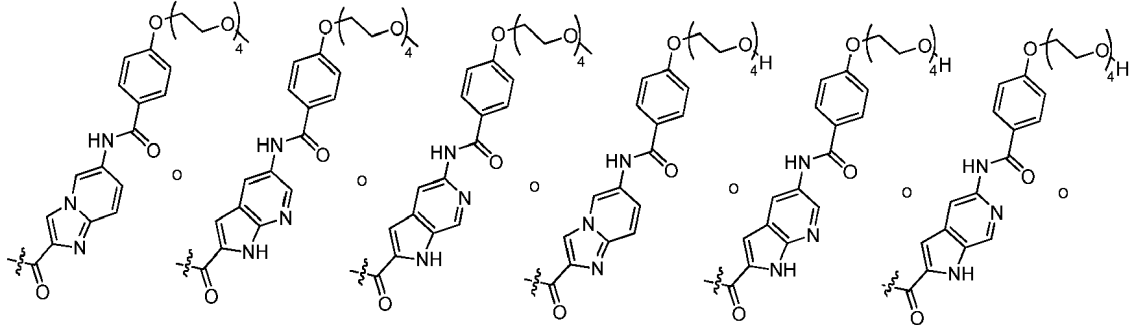


o un isómero, o una mezcla de isómeros, en el que R^{5a} se selecciona de entre H, metilo y metoxi,

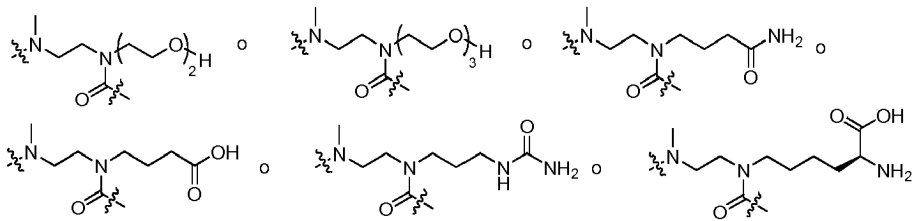
AZ es



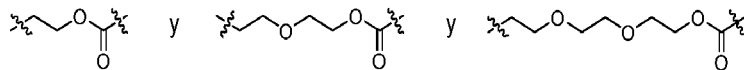
5



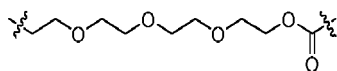
10 V¹ se selecciona de entre valicitrulina, valilisina, fenilalanilisina, alanilfenilalanilisina y D-alanilfenilalanilisina, CL es



15 L se selecciona de entre

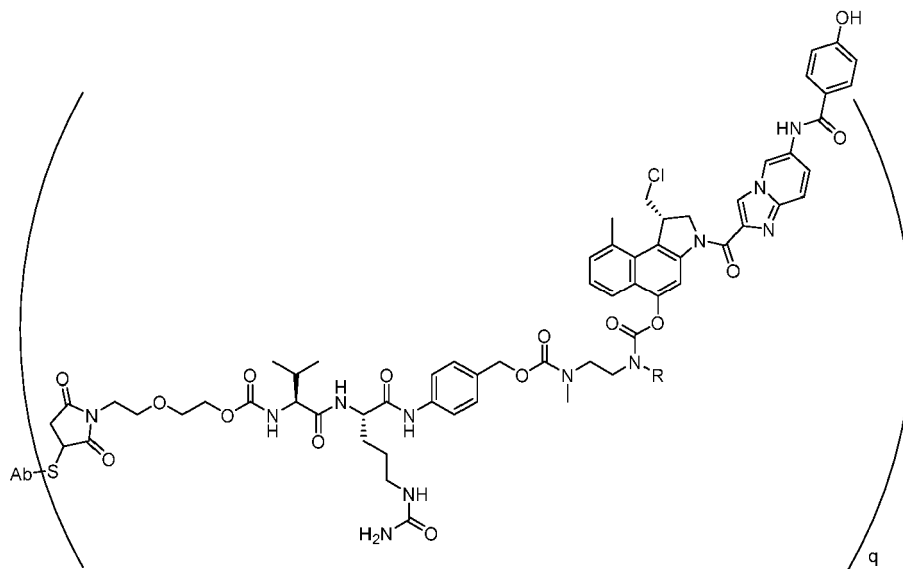


20 y



q varía de 1 a 4, y **Ab** es un anticuerpo o un fragmento o derivado del mismo.

5 En una realización más específica, la presente invención se refiere a un compuesto



10 en el que **R** es (CH₂CH₂O)₂H, (CH₂)₃C(O)NH₂, (CH₂)₄C(NH₂)COOH, (CH₂)₃COOH, (CH₂)₃NHC(O)NH₂, o (CH₂CH₂O)₃H; q varía de 1 a 4; y Ab es trastuzumab.

Breve descripción de los dibujos

- 15 Figura 1. Reordenación de un compuesto *seco* con respecto a un compuesto que contiene ciclopropilo.
- Figura 2. Ilustración gráfica de tasas de ciclado para una serie de compuestos de espaciador - duocarmicina de ciclado a 25 °C y pH 7,4 (línea superior) y a 37 °C y pH 5 (línea inferior).
- Figura 3. Estabilidad de plasma humano para una serie de conjugados de conector - agente conjugados con HSA.
- 20 Figura 4. Estudio de la eficacia de dosis individual con conjugados de anticuerpo - fármaco (ADC) basados en Trastuzumab en ratones *nu / un* hembra portadores de un xenoinjerto de N87.
- Figura 5. Escisión de conjugados de conector - agente inactivados por N-acetilcisteína mediante catepsina B.

Descripción de la invención

25 La siguiente descripción detallada se proporciona para que la invención se pueda entender más completamente.

Definiciones

30 A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que normalmente entiende alguien con experiencia habitual en la materia.

El término “anticuerpo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula de inmunoglobulina de longitud completa, una parte inmunológicamente activa de una molécula de inmunoglobulina de longitud completa, o un derivado de una molécula de inmunoglobulina de longitud completa o una parte activa de la misma, es decir, una molécula que contiene un sitio de unión a antígeno que se une de forma inespecífica a un antígeno de una diana de interés o parte de la misma, incluyendo tales dianas, pero no limitadas a, células tumorales. Por lo tanto, un fragmento o derivado de una molécula de inmunoglobulina de longitud completa se une de forma inespecífica al mismo antígeno que dicha molécula de inmunoglobulina de longitud completa. La inmunoglobulina puede ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 o IgA2), o subclase. La inmunoglobulina, o un derivado o una parte activa de la misma, se puede obtener a partir de cualquier especie, por ejemplo, ser humano, roedor (por ejemplo, ratón, rata, o hámster), burro, oveja, conejo, cabra, cobaya, camélido, caballo, vaca o pollo, pero preferentemente, es de origen humano, murino, o de conejo, o se obtiene a partir de más de una especie. Los anticuerpos útiles en la invención incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos monoclonales, policlonales, biespecíficos, multispecíficos, humanos, humanizados, quiméricos, y

modificados por ingeniería, anticuerpos de una sola cadena, fragmentos de Fv, fragmentos de Fd, fragmentos de Fab, fragmentos de F(ab'), fragmentos de F(ab')₂, fragmentos de dAb, fragmentos producidos por una biblioteca de expresión de Fab, anticuerpos anti-idiotípicos, CDR aisladas, y fragmentos de unión a epítipo de cualquiera de los mencionados en lo que antecede que se unen de forma inmunespecífica a un antígeno de interés.

5 La expresión "grupo saliente" se refiere a un grupo que se puede sustituir por otro grupo en una reacción. Tales grupos salientes se conocen bien en la técnica, y algunos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, un haluro (fluoruro, cloruro, bromuro, e yoduro), azida, un sulfonato (por ejemplo, un alcanosulfonato C₁₋₆ opcionalmente sustituido, tal como metanosulfonato, trifluorometanosulfonato y trifluoroetanosulfonato, o un bencenosulfonato opcionalmente sustituidos, tal como p-toluenosulfonato y nosilato), imidazol, una imidazina cíclica, N-óxido de succinimida, N-óxido de ftalimida, p-nitrofenóxido, o-nitrofenóxido, pentafluorofenóxido, tetrafluorofenóxido, 1,3,5-triclorofenóxido, 1,3,5-trifluorofenóxido, un carboxilato, un aminocarboxilato (carbamato) y un alcocarboxilato (carbonato). Para sustituciones en carbono saturado, los grupos salientes preferentes son haluros y sulfonatos. Para sustituciones en un carbono del carbonilo, como un grupo saliente se puede usar por ejemplo una haluro, N-óxido de succinimida, p-nitrofenóxido, pentafluorofenóxido, tetrafluorofenóxido, un carboxilato, o un alcocarboxilato (carbonato). La expresión "grupo saliente" también se refiere a un grupo que se elimina como consecuencia de una reacción de eliminación, por ejemplo, una reacción de cascada electrónica o una reacción de espirociclado. En este caso, como un grupo saliente se puede usar por ejemplo un haluro, un sulfonato, azida, un aminocarboxilato (carbamato) o un alcocarboxilato (carbonato). Por lo tanto, un agente o un derivado del mismo liberado de un conjugado a través de una autoeliminación (múltiple) se definen como un grupo saliente de acuerdo con la presente definición.

25 La expresión "éster activo" se refiere a un grupo funcional en el que el grupo alcoxi del resto éster es un buen grupo saliente. Los ejemplos de tales grupos alcoxi incluyen, pero no se limitan a, N-óxido de succinimida, p-nitrofenóxido, pentafluorofenóxido, tetrafluorofenóxido, 1-hidroxibenzotriazol y 1-hidroxi-7-azabenzotriazol, y grupos con una capacidad de salida comparable. Los grupos alcoxi basados en alquilo sin sustituir tales como metoxi, etoxi, isopropoxi y t-butoxi no cumplen los requisitos de buenos grupos salientes y por lo tanto, no se considera que los ésteres de metilo, etilo, isopropilo, y t-butilo sean ésteres activos.

30 La expresión "resto reactivo" en el presente documento se refiere a un grupo funcional que puede reaccionar con un segundo grupo funcional en condiciones relativamente suaves y sin la necesidad de funcionalización previa del resto reactivo. La reacción entre el resto reactivo y dicho segundo grupo funciona solamente necesitará la aplicación de una cierta cantidad de calor, presión, un catalizador, ácido, y / o base. Los ejemplos de restos reactivos incluyen, pero no se limitan a, haluro de carbamilo, haluro de acilo, éster activo, anhídrido, α-haloacetilo, α-haloacetamida, maleimida, isocianato, isotiocianato, disulfuro, tiol, hidrazina, hidrazida, cloruro de sulfonilo, aldehído, metil cetona, vinil sulfona, halometilo y sulfonato de metilo.

40 El término "prorresto" se refiere a un resto que se acopla a un compuesto de fórmula **(I)** para modificar sus propiedades y que se va a retirar (parcialmente) *in vivo* de dicho compuesto de fórmula **(I)**.

La expresión "grupo soluble en agua" se refiere a un grupo funcional que está bien solvatado en entornos acuosos y que transmite un aumento de la solubilidad en agua al compuesto al que se une.

45 Los ejemplos de grupos solubles en agua incluyen, pero no se limitan a, polialcoholes, sacáridos de cadena lineal o cíclicos, aminas primarias, secundarias, terciarias o cuaternarias y poliaminas, grupos sulfato, grupos sulfonato, grupos sulfinato, grupos carboxilato, grupos fosfato, grupos fosfonato, grupos fosfinato, grupos ascorbato, glicoles, incluyendo polietilenglicoles y poliéteres. Los grupos solubles en agua preferentes son aminas primarias, secundarias terciarias y cuaternarias, carboxilatos, fosfonatos, fosfatos, sulfonatos, sulfatos, - (CH₂CH₂O)_{yy}CH₂CH₂X¹⁷R^{yy}, - (CH₂CH₂O)_{yy}CH₂CH₂X¹⁷-, -X¹⁷(CH₂CH₂O)_{yy}CH₂CH₂-, glicol, oligoetilenglicol y polietilenglicol, en los que yy se selecciona de 1 a 1000, X¹⁷ se selecciona de entre O, S y NR^{zz}, y R^{zz} y R^{yy} se seleccionan independientemente de entre H y alquilo C₁₋₃.

55 El término "sustituido", cuando se usa como un adjetivo para "alquilo", "heteroalquilo", "cicloalquilo", "heterocicloalquilo", "arilo", "heteroarilo", o similares, indica que dicho "alquilo", "heteroalquilo", "cicloalquilo", "heterocicloalquilo", "arilo", "heteroarilo", o grupo similar contiene uno o más sustituyentes (introducidos por sustitución para hidrógeno). Los sustituyentes a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, OH, =O, =S, =NR^k, =N-OR^k, SH, NH₂, NO₂, NO, N₃, CF₃, CN, OCN, SCN, NCO, NCS, C(O)NH₂, C(O)H, C(O)OH, halógeno, R^k, SR^k, S(O)R^k, S(O)OR^k, S(O)₂R^k, S(O)₂OR^k, OS(O)R^k-, OS(O)OR^k-, OS(O)₂R^k, OS(O)₂OR^k, S(O)N(R^k)R^l, OS(O)N(R^k)R^l, S(O)₂N(R^k)R^l, OS(O)₂N(R^k)R^l, OP(O)(OR^k)(OR^l), P(O)(OR^k)(OR^l), OR^k, NHR^k, N(R^k)R^l, +N(R^k)(R^l)R^m, Si(R^k)(R^l)(R^m), C(O)R^k, C(O)OR^k-, C(O)N(R^k)R^l, OC(O)R^k, OC(O)OR^k, OC(O)N(R^k)R^l, N(R^k)C(O)R^l, N(R^k)C(O)OR^l, N(R^k)C(O)N(R^l)R^m, un grupo soluble en agua, y los derivados tio de estos sustituyentes, y formas protonadas, cargadas, y desprotonadas de cualquiera de estos sustituyentes, en los que R^k, R^l, y R^m se seleccionan independientemente de entre H y -(CH₂CH₂O)_{yy}CH₂CH₂X¹⁷R^{yy} opcionalmente sustituido, alquilo C₁₋₁₅, heteroalquilo C₁₋₁₅, cicloalquilo C₃₋₁₅, heterocicloalquilo C₁₋₁₅, arilo C₅₋₁₅, o heteroarilo C₁₋₁₅, o una combinación de los mismos, en los que yy se selecciona de 1 a 1000, X¹⁷ se selecciona independientemente de entre O, S y NR^{zz}, y R^{zz} y R^{yy} se seleccionan independientemente de entre H y alquilo C₁₋₃, dos o más de R^k, R^l, y R^m estando unidos opcionalmente

mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y / o heterociclos opcionalmente sustituidos. Cuando hay más de un sustituyente, cada sustituyente se selecciona independientemente. Dos o más sustituyentes se pueden conectar entre sí por sustitución de uno o más átomos de hidrógeno en cada uno de los sustituyentes mediante uno o más enlaces de conexión, que pueden ser enlaces sencillos, dobles, o triples, o, si son posibles estructuras de resonancia, el orden de enlace de dichos enlaces de ser diferente en dos o más de estas estructuras de resonancia. Por lo tanto, dos sustituyentes se pueden unir bajo la formación de uno o más anillos.

Cuando los sustituyentes se pueden “unir mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y / o heterociclos opcionalmente sustituidos”, esto se refiere a que los sustituyentes se pueden conectar entre sí a través de la sustitución de uno o más átomos de hidrógeno en cada uno de los sustituyentes mediante uno o más enlaces de conexión.

El término “arilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sustituyente aromático carbocíclico que comprende de 5 a 24 átomos de carbono en el anillo, que pueden tener carga por no tener carga y que pueden consistir en un anillo o dos o más anillos condensados en conjunto. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo y antraceno.

El término “heteroarilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sustituyente aromático heterocíclico que comprende de 1 a 24 átomos de carbono en el anillo y al menos un heteroátomo en el anillo, por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, azufre, silicio o fósforo, en el que el nitrógeno y el azufre se pueden oxidar opcionalmente y el nitrógeno se puede cuaternizar opcionalmente, que puede consistir en un anillo o dos o más anillos condensados en conjunto. Los heteroátomos se pueden conectar directamente entre sí. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, pero no se limitan a, piridinilo, pirimidilo, furanilo, pirrolilo, triazolilo, pirazolilo, pirazinilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, tienilo, indolilo, benzofuranilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, purinilo, indazolilo, benzotriazolilo, benzoisoxazolilo, quinoxalinilo, isoquinolilo y quinolilo. En una realización, un grupo heteroarilo comprende de 1 a 4 heteroátomos. Se debería indicar que “grupo heteroarilo C₁” representa que hay solamente un carbono presente en el sistema de anillos del grupo heteroaromático (por lo tanto, los átomos de carbono en sustituyentes opcionales no se cuentan). Un ejemplo de un grupo heteroaromático de este tipo es un grupo tetrazolilo.

Los grupos “arilo” y “heteroarilo” también incluyen sistemas de anillos en los que uno o más anillos aromáticos de fusionan con un anillo o sistema de anillos de arilo o de heteroarilo.

El término “alquilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sustituyente de hidrocarbilo saturado o insaturado, de cadena lineal o ramificado. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, octilo, decilo, isopropilo, *sec*-butilo, *tert*-butilo, isobutilo, *tert*-butilo, isopentilo, 2-metilbutilo, vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutileno, 1-pentenilo, 2-pentenilo y 1-butinilo.

El término “heteroalquilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sustituyente de hidrocarbilo saturado o insaturado, de cadena lineal o ramificado en el que al menos un átomo de carbono está sustituido con un heteroátomo, por ejemplo, con oxígeno, nitrógeno, azufre, silicio o fósforo, en el que el nitrógeno y el azufre se pueden oxidar opcionalmente y el nitrógeno se puede cuaternizar opcionalmente. Los heteroátomos se pueden conectar directamente entre sí. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, *n*-butiloxi, *tert*-butiloxi, metiloximetilo, etiloximetilo, metiloxietilo, etiloxietilo, metilaminometilo, dimetilaminometilo, metilaminoetilo, dimetilaminoetilo, metiltiometilo, etiltiometilo, etiltioetilo y metiltioetilo.

El término “cicloalquilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sustituyente de hidrocarbilo cíclico no aromático saturado o insaturado, que puede consistir en un anillo o dos o más anillos condensados en conjunto. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclopentadienilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, 1,3-ciclohexadienilo, decalinilo y 1,4-ciclohexadienilo.

El término “heterocicloalquilo”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sustituyente de hidrocarbilo cíclico no aromático saturado o insaturado, que puede consistir en un anillo o dos o más anillos condensados en conjunto, en el que al menos un carbono en uno de los anillos está sustituido con un heteroátomo, por ejemplo, con oxígeno, nitrógeno, azufre, silicio o fósforo, en el que el nitrógeno y el azufre se pueden oxidar opcionalmente y el nitrógeno se puede cuaternizar opcionalmente. Los heteroátomos pueden estar directamente conectados entre sí. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, tetrahydrofuranilo, pirrolidinilo, piperidinilo, 1,4-dioxanilo, decahydroquinolinilo, piperazinilo, oxazolidinilo y morfolinilo. Se debería indicar que “grupo heterocicloalquilo C₁” indica que solamente hay un carbono presente en el sistema de anillos del heterocicloalcano (por lo tanto, los átomos de carbono en sustituyentes opcionales no se cuentan). Un ejemplo de dicho grupo es un grupo dioxiranilo.

El número de átomos de carbono que puede contener un “alquilo”, “heteroalquilo”, “cicloalquilo”, “heterocicloalquilo”, “arilo”, “heteroarilo”, y similares, se indican mediante una denominación que precede a dichos términos, es decir, alquilo C₁₋₁₀ se refiere que dicho alquilo puede contener de uno a diez carbonos (los átomos de carbono en sustituyentes opcionales unidos a este alquilo no se cuentan).

El término “carbociclo” en el presente documento se refiere a un resto de cicloalcano o areno saturado o insaturado, en el que los términos “cicloalcano” y “areno” se definen como restos precursores de los sustituyentes “cicloalquilo” y “arilo”, de forma respectiva, tal como se ha definido en lo que antecede en el presente documento.

5 El término “heterociclo” en el presente documento se refiere a un resto heterocicloalcano o heteroareno saturado o insaturado, en el que los términos “heterocicloalcano” y “heteroareno” se definen como restos precursores de los sustituyentes “heterocicloalquilo” y “heteroarilo”, de forma respectiva, tal como se ha definido en lo que antecede en el presente documento.

10 La extensión “-ileno” en oposición a “-ilo” en por ejemplo “alquileno” en oposición a “alquilo” indica que dicho, por ejemplo, “alquileno” es un resto divalente (o multivalente) conectado a otros uno o más restos a través de al menos uno o más dobles enlaces o dos o más enlaces sencillos, en oposición a ser un grupo monovalente conectado a un resto a través de un enlace sencillo en dicho por ejemplo “alquilo”. El término “alquileno” por lo tanto se refiere a un resto de hidrocarbilenos saturado o insaturado, de cadena lineal o ramificada; el término “heteroalquileno”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un resto de hidrocarbilenos saturado o insaturado, de cadena lineal o ramificada en el que al menos un carbono está sustituido con un heteroátomo; el término “arileno”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un resto aromático carbocíclico, que puede consistir en un anillo o dos o más anillos condensados en conjunto; el término “heteroarileno”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un resto aromático carbocíclico, que puede consistir en un anillo o dos o más anillos condensados en conjunto, en el que al menos un carbono en uno de los anillos está sustituido con un heteroátomo; el término “cicloalquileno”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un resto de hidrocarbilenos cíclico no aromático saturado o insaturado, que puede consistir en un anillo o dos o más anillos condensados en conjunto; el término “heterocicloalquileno”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un resto de hidrocarbilenos cíclico no aromático saturado o insaturado, que puede consistir en un anillo o dos o más anillos condensados en conjunto, en el que al menos un carbono en uno de los anillos está sustituido con un heteroátomo. Algunos restos divalentes a modo de ejemplo incluyen los ejemplos dados en lo que antecede en el presente documento para los grupos monovalentes en los que se retira un átomo de hidrógeno.

30 El prefijo “poli” en “polialquileno”, “poliheteroalquileno”, “poliarileno”, “poliheteroarileno”, policicloalquileno”, “poliheterocicloalquileno”, y similares, indica que dos o más de tales restos de “-ileno”, por ejemplo, restos de alquileno, se unen en conjunto para formar un resto multivalente ramificado o no ramificado que contiene dos o más sitios de unión para restos adyacentes. De forma análoga, el prefijo “oligo” por ejemplo en oligoetilenglicol indica que dos o más restos de etilenglicol se unen en conjunto para formar un resto multivalente ramificado o no ramificado. La diferencia entre los prefijos “oligo” y “poli” es que el prefijo “oligo” es el que se usa más frecuentemente para indicar un número relativamente pequeño de unidades de repetición, mientras que el prefijo “poli” se refiere normalmente a un número relativamente grande de unidades de repetición.

40 Ciertos compuestos de la invención poseen centros quirales y / o dobles enlaces, y / o pueden tener tautómeros o atropisómeros; las mezclas tautoméricas, enantioméricas, diastereoméricas, atropisoméricas, y geométricas de dos o más isómeros, en cualquier composición, así como los isómeros individuales (incluyendo tautómeros y atropisómeros) están incluidos dentro del alcance de la presente invención.

45 Siempre que se usa el término “isómero”, este se refiere a un isómero atropisomérico, tautomérico, enantiomérico, diastereomérico, y / o geométrico o a una mezcla de dos o más de estos isómeros, a menos que el contexto le indique de otro modo.

50 El término “peptidomimético” se refiere a un grupo o resto que tiene una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido ofrecido, pero que funciona de una manera similar a un aminoácido o péptido de origen natural. Por lo tanto, un peptidomimético es un mimético de aminoácido o mimético de péptido.

La expresión “aminoácido no natural” pretende representar el estereoisómero D de un aminoácido de origen natural.

55 El término “enlace” en el presente documento se refiere a una conexión covalente entre los átomos y puede hacer referencia a un enlace sencillo, un doble enlace, o un triple enlace, o, si son posibles estructuras de resonancia, el orden de enlace de dicho enlace puede ser diferente en dos o más de estas estructuras de resonancia. Por ejemplo, si el enlace es parte de un anillo aromático, el enlace puede ser un enlace sencillo en una estructura de resonancia y un doble enlace en otra estructura de resonancia. Si se indica que un “doble enlace” o “triple enlace” está presente entre dos átomos, este doble, o triple enlace puede estar localizado, pero también puede suceder que este doble o triple enlace de esté deslocalizado, lo que significa que un doble o triple enlace solamente está presente ciertamente en una o algunas estructuras de resonancia entre los dos átomos, mientras que el orden de enlace puede ser diferente en otras una o más estructuras de resonancia. Al mismo tiempo, los enlaces marcados como enlace sencillo en una estructura de resonancia pueden ser dobles enlaces en otra estructura de resonancia.

65 Los compuestos de la invención también pueden contener proporciones no naturales de isótopos atómicos en uno o más átomos que constituyen tales compuestos. Todas las variaciones isotópicas de los compuestos de la presente invención, ya sean radiactivos o no, pretenden estar incluidas dentro del alcance de la presente invención.

- La expresión “sal farmacéuticamente activa”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a una sal orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención. Para los compuestos que contienen uno o más grupos básicos, por ejemplo, un grupo amino, se pueden formar sales de adición de ácido. Para los compuestos que contienen uno o más grupos ácidos, por ejemplo, un grupo ácido carboxílico, se puede es formar sales de adición de base. Para los compuestos que contienen grupos tanto ácidos como básicos, además se pueden obtener zwitteriones como sales. Cuando el compuesto de la invención comprende más de un átomo o grupo cargado, puede haber múltiples contraiones (distintos).
- La expresión “solvato farmacéuticamente aceptable” se refiere a una asociación de una o más moléculas de disolvente con un compuesto de la invención. Los ejemplos de disolventes que forman solvatos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, agua, alcohol isopropílico, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, y ácido acético. Cuando se hace referencia al agua como un solvato, se puede usar el término “hidrato”.
- El término “conjugado” en lo sucesivo en el presente documento se refiere a un compuesto de fórmula **(III)** o a un conjugado de un compuesto de fórmula **(I)** o un derivado del mismo, amenas del contexto lo indique de otro modo. La expresión “conjugado de conector - agente” en lo sucesivo en el presente documento se refiere a un compuesto de fórmula **(IV)**, a menos que el contexto lo indique de otro modo. El término “agente” en lo sucesivo en el presente documento se refiere a un compuesto de fórmula **(I)** o **(I')**, a menos que el contexto lo indique de otro modo.
- El término “conector bifuncional” en lo sucesivo en el presente documento se refiere a un compuesto de fórmula **(VIII)**, a menos que el contexto lo indique de otro modo. El término “conector” por lo general se refiere al resto que une **V²** a **Z** en un compuesto de fórmula **(III)** o el prorroto conectado a **Z** en un compuesto de fórmula **(IV)**.
- La expresión “resto de dirección” se refiere a cualquier resto que se une de forma específica o que de forma reactiva se asocia o forma complejo con un resto de forma específica o en un exceso relativo presente en o cerca del sitio diana, sobre, en, o cerca de la célula diana, o en (la proximidad de) el tejido u órganos diana, por ejemplo, un receptor, un complejo receptor, sustrato, determinante antigénico, u otro resto receptor, o que puede dirigir el conjugado al sitio diana a través de otros mecanismos en virtud de su naturaleza, por ejemplo, a través del efecto EPR.
- Los ejemplos de un resto de dirección incluyen, pero no se limitan a, un aptámero, un anticuerpo o fragmento o derivado de anticuerpo, un polímero, un dendrímero, una lectina, un modificador de la respuesta biológica, una enzima, una vitamina, un factor de crecimiento, un esteroide, un resto de azúcar, un resto de oligosacárido, una proteína vehículo, y una hormona, o cualquier combinación de los mismos.
- La expresión “resto que mejora las propiedades farmacológicas del compuesto” se refiere a un resto que cambia las propiedades farmacológicas (por ejemplo, propiedades farmacodinámicas, farmacocinéticas, fisicoquímicas y biofarmacéuticas) de un compuesto de la presente invención de un modo tal que se puede obtener un efecto terapéutico mejor. Por ejemplo, el resto puede aumentar la solubilidad en agua, aumentar el tiempo de circulación, aumentar el índice terapéutico, o reducir la inmunogenicidad.
- La expresión “grupo de unión” se refiere a un elemento estructural de un compuesto que une un elemento estructural de dicho compuesto a otros uno o más elementos estructurales de dicho mismo compuesto.
- La expresión “un número que representa el grado de ramificación” se usa para indicar que el número del subíndice a continuación de un paréntesis de cierre representa cuántas unidades del resto dentro de los paréntesis está cada una directamente unida al resto inmediatamente a la izquierda del correspondiente paréntesis de apertura. Por ejemplo, A-(B)_b con b siendo un número que representa un grado de ramificación se refiere a que todas las b unidades B se unen directamente a A. Esto significa que cuando b es 2, la fórmula se reduce a B-A-B.
- La expresión “un número que representa el grado de polimerización” se usa para indicar que el número del subíndice a continuación de un paréntesis de cierre representa cuántas unidades del resto dentro de los paréntesis están conectadas entre sí. Por ejemplo, A-(B)_b con b siendo un número que representa un grado de polimerización se refiere a que cuando b es 2, la fórmula se reduce a A-B-B.
- La expresión “espaciador de liberación individual” se refiere a un espaciador de autoeliminación que puede liberar un resto después autoinmolación.
- La expresión “espaciador de liberación múltiple” se refiere a un espaciador de autoeliminación que puede liberar dos o más restos después de autoinmolación (repetitiva).
- La expresión “espaciador de cascada electrónica” se refiere a un espaciador de autoeliminación, ya se ha ramificado o no ramificado, que se puede autoeliminar a través de una o más eliminaciones de cascada electrónica $1,2 + 2n$ ($n \geq 1$).

La expresión “espaciador de ciclado de ω -amino aminocarbonilo” se refiere a un espaciador de autoeliminación que se puede eliminar a través de un proceso de ciclado bajo la formación de un derivado de urea cíclica.

5 La expresión “sistema espaciador” se refiere a un resto espaciador de autoeliminación individual o a dos o más de los mismos o diferentes restos espaciadores de autoeliminación acoplados en conjunto. Un sistema espaciador puede estar ramificado o sin ramificar y puede contener uno o más sitios de unión para **Z** así como **V**¹ y opcionalmente **L**.

10 En el presente documento y en sus reivindicaciones, los verbos “comprender”, “tener”, “contener” y conjugar acciones se usan en su sentido no limitante para hacer referencia a que los artículos que están “comprendidos”, “tenían”, o “contenían” están incluidos, pero los artículos que no se mencionan de forma específica no están excluidos. Además, la referencia a un elemento mediante el artículo indefinido “un” o “uno” no excluye la posibilidad de que esté presente más de uno de los elementos, a menos que el contexto claramente requiera que haya uno y solamente uno de los elementos. Por lo tanto, el artículo indefinido “un” o “uno” normalmente se refiere a “al menos uno”.

20 La presente memoria descriptiva incluye muchas realizaciones. Se indica que las realizaciones que no se mencionan de forma específica y que resultan de la combinación de dos o más de dichas realizaciones mencionadas también están incluidas en la presente invención.

En las estructuras genéricas por la totalidad de la presente descripción y en las reivindicaciones, se usan para letras definir elementos estructurales. Algunas de estas letras también se pueden confundir pareciendo que representan un átomo, tal como C, N, O, P, K, B, F, S, U, V, W, I, e Y. Para evitar la confusión, cuando estas letras no representan un átomo, estas se proporcionan en fuente negra.

25 Cuando hay uno o más adjetivos y / o expresiones adjetivales con respecto a un nombre que es a) el primero en una lista de nombres o b) cuando en la parte media de una lista de nombres y dicho nombres y adjetivos en conjunto van precedidos por el término “y” u “o”, los adjetivos no solamente se llevan en ese nombre, sino que también se llevan en todos los nombres por separado, a menos que el contexto lo indique de otro modo. Por ejemplo, esto se refiere a que la expresión “alquilo C₁₋₄, heteroalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₇, o heterocicloalquilo C₁₋₇ opcionalmente sustituidos” se debería leer como “alquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁₋₄ opcionalmente sustituido, cicloalquilo C₃₋₇ opcionalmente sustituido, o heterocicloalquilo C₁₋₇ opcionalmente sustituido” y que la expresión “alquilo C₁₋₄, heteroalquilo C₁₋₄, y cicloalquilo C₃₋₇ opcionalmente sustituido, arilo C₅₋₈, o heterocicloalquilo C₁₋₇” se debería leer como “alquilo C₁₋₄, heteroalquilo C₁₋₄, y cicloalquilo C₃₋₇ opcionalmente sustituido, arilo C₅₋₈ opcionalmente sustituido, o heterocicloalquilo C₁₋₇ opcionalmente sustituido”.

40 Por la totalidad de la presente descripción y en las reivindicaciones, se dibujan las estructuras moleculares o partes de las mismas. Como siempre, en tales dibujos, los enlaces entre átomos se representan con líneas, en algunos casos, para indicar la estereoquímica, con líneas onduladas, en negrita, o rotas o con cuñas. Un enlace representado con una línea ondulada indica la estereoquímica no específica en el centro quiral al que está conectado; una estructura o subestructura con uno o más detalles enlaces ondulados de hecho representa un conjunto de (sub)estructuras en las que cada centro quiral puede tener cualquiera de las configuraciones *R* o *S*. Normalmente, una línea que termina en espacio (un extremo “suelto”), es decir, en un extremo que no tiene otra línea ni átomo específico conectado al mismo, representa un grupo CH₃. Esto es correcto para los dibujos que representan los compuestos de la presente invención. Para esas estructuras que representan un elemento estructural de los compuestos de la presente invención, una línea que termina en el espacio puede indicar la posición de unión de otro elemento estructural del compuesto. Esto se ha indicado con una línea ondulada perpendicular y que cruzar la línea “suelta”.

50 Además, las estructuras o partes de las mismas se han dibujado, bajo la suposición de que las estructuras se leen de izquierda a derecha, lo que significa que por ejemplo en los dibujos de los compuestos de fórmula (III) **V**² (si estuviera presente) se sitúa en el lado izquierdo y **Z** se sitúa en el lado derecho de tales estructuras o partes de las mismas, a menos que el contexto suponga otra cosa.

55 En el presente documento se usan las siguientes abreviaturas y estas tienen las definiciones indicadas: Ac: acetilo; Bn: bencilo; Boc: *tert*-butiloxicarbonilo; CBI: 1,2,9,9a-tetrahidrociclopropa[c]benz[e]indol-4-ona; Cbz: carbobenciloxi; Cit: citrulina; DCC: *N,N*-diciclohexilcarbodiimida; DCE: 1,2-dicloroetano; DCM: diclorometano; DMAP: 4-dimetilaminopiridina; DMF: *N,N*-dimetilformamida; DMSO: dimetilsulfóxido; DiPEA: *N,N*-diisopropiletilamina; EEDQ: 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina; ESI: ionización por electronebulización; Fmoc: fluorenilmetiloxicarbonilo; HOBt: 1-hidroxibenzotriazol; HOSu: hidroxisuccinimida; HSA: albúmina de suero humano; LC / EM: cromatografía líquida- espectrometría de masas; MOMCl: metil clorometil éter; PABA: alcohol *p*-aminobencílico; PNPCI: cloroformiato de *p*-nitrofenilo; TA: temperatura ambiente; SEC: cromatografía de exclusión por tamaño; TCEP: tris(2-carboxietil)fosfina; TFA: ácido trifluoroacético; THF: tetrahidrofurano; Val: valina.

65

Agentes, conjugados de conector - agente, conjugados y conectores bifuncionales

La presente invención se refiere a conjugados de anticuerpo de fórmula (III) de nuevos análogos del agente de alquilación de ADN CC-1065.

5 Se considera que los agentes de fórmula (I) son para su uso para tratar una enfermedad que se caracteriza por una proliferación (celular) no deseada. Por ejemplo, tal agente se puede usar para tratar un tumor, cáncer, una enfermedad autoinmune, o una enfermedad infecciosa. En un aspecto, se considera que los conjugados de la presente invención se pueden aplicar a agentes diana de fórmula (I) a un sitio diana específico en el que el conjugado se puede convertir en una o más agentes o se puede inducir para que se convierta en uno o más de dichos agentes.

10 La presente invención también puede encontrar aplicación en la liberación controlada (no específica) de uno o más de dichos agentes a partir de un conjugado, con el objetivo de, por ejemplo, mejorar las propiedades fisicoquímicas, biofarmacéuticas, farmacodinámicas, y / o farmacocinéticas.

15 Los compuestos de fórmula (I) representan derivados de duocarmicina que tienen preferentemente heteroátomos o grupos polares en posiciones seleccionadas en el resto que se une a ADN o en sustituyentes en el resto de unión a ADN o de alquilación de ADN. De forma inesperada se encontró que los compuestos de fórmula (III), que son conjugados de los compuestos de fórmula (I), eran más eficaces *in vivo* y que tenían mejores propiedades, tales como aumento de la polaridad y optimización de la liberación de fármaco, en comparación con compuestos similares de la técnica anterior.

20 En una realización, la presente invención se refiere a un conjugado de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con una de las realizaciones mencionadas en lo que antecede y a derivados de los mismos. Un conjugado de este tipo contiene uno o más prorrotes. En una realización más específica, un conjugado de este tipo tiene una estabilidad suficiente en la circulación, pero se activa de forma eficaz y selectiva para liberar el compuesto de fórmula (I) en el sitio diana, lo que conduce a una ventana terapéutica adecuada. Se demostró que la longitud y la naturaleza del conector entre el resto funcional y el compuesto de fórmula (I) eran una contribución importante.

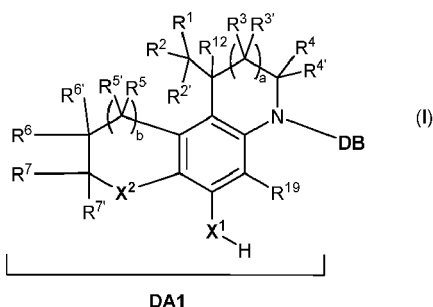
25 En un aspecto de la presente invención, el conector tiene una longitud del conector reducida con respecto a las longitudes del conector en conjugados similares de la técnica anterior, lo que conduce a un aumento de la eficacia. En otro aspecto, el conector contiene un sistema espaciador de autoeliminación con mejores propiedades, lo que conduce, por ejemplo, a una tasa de autoeliminación optimizada, liberación de fármaco optimizada y / o aumento de la polaridad. En otro aspecto más, el conector entre el resto funcional y el compuesto de fórmula (I) contiene uno o más grupos diseñados para mejorar las propiedades farmacocinéticas del conjugado. Estos grupos pueden estar presentes en L y / o Y y / o en cualquiera de los otros restos que forman un compuesto de fórmula (III). Las propiedades farmacocinéticas afectadas pueden incluir, por ejemplo, solubilidad en agua, resistencia a múltiples fármacos, estabilidad en plasma, labilidad proteolítica, absorción, distribución, metabolismo, excreción, e internalización. Algunas de estas propiedades pueden no solamente influir en el comportamiento *in vivo*, sino también en el comportamiento *in vitro* y en el comportamiento durante la preparación de un compuesto de fórmula (III). Por ejemplo, el aumento de la solubilidad en agua de un compuesto de fórmula (IV) puede influir de forma favorable en la conjugación de un compuesto de este tipo con un resto funcional en medio acuoso.

40 La liberación prematura del agente precursor, es decir, el compuesto de fórmula (I), en la circulación puede no ser deseable, pero una desactivación relativamente rápida del compuesto liberado podría reducir los efectos secundarios tóxicos en este caso. La desactivación se puede mejorar eligiendo el resto de alquilación de ADN y de unión de ADN apropiados. La desactivación se puede producir mediante varios mecanismos, incluyendo escisión enzimática o hidrolítica de la unidad de alquilación de ADN a partir de la unidad de unión a ADN.

45 Los compuestos de fórmula (I) son adecuados para su aplicación en fines de administración de fármacos, incluyendo dirección del fármaco y aplicaciones de liberación controlada, usando los compuestos de fórmulas (III) y (IV).

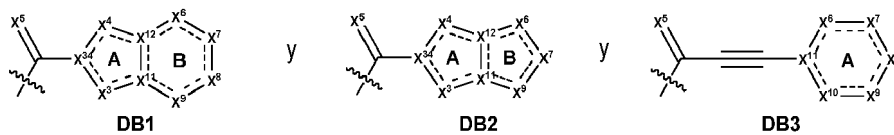
Agentes

50 En un aspecto, la presente invención proporciona un conjugado de anticuerpo de fórmula (III) de un compuesto de fórmula (I):



55 o una sal, hidrato, o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, en las que

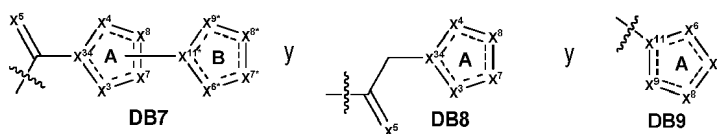
DB es un resto que se une a ADN y se selecciona de entre el grupo que consiste en



5 y



10 y



R¹ es un grupo saliente;

15 R², R², R³, R³, R⁴, R⁴, R¹², y R¹⁹ se seleccionan independientemente de entre H, OH, SH, NH₂, N₃, NO₂, NO, CF₃, CN, C(O)NH₂, C(O)H, C(O)OH, halógeno, R^a, SR^a, S(O)R^a, S(O)₂R^a, S(O)OR^a, S(O)₂OR^a, OS(O)R^a, OS(O)₂R^a, OS(O)OR^a, OS(O)₂OR^a, OR^a, NHR^a, N(R^a)R^b, ⁺N(R^a)(R^b)R^c, P(O)(OR^a)(OR^b), OP(O)(OR^a)(OR^b), SiR^aR^bR^c, C(O)R^a, C(O)OR^a, C(O)N(R^a)R^b, OC(O)R^a, OC(O)OR^a, OC(O)N(R^a)R^b, N(R^a)C(O)R^b, N(R^a)C(O)OR^b, y N(R^a)C(O)N(R^b)R^c, en los que

20 R^a, R^b, y R^c se seleccionan independientemente de entre H y alquilo C₁₋₃ o heteroalquilo C₁₋₃ opcionalmente sustituidos,

o R³ + R^{3'} y / o R⁴ + R^{4'} se seleccionan independientemente de entre =O, =S, =NOR¹⁸, =C(R¹⁸)R^{18'} y =NR¹⁸, siendo R¹⁸ y R^{18'} seleccionados independientemente de entre H y alquilo C₁₋₃ opcionalmente sustituido, dos o más de R², R², R³, R^{3'}, R⁴, R^{4'}, y R¹² estando unidos opcionalmente mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y / o heterociclos opcionalmente sustituidos;

25 X² se selecciona de entre O, C(R¹⁴)(R^{4'}), y NR¹⁴, en los que R¹⁴ y R^{14'} tienen el mismo significado que el que se ha definido para R⁷ y se seleccionan independientemente, o R¹⁴ y R⁷ están ausentes dando como resultado un doble enlace entre los átomos designados para que porten R⁷ y R¹⁴;

30 R⁵, R⁵, R⁶, R⁶, R⁷, y R⁷ se seleccionan independientemente de entre H, OH, SH, NH₂, N₃, NO₂, NO, CF₃, CN, C(O)NH₂, C(O)H, C(O)OH, halógeno, R^e, SR^e, S(O)R^e, S(O)₂R^e, S(O)OR^e, S(O)₂OR^e, OS(O)R^e, OS(O)₂R^e, OS(O)OR^e, OS(O)₂OR^e, OR^e, NHR^e, N(R^e)R^f, ⁺N(R^e)(R^f)R^g, P(O)(OR^e)(OR^f), OP(O)(OR^e)(OR^f), SiR^eR^fR^g, C(O)R^e, C(O)OR^e, C(O)N(R^e)R^f, OC(O)R^e, OC(O)OR^e, OC(O)N(R^e)R^f, N(R^e)C(O)R^f, N(R^e)C(O)OR^f, N(R^e)C(O)N(R^f)R^g, y un grupo soluble en agua, en los que

35 R^e, R^f, y R^g se seleccionan independientemente de entre H y (CH₂CH₂O)_{ee}CH₂CH₂X¹³R^{e1}, alquilo C₁₋₁₅, heteroalquilo C₁₋₁₅, cicloalquilo C₃₋₁₅, heterocicloalquilo C₁₋₁₅, arilo C₅₋₁₅, o heteroarilo C₁₋₁₅ opcionalmente sustituidos en el que ee se selecciona de 1 a 1000, X¹³ se selecciona de entre O, S y NR¹¹ y R^{f1} y R^{e1} se seleccionan independientemente de entre H y alquilo C₁₋₃, uno o más de los sustituyentes opcionales en R^e, R^f, y / o R^g siendo opcionalmente un grupo soluble en agua, dos o más de R^e, R^f, y R^g estando unidos opcionalmente mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y / o heterociclos opcionalmente sustituidos,

45 o R⁵ + R⁵ y / o R⁶ + R⁶ y / o R⁷ + R⁷ se seleccionan independientemente de entre =O, =S, =NOR^{e3}, =C(R^{e3})R^{e4} y =NR^{e3}, R^{e3} y R^{e4} siendo seleccionados independientemente de entre H y alquilo C₁₋₃ opcionalmente sustituido, o R⁵ + R⁵ y / o R⁶ + R⁷, y / o R⁷ + R¹⁴ están ausentes, dando como resultado un doble enlace entre los átomos designados para que porten R⁵, y R⁶, y / o R⁶, y R⁷, y / o R⁷, y R¹⁴, de forma respectiva, dos o más de R⁵, R⁵, R⁶, R⁶, R⁷, R⁷, R¹⁴, y R¹⁴ estando unidos opcionalmente mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y / o heterociclos opcionalmente sustituidos;

50 X¹ es O;

X³ se selecciona de entre O, S, C(R¹⁵)R¹⁵, -C(R¹⁵)(R¹⁵)-C(R¹⁵)(R¹⁵)-, -N(R¹⁵)-N(R¹⁵)-, -C(R¹⁵)(R¹⁵)-N(R¹⁵)-, -N(R¹⁵)-C(R¹⁵)(R¹⁵)-, -C(R¹⁵)(R¹⁵)-O-, -O-C(R¹⁵)(R¹⁵)-, -C(R¹⁵)(R¹⁵)-S-, -S-C(R¹⁵)(R¹⁵)-, -C(R¹⁵)=C(R¹⁵)-, =C(R¹⁵)-C(R¹⁵)-, =N=C(R¹⁵)-, =N-C(R¹⁵)-, -C(R¹⁵)=N-, =C(R¹⁵)-N-, -N=N-, =N=N-, CR¹⁵, N, y NR¹⁵, o en DB1 y DB2-X³ representa -X^{3a} y X^{3b}-, en el que X^{3a} está conectado a X³⁴, un doble enlace está presente entre X³⁴ y X⁴,

y X^{3b} están conectados a X^{11} , en el que X^{3a} se selecciona independientemente de entre H y $(CH_2CH_2O)_{ee}CH_2CH_2X^{13}R^{e1}$ opcionalmente sustituido, alquilo C_{1-8} , o heteroalquilo C_{1-8} y no está unido a ningún otro sustituyente;

X^4 se selecciona de entre O, S, $C(R^{16})R^{16}$, NR^{16} , N, y CR^{16} ;

X^5 se selecciona de entre O, S, $C(R^{17})R^{17}$, NOR^{17} , y NR^{17} , en los que R^{17} y R^{17} se seleccionan independientemente de entre H y alquilo C_{1-8} o heteroalquilo C_{1-8} opcionalmente sustituidos y no está unido a ningún otro sustituyente;

X^6 se selecciona de entre CR^{11} , $CR^{11}(R^{11})$, N, NR^{11} , O, y S;

X^7 se selecciona de entre CR^8 , $CR^8(R^8)$, N, NR^8 , O, y S;

X^8 se selecciona de entre CR^9 , $CR^9(R^9)$, N, NR^9 , O, y S;

X^9 se selecciona de entre CR^{10} , $CR^{10}(R^{10})$, N, NR^{10} , O, y S;

X^{10} se selecciona de entre CR^{20} , $CR^{20}(R^{20})$, N, NR^{20} , O, y S;

X^{11} se selecciona de entre C, CR^{21} , y N, o $X^{11}-X^{3b}$ se selecciona de entre CR^{21} , $CR^{21}(R^{21})$, N, NR^{21} , O, y S;

X^{12} se selecciona de entre C, CR^{22} , y N;

X^{6*} , X^{7*} , X^{8*} , X^{9*} , X^{10*} , y X^{11*} tienen el mismo significado que el que se ha definido para X^6 , X^7 , X^8 , X^9 , X^{10} , y X^{11} , de forma respectiva, y se seleccionan independientemente;

X^{34} se selecciona de entre C, CR^{23} , y N;

el átomo del anillo B de X^{11} en DB6 y DB7 está conectado a un átomo del anillo del anillo A de modo que el anillo A y el anillo B en DB6 y DB7 se conectan directamente a través de un enlace sencillo; $\overline{\text{---}}$ se refiere a que el enlace indicado puede ser un enlace sencillo o un doble enlace no acumulado, opcionalmente deslocalizado;

R^8 , R^8 , R^9 , R^9 , R^{10} , R^{10} , R^{11} , R^{11} , R^{15} , R^{15} , R^{15*} , R^{15*} , R^{16} , R^{16} , R^{20} , R^{20} , R^{21} , R^{21} , R^{22} y R^{23} cada uno se selecciona independientemente de entre H, OH, SH, NH_2 , N_3 , NO_2 , NO, CF_3 , CN, $C(O)NH_2$, $C(O)H$, $C(O)OH$, halógeno, R^h , SR^h , $S(O)R^h$, $S(O)_2R^h$, $S(O)OR^h$, $S(O)_2OR^h$, $OS(O)R^h$, $OS(O)_2R^h$, $OS(O)OR^h$, $OS(O)_2OR^h$, OR^h , NHR^h , $N(R^h)R^i$, $^+N(R^h)(R^i)R^j$, $P(O)(OR^h)(OR^i)$, $OP(O)(OR^h)(OR^i)$, $SiR^hR^iR^j$, $C(O)R^h$, $C(O)OR^h$, $C(O)N(R^h)R^i$, $OC(O)R^h$, $OC(O)OR^h$, $OC(O)N(R^h)R^i$, $N(R^h)C(O)R^i$, $N(R^h)C(O)OR^i$, $N(R^h)C(O)N(R^i)R^j$, y un grupo soluble en agua, en los que

R^h , R^i , y R^j se seleccionan independientemente de entre H y $(CH_2CH_2O)_{ee}CH_2CH_2X^{13}R^{e1}$, alquilo C_{1-15} , heteroalquilo C_{1-15} , cicloalquilo C_{3-15} , heterocicloalquilo C_{1-15} , arilo C_{5-15} , o heteroarilo C_{1-15} opcionalmente sustituidos uno o más de los sustituyentes opcionales en R^h , R^i , y/o R^j siendo opcionalmente un grupo soluble en agua, dos o más de R^h , R^i , y R^j estando unidos opcionalmente mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y/o heterociclos opcionalmente sustituidos,

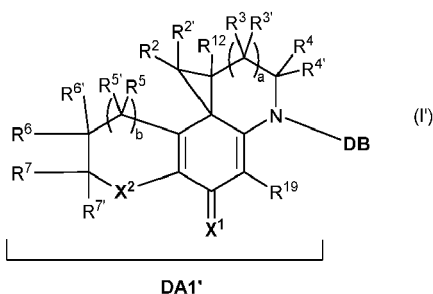
o $R^8 + R^8$, y/o $R^9 + R^9$, y/o $R^{10} + R^{10}$, y/o $R^{11} + R^{11}$, y/o $R^{15} + R^{15}$, y/o $R^{15*} + R^{15*}$ y/o $R^{16} + R^{16}$ y/o $R^{20} + R^{20}$ y/o $R^{21} + R^{21}$, se seleccionan independientemente de entre =O, =S, = $NOR^{h1} = C(R^{h1})R^{h2}$ y = NR^{h1} , R^{h1} y R^{h2} siendo seleccionados independientemente de entre H y alquilo C_{1-3} opcionalmente sustituido, dos o más de R^8 , R^8 , R^9 , R^9 , R^{10} , R^{10} , R^{11} , R^{11} , R^{15} , R^{15} , R^{15*} , R^{15*} , R^{16} , R^{16} , R^{20} , R^{20} , R^{21} , R^{21} , R^{22} , y R^{23} estando unidos opcionalmente mediante una o más enlaces para formar uno o más carbociclos y/o heterociclos opcionalmente sustituidos;

R^{8b} y R^{9b} se seleccionan independientemente y tienen el mismo significado que R^8 , excepto porque pueden no estar unidos con cualquier otro sustituyente;

uno de R^4 y R^4 , y uno de R^{16} y R^{16} , pueden estar unidos opcionalmente mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y/o heterociclos opcionalmente sustituidos;

uno de R^2 , R^2 , R^3 , y R^3 y uno de R^5 y R^5 pueden estar unidos opcionalmente mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y/o heterociclos opcionalmente sustituidos; y a y b se seleccionan independientemente de entre 0 y 1.

En un aspecto adicional, la presente solicitud se refiere a un compuesto de fórmula (I'):



o una sal, hidrato, o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que todos los sustituyentes tienen el mismo significado que el descrito para los compuestos de fórmula (I). Se supone que los compuestos de fórmula (I) se convierten en (I') *in vivo* con la eliminación simultánea de $H-R^1$.

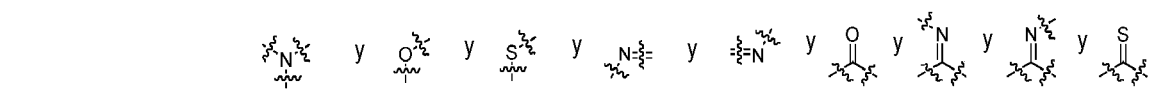
Por lo tanto, la presente solicitud se refiere a un compuesto de fórmula (I'), comprendiendo dicho compuesto un

grupo ciclopropilo, que se puede formar a través de reordenamiento de y eliminación simultánea de H-R¹ de un compuesto de fórmula (I). Todas las realizaciones para un compuesto de fórmula (I) o un resto del mismo también se mantienen para un compuesto de fórmula (I') o un resto del mismo, a menos que el contexto lo indique de otro modo.

5 En una realización más específica, la presente solicitud se refiere a un compuesto de fórmula (I), incorporado en un compuesto de fórmula (III), se ha descrito en lo que antecede en el presente documento, en las que

- a) el resto **DB** no comprende un resto **DA1** o **DA1'**; y
- 10 b) el anillo **B** en **DB1** es un heterociclo; y
- c) si **X³** en **DB1** representa **-X^{3a}** y **X^{3b}**- y el anillo **B** es aromático, entonces dos sustituyentes en las cercanías en dicho anillo **B** se unen para formar un carbociclo o un heterociclo opcionalmente sustituidos condensado a dicho anillo **B**; y
- 15 d) si **X³** en **DB2** representa **-X^{3a}** y **X^{3b}**- y el anillo **B** es aromático, entonces dos sustituyentes en las cercanías en dicho anillo **B** se unen para formar un heterociclo opcionalmente sustituido condensado a dicho anillo **B**, un carbociclo no aromático opcionalmente sustituido condensado a dicho anillo **B**, o un carbociclo aromático sustituido que está condensado a dicho anillo **B** y al que se une al menos un sustituyente que contiene un grupo hidroxilo, un grupo amino primario, o un grupo amino secundario, con la amina primaria o secundaria no siendo un átomo del anillo en un sistema de anillos aromático ni formando parte de una amida; y
- 20 e) si el anillo **A** en **DB2** es un anillo aromático de 6 miembros, entonces los sustituyentes en el anillo **B** no se unen para formar un anillo condensado al anillo **B**; y
- f) dos sustituyentes en las cercanías en el anillo **A** en **DB8** se unen para formar un carbociclo o un heterociclo opcionalmente sustituidos condensado a dicho anillo **A** para formar un resto bicíclico al que no se fusionan anillos adicionales; y
- 25 g) el anillo **A** en **DB9** junto con cualquier anillo condensado a dicho anillo **A** contiene al menos dos heteroátomos en el anillo.

30 En una realización más específica, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) tal como se ha descrito en lo que antecede en el presente documento, en el que al menos uno de los sustituyentes R¹, R⁵, R^{5'}, R⁶, R^{6'}, R⁷, R^{7'}, R¹⁴, R^{14'}, R⁸, R^{8'}, R⁹, R^{9'}, R¹⁰, R^{10'}, R¹¹, R^{11'}, R¹⁵, R^{15'}, R^{15''}, R^{15'''}, R¹⁶, R^{16'}, R²⁰, R^{20'}, R²¹, R^{21'}, R²², y R²³ contiene un resto X¹⁴(CH₂CH₂O)_{ff}CH₂CH₂X¹⁴, en el que ff se selecciona de 1 a 1000 y cada X¹⁴ se selecciona independientemente de entre



que está conectado al sitio de unión de dicho sustituyente ya sea a través de un enlace directo o a través de un resto, que forma parte de dicho mismo sustituyente, que no comprende un disulfuro, una hidrazona, una hidrazida, un éster, un aminoácido natural, o un péptido que contiene al menos un aminoácido natural.

40 Un conjugado de un compuesto de fórmula (I) en el que ff es superior a 1000 está incluido en la presente invención.

45 En una realización más específica adicional, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), incorporado en un compuesto de fórmula (III) tal como se ha descrito en lo que antecede en el presente documento, en el que al menos uno de los sustituyentes R¹, R⁵, R^{5'}, R⁶, R^{6'}, R⁷, R^{7'}, R¹⁴, R^{14'}, R⁸, R^{8'}, R⁹, R^{9'}, R¹⁰, R^{10'}, R¹¹, R^{11'}, R¹⁵, R^{15'}, R^{15''}, R^{15'''}, R¹⁶, R^{16'}, R²⁰, R^{20'}, R²¹, R^{21'}, R²², y R²³ contiene un resto de triazol.

50 Se debería entender que en todo el presente documento, cuando se hace referencia a un compuesto de fórmula (I), este incluye la referencia a un compuesto de fórmula (I') a menos que las partes estructurales de (I) no presentes en (I') estén implicadas o el contexto lo indique de otro modo. De forma análoga, cuando se hace referencia a una parte estructural (fragmento), conjugado de conector - agente, o conjugado derivado de un compuesto de fórmula (I), esto incluye referencia a una parte estructural similar (fragmento), conjugado de conector - agente, o conjugado derivado de un compuesto de fórmula (I') a menos que las partes estructurales de (I) no presentes en (I') estén implicadas o el contexto lo indique de otro modo.

55 Además, se debería entender que la presente invención se refiere a compuestos enantioméricamente puros y/o diastereoméricamente puros de fórmula (I) así como a mezclas enantioméricas y/o diastereoméricas de compuestos de fórmula (I).

60 Algunas consideraciones con respecto a los efectos del sustituyente y los efectos de conectores, unidades de alquilación de ADN y unidades de unión a ADN en compuestos de fórmula (I), sus análogos que contienen ciclopropilo, y sus conjugados y conjugados de conector - agente dados en el presente documento se presentan sin acceder a un mecanismo de acción específico para los compuestos de fórmula (I), sus análogos que contienen ciclopropilo, y sus conjugados de conector - agente y conjugados.

Se puede considerar que los compuestos de fórmula (I) están formados por una unidad de unión a ADN (DB1 - DB9) y una unidad de alquilación de ADN (DA1 o DA1'), tal como se ha indicado en las figuras en lo que antecede en el presente documento.

Se considera que la unidad de alquilación de ADN de los compuestos de fórmula (I) contiene el sitio de alquilación.

5 La alquilación de ADN se puede producir a través del ataque de ADN en el carbono que porta R^1 en un compuesto de fórmula (I) o en el mismo carbono en el análogo que contiene ciclopropilo de dicho compuesto.

Se considera que la unidad de unión a ADN de los compuestos de fórmula (I) ayuda en la unión eficaz de estos compuestos a ADN. Se puede acoplar al resto de alquilación de ADN a través de, por ejemplo, un enlace de amida.

10 por lo tanto, en una realización, X^5 es O. En una realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), incorporado en un compuesto de fórmula (III).

R^1 en un compuesto de fórmula (I) es un grupo saliente. Además, el grupo R^1 se eliminará cuando el compuesto de fórmula (I) se reordene a un compuesto de fórmula (I'). De acuerdo con la presente invención, R^1 es cloro (Cl).

15 Al variar el grupo saliente R^1 , se puede modificar la actividad de alquilación de los agentes seco e influir en la tasa de transformación de un agente seco en un agente que contiene ciclopropilo de fórmula (I'). Si la capacidad de salida de R^1 es demasiado buena, esto puede hacer que el agente seco se convierta en un agente de alquilación específico, que puede disminuir el cociente de citotoxicidad y el índice terapéutico de los conjugados de los compuestos de fórmula (I) al igual que el agente puede ser, por ejemplo, capaz de alquilarse aun cuando todavía

20 está unido en el conjugado. Por otro lado, si R^1 es un grupo saliente demasiado malo, el agente seco puede no cerrarse para formar un agente que contiene ciclopropilo, que se cree que es la especie activa, lo que puede reducir su citotoxicidad y el cociente de citotoxicidad. Por lo tanto, en una realización, el parámetro de Swain-Scott del sitio de alquilación es superior a 0,3. En otras realizaciones, el parámetro de Swain-Scott es superior a 0,5 o 0,7 o 1,0.

25 El tamaño de R^1 puede influir en la tasa de alquilación de no ADN de un compuesto de fórmula (I) o un conjugado del mismo. Si R^1 es un grupo relativamente voluminoso, la alquilación específica se puede reducir ya que el carbono que porta R^1 está protegido en cierto modo.

Otro medio para modificar la actividad de alquilación de los agentes seco y sus derivados que contienen ciclopropilo puede ser en cierto modo proteger el carbono al que se une el grupo saliente R^1 o en el que se puede producir al

30 ataque nucleófilo mediante la elección de al menos uno de R^2 , $R^{2'}$, R^3 , $R^{3'}$, R^4 , $R^{4'}$, R^5 , $R^{5'}$, R^6 , $R^{6'}$, R^{12} , R^{16} , y $R^{16'}$ presentes para que sean distintos de hidrógeno. La protección de dicho carbono puede reducir la alquilación específica mediante los compuestos de fórmula (I), sus análogos que contienen ciclopropilo, y sus conjugados. A pesar de que la introducción de impedimento estérico también puede influir en la tasa de alquilación de ADN, puede ser razonable suponer que la alquilación específica se pueda ver afectada relativamente más que la alquilación de

35 ADN ya que lo último se produce supuestamente después de que el agente se coloque de forma ideal para ataque nucleófilo que se está uniendo al surco menor del ADN.

La actividad de alquilación de un compuesto de fórmula (I) o su análogo que contiene ciclopropilo también se puede ver influida por la naturaleza de X^1 . La naturaleza de X^1 puede influir en la tasa a la que y a las condiciones en las

40 que el anillo de los agentes seco se cierra con respecto a los análogos de ciclopropilo y / o la tasa a la que se abre el anillo de ciclopropilo mediante ataque nucleófilo (con ADN), y por lo tanto influye en el comportamiento de alquilación. De acuerdo con la presente invención, X^1 es O.

Los sustituyentes R^5 , $R^{5'}$, R^6 , $R^{6'}$, R^7 , $R^{7'}$, y X^2 así como el tamaño del anillo conectado con el lado de la parte izquierda del anillo que porta X^1 pueden por ejemplo, cada uno independientemente o dos o más tomados en conjunto, influir en las propiedades farmacológicas del agente, por ejemplo, pueden influir en la solubilidad del agua,

45 influir en el comportamiento de agregación, influir en el proceso de alquilación de ADN, y / o influir en la fuerza de unión a ADN. Además, especialmente R^5 y $R^{5'}$ y en cierta medida también R^6 y $R^{6'}$, pueden influir en el grado de protección del carbono en el que debería tener lugar el ataque nucleófilo.

Los sustituyentes R^{16} y $R^{16'}$ pueden influir en el grado de protección del carbono en el que también se puede producir el ataque nucleófilo.

R^{14} y $R^{14'}$ pueden influir en el grado de protección de X^1 , o cuando un compuesto de fórmula (I) forma parte de un conjugado o conjugado de conector - agente en el que el compuesto de fórmula (I) se conecta a través de X^1 , estos

55 pueden influir en el grado de protección de la unión entre el compuesto de fórmula (I) y el prorestro. Para aumentar la estabilidad de esta unión, R^{14} se puede seleccionar para que sea distinto de hidrógeno.

A pesar de que la tasa de alquilación y la eficacia de los compuestos de fórmula (I) se puede modificar opcionalmente de varias maneras, en un aspecto de la presente invención, esto se puede conseguir mediante la

60 introducción de protección estérica eligiendo para un compuesto de fórmula (I) uno o más de R^2 , $R^{2'}$, R^3 , $R^{3'}$, R^4 , $R^{4'}$, R^5 , $R^{5'}$, R^6 , $R^{6'}$, R^{12} , R^{16} , y $R^{16'}$ presentes para que sean distintos de hidrógeno. Los sustituyentes no deberían causar demasiado impedimento estérico, no obstante, especialmente cuando más de uno de estos sustituyentes es distinto del hidrógeno, ya que esto podría influir de forma adversa en la alquilación de ADN. Además, esto puede proporcionar una unión menos eficaz en el surco menor del ADN y puede plantear dificultades de síntesis.

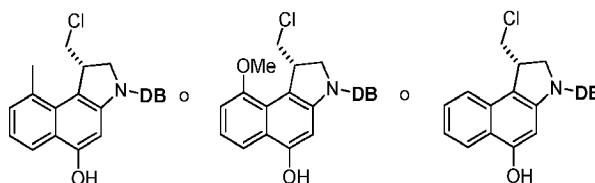
65

Los compuestos de fórmula (I) pueden contener uno o más restos de oligoetilenglicol o polietilenglicol o derivados de los mismos. Un resto de este tipo puede mejorar la solubilidad en agua y el comportamiento de agregación de un compuesto de fórmula (I) y puede causar un aumento de la actividad frente a dianas resistentes a múltiples fármacos debido a un aumento de la polaridad. Si un compuesto de fórmula (I) con un resto de este tipo se incorpora en un conjugado, puede suceder que el resto de oligoetilenglicol o polietilenglicol se sitúe entre el prorresto y el resto del compuesto de fórmula (I) o que se sitúe en una posición en cierto modo opuesta al sitio de unión del prorresto, colocando de este modo el resto del compuesto de fórmula (I) entre el prorresto y el resto de oligoetilenglicol o polietilenglicol. Lo último puede ser más beneficioso para la solubilidad en agua de los conjugados. El aumento de la solubilidad en agua de los compuestos de fórmula (I) y sus conjugados de conducir a mejores rendimientos y pureza de los conjugados durante la síntesis, por ejemplo, debido a una reducción de la formación de agregados. Además, una tendencia reducida hacia la agregación y la pureza más elevada del conjugado puede conducir, por ejemplo, a menos efectos secundarios después de la administración del conjugado. Además, la presencia de uno o más restos de oligoetilenglicol y / o polietilenglicol en un conjugado puede reducir la excreción del conjugado a través de los riñones o hígado, que aumenta el tiempo de circulación en el organismo.

En otro aspecto de la presente invención, los compuestos de fórmula (I) pueden contener uno o más anillos de triazol. La incorporación de un anillo de 1,2,3-triazol puede proporcionar una ventaja de síntesis ya que los dos restos que opcionalmente se pueden unir al anillo de 1,2,3-triazol se pueden unir a cada uno de los otros a través de dicho anillo de triazol usando una reacción de cicloadición suave y eficaz entre un resto de alquino y azida. Dado que las condiciones para esta reacción de cicloadición son muy suaves y son compatibles con casi todos los grupos funcionales, la reacción se puede realizar en una de las últimas etapas de la ruta de síntesis hacia un compuesto de fórmula (I), su conjugado de conector - agente, o conjugado, permitiendo de este modo una fácil generación de series de compuestos de fórmula (I) y sus conjugados para estudios de SAR (relación de estructura-actividad).

Preferentemente, el resto de triazol se sitúa de un cierto modo dentro de la unidad de alquilación de ADN o unidad de unión a ADN mediante el que puede contribuir a la unión del compuesto al ADN. Los restos de unión a ADN adicionales tales como restos de indol o benzofurano, que se conectan a la unidad de unión ADN o de alquilación de ADN pueden aumentar la potencia del compuesto, supuestamente a través de un aumento de la unión a ADN. No obstante, estos restos aromáticos adicionales pueden tener un efecto perjudicial en las propiedades farmacológicas, tales como solubilidad en agua. Un triazol, al ser un grupo aromático, también para aumentar la unión a ADN y por lo tanto aumentar la potencia citotóxica del compuesto, pero como es más polar y otros restos aromáticos tales como un anillo de fenilo, algunos efectos negativos en las propiedades farmacológicas pueden ser menos pronunciados.

En otras realizaciones, un compuesto de fórmula (I) es



o un isómero de uno de estos, o una mezcla de isómeros.

El aumento de la solubilidad en agua de un compuesto de fórmula (I) puede no solamente conseguirse a través de la introducción de grupos solubles en agua o polares, tales como un grupo triazol o un resto de oligoetilenglicol o polietilenglicol o una combinación de los mismos, sino que también se puede conseguir a través de sustitución de átomos de carbono de anillo por heteroátomos, por ejemplo en la unidad de unión a ADN. el aumento de la solubilidad en agua de los compuestos de fórmula (I) y sus conjugados de conducir a una mejora de los rendimientos y pureza de los conjugados durante la síntesis, por ejemplo debido una reducción de la formación de agregados. Además, una reducción de la tendencia hacia la agregación y una pureza más elevada del conjugado puede conducir por ejemplo a menos efectos secundarios después de la administración del conjugado.

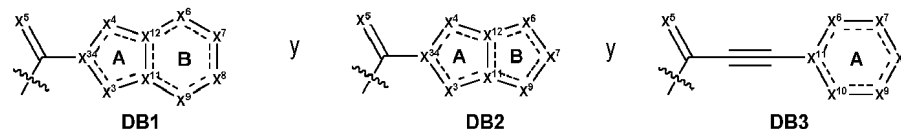
El aumento de la degradación metabólica, por ejemplo, en el hígado, se puede conseguir por ejemplo a través de la introducción de grupos en las unidades de unión a ADN que se pueden oxidar con relativa facilidad, por ejemplo restos de acetileno y alqueno. La oxidación de compuestos tóxicos es uno de los mecanismos mediante los que un mamífero puede purificar tales compuestos. Si los compuestos de la presente invención son captados en el hígado, la purificación ética puede por ejemplo evadir la toxicidad hepática como un efecto secundario.

La estabilidad de la unión entre la unidad de unión a ADN y unidad de alquilación de ADN, por ejemplo en la circulación, se puede modelar mediante modificaciones en la unidad de unión a ADN. Puede ser favorable tener la unidad de alquilación de ADN y unidad de unión a ADN unida a través de un enlace esencialmente no escindible. Especialmente cuando el compuesto de fórmula (I) se administra como el principio activo, se puede desear la estabilidad en la circulación. No obstante, cuando un compuesto de fórmula (I) se administra como parte de un conjugado, puede ser favorable tener un enlace entre la unidad de alquilación de ADN y la unidad de unión a ADN que sería ser menos están en la circulación en cuanto el compuesto de fórmula (I) se libere de forma prematura desde el conjugado. Esto puede reducir los efectos secundarios tóxicos como una consecuencia de la liberación prematura del agente. Las unidades de unión a ADN de la presente invención pueden hacer que un compuesto de fórmula (I) o

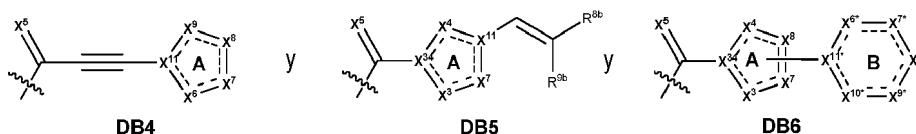
su conjugado o conjugado de conector - agente tengan una unión más estable entre unidad de unión a ADN y de alquilación de ADN en la circulación que un compuesto de fórmula (I'), que se pueden formar a partir de un compuesto de fórmula (I) tan pronto como X¹ esté sin proteger.

La extensión del sistema conjugado con π en el resto que se une a ADN puede aumentar la afinidad de unión del aglutinante de ADN para el ADN. El sistema π se puede extender mediante la introducción de anillos aromáticos adicionales y / o dobles y / o triples enlaces conjugados.

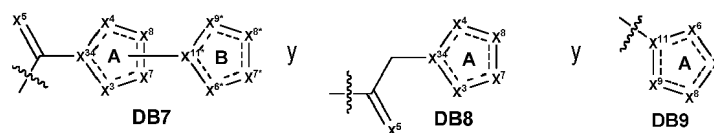
La unidad **DB** de unión a ADN en un compuesto de fórmula (I) se selecciona de entre las estructuras **DB1 - DB9**:



y



y



25

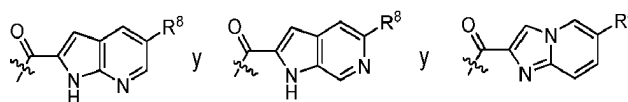
En un aspecto de la presente invención, un compuesto de fórmula (I) tiene una unidad de unión a ADN de fórmula **DB1**. Este resto comprende estructuras que contienen al menos un anillo **B** de 6 miembros que está conectado a la unidad de alquilación de ADN a través de un anillo **A** de 5 con 6 miembros condensado o grupo vinilo. El heteroátomo en dicho anillo **B** puede proporcionar un aumento de la solubilidad en agua con respecto a análogos de aglutinante de ADN que tienen un anillo en el que todos sus átomos son carbono.

Preferentemente, el anillo **B** es aromático. Este puede ser por ejemplo un resto de piridina, pirimidina, piridazina, pirazina, 1,3,5-triazina, 1,2,3,5-tetrazina, 1,2,3,4-tetrazina, pentazina, fosfinina, 1,3-difosfinina, o 1,3-azafosfinina. Como alternativa, este anillo puede no ser aromático y puede ser cualquiera de insaturado o completamente saturado.

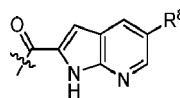
30

Un compuesto de fórmula (I) en el que el anillo **B** está conectado a la unidad de alquilación de ADN a través de un grupo vinilo puede contener un asa que permita la purificación por medio de, por ejemplo, oxidación o hidratación del doble enlace.

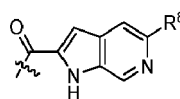
En una realización, el resto **DB1** se puede seleccionar de entre



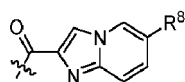
En otra realización, el resto **DB1** es



En otra realización más, el resto **DB1** es

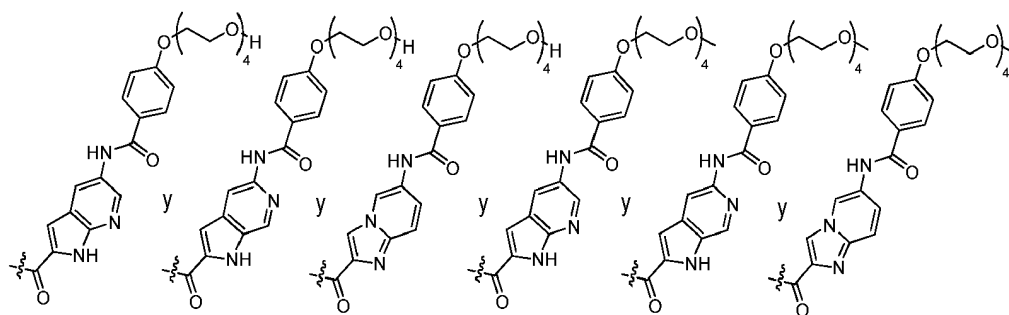
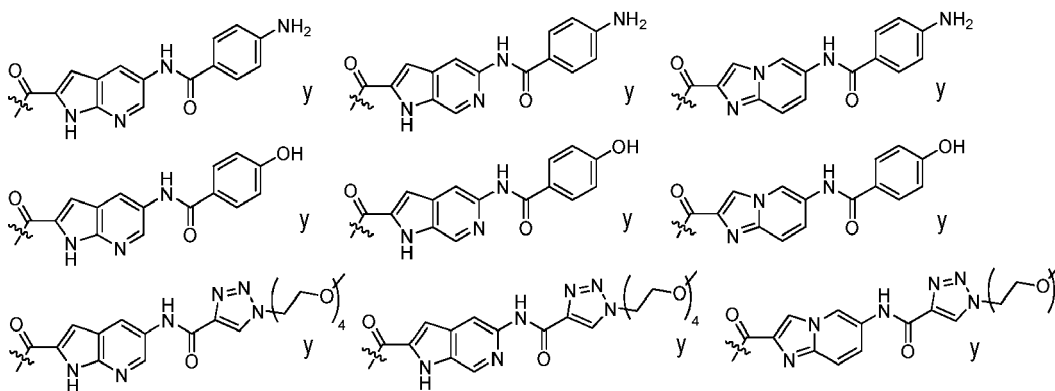


En una realización adicional más, el resto **DB1** es



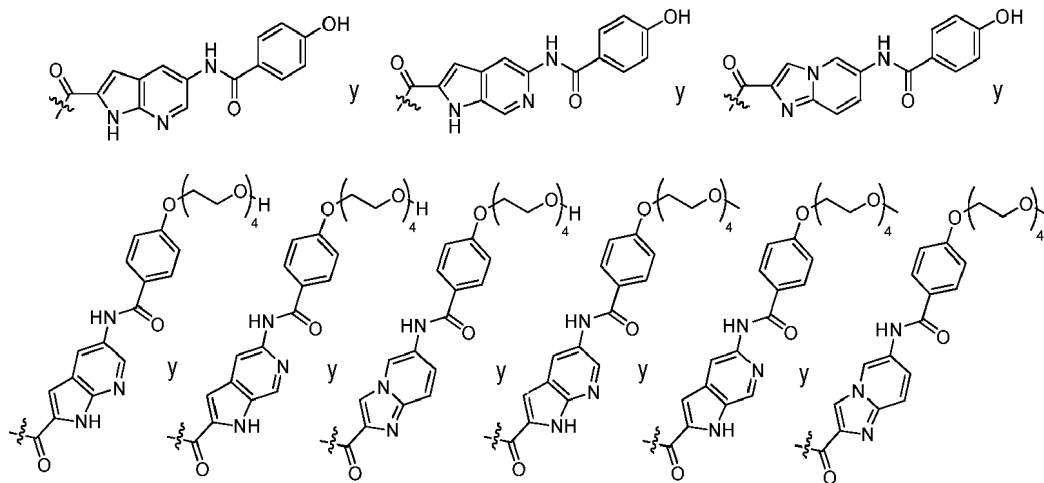
En una realización, el resto **DB1** se puede seleccionar de entre

5



En una realización adicional, el resto **DB1** se puede seleccionar de entre

10



15

Los sustituyentes R^1 a R^{23} pueden ayudar a mejorar las propiedades farmacológicas de un compuesto de fórmula **(I)** o su conjugado, por ejemplo, su solubilidad en agua. Esto se puede conseguir, por ejemplo, mediante la selección de uno o más de los sustituyentes R^1 , R^5 , R^6 , R^7 , R^{14} , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{15} , $R^{15'}$, $R^{15''}$, R^{16} , R^{20} , $R^{20'}$, R^{21} , $R^{21'}$, R^{22} , y R^{23} para que comprendan o sean un resto de oligoetilenglicol o polietilenglicol o un resto de triazol. Como alternativa o de forma simultánea, uno o más de los sustituyentes puede comprender o ser un grupo soluble en agua. La presencia de un grupo soluble en agua puede no solamente dar como resultado un aumento de la solubilidad en agua, sino también evitar que un compuesto de fórmula **(I)** cruce una barrera biológica, especialmente cuando es una barrera apolar, tal como una membrana celular. Esto puede ser ventajoso, especialmente cuando un compuesto de fórmula **(I)** se suministra en una célula dirigida a través de conjugación con un resto de dirección antes de su liberación desde el conjugado ya que el compuesto de fórmula **(I)** será incapaz de dejar la célula. Incluso el transporte activo a través de, por ejemplo, la bomba de glicoproteína P se puede ver (parcialmente) alterado. Cuando un compuesto de fórmula **(I)** se libera de forma prematura desde el

20

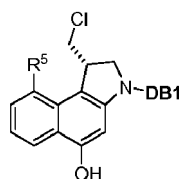
25

conjugado, por ejemplo, en la circulación, este puede ser incapaz o solamente moderadamente capaz de entrar en células (no dirigidas) de forma específica ya que sus capacidades de translocación de membrana se pueden ver alteradas por el grupo soluble en agua. Esto puede conducir a un aumento de la selectividad y por lo tanto a efectos secundarios menores. Además, al menos en algunos casos, por ejemplo cuando el grupo soluble en agua tiene

5 carga positiva en condiciones fisiológicas, el grupo soluble en agua también puede aumentar la afinidad de unión hacia el ADN por medio de interacciones electrostática es favorable es con los grupos fosfato con carga negativa. Un grupo soluble en agua es un grupo que imparte un aumento de la solubilidad en un compuesto de fórmula (I) y / o un conjugado del mismo. En una realización, la solubilidad en agua de un compuesto de la presente invención que porta un grupo soluble en agua aumenta en más de un 100 % en comparación con el compuesto que carece de dicho grupo soluble en agua. En otras realizaciones, la solubilidad en agua de un compuesto de la presente invención que porta un grupo soluble en agua aumenta en más de un 75 % o 50 % o 25 % o un 10 % en comparación con el compuesto que carece de dicho grupo soluble en agua. El grupo soluble en agua también puede contribuir a evitar o reducir la agregación de los compuestos de la presente invención o a reducir los efectos secundarios. Los ejemplos de grupos solubles en agua incluyen, pero no se limitan a, -NH₂, -NH-, -NHR^s, -NR^s, -N(R^s)(R^t), -⁺N(R^s)(R^t)-, -⁺N(R^s)(R^t)(R^u), -COOH, -OP(O)(OH)₂, -OP(O)(OH)O-, -OP(O)(OR^s)O-, -OP(O)(OH)OR^s, -OP(O)(OR^s)OR^t, -P(O)(OH)₂, -P(O)(OH)O-, -P(O)(OR^s)OH, -P(O)(OR^s)O-, -P(O)(OR^s)(OR^t), -OS(O)₂OH, -OS(O)₂O-, -OS(O)₂OR^s, -S(O)₂OH, -S(O)₂O-, -S(O)₂OR^s, -OS(O)OH, -OS(O)O-, -OS(O)OR^s, -S(O)OH, -S(O)O-, -OS(O)-, -S(O)OR^s, -OS(O)₂-, -OS(O)₂R^s, -S(O)₂-, -S(O)₂R^s, -OS(O)R^s, -S(O)-, -S(O)R^s, -(OCH₂CH₂)_vOH, -(OCH₂CH₂)_vO-, -(OCH₂CH₂)_vOR^s, un resto de azúcar, un resto de mono, di, u oligosacárido, y un resto de oligopéptido, o una forma protonada o desprotonada del mismo y cualquier combinación adicional de los mismos, en los que R^s, R^t, y R^u se seleccionan independientemente de entre H y alquilo C₁₋₃ opcionalmente sustituido, dos o más de R^s, R^t, y R^u estando unidos opcionalmente mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y / o heterociclos, y v' es un número entero seleccionado de 2 a 1000. El grupo soluble en agua puede estar en cualquier posición dentro de un sustituyente o puede constituir todo el sustituyente. El grupo soluble en agua puede estar localizado, por ejemplo, en cualquier posición interior, puede ser parte de la cadena principal, puede ser parte de una estructura de anillo, puede ser un grupo funcional que cuelga con respecto a la cadena principal o un anillo, o se puede colocar en la posición en la que el sustituyente se une al resto del agente.

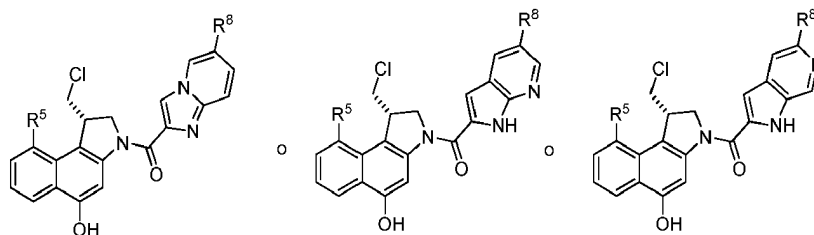
Un compuesto de fórmula (I) puede no tener un resto reactivo incorporado en su estructura. Por otro lado, como llega a ser evidente a partir de lo mencionado en lo que antecede, en su estructura un resto reactivo puede estar presente que permite la reacción de un compuesto de fórmula (I) con otro resto. Por ejemplo, un compuesto de fórmula (I) se puede hacer reaccionar con un resto de dirección o una construcción de conector-resto de dirección, por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo, o una construcción de anticuerpo - conector o un fragmento de construcción de anticuerpo - conector, para preparar un resto de conjugado de dirección - agente en una o más etapas, que puede ser o no un conjugado de fórmula (III). Tal conjugado de resto de dirección - agente puede ser escindible o no escindible. La formación de un conjugado de resto de dirección - agente puede no solamente realizarse a través de síntesis química, sino que también se puede producir *in situ*, es decir, después de la administración de un compuesto de fórmula (I) *in vivo*. El compuesto de fórmula (I) se puede unir, por ejemplo, a proteínas endógenas, por ejemplo, albúmina, después de su administración.

En una realización, un compuesto de fórmula (I) es



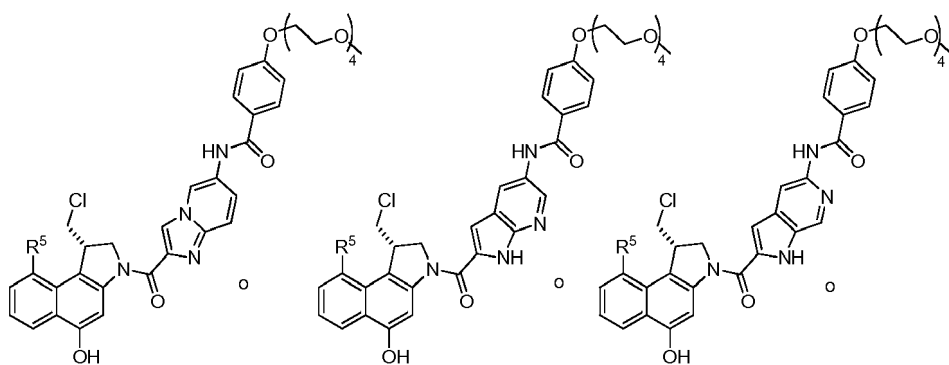
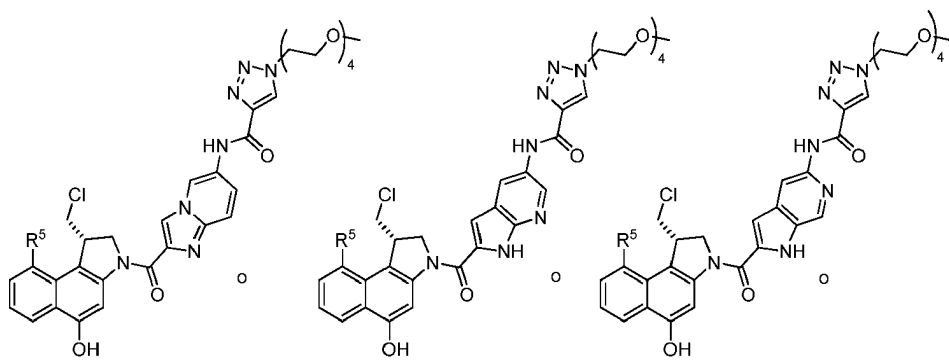
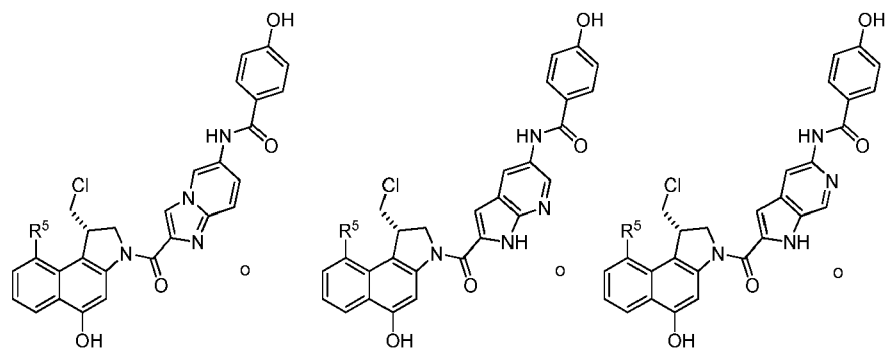
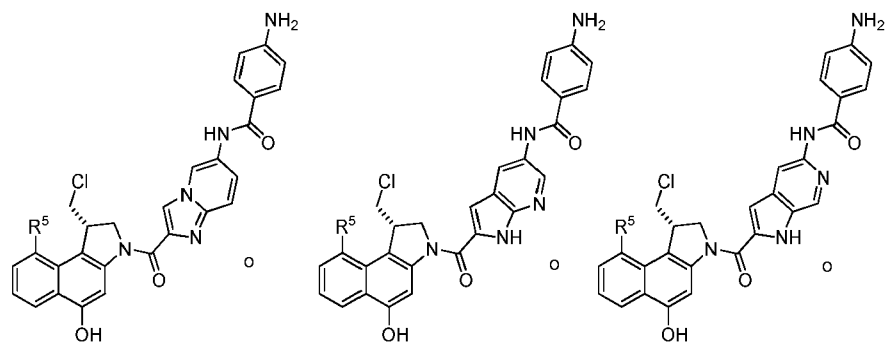
o un isómero del mismo, o una mezcla de isómeros.

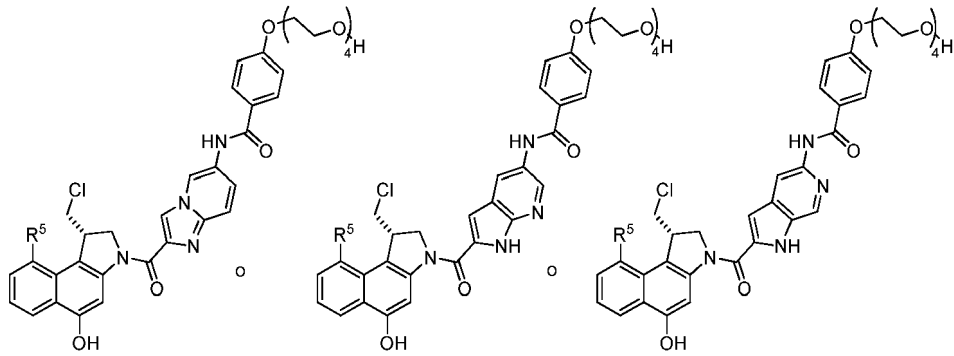
En una realización más, un compuesto de fórmula (I) es



o un isómero de uno de estos, o una mezcla de isómeros.

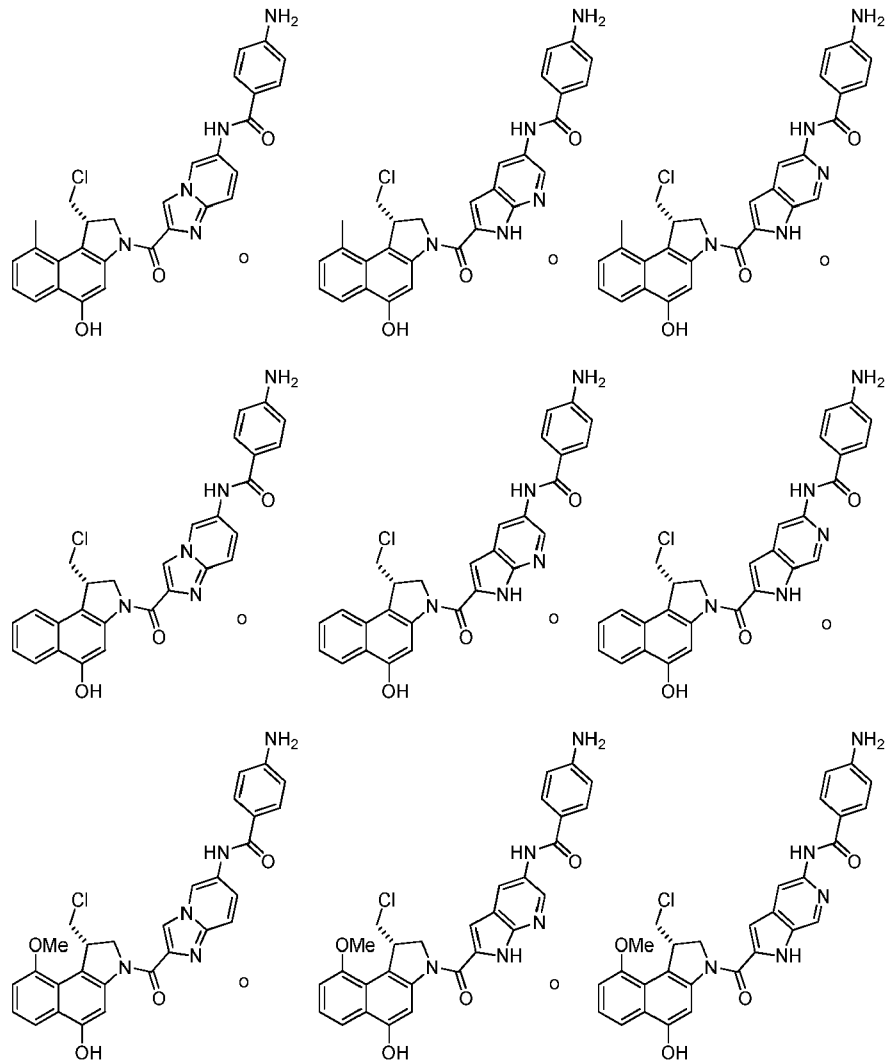
En una realización más, un compuesto de fórmula (I) es





o un isómero de uno de estos, o una mezcla de isómeros.
En otra realización más, un compuesto de fórmula (I) es

5

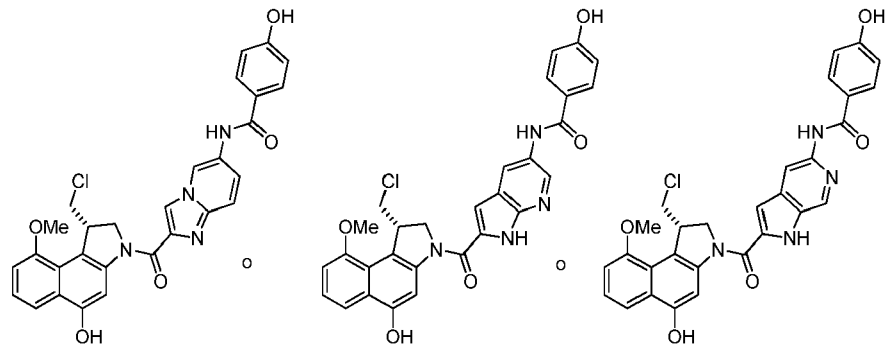
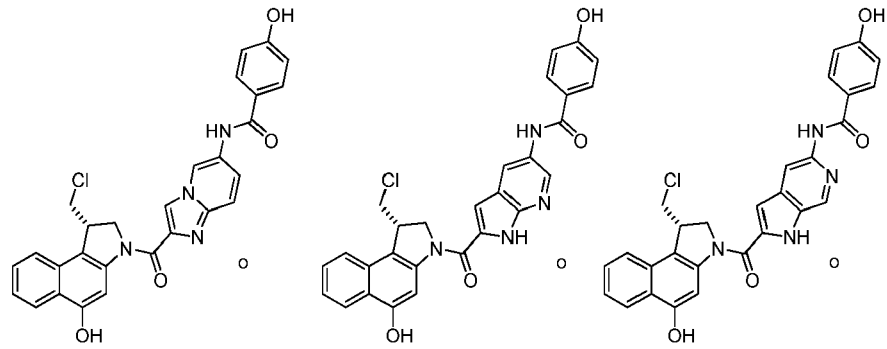
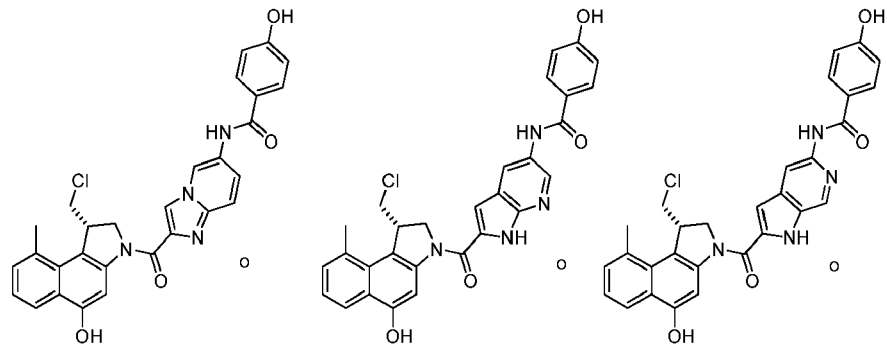


10

o un isómero de uno de estos, o una mezcla de isómeros.

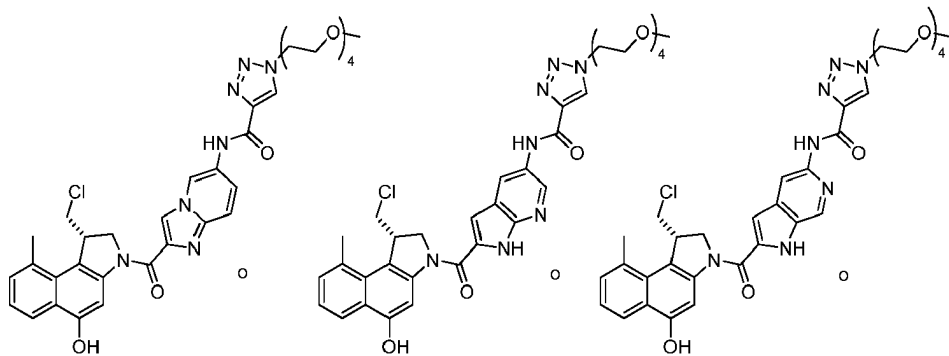
En otra realización más, un compuesto de fórmula (I) es

15

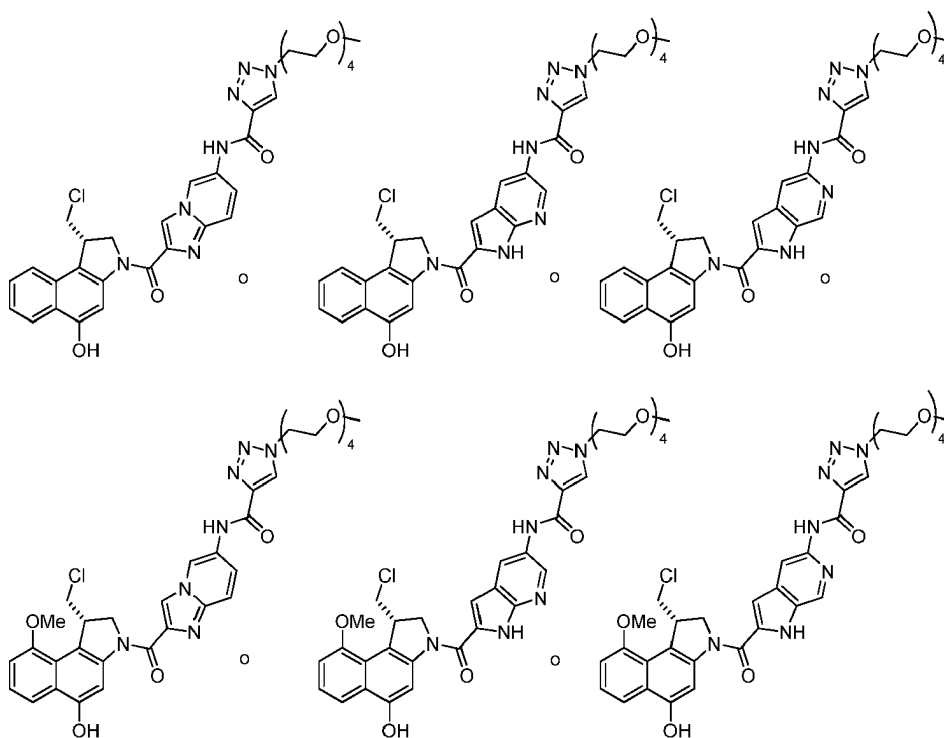


5

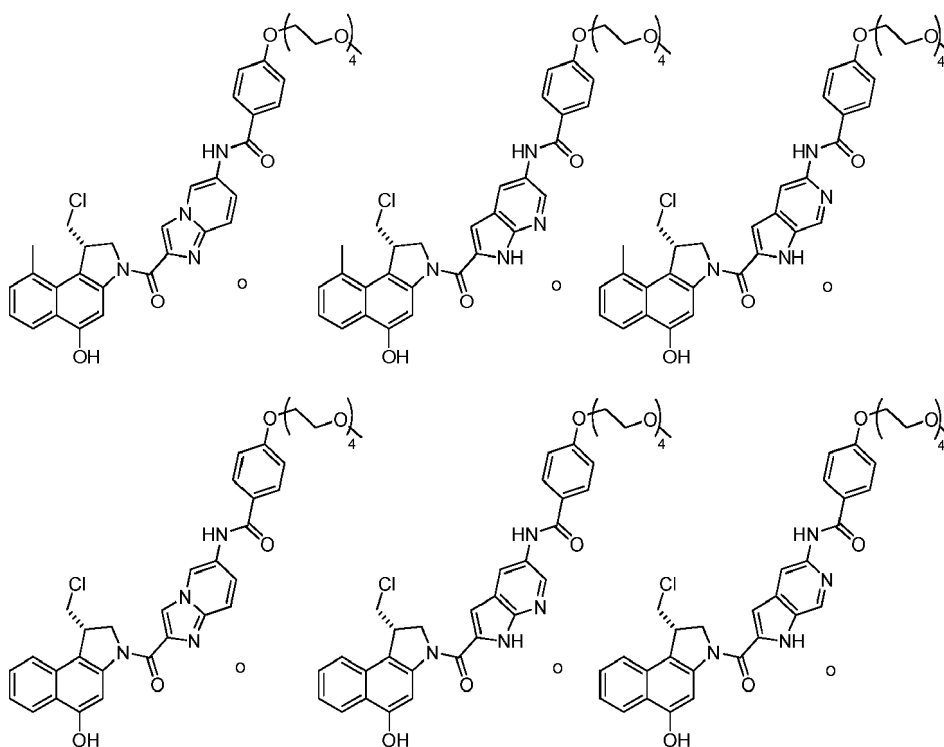
o un isómero de uno de estos, o una mezcla de isómeros.
En otra realización más, un compuesto de fórmula **(I)** es



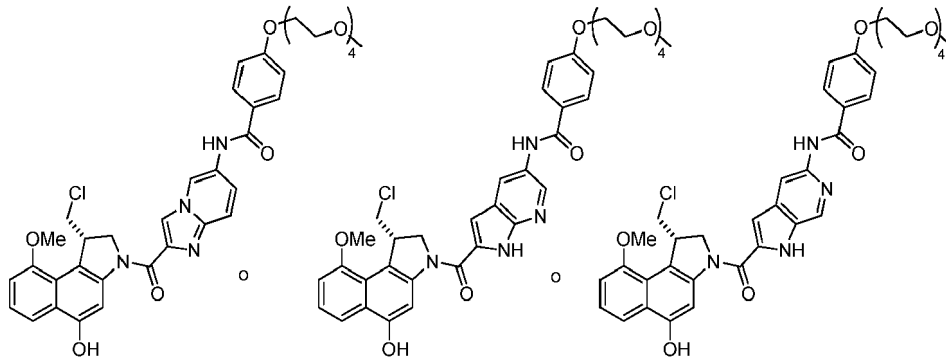
10



5 o un isómero de uno de estos, o una mezcla de isómeros.
En otra realización más, un compuesto de fórmula (I) es

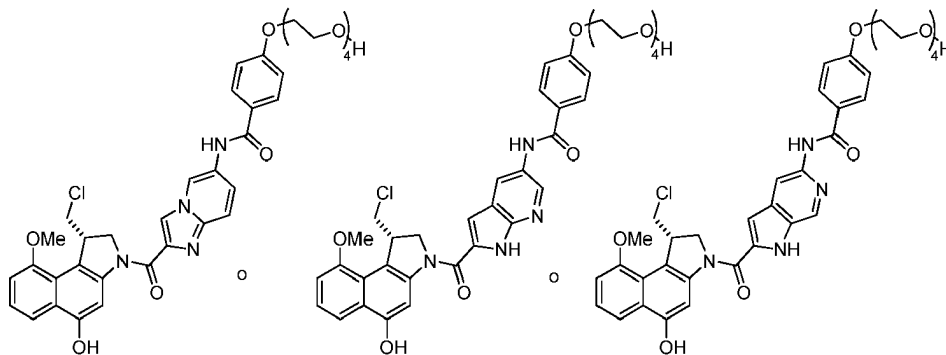
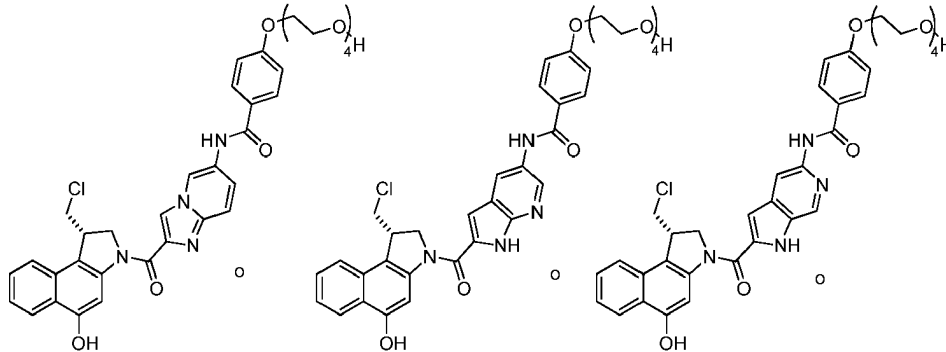
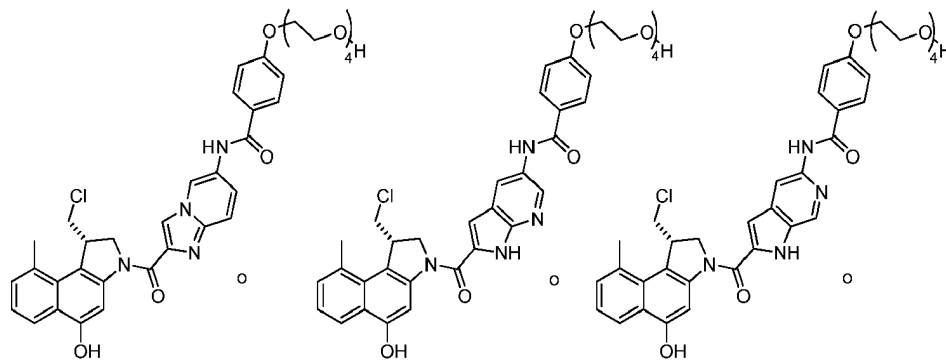


10



o un isómero de uno de estos, o una mezcla de isómeros.
En otra realización más, un compuesto de fórmula (I) es

5



10

o un isómero de uno de estos, o una mezcla de isómeros.

Conjugados, conjugados de conector - agentes y conectores bifuncionales

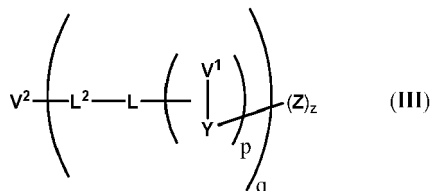
15

La presente invención se refiere a un conjugado de un compuesto de fórmula (I) que se puede convertir *in vivo* en una o más etapas en un compuesto de fórmula (I), de forma respectiva. El conjugado también se puede convertir en un derivado de un compuesto de fórmula (I) en el que una parte del proreosto unida a un compuesto de fórmula (I) en

el conjugado sigue unida al compuesto de fórmula (I) después de conversión *in vivo*. Un modo alternativo de ver esto es que el resto restante del conector forma parte del compuesto de fórmula (I).

Estos conjugados pueden influir de forma favorable en las propiedades farmacológicas y otras características de un compuesto de fórmula (I). En una realización, la presente invención se refiere a un conjugado que comprende un compuesto de fórmula (I) conjugado con un prorresto. En otra realización, la presente invención se refiere a un conjugado que comprende un compuesto de fórmula (I) conjugado con prorresto.

En una realización más, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (III):



o una sal, hidrato, o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, en la que

V^2 es un resto funcional;

cada L^2 está independientemente ausente o es un grupo de unión que une V^2 a L ;

cada L está independientemente ausente o es un grupo de unión que une L^2 a uno o más V^1 y / o Y ;

cada V^1 está independientemente ausente o es un resto escindible de forma condicional o transformable de forma condicional, que se puede escindir o transformar mediante un proceso químico, fotoquímico, físico, biológico, o enzimático;

cada Y es un sistema espaciador de autoeliminación que se compone de 1 o más espaciadores de autoeliminación y está unido a V^1 , opcionalmente L , y uno o más Z , en la que Y está conectado a X^1 a través de un espaciador de ciclado de ω -amino aminocarbonilo que forma parte de Y ;

cada p y q son números que representan un grado de ramificación y son cada uno independientemente un número entero positivo;

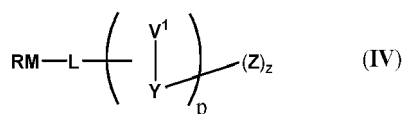
z es un número entero positivo igual o inferior al número total de sitios de unión para Z ;

cada Z es independientemente un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido en lo que antecede en el presente documento;

cada Z está conectado a Y a través de X^1 .

A partir de la fórmula (III) se debería entender que L se puede conectar a V^1 y / o a Y . Si L está conectado a Y , esto significa que tanto V^1 como L , así como uno o más Z , están conectados a Y . Si L está conectado a V^1 , esto significa que V^1 y uno o más Z están conectados a Y . L también puede estar conectado tanto a V^1 como a Y al mismo tiempo. Los restos $V^2(-L^2-L(-V^1-Y))_p)_q(Z)_{z-1}$, en los que $L(-V^1-Y)_p$ indica que L puede estar conectado a V^1 y / o a Y , conectado a Z , se denominan prorrestos en el presente documento.

La presente invención también se refiere a un compuesto de fórmula (IV):



o una sal, hidrato, o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, en el que

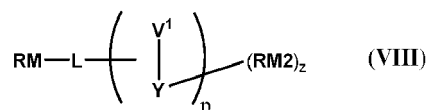
RM es un resto reactivo y L , V^1 , Y , Z , p , y z son tal como se han definido en lo que antecede en el presente documento, excepto porque L ahora está uniendo RM a uno o más V^1 y / o Y , y V^1 , Y , y Z pueden contener grupos protectores, y en los que, si hay más de 1 resto reactivo en (IV), algunos o todos los restos reactivos son iguales o diferentes. Estos conjugados de conector - agente de fórmula (IV) se pueden considerar o no compuestos intermedios para los compuestos de fórmula (III). En un compuesto de fórmula (IV), RM debe estar presente en mientras que V^1 puede estar presente o ausente.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (IV), en el que RM es un resto reactivo seleccionado de entre haluro de carbamoilo [-N(R)C(O)X], haluro de acilo [-C(O)X], éster activo [-C(O)OR], anhídrido [-C(O)OC(O)OR], α -haloacetilo [-C(O)CH₂X], α -haloacetamida [-N(R)C(O)CH₂X], maleimida, isocianato [-N=C=O], isotiocianato [-N=C=S], disulfuro [-S-SR], tiol [-SH], hidrazina [-NH₂NH₂], hidrazida [-C(O)NH₂NH₂], cloruro de sulfonilo [-S(O)₂Cl], aldehído [-C(O)H], metil cetona [-C(O)CH₃], vinil sulfona [-S(O)₂-CH=CH₂], halometilo [-CH₂Cl], y sulfonato de metilo [-CH₂OS(O)₂R]. Estos conjugados de conector - agente de fórmula (IV) se pueden considerar o no compuestos intermedios para los compuestos de fórmula (III). En un compuesto de fórmula (IV) de este tipo, RM debe estar presente.

Los restos $\text{RM-L}(-\text{V}^1-\text{Y})_p(\text{Z})_{z-1}$, en los que $\text{L}(-\text{V}^1-\text{Y})_p$ indica que **L** se puede conectar a V^1 y / o a **Y**, conectado a **Z**, en el presente documento se denominan prorrrestos.

En un aspecto adicional más, la presente invención se refiere nuevos conectores bifuncionales que contienen un sitio de escisión, un sistema espaciador de autoeliminación y dos restos reactivos, uno de los cuales se puede hacer reaccionar con un resto terapéutico o de diagnóstico, por ejemplo un compuesto de fórmula (I), y el otro de los cuales se puede hacer reaccionar con un resto funcional, tal como un resto de dirección. Estos conectores bifuncionales se pueden usar para preparar conjugados de fórmulas (III) y (IV) de la presente invención o similar compuestos con diferentes restos terapéuticos o de diagnóstico.

Más específicamente, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (VIII):



o una sal, hidrato, o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, en la que

L, V^1 , **Y**, **RM**, *p*, y *z* son tal como se han definido para un compuesto de fórmula (IV), y **RM2** es un resto reactivo o un grupo saliente. **RM** y cada **RM2** se seleccionan independientemente. Estos conectores bifuncionales de fórmula (VIII) se pueden considerar o no compuestos intermedios para los compuestos de fórmula (III) y (IV). Además, se puede considerar que estos compuestos son compuestos intermedios para conjugados y conjugados de conector agente similares a los compuestos de fórmula (III) y (IV) en las que el resto **Z** es un resto terapéutico o de diagnóstico diferente de un compuesto de fórmula (I) o (I'), o un derivado del mismo que contiene prorrresto. Por lo tanto, en otro aspecto, la presente invención se refiere a un conjugado de fórmula (III) en la que el uno o más restos **Z** son independientemente un resto terapéutico o de diagnóstico. En otro aspecto más, la presente invención se refiere a un conjugado de conector - agente de fórmula (IV) en la que el uno o más restos **Z** son independientemente un resto terapéutico o de diagnóstico.

Se indica que los restos X^{14} separados en los restos $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}^{14}$ que pueden estar presentes en un compuesto de fórmula (III), (IV), o (VIII) se seleccionan independientemente.

También se indica que *z* no representa un grado de polimerización, por lo tanto *z* no indica que un número de restos **Z** o **RM2** estén conectados entre sí.

Se indica adicionalmente que si **Y** está conectado a un átomo de **Z** o **RM2** que porta un sustituyente **R** específico en lugar de a este sustituyente **R** en sí mismo, esto de hecho se refiere a que este sustituyente **R** está ausente si esto es necesario para satisfacer las reglas de valencia.

Se indica adicionalmente que si X^{14} , por ejemplo en $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}^{14}$ representa



entonces $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}^{14}$ se debería leer como $-\text{CH}_2\text{CHX}^{14}$.

Se indica que si un compuesto de la presente invención contiene un resto de oligoetilenglicol o polietilenglicol el número real de unidades de etilenglicol puede variar de molécula a molécula y la variable que designa número de unidades realmente representa el número medio de unidades. A pesar de que el número medio de unidades de etilenglicol por lo general se limita a 1000 en las definiciones de los compuestos de la presente invención, los compuestos con un número medio mayor de unidades de etilenglicol también están incluidos en la presente invención.

Se debería entender que la presente invención se refiere a compuestos enantioméricamente puros y / o diastereoméricamente puros de fórmulas (III), (IV), y (VIII) así como a mezclas enantioméricas y / o diastereoméricas de compuestos de fórmulas (III), (IV), y (VIII).

Cuando un compuesto de fórmula (III) o (IV) contiene sitios de unión en **Y** para **Z** que no están acoplados a **Z**, por ejemplo como consecuencia de una reacción de acoplamiento incompleta con **Z** durante la síntesis, se considera que estos sitios de unión están unidos a **H**, **OH**, un resto reactivo (por ejemplo, **RM2**), o un grupo saliente (por ejemplo, **RM2**) en su lugar. Si todos los sitios de unión mencionados están conectados a **Z**, entonces *z* es igual al número de dichos sitios de unión; de otro modo, *z* es menor. Los compuestos de la presente invención pueden existir como una mezcla, en la que cada componente de la mezcla tiene un valor de *z* diferente. Por ejemplo, el compuesto puede existir como una mezcla de dos compuestos separados, un compuesto en el que *z* es 4 y otro compuesto en el que *z* es 3. mayo se iniciará además, para un *z* dado, el compuesto puede existir como una mezcla de isómeros (constitucionales) ya que **Z** se puede conectar a distintos sitios (conjuntos de) de unión.

Por razones de claridad, cuando se hace referencia a las conexiones de un primer resto a otros restos de fórmula (III), (IV), o (VIII), en general se mencionan solamente esos otros restos mencionados a pesar de que están unidos directamente a dicho primer resto en la fórmula (III), (IV), o (VIII). Se debería entender que si uno de los otros restos mencionados no está presente, dicho primer resto realmente está conectado al primer resto en línea que está

presente, a menos que se indique de forma explícita de otro modo. Por ejemplo, si se afirma que “ V^1 se escinde de Y ”, esta expresión se refiere realmente a que “ V^1 se escinde de Y , o de Z si Y está ausente” y se debería leer como “ V^1 se escinde de Z ” cuando se hace referencia a un compuesto que carece de Y .

5 El resto V^1

En un compuesto de fórmula (III), (IV), o (VIII), el resto V^1 es un grupo que se puede escindir o transformar de forma condicional. En otras palabras, se diseña para que se transforme y / o escinda de Y mediante un proceso químico, fotoquímico, físico, biológico, o enzimático después de iniciarse o en ciertas condiciones. Estas condiciones pueden ser, por ejemplo poner un compuesto de la invención en un entorno acuoso, que conduce a hidrólisis de V^1 , o poner un compuesto de la invención en un entorno que contiene una enzima que reconoce y escinde V^1 , o poner un compuesto de la invención en condiciones reductoras, que conduce a reducción y / o retirada de V^1 , o poner un compuesto de la invención en condiciones de oxidación, que conduce a oxidación y / o retirada de V^1 , o poner un compuesto de la invención en contacto con radiación, por ejemplo, luz UV, que conduce transformación y / o escisión, o poner un compuesto de la invención en contacto con calor, que conduce transformación y / o escisión, o poner un compuesto de la invención a presión reducida, que conduce transformación, por ejemplo, una retrocicloación y / o escisión, o poner un compuesto de la invención bajo presión elevada o alta, que conduce transformación y / o escisión. Esta condición se puede satisfacer después de la administración de un compuesto de la presente invención a un animal, por ejemplo, un mamífero, por ejemplo un ser humano: la condición se puede satisfacer cuando el compuesto se localiza en, por ejemplo, un órgano, tejido, célula, diana subcelular, o diana bacteriana, vírica, o microbiana específicos, por ejemplo mediante la presencia de factores internos (por ejemplo, enzimas específicas de diana o hipoxia) o aplicación de factores externos (por ejemplo, radiación, campos magnéticos) o la condición ya se puede satisfacer directamente después de su administración (por ejemplo, enzimas ubicuas en la circulación).

Escisión de V^1 significa que el enlace entre V^1 e Y está roto. Transformación de V^1 significa que V^1 se convierte en un resto diferente y este suceso puede conducir de forma directa o indirecta a la autoescisión de V^1 de Y . Como alternativa, la transformación de V^1 puede conducir a la formación de un resto $V-Y$ que es un conector autoinmolativo. En este caso, Y solamente llega a ser autoinmolativo después de la transformación de V^1 . El resto V^1 transformado realmente se convierte en parte (parcialmente) de Y . Por ejemplo, la oxidación de V^1 que es un átomo de hidrógeno a un grupo hidroxilo puede conducir a la formación de un resto a *para* u *orto*-hidroxibenciloxicarbonilo V^1-Y que se autoelimina. Como otro ejemplo, la reducción de V^1 que es un grupo nitro puede conducir a la formación de un resto *para* u *orto*-aminobenciloxicarbonilo V^1-Y que se autoelimina.

Como alternativa de nuevo, V^1 puede estar ausente. En este caso, se pretende que el prorresto no se pueda retirar de Z y todo el prorresto o una parte del mismo (en caso de degradación de un compuesto de fórmula (III) o (IV) a otros uno o más sitios en la molécula) permanecerá conectado al uno o más restos Z . Un modo alternativo para ver esto es que la parte del prorresto que permanece unida al resto Z es de hecho una parte del resto Z .

Un compuesto de la presente invención puede contener más de un resto V^1 por prorresto (p y / o $q > 1$).

Estos restos V^1 pueden ser o no los mismos y pueden necesitar o no las mismas condiciones para transformación y / o escisión.

La tasa a la que se transforma y / o escinde V^1 puede depender de los otros restos en un compuesto de fórmula (III). Por ejemplo, el uso de un resto L y / o Y más corto puede llevar al resto funcional y / o Z más cerca del sitio de escisión, lo que puede conducir a una reducción de la tasa de transformación y / o escisión. Los sustituyentes (voluminosos) en el resto L y / o Y también pueden conducir a una reducción de la tasa de transformación y / o escisión de V^1 , especialmente cuando están situados cerca del sitio de transformación / escisión. Otros efectos, tales como enlace de hidrógeno, grupo vecinal, y efectos electrónicos, también pueden desempeñar un papel.

En un aspecto de la presente invención, un conjugado se usa para dirigir uno o más restos Z a células diana.

En este caso, un resto V^1 puede contener por ejemplo una molécula de sustrato que se escinde mediante una enzima presente en la proximidad de las células diana o dentro de las células diana, por ejemplo células tumorales. Por ejemplo, V^1 puede contener un sustrato que se escinde con una enzima presente a niveles elevados en la proximidad de o dentro de las células diana en comparación con otras partes del organismo, o mediante una enzima que está presente solamente en la proximidad de o dentro de las células diana.

Es importante reconocer que si la especificidad del sitio diana se consigue solamente basándose en la transformación y / o escisión selectiva de dicho V^1 en el sitio diana, la condición que causa la escisión debería ser específica preferentemente, al menos hasta un cierto grado, del sitio diana, mientras que la presencia de otro resto específico de diana en el compuesto de la invención, por ejemplo en un resto V^2 , debilita o elimina este requisito. Por ejemplo, cuando V^2 causa una internalización selectiva en una célula diana, una enzima también presente en otras células puede transformar y / o escindir V^1 . No obstante, preferentemente, la escisión no se debería producir en un sitio alejado del sitio diana. Por lo tanto, el conjugado no se debería exponer a enzimas o condiciones que puedan causar la escisión de V^1 en sitios distintos del sitio diana. En una realización, la transformación y / o escisión de V^1 se produce por vía intracelular. En otra realización, la transformación y / o escisión de V^1 se produce por vía extracelular. En otra realización, la transformación y / o escisión de V^1 se produce mediante una enzima intracelular ubicua. En otra realización, la transformación y / o escisión de V^1 se produce mediante una enzima extracelular ubicua.

En una realización, V^1 contiene un aminoácido individual, un di, tri, tetra, u oligopéptido, o un peptidomimético, que consiste en un aminoácido o secuencia de aminoácidos o mimético de los mismos reconocido y que se puede prescindir con una enzima proteolítica, por ejemplo plasmina, una catepsina, catepsina B, antígeno específico de

próstata (PSA), activador de plasminógeno de tipo uroquinasa (u-PA), o un miembro de la familia de metaloproteinasas de matriz, presente en la proximidad de o dentro de las células diana, por ejemplo células tumorales.

5 Cuando V^1 se escinde por vía extracelular, el uno o más restos Z se puede liberar por vía extracelular. Esto puede proporcionar la ventaja de que estos restos Z no son solamente capaces de influir en la célula o células que rodean directamente el sitio de activación (por ejemplo, células positivas para diana), sino también a las células que en cierto modo están más alejadas del sitio de activación (por ejemplo, células negativas para diana) debido a difusión (efecto espectador), con la condición de que los restos Z sean capaces de penetrar la membrana celular.

10 Una enzima para escindir V^1 también se fue de transportar a la cercanía de o dentro de las células diana o tejido diana a través de, por ejemplo, terapia enzimática con profármacos dirigidos por anticuerpo (ADEPT), terapia enzimática con profármacos dirigidos por polímeros (PDEPT), terapia enzimática con profármacos dirigida por macromoléculas (MDEPT), terapia enzimática con profármacos dirigida por virus (VDEPT), o terapia enzimática con profármacos dirigida por genes (GDEPT). En estos enfoques, la enzima que necesita escindirse de V^1 se transporta o se induce para que se produzca en el sitio diana antes de la administración del profármaco, por ejemplo, un compuesto de fórmula (III) o (IV). En una realización, la transformación y / o escisión de V^1 se produce a través de una enzima unida a un anticuerpo usando el enfoque de ADEPT.

15 En una realización, cuando el grupo α -amino del aminoácido N-terminal de V^1 no se acopla a L , este aminoácido se puede funcionalizar con un grupo de bloqueo adecuado acoplado al grupo α -amino o puede ser un aminoácido no natural de modo que se evita la degradación prematura no deseada de V^1 por ejemplo mediante enzimas ubicuas, por ejemplo, exopeptidasas. Un grupo de bloqueo de este tipo puede ser cualquier grupo que evite o que retrase de forma considerable la degradación prematura de V^1 . Los ejemplos de tal grupo de bloqueo incluyen un D-aminoácido, un grupo acetilo, un grupo *tert*-butiloxicarbonilo, y un oligoetileno o polietilenglicol.

20 En una realización más, V^1 se selecciona de entre D-alanilfenilalaninilisina, D-valilleucilisina, D-alanilleucilisina, D-valilfenilalaninilisina, D-valilriptofanilisina, D-alanilriptofanilisina, alanilfenilalaninilisina, valilleucilisina, alanilleucilisina, valilfenilalaninilisina, valilriptofanilisina, alanilriptofanilisina, D-alanilfenilalanilcitrulina, D-valilleucilcitrulina, D-alanilleucilcitrulina, D-valilfenilalanilcitrulina, D-valilriptofanilcitrulina, D-alanilriptofanilcitrulina, alanilfenilalanilcitrulina, valilleucilcitrulina, alanilleucilcitrulina, valilfenilalanilcitrulina, valilriptofanilcitrulina, y alanilriptofanilcitrulina.

25 En otra realización más, V^1 se selecciona de entre fenilalaninilisina, valillisina, valilalanina, D-fenilalanilfenilalaninilisina, fenilalanilfenilalaninilisina, glicilfenilalaninilisina, alanillisina, valilcitrulina, N-metilvalilcitrulina, fenilalanilcitrulina, isoleucilcitrulina, triptofanilisina, triptofanilcitrulina, fenilalanilarginina, fenilalanilalanina, glicilfenilalanilleucilglicina, alanilleucilalanilleucina, alanilarginilarginina, fenilalanil-N₉-tosilarginina, fenilalanil-N₉-nitroarginina, leucilisina, leucilcitrulina y fenilalanil-O-benzoiltreonina.

30 En una realización más, V^1 se selecciona de entre fenilalaninilisina, valillisina, y valilcitrulina.

Además como en otras realizaciones, V^1 es fenilalaninilisina o valillisina o valilcitrulina.

35 Por lo tanto, en una realización, la presente invención se refiere a un compuesto en el que V^1 contiene un sustrato que se puede escindir con una enzima proteolítica, plasmina, una catepsina, catepsina B, β -glucuronidasa, una galactosidasa, antígeno específico de próstata (PSA), activador de plasminógeno de tipo uroquinasa (u-PA), un miembro de la familia de metaloproteinasas de matriz, o una enzima localizada por medio de terapia enzimática con profármacos dirigida, tal como ADEPT, VDEPT, MDEPT, GDEPT, o PDEPT, o en el que V^1 contiene un resto que se puede escindir o transformar a través de reducción en condiciones de hipoxia, a través de reducción mediante una nitrorreductasa, o a través de oxidación.

40 Si un conjugado de la presente invención contiene más de 1 prorrosto, uno de estos prorrosts se puede usar para dirigir el conjugado a un sitio diana (prorrosto de dirección), mientras que otro prorrosto se usa para mejorar las propiedades farmacológicas. En este caso, el resto V^1 en el de prorrosto dirección se escinde preferentemente en el sitio diana, por ejemplo a través de un proceso específico de sitio diana tal como una escisión enzimática mediante una enzima presente predominantemente en el sitio diana o a través de un proceso intracelular más genérico que solamente se puede producir después de la internalización selectiva de célula diana del conjugado, mientras que el prorrosto que ayuda a mejorar las propias farmacológicas se puede escindir ya sea en el sitio diana o por vía sistémica, por ejemplo mediante enzimas ubicuas.

45 Los compuestos de fórmulas (III) y (IV) se pueden diseñar para que opcionalmente liberen un compuesto de fórmula (I), o un compuesto de fórmula (I'), después de la transformación y / o escisión del uno o más restos V^1 . La liberación de un compuesto de fórmula (I), un compuesto de fórmula (I'), o un derivado de los mismos (por ejemplo debido solamente a la degradación parcial del prorrosto) a partir de un conjugado de la presente invención a través de otro mecanismo no obstante no está excluida de la presente invención.

60 *El sistema espaciador de autoeliminación Y*

El sistema espaciador de autoeliminación Y une a V^1 y opcionalmente a L a uno o más restos Z , o $RM2$ en el caso de un compuesto de fórmula (VIII).

65 Un sistema espaciador de autoeliminación Y se puede incorporar en un conjugado de la presente invención por ejemplo para mejorar las propiedades de Z o del conjugado en general, para proporcionar químicas de acoplamiento

adecuadas, y / o para crear espacio entre V^1 y Z .

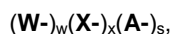
Un compuesto de la presente invención puede contener más de un sistema espaciador Y por prorresto. Estos restos Y pueden ser o no los mismos.

5 Después de la escisión o transformación de V^1 , helado en la parte izquierda de Y puede llegar a no está bloqueado o se puede formar un resto de autoeliminación V^1-Y , que da como resultado una liberación opcional de uno o más restos Z .

10 Los sistemas espaciadores de autoeliminación pueden ser, por ejemplo los que se describen en los documentos WO 02/083180 y WO 2004/043493, los que se describen en esta sección, así como otros espaciadores de autoeliminación conocidos por un experto en la materia.

15 El resto Y puede, además de proporcionar químicas de acoplamiento adecuadas y creación de espacio entre el sitio de escisión y Z , ayudar a mejorar las propiedades farmacológicas del conjugado. Por ejemplo, la presencia de un resto o sustituyente soluble en agua, tal como un resto de polietilenglicol o un sustituyente que está cargado, al menos parcialmente, a pH fisiológico puede contribuir a la solubilidad en agua y / o a aumentar la estabilidad en el almacenamiento y / o estabilidad en plasma del conjugado.

20 En un aspecto la invención se refiere a compuestos en los que Y es

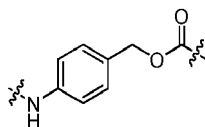


en el que

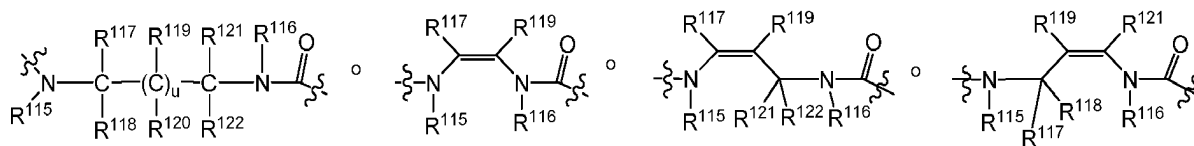
25 W y X son cada uno un espaciador de cascada electrónica $1,2 + 2n$ ($n \geq 1$) de liberación individual, que son iguales o diferentes;
 A es un espaciador de ciclado de ω -amino aminocarbonilo que forma un derivado de urea cíclica después del ciclado;
 30 s es 1;
 w y x son números que representan el grado de polimerización y son independientemente un número entero de 0 (incluido) a 5 (incluido).

35 En una realización, $w + x$ es 0, 1 o 2. En otra realización más, s es 1. En otra realización más, $w + x$ es 1 o 2 y s es 1. En otra realización más, $w + x$ es 1 y s es 1. En otra realización más, w es 1, x es 0, y s es 1.

En otra realización, el espaciador de cascada electrónica $1,2 + 2n$ W o X es



40 De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, el espaciador A de eliminación de ciclado de ω -amino aminocarbonilo es un resto que tiene la fórmula:



45 en la que

u es un número entero de 0 o 1;
 R^{115} , R^{116} , R^{117} , R^{118} , R^{119} , R^{120} , R^{121} , y R^{122} se seleccionan independientemente de entre H, OH, SH, NH_2 , N_3 ,
 50 NO_2 , NO, CF_3 , CN, $C(O)NH_2$, $C(O)H$, $C(O)OH$, halógeno, R^z , SR^z , $S(O)R^z$, $S(O)_2R^z$, $S(O)OR^z$, $S(O)_2OR^z$,
 $OS(O)R^z$, $OS(O)_2R^z$, $OS(O)OR^z$, $OS(O)_2OR^z$, OR^z , NHR^z , $N(R^z)R^{z1}$, $+N(R^z)(R^{z1})R^{z2}$, $P(O)(OR^z)(OR^{z1})$,
 $OP(O)(OR^z)(OR^{z1})$, $C(O)R^z$, $C(O)OR^z$, $C(O)N(R^{z1})R^z$, $OC(O)R^z$, $OC(O)OR^z$, $OC(O)N(R^z)R^{z1}$, $N(R^{z1})C(O)R^z$,
 $N(R^{z1})C(O)OR^z$, y $N(R^{z1})C(O)N(R^{z2})R^z$, en los que R^z , R^{z1} , y R^{z2} se seleccionan independientemente de entre H y
 55 $(CH_2CH_2O)_{ee}CH_2CH_2X^{13}R^{e1}$, alquilo C_{1-20} , heteroalquilo C_{1-20} , cicloalquilo C_{3-20} , heterocicloalquilo C_{1-20} , arilo C_{5-20} ,
 o heteroarilo C_{1-20} opcionalmente sustituidos, en el que ee se selecciona de 1 a 1000, X^{13} se selecciona de entre O, S y NR^{f1} , y R^{f1} y R^{e1} se seleccionan independientemente de entre H y alquilo C_{1-3} , dos o más de R^z , R^{z1} , y R^{z2}
 estando unidos opcionalmente mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y / o heterociclos
 opcionalmente sustituidos, dos o más de los sustituyentes R^{115} , R^{116} , R^{117} , R^{118} , R^{119} , R^{120} , R^{121} , y R^{122} estando

unidos opcionalmente mediante uno o más enlaces para formar uno o más carbociclos y/o heterociclos opcionalmente sustituidos.

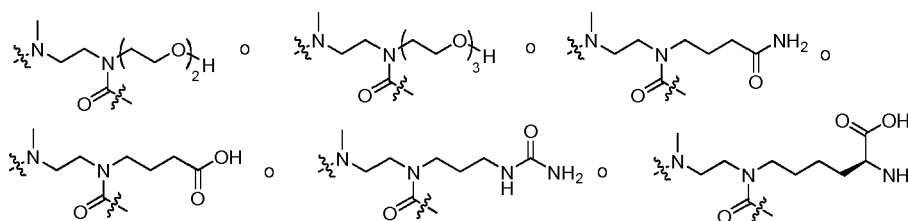
R^{115} y R^{116} son grupos sustituyentes que se sitúan en los átomos de nitrógeno que forman parte de las uniones a los restos adyacentes al espaciador de eliminación de ciclado de ω -amino aminocarbonilo en un compuesto de fórmula (III), (IV), o (VIII). El R^{116} que porta nitrógeno está conectado a **Z** o **RM2** a través de un resto carbonilo. El R^{115} que porta el átomo de nitrógeno está conectado a **W**, **X**, **V¹**, o **L**. El tamaño y la naturaleza de los sustituyentes R^{115} y R^{116} pueden, además de influir en las propiedades farmacológicas de un compuesto de fórmula (III), (IV), o (VIII) en general, influir especialmente en la estabilidad de dichas uniones de conexión. Por ejemplo, la elección de R^{116} para que sea un sustituyente pequeño puede hacer por lo general que la unión a **Z** sea menos estable a la hidrólisis o degradación enzimática y cuando R^{116} es un sustituyente más voluminoso (por ejemplo, un sustituyente que está ramificado en el carbono α o β con respecto al átomo de nitrógeno). La naturaleza del sustituyente R^{116} , por ejemplo, ya sea polar o apolar o no cargado a pH fisiológico, puede influir también en la estabilidad de la unión a **Z**, porque el sustituyente puede influir en las propiedades del sustrato de la unión de conexión para enzimas específicas o retrasar o aumentar la tasa de hidrólisis. Si la unión de conexión es susceptible a enzimas que están presentes de forma ubicua, por ejemplo enzimas presentes en la circulación, esto puede causar una degradación prematura del conjugado. Lo mismo se mantiene para el sustituyente R^{115} con respecto a la unión de conexión a **W**, **X**, **V¹**, o **L**. De forma análoga, los sustituyentes en los carbonos unidos directamente a los átomos de nitrógeno (R^{117} , R^{118} , R^{119} , R^{121} , y R^{122}) pueden contribuir a la estabilidad de las uniones de conexión.

Los sustituyentes R^{115} y R^{116} también pueden influir en la tasa de ciclado del espaciador **A** de eliminación de ciclado de ω -amino aminocarbonilo. Los sustituyentes voluminosos pueden impedir el ciclado y de este modo reducir por lo general la tasa de ciclado. Por lo tanto, los sustituyentes pequeños pueden en general ser favorables para tasas de ciclado rápidas. No obstante, otras propiedades del sustituyente, tales como electronegatividad, polaridad, y disponibilidad de grupos donantes y/o aceptores de enlace de hidrógeno, también pueden influir en la tasa de ciclado. Además, si solamente uno de R^{115} y R^{116} es un sustituyente voluminoso, la tasa de ciclado puede aumentar con respecto a los espaciadores de ciclado que contienen dos sustituyentes no voluminosos, posiblemente debido a la cepa B. La tasa de ciclado también se puede ver afectada por los otros sustituyentes en el espaciador de eliminación de ciclado de ω -amino aminocarbonilo. Las propiedades de estos sustituyentes tales como polaridad, electronegatividad, y capacidades de formación de enlaces de hidrógeno, pueden tener un efecto en la tasa de ciclado. Además, la presencia de sustituyentes geminales en uno de los carbonos entre los dos átomos de nitrógeno también puede aumentar la tasa de ciclado (efecto de Thorpe-Ingold). La reunión de sustituyentes para formar uno o más anillos también puede tener un efecto en la tasa de ciclado. En este sentido, cada modificación de puede poner los dos átomos de nitrógeno juntos de la forma más próxima o que reduce la entropía puede tener un efecto de aceleración en la tasa de ciclado.

Los efectos en la tasa de ciclado pueden depender del pH y el orden de la tasa de ciclado de dos espaciadores de eliminación de ciclado de ω -amino aminocarbonilo se puede invertir desplazándose de, por ejemplo, pH 7 a pH 5.

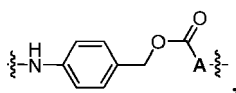
A pesar de que en ciertos casos para un conjugado de la presente invención puede ser beneficioso tener un espaciador de eliminación de ciclado de ω -amino aminocarbonilo con una tasa de ciclado rápida, liberando de este modo el fármaco activo poco después de la escisión de **V¹**, en otros casos, puede ser más beneficioso tener un espaciador de eliminación de ciclado de ω -amino aminocarbonilo que tenga una tasa de ciclado lenta o una tasa de ciclado que permanezca entre dos límites determinados previamente o que se cycle preferentemente a una tasa rápida solamente dentro de ciertos límites de pH. Esto puede hacer que el compuesto intermedio de espaciador de ciclado - fármaco permanezca durante cierto periodo de tiempo como un profármaco que liberará el fármaco lentamente o después de haber satisfecho una cierta condición.

En otras realizaciones, el conector de ciclado **A** es

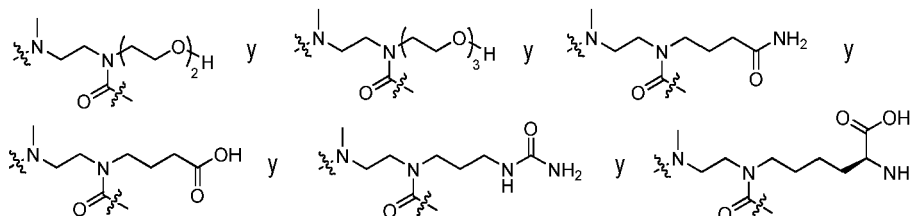


En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (III) o (IV) en la que **X¹** es **O** e **Y** está conectado a **X¹** a través de un espaciador de ciclado de ω -amino aminocarbonilo que forma parte de **Y**.

En otra realización, el sistema espaciador **Y** es



en el que **A** se selecciona de entre



5

En un conjugado de la presente invención, un sistema espaciador **Y** se puede conectar a más de un resto V^1 . En este caso, la transformación y / o escisión de uno de estos restos V^1 puede desencadenar la liberación de uno o más restos **Z**. Cuando los restos V^1 que se transforman o escinden en diferentes condiciones están conectados al mismo **Y**, la liberación de un resto **Z** se puede producir cuando un conjugado de la presente invención se lleva a una de varias condiciones distintas si **Y** puede experimentar autoeliminación de múltiples maneras.

10

El grupo de unión **L**

El grupo de unión **L** une uno o más restos V^1 y / o **Y** a L^2 o **RM**. La síntesis puede ser más sencilla cuando **L** está conectado a V^1 en lugar de **Y**, y el compuesto puede ser menos propenso a una degradación prematura ya que V^1 puede estar más protegido. La conexión de **L** a **Y** puede tener la ventaja de que V^1 se pueda transformar y / o escindir con más facilidad. Otras razones para conectar **L** a **Y** pueden ser, por ejemplo, que (parte de) **Y** permanezca unido a **L** después de la escisión de V^1 , lo que evita la liberación de moléculas pequeñas reactivas, y que el compuesto puede presentar un aumento de las propiedades farmacológicas, solubilidad, o comportamiento de agregación. **L** puede estar ausente, lo que significa que V^1 o **Y** está conectado directamente a cualquiera de L^2 o **RM**. En otro aspecto, no obstante, **L** es un grupo de unión que de forma funcional une o genera espacios en uno o más restos V^1 y / o **Y**, y el resto L^2 o **RM**. En un compuesto de fórmula (IV), el espaciado puede hacer que el resto reactivo **RM** sea más accesible a un compañero de reacción, por ejemplo cuando el resto funcional V^2 se está acoplado. En un compuesto de fórmula (III), el espaciador puede proporcionar una mejor accesibilidad de V^1 , porque V^2 está bastante alejado, lo que, especialmente en el caso de escisión o transformación enzimática de V^1 , puede mejorar la tasa a la que se transforma y / o escinde V^1 . No obstante, se encontró que un resto **L** relativamente corto puede mejorar la eficacia *in vivo* de un compuesto de fórmula (III) en comparación con compuestos similares con un resto **L** relativamente largo, con la condición de que V^1 aún se pueda transformar y / o escindir en el sitio diana.

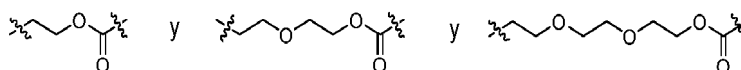
30

El grupo de unión **L** debe contener grupos funcionales adecuados en ambos de sus extremos para proporcionar un acoplamiento selectivo con el uno o más restos V^1 y / o **Y** y L^2 o **RM**.

El grupo de unión **L** puede ser un resto soluble en agua o puede contener uno o más restos solubles en agua o grupos funcionales solubles en agua, de modo que **L** contribuye a la solubilidad en agua de un compuesto de fórmula (III) o (IV). **L** también puede ser un resto o puede contener uno o más restos que reduce(n) la agregación de un compuesto de fórmula (III) o (IV), pueden ser o no un resto / restos que también aumenta(n) la solubilidad en agua de un compuesto de fórmula (III) o (IV). Además, **L** también puede contener o puede ser un resto que hace que un compuesto de fórmula (III) o (IV) sea menos susceptible a una respuesta inmunológica o aumente el eflujo de células mediante proteínas transportadoras asociadas a resistencia a múltiples fármacos. El resto **L** puede contener un resto de oligoetilenglicol o polietilenglicol o un derivado del mismo. Este resto puede aumentar, por ejemplo, la solubilidad en agua, reducir la agregación, reducir la respuesta inmunológica, y / o reducir el eflujo de células de un compuesto de fórmula (III) o (IV). **L** puede contener, por ejemplo, un resto $-(CH_2CH_2O)_fCH_2CH_2X^{13}-$ o $-(CH_2CH_2O)_eCH_2CH_2X^{13}R_{el}$, en el que *ff* se selecciona de 1 a 1000, X^{13} se selecciona de entre O, S y NR^{f1} , y R^{f1} y R^{e1} se seleccionan independientemente de entre H y alquilo C_{1-3} . En una realización, un resto de este tipo es parte de un sustituyente unido a la cadena principal de **L** que conecta **RM** o L^2 a V^1 y que no está presente en la cadena principal de **L** por sí mismo para mantener una longitud de la cadena principal relativamente corta. El resto **L** también debe contener grupos polares y / o grupos que están cargados, al menos parcialmente, a pH fisiológico para mejorar las propiedades farmacológicas de un compuesto de fórmula (III) o (IV).

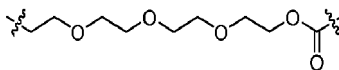
50

En una realización, **L** se selecciona de entre



55

y



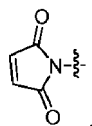
5 **El resto reactivo *RM* y el grupo de unión *L*²**

El resto reactivo **RM** en un compuesto de fórmula (IV) está conectado al grupo de unión **L** y es capaz de reaccionar con un grupo funcional adecuado en un compañero de reacción.

10 En una realización de la presente invención, el resto reactivo **RM** se diseña para que reaccione con un grupo funcional en el resto **V**², que da como resultado la formación de un compuesto de fórmula (III). En esta reacción, el resto **RM** se transforma en el resto **L**². En otra realización, el resto reactivo **RM** se diseña para que reaccione con un resto complementario *in situ*, por ejemplo, *in vivo*, por ejemplo con albúmina de suero, para dar un compuesto que puede ser o no un compuesto de fórmula (III).

15 En un aspecto de la presente invención, el resto reactivo **RM** contiene un grupo electrófilo que reacciona con un grupo neutrófilo en el compañero de reacción, por ejemplo **V**², por ejemplo, un grupo tiol, un grupo amino, o un grupo hidroxilo.

En otra realización, el resto **RM** es



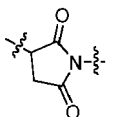
20

lo que lo hace capaz de reaccionar con un grupo tiol en el compañero de reacción, por ejemplo el resto **V**².

25 El grupo de unión **L**² en un compuesto de fórmula (III) representa el resto de **RM** cuando el resto reactivo **RM** ha reaccionado con **V**². A continuación con este grupo une el resto **V**² con **L**. El grupo que permanece puede ser un enlace, lo que significa que **L**² está ausente. No obstante, por lo general, **L**² es un grupo de unión. Cuando se forma un compuesto de fórmula (III) de una manera distinta que a través de un compuesto de fórmula (IV), **L**² no representa el resto de **RM**, pero puede representar un resto similar a un mismo puesto y además se puede seleccionar de entre, por ejemplo, alquileno C₁₋₁₀, heteroalquileno C₁₋₁₀, cicloalquileno C₃₋₁₀, heterocicloalquileno C₁₋₁₀, arileno C₅₋₁₀, y heteroarileno C₁₋₁₀ opcionalmente sustituidos. El resto **L**² puede comprender opcionalmente un resto X¹⁴CH₂CH₂O₉₉CH₂CH₂X¹⁴.

30

En una realización, el resto **L**² es



35

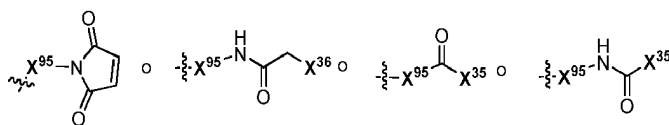
El resto *RM2*

RM2 puede ser un resto reactivo o un grupo saliente.

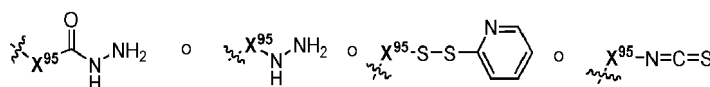
40 Si **RM2** es un resto reactivo, este es preferentemente diferente al resto reactivo **RM**. De este modo, las reacciones con el conector bifuncional se pueden realizar de forma selectiva y de forma individual con cada uno de los restos reactivos. Cuando **RM2** es un resto reactivo, esto significa que después de la reacción con un resto terapéutico o de diagnóstico o un derivado del mismo que contiene prorrosto, el resto **RM2** (o lo que queda del mismo después de la reacción) puede llegar a formar parte de dicho resto terapéutico o de diagnóstico o un derivado del mismo que contiene prorrosto opcionalmente junto con cualquier parte de **Y** que puede no autoeliminarse debido a una capacidad de salida limitada o ausente de **RM2** conjugado con resto terapéutico o de diagnóstico.

45

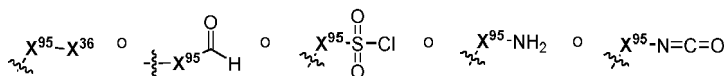
En una realización, el resto **RM2** se puede conectar a **Y**, y puede ser



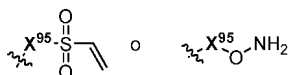
50 o



o



5 o



en los que

10 X^{35} se selecciona de entre haluro, hidroxilo, $OC(O)R^{dd}$, y $OC(O)OR^{dd}$, o $C(O)-X^{35}$ es un éster activo, X^{36} se selecciona de entre haluro, mesiloxi, trifiloxi, y tosiloxi, X^{95} es cualquier área ausente o se selecciona de entre O, S, NR^{95} , alquilo C_{1-3} , y heteroalquilo C_{1-3} , R^{dd} se selecciona de entre alquilo C_{1-10} , heteroalquilo C_{1-10} , cicloalquilo C_{3-10} , heterocicloalquilo C_{1-10} , arilo C_{5-10} , y heteroarilo C_{1-10} opcionalmente sustituidos, y R^{95} se selecciona de entre H y alquilo C_{1-3} .

15 **RM2** también puede ser un grupo saliente. En este caso, **RM2** se sustituye con el resto terapéutico o de diagnóstico o un derivado del mismo que contiene prorrosto en una reacción de un compuesto de fórmula (**VIII**) con un resto terapéutico o de diagnóstico o un derivado del mismo de este tipo y este resto terapéutico o de diagnóstico o un derivado del mismo se llega a unir directamente a **Y**.

20 En una realización, **RM2** se selecciona de entre un haluro (fluoruro, cloruro, bromuro, e yoduro), azida, un sulfonato (por ejemplo, un alcanosulfonato C_{1-6} opcionalmente sustituido, tal como metanosulfonato, trifluorometanosulfonato, y trifluoroetanosulfonato, o un bencenosulfonato opcionalmente sustituido, tal como *p*-toluenosulfonato y nosilato), imidazol, una tiona de imida cíclica, *N*-óxido de succinimida, *N*-óxido de ftalimida, *p*-nitrofenóxido, *o*-nitrofenóxido, pentafluorofenóxido, tetrafluorofenóxido, 1,3,5-triclorofenóxido, 1,3,5-trifluorofenóxido, un carboxilato, un aminocarboxilato (carbamato), un alcocicarboxilato (carbonato), y un grupo alcoxi que junto con el grupo carbonilo de **Y** se puede denominar un grupo éster activo. Tales grupos alcoxi incluyen, pero no se limitan a, *N*-óxido de succinimida, *p*-nitrofenóxido, pentafluorofenóxido, tetrafluorofenóxido, 1-hidroxibenzotriazol, y 1-hidroxi-7-azabenzotriazol, y grupos con capacidad de salida comparable.

30 *El resto V²*

El resto **V²** es un resto funcional, lo que significa que añade una funcionalidad tradicional a un compuesto de la invención.

35 En una realización, **V²** es un resto de dirección. En otra realización, el resto **V²** es un resto que mejora las propiedades farmacológicas de un compuesto de la invención. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que causa la acumulación de un compuesto de la invención en el sitio diana. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que mejora la solubilidad acuosa de un compuesto de la invención. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que aumenta la hidrofobia de un compuesto de la invención. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que reduce la extravasación de un compuesto de la invención. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que reduce la excreción de un compuesto de la invención. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que reduce la inmunogenicidad de un compuesto de la invención. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que aumenta el tiempo de circulación de un compuesto de la invención. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que aumenta la capacidad de un compuesto de la invención para cruzar una barrera biológica, por ejemplo, una membrana, pared celular, o la barrera hematoencefálica. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que aumenta la capacidad de un compuesto de la invención para internalizarse. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que permite que un compuesto de la invención se internalice. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que hace que los compuestos de la invención se agreguen. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que reduce la agregación de un compuesto de la invención. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que hace que un compuesto de la invención forme micelas o liposomas. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que causó la formación de complejos de un compuesto de la invención con otra molécula, por ejemplo, una biomolécula. En otra realización más, el resto **V²** es un resto de polinucleótido que forma complejos con una secuencia de nucleótidos complementaria, por ejemplo ARNm o ADN. En otra realización más, el resto **V²** es un resto que hace que un compuesto de la invención se una, asocie, interactúe, o forma complejos con otro resto, por ejemplo una superficie (funcionalizada) o soporte sólido.

55 En otra realización, **V²** presenta dos o more funciones diferentes. El resto **V²** puede ser, por ejemplo un resto de dirección y al mismo tiempo mejorar las propiedades farmacológicas, incluyendo la solubilidad en agua.

60 En un aspecto de la invención, el resto **V²** incluye dentro de su alcance cualquier unidad que se una o se asocie de forma reactiva o forma complejos con un receptor, un complejo receptor, antígeno, u otro resto asociado con una de población de células diana dada. **V²** puede ser cualquier molécula que se una a, forme complejos con, o reaccione con un resto de una población de células que se desea que modificar de forma terapéutica o de otro modo de forma biológica. El resto **V²** actúa para suministrar el uno o más restos **Z** a la población de células diana en particular con la

que reacciona V^2 o a la que se une V^2 . Tales restos V^2 incluyen, pero no se limitan a, aptámeros, anticuerpos de longitud completa y fragmentos de anticuerpo y derivados de los mismos, lectinas, modificadores de la respuesta biológica, enzimas, vitaminas, factores de crecimiento, esteroides como nutrientes, restos de azúcar, restos de oligosacárido, hormonas, y cualquier derivado de los mismos, o cualquier combinación de cualquiera de estos.

5 Después de la unión, asociación de forma reactiva, o formación de complejos, los compuestos de la invención pueden o no internalizarse. Si se produce internalización, transformación y/o escisión de V^1 se produce preferentemente dentro de la célula diana.

10 Los restos V^2 de anticuerpo policlonal útiles son poblaciones heterogéneas de moléculas de anticuerpo. Diversos procedimientos bien conocidos en la técnica se pueden usar para la producción de anticuerpos policlonal para un antígeno de interés.

15 Los restos V^2 de anticuerpo monoclonal útiles son poblaciones homogéneas de anticuerpos de un anticuerpo en particular (por ejemplo, un antígeno de célula cancerosa). Un anticuerpo monoclonal (mAb) para un antígeno de interés se puede preparar usando cualquier técnica conocida en la técnica que proporcione la producción de moléculas de anticuerpo monoclonal.

Los restos de anticuerpo monoclonal V^2 útiles incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos monoclonales humanos, anticuerpos monoclonales humanizados, o anticuerpos monoclonales humano-ratón quiméricos (u otras especies). Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar mediante cualquiera de numerosas técnicas conocidas en la técnica.

20 El resto V^2 también puede ser un resto biespecífico. En la técnica se conocen algunos métodos para preparar anticuerpos biespecíficos.

El resto V^2 puede ser un fragmento, derivado o análogo funcionalmente activo de un anticuerpo que se une de forma inmunespecífica a un antígeno en una célula diana, por ejemplo, un antígeno de célula cancerosa. En este sentido, "funcionalmente activo" significa que el fragmento, derivado o análogo es capaz de provocar anticuerpos anti-anti idiotipo que reconocen el mismo antígeno que reconoce el anticuerpo a partir del que se obtiene el fragmento, derivado o análogo.

25 Otros restos V^2 útiles comprenden fragmentos de anticuerpos que incluyen, pero no se limitan a, fragmentos de $F(ab')_2$, que contienen la región variable, la región constante de cadena ligera, y el dominio CH1 de la cadena pesada, que se puede producir mediante digestión con pepsina de la molécula de anticuerpo, y fragmentos de Fab, que se pueden generar mediante la reducción de los puentes disulfuro de los fragmentos de $F(ab')_2$. Otros restos V^2 útiles son dímeros de anticuerpos de cadena pesada y de cadena ligera, o cualquier fragmento mínimo de los mismos tal como Fvs o anticuerpos de una sola cadena (SCA), anticuerpos de dominio, anticalinas, aficuerpos, nanocuerpos, y cualquier otra molécula con una especificidad igual, similar, o comparable a la del anticuerpo precursor.

35 Además, los anticuerpos recombinantes, tales como anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados, que comprenden partes tanto humanas como no humanas, que se pueden preparar usando técnicas convencionales de ADN recombinante, son restos V^2 útiles. Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que diferentes partes se obtienen a partir de diferentes especies animales, tales como las que tienen una región variable obtenida de una región constante monoclonal murina y una región constante de inmunoglobulina humana. Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpo de especies no humanas que tienen una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de la especie no humana y una región marco conservada de una molécula de inmunoglobulina humana.

40 Los anticuerpos completamente humanos son particularmente deseables como restos V^2 . Tales anticuerpos se pueden producir por ejemplo usando ratones transgénicos que son incapaces de expresar genes de cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina endógenos, pero que pueden expresar genes de cadena pesada y ligera humanos.

45 En otras realizaciones, el resto V^2 es una proteína de fusión de un anticuerpo, o un fragmento funcionalmente activo o derivado del mismo, por ejemplo uno en el que el anticuerpo se fusiona a través de un enlace covalente (por ejemplo, es un enlace peptídico) en cualquiera del extremo N-terminal o del extremo C-terminal con respecto a una secuencia de aminoácidos de otra proteína (o parte de la misma, preferentemente una parte de la proteína de al menos a 10, 20, o 50 aminoácidos) que no es el anticuerpo. Preferentemente, el anticuerpo o fragmentos del mismo se une covalentemente a la otra proteína en el extremo N-terminal del dominio constante.

50 Los anticuerpos del resto V^2 incluyen análogos y derivados que están modificados, es decir, mediante la unión covalente de cualquier tipo de molécula siempre y cuando tal unión covalente permita que el anticuerpo retenga su inmunespecificidad de unión a antígeno. Por ejemplo, pero no a modo de limitación, los derivados y análogos de anticuerpos incluyen los que se han modificado adicionalmente, por ejemplo, mediante glicosilación, acetilación, pegilación, reducción de disulfuro, fosfilación, amidación, derivatización con grupos de o de bloqueo conocidos, escisión proteolítica, unión a otra proteína, etc. Además, el análogo derivado puede contener uno o más aminoácidos no naturales.

55 Los anticuerpos del resto V^2 incluyen anticuerpos que tienen modificaciones (por ejemplo, sustituciones (por ejemplo cisteína a serina o serina a cisteína), deleciones o adiciones). En particular, estos incluyen anticuerpos que tienen modificaciones en resto de aminoácidos identificados como implicados en la interacción entre el dominio Fc y el receptor FcRn. También se pueden introducir modificaciones para poder acoplar el anticuerpo a conjugados de conector - agente en posiciones específicas en el anticuerpo.

60 En una realización específica, un anticuerpo inmunespecífico para un antígeno de cáncer o tumor se usa como un

resto V^2 de acuerdo con los compuestos, composiciones y métodos de la invención.

Los anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de célula cancerosa se pueden obtener por vía comercial o se pueden producir con cualquier método conocido por un experto en la materia, tal como síntesis química o técnicas de expresión recombinante. Las secuencias de nucleótidos que codifican anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de célula cancerosa se pueden obtener, por ejemplo, a partir de la base de datos de GenBank o una base de datos similar a la misma, una fuente comercial u otra fuente, publicaciones de bibliografía, o mediante clonación y secuenciación de rutina.

Los ejemplos de anticuerpos disponibles para el tratamiento del cáncer que pueden ser útiles para su incorporación en conjugados de la presente invención como un resto V^2 incluyen, pero no se limitan a, HERCEPTIN (trastuzumab), que es un anticuerpo monoclonal anti-HER2 humanizado para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama metastásico; RITUXAN (rituximab), que es un anticuerpo monoclonal anti-CD20 quimérico para el tratamiento de pacientes con linfoma no Hodgkin; OvaRex (oregovomab), que es un anticuerpo murino para el tratamiento de cáncer de ovario; Panorex (edrecolomab), que es un anticuerpo IgG_{2a} murino para el tratamiento de cáncer colorrectal; IMC-BEC2 (mitumomab), que es un anticuerpo IgG murino para el tratamiento de cáncer de pulmón; IMC-C225 (erbitux), que es un anticuerpo IgG quimérico para el tratamiento de cáncer de cabeza y cuello; Vitaxin, que es un anticuerpo humanizado para el tratamiento del sarcoma; Campath I/H (alemtuzumab), que es un anticuerpo IgG₁ humanizado para el tratamiento de leucemia linfocítica crónica (CLL); SGN-70, que es un anticuerpo anti-CD70 humanizado para el tratamiento de neoplasias hematológicas; Smart MI95, que es un anticuerpo IgG humanizado para el tratamiento de leucemia mieloide aguda (AML); J591, que es un anticuerpo humanizado frente a antígeno de membrana específica de próstata; LymphoCide (epratuzumab), que es un anticuerpo IgG humanizado para el tratamiento de linfoma no Hodgkin; SGN-33, que es un anticuerpo anti-CD33 humanizado para el tratamiento de leucemia mieloide aguda; Smart ID 10, que es un anticuerpo humanizado para el tratamiento de linfoma no Hodgkin; Oncolym, que es un anticuerpo murino para el tratamiento de linfoma no Hodgkin; Allomune, que es un mAb anti-CD2 humanizado para el tratamiento de enfermedad de Hodgkin o linfoma no Hodgkin; Avastin (bevacizumab), que es un anticuerpo anti-VEGF humanizado para el tratamiento de cánceres de pulmón y colorrectal; SGN-40, que es un anticuerpo anti-CD40 humanizado para el tratamiento de mieloma múltiple; SGN-30, que es un anticuerpo anti-CD30 quimérico para el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin; CEAcide, que es un anticuerpo anti-CEA humanizado para el tratamiento de cáncer colorrectal; IMC-1C11, que es un anticuerpo quimérico anti-KDR para el tratamiento de cáncer colorrectal, cánceres de pulmón, y melanoma; y Cetuximab, que es un anticuerpo quimérico anti-EGFR para el tratamiento de cánceres positivos para factor de crecimiento epidérmico.

Otros anticuerpos que pueden ser útiles para su incorporación en conjugados de la presente invención como un resto V^2 incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos frente a los siguientes antígenos: CA125, CA9, CA6, CA15-3, CA19-9, L6, Lewis Y, Lewis X, Lewis A, alfa fetoproteína, CA 242, fosfatasa alcalina de placenta, antígeno específico de próstata (PSA), antígeno de membrana específico de próstata (PSMA), fosfatasa ácida prostática, receptores del factor de crecimiento epidérmico, receptores de interleuquina, integrinas, receptores del factor de crecimiento de tipo insulínico, CanAg, DAF, PEM, IRTA-2, IRTA-4, AFP, HER2, EGFR, VEGFR1, VEGFR2, MAGE-1, LUCA1, LUCA2, MAGE-2, MAGE-3, MAGE-4, ED-B, MADCAM, CEACAM5, MCP-1, Cripto, TAT226, VLA-4, C3B, receptor de anti transferrina, endosialina, E-selectina, GCC, GP-75, Sindecano-1, GPNMB, ROBO4, STEAP-1, CMET, EGP-1, Kim-1, Tim-1, tirosina quinasas receptoras de Eph, HMW-MAA, TMEFF2, PSCA, CLL-1, TNF- α , FAP- α , IFN- α , EphA2, EphB2, EphB3, EphB4, EGFL-7, DLL-4, RS7, 4-1BB, TENB2, FLT3, p97, FGF19, FGFR2, glicicano-3, P53, L53, RON, MN, GFR- α 3, FDF03, TSLPR, MUC1-KLH, Tag 72, MUC18, B7H4, PTK7, RG-1, MUC16, CSAP, PDGF, PSMA, 5T4, EpCAM, SGA-1M, SGA-56M, SGA-72M, IGF1R, CCR2, CCR5, CTLA4, CLCA-1, ELAM1, DR5, CEA, CXCR-4, GD2, gp100, GD3 gangliósido, L243, HMGB1, GPC-3, MART1, receptor de IL-2, CD2, CD3, CD303, CD4, CD20, CD43, CD44, CD30, CD55, CD151, CD154, CD19, CD21, CD23, CD79, CD52, CD25, CD45, CD46, CD56, CD59, CD7, CD137, CD138, CD74, CD133, CD80, CD63, CD64, CD66, CD140b, CD32, CD33, CD37, CD22, CD27, Apo-2, ERBB4, HLA-DR, HLA-DR10, gonadotropina coriónica humana, CD38, CD40, CD70, mucina, P21, un receptor específico de células madre cancerosas, MPG, y producto oncogénico de Neu. En la presente invención como un resto V^2 se pueden usar otros muchos anticuerpos de internalización o no internalización que se unen a antígenos asociados a tumor, algunos de los cuales se han revisado^{ix}.

En una realización, el anticuerpo anti-Her2, trastuzumab, se selecciona como el resto V^2 . En otra realización, un fragmento funcional de unión a epítipo o derivado de trastuzumab se selecciona como el resto V^2 . En otra realización más, un anticuerpo anti-Her2 o un fragmento o derivado funcional del mismo se selecciona como el resto V^2 . En otra realización más, un anticuerpo anti-Her2 o fragmento o derivado funcional del mismo que tiene mejores propiedades con respecto al trastuzumab se selecciona como el resto V^2 ; mejores propiedades pueden ser, por ejemplo aumento de la unión, semivida en circulación más larga, aumento de la tasa de internalización, especificidad de unión más elevada hacia tejido tumoral en comparación con tejido no tumoral, y/o reducción de la inmunogenicidad.

En otra realización más, el anticuerpo anti-PSMA J591 se selecciona como el resto V^2 . En otra realización, un fragmento funcional de unión a epítipo o derivado de J591 se selecciona como el resto V^2 . En otra realización más, un anticuerpo anti-PSMA o un fragmento o derivado funcional del mismo se selecciona como el resto V^2 . En otra realización más, un anticuerpo anti-PSMA o fragmento o derivado funcional del mismo que tiene mejores propiedades con respecto a J591 se selecciona como el resto V^2 ; mejores propiedades pueden ser, por ejemplo aumento de la unión, semivida en circulación más larga, aumento de la tasa de internalización, especificidad de unión más elevada hacia tejido tumoral en comparación con tejido no tumoral, y/o reducción de la inmunogenicidad. En otras realizaciones más, un anticuerpo anti-CD19 o un anticuerpo anti-CD22 o un anticuerpo anti-CD30 o un

anticuerpo anti-CD33 o un anticuerpo anti-CD56 o un anticuerpo anti-CD70 o un anticuerpo anti-CD74 o un anticuerpo anti-CD138 o un anticuerpo anti-CLL-1 o un anticuerpo anti-5T4 o un anticuerpo anti-CD303 o un anticuerpo anti-Tag 72 o un anticuerpo de carbohidrato similar a anti-Lewis A o un anticuerpo anti-EphB3 o un anticuerpo anti-HMW-MAA o un anticuerpo anti-CD38 o un anticuerpo anti-Cripto o un anticuerpo anti-EphA2 o un anticuerpo anti-GPNMB o un anticuerpo anti-integrina o un anticuerpo anti-MN se selecciona como el resto V^2 . En otras realizaciones más, un fragmento funcional de unión a epítipo o derivado de un anticuerpo anti-CD19 o un anticuerpo anti-CD22 o un anticuerpo anti-CD30 o un anticuerpo anti-CD33 o un anticuerpo anti-CD56 o un anticuerpo anti-CD70 o un anticuerpo anti-CD74 o un anticuerpo anti-CD138 o un anticuerpo anti-CLL-1 o un anticuerpo anti-5T4 o un anticuerpo anti-CD303 o un anticuerpo anti-Tag 72 o un anticuerpo de carbohidrato similar a anti-Lewis A o un anticuerpo anti-EphB3 o un anticuerpo anti-HMW-MAA o un anticuerpo anti-CD38 o un anticuerpo anti-Cripto o un anticuerpo anti-EphA2 o un anticuerpo anti-GPNMB o un anticuerpo anti-integrina o un anticuerpo anti-MN se selecciona como el resto V^2 . Por lo tanto, en una realización, el resto V^2 puede ser seleccionado de entre un anticuerpo anti-CD19, un anticuerpo anti-CD22, un anticuerpo anti-CD30, un anticuerpo anti-CD33, un anticuerpo anti-CD56, un anticuerpo anti-CD70, un anticuerpo anti-CD74, un anticuerpo anti-CD138, un anticuerpo anti-CLL-1, un anticuerpo anti-5T4, un anticuerpo anti-CD303, un anticuerpo anti-Tag 72, un anticuerpo de carbohidrato similar a anti-Lewis A, un anticuerpo anti-EphB3, un anticuerpo anti-HMW-MAA, un anticuerpo anti-CD38, un anticuerpo anti-Cripto, un anticuerpo anti-EphA2, un anticuerpo anti-GPNMB, un anticuerpo anti-integrina, un anticuerpo anti-MN, un anticuerpo anti-Her2, y un anticuerpo anti-PSMA, o de entre un fragmento funcional que se une a epítipo o derivado de cualquiera de estos.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo anti-nuclear o un anticuerpo que se puede unir a un receptor o complejo receptor expresado en una célula diana. El receptor o complejo receptor puede comprender un miembro de la súper familia de genes de inmunoglobulina, una integrina, un receptor de quimioquina, un miembro de la superfamilia de receptores de TNF, un receptor de citoquina, una proteína de histocompatibilidad principal, una proteína de control de complemento, o una lectina.

En otra realización específica, un anticuerpo inmunoespecífico para un antígeno asociado con una enfermedad autoinmune se usa como un resto V^2 de acuerdo con los compuestos, composiciones, y métodos de la invención. En otra realización específica, un anticuerpo inmunoespecífico para un antígeno viral o microbiano se usa como un resto V^2 de acuerdo con los compuestos, composiciones, y métodos de la invención. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "antígeno viral" incluye, pero no se limita a, cualquier péptido, polipéptido, proteína, sacárido, polisacárido, o lípido viral que es capaz de provocar una respuesta inmunológica.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "antígeno microbiano" incluye, pero no se limita a, cualquier péptido, polipéptido, proteína, sacárido, polisacárido, o lípido microbiano que es capaz de provocar una respuesta inmunológica.

Continuamente se están descubriendo y desarrollando nuevos anticuerpos, y la presente invención estipula que estos nuevos anticuerpos también se pueden incorporar en un compuesto de la presente invención.

V^2 puede reaccionar con el resto reactivo **RM** a través de, por ejemplo, un heteroátomo en V^2 . Los heteroátomos que pueden estar presentes en V^2 incluyen, pero no se limitan a, azufre (en una realización, de un grupo sulfhidrilo), oxígeno (en una realización, de un grupo carboxilo o hidroxilo), y nitrógeno (en una realización, de un grupo amino primario o secundario). V^2 también puede reaccionar a través de, por ejemplo, un átomo de carbono (en una realización, de un grupo carbonilo). Estos átomos pueden estar presentes en el estado natural de V^2 en V^2 , por ejemplo, un anticuerpo de origen natural, o se pueden introducir en V^2 a través de modificación (química). Los grupos sulfhidrilo libre se pueden generar en un anticuerpo o fragmento de anticuerpo por reducción del anticuerpo (fragmento) con un agente reductor tal como ditioneitol (DTT) o tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP). De este modo, se pueden obtener anticuerpos modificados que pueden tener de 1 a aproximadamente 20 grupos sulfhidrilo, pero por lo general entre aproximadamente 1 y aproximadamente 9 grupos sulfhidrilo.

Como alternativa, V^2 puede tener uno o más grupos carbohidrato que se pueden modificar químicamente para que contengan uno o más grupos sulfhidrilo. Como otra alternativa, se pueden generar grupos sulfhidrilo por reacción de grupos amino, por ejemplo a partir de restos de lisina, en V^2 con 2-iminotiolano (reactivo de Traut), N-succinimidilo S-acetilacetato (SATA), u otro reactivo que genera sulfhidrilo. Un reactivo de este tipo también se puede usar para introducir una funcionalidad adicional. Por ejemplo, se puede usar un reactivo que genera sulfhidrilo que no solamente introduzca un grupo sulfhidrilo en V^2 , sino que al mismo tiempo introduzca un resto soluble en agua tal como un oligoetilenglicol o polietilenglicol. Un grupo de este tipo puede estar presente como un sustituyente en el reactivo (en lugar de formar parte de la cadena principal) para mantener el grupo sulfhidrilo cercano al resto V^2 . la presencia de un resto soluble en agua de este tipo en ocasiones puede mejorar las propiedades farmacológicas de un compuesto de fórmula (III).

En una realización, el resto V^2 es un resto de unión a receptor.

En otra realización, el resto V^2 es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo o un derivado del mismo.

En otra realización, el resto V^2 es un anticuerpo monoclonal o un fragmento o derivado del mismo. En una realización, V^2 tiene uno o más grupos sulfhidrilo y V^2 reacciona con uno o más restos **RM** de uno o más compuestos de fórmula (IV) a través de uno o más de estos átomos de azufre de los grupos sulfhidrilo para formar un compuesto de fórmula (III) en el que uno o más compuestos de fórmula (IV) se han incorporado de este modo.

En otra realización más, V^2 contiene uno o más enlaces disulfuro que se pueden reducir químicamente a grupos sulfhidrilo (dos para cada enlace disulfuro), que a continuación se pueden hacer reaccionar con uno o más restos reactivos **RM** para formar un compuesto de fórmula (III).

En otra realización, V^2 contiene aproximadamente 1 a aproximadamente 3 grupos sulfhidrido, que pueden reaccionar con uno o más restos reactivos **RM** para formar un compuesto de fórmula (III).

En otra realización, V^2 contiene aproximadamente 2 grupos sulfhidrido, que pueden reaccionar con uno o más restos reactivos **RM** para formar un compuesto de fórmula (III).

5 En otra realización, V^2 contiene aproximadamente 3 a aproximadamente 5 grupos sulfhidrido, que pueden reaccionar con uno o más restos reactivos **RM** para formar un compuesto de fórmula (III).

En otra realización, V^2 contiene aproximadamente 4 grupos sulfhidrido, que pueden reaccionar con uno o más restos reactivos **RM** para formar un compuesto de fórmula (III).

10 En otra realización, V^2 contiene aproximadamente 7 a aproximadamente 9 grupos sulfhidrido, que pueden reaccionar con uno o más restos reactivos **RM** para formar un compuesto de fórmula (III).

En otra realización, V^2 contiene aproximadamente 8 grupos sulfhidrido, que pueden reaccionar con uno o más restos reactivos **RM** para formar un compuesto de fórmula (III).

15 En otra realización, V^2 puede tener uno o más grupos carbohidrato que se pueden modificar químicamente para que tengan uno o más grupos sulfhidrido. V^2 reacciona con restos **RM** a través de estos uno o más átomos de azufre de los grupos sulfhidrido para formar un compuesto de fórmula (III).

En otra realización, V^2 puede tener uno o más grupos lisina que se pueden modificar químicamente para que tengan uno o más grupos sulfhidrido, que pueden reaccionar con uno o más restos reactivos **RM** para formar un compuesto de fórmula (III).

20 Los restos reactivos que pueden reaccionar con un grupo sulfhidrido incluyen, pero no se limitan a, haluro de carbamoilo, haluro de acilo, α -haloacetamida, halometil cetona, vinil sulfona, maleimida y 2-disulfanilpiridina.

Un conjugado de fórmula (III) puede existir como una mezcla, en la que cada componente de la mezcla tiene un valor de q diferente. Por ejemplo, el compuesto puede existir como una mezcla de dos compuestos separados, un compuesto en el que q es 2 y otro compuesto en el que q es 3. Como otro ejemplo, un compuesto puede existir como una mezcla de 5 compuestos separados, en la que q es 1, 2, 3, 4, y 5, de forma respectiva. Además, como otro ejemplo, un compuesto puede existir como una mezcla de más de 5 compuestos separados. Tales mezclas se podrían "contaminar" adicionalmente con V^2 sin conjugar. Cuando se analiza el compuesto de fórmula (III), se entiende que q puede ser el número medio (redondeado) de unidades de $L^2-L(-V^1-Y)_p(Z)_{z/q}$ por resto V^2 . Además, para un valor q dado, el compuesto puede existir como una mezcla de isómeros (constitucionales) ya que los q restos $L^2-L(-V^1-Y)_p(Z)_{z/q}$ se pueden conectar a distintos grupos (puntos de) funcionales en V^2 . Se debería indicar que el número de restos Z en cada unidad solamente es igual a z/q si todas las unidades son las mismas y/o contienen el mismo número de restos Z . En una realización, el resto V^2 está conectado a L^2 a través de un átomo de azufre de V^2 .

35 En otra realización, el resto V^2 está conectado a L^2 a través de un átomo de azufre y q varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 20.

En otra realización, el resto V^2 está conectado a L^2 a través de un átomo de azufre y q varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 9.

40 En otra realización, el resto V^2 está conectado a L^2 a través de un átomo de azufre y q varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 3.

En otra realización, el resto V^2 está conectado a L^2 a través de un átomo de azufre y q es aproximadamente 1.

En otra realización, el resto V^2 está conectado a L^2 a través de un átomo de azufre y q es aproximadamente 2.

45 En otra realización, el resto V^2 está conectado a L^2 a través de un átomo de azufre y q varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 5.

En otra realización, el resto V^2 está conectado a L^2 a través de un átomo de azufre y q es aproximadamente 4.

En otra realización, el resto V^2 está conectado a L^2 a través de un átomo de azufre y q varía de aproximadamente 7 a aproximadamente 9.

En otra realización, el resto V^2 está conectado a L^2 a través de un átomo de azufre y q es aproximadamente 8.

En una realización, un compuesto de fórmula (III) existe como una mezcla de compuestos separados.

50 En una realización, un compuesto de fórmula (III) existe como una mezcla de compuestos separados en la que q para tres compuestos es 1, 2, y 3, de forma respectiva.

En una realización, un compuesto de fórmula (III) existe como una mezcla de compuestos separados en la que q para tres compuestos es 3, 4, y 5, de forma respectiva.

55 En una realización, un compuesto de fórmula (III) existe como una mezcla de compuestos separados en la que q para tres compuestos es 5, 6, y 7, de forma respectiva.

En una realización, un compuesto de fórmula (III) existe como una mezcla de compuestos separados en la que q para tres compuestos es 7, 8 y 9, de forma respectiva.

60 En otra realización, el resto V^2 es un resto que es capaz de transportar el conjugado a través de una barrera biológica, por ejemplo, una membrana celular, ya sea con o sin una unión, asociación o formación de complejos anterior con un receptor o complejo receptor.

65 En otro aspecto de la invención, el resto V^2 es un resto que mejora las propiedades farmacológicas de un conjugado de la invención. Por ejemplo, el resto V^2 se puede elegir de modo que la solubilidad en agua del conjugado mejora (adicionalmente). Esto se puede conseguir eligiendo a V^2 para que sea un resto hidrófilo. Como alternativa, el resto V^2 se puede usar por ejemplo para aumentar el tiempo de permanencia del compuesto en la circulación, para reducir

la extravasación y / o excreción, para reducir la agregación, y / o para reducir la inmunogenicidad del compuesto. Esto se puede conseguir por ejemplo eligiendo a V^2 para que sea para que contenga un polietilenglicol u oligoetilenglicol o derivado de los mismos. Cuando el resto V^2 es un resto que mejora las propiedades farmacológicas de un compuesto de la invención y V^1 es un resto que se puede escindir o transformar de forma específica y no hay restos V^1 y V^2 , el compuesto solamente sirve para mejorar las propiedades (farmacológicas) del uno o más restos Z .

5 En una realización, V^2 es un resto que mejora las propiedades farmacológicas y V^1 es un resto que se puede escindir o transformar de forma específica.

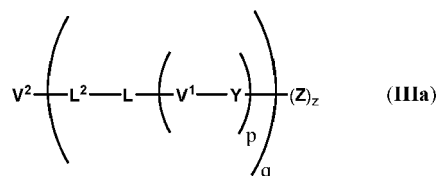
10 Se debería entender que el resto funcional V^2 puede tener varias propiedades funcionales combinadas. Por ejemplo, V^2 puede ser un resto que mejora las propiedades farmacológicas de un compuesto de la presente invención y al mismo tiempo puede ser o puede contener un resto de dirección.

15 Los conjugados de la presente invención pueden contener uno o más prorrastos. Estos prorrastos pueden ser los mismos o diferentes. La presencia de dos o más prorrastos puede influir de forma favorable en las propiedades del conjugado. Por ejemplo, puede mejorar la solubilidad en agua y / o aumentar la eficacia de dirección del conjugado. Además, si en un conjugado dirigido existen dos prorrastos y el prorrasto requerido para la dirección se escinde prematuramente de Z , por ejemplo en la circulación, el segundo prorrasto atenúa la citotoxicidad de Z .

20 En una realización, p es un número entero de 1 (incluido) a 128 (incluido). En otra realización, q es un número entero de 1 (incluido) a 1000 (incluido). En otras realizaciones, p es un número entero de 1 (incluido) a 64 (incluido) o 32 (incluido) o 16 (incluido) u 8 (incluido) o 4 (incluido) o 2 (incluido), o p es 1. En otras realizaciones, q es un número entero de 1 (incluido) a 500 (incluido) o 400 (incluido) o 300 (incluido) o 200 (incluido) o 100 (incluido) o 16 (incluido) u 8 (incluido) o 6 (incluido) o 4 (incluido) o 2 (incluido), o q es 1. En otra realización, q se selecciona de 1 a 4.

25

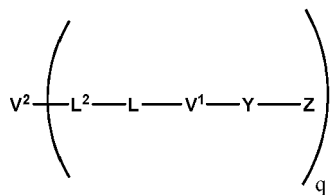
En una realización, un compuesto de fórmula (III) se representa con



30

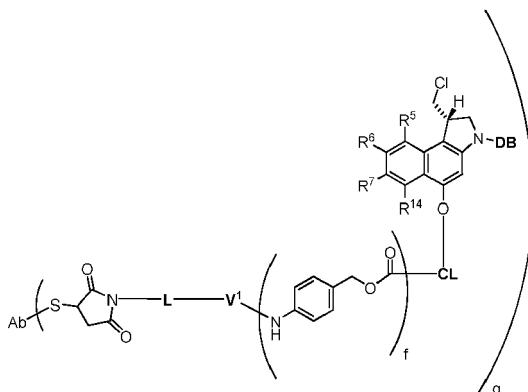
En una realización, p en un compuesto de fórmula (IIIa) es 1.

En otra realización, en un compuesto de fórmula (IIIa) p es 1 y z es igual a q, lo que reduce la fórmula (IIIa) a:



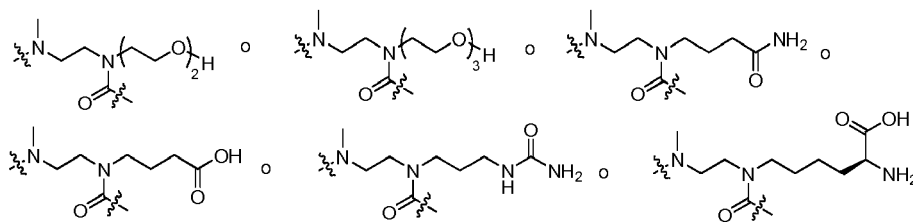
35

En otra realización más, un compuesto de fórmula (IIIa) se representa con



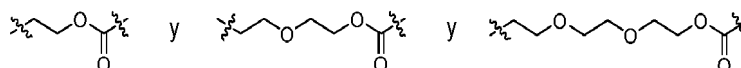
40

o con un isómero, o con una mezcla de isómeros, en la que R^5 se selecciona de entre H, metilo y metoxi, R^6 , R^7 , y R^{14} son H, **DB** es **DB1**, V^1 se selecciona de entre valilcitrulina, valilisina, fenilalanilisina, alanilfenilalanilisina y D-alanilfenilalanilisina, f es 1 o 2, **CL** se selecciona de entre



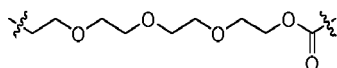
5

L se selecciona de entre



10

y



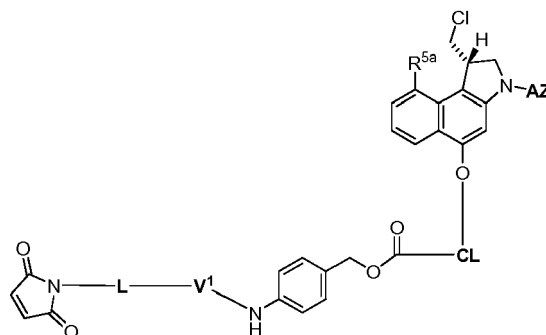
15

q varía de 1 a 4, y Ab es un anticuerpo o un fragmento o derivado del mismo.

Se pueden imaginar realizaciones similares para los compuestos de fórmula (IV) mediante sustitución de V^2-L^2 por **RM**, y retirando los paréntesis con el subíndice q, o mediante la eliminación de Ab-SH de las estructuras. Por lo tanto, los compuestos de fórmulas (IVa) se representan mediante las estructuras de los compuestos de fórmulas (IIIa), de forma respectiva, en las que V^2-L^2 se sustituye por **RM**, y los paréntesis con el subíndice q se retiran.

20

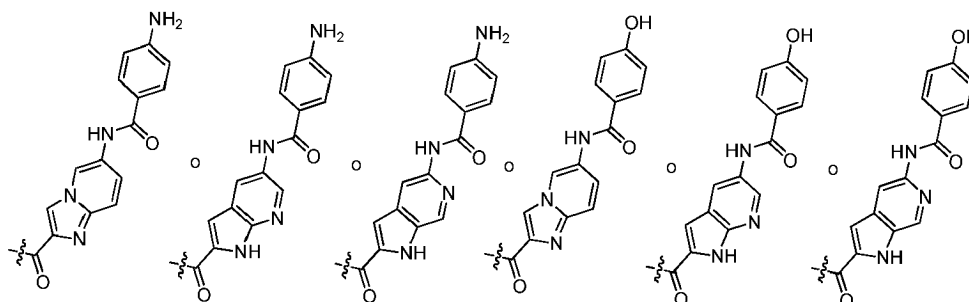
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se representa con



25

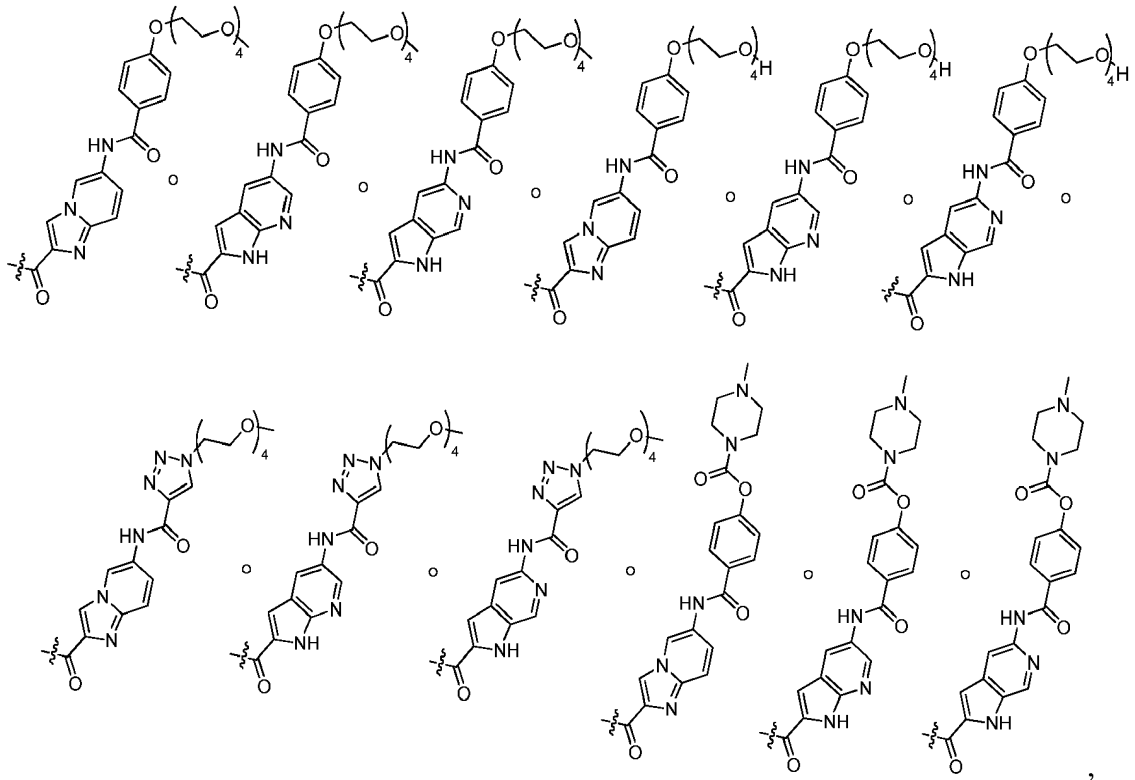
o con un isómero, o con una mezcla de isómeros, en la que R^{5a} se selecciona de entre H, metilo y metoxi,

AZ es

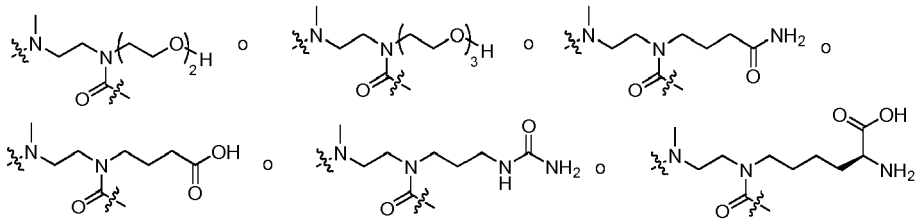


30

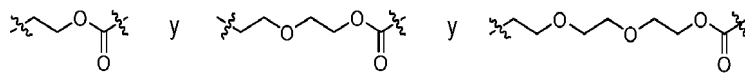
o



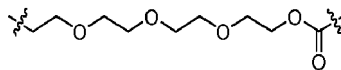
5 **V¹** se selecciona de entre valilcitrulina, valilisina, fenilalanilisina, alanilfenilalanilisina y **D**-alanilfenilalanilisina, **CL** es



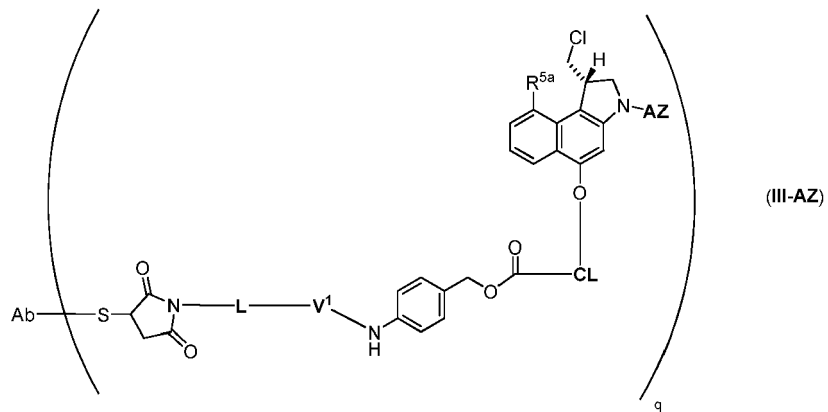
10 y **L** se selecciona de entre



15 y

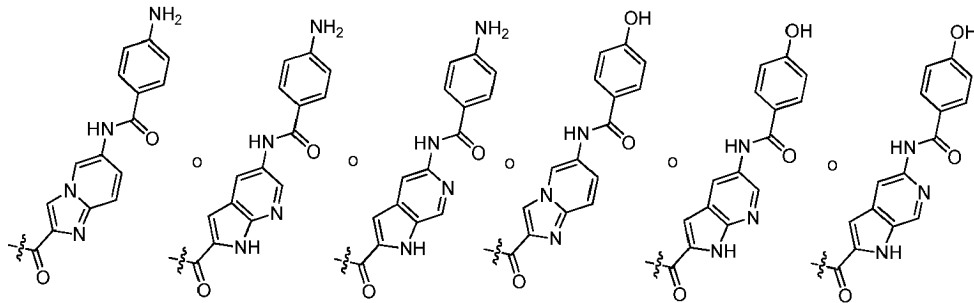


En otra realización más, un compuesto de fórmula (III) se representa con



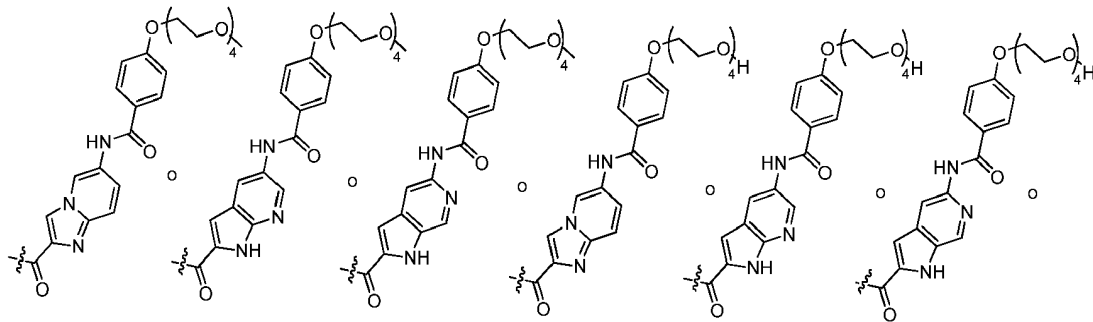
o con un isómero o con una mezcla de isómeros, en la que R^{5a} se selecciona de entre H, metilo y metoxi,

5 **AZ** es



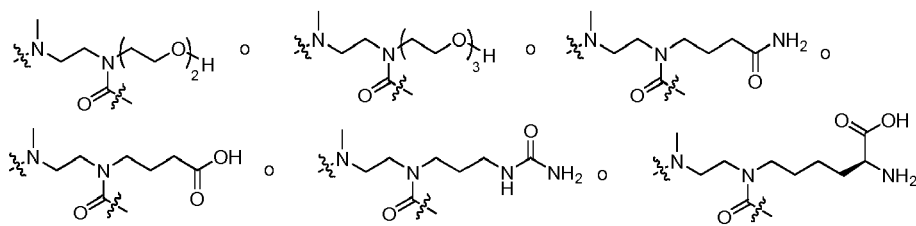
10

o

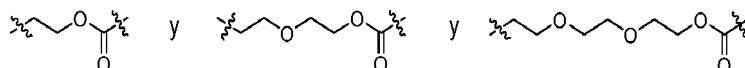


15

V^1 se selecciona de entre valilcitrulina, valilisina, fenilalanilisina, alanilfenilalanilisina y D-alanilfenilalanilisina, **CL** es

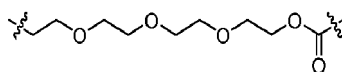


L se selecciona de entre



5

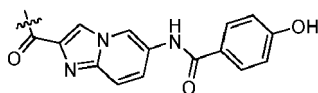
y



10

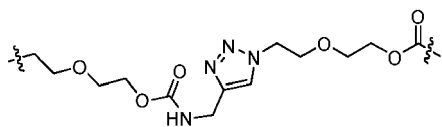
q varía de 1 a 4, y Ab es un anticuerpo o un fragmento o derivado del mismo.

Una serie de compuestos (III-AZ) en los que R^{5a} es metilo, AZ es



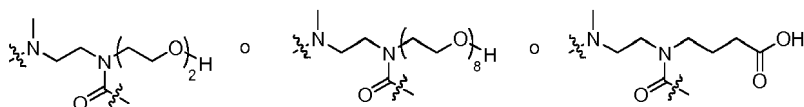
15

L es



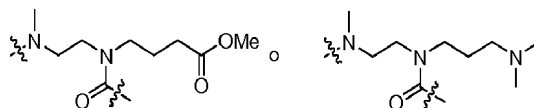
20

Ab es Trastuzumab, V¹ es valicitrulina, y CL es



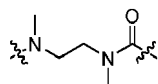
25

o



30

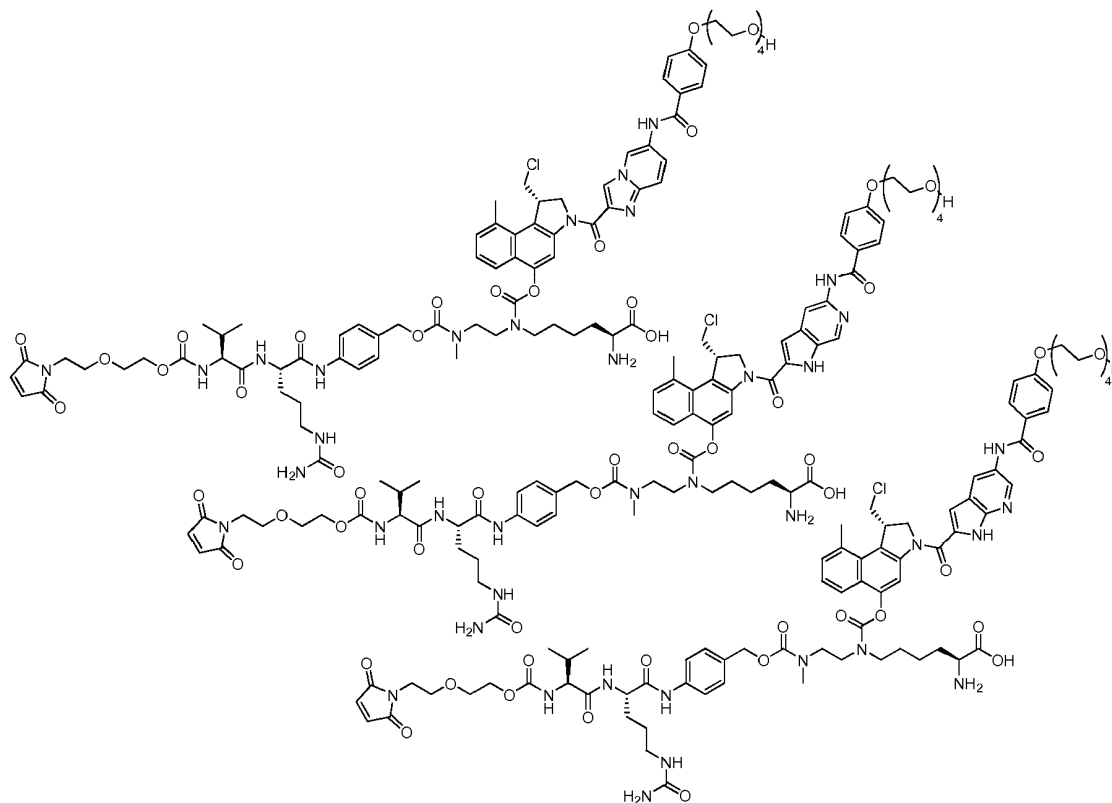
se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 15 y se evaluaron frente al compuesto de referencia correspondiente en el que CL es



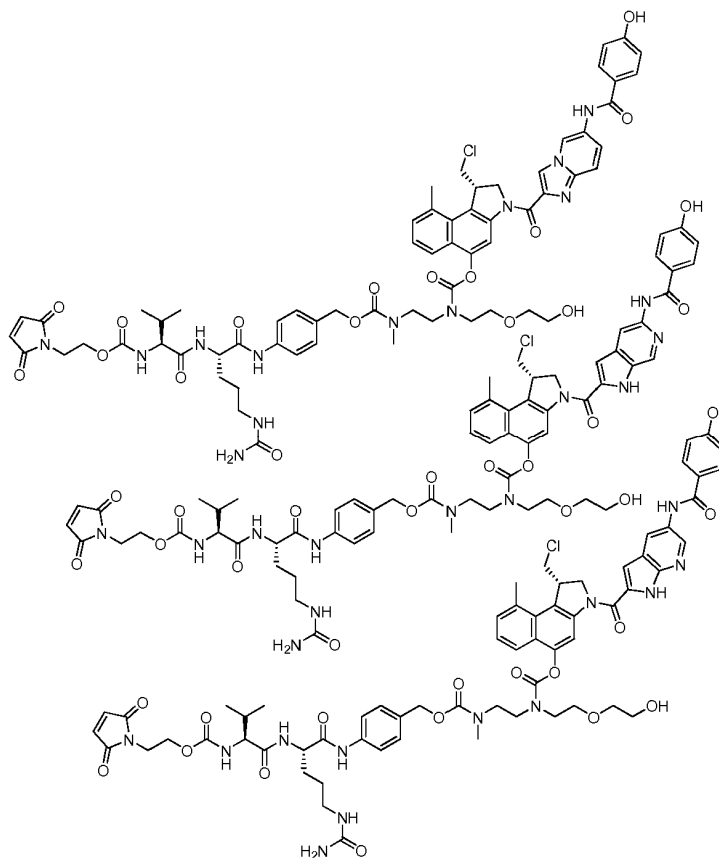
35

para una cantidad de agregado presente después de la etapa de conjugación. Los compuestos evaluados tenían cantidades de agregado relativas de un 33 %, 15 %, 8 %, 58 %, y un 12 %, de forma respectiva, en comparación con las del compuesto de referencia (100 %), lo que muestra claramente la ventaja de los presentes espaciadores de ciclado.

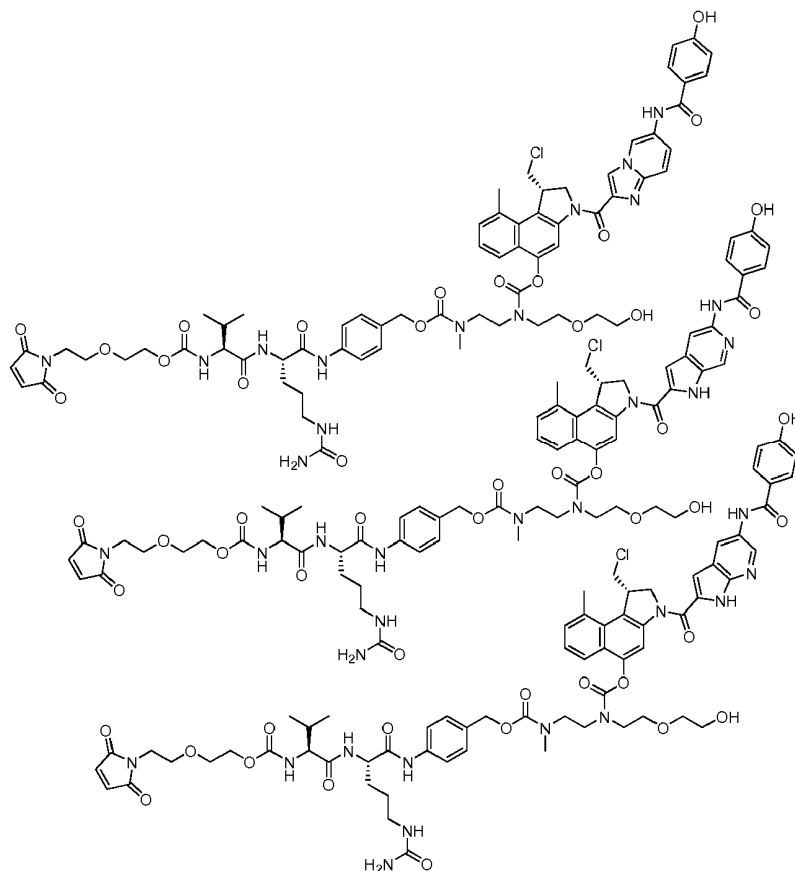
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



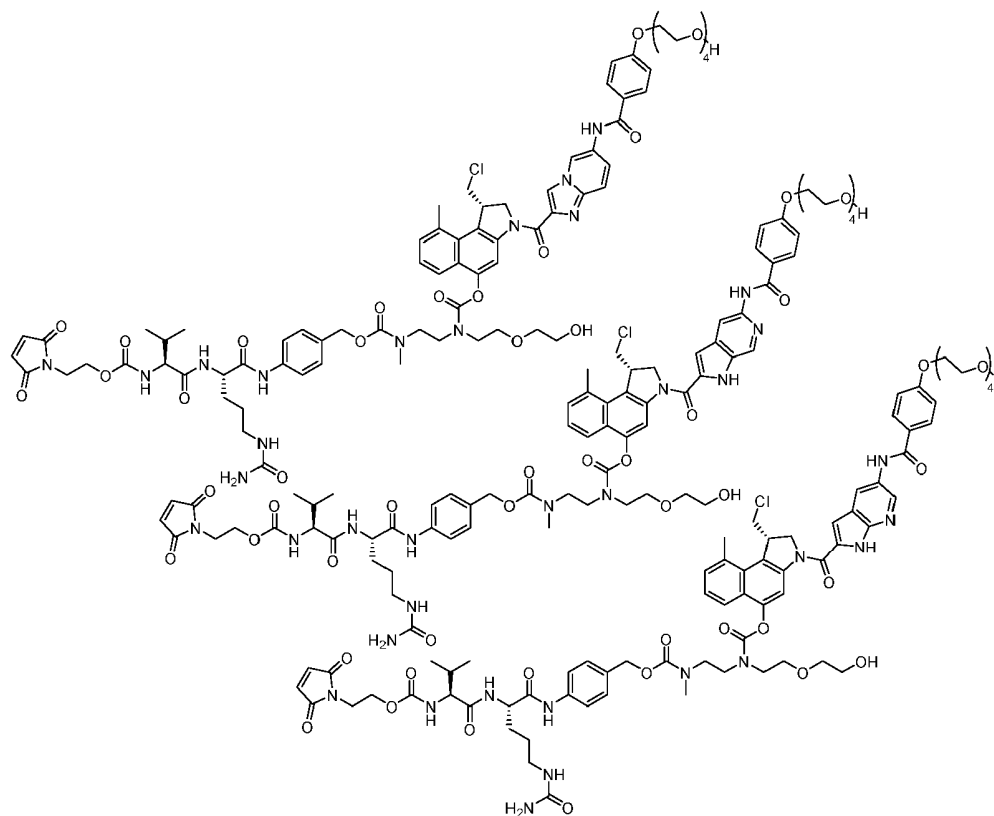
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



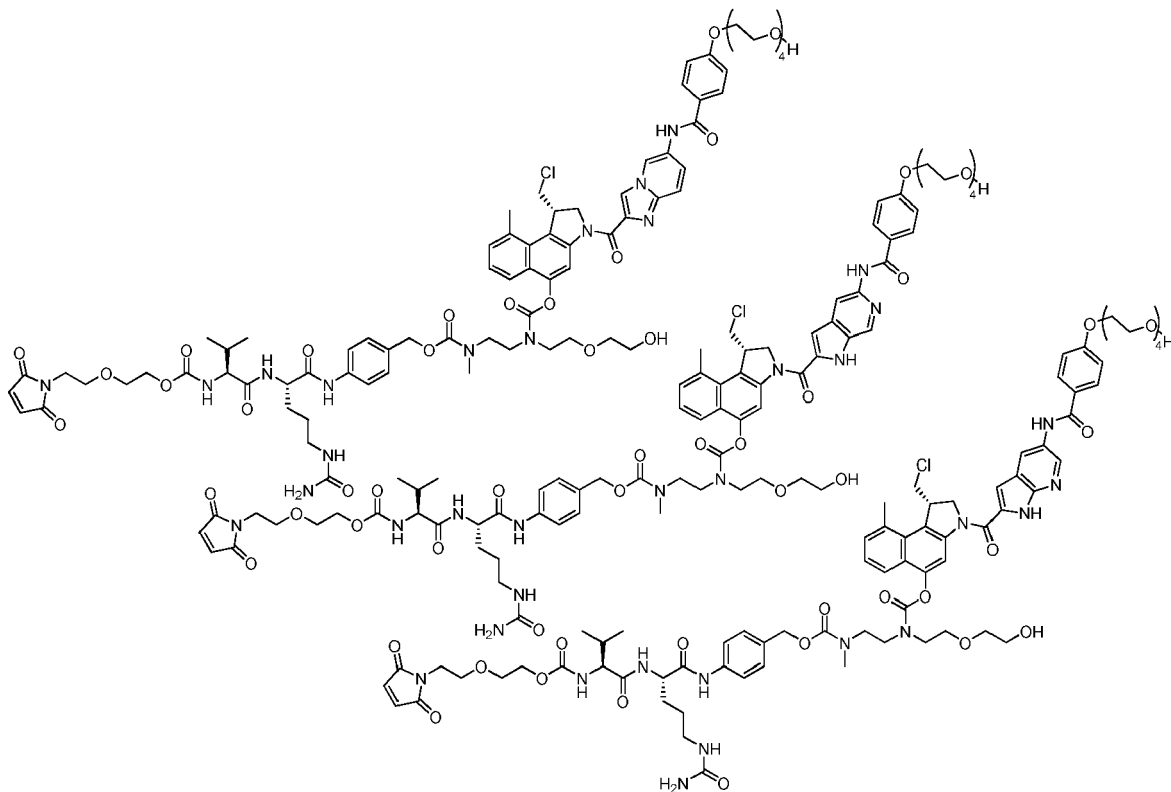
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



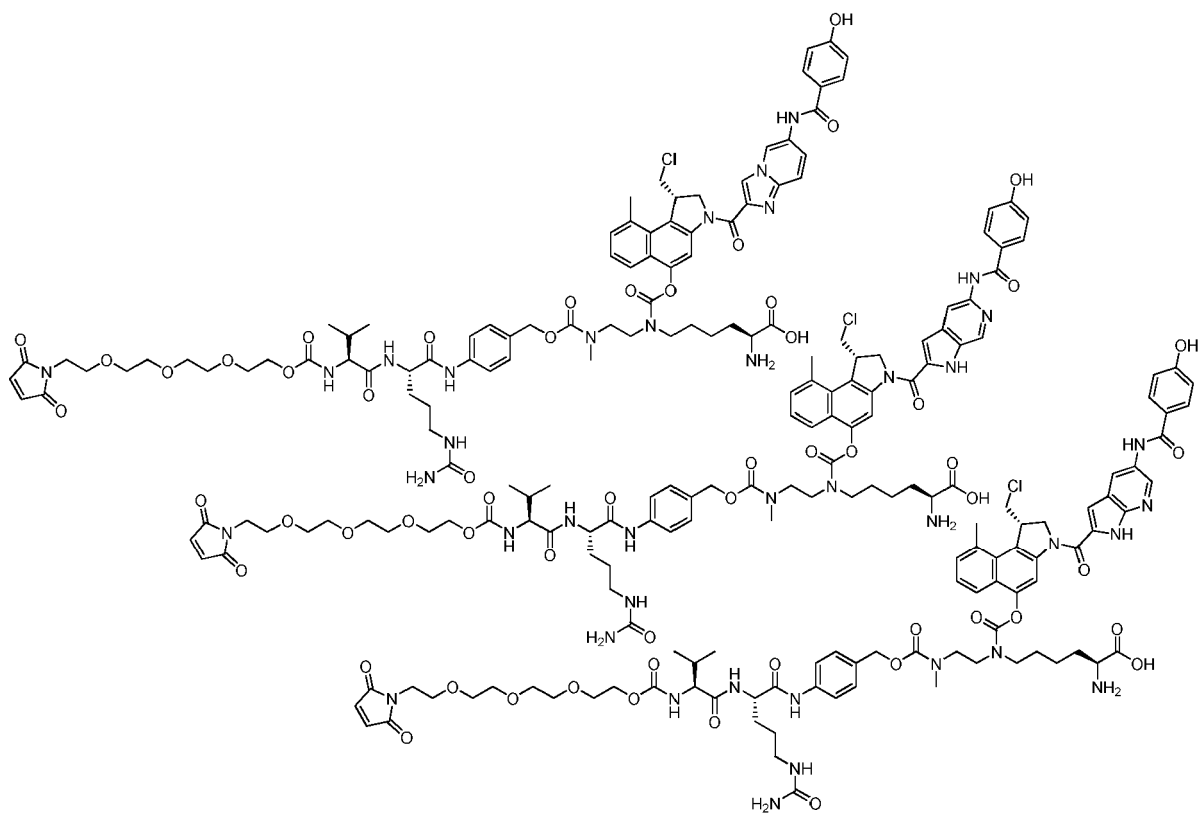
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



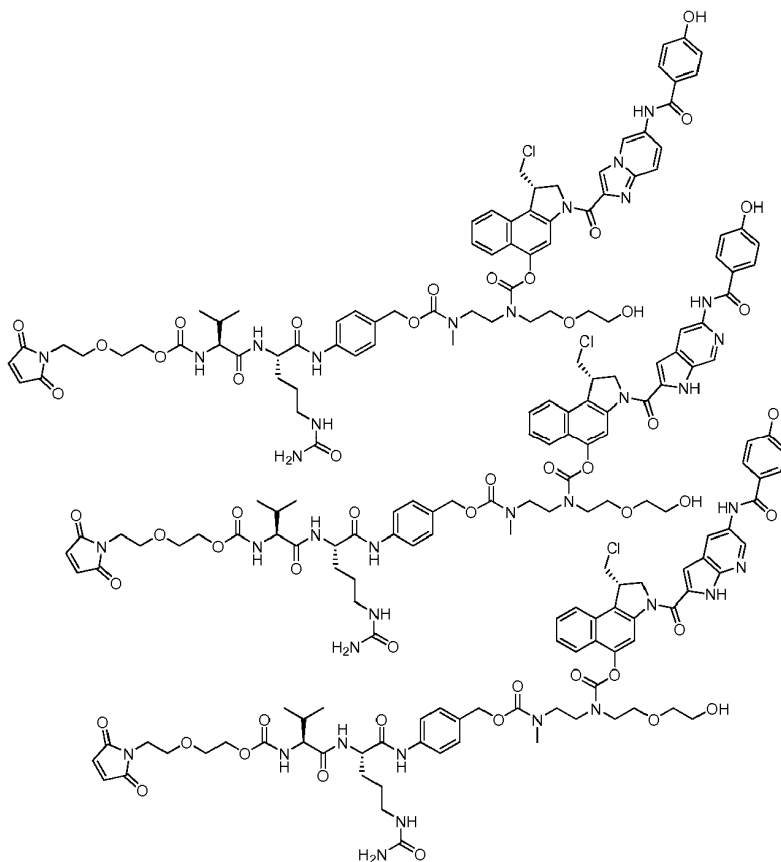
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



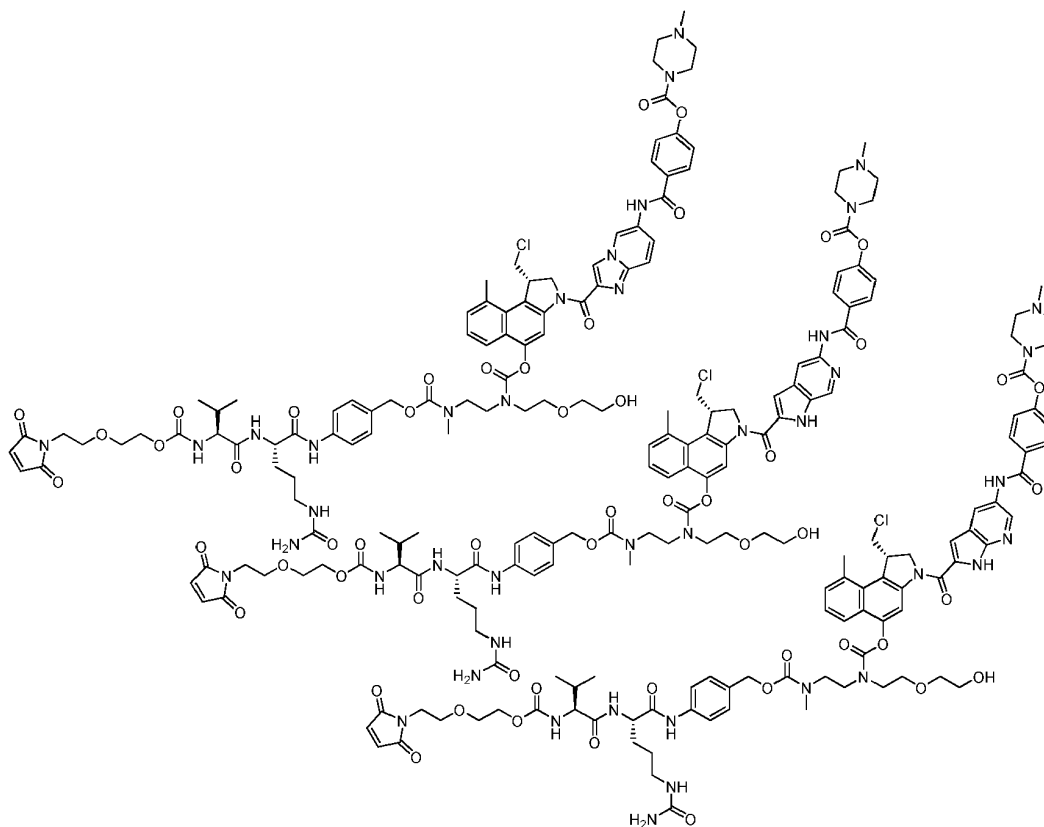
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



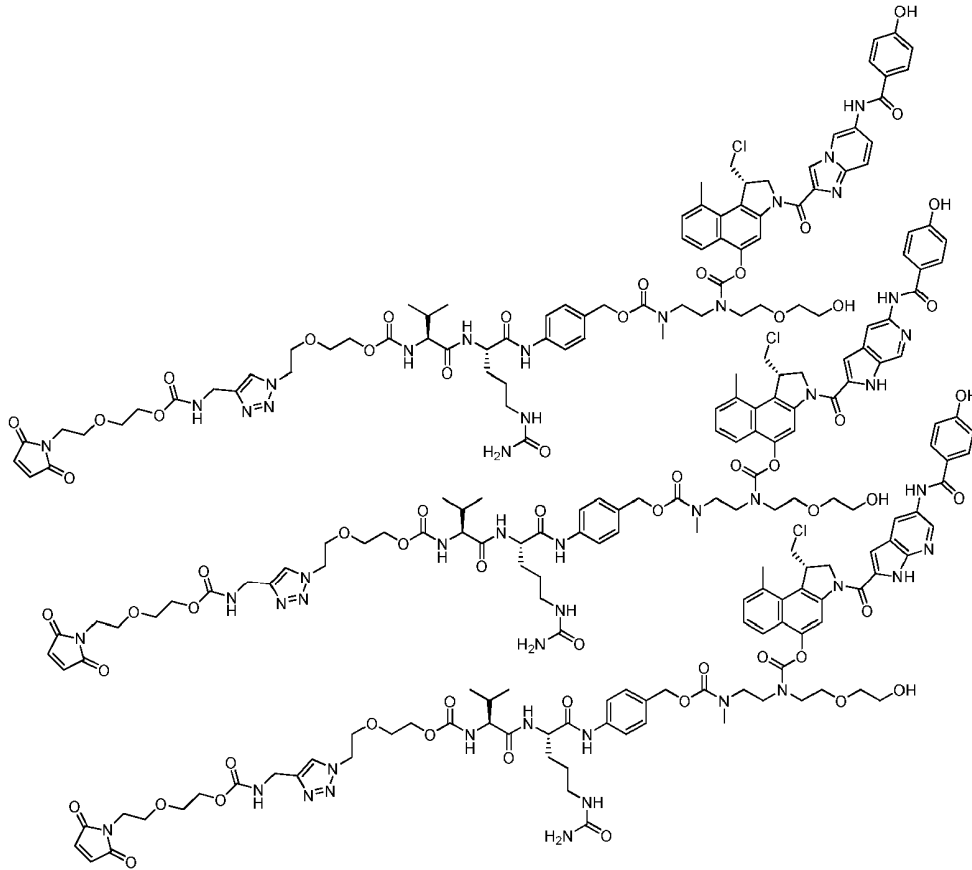
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



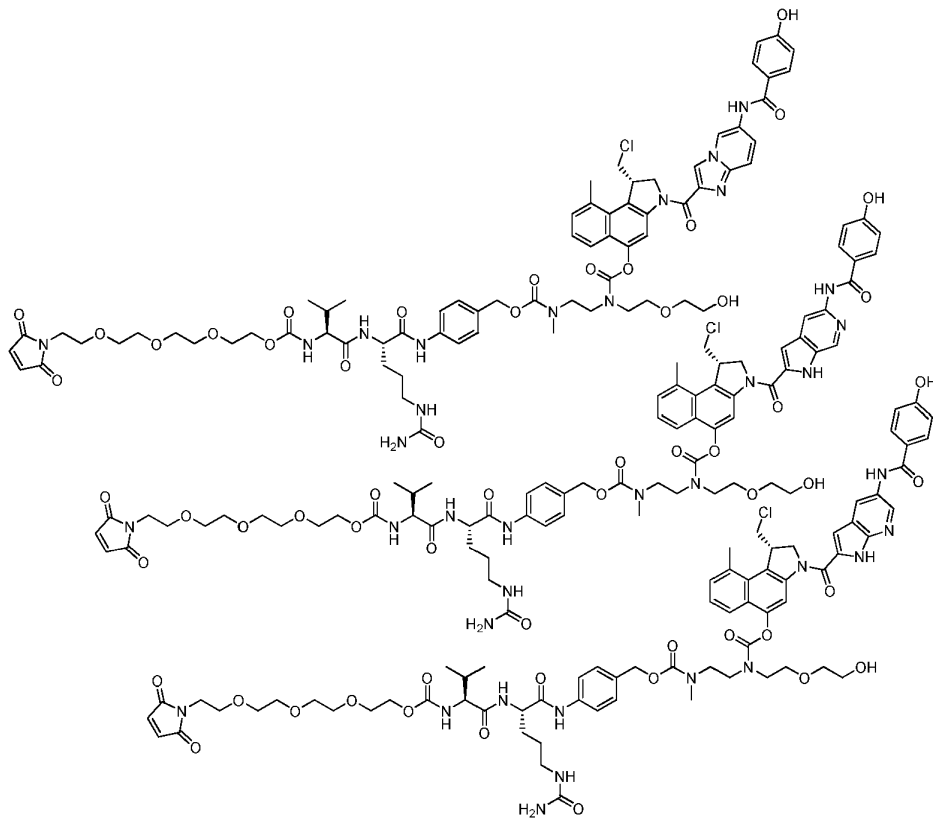
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



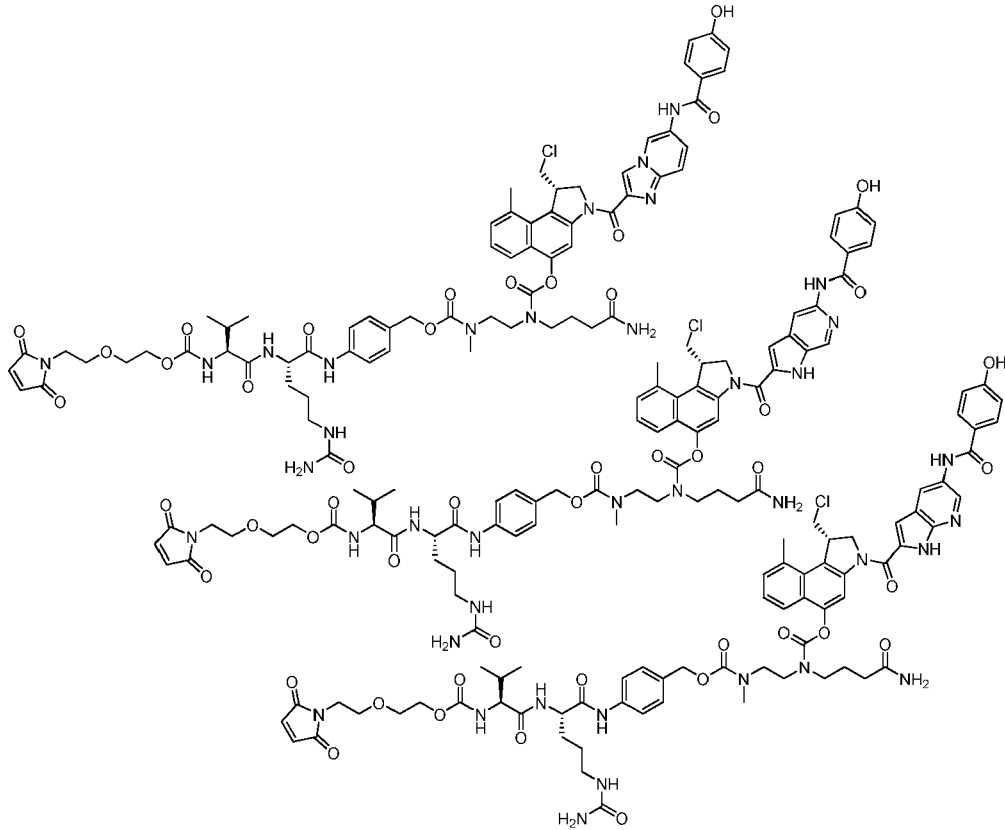
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



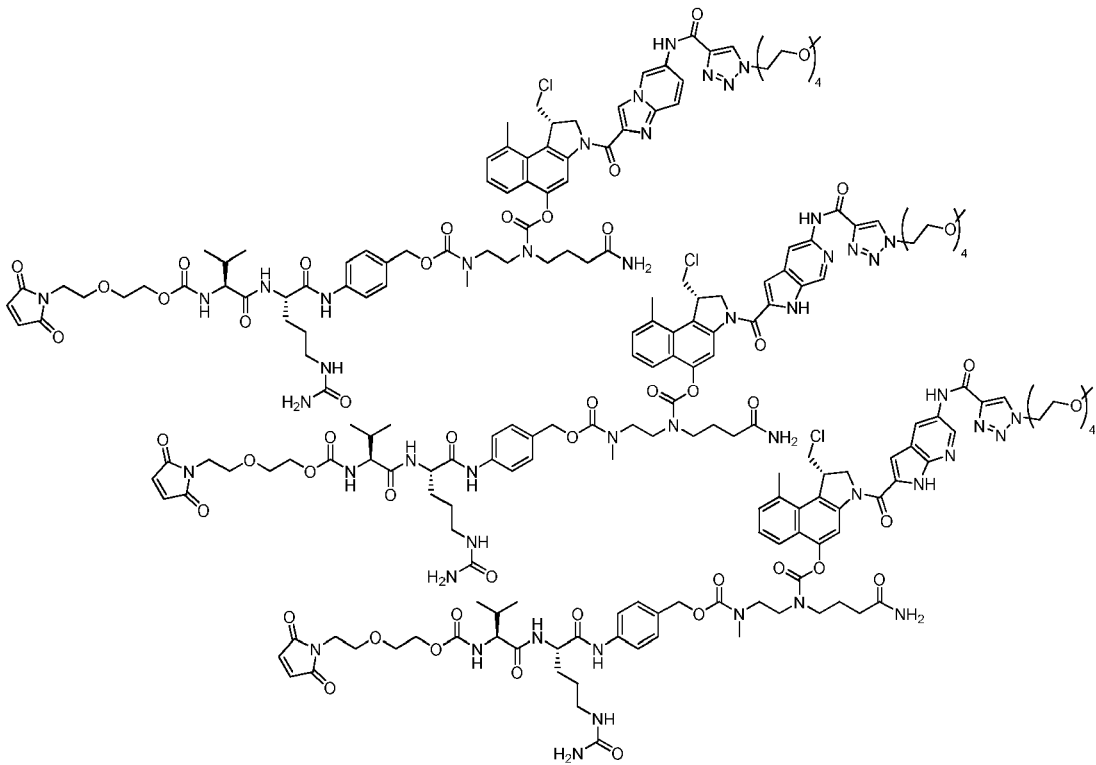
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



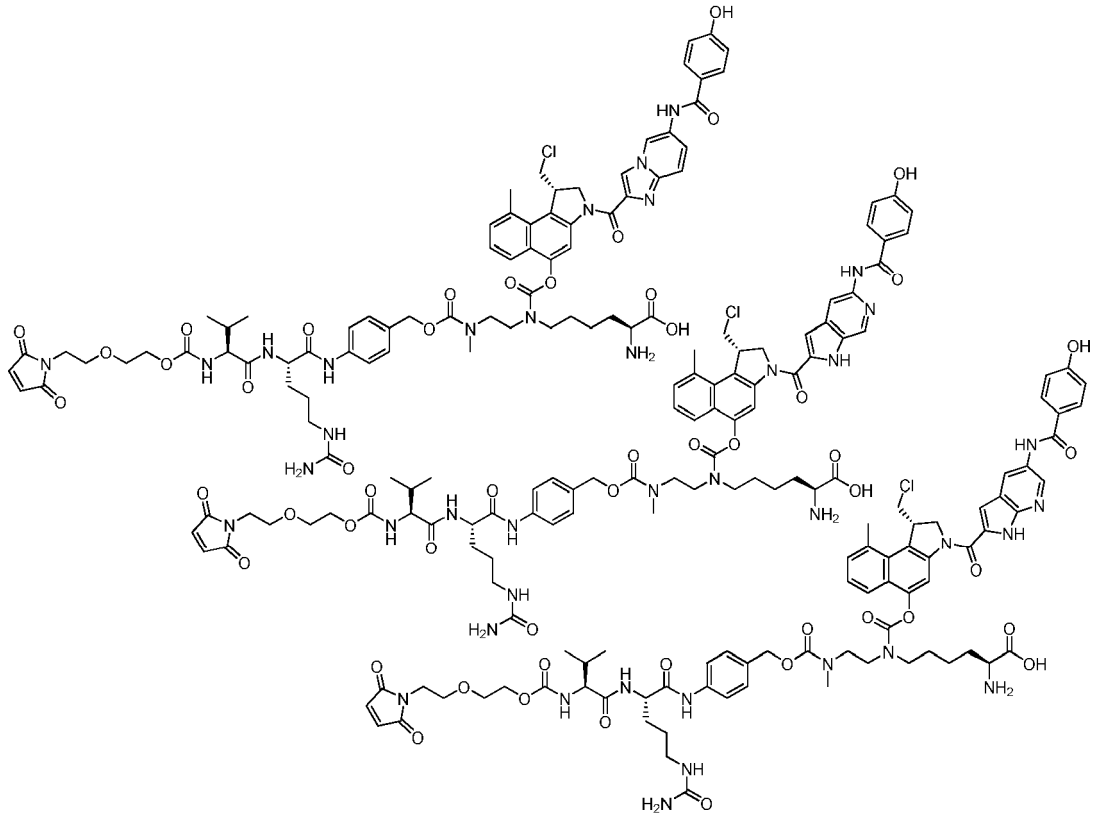
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



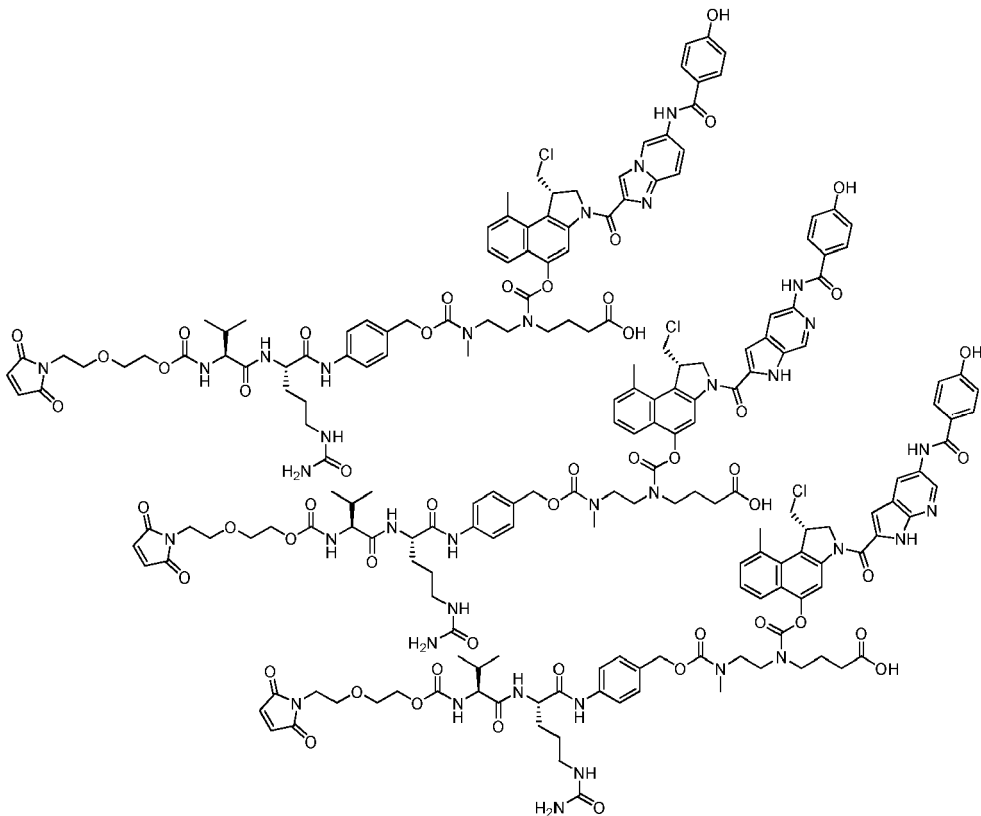
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



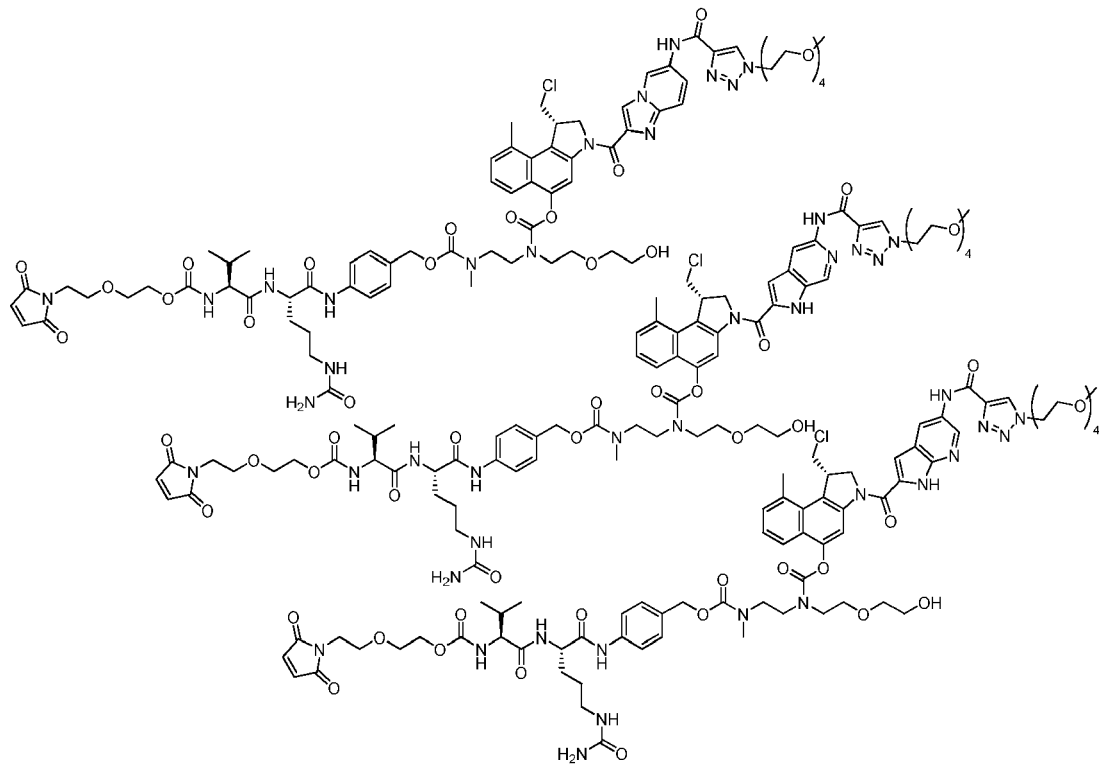
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



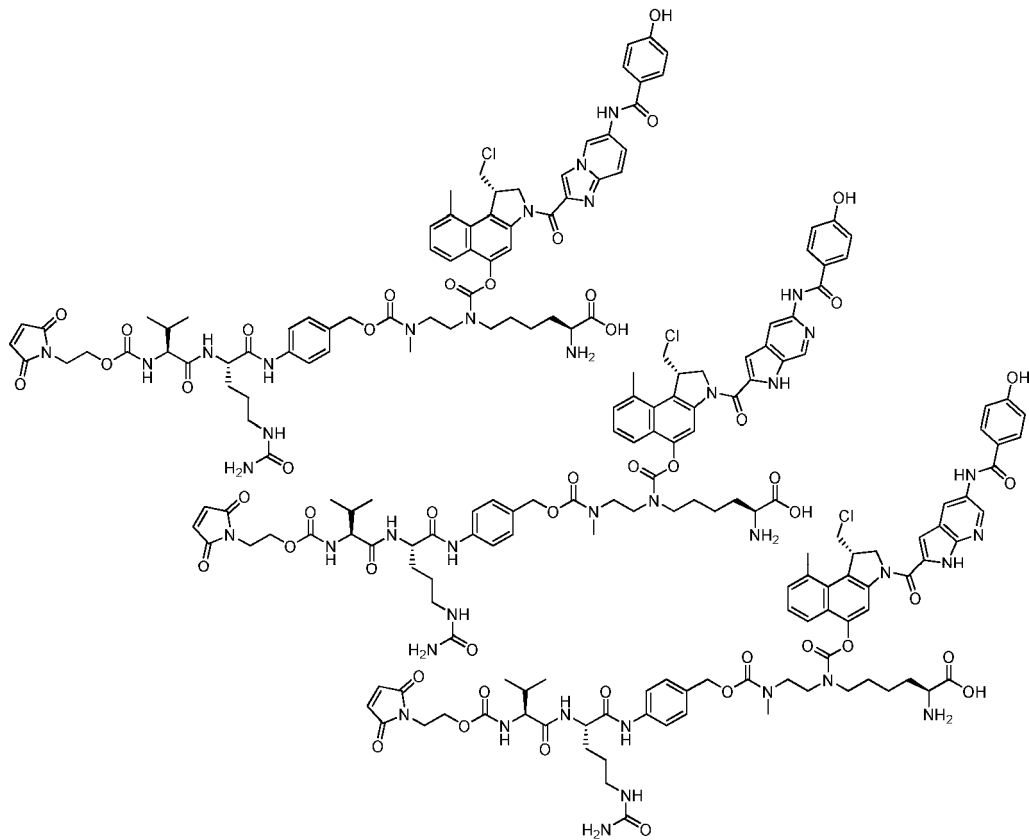
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



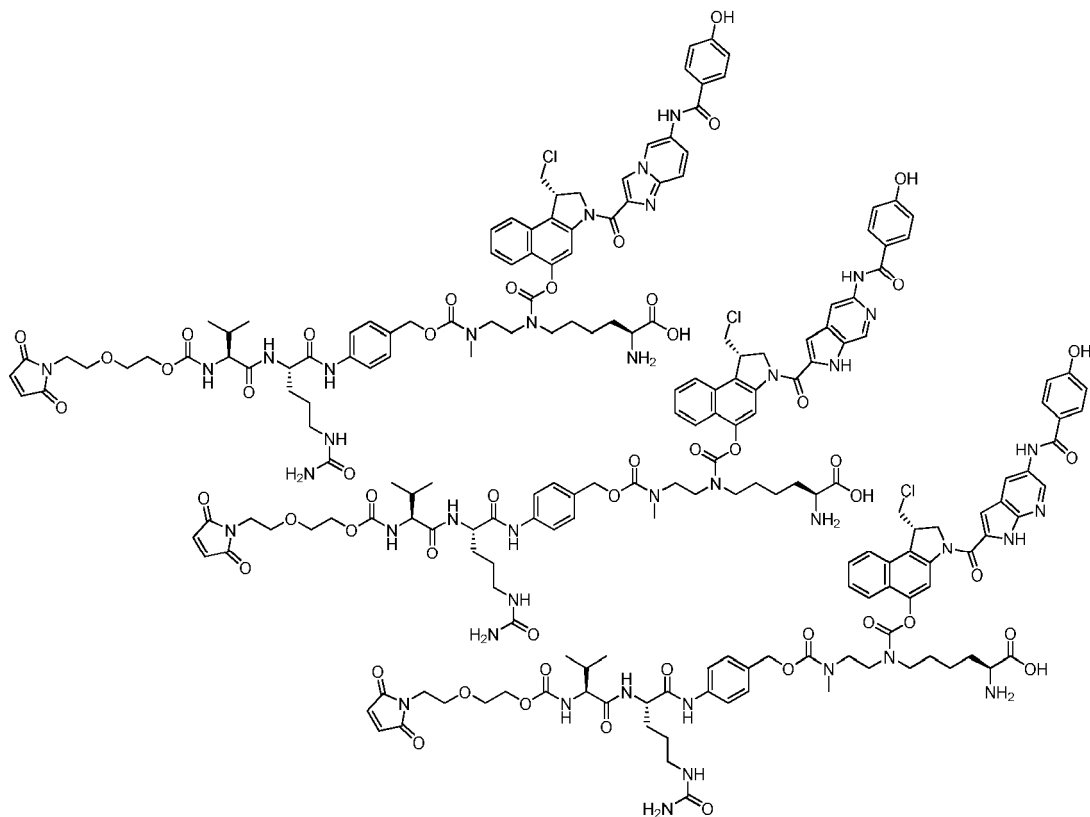
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



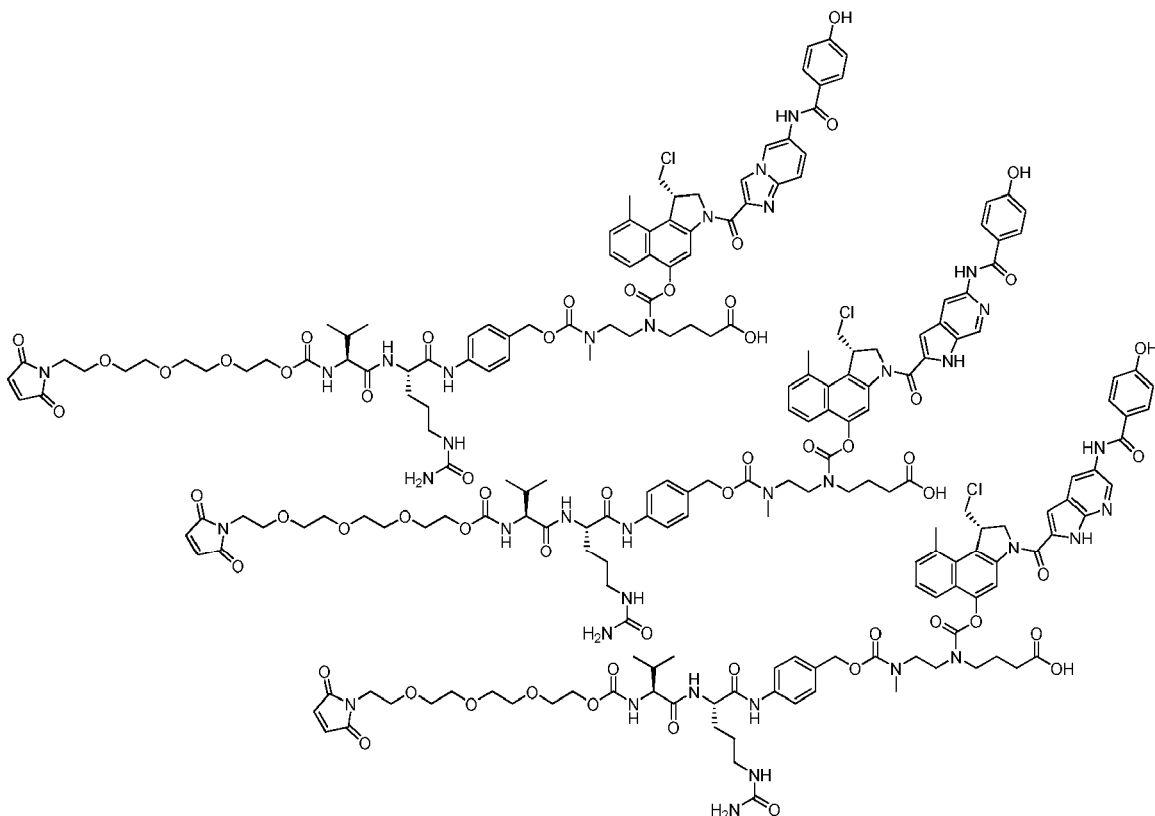
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



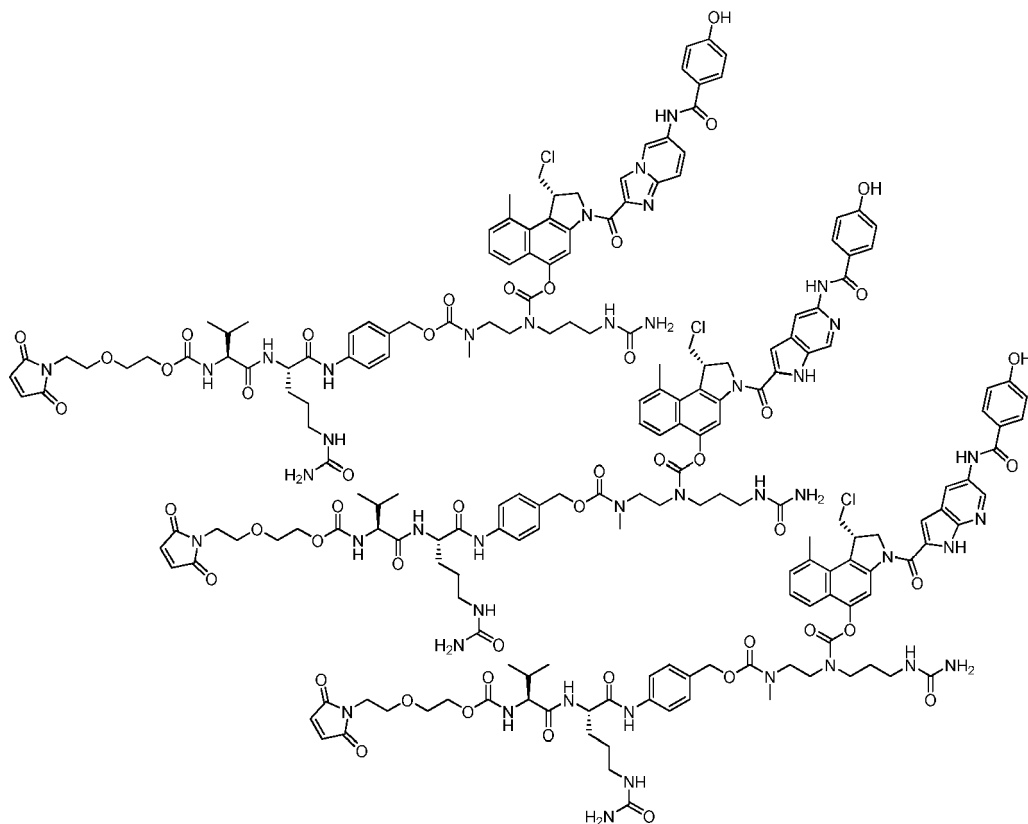
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



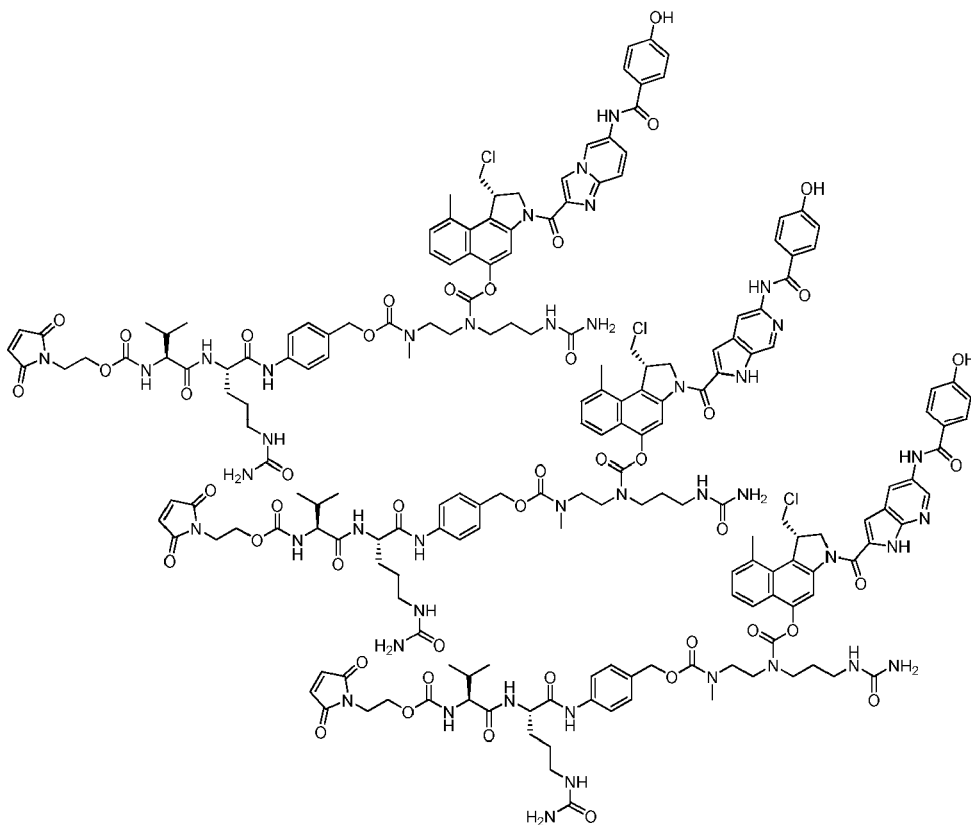
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



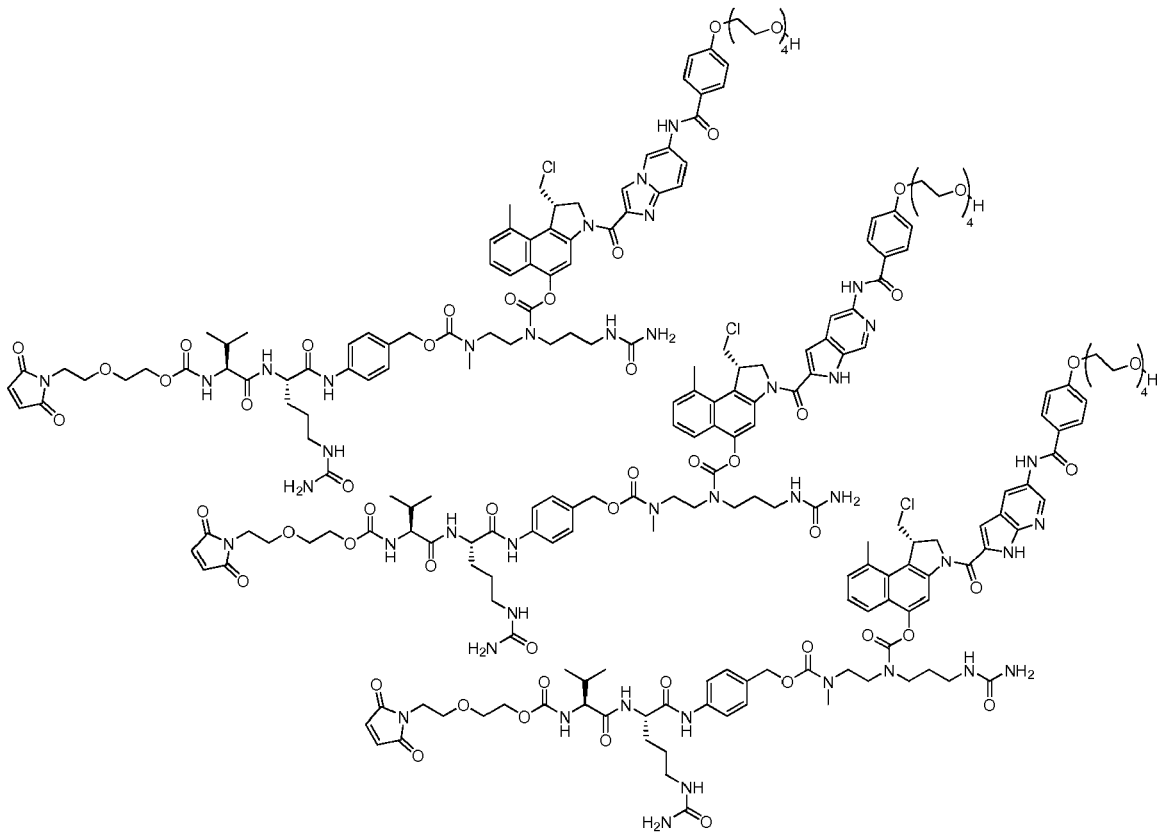
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



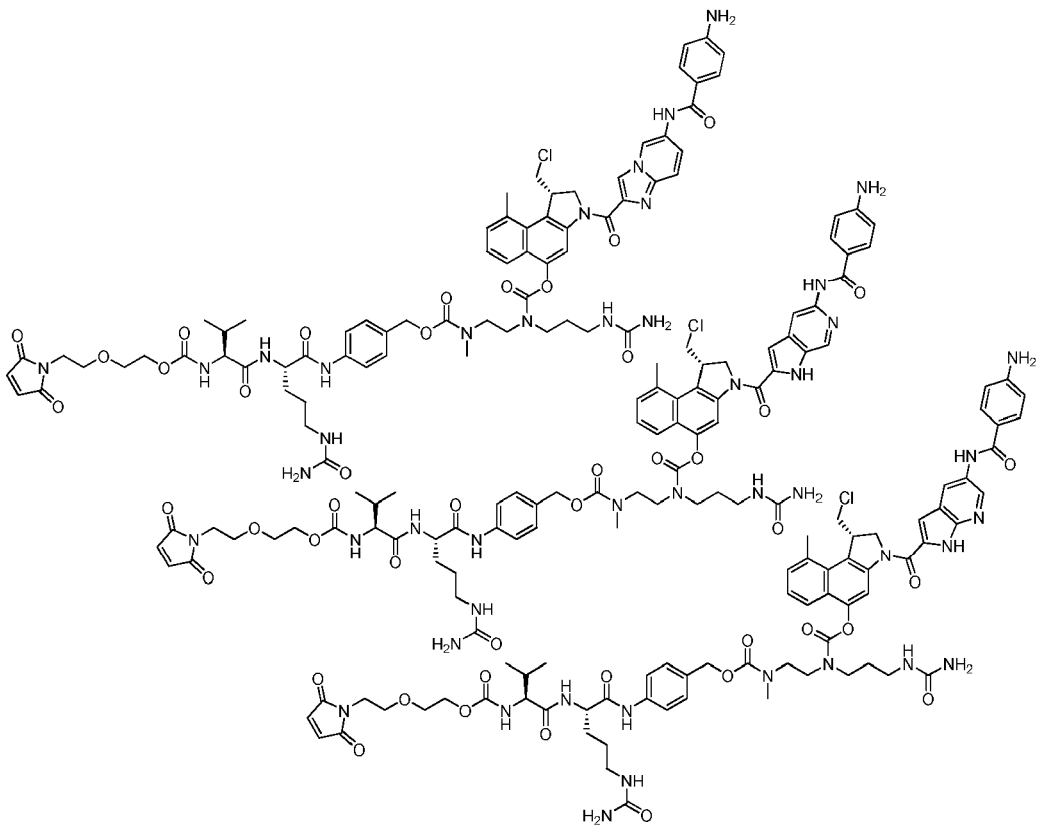
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



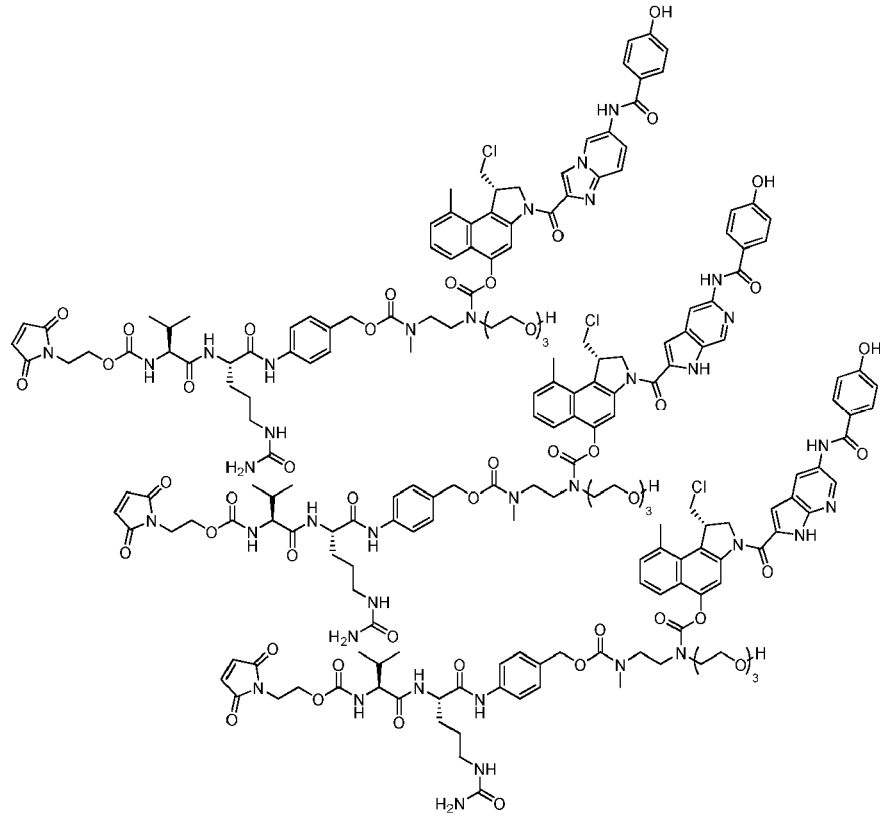
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



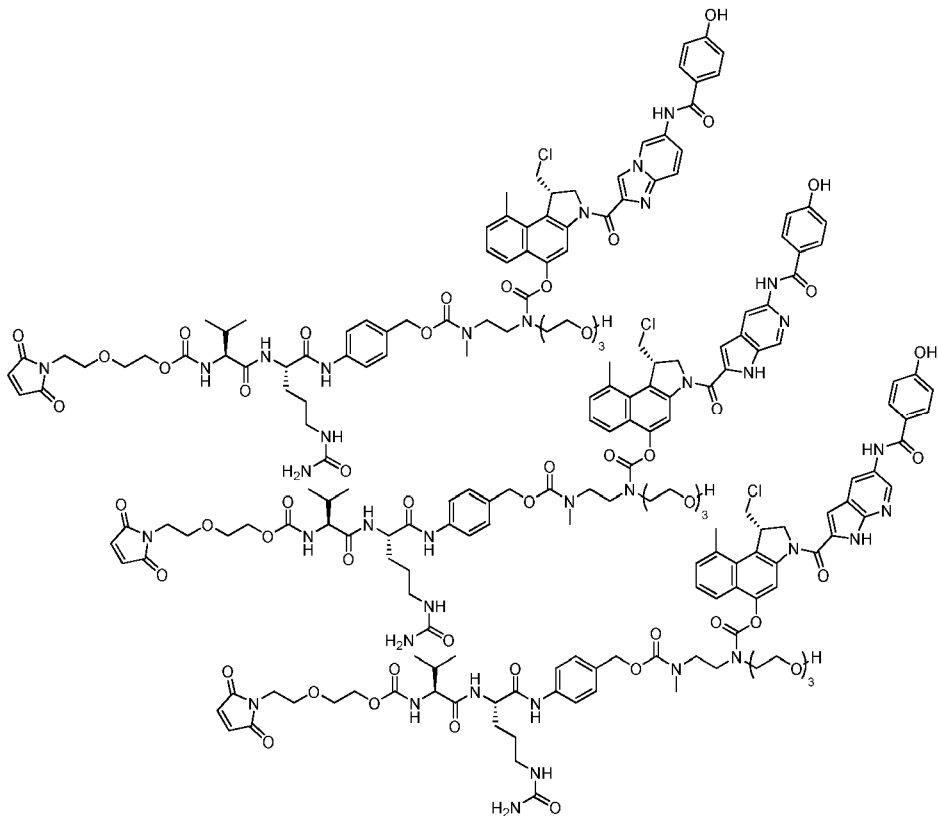
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



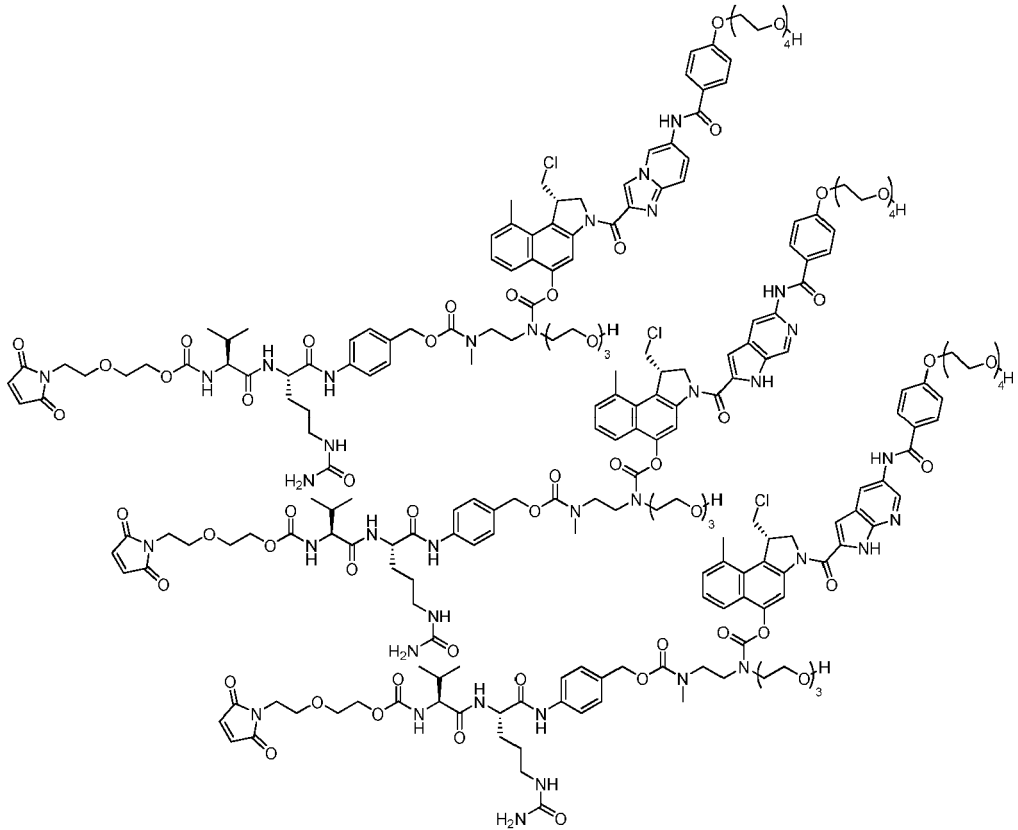
En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



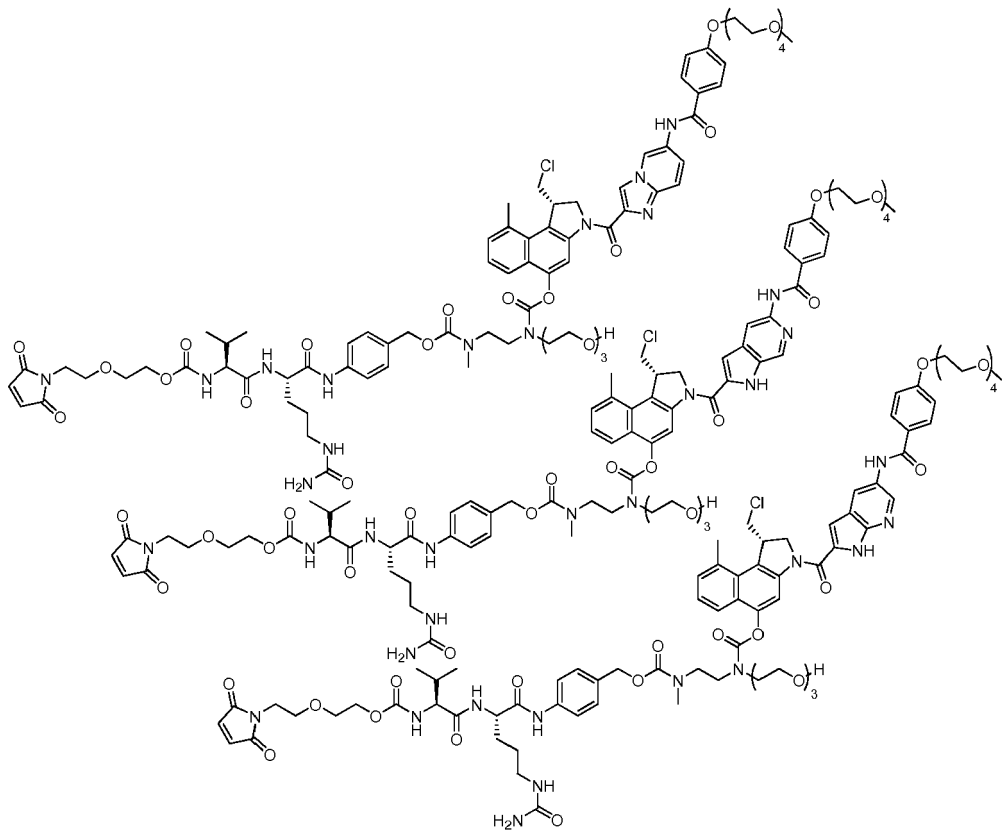
5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



5 En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se selecciona de entre



Síntesis de compuestos de la invención

Los compuestos de fórmulas (I), (III), (IV) y (VIII) se pueden preparar de forma conveniente de una manera para alguna parte análoga a los compuestos informados en los documentos WO 01/83448, WO 02/083180, WO 2004/043493, WO 2007/018431, WO 2007/089149, WO 2009/017394 y WO2010/062171. Algunos protocolos de síntesis representativos adicionales se pueden encontrar en los Ejemplos.

En una realización, un compuesto de fórmula (I) se usa para preparar un compuesto de fórmula (III). En otra realización, un compuesto de fórmula (I) se usa para preparar un compuesto de fórmula (IV). En otra realización, un compuesto de fórmula (IV) se usa para preparar un compuesto de fórmula (III). En otra realización, un compuesto de fórmula (III) en la que V^1 es un grupo protector se usa para preparar otro compuesto de fórmula (III) en la que V^1 es un resto escindible / transformable *in vivo*. En otra realización más, un compuesto de fórmula (VIII) se usa para preparar un compuesto de fórmula (IV). En otra realización más, un compuesto de fórmula (VIII) se usa para preparar un compuesto de fórmula (III), opcionalmente a través de un compuesto de fórmula (IV).

Usos, métodos y composiciones

En un aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un compuesto de fórmula (III).

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (IV) para la preparación de un compuesto de fórmula (III).

En otro aspecto más, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un compuesto de fórmula (IV).

En otro aspecto más, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (VIII) para la preparación de un compuesto de fórmula (IV).

En otro aspecto más, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (VIII) para la preparación de un compuesto de fórmula (III), opcionalmente a través de un compuesto de fórmula (III).

En otro aspecto más, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (VIII) para la preparación de conjugados y conjugados de conector - agente similares a los compuestos de fórmulas (III) y (IV) en las que el resto Z es un resto terapéutico o de diagnóstico diferente de un compuesto de fórmula (I) o (I'), o un derivado del mismo que contiene prorrosto.

En otro aspecto más, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (III) en la que V^1 es un grupo protector para la preparación de otro compuesto de fórmula (III) en la que V^1 es un resto escindible / transformable *in vivo*.

En un aspecto, la invención se refiere al uso de cualquiera de los compuestos definidos en lo que antecede en el presente documento para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de un mamífero con necesidad de la misma.

En una realización, la invención se refiere al uso de cualquiera de los compuestos definidos en lo que antecede en el presente documento para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de un tumor en un mamífero. En otra realización, la invención se refiere al uso de cualquiera de los compuestos definidos en lo que antecede en el presente documento para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención de un tumor en un mamífero.

La invención también se puede formular como cualquiera de los compuestos definidos en lo que antecede en el presente documento para su uso en el tratamiento de un mamífero con necesidad del mismo, o para su uso en el tratamiento de un tumor en un mamífero o para su uso en la prevención de un tumor en un mamífero.

La invención también se refiere a cualquiera de los compuestos definidos en lo que antecede en el presente documento como un medicamento o un componente activo o sustancia activa en un medicamento.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a un proceso para preparar una composición farmacéutica que contiene un compuesto tal como se ha definido en lo que antecede en el presente documento, para proporcionar un sólido o una formulación líquida para su administración por vía oral, por vía tópica, o mediante inyección. Un método o proceso de este tipo comprende al menos la etapa de mezclar el compuesto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización, un compuesto de la invención se usa para el tratamiento o la prevención de una enfermedad caracterizada por una proliferación no deseada. En otra realización, un compuesto de la invención se usa para el

tratamiento o la prevención de una enfermedad caracterizada por una proliferación no deseada. En otra realización, un compuesto de la invención se usa para el tratamiento de un tumor. En otra realización, un compuesto de la invención se usa para la prevención de un tumor.

5 En otra realización más, un compuesto de la invención se usa para el tratamiento o la prevención de una enfermedad inflamatoria. En otra realización más, un compuesto de la invención se usa para el tratamiento o la prevención de una enfermedad autoinmune. En otra realización más, un compuesto de la invención se usa para el tratamiento o la prevención de una infección bacteriana, vírica o microbiana.

10 La invención también se refiere unas composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la invención tal como se ha definido en lo que antecede en el presente documento. Un compuesto de la invención se puede administrar en forma purificada junto con un vehículo farmacéutico como una composición farmacéutica. La forma preferente depende del modo pretendido de administración y la aplicación terapéutica. El vehículo farmacéutico puede ser cualquier sustancia no tóxica, compatible adecuada para suministrar los compuestos de la invención al
15 paciente. Los vehículos farmacéuticamente aceptables se conocen bien en la técnica e incluyen, por ejemplo, soluciones acuosas tales como agua (estéril) o solución salina tamponada fisiológicamente u otros disolventes o vehículos tales como glicoles, glicerol, aceites tales como aceite de oliva o ésteres orgánicos inyectables, alcohol, grasas, ceras, y sólidos inertes. Un vehículo farmacéuticamente aceptable puede contener adicionalmente compuestos fisiológicamente aceptables que actúan por ejemplo para estabilizar para aumentar la absorción de los
20 compuestos de la invención. Tales compuestos fisiológicamente aceptables incluyen, por ejemplo, carbohidratos, tales como glucosa, sacarosa, o dextranos, antioxidantes, tales como ácido ascórbico o glutatión, agentes de quelación, proteínas de bajo peso molecular, otros estabilizantes o excipientes. Un experto en la materia podría conocer que la elección de un vehículo farmacéuticamente aceptable, incluyendo un compuesto fisiológicamente aceptable, depende, por ejemplo, de la vía de administración de la composición. En las composiciones
25 farmacéuticas también se pueden incorporar adyuvantes, agentes de tamponamiento, agentes dispersantes farmacéuticamente aceptables, y similares.

Para la administración oral, el principio activo se puede administrar en formas de dosificación sólidas, tales como
30 cápsulas, comprimidos, y polvos, o en formas de dosificación líquidas, tales como elixires, jarabes y suspensiones.

El componente o componentes activos se pueden encapsular en cápsulas de gelatina junto con principios inactivos y
vehículos en polvo, tales como glucosa, lactosa, sacarosa, manitol, almidón, celulosa o derivados de celulosa, estearato de magnesio, ácido esteárico, sacarina sódica, talco, carbonato de magnesio, y similares. Los ejemplos de
35 principios inactivos adicionales que se pueden añadir para proporcionar un color, sabor, estabilidad, capacidad de tamponamiento, dispersión deseables, u otras características deseables conocidas son óxido de hierro rojo, gel de sílice, lauril sulfato sódico, dióxido de titanio, tinta blanca comestible, y similares. Algunos diluyentes similares se pueden usar para preparar comprimidos formados por compresión. Tanto los comprimidos como las cápsulas se pueden preparar como productos de liberación sostenida para proporcionar una liberación continua de la medicación durante un periodo de horas.

40 Los comprimidos pueden estar revestidos con de azúcar o revestidos con película para enmascarar cualquier sabor desagradable y para proteger el comprimido de la atmósfera, o con revestimiento entérico para la desintegración selectiva en el tracto gastrointestinal. Las formas de dosificación líquidas para su administración oral pueden contener colorantes y saborizantes para aumentar la aceptación del paciente.

45 No obstante, los compuestos de la invención se administran preferentemente por vía parenteral. Las preparaciones de los compuestos de la invención para su administración parenteral deben ser estériles. La esterilización se consigue fácilmente por filtración a través de membranas de filtración estériles, opcionalmente antes o después de liofilización y reconstitución. La vía parenteral para la administración de compuestos de la invención está de acuerdo con los métodos conocidos, por ejemplo, inyección o infusión mediante las vías intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intraarterial o intralesional. Los compuestos de la invención se pueden administrar de forma continua mediante infusión o mediante inyección en bolo. Una composición habitual para infusión intravenosa se podría preparar para que contuviera de 100 a 500 ml de NaCl estéril al 0,9 % o glucosa al 5 % suplementada
50 opcionalmente con un 20 % de solución de albúmina y de 1 mg a 10 g del compuesto de la invención, dependiendo del tipo de compuesto de la invención en particular y su régimen de dosificación requeridos. En la técnica se conocen bien algunos métodos para preparar composiciones que se pueden administrar por vía parenteral y se describen con más detalle en diversas fuentes, incluyendo, por ejemplo, *Remington's Pharmaceutical Science*^x.

60 Un compuesto de la invención también se puede usar en terapia de combinación, en la que un compuesto de la presente invención se usa en combinación con otros uno o más agentes terapéuticos. La combinación de dos o más agentes terapéuticos puede influir de forma favorable en el resultado del tratamiento. los agentes se pueden administrar ya sea de forma secuencial o de forma simultánea. Por lo tanto, en una realización, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de la presente invención o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención en terapia de combinación.

65

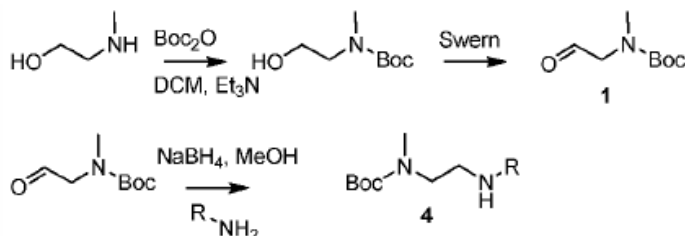
La invención se ejemplifica adicionalmente con los siguientes ejemplos. Estos ejemplos son solamente para fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la invención.

Ejemplos

5

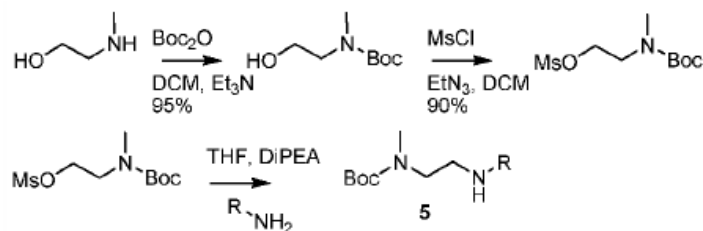
Ejemplo 1: Síntesis de espaciadores de ciclado protegidos con Boc

Ruta A: Aminación reductora



10

Ruta B: Alquilación



15

Ruta A

Síntesis del compuesto 1: 7,5 ml (85 mmol) de cloruro de oxalilo se disolvieron en 200 ml de DCM y se enfrió a T < -60 °C y se añadieron gota a gota 12,1 ml (171 mmol) de DMSO en 10 ml de DCM (T < -60 °C) y se agitó durante un periodo adicional de 10 min. Se añadieron 10,0 g (57 mmol) de N-Boc-N-metilaminoetanol en 40 ml de DCM gota a gota (T < -60 °C) y se agitó durante un periodo adicional de 10 min. Se añadieron 40 ml (285 mmol) de Et₃N gota a gota seguido de 50 ml de DCM (T < -60 °C) y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se calentó a 0 °C y se lavó con 3 x 100 ml de agua, 100 ml de KHSO₄ 0,5 M, 75 ml de solución salina saturada, se secó con MgSO₄ y se concentró al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / acetato de etilo, de 1 : 0 a 9 : 1) para dar 7,36 g (74 %) del compuesto 1. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ = 1,42 / 1,46 (s, 9H, Boc), 2,93 / 2,96 (s, 3H, Me), 3,90 / 4,01 (s, 2H, CH₂), 9,60 (s, 1H, CHO). Isómeros Z / E.

20

25

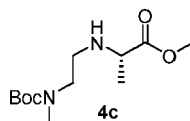
Procedimiento general de aminación reductora: 1 mmol de R-amina y 1 mmol del compuesto 1 se agitaron en 10 ml de MeOH durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió en hielo y se añadieron 2 mmol de borohidruro sódico en porciones y la mezcla se agitó a TA durante una noche. La mezcla se concentró y se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / Me-OH, de 1 : 0 a 1 : 1) para dar N-Boc-N-Metil-N'-R-diaminoetano.

30

Compuesto 4a, R = (CH₂CH₂O)₂H: rendimiento de un 40 %, RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ = 1,46 (9 H, s, Boc), 2,75 - 2,87 (4 H, m, 2 x CH₂), 2,88 (3 H, s, NMe), 3,35 (2 H, t, J = 6,6 Hz, CH₂), 3,56 - 3,63 (4H, m, 2 x CH₂, CH), 3,70 - 3,75 (2H, m, CH₂, CH); EM (ESI) m / z = 263,5 (M + H⁺).

35

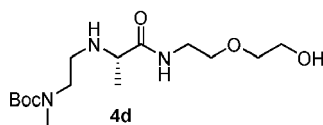
Compuesto 4b, R = (CH₂)₃COOMe: rendimiento de un 61 %, RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ = 1,46 (9 H, s, Boc), 1,83 (2H, m, CH₂), 2,39 (2H, t, J = 7,4 Hz, CH₂), 2,64 - 2,86 (3 H, m, CH / CH₂), 2,88 (3 H, s, NMe), 2,99 (1H, m, CH), 3,30 - 3,49 (2H, m, CH₂), 3,67 (3H, s, CH₃); EM (ESI) m / z = 275,5 (M + H⁺).



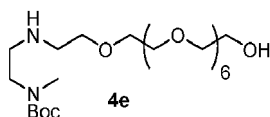
40

Compuesto 4c: RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 1,15 (3H, d, J = 6,9 Hz, CH₃ Ala), 1,38 (9H, s, Boc), 2,57 - 2,67 (1H, m, α-H), 2,76 (3H, s, NCH₃), 3,08 - 3,36 (4H, m, CH₂-CH₂), 3,63 (3H, s, OCH₃); EM (ESI): m / z = 261,3 (M + H⁺).

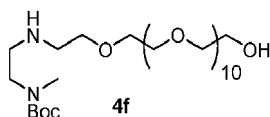
45



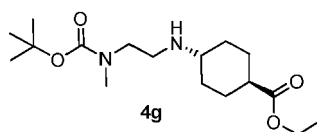
Compuesto 4d: RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1,12 (3H, d, J = 6,9 Hz, CH_3 Ala), 1,39 (9H, s, Boc), 2,54 - 2,61 (1H, m, α -H), 2,77 (3H, s, NCH_3), 3,10 - 3,51 (13H, m, 6 x CH_2 + OH), 7,90 (1H, s, NH amida); EM (ESI): m/z = 334,4 ($\text{M} + \text{H}^+$).



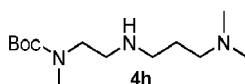
Compuesto 4e: rendimiento de un 27 %, RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 1,44 (9H, s, Boc), 2,72 - 2,85 (4H, m, 2 x CH_2), 2,81 (3H, s, MeN), 3,31 (2H, m, NCH_2), 3,5 - 3,7 (32H, m, 15 x CH_2 + OH + NH); EM (ESI): m/z = 527,4 ($\text{M} + \text{H}^+$).



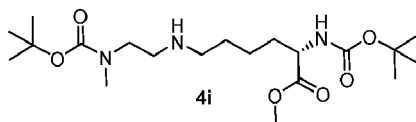
Compuesto 4f: rendimiento de un 30 %, RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 1,44 (9H, s, Boc), 2,65 - 2,79 (4H, m, 2 x CH_2), 2,80 (3H, s, MeN), 3,26 (2H, m, NCH_2), 3,5 - 3,7 (48H, m, 23 x CH_2 + OH + NH); EM (ESI): m/z = 703,5 ($\text{M} + \text{H}^+$).



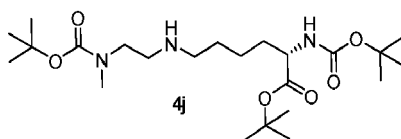
Compuesto 4g: RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1,14 (5H, m, 2 CH y CH_3), 1,35 (9H, s, Boc), 1,47 (4H, m, 4 CH), 1,74 - 2,38 (4H, m, 4 CH), 2,59 (2H, m, CH_2), 2,75 (3H, s, NCH_3), 3,16 (2H, m, CH_2), 3,99 (2H, m, CH_2); EM (ESI): m/z = 329,4 ($\text{M} + \text{H}^+$).



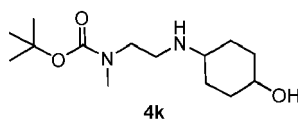
Compuesto 4h: rendimiento de un 63 %, RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 1,46 (9H, s, Boc), 1,69 (2H, m, CH_2), 2,24 (6H, s, Me_2), 2,36 (2H, t, CH_2), 2,52 (1H, m, NH), 2,72 (2H, t, CH_2), 2,80 (2H, t, CH_2), 2,88 (3H, s, MeN), 3,37 (2H, m, CH_2); EM (ESI) m/z = 260,2 ($\text{M} + \text{H}^+$).



Compuesto 4i: RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1,30 - 1,36 (4H, m, 2 CH_2 Lis), 1,35 (18H, 2 s, 2 Boc), 1,53 (2H, m, CH_2 Lis), 2,46 (2H, m, CH_2 Lis), 2,56 (2H, m, CH_2), 2,75 (3H, s, NCH_3), 3,13 (3H, m, CH_2 y α -H Lis), 3,58 (3H, s, OCH_3); EM (ESI): m/z = 481,4 ($\text{M} + \text{H}^+$).



Compuesto 4j: RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1,36 (31H, m, 1 tBu, 2 Boc y 2 CH_2 Lis), 1,53 (2H, m, CH_2 Lis), 2,46 (2H, m, CH_2 Lis), 2,56 (2H, t, CH_2), 2,75 (3H, s, NCH_3), 3,14 (2H, t, CH_2), 3,64 (1H, m, α -H Lis), 7,01 (d, 1H, NH); EM (ESI): m/z = 460,3 ($\text{M} + \text{H}^+$).



Compuesto 4k: RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 1,15 (2H, m), 1,30 (2H, m), 1,94 (4H, m), 2,46 (1H, m), 2,76 (2H, t, J = 6,8 Hz), 2,87 (3H, s), 3,30 (2H, t, J = 6,8 Hz), 3,60 (1H, m); EM (ESI): m/z = 273,3 ($\text{M} + \text{H}^+$).

5

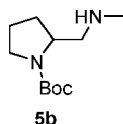
Ruta B

Procedimiento general de reacción de alquilación: A una solución de 1 mmol de R-amina y 1 mmol de mesilato en THF seco 1,5 ml se añadió K_2CO_3 (1,5 mmol) y la mezcla se agitó a 60 °C durante una noche. La mezcla se enfrió a TA, se concentró y se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , DCM / MeOH, de 1 : 0 a 1 : 1) para dar el N- Boc-N-Metil-N'-R-diaminoetano.

10

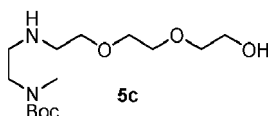
Compuesto 5a, R = iso-propilo: RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 1,05 (6 H, d, 2 x CH_3), 1,46 (9 H, s, Boc), 2,75 (2 H, t, J = 6,6 Hz, CH_2), 2,82 (1 H, t, J = 6,6 Hz, CH), 2,87 (3 H, s, NMe), 3,31 (2 H, t, J = 6,6 Hz, CH_2); EM (ESI) m/z = 217,2 ($\text{M} + \text{H}^+$).

15



Compuesto 5b: Comenzando a partir de N-Boc-prolinol^{xviii}, el compuesto **5b** se preparó de acuerdo con la ruta B. EM (ESI) m/z = 215,2 ($\text{M} + \text{H}^+$).

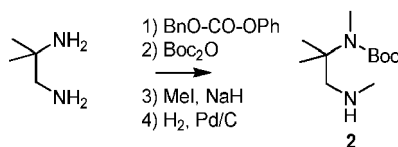
20



Compuesto 5c: RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 1,39 (9H, s, Boc), 2,73 - 2,85 (7H, m, $\text{NCH}_3 + 2 \times \text{CH}_2$), 3,24 - 3,30 (2H, m, CH_2), 3,39 - 3,55 (11H, m, 5 x $\text{CH}_2 + \text{OH}$).

25

Ejemplo 2: Síntesis del compuesto 2



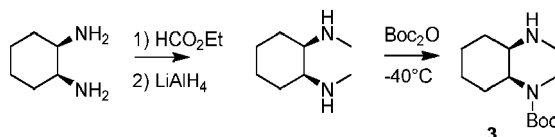
30

2,28 g (10 mmol) de fenilcarbonato de bencilo se disolvieron en 20 ml de etanol y 1,03 ml (10 mmol) 1,2-diamino-1-metilpropano se añadió gota a gota y se agitó a TA durante una noche. La mezcla se diluyó con 25 ml de agua y se acidificó con HCl 1 M hasta $\text{pH} < 3$ y se extrajo con DCM. La fase acuosa se basificó con NaOH 4 M y se extrajo con DCM. El extracto se secó con MgSO_4 y se concentró al vacío. Esto proporcionó 1,93 g (87 %) de diamina monoprottegida. Este material se disolvió en 25 ml de dioxano, se añadieron 2,028 g (10,5 mmol) de Boc_2O y 0,12 g (1 mmol) de DMAP y la reacción se agitó a TA durante una noche. La mezcla se concentró al vacío y se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , éter / heptano, de 1 : 0 a 7 : 3) para dar 1,13 g (40 %) de diamina diprottegida. La diamina diprottegida se disolvió en 10 ml de DMF seca, se añadió 1,1 ml (17,5 mmol) de yodometano y la mezcla de reacción se enfrió en hielo. Se añadieron 0,50 g (10,5 mmol) de hidruro sódico (al 60 % en aceite) en porciones y se agitó en hielo durante 2 h. La mezcla se calentó a TA, se inactivó con 10 ml de NH_4Cl saturado y 50 ml de agua, se extrajo con acetato de etilo, se secó con MgSO_4 y se concentró al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna (SiO_2 , DCM / acetato de etilo, de 1 : 0 a 50 : 1) para dar 0,358 g (29 %) del compuesto **2** protegido con Cbz. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 1,29 (s, 3H, Me), 1,35 (s, 3H, Me), 1,46 (s, 9H, Boc), 2,82 / 2,86 (s, 3H, Me, Z / E), 2,93 (s, 3H, Me), 3,72 (s, 2H, CH_2N), 5,12 (s, 2H, bencilo), 7,35 (m, 5H, Fe). Este material se disolvió en 20 ml de metanol, se añadieron 0,04 g de Pd / C, la mezcla se agitó en atmósfera de hidrógeno durante 3 horas, se filtró, y el filtrado se concentró. Esto dio 0,21 g (100 %) del compuesto **2**. EM (ESI): m/z = 217,2 ($\text{M} + \text{H}^+$).

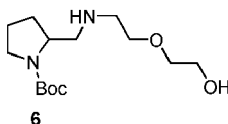
35

40

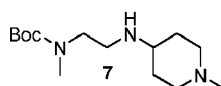
45

Ejemplo 3: Síntesis del compuesto **3**

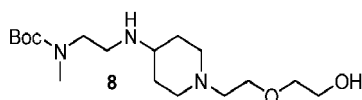
5 Se disolvieron 2,15 g (18,8 mmol) de cis-1,2-diaminociclohexano se disolvió en 20 ml de formiato de etilo y se calentó a reflujo durante una noche. La suspensión se enfrió, se filtró y se secó al vacío para dar 2,59 g (80 %) de producto. El sólido se añadió en porciones a una mezcla enfriada de 2,1 g (53 mmol) de hidruro de litio y aluminio en 50 ml de THF y la mezcla se agitó a TA durante 1 h y después se calentó a reflujo durante una noche. La solución transparente se enfrió en hielo y se inactivo mediante adición gota a gota de 2,1 ml de agua seguido de 15 ml de NaOH al 20 %. La suspensión se calentó brevemente hasta que las sales eran de color blanco. La mezcla se enfrió a TA y se filtró. El residuo se lavó con 2 porciones de 50 ml de THF. El filtrado se concentró y se disolvió en 50 ml de DCM y se lavó con 20 ml de NaOH 4 M. La fase acuosa se extrajo con 25 ml de DCM, se secó con MgSO₄ y se concentró al vacío para dar 1,94 g (89 %) de producto. El producto en bruto se disolvió en 50 ml de DCM y la mezcla se enfrió a -40 °C y se añadieron 2,95 g (13,5 mmol) de Boc₂O en 10 ml de DCM gota a gota. La mezcla se calentó lentamente a TA y se lavó con 20 ml NaOH 2 M, se secó con MgSO₄, se concentró al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / MeOH, de 1 : 0 a 9 : 1) para dar 2,09 g (63 %) del compuesto **3**. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ = 1,38 (m, 6H, ciclohex), 1,46 (s, 9H, Boc), 1,83 (m, 3H, ciclohex + NH), 2,35 (s, 3H, NMe), 2,89 (s, 3H, NMe), 2,95 (m, 1H, CHN), 3,86 (m, 1H, CHN); EM (ESI): *m/z* = 243,2 (M + H⁺).

20 Ejemplo 4: Síntesis del compuesto **6**

25 A una solución de 2,55 mmol de *N*-Boc-prolinal en THF seco (5 ml) en una atmósfera de argón se añadieron 0,7 ml de ácido acético glacial y 272 mg de 2-(2-aminoetoxi)etanol (2,58 mmol). La mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Se añadieron 2,59 mmol de borohidruro sódico en porciones, y la mezcla se agitó durante otras 4 horas tras lo que se añadió agua. La mezcla se lavó con acetato de etilo, la fase acuosa se clasificó hasta pH 10 usando Na₂CO₃ y se extrajo con acetato de etilo (9x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución salina saturada, se secaron con MgSO₄, y se concentraron al vacío para dar 335 mg (46 %) del compuesto **6** en bruto, que se usó sin purificación adicional. EM (ESI): *m/z* = 289 (M + H⁺).

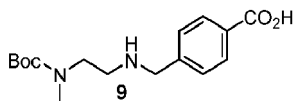
Ejemplo 5: Síntesis de los compuestos **7** y **8**

35 Se hicieron reaccionar 0,17 g (1,5 mmol) de *N*-metilpiperid-4-ona y 0,178 g (1,0 mmol) de *N*-Boc-*N*-metil-1,2-diaminoetano con 0,42 g (2,0 mmol) de triacetoxiborohidruro sódico en 5 ml de DCE a TA durante una noche. La reacción se interrumpió con MeOH y la mezcla se extrajo con DCM y solución salina saturada (basificada a pH > 12), se secó con MgSO₄ y se concentró al vacío para dar 0,31 g (100 %) de **7** en forma de un aceite. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ = RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ = 1,38 (2, m, CH₂), 1,45 (9H, s, Boc), 1,76 (1H, s a, NH), 1,85 (2H, m, CH₂), 2,00 (2H, m, CH₂), 2,27 (3H, s, MeN), 2,46 (1H, m, CH), 2,76 (4H, m, 2 x CH₂), 2,86 (3H, s, MeN), 3,30 (2H, t, CH₂); EM (ESI) *m/z* = 272,2 (M + H⁺).



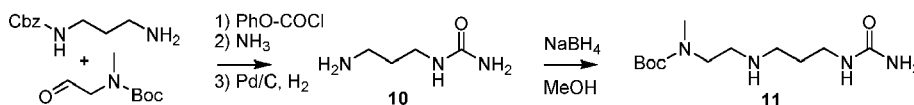
45 El compuesto **8** se preparó del mismo modo que el compuesto **7** usando 0,75 g (4,0 mmol) de *N*-hidroxietoxietil-4-piperidina. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / MeOH, de 1 : 0 a 95 : 5) para dar 0,83 g (66 %) de **8** en forma de un aceite. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ = 1,46 (9H, s, Boc), 1,89 (2H, m, CH₂), 1,91 (2H, m, CH₂), 2,50 (3H, m, CH + OH + NH), 2,57 (2H, t, CH₂), 2,77 (2H, t, CH₂), 2,87 (3H, s, MeN), 2,94 (2H, m, CH₂), 3,30 (2H, t, CH₂), 3,64 (6H, m, 3 x CH₂O); EM (ESI) *m/z* = 346,3 (M + H⁺).

50

Ejemplo 6: Síntesis del compuesto 9

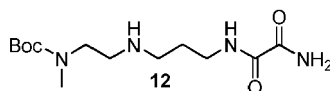
- 5 Se hicieron reaccionar 0,18 g (1,0 mmol) de *N*-Boc-*N*-metil-1,2-diaminoetano y 0,15 g (1,0 mmol) de ácido 4-formilbenzoico de acuerdo con el procedimiento general A del ejemplo 1 para dar 0,34 g (90 %) de **9** (sal de HCl). RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 2,89 (3H, s, MeN), 3,11 (2H, m, CH₂N), 3,57 (2H, t, CH₂N), 4,25 (2H, m, CH₂N), 7,33 (2H, d, ArH), 8,02 (2H, d, ArH), 9,03 (2H, s a, NH₂⁺), 13,03 (1H, s, CO₂H); EM (ESI) m/z = 309,2 (M + H⁺).

10

Ejemplo 7: Síntesis del compuesto 11

- 15 Se disolvieron 1,84 g (7,5 mmol) de clorhidrato de *N*-Cbz-1,3-diamina y 3 ml de Et₃N en 50 ml de DCM, se enfrió en hielo y se añadieron 0,94 ml de cloroformiato de fenilo disueltos en 5 ml de DCM gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en 50 ml de DCM, se lavó con 25 ml de KHSO₄ 0,5 M, se secó con MgSO₄ y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en 25 ml de EtOH, se añadieron 4 ml de amoníaco concentrado y la mezcla se agitó durante 3 h. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se disolvió en 25 ml de CHCl₃, se lavó con 10 ml de NaOH 4 M y solución salina saturada, se secó con MgSO₄ y se concentró al vacío para dar 1,9 g de compuesto intermedio. Este material se disolvió en 50 ml de MeOH, se añadieron 0,1 g de Pd / C y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de hidrógeno durante 5 h. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío para dar 0,87 g (95 %) del compuesto **10**. Se hicieron reacción 0,26 g (1,7 mmol) de esta amina de acuerdo con el procedimiento general A para dar 0,17 g (36 %) de **11** en forma de un aceite. RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 1,39 (9H, s, Boc), 1,45 (2H, m, CH₂), 2,48 (2H, t, CH₂), 2,58 (2H, t, CH₂), 2,78 (3H, s, MeN), 2,97 (2H, m, CH₂), 3,18 (2H, t, CH₂), 5,35 (2H, s, NH₂), 5,87 (1H, t, NH); EM (ESI) m/z = 275,2 (M + H⁺).

25

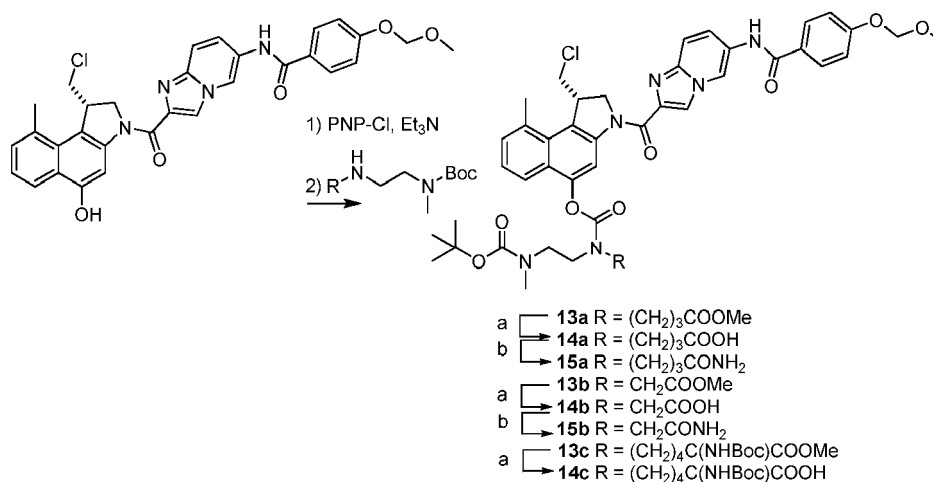
Ejemplo 8: Síntesis del compuesto 12

30

- 35 Se disolvieron 0,98 g (4,0 mmol) de clorhidrato de *N*-Cbz-1,3-diamina y 3 ml de Et₃N en 15 ml de DCM y se añadieron gota a gota a 1,65 ml (12 mmol) de oxalato de dietilo en 15 ml de etanol. La mezcla se agitó a TA durante una noche, se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / MeOH, de 1 : 0 a 95 : 5) para dar la mono-oxalamida. Este material se disolvió en 15 ml de etanol y se añadieron 4 ml de amoníaco concentrado y la mezcla se agitó a TA durante una noche. La mezcla se diluyó con 50 ml de MeOH y se añadieron 100 mg de Pd / C. La mezcla se agitó en atmósfera de hidrógeno durante 3 h. Se añadieron 10 ml de agua, la mezcla se filtró sobre Celite y el filtrado se concentró al vacío para dar 0,57 g (94 %) de un sólido de color blanco. Esto se hizo reaccionar de acuerdo con el procedimiento general A del Ejemplo 1 para dar 0,45 g (38 %) de **12** en forma de un sólido de color blanco. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl₃): δ = 1,45 (9H, s, Boc), 1,80 (2H, m, CH₂), 2,80 (4H, m, 2 x CH₂), 2,89 (3H, s, MeN), 3,39 (4H, m, 2 x CH₂), 6,85 (1H, s, NH), 7,40 (1H, s, NH), 8,39 (1H, t, NH); EM (ESI) m/z = 303,2 (M + H⁺).

40

Ejemplo 9: Síntesis de los compuestos 14a-b y 15a-b

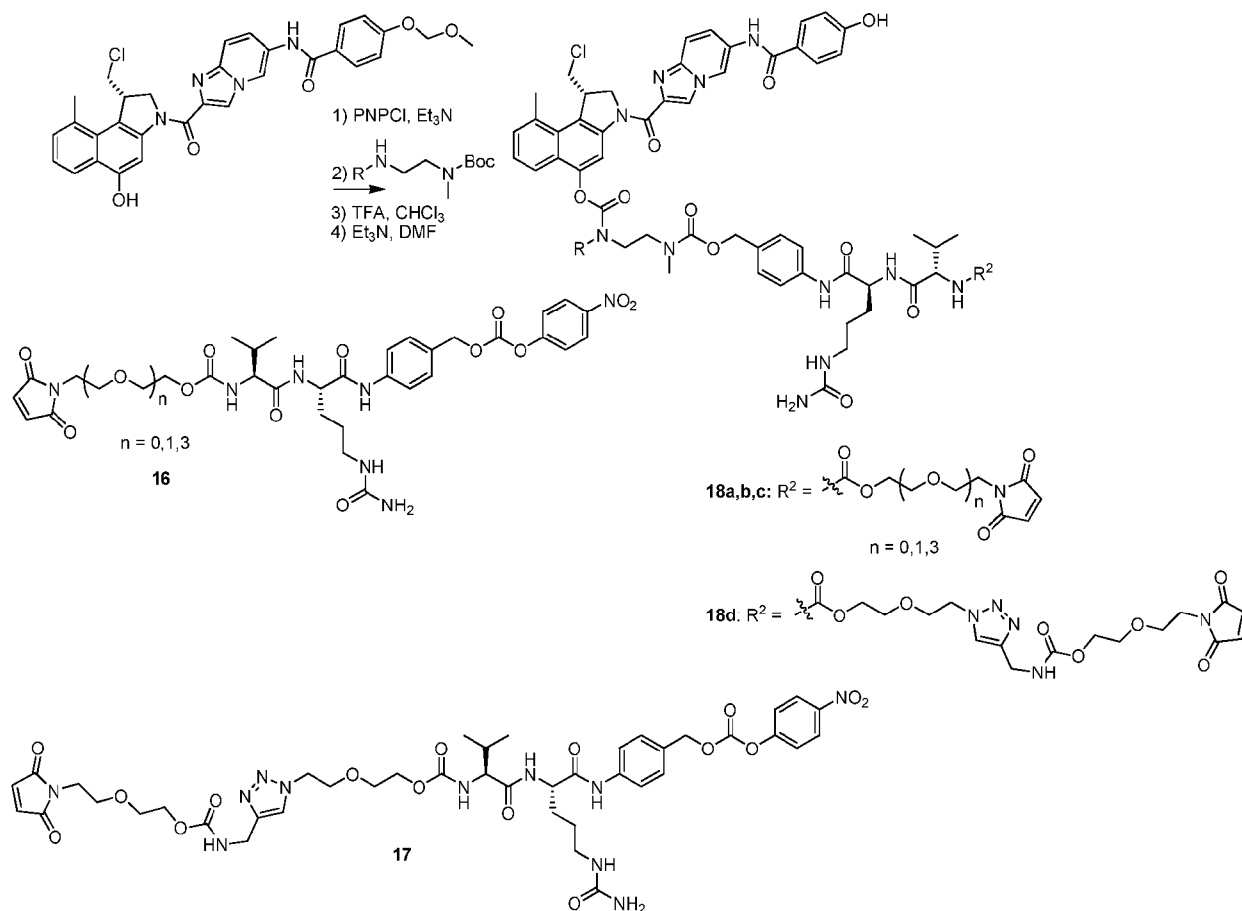


5 **Compuesto 14c:** El compuesto **13c** (0,51 mmol) se disolvió en THF (12 ml); se añadieron LiOH (1,02 mmol) y agua (1 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 h. A continuación, la mezcla se acidificó con HCl acuoso (1 M, 1,5 ml), concentrado, se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / MeOH, de 1 : 0 a 9 : 1) para producir el compuesto **14c** (0,41 mmol)

10 **Compuesto 15a:** El compuesto **14a** (0,11 mmol) se disolvió en dioxano (2 ml); se añadieron piridina (0,07 mmol) y Boc₂O (0,14 mmol) seguido de NH₄HCO₃ (0,14 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 8 h. A partir de ese momento, la mezcla se concentró y se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / MeOH, de 1 : 0 a 9 : 1) para producir el compuesto **15a** (0,06 mmol).

Ejemplo 10: Síntesis de conjugados de conector - agente

15



Procedimiento general para el acoplamiento del espaciador de ciclado al fármaco protegido activado (etapa 2): se disolvieron 0,2 mmol de fármaco protegido activado, 0,6 mmol de espaciador mono-protegido, y 0,02 mmol de HOBt en 2 ml de DMF, se añadió 1 mmol de Et₃N y la mezcla se calentó a 50 °C durante 2 h. La mezcla se concentró al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / MeOH) para dar el espaciador - fármaco de ciclado.

Procedimiento general para el acoplamiento del conector al compuesto intermedio de espaciador - fármaco de ciclado (etapas 3 y 4): se suspendieron 0,1 mmol de espaciador - fármaco de ciclado en 6 ml de CHCl₃, la mezcla de reacción se enfrió en hielo y se añadieron 2 ml de TFA y la mezcla se agitó durante 3 h. A continuación, la mezcla se concentró al vacío. El residuo se disolvió en 4 ml de DMF, la solución se enfrió en hielo y se añadieron 0,13 mmol de conector activado (**16** o **17**) y 1 mmol de Et₃N. La mezcla se agitó durante 2 horas, se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / MeOH, de 1 : 0 a 8 : 2) hasta dar un aceite que se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa en fase inversa (acetonitrilo / agua + TFA al 0,1 %) y se liofilizó para dar la construcción **18** en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Compuesto 18b, R = Me: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,84 (6H, dd, *J* = 6,4 Hz, 2 x CH₃ Val), 1,32 - 1,47 (2H, m, CH₂ Cit), 1,52 - 1,71 (2H, m, CH₂ Cit), 1,91 - 1,99 (1H, m, β-H Val), 2,81 - 3,03 (11H, m, 3 x CH₃ + NCH₂), 4,36 - 4,43 (1H, m, H-2), 4,45 - 4,51 (1H, m, α-H), 4,63 - 4,41 (1H, m, H-2), 4,97 - 5,08 (3H, m, CH₂ PABA + H-1), 5,97 (1H, s a, NH), 6,90 (2H, d, *J* = 8,8 Hz, H-3"), 7,01 (2H, s, CH=CH), 7,14 - 7,59 (7H, m, ArH + 2 x NH), 7,67 - 7,80 (3H, m, ArH), 7,91 (2H, d, *J* = 8,8 Hz, H-2"), 8,06 (1H, s a, H-6), 8,33 (H, s a, H-4), 8,81 (1H, s, H-3'), 9,55 (1H, s, H-4'), 9,99 (1H, s, NH), 10,20 (1H, s, NH), 10,28 (1H, s, OH); EM (ESI): *m/z* = 1257,3 (M + H⁺).

Compuesto 18c, R = Me: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,84 (6H, dd, Val), 1,28 - 1,73 (4H, m, CH₂CH₂Cit), 1,95 (1H, m, βHVal), 2,85 (3H, s, MeAr), 2,94 (3H, s, MeN), 2,87 - 3,05 (4H, m, 2 x CH₂NMe), 4,05 (2H, t, CH₂O), 4,40 (1H, m, H-1), 4,48 (1H, s, CH), 4,67 (1H, m, H-2), 5,05 (3H, m, CH₂O, H-2), 5,40 (2H, s a, NH₂), 5,96 (1H, s a, NH), 6,90 (2H, d, H-3"), 7,01 (2H, s, CH=CH), 7,2 - 7,7 (10H, m, ArH + NH), 7,91 (2H, d, H-2"), 8,05 (1H, s, H-6), 8,33 (1H, s a, H-4), 8,77 (1H, s, H-3'), 9,52 (1H, s, H-4'), 10,0 (1H, s, NH), 10,19 (1H, s, NH), 10,25 (1H, s, OH); EM (ESI): *m/z* = 1345,7 (M + H⁺).

Compuesto 18b, R = (CH₂CH₂O)₂H: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm): δ = 0,84 (6H, dd, Val), 1,28 - 1,73 (4H, m, CH₂CH₂Cit), 1,96 (1H, m, βHVal), 2,85 (3H, s, MeAr), 2,95 (3H, s, MeN), 2,87 - 3,05 (4H, m, 2 x CH₂NMe), 4,00 (2H, t, CH₂O), 4,35 (1H, m, H-1), 4,48 (1H, m, CH), 4,67 (1H, m, H-2), 4,93 - 5,11 (4H, m, CH₂O, H-2, CH), 5,40 (2H, s a, NH₂), 5,97 (1H, s a, NH), 6,91 (2H, d, H-3"), 7,01 (2H, s, CH=CH), 7,2 - 7,7 (10H, m, ArH + NH), 7,91 (2H, d, H-2"), 8,06 (1H, d, H-6), 8,33 (1H, s a, H-4), 8,80 (1H, s, H-3'), 9,54 (1H, s, H-4'), 10,01 (1H, s, NH), 10,20 (1H, s, NH), 10,27 (1H, s, OH); EM (ESI): *m/z* = 1331,7 (M + H⁺).

Compuesto 18c, R = (CH₂)₄C(NH₂)COOH: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,84 (6H, dd, *J* = 6,4 Hz, 2 x CH₃ Val), 1,29 - 1,98 (11H, m, 3 x CH₂ Lis + 2 x CH₂ Cit + β-H Val), 2,82 - 3,04 (8H, m, 2 x CH₃ + NCH₂), 4,35 - 4,42 (1H, m, H-1), 4,45 - 4,51 (1H, m, α-H), 4,63 - 4,70 (1H, m, H-2), 4,95 - 5,07 (2H, m, CH₂ PABA), 5,09 - 5,16 (1H, m, H-2), 5,99 (1H, s a, NH), 6,90 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, H-3"), 7,01 (2H, s, CH=CH), 7,16 - 7,77 (11H, m, ArH + 3 x NH), 7,90 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, H-2"), 8,05 - 8,09 (1H, m, H-6), 8,19 (3H, s a, NH, Lis + OH), 8,31 - 8,37 (1H, m, H-4), 8,75 (1H, s a, H-3'), 9,53 (1H, s a, H-4'), 10,00 (1H, s a, NH), 10,16 - 10,26 (2H, m, NH + OH); EM (ESI): *m/z* = 1460,7 (M + H⁺).

Compuesto 18d, R = (CH₂CH₂O)₂H: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,84 (6H, dd, Val, *J* = 6,8), 1,30 - 1,46 (2H, m, CH₂ Cit), 1,52 - 1,70 (2H, m, CH₂ Cit), 1,91 - 1,99 (1H, m, β-H Val), 2,80 - 3,05 (10H, m, ArCH₃ + NCH₃ + 2 x NCH₂), 3,97 - 4,06 (5H, m, 2 x CH₂O + H-2), 4,20 (2H, d, *J* = 5,6 Hz, NCH₂-triazol), 4,36 - 4,43 (1H, m, H-1), 4,44 - 4,52 (3H, m, CH₂-triazol + α-H), 4,63 - 4,71 (1H, m, H-2), 4,94 - 5,09 (3H, m, CH₂ PABA + H-2), 5,98 (1H, s a, NH), 6,90 (2H, d, *J* = 8,8 Hz, H-3"), 6,99 (2H, s, CH=CH), 7,16 - 7,81 (11H, m, ArH + NH), 7,87 (1H, s, triazol-H), 7,91 (2H, d, *J* = 8,8 Hz, H-2"), 8,05 - 8,09 (1H, m, H-6), 8,33 (H, m, H-4), 8,83 (1H, s, H-3'), 9,55 (1H, s, H-4'), 10 - 00 (1H, s, NH), 10,20 (1H, s, NH), 10,28 (1H, s, OH); EM (ESI): *m/z* = 1543,7 (M + H⁺).

Compuesto 18c, R = (CH₂CH₂O)₂H: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,84 (6H, dd, Val), 1,28 - 1,73 (4H, m, CH₂CH₂Cit), 1,96 (1H, m, βHVal), 2,85 (3H, s, MeAr), 2,94 (3H, s, MeN), 2,87 - 3,05 (4H, m, 2 x CH₂NMe), 4,05 (2H, t, CH₂O), 4,40 (1H, m, H-1), 4,48 (1H, m, CH), 4,67 (1H, m, H-2), 4,93 - 5,16 (4H, m, CH₂O, CH, H-2), 5,40 (2H, s a, NH₂), 5,96 (1H, s a, NH), 6,90 (2H, d, H-3"), 7,01 (2H, s, CH=CH), 7,2 - 7,8 (11H, m, ArH + 3 x NH), 7,90 (2H, d, H-2"), 8,05 (1H, d, H-6), 8,32 (1H, s a, H-4), 8,76 (1H, s, H-3'), 9,51 (1H, s, H-4'), 10,01 (1H, s, NH), 10,19 (1H, s, NH), 10,24 (1H, s, OH); EM (ESI): *m/z* = 1419,7 (M + H⁺).

Compuesto 18a, R = (CH₂CH₂O)₂H: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,81 (6H, dd, *J* = 6,4 Hz, 2 x CH₃), 1,30 - 1,47 (2H, m, CH₂ Cit), 1,53 - 1,71 (2H, m, CH₂ Cit), 1,89 - 1,99 (1H, m, β-H Val), 2,82 - 3,05 (8H, m, 2 x CH₃ + NCH₂), 3,96 - 4,02 (1H, m), 4,15 - 4,23 (1H, m), 4,33 - 4,40 (1H, m, H-1), 4,44 - 4,52 (1H, m, α-H), 4,63 - 4,71 (1H, m, H-2), 4,94 - 5,12 (3H, m, CH₂ + H-2), 5,96 (1H, s a, NH), 6,90 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, H-3"), 7,01 (2H, s, CH=CH), 7,10 - 7,54 (7H, m, 5 ArH + 2 x NH), 7,66 - 7,81 (3H, m, ArH), 7,91 (2H, d, *J* = 8,8 Hz, H-2"), 8,00 - 8,05 (1H, m, H-6), 8,29 - 8,37 (1H, m, H-4), 8,79 (1H, s a, H-3'), 9,54 (1H, s a, H-4'), 9,91 - 10,00 (1H, m, NH), 10,20 (1H, s a, OH), 10,27 (1H, s, NH); EM (ESI): *m/z* = 1287,7 (M + H⁺).

Compuesto 18b, R = (CH₂)₃C(O)NH₂: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,83 (6H, dd, *J* = 6,4 Hz, 2 x CH₃ Val), 1,25 - 2,15 (9H, m, 2 x CH₂ butiramida + 2 x CH₂ Cit + β-H Val), 2,82 - 3,04 (8H, m, 2 x CH₃ + NCH₂), 3,18 - 3,98 (15H, m, 2 x H-10 + 6 x CH₂ + α-H), 4,34 - 4,42 (1H, m, H-1), 4,46 - 4,54 (1H, m, α-H), 4,63 - 4,71 (1H, m, H-2), 4,93 - 5,07 (3H, m, CH₂ PABA + H-2), 5,98 (1H, s a, NH), 6,76 (1H, s a, NH), 6,91 (2H, d, *J* = 8,8 Hz, H-3"),

7,00 (2H, s, CH=CH), 7,13 - 7,58 (8H, m, ArH + 2 x NH), 7,65 - 7,83 (3H, m, ArH), 7,91 (2H, d, $J = 8,4$ Hz, H-2''), 8,04 - 8,09 (1H, m, H-6), 8,28 - 8,37 (1H, m, H-4), 8,89 (1H, s a, H-3'), 9,60 (1H, s a, H-4'), 9,93 - 10,02 (1H, m, NH), 10,34 (1H, s a, NH); EM (ESI): $m/z = 1328,3$ ($M + H^+$).

Compuesto 18b, R = (CH₂)₄C(NH₂)COOH: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 0,83$ (6H, dd, $J = 6,4$ Hz, 2 x CH₃ Val), 1,30 - 1,98 (11H, m, 3 x CH₂ Lis + 2 x CH₂ Cit + β -H Val), 2,82 - 3,04 (8H, m, 2 x CH₃ + NCH₂), 4,33 - 4,42 (1H, m, H-1), 4,45 - 4,51 (1H, m, α -H), 4,62 - 4,70 (1H, m, H-2), 4,95 - 5,07 (2H, m, CH₂ PABA), 5,10 - 5,16 (1H, m, H-2), 5,98 (1H, s a, NH), 6,90 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-3''), 7,01 (2H, s, CH=CH), 7,13 - 7,77 (11H, m, ArH + 3 x NH), 7,90 (2H, d, $J = 8,8$ Hz, H-2''), 8,05 - 8,09 (1H, m, H-6), 8,19 (3H, s a, NH₂ Lis + OH), 8,31 - 8,37 (1H, m, H-4), 8,73 (1H, s a, H-3'), 9,51 (1H, s a, H-4'), 10,00 (1H, s a, NH), 10,17 - 10,25 (2H, m, NH + OH); EM (ESI): $m/z = 1372,6$ ($M + H^+$).

Compuesto 18b, R = (CH₂)₃COOH: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 0,83$ (6H, dd, Val), 1,28 - 1,73 (4H, m, CH₂CH₂Cit), 1,74 - 2,02 (2H, m, CH₂), 1,95 (1H, m, β HVal), 2,19 - 2,39 (2H, m, CH₂), 2,85 (3H, s, MeAr), 2,94 (3H, s, MeN), 2,87 - 3,05 (4H, m, 2 x CH₂NMe), 4,00 (2H, m, CH₂O), 4,40 (1H, m, H-1), 4,48 (1H, m, CH), 4,67 (1H, m, H-2), 4,93 - 5,16 (4H, m, CH₂O, CH, H-2), 5,40 (2H, s a, NH₂), 5,96 (1H, s a, NH), 6,90 (2H, d, H-3''), 7,01 (2H, s, CH=CH), 7,2 - 7,8 (10H, m, ArH + NH), 7,91 (2H, d, H-2''), 8,06 (1H, d, H-6), 8,33 (1H, s a, H-4), 8,76 (1H, s, H-3'), 9,51 (1H, s, H-4'), 10,01 (1H, s, NH), 10,19 (1H, s, NH), 10,24 (1H, s, OH); EM (ESI): $m/z = 1329,8$ ($M + H^+$).

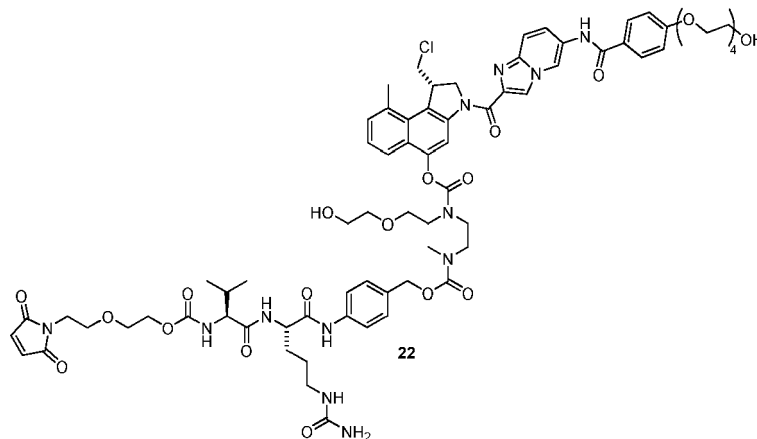
Compuesto 18c, R = (CH₂)₃COOH: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 0,84$ (6H, dd, Val), 1,30 - 1,73 (4H, m, CH₂CH₂Cit), 1,74 - 2,02 (2H, m, CH₂), 1,95 (1H, m, β HVal), 2,19 - 2,39 (2H, m, CH₂), 2,85 (3H, s, MeAr), 2,94 (3H, s, MeN), 2,87 - 3,05 (4H, m, 2 x CH₂NMe), 4,05 (2H, m, CH₂O), 4,40 (1H, m, H-1), 4,48 (1H, m, CH), 4,67 (1H, m, H-2), 4,95 - 5,16 (4H, m, CH₂O, CH, H-2), 5,40 (2H, s a, NH₂), 5,96 (1H, s a, NH), 6,90 (2H, d, H-3''), 7,01 (2H, s, CH=CH), 7,2 - 7,8 (9H, m, ArH + NH), 7,91 (2H, d, H-2''), 8,05 (1H, d, H-6), 8,34 (1H, s a, H-4), 8,77 (1H, s, H-3'), 9,52 (1H, s, H-4'), 10,01 (1H, s, NH), 10,19 (1H, s, NH), 10,24 (1H, s, OH); EM (ESI): $m/z = 1417,9$ ($M + H^+$).

Compuesto 18b, R = (CH₂)₃NHC(O)NH₂: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 0,79$ (6H, dd, Val), 1,25 - 1,8 (6H, m, 3 x CH₂), 1,91 (1H, m, β HVal), 2,80 (3H, s, MeAr), 2,90 (3H, s, MeN), 2,95 (4H, m, 2 x CH₂N), 4,34 (1H, m, H-1), 4,61 (1H, m, H-2), 4,94 (1H, m, H-2), 4,99 (2H, s, CH₂O), 5,32 (4H, s a, 2 x NH₂), 5,91 (1H, s a, NH), 5,98 (1H, s a, NH), 6,86 (2H, d, H-3''), 6,95 (2H, s, CH=CH), 7,2 - 7,7 (10H, m, ArH + 2 x NH), 7,86 (2H, d, H-2''), 8,02 (1H, d, H-6), 8,28 (1H, s a, H-4), 8,82 (1H, s, H-3'), 9,54 (1H, s, H-4'), 9,95 (1H, s, NH), 10,15 (1H, s, NH), 10,27 (1H, s, OH); EM (ESI): $m/z = 1343,7$ ($M + H^+$).

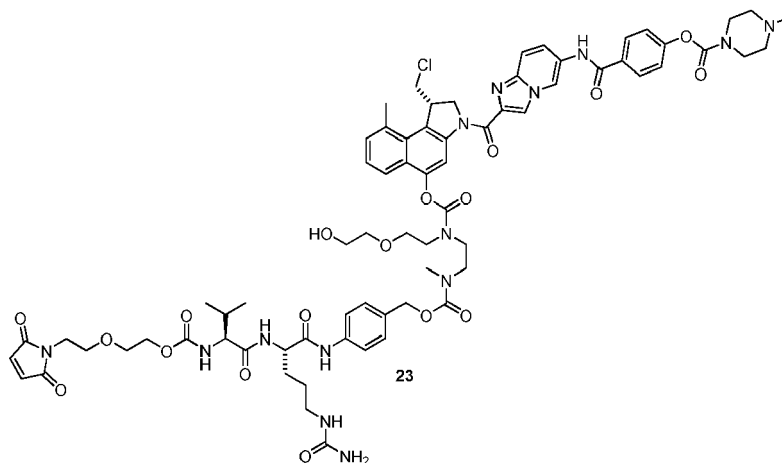
Compuesto 18c, R = (CH₂)₃NHC(O)NH₂: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 0,79$ (6H, dd, Val), 1,25 - 1,8 (6H, m, 3 x CH₂), 1,91 (1H, m, β HVal), 2,80 (3H, s, MeAr), 2,90 (3H, s, MeN), 2,95 (4H, m, 2 x CH₂N), 4,34 (1H, m, CH), 4,45 (1H, m, CH), 4,61 (1H, m, H-2), 4,94 (1H, m, H-2), 4,99 (2H, s, CH₂O), 5,32 (4H, s a, 2 x NH₂), 5,91 (1H, s a, NH), 5,98 (1H, s a, NH), 6,86 (2H, d, H-3''), 6,95 (2H, s, CH=CH), 7,2 - 7,7 (10H, m, ArH + 2 x NH), 7,86 (2H, d, H-2''), 8,02 (1H, d, H-6), 8,28 (1H, s a, H-4), 8,82 (1H, s, H-3'), 9,54 (1H, s, H-4'), 9,95 (1H, s, NH), 10,15 (1H, s, NH), 10,27 (1H, s, OH); EM (ESI): $m/z = 1431,5$ ($M + H^+$).

Compuesto 18d, R = (CH₂)₃NHC(O)NH₂: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 0,83$ (6H, dd, Val), 1,25 - 1,8 (6H, m, 3 x CH₂), 1,95 (1H, m, β HVal), 2,85 (3H, s, MeAr), 2,94 (3H, s, MeN), 2,95 (4H, m, 2 x CH₂N), 4,20 (2H, d, NCH₂), 4,39 (1H, m, CH), 4,48 (3H, m, CH + CH₂), 4,67 (1H, m, H-2), 5,02 (3H, m, H-2, CH₂O), 5,41 (4H, s a, 2 x NH₂), 5,97 (2H, s a, 2 x NH), 6,91 (2H, d, H-3''), 6,99 (2H, s, CH=CH), 7,2 - 7,7 (11H, m, ArH + 3 x NH), 7,76 (1H, s, triazol-H), 7,88 (2H, d, H-2''), 8,08 (1H, d, H-6), 8,33 (1H, s a, H-4), 8,84 (1H, s, H-3'), 9,57 (1H, s, H-4'), 10,00 (1H, s, NH), 10,20 (1H, s, NH), 10,30 (1H, s, OH); EM (ESI): $m/z = 1556,2$ ($M + H^+$).

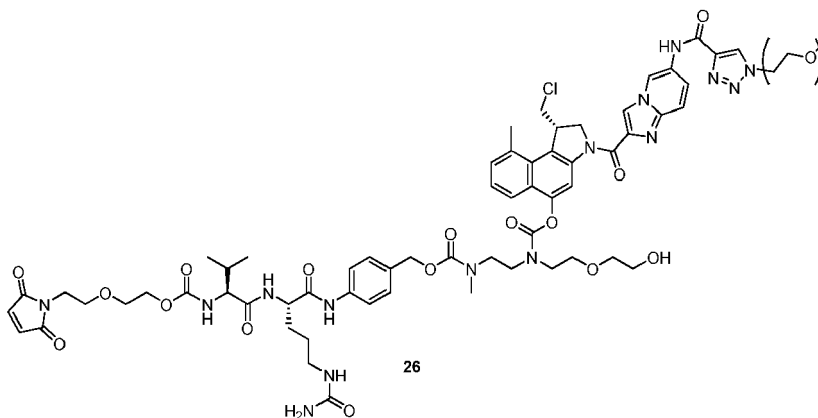
Compuesto 18b, R = (CH₂CH₂O)₃H: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO): $\delta = 0,83$ (6H, dd, $J = 6,5$ Hz, $J = 15,8$ Hz, Val), 1,3 - 1,7 (4H, m), 1,96 (1H, m), 2,90 (8H, m), 3,00 - 4,00 (6H, m), 4,44 (2H, m), 4,67 (1H, m), 6,69 (1H, s), 5,04 (2H, d, $J = 9,8$ Hz), 5,40 (1H, s a), 5,97 (1H, s, NH), 6,9 (2H, d, $J = 8,3$ Hz), 7,00 (2H, s, CH=CH), 7,13 - 7,61 (7H, m), 7,75 (3H, m), 7,91 (2H, d, $J = 8,3$ Hz), 8,06 (1H, m), 8,33 (1H, s), 8,83 (1H, s), 9,56 (1H, s), 9,97 (1H, s), 10,20 (1H, s), 10,30 (1H, s); EM (ESI): $m/z = 1376$ ($M + H^+$).



Compuesto 22: el compuesto **22** se preparó de forma análoga partiendo del fármaco activado correspondiente. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 0,84 (6H, dd, J = 6,4 Hz, 2 x CH_3 Val), 1,30 - 1,47 (2H, m, CH_2 Cit), 1,52 - 1,71 (2H, m, CH_2 Cit), 1,91 - 1,99 (1H, m, β -H Val), 2,82 - 3,03 (8H, m, 2 x CH_3 + NCH_2), 4,18 - 4,22 (2H, m, CH_2O), 4,35 - 4,43 (1H, m, H-1), 4,46 - 4,52 (1H, m, α -H), 4,63 - 4,71 (1H, m, H-2), 4,94 - 5,08 (3H, m, CH_2 PABA + H-2), 5,97 (1H, s a, NH), 7,01 (2H, s, $\text{CH}=\text{CH}$), 7,09 - 7,20 (4H, m, H-3" + 2 ArH), 7,22 - 7,58 (5H, m, 3 ArH + 2 x NH), 7,69 - 7,82 (3H, m, ArH), 8,00 (2H, d, J = 8,8 Hz, H-2"), 8,03 - 8,08 (1H, s a, H-6), 8,28 - 8,37 (1H, m, H-4), 8,83 (1H, s a, H-3'), 9,57 (1H, s a, H-4'), 9,93 - 10,02 (1H, m, NH), 10,39 (1H, s, NH); EM (ESI): m/z = 1509,6 ($\text{M} + \text{H}^+$).

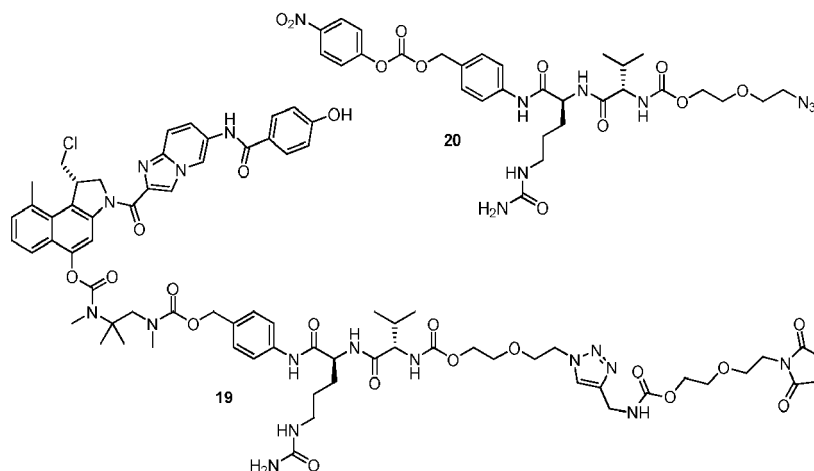


Compuesto 23: el compuesto **23** se preparó de forma análoga partiendo del fármaco activado correspondiente. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO): δ = 0,80 (6H, dd, J = 6,5 Hz, J = 15,9 Hz, 2 x CH_3), 1,3 - 1,7 (4H, m), 1,93 (1H, m), 2,9 (11H, m), 3,00 - 4,50 (10H, m), 5,03 (3H, m), 5,40 (1H, s a), 5,94 (1H, s, NH), 6,98 (2H, s, $\text{CH}=\text{CH}$), 7,10 - 7,85 (11H, m), 8,03 (3H, m), 8,32 (1H, m), 8,76 (1H, s), 9,50 (1H, s), 9,78 (1H, s), 9,98 (1H, s a), 10,51 (1H, s a); EM (ESI): m/z = 1457 ($\text{M} + \text{H}^+$).

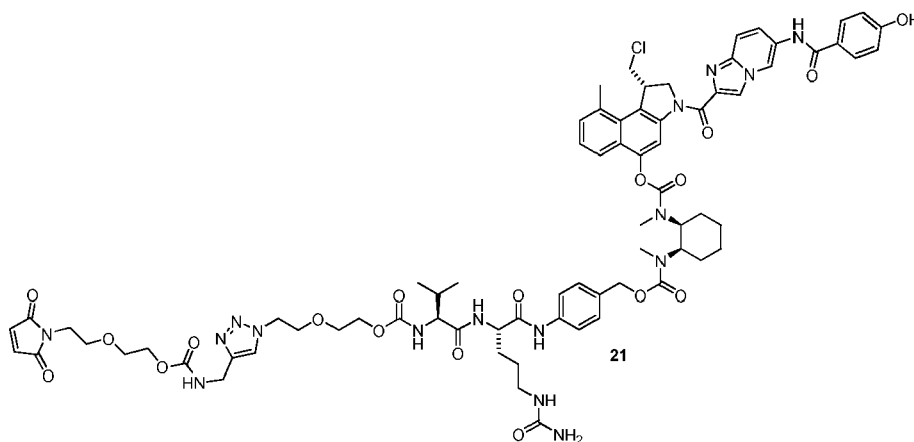


Compuesto 26: RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 0,83 (6H, dd, J = 6,8 Hz, 2 x CH_3), 1,30 - 1,47 (2H, m, CH_2 Cit), 1,54 - 1,71 (2H, m, CH_2 Cit), 1,90 - 2,00 (1H, m, β -H Val), 2,82 - 3,03 (10H, m, ArH3 + NCH_3 + 2 x NCH_2), 3,19 (3H, s, OCH_3), 3,97 - 4,03 (2H, m, NCH_2 -triazol), 4,37 - 4,52 (2H, m, H-1 + α -H), 4,64 - 4,69 (3H, m, H-2 + CH_2), 4,94 - 5,13 (3H, m, CH_2 PABA + H-2), 5,96 (1H, s a, NH), 7,01 (2H, s, $\text{CH}=\text{CH}$), 7,14 - 7,58 (7H, m, 5 ArH + 3 x NH), 7,72 - 7,84 (3H, m, ArH), 8,04 - 8,07 (1H, m, H-6), 8,29 - 8,38 (H, m, H-4), 8,74 - 8,80 (2H, s, H 3' + triazol-H), 9,53 (1H, s, H-4'), 10,00 (1H, s, NH), 10,85 (1H, s, NH); EM (ESI): m/z = 1496,9 ($\text{M} + \text{H}^+$).

Ejemplo 11: Síntesis del compuesto 19



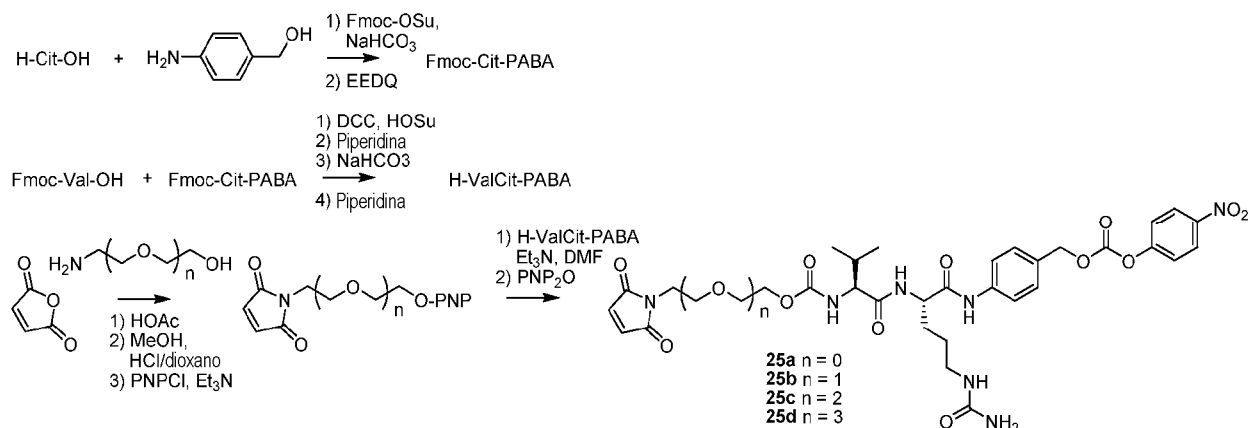
- 5 Se disolvieron 0,21 g (0,85 mmol) de *N*-Boc-*N*-metil-*N*-metil-1,2-diamino-1-metilpropano, 0,45 g (0,64 mmol) de **20** y 8 mg de HOBt en 5 ml de DMF. Se añadieron 0,75 ml DiPEA y la mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche. La mezcla se concentró al vacío y se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / MeOH, de 1 : 0 a 20 : 1) para dar 0,50 g (100 %) de compuesto intermedio. Este material se suspendió en 4 ml de CHCl₃ y se enfrió en hielo. Se añadieron 2 ml de TFA y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a 0 °C y después se concentró al vacío.
- 10 A este material en 6 ml de DMF, se añadieron 0,11 g (0,15 mmol) de fármaco protegido con MOM activado, 2 mg de HOBt y 0,2 ml (1,2 mmol) de Et₃N y la mezcla se calentó a 50 °C durante 3 h. La mezcla se concentró al vacío y se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / MeOH, de 1 : 0 a 75 : 15) para dar 0,14 g (72 %) de material. Esto se suspendió en 6 ml de CHCl₃ enfriado en hielo. Se añadieron 0,5 ml de TFA y la mezcla se agitó durante 2 h y después se concentró al vacío. Este material y 0,045 g (0,17 mmol) de conector de maleimida-alquino se disolvieron en 2 ml de DMF. Se añadieron 0,6 ml de una solución de 0,025 g (0,1 mmol) de CuSO₄, 0,022 g (0,11 mmol) de 1,10-fenantrolina y 0,022 g (0,11 mmol) de ascorbato sódico en 1 ml de acetonitrilo / agua (1 : 2) a la mezcla de reacción y la mezcla se agitó durante 2,5 h. La mezcla se acidificó con ácido acético y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna (SiO₂, DCM / MeOH, de 1 : 0 a 8 : 2) para dar 0,026 g (16 %) de material que se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa en fase inversa y se liofilizó para dar 0,015 g de **19**. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,79 (6H, dd, Val), 1,34 (3H, s a, gem-Me₂), 1,38 (3H, s a, gem-Me₂), 1,3 - 1,7 (4H, m, CH₂CH₂Cit), 1,90 (1H, m, βHVal), 2,80 (3H, s, MeAr), 2,91 (3H, s, MeN). 3,11 (3H, s a, MeN), 3,95 (2H, t, CH₂O), 3,98 (2H, t, CH₂O), 4,15 (2H, d, NCH₂-triazol), 4,30 (1H, m, H-1), 4,43 (2H, t, CH₂-triazol), 4,61 (1H, m, H-2), 5,00 (2H, s, CH₂O), 5,04 (1H, m, H-2), 5,37 (2H, s a, NH₂), 5,92 (1H, s a, NH), 6,85 (2H, d, H-3''), 6,94 (2H, s, CH=CH), 7,2 - 7,7 (11H, m, ArH + 3 x NH), 7,81 (1H, s, triazol-H), 7,84 (2H, d, H-2''), 8,03 (1H, d, H-6), 8,27 (H, s a, H-4), 8,73 (1H, s, H-3'), 9,48 (1H, s, H-4'), 9,98 (1H, s, NH), 10,15 (1H, s, NH), 10,21 (1H, s, OH); EM (ESI): *m/z* = 1497,6 (M + H⁺).
- 20
- 25



- 30 **Compuesto 21:** El mismo procedimiento se siguió para el compuesto **19**. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,83 (6H, dd, Val), 1,3 - 2,1 (3H m, ciclohexilo + CH₂CH₂Cit + βHVal), 2,84 (3H, s, MeAr), 3,01 (8H, m, 2 x MeNCH), 3,98 (4H, m, 2 x CH₂O), 4,20 (2H, d, NCH₂-triazol), 4,36 (1H, m, H-1), 4,48 (2H, t, CH₂-triazol), 4,65 (1H, m, H-2), 5,04 (1H, m, H-2), 5,06 (2H, s, CH₂O), 5,39 (2H, s a, NH₂), 5,96 (1H, s a, NH), 6,90 (2H, d, H-3''), 6,99 (2H, s, CH=CH), 7,2 - 7,7 (11H, m, ArH + 3 x NH), 7,87 (1H, s, triazol-H), 7,91 (2H, d, H-2''), 8,06 (1H, d, H-6), 8,36 (H, s a, H-4), 8,80 (1H, s, H-3'), 9,55 (1H, s, H-4'), 9,97 (1H, s, NH), 10,20 (1H, s, NH), 10,27 (1H, s, OH);
- 35

EM (ESI): $m/z = 1523,6 (M + H^+)$.

Ejemplo 12: Síntesis de conectores de maleimida-péptido



5

10

15

20

25

Compuesto 25a: RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,83 (6H, dd, *J* = 6,9 Hz, 2 x CH₃ Val), 1,30 - 1,51 (2H, m, CH₂ Cit), 1,53 - 1,76 (2H, m, CH₂ Cit), 1,90 - 2,01 (1H, m, β-H Val), 2,89 - 3,08 (2H, m, CH₂ Cit), 3,62 (2H, t, *J* = 5,4 Hz, CH₂), 3,83 - 3,88 (1H, m, α-H), 3,97 - 4,05 (1H, m), 4,16 - 4,24 (1H, m), 4,35 - 4,43 (1H, m, α-H), 5,25 (2H, s, CH₂), 5,41 (2H, s, NH₂), 5,95 - 5,99 (1H, m, NH), 7,02 (2H, s, HC=CH), 7,11 - 7,14 (1H, m, NH), 7,40 (2H, d, *J* = 8,7 Hz, Ar-H), 7,54 - 7,59 (2H, m, Ar-H), 7,64 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, Ar-H), 8,03 - 8,06 (1H, m, NH), 8,29 - 8,33 (2H, m, Ar-H), 10,08 (1H, s, NH); EM (ESI): $m/z = 712,5 (M + H^+)$.

Compuesto 25b: RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,85 (6H, dd, *J* = 6,9 Hz, 2 x CH₃ Val), 1,32 - 1,50 (2H, m, CH₂ Cit), 1,54 - 1,76 (2H, m, CH₂ Cit), 1,91 - 2,02 (1H, m, β-H Val), 2,90 - 3,09 (2H, m, CH₂), 3,49 - 3,60 (6H, m, CH₂), 3,87 - 3,92 (1H, m, α-H), 3,97 - 4,06 (2H, m, CH₂), 4,37 - 4,46 (1H, m, α-H), 5,24 (2H, s, CH₂), 5,41 (2H, s, NH₂), 5,95 - 6,00 (1H, m, NH), 7,01 (2H, s, HC=CH), 7,15 - 7,18 (1H, m, NH), 7,41 (2H, d, *J* = 8,7 Hz, Ar-H), 7,54 - 7,59 (2H, m, Ar-H), 7,64 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, Ar-H), 8,07 - 8,10 (1H, m, NH), 8,29 - 8,33 (2H, m, Ar-H), 10,11 (1H, s, NH); EM (ESI): $m/z = 756,5 (M + H^+)$.

Compuesto 25c: RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃ / CD₃OD) δ = 0,98 (6H, dd, *J* = 6,9 Hz, *J* = 14,4 Hz, CH₃), 1,59 (2H, m), 1,76 (1H, m), 1,94 (1H, m), 2,13 (1H, m), 3,08 - 3,28 (2H, m), 3,54 - 3,76 (1 OH, m, CH₂O), 4,00 (1H, d, *J* = 6,3 Hz), 4,20 (2H, m), 4,57 (1H, m), 5,27 (2H, s, OCH₂Ar), 6,78 (2H, s, CH=CH), 7,42 (4H, m, ArH), 7,65 (2H, d, *J* = 8,5 Hz), 8,30 (2H, d, *J* = 9,2 Hz).

Compuesto 25d: RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃ / CD₃OD) δ = 0,98 (6H, dd, *J* = 6,9 Hz, *J* = 14,4 Hz, CH₃), 1,59 (2H, m), 1,76 (1H, m), 1,94 (1H, m), 2,13 (1H, m), 3,08 - 3,28 (2H, m), 3,57 - 3,76 (14 H, m, CH₂O), 4,00 (1H, m), 4,22 (2H, m), 4,57 (1H, m), 5,26 (2H, s, OCH₂Ar), 6,78 (2H, s, CH=CH), 7,42 (4H, m, ArH), 7,66 (2H, d, *J* = 8,3 Hz), 8,29 (2H, d, *J* = 9,3 Hz).

Ejemplo 13: Determinación de la tasa de ciclado de compuestos de espaciador - duocarmicina de ciclado

Se prepararon compuestos de espaciador - duocarmicina de ciclado en los que el espaciador de ciclado se acopla al grupo hidroxilo del agente alquilador de ADN a partir de los correspondientes derivados protegidos con Boc, tales como y similares al compuesto **14a** por tratamiento con TFA en DCM durante 10 minutos, seguido de concentración. Para la medición de la tasa de ciclado a pH 7,4, el compuesto de espaciador - duocarmicina de ciclado se disolvió en una mezcla de tampón de fosfato 100 mM a pH 7,4 y acetonitrilo (60 / 40) a 25 °C y la desaparición del material de partida / aparición de fármaco libre se siguió en el tiempo por LC / EM (inyección directa de mezcla de reacción). Para la medición de la tasa de ciclado a pH 5, el compuesto de espaciador - duocarmicina de ciclado se disolvió en una mezcla de tampón de acetato sódico 100 mM a pH 5 y acetonitrilo (60 / 40) a 37 °C y la desaparición del material de partida / aparición de fármaco libre se siguió en el tiempo por LC / EM (inyección directa de mezcla de reacción). Las tasas de ciclado se calcularon a partir de los datos de LC / EM. La Figura 2 muestra algunos datos representativos. Todos los compuestos de espaciador - duocarmicina de ciclado representados en la Figura 2 contienen el mismo compuesto de duocarmicina. CM - Fármaco 1 contiene un espaciador de ciclado usado en la técnica anterior. Todos los otros compuestos de espaciador - duocarmicina de ciclado contienen espaciadores de ciclado seleccionados de entre los descritos en los Ejemplos 1 - 9. Los resultados presentados en la Figura 2 indican que los espaciadores de ciclado de la presente invención se pueden usar para modular la tasa de ciclado.

45

Ejemplo 14: Estabilidad en plasma humano de conjugados de conector - agente conjugados con HSA

El conjugado de conector - agente que contiene un grupo maleimida se disolvió en DMSO y se añadió al plasma humano estabilizado con heparina sódica a 37 °C de modo que la concentración de conjugado de conector - agente fuera 7,5 mM y el porcentaje de DMSO fuera de un 2,5 %. El conjugado de conector - agente se hace reaccionar *in situ* con albúmina de suero humana en 5 minutos, tal como se indica por LC / EM. La formación de fármaco libre se

50

siguió en el tiempo por LC / EM. Las muestras de plasma se trataron con acetonitrilo y se centrifugaron antes del análisis. La Figura 3 presenta los datos de estabilidad del plasma humano para una selección representativa de conjugados de conector - agente de la presente invención. Todos los conjugados de conector - agente contienen el mismo análogo de duocarmicina y los conectores se acoplan al resto alquilador de ADN, con la excepción de LD13, en el que el conector está unido al resto de unión al ADN. LD5, LD12 y LD13 contienen conectores que se han usado en la técnica anterior y que contienen un conector relativamente largo al igual que en el compuesto **18d**. LD10, LD25, LD26, LD28 y LD29 contienen conectores relativamente cortos similares al igual que en el compuesto **18b** y tienen diferentes espaciadores de ciclado. LD10 y LD12 solo se diferencian en el resto **L**. Los resultados en la Figura 3 demuestran que los conjugados con un conector relativamente corto tienen una estabilidad elevada en plasma humano, que por lo general supera a la de los conjugados correspondientes con un conector relativamente largo. Además, se demuestra que la estabilidad en está influida por el espaciador de ciclado.

Ejemplo 15: Estudio de la eficacia de una sola dosis en ratones *nu / nu* hembra que portan un xenoinjerto de N87

Preparación de los ADC: El Trastuzumab (50 mg, 10 mg / ml) se redujo usando 1,1 equivalentes molares de TCEP por incubación a 20 °C durante 90 minutos para generar 2 tioles libres por mAb. La proporción de incorporación se confirmó a través del ensayo de Ellman. El conjugado de conector - agente disuelto en DMSO se añadió a la solución de anticuerpo reducido gota a gota a una proporción de 1,3 equivalentes molares por tiol libre de modo que la concentración final de DMSO fuera de un 10 %. Después de mezclar durante un periodo adicional de 50 minutos a 20 °C, la reacción se interrumpió mediante la adición de un equivalente molar de N-acetilcisteína por conjugado de conector - agente. Después de la interrupción, el conjugado se desaló en tampón de PBS a pH 7,4 y a continuación se purificó usando una columna de r-Proteína A de 5 ml, con el producto recogido de esta columna siendo desalado en tampón de presentación (mismo tampón que en el Herceptin disponible en el mercado). El producto se filtró a 0,2 µm y se caracterizó para agregado (SEC), proporción de fármaco con respecto a anticuerpo (UV, 280 nm con respecto a 335 nm), y conjugado de conector - agente libre (LC / EM). Los ADC usados en el estudio de eficacia que se describen a continuación contienen una selección representativa de conjugados de conector - agente de la presente invención y tienen una proporción media de fármaco con respecto a anticuerpo de aproximadamente 2.

Estudio de eficacia: A los ratones *nu / nu* hembra de 7 - 8 semanas de edad se les implantaron fragmentos de tumor N87 por vía subcutánea. El tratamiento comenzó 19 días después del implante cuando la masa tumoral media calculada para todos los grupos era de 130 mg. Los grupos de ADC contenían 6 animales por grupo; los grupos de control contenían 4 animales por grupo. Los animales se trataron con una sola dosis de 12 mg de ADC / kg (0,2 ml / 20 g para vehículo; 12 mg de mAb / kg para trastuzumab) el día 0. Los animales se sacrificaron cuando el tumor alcanzó una masa de 1.000 mg. La Figura 4A muestra la carga tumoral media para cada grupo. Una línea se detiene después de que un primer animal en el grupo correspondiente se haya sacrificado debido a la carga tumoral. La Figura B muestra el cambio de peso corporal medio para cada grupo. La Figura C muestra el porcentaje de supervivencia en cada grupo. ADC5 se basa en un conector - agente que contiene un conector relativamente largo al igual que en **18d**, mientras que los ADC basados en los otros conector - agentes contienen un conector relativamente corto al igual que en **18b**. ADC30 contiene un fármaco diferente al de los otros ADC, pero tiene el mismo conector que ADC28. ADC5 y ADC28 solamente se diferencian en el resto **L**. Los resultados en la Figura 4 demuestran que los conjugados que contienen un conector relativamente corto tienen una eficacia mejor que el conjugado correspondiente con un conector relativamente largo. Se demostró que tanto la naturaleza del conector como la naturaleza del fármaco también tienen un efecto en la eficacia.

Ejemplo 16: Escisión de conjugados de conector - agente inactivados por catepsina B

El conjugado de conector - agente se disolvió en acetonitrilo / agua y se añadieron 5 equivalentes de N-acetilcisteína. La mezcla de reacción se incubó durante 1 h a TA y posteriormente se liofilizó para dar el conjugado de conector agente inactivado. El conjugado de conector - agente inactivado disuelto en DMSO se añadió a una solución de 5 µg / ml de catepsina B (> 200 U / mg) en tampón de acetato sódico a pH 5 a 37 °C. La concentración final del conjugado de conector - agente inactivado era 130 µM. La desaparición del material de partida se controló en el tiempo por LC / EM. La Figura 5 presenta los datos de escisión de catepsina B para una selección representativa de conjugados de conector - agente inactivado de la presente invención. LD5, LD12 y LD13 se basan en conector agentes de la técnica anterior y contienen conectores que son relativamente largos al igual que en **18d**, mientras que los conectores en los otros conjugados de conector - agente inactivados son al igual que en **18b**. Los otros conjugados de conector - agente inactivados mencionados se diferencian principalmente en el espaciador de ciclado. Los resultados de la Figura 5 demuestran que todos los conjugados de conector - agente inactivados se descienden de forma eficaz con catepsina B.

Referencias

- ⁱ Boger, D. L.; Johnson, D. S.; Wrasidlo, W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1994, 4, 631 - 636.
- ⁱⁱ McGovern, J. P., Clarke, G. L., Pratt, E. A., DeKoning, T. F. *J. Antibiot.* 1984, 37, 63 - 70.
- ⁱⁱⁱ Carter, P.; Smith, L.; Ryan, M. *Endocr.-Relat. Cancer* 2004, 11, 659 - 687.
- ^{iv} Bagshawe, K. D *Drug Dev. Res.* 1995, 34, 220 - 230.
- ^v Melton, R.; Connors, T.; Knox, R. J., S. T. P. *Pharma Sciences*, 1999, 13 - 33.

^{vi} Huber, B. E.; Richards, C. A.; Krenitsky, T. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU.*, 1991, 88, 8039 - 8043.

^{vii} Bagshawe, K. D.; Springer, C. J.; Searle, F.; Antoniow, P.; Sharma, S. K.; Melton, R. G.; Sherwood, R. F. *Br. J. Cancer*, 1988, 58, 700 - 703.

^{viii} Duncan, R. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2003, 2, 347 - 360.

5

(a) Franke, A. E.; Sievers, E. L.; y Scheinberg, D. A. *Cancer Biother. Radiopharm.* 2000, 15, 459 - 476.

(b) Murray, J. L. *Semin. Oncol.* 2000, 27, 2564 - 2570. (c) Breitling, F., y Dubel, S., *Recombinant Antibodies*, John Wiley and Sons, Nueva York, 1998.

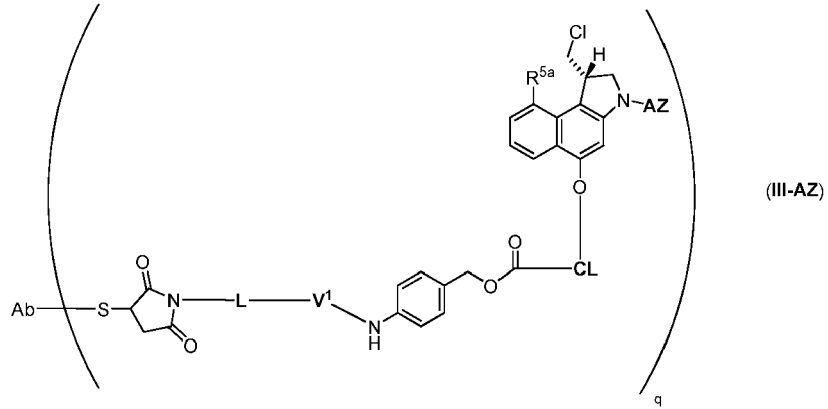
10

^x *Remington's Pharmaceutical Science* (15^a ed., Mack Publishing, Easton, PA, 1980)

^{xi} Pettit, G. R.; Burkett, D. D.; Barkóczy, J.; Breneman, G. L.; Pettit, W. E. *Synthesis* 1996, 719 - 725.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto, que es

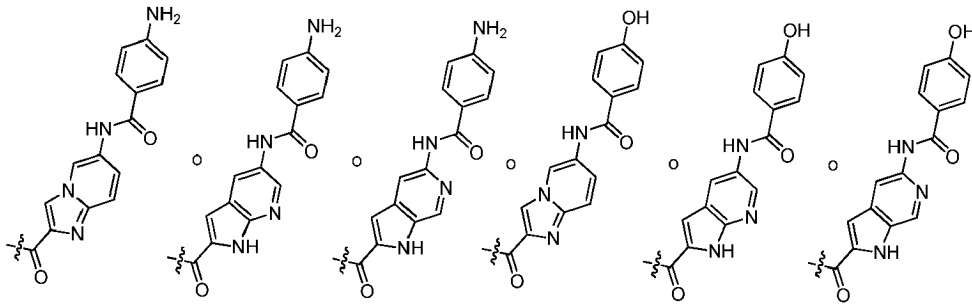


5

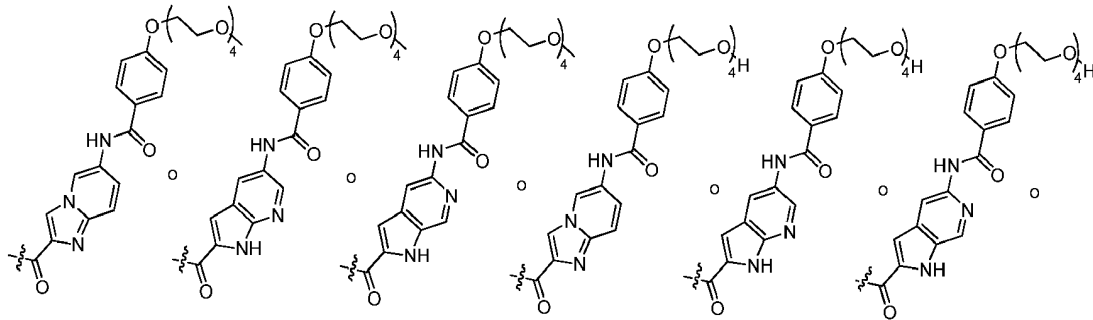
o un isómero, o una mezcla de isómeros, en donde R^{5a} se selecciona de entre H, metilo y metoxi,

AZ es

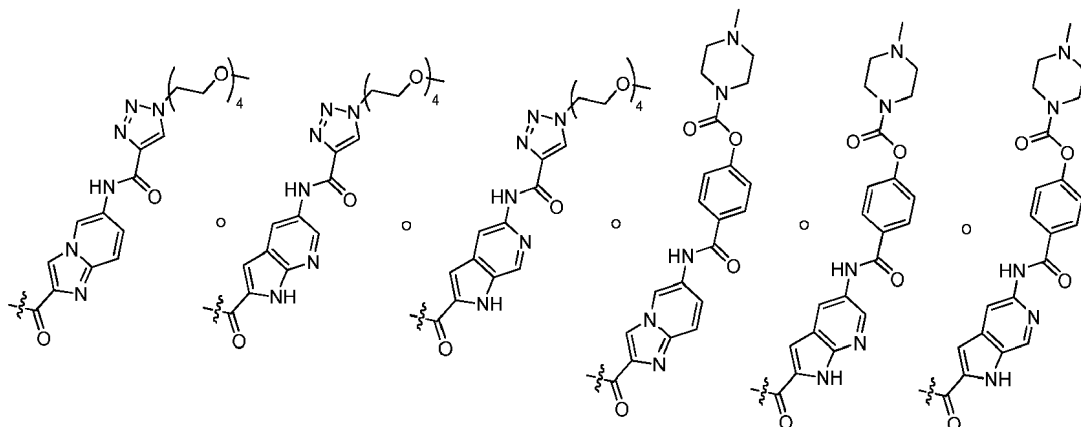
10



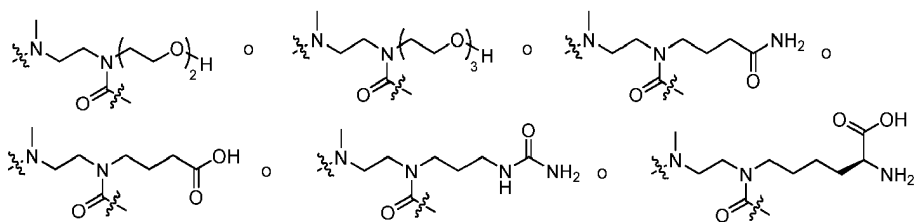
o



15

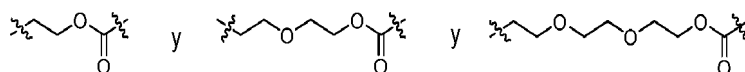


V¹ se selecciona de entre valilcitrulina, valillisina, fenilalanilisina, alanilfenilalanilisina y D-alanilfenilalanilisina, CL es



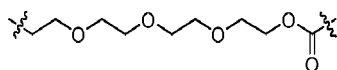
5

L se selecciona de entre



10

y



15

q varía de 1 a 4, y Ab es un anticuerpo o un fragmento o un derivado del mismo.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que Ab es un anticuerpo seleccionado de entre un anticuerpo anti-CD19, un anticuerpo anti-CD22, un anticuerpo anti-CD30, un anticuerpo anti-CD33, un anticuerpo anti-CD56, un anticuerpo anti-CD70, un anticuerpo anti-CD74, un anticuerpo anti-CD138, un anticuerpo anti-CLL-1, un anticuerpo anti-5T4, un anticuerpo anti-CD303, un anticuerpo anti-Tag 72, un anticuerpo de carbohidrato similar a anti-Lewis A, un anticuerpo anti-EphB3, un anticuerpo anti-HMW-MAA, un anticuerpo anti-CD38, un anticuerpo anti-Cripto, un anticuerpo anti-EphA2, un anticuerpo anti-GPNMB, un anticuerpo anti-integrina, un anticuerpo anti-MN, un anticuerpo anti-Her2 y un anticuerpo anti-PSMA, o de entre un fragmento funcional que se une a epítopo o un derivado de los mismos.

3. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en el que Ab es un anticuerpo anti-Her2 o un anticuerpo anti-PSMA, o un fragmento funcional que se une a epítopo o un derivado de los mismos.

4. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que Ab es el anticuerpo anti-Her2 trastuzumab.

5. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo farmacéuticamente aceptable, preferentemente para su administración parenteral.

6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 para su uso como medicamento, en particular para el tratamiento o la prevención de un tumor en un mamífero.

7. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 para su uso en terapia de combinación con otros uno o más agentes terapéuticos.

Fig. 1

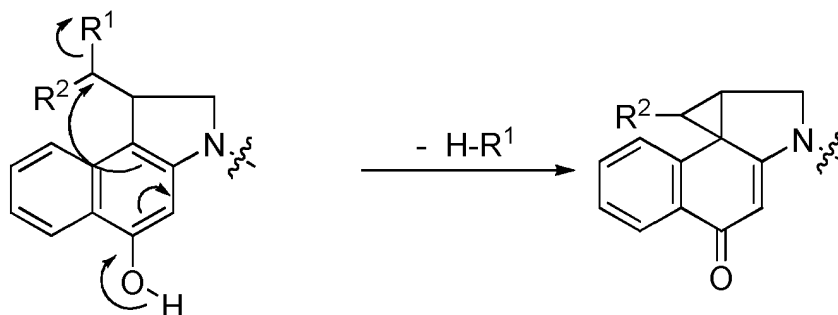


Fig. 2

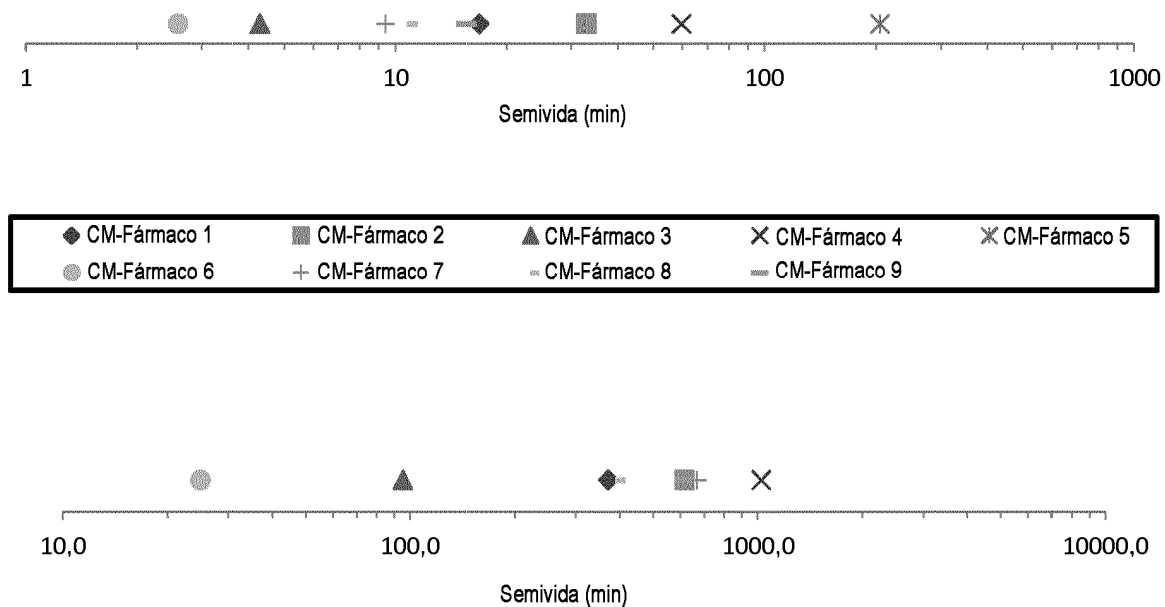


Fig. 3

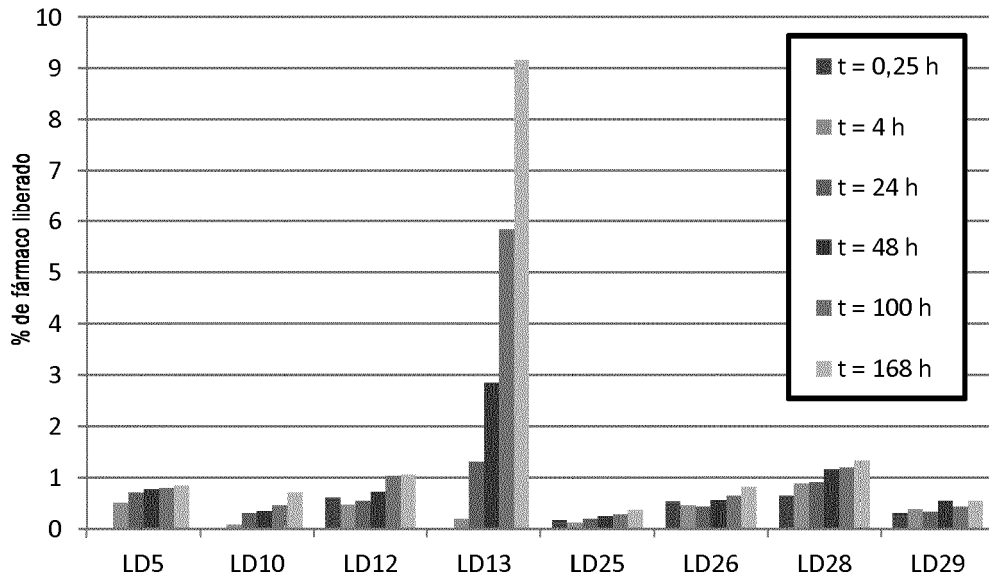


Fig. 4a

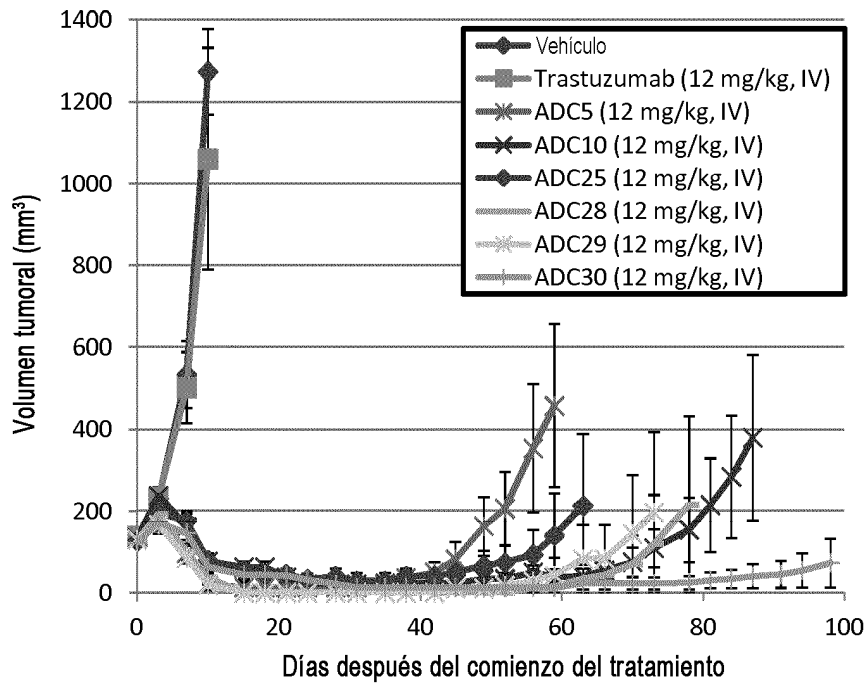


Fig. 4b

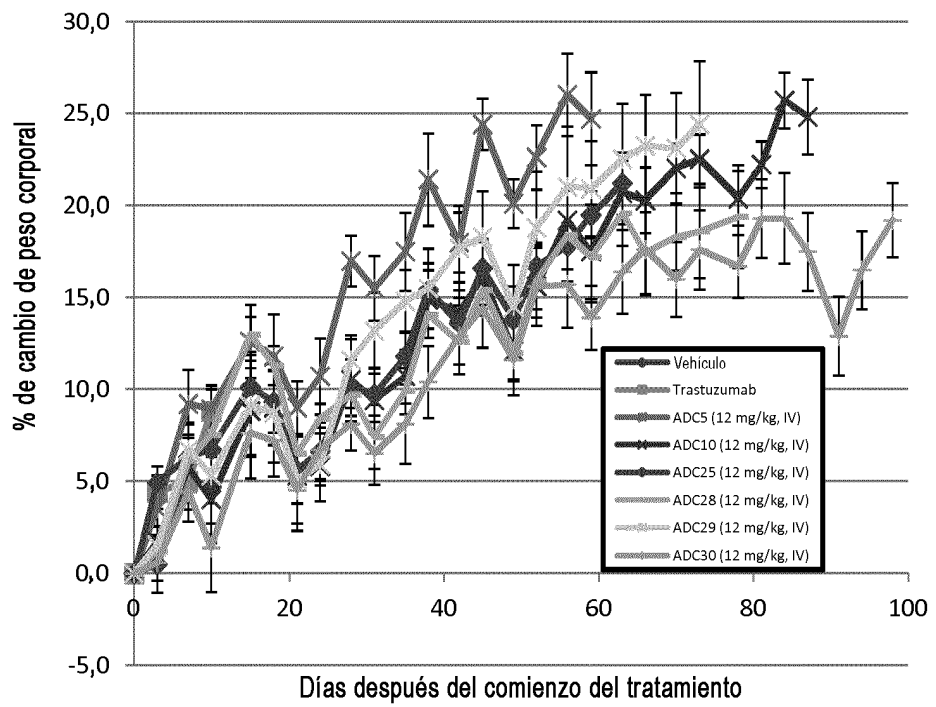


Fig. 4c

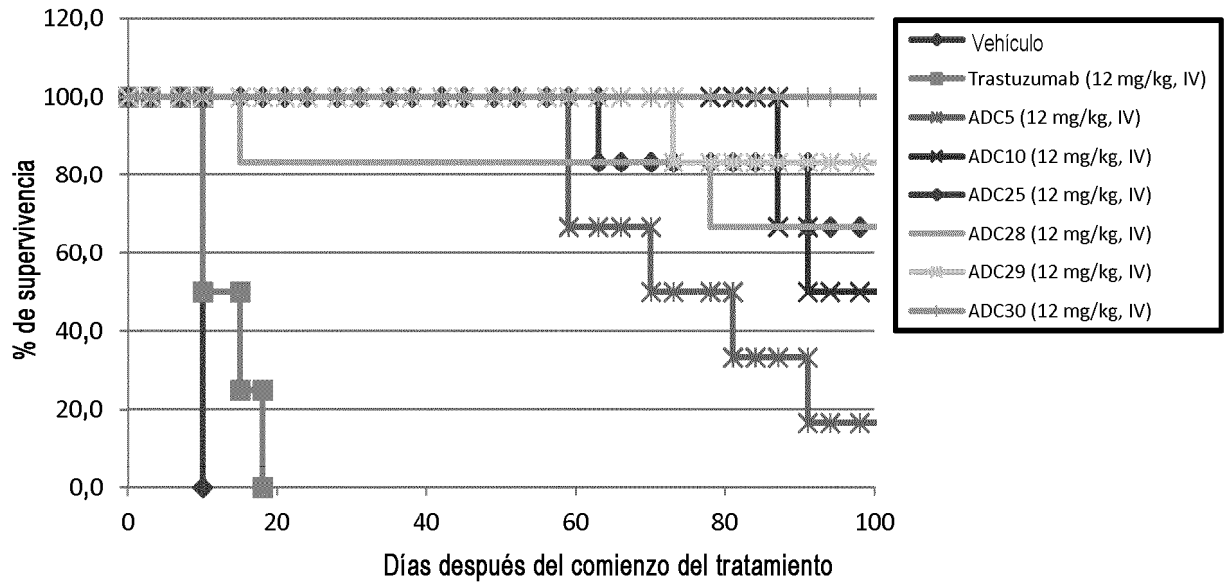


Fig. 5

