

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 439**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/68** (2007.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.03.2014 PCT/EP2014/054958**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14140174**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2014 E 14711942 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018 EP 2968585**

54 Título: **Pirrolobenzodiazepinas y conjugados de las mismas**

30 Prioridad:

**13.03.2013 US 201361778752 P**

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

**25.10.2018**

73 Titular/es:

**MEDIMMUNE LIMITED (100.0%)  
Milstein Building Granta Park  
Cambridge Cambridgeshire CB21 6GH, GB**

72 Inventor/es:

**HOWARD, PHILIP WILSON**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 687 439 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

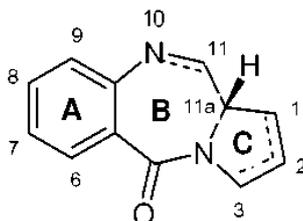
Pirrolobenzodiazepinas y conjugados de las mismas

- 5 La presente invención se refiere a pirrolobenzodiazepinas (PBD), en particular a pirrolobenzodiazepinas que tienen un grupo enlazador conectado a un agente aglutinante de células tal como se define en las reivindicaciones.

## Antecedentes de la invención

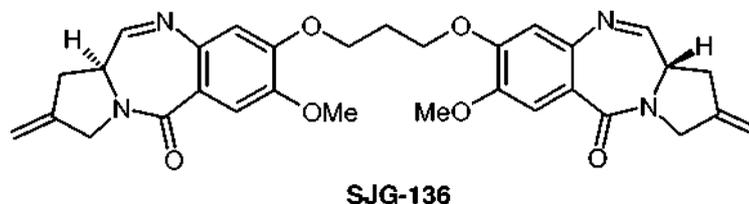
## 10 Pirrolobenzodiazepinas

- Algunas pirrolobenzodiazepinas (PBD) tienen la capacidad de reconocer y unirse a secuencias específicas de ADN; la secuencia preferente es PuGpu. El primer antibiótico antitumor de PBD, antramycin, se descubrió en 1965 (Leimgruber col., *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 5793-5795 (1965); Leimgruber y col., *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 5791-5793 (1965)). Desde entonces, se han presentado un número de PBD de origen natural, y se han desarrollado más de 10 vías de síntesis para diversos análogos (Thurston, y col., *Chem.* 1994, 433-465 (1994); Antonow, D. y Thurston, DE, *Chem. Rev.* 2011 111 (4), 2815-2864). Los miembros de la familia incluyen abeimicina (Hochlowski, ycol., *J. Antibiotics*, 40, 145-148 (1987)), chicamicina (Konishi y col., *J. Antibiotics*, 37, 200-206 (1984)), DC-81 (patente japonesa 58-180 487; Thurston, y col., *Chem. Brit.*, 26, 767-772 (1990); Bose, y col., *tetrahedron*, 48, 751-758 (1992)), mazetramicina (Kuminoto, ycol., *J. Antibiotics*, 33, 665-667 (1980)), neotramicinas A y B (Takeuchi y col., *J. Antibiotics*, 29, 93-96 (1976)), porotramicina (Tsunakawa, y col., *J. Antibiotics*, 41, 1366-1373 (1988)), protracarcina (Shimizu, ycol., *J. Antibiotics*, 29, 2492-2503 (1982); Langley y Thurston, *J. Org. Chem.*, 52, 91-97 (1987)), sibanomicina (DC-102) (Hara, ycol., *J. Antibiotics*, 41, 702-704 (1988); Itoh y col., *J. Antibiotics*, 41, 1281-1284 (1988)), sibiromicina (Leber, y col., *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 2992-2993 (1988)) y tomamicina (Arima, ycol., *J. Antibiotics*, 25, 437-444 (1972)). Las PBD son de la estructura general:

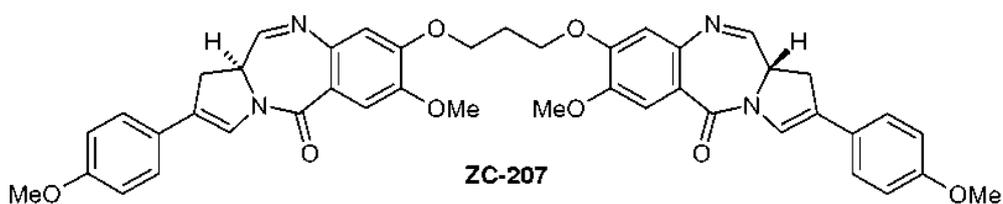


- 30 Se diferencian en el número, tipo y posición de los sustituyentes, tanto en sus anillos A aromáticos como en los anillos C de pirrolo, y en el grado de saturación del anillo C. En el anillo B hay una imina (N=C), una carbinolamina (NH-CH(OH)), o un metil éter de carbinolamina (NH-CH(OMe)) en la posición N10-C11 que es el centro electrófilo responsable de alquilar el ADN. Todos los productos naturales conocidos tienen una configuración (S) en la posición quiral C11a que les proporciona un giro a la derecha cuando se ven desde el anillo C hacia el anillo A. Esto les da la forma tridimensional adecuada para la isohelicidad con el surco menor del ADN de la forma B, lo que conduce a un ajuste ceñido en el sitio de unión (Kohn, en *Antibiotics III*. Springer-Verlag, Nueva York, págs. 3-11 (1975); Hurley y Needham-VanDevanter, *Acc. Chem. Res.*, 19, 230-237 (1986)). Su capacidad para formar un aducto en el surco menor, les permite interferir con el procesamiento del ADN, de ahí su uso como agentes antitumorales.

- 40 Un compuesto de pirrolobenzodiazepina particularmente ventajoso se describe por Gregson y col. (*Chem. Commun.* 1999, 797-798) como el compuesto 1, y por Gregson y col. (*J. Med. Chem.* 2001, 44, 1161-1174) como el compuesto 4a. Este compuesto, también conocido como SJG-136, se muestra a continuación:



- 45 Se han descrito otros compuestos de PBD diméricos, tal como los que portan sustituyentes de arilo C2 en el documento WO 2005/085251, siendo un ejemplo:



Se ha demostrado que estos compuestos son agentes citotóxicos altamente útiles.

#### 5 Conjugados de anticuerpo-fármaco

Se ha establecido la terapia con anticuerpos para el tratamiento dirigido de pacientes con cáncer, trastornos inmunológicos y angiogénicos (Cárter, P. (2006) *Nature Reviews Immunology* 6:343-357). El uso de conjugados de anticuerpo-fármaco (ADC), es decir, inmunoconjugados, para la administración local de agentes citotóxicos o citostáticos, es decir, fármacos para destruir o inhibir células tumorales en el tratamiento de cáncer, se dirige a la administración de los restos de fármaco a tumores, y la acumulación intracelular en el mismo, mientras que la administración sistémica de estos agentes de fármaco no conjugados puede producir niveles inaceptables de toxicidad a células normales así como a células tumorales que se desean eliminar (Xie y col. (2006) *Expert. Opin. Biol. Ther.* 6(3):281-291; Kovtun y col. (2006) *Cáncer Res.* 66(6):3214-3121; Law y col. (2006) *Cáncer Res.* 66(4):2328-2337; Wu y col. (2005) *Nature Biotech.* 23(9):1137-1145; Lamed J. (2005) *Current Opin. in Pharmacol.* 5:543-549; Hamann P. (2005) *Expert Opin. Ther. Patents* 15(9): 1087-1103; Payne, G. (2003) *Cáncer Cell* 3:207-212; Trail y col. (2003) *Cáncer Immunol. Immunother.* 52:328-337; Syrigos y Epenetos (1999) *Anticancer Research* 19:605-614).

Así se busca máxima eficacia con la mínima toxicidad. Los esfuerzos para diseñar y refinar ADC se han basado en la selectividad de anticuerpos monoclonales (mAb), además del mecanismo de acción del fármaco, enlace del fármaco, relación de fármaco/anticuerpo (carga) y propiedades de liberación de fármaco (Junutula, ycol., 2008b *Nature Biotech.*, 26(8):925-932; Doman y col. (2009) *Blood* 114(13):2721-2729; documentos US 7521541; US 7723485; WO2009/052249; McDonagh (2006) *Protein Eng. Design & Sel.* 19:(7): 299-307; Doronina y col. (2006) *Bioconj. Chem.* 17:114-124; Erickson y col (2006) *Cancer Res.* 66(8): 1-8; Sanderson y col (2005) *Clin. Cancer Res.* 11:843-852; Jeffrey y col (2005) *J. Med. Chem.* 48:1344-1358; Hamblett y col (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:7063-7070). Los restos de fármaco pueden conferir sus efectos citotóxicos y citostáticos por mecanismos que incluyen unión a tubulina, unión a ADN, o inhibición de topoisomerasa. Algunos fármacos citotóxicos tienden a ser inactivos o menos activos cuando se conjugan con grandes anticuerpos o ligandos de receptores de proteína.

#### 30 PBD en ADC

Se han descrito PDB diméricos como los fármacos en conjugados de fármacos. Por ejemplo, en el documento WO 2011/130598, se han descrito compuestos de PDB que tienen grupos enlazadores para la conexión a un agente aglutinante de células, tal como un anticuerpo, en donde el grupo enlazador se une a una de las posiciones N10 disponibles y se escinden generalmente por acción de una enzima en el grupo enlazador.

Por el contrario, en los documentos WO 2011/130613 y WO 2011/130616, se han descrito compuestos de PDB que tienen grupos enlazadores para la conexión a un agente aglutinante de células, tal como un anticuerpo, en donde el grupo enlazador se une a través de un grupo aromático en una de las posiciones C2 y se escinden generalmente por acción de una enzima en el grupo enlazador. Tales conjugados de anticuerpo y fármaco se describen también en Flyagre, J., y col., *Chem. Biol. Drug Des.* 81: 113-121 (2013), que también describe otros tipos de conjugados de anticuerpo y fármaco.

45 También se describe un enfoque adicional en el documento WO 2007/085930, en donde los dímeros similares a tomamicina tienen un grupo enlazador para la conexión a un agente aglutinante de células, tal como un anticuerpo, en donde el grupo enlazador se une a la atadura entre las unidades de tomamicina y se escinden generalmente por acción de una enzima en el grupo enlazador.

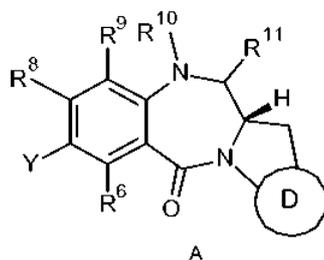
50 Los presentes inventores han desarrollado un enfoque novedoso con respecto a la formación de conjugados de PBD con agentes aglutinantes de células y en particular conjugados de anticuerpo de PBD.

#### Sumario de la invención

55 La invención está definida en las reivindicaciones. Cualquiera materia objeto que quede fuera del ámbito de las reivindicaciones se proporciona para fines informativos únicamente. En un aspecto general de la presente invención proporciona un conjugado que comprende un compuesto de PBD con un enlazador para conectarse a un agente de unión a célula, en el que el enlazador está unido de un modo no escindible en la posición C7 de una de las unidades de PBD tal como se describe en las reivindicaciones. El agente de unión a célula es preferentemente un anticuerpo.

La invención también proporciona el compuesto PBD con la unión de enlace unida e intermediarios para su síntesis.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula A:

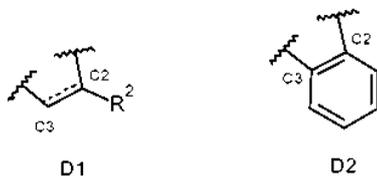


5

y sales y solvatos del mismo, donde:

D representa el grupo D1 o el D2:

10

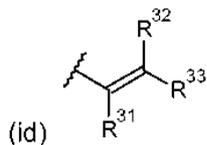


la línea de puntos indica la presencia opcional de un enlace doble entre C2 y C3; cuando hay un doble enlace presente entre C2 y C3, R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en:

15

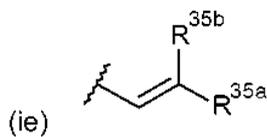
- (ia) grupo arilo C<sub>5-10</sub>, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo que comprende: halo, nitro, ciano, éter, carboxi, éster, alquilo C<sub>1-7</sub>, heterociclilo C<sub>3-7</sub> y bis-oxi-alquilenos C<sub>1-3</sub>;
- (ib) alquilo C<sub>1-5</sub> alifático saturado;
- (ic) cicloalquilo C<sub>3-6</sub> saturado;

20



donde cada uno de R<sup>31</sup>, R<sup>32</sup> y R<sup>33</sup> se seleccionan independientemente entre H, alquilo C<sub>1-3</sub> saturado, alqueno C<sub>2-3</sub>, alquino y ciclopropilo C<sub>2-3</sub>, donde el número total de átomos de carbono en el grupo R<sup>2</sup> no es mayor de 5;

25



donde uno de R<sup>35a</sup> y R<sup>35b</sup> es H y el otro se selecciona entre: fenilo, dicho fenilo está opcionalmente sustituido con un grupo seleccionado entre halo, metilo, metoxi; piridilo y tiofenilo y

30



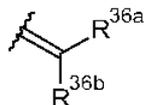
donde R<sup>34</sup> se selecciona entre: H; alquilo C<sub>1-3</sub> saturado; alqueno C<sub>2-3</sub>; alquino C<sub>2-3</sub>; ciclopropilo; fenilo, dicho fenilo está opcionalmente sustituido con un grupo seleccionado entre halo, metilo, metoxi; piridilo y tiofenilo;

35

(ig) halo;  
cuando hay un enlace sencillo presente entre C2 y C3,

R<sup>2</sup> es

5



donde R<sup>36a</sup> y R<sup>36b</sup> se seleccionan independientemente entre H, F, alquilo C<sub>1-4</sub> saturado, alqueno C<sub>2-3</sub>, cuyos grupos alquilo y alqueno están opcionalmente sustituidos con un grupo seleccionado entre alquilo C<sub>1-4</sub> amida y éster de alquilo C<sub>1-4</sub>;

10

R<sup>6</sup> y R<sup>9</sup> se seleccionan independientemente entre H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NRR', NO<sub>2</sub>, SnMe<sub>3</sub> y halo;

o

15

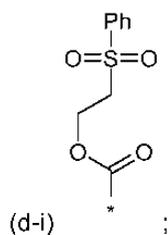
(a) R<sup>10</sup> es H y R<sup>11</sup> es OH u OR<sup>A</sup>, donde R<sup>A</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub> o

(b) R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> forman un doble enlace nitrógeno-carbono entre los átomos de nitrógeno y carbono a los que están unidos o

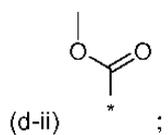
(c) R<sup>10</sup> es H y R<sup>11</sup> es OSO<sub>z</sub>M, donde z es 2 o 3 y M es un catión monovalente farmacéuticamente aceptable o

(d) R<sup>11</sup> es OH u OR<sup>A</sup>, donde R<sup>A</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub> y R<sup>10</sup> se selecciona entre:

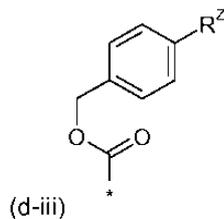
20



(d-i) ;

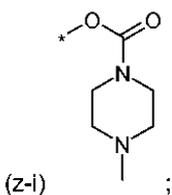


(d-ii) ;



(d-iii) ;

donde R<sup>z</sup> se selecciona entre:



(z-i) ;

25

(z-ii) OC(=O)CH<sub>3</sub>;

(z-iii) NO<sub>2</sub>;

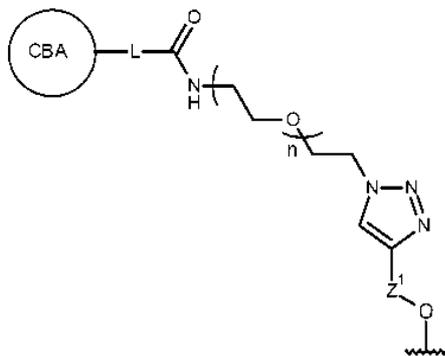
(z-iv) OMe;

30

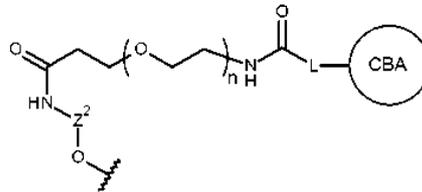
(z-v) glucorónido;

(z-vi) -C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)X<sub>2</sub>-NH-R<sup>zc</sup>, donde -C(=O)-X<sub>1</sub>-NH- y -C(=O)-X<sub>2</sub>-NH- representan restos de aminoácidos naturales y R<sup>zc</sup> se selecciona entre Me, OMe, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe;

Y se selecciona entre las fórmulas A1 y A2



(A1)

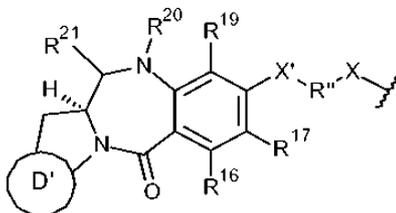


(A2)

- 5  $Z^1$  es un grupo alquileo  $C_{1-3}$ ;  
 $Z^2$  es un grupo alquileo  $C_{1-3}$ ;  
 L es un enlazador conectado a un agente de unión celular;  
 CBA es el agente de unión celular;  
 n es un número entero entre 0 y 48;

10 cada uno de R y R' se selecciona independientemente entre los grupos alquilo  $C_{1-12}$ , heterociclilo  $C_{3-20}$  y arilo  $C_{5-20}$  opcionalmente sustituidos y, opcionalmente en relación con el grupo NRR', R y R' junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4, 5, 6 o 7 miembros opcionalmente sustituido;  
 $R^8$  es o:

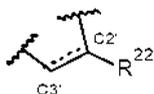
- 15 (a) independientemente seleccionado entre H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR, NRR',  $NO_2$ ,  $SnMe_3$  y halo o  
 (b) de fórmula A\*:



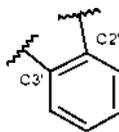
A\*

20 donde:

D' representa el grupo D'1 o el D2:



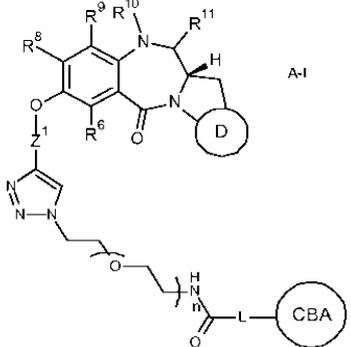
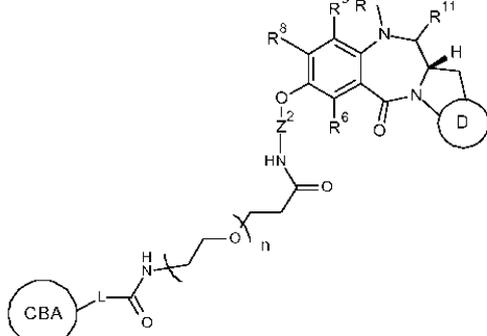
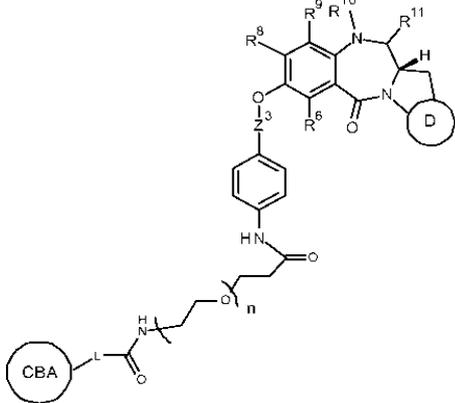
D'1



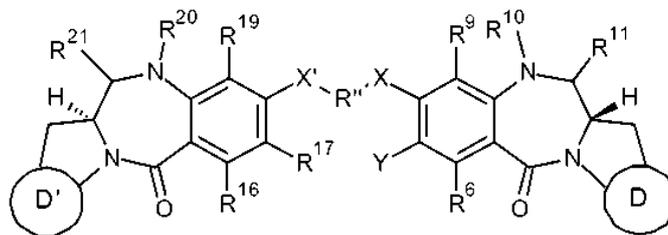
D'2

- 25 donde la línea de puntos indica la presencia opcional de un doble enlace entre  $C2'$  y  $C3'$ ;  
 $R^{17}$  se selecciona independientemente entre H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR, NRR',  $NO_2$ ,  $SnMe_3$  y halo;  
 $R''$  es un grupo alquileo  $C_{3-12}$ , cuya cadena puede estar interrumpida por uno o más heteroátomos, por ejemplo O, S, N(H), NMe y/o anillos aromáticos, por ejemplo benceno o piridina, cuyos anillos están  
 30 opcionalmente sustituidos y  
 $X$  y  $X'$  se seleccionan independientemente entre O, S y N(H) y  
 $R^{22}$ ,  $R^{16}$ ,  $R^{19}$ ,  $R^{20}$  y  $R^{21}$  son como se define para  $R^2$ ,  $R^6$ ,  $R^9$ ,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  respectivamente.

35 Por lo tanto la fórmula A se selecciona entre las siguientes fórmulas A-I, A-II y A-III, dependiendo de Y:

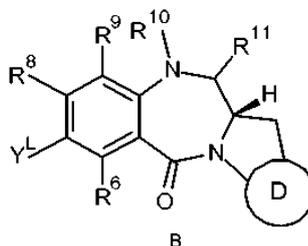
Y	A
(A1)	 <p style="text-align: right;">A-I</p>
(A2)	 <p style="text-align: right;">A-II</p>
(A3)	 <p style="text-align: right;">A-III</p>

Cuando R<sup>8</sup> es A\*, el compuesto es de la fórmula A\*A:



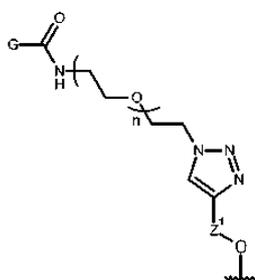
A\*A

Un segundo aspecto de la presente invención proporciona nuevos compuestos enlazadores de fármacos de fórmula (B):

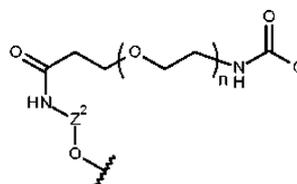


5 y sales y solvatos del mismo, donde:

Y<sup>L</sup> se selecciona entre las fórmulas B1 y B2:



(B1)

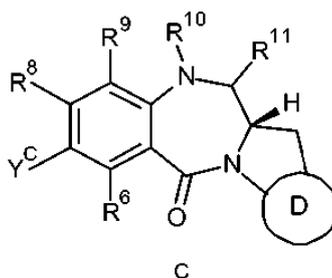


(B2)

10

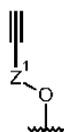
G es un enlazador para conectar a un agente de unión celular y los restantes grupos son como se define en el primer aspecto.

15 Un tercer aspecto de la presente invención también proporciona compuestos de fórmula (C), que pueden usarse en la preparación de enlazadores de fármacos y conjugados de la invención:

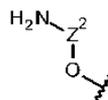


C

20 y sales y solvatos del mismo, Y<sup>C</sup> se selecciona entre las fórmulas C1 y C2



(C1)



(C2)

25 y los restantes grupos son como se define en el primer aspecto.

Un cuarto aspecto de la presente invención proporciona el compuesto del primer aspecto de la invención para su uso en un método de tratamiento médico. El cuarto aspecto también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto del primer aspecto y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

30 Un quinto aspecto de la presente invención proporciona un compuesto del primer aspecto de la invención o una composición farmacéutica del cuarto aspecto de la invención para su uso en un método de tratamiento de una

enfermedad proliferativa. El quinto aspecto también proporciona el uso de un compuesto del primer aspecto en un método de fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad proliferativa y un método para tratar a un mamífero que tiene una enfermedad proliferativa, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del cuarto aspecto.

5 Un sexto aspecto de la presente invención proporciona un método de síntesis de un compuesto del primer aspecto de la presente invención, que comprende la etapa de conjugar un enlazador de fármacos del segundo aspecto con un agente de unión celular.

10 Un séptimo aspecto de la presente invención proporciona un método de síntesis de un enlazador de fármacos del segundo aspecto, que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto del tercer aspecto con uno o más reactivos adecuados.

### Descripción detallada de la invención

#### 15 **Preferencias**

Las siguientes preferencias pueden aplicarse a todos los aspectos de la invención tal como se han descrito anteriormente o pueden referirse a un único aspecto. Las preferencias pueden combinarse juntas en cualquier combinación.

#### D

20 En algunas realizaciones, D es D1.

25 En algunas realizaciones, D es D2.

#### R<sup>8</sup>

30 En algunas realizaciones, R<sup>8</sup> puede seleccionarse independientemente entre H, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NRR' y halo.

35 En algunas realizaciones, R<sup>8</sup> puede seleccionarse independientemente entre H, OH y OR, donde R puede seleccionarse entre grupos alquilo C<sub>1-7</sub>, heterociclilo C<sub>3-10</sub> y arilo C<sub>5-10</sub> opcionalmente sustituidos. En algunas de esas realizaciones, R en R<sup>8</sup> puede ser un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>, que puede estar o no sustituido. Un sustituyente de interés es un grupo arilo C<sub>5-6</sub> (p. ej., fenilo).

En algunas realizaciones, R<sup>8</sup> se selecciona entre OMe y OCH<sub>2</sub>Ph.

40 En algunas realizaciones, R<sup>8</sup> es de fórmula A\*, de modo que el compuesto es un dímero de PBD.

#### Enlace del dímero

X y X' son preferentemente O.

45 R" es un grupo alquileo C<sub>3-12</sub>, cuya cadena puede estar interrumpida por uno o más heteroátomos, por ejemplo O, S, N(H), NMe y/o anillos aromáticos, por ejemplo benceno o piridina, cuyos anillos están opcionalmente sustituidos.

En algunas realizaciones, R" puede ser un grupo alquileo C<sub>3-12</sub>, cuya cadena puede estar interrumpida por uno más heteroátomos y/o anillos aromáticos, por ejemplo benceno o piridina.

50 En algunas realizaciones, R" puede ser grupo alquileo C<sub>3-12</sub> que está opcionalmente interrumpido por uno o más heteroátomos seleccionados entre O, S y NMe y/o anillos aromáticos, cuyos anillos están opcionalmente sustituidos. En algunas realizaciones, el anillo aromático es un grupo arileno C<sub>5-20</sub>, donde arileno se refiere a un resto divalente obtenido eliminando dos átomos de hidrógeno de dos átomos del anillo aromático de un compuesto aromático, cuyo resto tiene de 5 a 20 átomos en el anillo.

55 En algunas realizaciones, R" puede ser un grupo alquileo C<sub>3-12</sub>, cuya cadena puede estar interrumpida por uno o más heteroátomos, por ejemplo O, S, N(H), NMe y/o anillos aromáticos, por ejemplo benceno o piridina, cuyos anillos están opcionalmente sustituidos con NH<sub>2</sub>.

En algunas realizaciones, R" puede ser un grupo alquileo C<sub>3-12</sub>.

En algunas realizaciones, R" puede seleccionarse entre un grupo alquileo C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>7</sub>, C<sub>9</sub> y C<sub>11</sub>.

60 En algunas realizaciones, R" puede seleccionarse entre un grupo alquileo C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub> y C<sub>7</sub>.

En algunas realizaciones, R" puede seleccionarse entre un grupo alquileo C<sub>3</sub> y uno C<sub>5</sub>.

En algunas realizaciones, R" es un grupo alquileo C<sub>3</sub>.

En algunas realizaciones, R" es un grupo alquileo C<sub>5</sub>.

65 Los grupos alquileo enumerados anteriormente opcionalmente pueden estar interrumpidos por uno o más heteroátomos y/o anillos aromáticos, por ejemplo benceno o piridina, cuyos anillos están opcionalmente sustituidos.

Los grupos alquileo enumerados anteriormente opcionalmente pueden estar interrumpidos por uno o más

heteroátomos y/o anillos aromáticos, por ejemplo benceno o piridina.

Los grupos alquileo enumerados anteriormente pueden ser grupos alquileo alifáticos lineales sin sustituir.

R" es preferentemente un grupo alquileo C<sub>3-7</sub> sin sustituyentes. Más preferentemente R" es un alquileo C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub> o C<sub>7</sub>. Lo más preferible, R" es un alquileo C<sub>3</sub> o C<sub>5</sub>.

5

R<sup>6</sup>

En algunas realizaciones, R<sup>6</sup> puede seleccionarse independientemente entre H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NRR', NO<sub>2</sub>, SnMe<sub>3</sub> y halo.

10

En algunas realizaciones, R<sup>6</sup> puede seleccionarse independientemente entre H, OH, OR, SH, NH<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> y halo.

En algunas realizaciones, R<sup>6</sup> se selecciona independientemente entre H y halo.

15

En algunas realizaciones, R<sup>6</sup> es independientemente H.

Estas realizaciones también se aplican a R<sup>16</sup>.

R<sup>9</sup>

20

En algunas realizaciones, R<sup>9</sup> puede seleccionarse independientemente entre H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NRR', NO<sub>2</sub>, SnMe<sub>3</sub> y halo.

En algunas realizaciones, R<sup>9</sup> es independientemente H.

25

Estas realizaciones también se aplican a R<sup>19</sup>.

R<sup>17</sup>

30

En algunas realizaciones, R<sup>17</sup> puede seleccionarse independientemente entre H, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NRR' y halo.

En algunas realizaciones, R<sup>17</sup> puede seleccionarse independientemente entre H, OH y OR, donde R puede seleccionarse entre los grupos alquilo C<sub>1-7</sub>, heterociclilo C<sub>3-10</sub> y arilo C<sub>5-10</sub> opcionalmente sustituidos. En algunas de esas realizaciones, R en R<sup>17</sup> puede ser un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>, que puede estar o no sustituido. Un sustituyente de interés es un grupo arilo C<sub>5-6</sub> (p. ej., fenilo).

35

En algunas realizaciones, R<sup>17</sup> se selecciona entre OMe y OCH<sub>2</sub>Ph.

40

R<sup>2</sup>

Cuando R<sup>2</sup> es un grupo arilo C<sub>5-10</sub>, en algunas realizaciones este puede ser un grupo arilo C<sub>5-7</sub>. Un grupo arilo C<sub>5-7</sub> puede ser un grupo fenilo o un grupo heteroarilo C<sub>5-7</sub>, por ejemplo furanilo, tiofenilo y piridilo. En algunas realizaciones, R<sup>2</sup> puede ser fenilo. En otras realizaciones, R<sup>2</sup> puede ser tiofenilo, por ejemplo, tiofen-2-ilo y tiofen-3-ilo.

45

Cuando R<sup>2</sup> es un grupo arilo C<sub>5-10</sub>, en algunas realizaciones este puede ser un arilo C<sub>8-10</sub>, por ejemplo un grupo quinolinilo o isoquinolinilo. El grupo quinolinilo o isoquinolinilo puede estar unido al núcleo de PBD a través de cualquier posición disponible en el anillo. Por ejemplo, el quinolino puede ser quinolin-2-ilo, quinolin-3-ilo, quinolin-4-ilo, quinolin-5-ilo, quinolin-6-ilo, quinolin-7-ilo y quinolin-8-ilo. De estos, deben preferirse quinolin-3-ilo y quinolin-6-ilo. El isoquinolino puede ser isoquinolin-1-ilo, isoquinolin-3-ilo, isoquinolin-4-ilo, isoquinolin-5-ilo, isoquinolin-6-ilo, isoquinolin-7-ilo e isoquinolin-8-ilo. De estos, deben preferirse isoquinolin-3-ilo e isoquinolin-6-ilo.

50

Cuando R<sup>2</sup> es un grupo arilo C<sub>5-10</sub>, este puede tener cualquier número de grupos sustituyentes. En algunas realizaciones, este puede tener de 1 a 3 grupos sustituyentes. En algunas realizaciones, este puede tener 1 o 2 grupos sustituyentes. En algunas realizaciones, este puede tener un único grupo sustituyente. Los sustituyentes pueden estar en cualquier posición.

55

Donde R<sup>2</sup> es un grupo arilo C<sub>5-7</sub>, en algunas realizaciones un único sustituyente puede estar en un átomo del anillo que no es adyacente al enlace con el resto del compuesto, es decir, este puede ser β o γ al enlace con el resto del compuesto. Por lo tanto, en las realizaciones donde el grupo arilo C<sub>5-7</sub> es fenilo, el sustituyente puede estar en las posiciones meta- o para- o puede estar en la posición para-.

60

Donde R<sup>2</sup> es un grupo C<sub>8-10</sub>, por ejemplo quinolinilo o isoquinolinilo, en algunas realizaciones puede haber cualquier número de sustituyentes en cualquier posición de los anillos de quinolina o isoquinolina. En algunas realizaciones, tiene uno, dos o tres sustituyentes y estos pueden estar o en uno de los anillos proximal y distal o en ambos (si hay

65

más de un sustituyente).

*Sustituyentes de  $R^2$ , cuando  $R^2$  es un grupo arilo  $C_{5-10}$*

- 5 En las realizaciones donde un sustituyente en  $R^2$ , cuando  $R^2$  es un grupo arilo  $C_{5-10}$ , es halo, este puede ser F o Cl y en algunas de estas realizaciones Cl.

- 10 En las realizaciones donde un sustituyente en  $R^2$ , cuando  $R^2$  es un grupo arilo  $C_{5-10}$ , es éter, en algunas realizaciones este puede ser un grupo alcoxi, por ejemplo, un grupo alcoxi  $C_{1-7}$  (por ejemplo, metoxi, etoxi) o en algunas realizaciones puede ser un grupo ariloxi  $C_{5-7}$  (por ejemplo fenoxi, piridiloxi, furaniloxi). Además el grupo alcoxi puede él mismo estar sustituido, por ejemplo por un grupo amino (por ejemplo, dimetilamino).

- 15 En las realizaciones donde un sustituyente en  $R^2$ , cuando  $R^2$  es un grupo arilo  $C_{5-10}$ , es alquilo  $C_{1-7}$ , este puede ser un grupo alquilo  $C_{1-4}$  (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo).

- 20 En las realizaciones donde un sustituyente en  $R^2$ , cuando  $R^2$  es un grupo arilo  $C_{5-10}$ , es heterociclilo  $C_{3-7}$ , este puede ser un grupo heterociclilo  $C_6$  que contiene nitrógeno, por ejemplo morfolino, tiomorfolino, piperidinilo, piperazinilo. Estos grupos pueden estar unidos al resto del resto de PBD mediante el átomo de nitrógeno. Estos grupos pueden estar sustituidos de manera adicional, por ejemplo, por grupos alquilo  $C_{1-4}$ . Si el grupo heterociclilo  $C_6$  que contiene nitrógeno es piperazinilo, el mencionado sustituyente adicional puede estar en el segundo átomo de nitrógeno del anillo.

- 25 En las realizaciones donde un sustituyente en  $R^2$ , cuando  $R^2$  es un grupo arilo  $C_{5-10}$ , es bis-oxi-alquilenilo  $C_{1-3}$ , este puede ser bis-oxi-metileno o bis-oxi-etileno.

- En las realizaciones donde un sustituyente en  $R^2$ , cuando  $R^2$  es un grupo arilo  $C_{5-10}$ , es éster, este es preferentemente éster de metilo o éster de etilo.

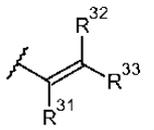
- 30 En algunas realizaciones, los sustituyentes, cuando  $R^2$  es un grupo arilo  $C_{5-10}$ , pueden incluir metoxi, etoxi, flúor, cloro, ciano, bis-oxi-metileno, metil-piperazinilo, morfolino, metiltiofenilo, dimetilaminopropiloxi y carboxi.

- 35 En algunas realizaciones,  $R^2$  puede seleccionarse entre 4-metoxi-fenilo, 3-metoxifenilo, 4-etoxi-fenilo, 3-etoxi-fenilo, 4-fluoro-fenilo, 4-cloro-fenilo, 3,4-bisoximetilfenilo, 4-metiltiofenilo, 4-cianofenilo, 4-fenoxifenilo, quinolin-3-ilo y quinolin-6-ilo, isoquinolin-3-ilo e isoquinolin-6-ilo, 2-tienilo, 2-furanilo, metoxinaftilo, naftilo, 4-nitrofenilo, 4-(4-metilpiperazin-1-il)fenilo y 3,4-bisoximetilen-fenilo.

- 40 Cuando  $R^2$  es alquilo  $C_{1-5}$  alifático saturado, este puede ser metilo, etilo, propilo, butilo o pentilo. En algunas realizaciones, este puede ser metilo, etilo o propilo (n-pentilo o isopropilo). En algunas de estas realizaciones, este puede ser metilo. En otras realizaciones, este puede ser butilo o pentilo, que puede ser lineal o ramificado.

- 45 Cuando  $R^2$  es cicloalquilo  $C_{3-6}$  saturado, este puede ser ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo. En algunas realizaciones, este puede ser ciclopropilo.

Cuando  $R^2$  es



en algunas realizaciones, el número total de átomos de carbono en el grupo  $R^2$  es no más de 4 o no más de 3.

- 50 En algunas realizaciones, uno de  $R^{31}$ ,  $R^{32}$  y  $R^{33}$  es H, seleccionándose los otros dos grupos entre H, alquilo  $C_{1-3}$  saturado, alquilenilo  $C_{2-3}$ , alquinilo  $C_{2-3}$  y ciclopropilo.

- 55 En otras realizaciones, dos de  $R^{31}$ ,  $R^{32}$  y  $R^{33}$  son H, seleccionándose el otro grupo entre H, alquilo  $C_{1-3}$  saturado, alquilenilo  $C_{2-3}$ , alquinilo  $C_{2-3}$  y ciclopropilo.

En algunas realizaciones, los grupos que no son H se seleccionan entre metilo y etilo. En algunas de estas realizaciones, los grupos que no son H son metilo.

- 60 En algunas realizaciones,  $R^{31}$  es H.

En algunas realizaciones,  $R^{32}$  es H.

En algunas realizaciones,  $R^{33}$  es H.

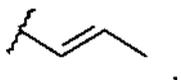
En algunas realizaciones,  $R^{31}$  y  $R^{32}$  son H.

5 En algunas realizaciones,  $R^{31}$  y  $R^{33}$  son H.

En algunas realizaciones,  $R^{32}$  y  $R^{33}$  son H.

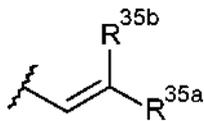
Un grupo  $R^2$  de interés particular es

10



Cuando  $R^2$  es

15

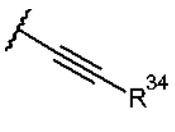


en algunas realizaciones, el grupo ( $R^{35a}$  o  $R^{35b}$ ) que no es H es fenilo opcionalmente sustituido.

Si el sustituyente opcional de fenilo es halo, este puede ser flúor. En alguna realización, el grupo fenilo está sin sustituir.

20

Cuando  $R^2$  es



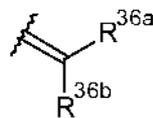
25

en algunas realizaciones, donde  $R^{34}$  es fenilo, este está sin sustituir. En otras realizaciones, el grupo fenilo tiene un único sustituyente flúor. En otras realizaciones,  $R^{14}$  se selecciona entre H, metilo, etilo, etenilo y etinilo. En algunas de estas realizaciones,  $R^{14}$  se selecciona entre H y metilo.

30

Cuando  $R^2$  es halo, en algunas realizaciones, este es flúor.

Cuando hay un único enlace presente entre C2 y C3,  $R^2$  es



35

En algunas realizaciones,  $R^{36a}$  y  $R^{36b}$  son ambos H.

En otras realizaciones,  $R^{36a}$  y  $R^{36b}$  son ambos metilo.

40

En otras realizaciones, uno de  $R^{36a}$  y  $R^{36b}$  es H y el otro se selecciona entre alquilo  $C_{1-4}$  saturado, alquenilo  $C_{2-3}$ , cuyos grupos alquilo y alquenilo están opcionalmente sustituidos. En algunas de estas realizaciones adicionales, el grupo que no es H puede seleccionarse entre metilo y etilo.

$R^{22}$

45

Las anteriores preferencias para  $R^2$  cuando hay un doble enlace presente entre C2 y C3 se aplican igualmente para  $R^{22}$ , cuando hay un doble enlace presente entre C2' y C3'.

Las anteriores preferencias para  $R^2$  cuando hay un único enlace presente entre C2 y C3 se aplican igualmente para  $R^{22}$ , cuando hay un único enlace presente entre C2' y C3'.

50

## N10-C11

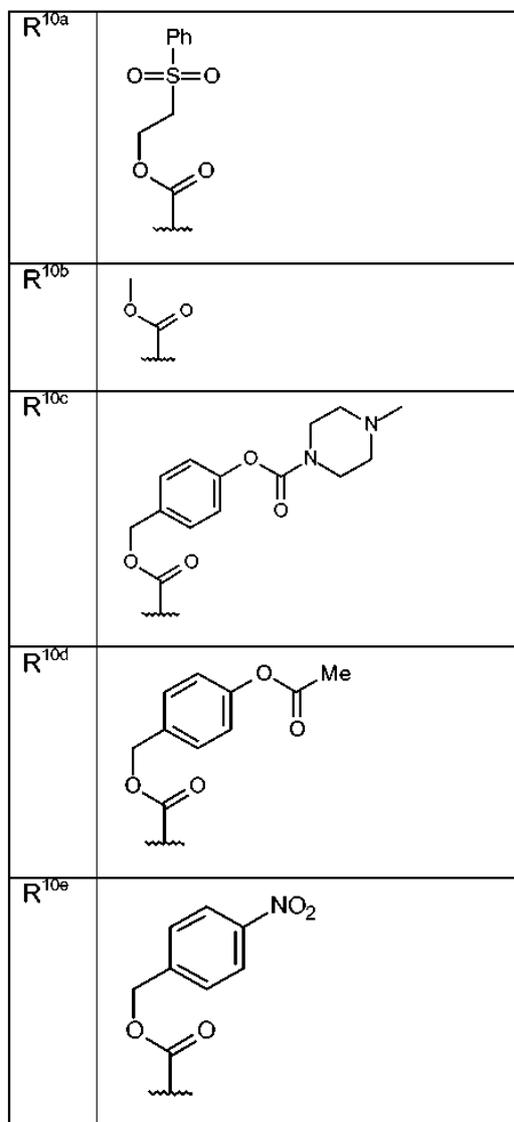
5 En alguna realización,  $R^{10}$  es H y  $R^{11}$  es OH,  $OR^A$ , donde  $R^A$  es alquilo  $C_{1-4}$ . En algunas de estas realizaciones,  $R^{11}$  es OH. En otras de estas realizaciones,  $R^{11}$  es  $OR^A$ , donde  $R^A$  es alquilo  $C_{1-4}$ . En algunas de estas realizaciones,  $R^A$  es metilo.

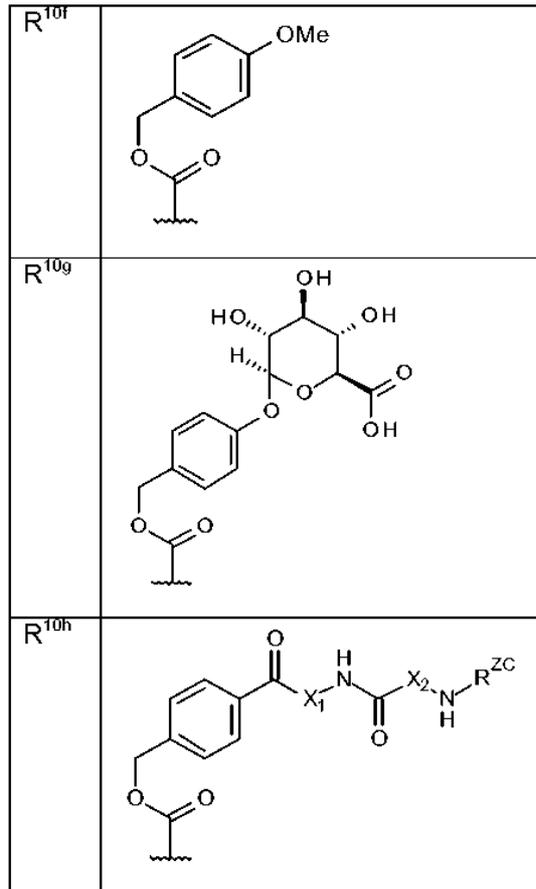
En algunas realizaciones,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  forman un doble enlace nitrógeno-carbono entre los átomos de nitrógeno y carbono a los cuales están unidos.

10 En algunas realizaciones,  $R^{10}$  es H y  $R^{11}$  es  $OSO_2M$ , donde z es 2 o 3 y M es un catión monovalente farmacéuticamente aceptable. En algunas de estas realizaciones, M es un catión monovalente farmacéuticamente aceptable y puede ser  $Na^+$ . Además, en algunas realizaciones z es 3.

15 En algunas realizaciones, donde  $R^{10}$  es (d-iii), puede haber un grupo nitro adicional en el anillo de benceno, por ejemplo orto a  $R^Z$ .

En algunas realizaciones,  $R^{11}$  es OH u  $OR^A$ , donde  $R^A$  es alquilo  $C_{1-4}$  y  $R^{10}$  se selecciona entre:





5 -C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)X<sub>2</sub>-NH- representa un dipéptido. Los aminoácidos en el dipéptido pueden ser cualquier combinación de aminoácidos naturales. El dipéptido puede ser el sitio de acción para la escisión mediada por catepsina.

En una realización, el dipéptido, -C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)X<sub>2</sub>-NH-, se selecciona entre:

- 10 -Phe-Lis-,  
 -Val-Ala-,  
 -Val-Lis-,  
 -Ala-Lis-,  
 -Val-Cit-,  
 -Phe-Cit-,  
 15 -Leu-Cit-,  
 -Ile-Cit-,  
 -Phe-Arg-,  
 -Trp-Cit-

20 en los que Cit es citrulina.

Preferentemente, el dipéptido, -C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)X<sub>2</sub>-NH-, se selecciona entre:

- 25 -Phe-Lis-,  
 -Val-Ala-,  
 -Val-Lis-,  
 -Ala-Lis-,  
 -Val-Cit-

30 Lo más preferible, el dipéptido, -C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)X<sub>2</sub>-NH-, es -Phe-Lis- o -Val-Ala-.

Se pueden usar otras combinaciones de dipéptidos, incluyendo los descritos por Dubowchik *et al*, *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13, 855-869.

En una realización, la cadena lateral de aminoácidos está derivatizada, cuando sea adecuado. Por ejemplo, un grupo amino o grupo carboxi de una cadena lateral de aminoácido puede derivatizarse.

En una realización, un grupo amino NH<sub>2</sub> de un aminoácido de cadena lateral, tal como lisina, es una forma derivatizada seleccionada del grupo que consiste en NHR y NRR'.

5 En una realización, un grupo carboxi COOH de un aminoácido de cadena lateral, tal como ácido aspártico, es una forma derivatizada seleccionada del grupo que consiste en COOR, CONH<sub>2</sub>, CONHR y CONRR'.

10 En una realización, la cadena lateral de aminoácido está químicamente protegida, cuando sea adecuado. El grupo protector de la cadena lateral puede ser un grupo como se ha tratado anteriormente. Los presentes inventores han establecido que las secuencias de aminoácido protegidas se escinden por enzimas. Por ejemplo, se ha establecido que una secuencia dipeptídica que comprende un resto Lis protegido por cadena lateral Boc, es escindible mediante catepsina.

15 Los grupos protectores para las cadenas laterales de aminoácidos son bien conocidos en la técnica y se describen en el catálogo de Novabiochem. Otras estrategias del grupo protector se establecen en Protective Groups in Organic Synthesis, Greene y Wuts.

20 A continuación se muestran posibles grupos protectores de cadena lateral para aquellos aminoácidos que tienen funcionalidad de cadena lateral reactiva:

Arg: Z, Mtr, Tos;

Asp: Trt, Xan;

Asp: Bzl, t-Bu;

25 Cis: Acn, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me, Trt;

Glu: Bzl, t-Bu;

Gln: Trt, Xan;

His: Boc, Dnp, Tos, Trt;

Lis: Boc, Z-Cl, Fmoc, Z, Alloc;

30 Ser: Bzl, TBDMS, TBDPS;

Tre: Bz;

Trp: Boc;

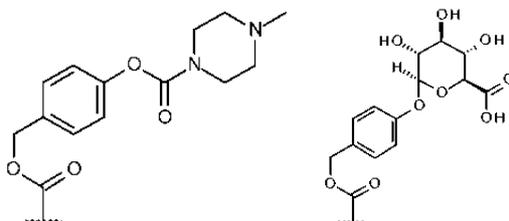
Tir: Bzl, Z, Z-Br.

35 En una realización, la protección de la cadena lateral se selecciona para que sea ortogonal a un grupo proporcionado como, o como parte de, un grupo limitador, en caso de estar presente. Por lo tanto, la eliminación del grupo protector de la cadena lateral no elimina el grupo limitador o cualquier funcionalidad de grupo protector que sea parte del grupo limitador.

40 En otras realizaciones de la invención, los aminoácidos seleccionados son aquellos que no tienen funcionalidad de cadena lateral reactiva. Por ejemplo, los aminoácidos pueden seleccionarse entre: Ala, Gli, Ile, Leu, Met, Phe, Pro y Val.

45 En la presente invención se prefiere de manera particular, que si L<sup>1</sup> comprende un dipéptido, entonces -C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)X<sub>2</sub>-NH- sea el mismo dipéptido.

Otros grupos R<sup>10</sup> preferidos incluyen:



y

50 Las preferencias anteriores se aplican igualmente a R<sup>20</sup> y R<sup>21</sup>.

R y R'

55 En algunas realizaciones, R se selecciona independientemente entre los grupos alquilo C<sub>1-12</sub>, heterociclilo C<sub>3-20</sub> y arilo C<sub>5-20</sub> opcionalmente sustituidos. Cada uno de estos grupos se define en la sección de sustituyentes a

continuación.

En algunas realizaciones, R es independientemente alquilo C<sub>1-12</sub> opcionalmente sustituido. En otras realizaciones, R es independientemente heterociclilo C<sub>3-20</sub> opcionalmente sustituido. En otras realizaciones, R es independientemente arilo C<sub>5-20</sub> opcionalmente sustituido. En otras realizaciones, R es independientemente alquilo C<sub>1-12</sub> opcionalmente sustituido.

Se han descrito anteriormente diversas realizaciones en relación con R<sup>2</sup> relacionadas con los grupos alquilo y arilo preferidos y la identidad y número de los sustituyentes opcionales. Las preferencias establecidas para R<sup>2</sup>, tal como se aplican a R, son aplicables, cuando resulte apropiado, al resto de grupos R.

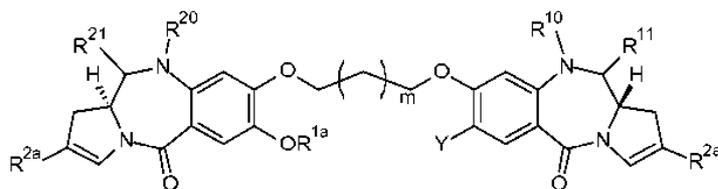
Las preferencias para R se aplican también a R'.

En algunas realizaciones de la invención se proporciona un compuesto que tiene un grupo sustituyente -NRR'. En una realización, R y R' junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4, 5, 6 o 7 miembros opcionalmente sustituido. El anillo puede contener otro heteroátomo, por ejemplo N, O o S. En algunas de estas realizaciones, el propio anillo heterocíclico está sustituido con un grupo R. Donde esté presente un heteroátomo N más, el sustituyente puede estar en el heteroátomo N.

20 *Dímeros*

En algunas realizaciones, los grupos X', D, R<sup>16</sup>, R<sup>19</sup>, R<sup>20</sup> y R<sup>21</sup> son los mismos que los grupos X, D', R<sup>6</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> respectivamente. En estas realizaciones, las unidades monoméricas PBD tienen los mismos sustituyentes, salvo en la posición 7.

25 Los compuestos particularmente preferidos del primer aspecto de la presente invención pueden ser de fórmula la:



la

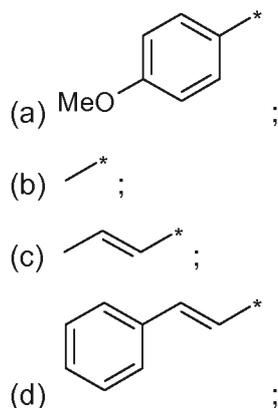
30 donde

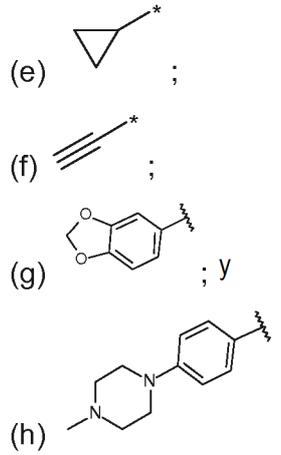
R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>20</sup>, R<sup>21</sup> e Y son como se han definido anteriormente;

m es 1 o 3;

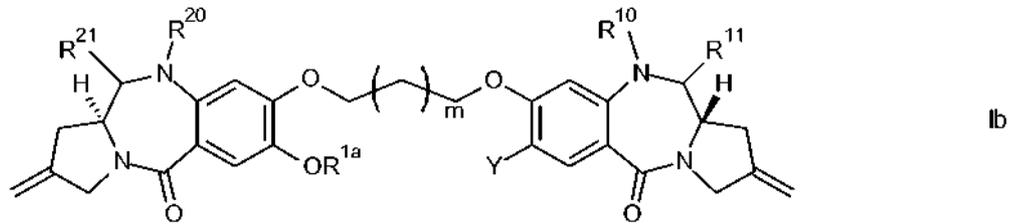
R<sup>1a</sup> es metilo o fenilo y

35 R<sup>2a</sup> se selecciona entre:





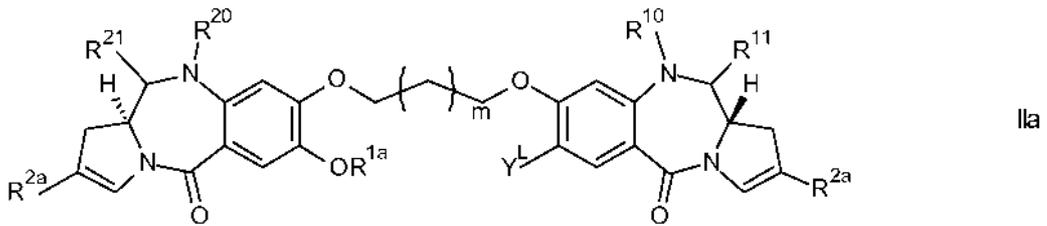
Los compuestos particularmente preferidos del primer aspecto de la presente invención pueden ser de fórmula Ib:



donde

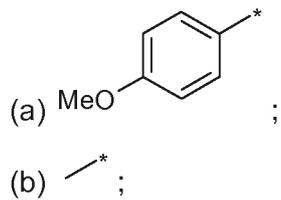
- 10
- R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>20</sup>, R<sup>21</sup> e Y son como se han definido anteriormente;
  - m es 1 o 3 y
  - R<sup>1a</sup> es metilo o fenilo.

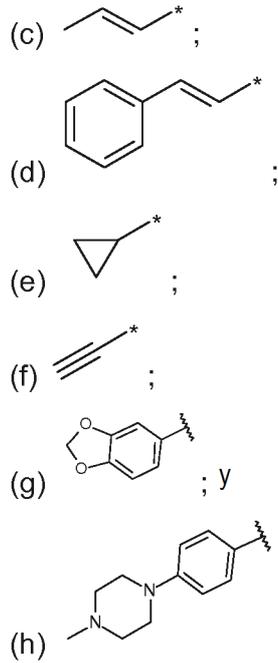
Los compuestos particularmente preferidos del segundo aspecto de la presente invención pueden ser de fórmula Ila:



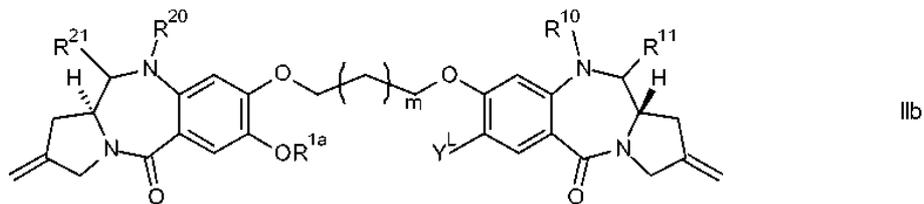
donde

- 20
- R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>20</sup>, R<sup>21</sup> e Y<sup>L</sup> son como se han definido anteriormente;
  - m es 1 o 3;
  - R<sup>1a</sup> es metilo o fenilo y
  - R<sup>2a</sup> se selecciona entre:





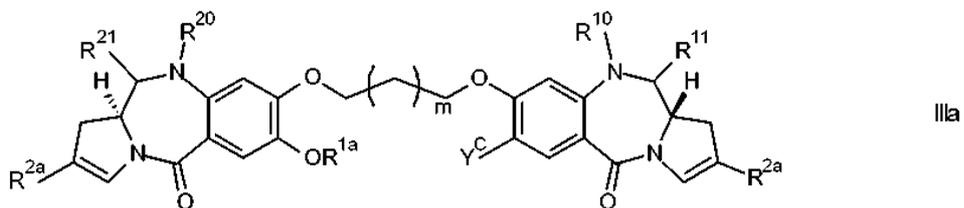
Los compuestos particularmente preferidos del segundo aspecto de la presente invención pueden ser de fórmula IIb:



donde

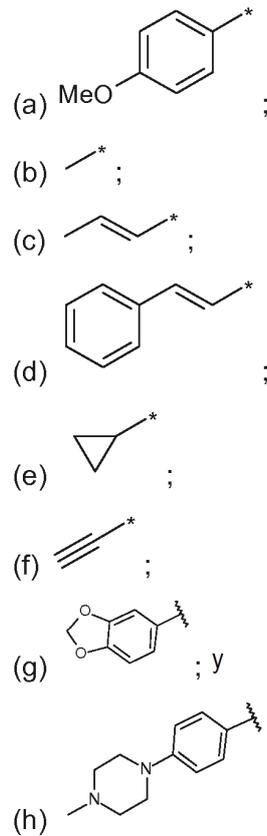
- 10  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ,  $R^{20}$ ,  $R^{21}$  e  $Y^L$  son como se han definido anteriormente;  
 $m$  es 1 o 3 y  
 $R^{1a}$  es metilo o fenilo.

Los compuestos particularmente preferidos del tercer aspecto de la presente invención pueden ser de fórmula IIIa:

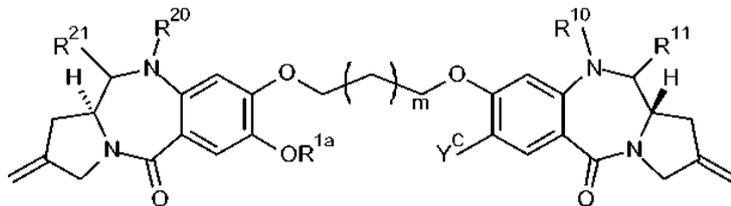


donde

- 20  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ,  $R^{20}$ ,  $R^{21}$  e  $Y^C$  son como se han definido anteriormente;  
 $m$  es 1 o 3;  
 $R^{1a}$  es metilo o fenilo y  
 $R^{2a}$  se selecciona entre:



Los compuestos particularmente preferidos del tercer aspecto de la presente invención pueden ser de fórmula IIIb:



IIIb

5

donde

- 10  $R^{10}$ ,  $R^{11}$ ,  $R^{20}$ ,  $R^{21}$  e  $Y^C$  son como se han definido anteriormente;  
 $m$  es 1 o 3 y  
 $R^{1a}$  es metilo o fenilo.

$Z^1$ ,  $Z^2$ ,  $Z^3$

- 15 En algunas realizaciones,  $Z^1$  es metileno. En algunas realizaciones,  $Z^1$  es etileno. En algunas realizaciones,  $Z^1$  es propileno.

- 20 En algunas realizaciones,  $Z^2$  es metileno. En algunas realizaciones,  $Z^2$  es etileno. En algunas realizaciones,  $Z^2$  es propileno.

- En algunas realizaciones,  $Z^3$  es metileno. En algunas realizaciones,  $Z^3$  es etileno. En algunas realizaciones,  $Z^3$  es propileno.

$n(Y, Y^L)$

- 25 En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es un número entero entre 0 y 24.

En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es un número entero entre 0 y 12.

En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es un número entero entre 0 y 8.

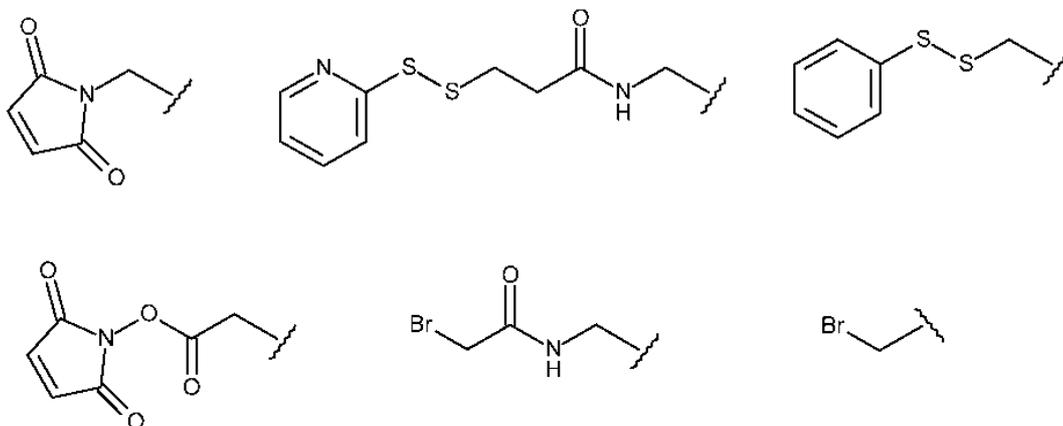
En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es un número entero entre 0 y 6.

- 5 En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es 0.  
 En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es 1.  
 En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es 2.  
 En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es 3.  
 En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es 4.  
 10 En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es 5.  
 En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es 6.  
 En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es 7.  
 En algunas realizaciones,  $n$  (en  $Y$  o  $Y^L$ ) es 8.
- 15 En algunas realizaciones,  $Z^1$  es metileno y  $n$  es 3.  
 En algunas realizaciones,  $Z^2$  es propileno y  $n$  es 8.

### L y G

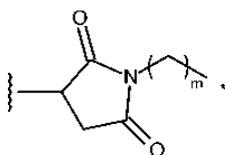
- 20 L es un enlazador conectado al agente de unión celular en el compuesto conjugado. G es un enlazador para conectar el dímero de PBD al agente de unión celular para formar el compuesto conjugado.

- Preferentemente, el enlazador contiene un grupo funcional electrófilo para que reaccione con un grupo funcional nucleófilo en el agente de unión celular. Los grupos nucleófilos en anticuerpos incluyen, pero sin limitación: (i) grupos amina N-terminal, (ii) grupos amina de cadena lateral, por ejemplo lisina, (iii) grupos tiol de cadena lateral, por ejemplo cisteína y (iv) grupos amino o hidroxilo de azúcar en los que el anticuerpo está glicosilado. Los grupos amina, tiol e hidroxilo son nucleófilos y son capaces de reaccionar para formar enlaces covalentes con grupos electrófilos en restos enlazadores y reactivos enlazadores incluyendo: (i) grupos maleimida (ii) disulfuros activados, (iii) ésteres activos tales como ésteres de NHS (N-hidroxisuccinimida), ésteres de HOBt (N-hidroxibenzotriazol), haloformiatos y haluros ácidos; (iv) haluros de alquilo y bencilo tales como haloacetamidas y (v) aldehídos, cetonas, carboxilo y algunos de los cuales se ejemplifican como sigue:
- 25  
30



- 35 Ciertos anticuerpos tienen disulfuros entre cadenas reducibles, es decir, puentes de cisteína. Los anticuerpos pueden hacerse reactivos para la conjugación con reactivos de enlazador mediante tratamiento con un agente reductor tal como DTT (ditiotretitol). Cada puente de cisteína formará así, teóricamente, dos nucleófilos de tiol reactivos. Pueden introducirse grupos nucleófilos adicionales en anticuerpos mediante la reacción de lisinas con 2-iminotiolano (reactivo de Traut) produciendo la conversión de una amina en un tiol. Los grupos tiol reactivos pueden introducirse en el anticuerpo (o fragmento del mismo) introduciendo uno, dos, tres, cuatro o más restos de cisteína (por ejemplo, preparando anticuerpos mutantes que comprenden uno o más restos del aminoácido cisteína no nativos). El documento US 7521541 enseña a manipular anticuerpos mediante introducción de aminoácidos de cisteína reactivos. En algunas realizaciones, el enlazador tiene un grupo nucleófilo que es reactivo con un grupo electrófilo presente sobre un anticuerpo. Grupos electrófilos útiles sobre un anticuerpo incluyen, pero sin limitación, grupos carbonilo de aldehído y cetona. El heteroátomo es un grupo nucleófilo de un enlazador que puede reaccionar con un grupo electrófilo sobre un anticuerpo y formar un enlace covalente con respecto a una unidad de anticuerpo. Grupos nucleófilos útiles sobre un enlazador incluyen, pero sin limitación, hidrazida, oxima, amino, hidroxilo, hidrazina, tiosemicarbazona, carboxilato de hidrazina y arilhidrazina. El grupo electrófilo sobre un anticuerpo proporciona un sitio conveniente para la unión a un enlazador.
- 40  
45  
50

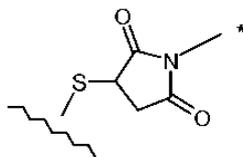
En una realización, el grupo L es:



donde el asterisco indica el punto de unión al resto del grupo Y, la línea ondulada indica el punto de unión al agente de unión celular y m es de 0 a 6. En una realización, m es 5.

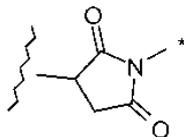
5 En una realización, la conexión entre el agente de unión celular y L es a través de un resto tiol del agente de unión celular y un grupo maleimida de L.

10 En una realización, la conexión entre el agente de unión celular y L es:



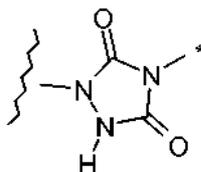
15 donde el asterisco indica el punto de unión a la porción restante del grupo L o a la porción restante del grupo Y y la línea ondulada indica el punto de unión a la porción restante del agente de unión celular. En esta realización, el átomo S habitualmente procede del agente de unión celular.

En cada una de las realizaciones anteriores, puede usarse una funcionalidad alternativa en lugar del grupo derivado de maleimida mostrado a continuación:



20 donde la línea ondulada indica el punto de unión al agente de unión celular como anteriormente y el asterisco indica la unión a la porción restante del grupo L o a la porción restante del grupo Y.

25 En una realización, el grupo derivado de maleimida se sustituye con el grupo:



30 donde la línea ondulada indica el punto de unión al agente de unión celular y el asterisco indica la unión a la porción restante del grupo L o a la porción restante del grupo Y.

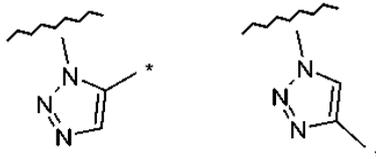
En una realización, el grupo derivado de maleimida se sustituye con un grupo, el cual opcionalmente junto con el agente de unión celular, se selecciona entre:

- 35 -C(=O)NH-,  
 -C(=O)O-,  
 -NHC(=O)-,  
 -OC(=O)-,  
 -OC(=O)O-,  
 40 -NHC(=O)O-,  
 -OC(=O)NH-,  
 -NHC(=O)NH-,  
 -NHC(=O)NH,  
 -C(=O)NHC(=O)-,  
 45 -S-,

- S-S-
- CH<sub>2</sub>C(=O)-
- C(=O)CH<sub>2</sub>-
- =N-NH- y
- NH-N=.

5

En una realización, el grupo derivado de maleimida se sustituye con un grupo, el cual opcionalmente junto con el agente de unión celular, se selecciona entre:



10

donde la línea ondulada indica o el punto de unión al agente de unión celular o el enlace a la porción restante del grupo L o a la porción restante del grupo Y y el asterisco indica el otro punto de unión al agente de unión celular o el enlace a la porción restante del grupo L o a la porción restante del grupo Y.

15

Otros grupos que pueden usarse como L para conectar la porción restante del grupo Y al agente de unión celular se describen en el documento WO 2005/082023.

Por lo tanto, en las realizaciones de la presente invención, L es de fórmula:

20



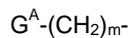
donde m es de 0 a 6 y  
L<sup>A</sup> se selecciona entre:

25

(L <sup>A1-1</sup> )		(L <sup>A6</sup> )	
(L <sup>A1-2</sup> )		(L <sup>A7</sup> )	
(L <sup>A2</sup> )		(L <sup>A8-1</sup> )	
(L <sup>A3-1</sup> )		(L <sup>A8-2</sup> )	
(L <sup>A3-2</sup> )		(L <sup>A9-1</sup> )	
(L <sup>A4</sup> )		(L <sup>A9-2</sup> )	
(L <sup>A5</sup> )			

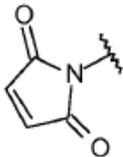
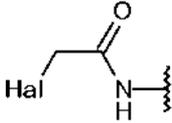
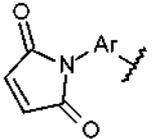
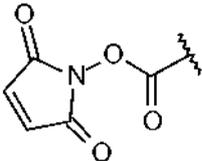
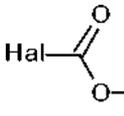
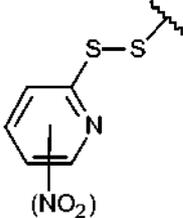
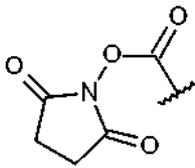
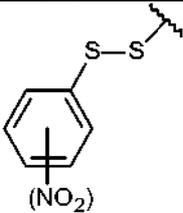
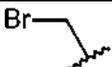
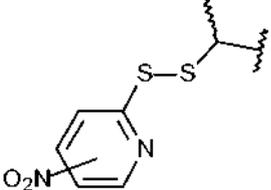
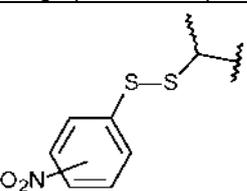
donde Ar representa un grupo arileno C<sub>5-6</sub>, por ejemplo fenileno.

Por lo tanto, en las realizaciones de la presente invención, G es de fórmula:



5 donde m es de 0 a 6 y

G<sup>a</sup> se selecciona entre:

(G <sup>A1-1</sup> )		(G <sup>A4</sup> )	 donde Hal = I, Br, Cl
(G <sup>A1-2</sup> )			
(G <sup>A2</sup> )		(G <sup>A5</sup> )	
(G <sup>A3-1</sup> )	 (NO <sub>2</sub> ) donde el grupo NO <sub>2</sub> es opcional	(G <sup>A6</sup> )	
(G <sup>a3-2</sup> )	 (NO <sub>2</sub> ) donde el grupo NO <sub>2</sub> es opcional	(G <sup>A7</sup> )	
(G <sup>a3-3</sup> )	 donde el grupo NO <sub>2</sub> es opcional	(G <sup>A8</sup> )	
(G <sup>A3-4</sup> )	 donde el grupo NO <sub>2</sub> es opcional	(G <sup>A9</sup> )	

donde Ar representa un grupo arileno C<sub>5-6</sub>, por ejemplo fenileno.

En algunas realizaciones, m puede ser 2 o 5.

## 5 Agente de unión a célula

Un agente de unión a célula puede ser de cualquier tipo e incluir péptidos y no péptidos. Estos pueden incluir anticuerpos o un fragmento de un anticuerpo que contiene al menos un sitio de unión, linfoquinas, hormonas, miméticos de hormonas, vitaminas, factores de crecimiento, moléculas de transporte de nutrientes, o cualquier otra molécula de unión a célula o sustancia.

### *Péptidos*

En una realización, el agente de unión a célula es un péptido lineal o cíclico que comprende 4-30, preferentemente 6-20, restos de aminoácidos contiguos. En esta realización, se prefiere que un agente de unión a célula esté ligado a un compuesto de pirrolobenzodiazepina monomérico o dimérico.

En una realización, el agente de unión a célula comprende un péptido que se une a integrina  $\alpha_v\beta_6$ . El péptido puede ser selectivo para  $\alpha_v\beta_6$  con respecto a XYS.

En una realización, el agente de unión a célula comprende el polipéptido A20FMDV-Cys. A20FMDV-Cys tiene la secuencia: NAVPNLRGDLQVLAQKVARTC. Como alternativa, puede usarse una variante de la secuencia de A20FMDV-Cys en la que uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez restos de aminoácidos están sustituidos con otro resto de aminoácido. Además, el polipéptido puede tener la secuencia NAVXXXXXXXXXXXXXXXXXRTC.

### *Anticuerpos*

El término "anticuerpo" en el presente documento se usa en el sentido más amplio y cubre específicamente anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, dímeros, multímeros, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), y fragmentos de anticuerpos, mientras que presenten la actividad biológica deseada (Miller y col. (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). Los anticuerpos pueden ser murinos, humanos, humanizados, quiméricos, o derivados de otras especies. Un anticuerpo es una proteína generada por el sistema inmunitario que puede reconocer y unirse a un antígeno específico. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5ª ed., Garland Publishing, Nueva York). Un antígeno diana generalmente tiene numerosos sitios de unión, también denominados epítopos, reconocidos por CDR sobre múltiples anticuerpos. Cada anticuerpo que se une específicamente a un epítipo diferente tiene una estructura diferente. Por tanto, Así, un antígeno puede tener más de un anticuerpo correspondiente. Un anticuerpo incluye una molécula de inmunoglobulina de longitud completa o una porción inmunológicamente activa de una molécula de inmunoglobulina de longitud completa, 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 se limitan a, célula cancerosa o células que producen anticuerpos autoinmunitarios asociados a una enfermedad autoinmunitaria. La inmunoglobulina puede ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD y IgA), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase de molécula de inmunoglobulina. Las inmunoglobulinas pueden derivarse de cualquier especie, que incluye origen humano, murino o de conejo.

Los "fragmentos de anticuerpos" comprenden una porción de un anticuerpo de longitud completa, generalmente la región de unión al antígeno o variable del mismo. Ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y scFv; diacuerpos; anticuerpos lineales; fragmentos producidos mediante una biblioteca de expresión de Fab, anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id), CDR (región determinante de la complementariedad) y fragmentos de unión al epítipo de cualquiera de los anteriores que se unen inespecíficamente a antígenos de células cancerosas, antígenos virales o antígenos microbianos, moléculas de anticuerpo monocatenarias; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

La expresión "anticuerpo monoclonal" tal como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos salvo por las posibles mutaciones que tienen lugar de manera natural que pueden estar presentes en pequeñas cantidades. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, dirigiéndose contra un solo sitio antigénico. Además, al contrario de las preparaciones de anticuerpos policlonales que incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un único determinante sobre el antígeno. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos porque pueden sintetizarse sin contaminar por otros anticuerpos. El modificador "monoclonal" indica la naturaleza del anticuerpo como obtenido de una población sustancialmente homogénea y no debe interpretarse como que requiere la producción del anticuerpo mediante cualquier procedimiento concreto. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que van a usarse según la presente invención pueden prepararse mediante el procedimiento de hibridoma descrito por primera vez por Kohler y col. (1975) *Nature* 256:495, o pueden prepararse

mediante procedimientos de ADN recombinante (véase el documento US 4816567). Los anticuerpos monoclonales también pueden aislarse de bibliotecas de anticuerpos de fago usando las técnicas descritas en Clackson y col. (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks y col. (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597, o de ratones transgénicos que llevan un sistema de inmunoglobulina completamente humana (Lonberg (2008) *Curr. Opin. Opin. Opin.* 20(4):450-459).

5 Los anticuerpos monoclonales en el presente documento incluyen específicamente anticuerpos “quiméricos” en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el grupo de la(s) cadena(s) es idéntico u homólogo a las secuencias correspondientes en los anticuerpos derivados de otra especie o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de dichos anticuerpos, en tanto que muestren la actividad biológica deseada (documento US 4816567; y Morrison y col. (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855). Los anticuerpos quiméricos incluyen anticuerpos “primatizados” que comprenden secuencias de unión al antígeno de dominio variable derivadas de un primate no humano (por ejemplo, mono del viejo mundo o simio superior) y secuencias de la región constante humanas.

15 Un “anticuerpo intacto” en el presente documento es uno que comprende un dominio VL y VH, además de un dominio constante de la cadena ligera (CL) y dominios constantes de la cadena pesada, CH1, CH2 y CH3. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de la secuencia nativa (por ejemplo, dominios constantes de la secuencia nativa humana) o variante de la secuencia de aminoácidos de la misma. El anticuerpo intacto puede tener una o más “funciones efectoras”, que se refiere a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc (una región Fc de la secuencia nativa o región Fc variante de la secuencia de aminoácidos) de un anticuerpo. Ejemplos de funciones efectoras de anticuerpos incluyen unión a C1q; citotoxicidad dependiente del complemento; unión al receptor Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC); fagocitosis; y regulación por disminución de receptores de la superficie celular tales como receptor de linfocitos B y BCR.

25 Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, pueden asignarse anticuerpos intactos a diferentes “clases”. Hay cinco clases principales de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varios de éstas pueden además dividirse en “subclases” (isotipos), *por ejemplo*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. Los dominios constantes de las cadenas pesadas que se corresponden con las diferentes clases de anticuerpos se denominan  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  y  $\mu$ , respectivamente. Las estructuras de subunidad y configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son muy conocidas.

#### *Humanización*

35 Las técnicas para reducir la inmunogenicidad in vivo de un anticuerpo no humano o fragmento de anticuerpo incluyen las denominadas “humanización”.

40 Un “anticuerpo humanizado” se refiere a un polipéptido que comprende al menos una porción de una región variable modificada de un anticuerpo humano en el que una porción de la región variable, preferentemente una porción sustancialmente inferior al dominio variable humano intacto, se ha sustituido con la secuencia correspondiente de una especie no humana y en la que la región variable modificada está unida a al menos otra parte de otra proteína, preferentemente la región constante de un anticuerpo humano. La expresión “anticuerpos humanizados” incluye anticuerpos humanos en los que uno o más restos de aminoácidos de la región determinante de la complementariedad (“CDR”) y/o uno o más restos de aminoácidos de la región estructural (“FW” o “FR”) están sustituidos por restos de aminoácidos de sitios análogos en roedores u otros anticuerpos no humanos. La expresión “anticuerpo humanizado” también incluye una variante de la secuencia de aminoácidos de inmunoglobulina o fragmento de la misma que comprende una FR que tiene sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana y una CDR que tiene sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina no humana.

50 Formas “humanizadas” de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) son anticuerpos quiméricos que contienen secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. O, visto de otra forma, un anticuerpo humanizado es un anticuerpo humano que también contiene secuencias seleccionadas de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) en lugar de las secuencias humanas. Un anticuerpo humanizado puede incluir sustituciones de aminoácidos conservativas o restos no naturales de las mismas especies o de especies diferentes que no alteran significativamente su unión y/o actividad biológica. Tales anticuerpos son anticuerpos quiméricos que contienen secuencia mínima derivada de inmunoglobulinas no humanas.

60 Hay varias técnicas de humanización, que incluyen 'injerto de CDR', 'selección guiada', 'desinmunización', 'acondicionamiento superficial' (también conocida como 'inactivación'), 'anticuerpos compuestos', 'optimización de contenidos de la cadena humana' y barajado de regiones estructurales.

#### Injerto de CDR

65 En esta técnica, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo del receptor) en las que los restos de una región determinante de la complementariedad (CDR) del anticuerpo del receptor están sustituidos

5 por restos de una CDR de una especie no humana (anticuerpo del donante) tal como ratón, rata, camello, bovino, cabra o conejo que tiene las propiedades deseadas (de hecho, las CDR no humanas están 'injetadas' sobre la región estructural humana). En algunos casos, los restos de la región estructural (FR) de la inmunoglobulina humana están sustituidos por restos no humanos correspondientes (esto puede ocurrir cuando, por ejemplo, un resto de FR particular tiene efecto significativo sobre la unión al antígeno).

10 Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender restos que ni se encuentran en el anticuerpo del receptor ni en las CDR importadas o secuencias de la región estructural. Estas modificaciones se hacen para refinar adicionalmente y maximizar el rendimiento del anticuerpo. Por tanto, en general, un anticuerpo humanizado comprenderá todos de al menos uno, y en un aspecto dos, dominios variables, dominios variables, en los que todos o todos los bucles hipervariables se corresponden con aquellos de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las regiones FR son aquellas de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado también comprenderá opcionalmente al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), o aquella de una inmunoglobulina humana.

#### 15 Selección guiada

20 El procedimiento consiste en combinar el dominio  $V_H$  o  $V_L$  de un anticuerpo no humano dado específico para un epítipo particular con una biblioteca de  $V_H$  o  $V_L$  humana y los dominios  $V$  humanos específicos se seleccionan contra el antígeno de interés. Este  $V_H$  humano seleccionado se combina entonces con una biblioteca de  $V_L$  para generar una combinación de  $V_H V_L$  completamente humana. El procedimiento se describe en Nature Biotechnology (N.Y.) 12, (1994) 899-903.

#### 25 Anticuerpos compuestos

30 En este método, dos o más segmentos de la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo humano se combinan dentro de la molécula de anticuerpo final. Se construyen combinando múltiples segmentos de la secuencia de  $V_H$  y  $V_L$  humana en combinaciones que limitan o evitan los epítopos de linfocitos T humanos en las regiones  $V$  de anticuerpos compuestos finales. Si se requiere, los epítopos de linfocitos T se limitan o evitan intercambiando segmentos de las regiones  $V$  que contribuyen a o que codifican un epítipo de linfocitos T con segmentos alternativos que evitan epítopos de linfocitos T. Este procedimiento se describe en el documento US 2008/0206239 A1.

#### 35 Desinmunización

40 Este procedimiento implica la eliminación de epítopos de linfocitos T humanos (u otra segunda especie) de las regiones  $V$  del anticuerpo terapéutico (u otra molécula). La secuencia de las regiones  $V$  de anticuerpos terapéuticos se analiza para la presencia de motivos de unión al MHC de clase II por, por ejemplo, comparación con bases de datos de motivos de unión al MHC (tales como la base de datos de "motivos" alojada en [www.wehi.edu.au](http://www.wehi.edu.au)). Como alternativa, los motivos de unión al MHC de clase II pueden identificarse usando procedimientos de plegamiento computacional tales como aquellos ideados por Altuvia y col. (J. Mol. Biol. 249 244-250 (1995)); en estos procedimientos, péptidos de solapamiento consecutivos de las secuencias de las regiones  $V$  están probándose para sus energías de unión a proteínas del MHC de clase II. Estos datos pueden entonces combinarse con información sobre otras características de secuencias que se refieren a péptidos satisfactoriamente presentados, tales como anfipaticidad, motivos de Rothbard y sitios de escisión para catepsina B y otras enzimas de procesamiento.

50 Una vez se han identificado posibles epítopos de linfocitos T de segundas especies (por ejemplo, humana), se eliminan por la alteración de uno o más aminoácidos. Los aminoácidos modificados están normalmente dentro del propio epítipo del linfocito T, pero también pueden estar adyacentes al epítipo en términos de la estructura primaria o secundaria de la proteína (y, por tanto, pueden no estar adyacentes en la estructura primaria). Muy normalmente, la alteración es a modo de sustitución pero, en algunas circunstancias, será más apropiada la adición o delección de aminoácidos.

55 Todas las alteraciones pueden llevarse a cabo por tecnología de ADN recombinante, de manera que la molécula final pueda prepararse por expresión de un huésped recombinante usando procedimientos bien establecidos tales como mutagénesis dirigida al sitio. Sin embargo, también es posible el uso de química de proteínas o cualquier otro medio de alteración molecular.

#### 60 Acondicionamiento superficial

Este procedimiento implica:

- 65 (a) determinar la estructura conformacional de la región variable del anticuerpo no humano (por ejemplo, roedor) (o fragmento del mismo) construyendo un modelo tridimensional de la región variable del anticuerpo no humano;
- (b) generar alineamientos de secuencias usando distribuciones de relativa accesibilidad a partir de estructuras cristalográficas de rayos X de un número suficiente de cadenas pesadas y ligeras de las regiones variables de

anticuerpos no humanos y humanos para dar un conjunto de posiciones de las regiones estructurales de las cadenas pesadas y ligeras en las que las posiciones de alineamiento son idénticas en el 98 % del número suficiente de cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos no humanos;

(c) definir para el anticuerpo no humano que va a humanizarse, un conjunto de restos de aminoácidos expuestos en la superficie de las cadenas pesadas y ligeras usando el conjunto de posiciones de la región estructural generadas en la etapa (b);

(d) identificar a partir de las secuencias de aminoácidos de anticuerpo humano un conjunto de restos de aminoácidos expuestos en la superficie de las cadenas pesadas y ligeras que es lo más estrechamente idéntico al conjunto de restos de aminoácidos expuestos en la superficie definidos en la etapa (c), en el que la cadena pesada y ligera del anticuerpo humano están o no están naturalmente apareadas;

(e) sustituir, en la secuencia de aminoácidos del anticuerpo no humano que va a humanizarse, el conjunto de restos de aminoácidos expuestos en la superficie de las cadenas pesadas y ligeras definido en la etapa (c) con el conjunto de restos de aminoácidos expuestos en la superficie de las cadenas pesadas y ligeras identificado en la etapa (d);

(f) construir un modelo tridimensional de la región variable del anticuerpo no humano resultante de la sustitución especificada en la etapa (e);

(g) identificar, comparando los modelos tridimensionales construidos en las etapas (a) y (f), cualquier resto de aminoácido de los conjuntos identificados en las etapas (c) o (d), que están dentro de 5 Angstroms de cualquier átomo de cualquier resto de las regiones determinantes de la complementariedad del anticuerpo no humano que va a humanizarse; y

(h) cambiar cualquier resto identificado en la etapa (g) del resto de aminoácido no humano original para así definir un conjunto humanizante de anticuerpos no humanos de restos de aminoácidos expuestos en la superficie; con la condición de que la etapa (a) no necesita realizarse primero, pero debe realizarse antes de etapa (g).

#### Superhumanización

El procedimiento compara la secuencia no humana con el repertorio de genes de la línea germinal humana funcional. Se seleccionan aquellos genes humanos que codifican estructuras canónicas idénticas o estrechamente relacionadas con las secuencias no humanas. Se eligen aquellos genes humanos seleccionados con la mayor homología dentro de las CDR como donantes de FR. Finalmente, las CDR no humanas se injertan sobre estas FR humanas. Este procedimiento se describe en la patente WO 2005/079479 A2.

#### Optimización de contenidos de la cadena humana

Este procedimiento compara la secuencia no humana (por ejemplo, de ratón) con el repertorio de genes de la línea germinal humana y las diferencias se puntúan como contenido de la cadena humana (HSC) que cuantifica una secuencia al nivel de posibles epítomos de MHC/linfocitos T. A continuación, la secuencia diana se humaniza maximizando su HSC en vez de usando una medida de identidad global para generar múltiples variantes humanizadas diversas (descritas en Molecular Immunology, 44, (2007) 1986-1998).

#### Barajado de regiones estructurales

Las CDR del anticuerpo no humano están fusionadas en marco con conjuntos de ADNc que engloban todas las regiones estructurales de genes de la línea germinal humana de cadenas pesadas y ligeras conocidas. A continuación, los anticuerpos humanizados se seleccionan, por ejemplo, por inmunopurificación de la biblioteca de anticuerpos expresados en fago. Esto se describe en Methods 36, 43-60 (2005).

Ejemplos de agentes de unión a célula incluyen aquellos agentes descritos para su uso en el documento WO 2007/085930, que se incorpora en el presente documento.

A continuación se enumeran antígenos asociados a tumor y anticuerpos relacionados para su uso en realizaciones de la presente invención.

#### ANTÍGENOS ASOCIADOS A TUMOR Y ANTICUERPOS RELACIONADOS

(1) *BMPR1B* (receptor de la proteína morfogenética ósea tipo IB)

#### Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_001203

Versión de Genbank nº NM\_001203.2 GI:169790809

Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de septiembre de 2012 02:06 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_001194

Versión de Genbank nº NP\_001194.1 GI:4502431

5 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de septiembre de 2012 02:06 PM

Referencias cruzadas

10 Ten Dijke, P., y col., Science 264 (5155): 101-104 (1994), Oncogene 14 10 (11): 1377-1382 (1997); documentos  
 WO2004/063362 (reivindicación 2); WO2003/042661 (reivindicación 12);  
 US2003/134790-A1 (página 38-39); WO2002/102235 (reivindicación 13; página 296); WO2003/055443 (página 91-  
 92); WO2002/99122 (Ejemplo 2; páginas 528-530); WO2003/029421 (reivindicación 6); WO2003/024392  
 (reivindicación 2; Fig. 112); WO2002/98358 (reivindicación 1; página 183); WO2002/54940 (página 100-101);  
 15 WO2002/59377 (página 349-350); WO2002/30268 (reivindicación 27; página 376); 15 WO2001/48204 (Ejemplo; Fig.  
 4); NP\_001194 receptor de la proteína morfogenética ósea, tipo IB /pid=NP\_001194.1.; MIM:603248; AY065994  
 (2) E16 (LAT1, SLC7A5)

Nucleótido

20 Nº de registro de GenBank NM\_003486

Versión de Genbank nº NM\_003486.5 GI:71979931

Fecha de actualización del registro de GenBank: 27 de junio de 2012 12:06 PM

Polipéptido

25

Nº de registro de GenBank NP\_003477

Versión de Genbank nº NP\_003477.4 GI:71979932

Fecha de actualización del registro de GenBank: 27 de junio de 2012 12:06 PM

30 Referencias cruzadas *Biochem. Biophys. Res.*

*Commun.* 255 (2), 283-288 (1999), *Nature* 395 (6699):288-291 (1998), Gaugitsch, H.W., y 20 a/ (1992) *J. Biol.*  
*Chem.* 267 (16):11267-11273; documentos WO2004/048938 (Ejemplo 2); WO2004/032842 (Ejemplo IV);  
 35 WO2003/042661 (reivindicación 12); WO2003/016475 (reivindicación 1); WO2002/78524 (Ejemplo 2);  
 WO2002/99074 (reivindicación 19; páginas 127-129); WO2002/86443 (reivindicación 27; Páginas 222, 393);  
 WO2003/003906 (reivindicación 10; página 293); WO2002/64798 (reivindicación 33; páginas 93-95); WO2000/14228  
 (reivindicación 5; páginas 133-136); US2003/224454 (Fig 3); 25 WO2003/025138 (reivindicación 12; página 150);  
 NP\_003477 familia 7 de transportadores de solutos (transportador de aminoácidos catiónicos,  
 y+system), miembro 5 /pid=NP\_003477.3 - Homo sapiens;  
 40 MIM:600182; documento NM\_015923.

(3) STEAP1 (antígeno epitelial de seis transmembranas de la próstata)

Nucleótido

45

Nº de registro de GenBank NM\_012449

Versión de Genbank nº NM\_012449.2 GI:22027487

Fecha de actualización del registro de GenBank: 9 de septiembre de 2012 02:57 PM

Polipéptido

50

Nº de registro de GenBank NP\_036581

Versión de Genbank nº NP\_036581.1 GI:9558759

Fecha de actualización del registro de GenBank: 9 de septiembre de 2012 02:57 PM

55

Referencias cruzadas

60 *Cancer Res.* 61 (15), 5857-5860 (2001), Hubert, R.S., y col., (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (25): 14523-  
 14528; WO2004/065577 (reivindicación 6); WO2004/027049 (Fig 1L); EP1394274 (Ejemplo 11); WO2004/016225  
 (reivindicación 2); WO2003/042661 (reivindicación 12); documentos US2003/157089 (Ejemplo 5); documentos  
 US2003/185830 (Ejemplo 5); US2003/064397 (Fig. 2); WO2002/89747 (Ejemplo 5; páginas 618-619);  
 WO2003/022995 (Ejemplo 9; Fig. 13A, 35 Ejemplo 53; página 173, Ejemplo 2; Fig. 2A); antígeno epitelial de seis  
 transmembrana de la próstata; MIM:604415.  
 (4) 0772P (CA125, MUC16)

65

Nucleótido

Nº de registro de GenBank AF361486  
 Versión de Genbank nº AF361486.3 GI:34501466  
 5 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 07:56 AM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAK74120  
 10 Versión de Genbank nº AAK74120.3 GI:34501467  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 07:56 AM

Referencias cruzadas

15 *J. Biol. Chem.* 276 (29):27371-27375 (2001)); WO2004/045553 (reivindicación 14); WO2002/92836 (reivindicación 6; Fig. 12); WO2002/83866 (reivindicación 15; páginas 116-121); documentos US2003/124140 (Ejemplo 16); GI:34501467;

20 **(5) MPF (MPF, MSLN, SMR, factor potenciador de megacariocitos, mesotelina)**

Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_005823  
 Versión de Genbank nº NM\_005823.5 GI:293651528  
 25 Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de septiembre de 2012 01:47 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_005814  
 30 Versión de Genbank nº NP\_005814.2 GI:53988378  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de septiembre de 2012 01:47 PM

Referencias cruzadas

35 Yamaguchi, N., y col. *Biol. Chem.* 269 (2), 805-808 (1994), *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (20):11531-11536 (1999), *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93 10 (1):136-140 (1996), *J. Biol. Chem.* 270 (37):21984-21990 (1995)); WO2003/101283 (reivindicación 14); (WO2002/102235 (reivindicación 13; páginas 287-288); WO2002/101075 (reivindicación 4; páginas 308-309); WO2002/71928 (página 320-321); WO94/10312 (página 52-57); IM:601051.

40 **(6) Napi3b (NAPI-3B, NPTIIb, SLC34A2, familia 34 de transportadores de solutos (fosfato de sodio), miembro 2, transportador 3b de fosfato dependiente de sodio tipo II)**

Nucleótido

45 Nº de registro de GenBank NM\_006424  
 Versión de Genbank nº NM\_006424.2 GI:110611905  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 22 de julio de 2012 03:39 PM

Polipéptido

50 Nº de registro de GenBank NP\_006415  
 Versión de Genbank nº NP\_006415.2 GI:110611906  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 22 de julio de 2012 03:39 PM

Referencias cruzadas

60 *J. Biol. Chem.* 277 (22): 19665-19672 (2002), *Genomics* 62 (2):281-284 (1999), Feild, JA, y col (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 258 (3):578-582); WO2004/022778 (reivindicación 2); EP1394274 (Ejemplo 11); WO2002/102235 (reivindicación 13; páginas 20 326); EP0875569 (reivindicación 1; páginas 17-19); WO2001/57188 (reivindicación 20; página 329); WO2004/032842 (Ejemplo IV); WO2001/75177 (reivindicación 24; páginas 139-140); MIM:604217.

65 **(7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, semaforina 5b Hlog, 25 dominio sema, siete repeticiones de trombospondina (tipo 1 y similares a tipo 1), dominio transmembrana (TM) y dominio citoplásmico corto, (semaforina) 5B)**

Nucleótido

Nº de registro de GenBank AB040878  
 Versión de Genbank nº AB040878.1 GI:7959148  
 5 Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de agosto de 2006 05:40 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank BAA95969  
 10 Versión de Genbank nº BAA95969.1 GI:7959149  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de agosto de 2006 05:40 PM

Referencias cruzadas

15 Nagase T., y col (2000) *DNA Res.* 7 (2): 143-150; WO2004/000997 (reivindicación 1); WO2003/003984 (reivindicación 1); WO2002/06339 (reivindicación 1; página 50); WO2001/88133 (reivindicación 1; páginas 41-43, 48-58); WO2003/054152 (reivindicación 20); WO2003/101400 (reivindicación 11); Registro: 30 Q9P283; Genew; HGNC:10737

20 **(8)** PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008016Rik, ADNc de RIKEN 2700050C12, ADNc de RIKEN gen 2700050C12)

Nucleótido

Nº de registro de GenBank AY358628  
 25 Versión de Genbank nº AY358628.1 GI:37182377  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 1 de diciembre de 2009 04:15 AM

Polipéptido

30 Nº de registro de GenBank AAQ88991  
 Versión de Genbank nº AAQ88991.1 GI:37182378  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 1 de diciembre de 2009 04:15 AM

Referencias cruzadas

35 Ross y col. (2002) *Cancer Res.* 62:2546-2553; US2003/129192 (reivindicación 2); US2004/044180 (reivindicación 12); US2004/044179 35 (reivindicación 11); US2003/096961 (reivindicación 11); documentos US2003/232056 (Ejemplo 5); WO2003/105758 16 (reivindicación 12); documentos US2003/206918 (Ejemplo 5); EP1347046 (reivindicación 1); WO2003/025148 (reivindicación 20); GI:37182378.

40 **(9)** ETBR (receptor tipo B de endotelina)

Nucleótido

45 Nº de registro de GenBank AY275463  
 Versión de Genbank nº AY275463.1 GI:30526094  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 02:26 AM

Polipéptido

50 Nº de registro de GenBank AAP32295  
 Versión de Genbank nº AAP32295.1 GI:30526095  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 02:26 AM

55 Referencias cruzadas

Nakamuta M., y col *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 177, 34-39, 1991; Ogawa Y., y col *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 178, 248-255, 1991; Arai H., y col. *Jpn. Circ. J.* 56, 1303-1307, 1992; Arai H., y col *J. Biol. Chem.* 268, 3463-3470, 1993; Sakamoto A., Yanagisawa M., y col *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 178, 656-663, 1991; Elshourbagy N.A., y col *J. Biol. Chem.* 268, 3873-3879, 1993; Haendler B., y col *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 20, s1-S4, 1992; Tsutsumi M., y col *Gene* 228, 43-49, 1999; Strausberg R.L., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 16899-16903, 2002; Bourgeois C., y col *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 3116-3123, 1997;

65 Okamoto Y., y col. *Biol. Chem.* 272, 21589-21596, 1997; Verheij J.B., y col *Am. J. Pathol. Genet.* 108, 223-225, 2002; Hofstra R.M.W., y col *Eur. J. Hum. Genet.* 5, 180-185, 1997; Puffenberger E.G., et al *Cell* 79, 1257-1266, 1994; Attie T., y col., *Hum. Mol. Genet.* 4, 2407-15 2409, 1995; Auricchio A., y col *Hum. Mol. Genet.* 5:351-354,

1996; Amiel J., y col *Hum. Mol. Genet.* 5, 355-357, 1996; Hofstra R.M.W., y col *Nat. Genet.* 12, 445-447, 1996; Svensson P.J., y col *Hum. Genet.* 103, 145-148, 1998; Fuchs S., y col *Mol. Med.* 7, 115-124, 2001; Pingault V., y col., (2002) *Hum. Genet.* 111, 198-206; WO2004/045516 (reivindicación 1); documentos WO2004/048938 (Ejemplo 2); WO2004/040000 (reivindicación 151); WO2003/087768 (reivindicación 1); 20 WO2003/016475 (reivindicación 1);

- 5 WO2003/016475 (reivindicación 1); WO2002/61087 (Fig. 1); WO2003/016494 (Fig. 6); WO2003/025138 (reivindicación 12; página 144); WO2001/98351 (reivindicación 1; páginas 124-125); EP0522868 (reivindicación 8; Fig. 2); WO2001/77172 (reivindicación 1; páginas 297-299); US2003/109676; US6518404 (Fig. 3); US5773223 (reivindicación 1a; Col 31-34 ); y documento WO2004/001004.
- 10 **(10)** MSG783 (RNF124, proteína hipotética FLJ20315)

Nucleótido

- 15 N° de registro de GenBank NM\_017763  
 Versión de Genbank n° NM\_017763.4 GI:167830482  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 22 de julio de 2012 12:34 AM

Polipéptido

- 20 N° de registro de GenBank NP\_060233  
 Versión de Genbank n° NP\_060233.3 GI:56711322  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 22 de julio de 2012 12:34 AM

Referencias cruzadas

- 25 documentos WO2003/104275 (reivindicación 1); WO2004/046342 (Ejemplo 2); WO2003/042661 (reivindicación 12); WO2003/083074 (reivindicación 14; página 61); WO2003/018621 (reivindicación 1); WO2003/024392 (reivindicación 2; Fig. 93); WO2001/66689 (Ejemplo 6); LocusID:54894.

- 30 **(11)** *STEAP2 (HGNC\_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, gen 1 asociado al cáncer de próstata, proteína 1 asociada al cáncer de próstata, antígeno epitelial de seis transmembrana de próstata 2, proteína de próstata de seis transmembrana)*

Nucleótido

- 35 N° de registro de GenBank AF455138  
 Versión de Genbank n° AF455138.1 GI:22655487  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 01:54 AM

Polipéptido

- 40 N° de registro de GenBank AAN04080  
 Versión de Genbank n° AAN04080.1 GI:22655488  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 01:54 AM

Referencias cruzadas

- 45 Lab. Invest. 82 (11 ):1573-1582 (2002)); WO2003/087306; US2003/064397 (reivindicación 1; Fig. 1); WO2002/72596 (reivindicación 13; páginas 54-55); WO2001/72962 (reivindicación 1; Fig. 4B); 35 WO2003/104270 (reivindicación 11); WO2003/104270 (reivindicación 16); US2004/005598 (reivindicación 22); WO2003/042661 (reivindicación 12); US2003/060612 (reivindicación 12; Fig. 10); WO2002/26822 (reivindicación 23; Fig. 2); WO2002/16429 (reivindicación 12; Fig. 10); GI:22655488.

- 55 **(12)** *TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, canales 5 catiónicos de potencial de receptores transitorios, subfamilia M, miembro 4)*

Nucleótido

- 60 N° de registro de GenBank NM\_017636  
 Versión de Genbank n° NM\_017636.3 GI:304766649  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 29 de junio de 2012 11:27 AM

Polipéptido

- 65 N° de registro de GenBank NP\_060106  
 Versión de Genbank n° NP\_060106.2 GI:21314671

Fecha de actualización del registro de GenBank: 29 de junio de 2012 11:27 AM

Referencias cruzadas

5 Xu, X.Z., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98 (19):10692-10697 (2001)), *Cell* 109 (3):397-407 (2002), *J. Biol. Chem.* 278 (33):30813-30820 (2003)); US2003/143557 (reivindicación 4); WO2000/40614 (reivindicación 14; páginas 100-103); WO2002/10382 (reivindicación 1; Fig. 9A); WO2003/042661 (reivindicación 12); WO2002/30268 (reivindicación 27; página 391); US2003/219806 (reivindicación 4); WO2001/62794 (reivindicación 10 14; Fig. 1A-D); MIM:606936.

10

**(13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, factor de crecimiento derivado de teratocarcinoma)**

Nucleótido

15

Nº de registro de GenBank NM\_003212  
 Versión de Genbank nº NM\_003212.3 GI:292494881  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de septiembre de 2012 02:27 PM

Polipéptido

20

Nº de registro de GenBank NP\_003203  
 Versión de Genbank nº NP\_003203.1 GI:4507425  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de septiembre de 2012 02:27 PM

25

Referencias cruzadas

Ciccodicola, A., y col., *EMBO J.* 8 (7): 1987-1991 (1989), *Am. J. Hum. Genet.* 49 (3):555-565 (1991)); US2003/224411 (reivindicación 1); WO2003/083041 (Ejemplo 1); WO2003/034984 (reivindicación 12); WO2002/88170 (reivindicación 2; páginas 52-53); WO2003/024392 (reivindicación 2; Fig. 58); WO2002/16413 (reivindicación 1; páginas 94-95, 105); WO2002/22808 (reivindicación 2; Fig. 1); US5854399 (Ejemplo 2; Col 17-18 ); US5792616 (Fig. 2); MIM:187395.

30

**(14) CD21 (CR2 (receptor del complemento 2) o C3DR (C3d/receptor de virus de Epstein Barr) o Hs.73792)**

35

Nucleótido

Nº de registro de GenBank M26004  
 Versión de Genbank nº M26004.1 GI: 181939  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 AM

40

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA35786  
 Versión de Genbank nº AAA35786.1 GI:181940  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 AM

45

Referencias cruzadas

Fujisaku y col (1989) *J. Biol. Chem.* 264 (4):2118-2125); Weis J.J., y col *J. Exp. Med.* 167, 1047-1066, 1988; Moore M., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84, 9194-9198, 1987; Barel M., y col *Mol. Immunol.* 35, 1025-1031, 1998; Weis J.J., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83, 5639-5643, 1986; Sinha S.K., y col (1993) *J. Immunol.* 150, 5311-5320; WO2004/045520 (Ejemplo 4); US2004/005538 (Ejemplo 1); WO2003/062401 (reivindicación 9); WO2004/045520 (Ejemplo 4); WO91/02536 (Fig 9.1-9.9); WO2004/020595 (reivindicación 1); Registro: P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; documento AAA35786.1.

55

**(15) CD79b (CD79B, CD79 $\beta$ , Igb (beta asociada a inmunoglobulina), B29)**

Nucleótido

60

Nº de registro de GenBank NM\_000626  
 Versión de Genbank nº NM\_000626.2 GI:90193589  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 26 de junio de 2012 01:53 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_000617

Versión de Genbank nº NP\_000617.1 GI:11038674

5 Fecha de actualización del registro de GenBank: 26 de junio de 2012 01:53 PM

Referencias cruzadas

10 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2003) 100 (7):4126-4131, *Blood* (2002) 100 (9):3068-3076, Muller y col (1992) *Eur. J. Immunol.* 22 (6):1621-1625; WO2004/016225 (reivindicación 2, Fig. 140); WO2003/087768, US2004/101874 (reivindicación 1, página 102); WO2003/062401 (reivindicación 9); WO2002/78524 (Ejemplo 2); US2002/150573 (reivindicación 35 5, página 15); US5644033; WO2003/048202 (reivindicación 1, páginas 306 y 309); WO 99/58658, US6534482 (reivindicación 13, Fig. 17A/B); WO2000/55351 (reivindicación 11, páginas 1145-1146); MIM:147245

15 **(16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (dominio SH2 que contiene proteína 5 de anclaje a fosfatasa 1a), SPAP1B, SPAP1C)**

Nucleótido

20 Nº de registro de GenBank NM\_030764

Versión de Genbank nº NM\_030764.3 GI:227430280

Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de junio de 2012 12:30 AM

Polipéptido

25

Nº de registro de GenBank NP\_110391

Versión de Genbank nº NP\_110391.2 GI:19923629

Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de junio de 2012 12:30 AM

Referencias cruzadas

30 AY358130); *Genome Res.* 13 (10):2265-2270 (2003)), *Immunogenetics* 54 (2):87-95 (2002), *Blood* 99 (8):2662-2669 (2002), *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98 (17):9772-9777 (2001)), Xu, M.J., y col (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280(3):768-775; WO2004/016225 (reivindicación 2); WO2003/077836; WO2001/38490 (reivindicación 5); Fig. 18D-1-18D-2); WO2003/097803 (reivindicación 12); 10 WO2003/089624 (reivindicación 25); MIM:606509.

**(17) HER2 (ErbB2)**Nucleótido

40 Nº de registro de GenBank M11730

Versión de Genbank nº M11730.1 GI: 183986

Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 AM

45

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA75493

Versión de Genbank nº AAA75493.1 GI:306840

50 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 AM

Referencias cruzadas

55 Coussens L., y col. *Science* (1985) 230( 4730): 1132-1139); Yamamoto T., y col *Nature* 319, 230-234, 1986; Semba K., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82, 6497-6501, 1985; Swiercz J.M., y col. *J. Cell Biol.* 165, 869-15 880, 2004; Kuhns J.J., y col *J. Biol. Chem.* 274, 36422-36427, 1999; Cho H.-S., y col. *Nature* 421, 756-760, 2003; Ehsani A., y col. (1993) *Genomics* 15, 426-429; WO2004/048938 (Ejemplo 2); WO2004/027049 (Fig. 11); WO2004/009622; WO2003/081210; WO2003/089904 (reivindicación 9); WO2003/016475 (reivindicación 1); US2003/118592; WO2003/008537 (reivindicación 1); WO2003/055439 (reivindicación 29; Fig. 1A-B); WO2003/025228 (reivindicación 37; Fig. 5C); 20 WO2002/22636 (Ejemplo 13; páginas 95-107); WO2002/12341 (reivindicación 68; Fig. 7); WO2002/13847 (página 71-74); WO2002/14503 (página 114-117); WO2001/53463 (reivindicación 2; páginas 41-46); WO2001/41787 (página 15); WO2000/44899 (reivindicación 52; Fig. 7); WO2000/20579 (reivindicación 3; Fig. 2); US5869445 (reivindicación 3; Col 31-38 ); WO9630514 (reivindicación 2; páginas 56-61); EP1439393 (reivindicación 7); WO2004/043361 (reivindicación 7); WO2004/022709; WO2001/00244 25 (Ejemplo 3; Fig. 4); Registro: P04626; EMBL; M11767; documento AAA35808.1. EMBL; M11761; AAA35808.1

65

ANTICUERPOS

Abbott: Documento US20110177095

5 Por ejemplo, un anticuerpo que comprende CDR que tiene en general al menos el 80 % de identidad de secuencias con CDR que tienen secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:104 y/o SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO: 7 (CDR-L2) y SEQ ID NO: 8 (CDR-L3), en el que el anticuerpo anti-HER2 o fragmento de unión anti-HER2 tiene inmunogenicidad reducida en comparación con un anticuerpo que tiene una VH de SEQ ID NO: 1 y una VL de SEQ ID NO: 2.

10 Biogen: Documento US20100119511

Por ejemplo, números de registro de ATCC: PTA-10355, PTA-10356, PTA-10357, PTA-10358

15 Por ejemplo, una molécula de anticuerpo purificada que se une a HER2 que comprende las seis CDR de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en BIIB71F10 (SEQ ID NOs:11, 13), BIIB69A09 (SEQ ID NOs:15, 17); BIIB67F10 (SEQ ID NOs:19, 21); BIIB67F11 (SEQ ID NOs:23, 25), BIIB66A12 (SEQ ID NOs:27, 29), BIIB66C01 (SEQ ID NOs:31, 33), BIIB65C10 (SEQ ID NOs:35, 37), BIIB65H09 (SEQ ID NOs:39, 41) y BIIB65B03 (SEQ ID NOs:43, 45), o CDR que son idénticas o que tienen no más de dos alteraciones de dichas CDR.

20 Herceptin (Genentech) – Documento US6.054.297; nº de registro de ATCC CRL-10463 (Genentech)

Pertuzumab (Genentech)

US20110117097

25 por ejemplo, véase SEQ IDs No. 15 y 16, SEQ IDs No. 17 y 18, SEQ IDs No. 23 y 24 y números de registro de ATCC HB-12215, HB-12216, CRL 10463, documento HB-12697.

US20090285837

US20090202546

por ejemplo, números de registro de ATCC: HB-12215, HB-12216, CRL 10463, documento HB-12698.

US20060088523

30 - por ejemplo, números de registro de ATCC: HB-12215, HB-12216  
 - por ejemplo, un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos ligeras variables y pesadas variables en SEQ ID NOs. 3 y 4, respectivamente.  
 35 - por ejemplo, un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera seleccionada de SEQ ID NO. 15 y 23 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada seleccionada de SEQ ID NO. 16 y 24

Documento US20060018899

40 - por ejemplo, números de registro de ATCC: (7C2) HB-12215, (7F3) HB-12216, (4D5) CRL-10463, (2C4) HB-12697.  
 - por ejemplo, un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos en SEQ ID NO. 23, o una variante desamidada y/u oxidada del mismo.

45 Documento US2011/0159014

- por ejemplo, un anticuerpo que tiene un dominio variable de la cadena ligera que comprende las regiones hipervariables de SEQ ID NO: 1.  
 50 - Por ejemplo, un anticuerpo que tiene un dominio variable de la cadena pesada que comprende las regiones hipervariables de SEQ ID NO: 2.

Documento US20090187007

Glycotope: anticuerpo TrasGEX <http://www.glycotope.com/pipeline>

55 Por ejemplo, véase International Joint Cancer Institute and Changhai Hospital Cancer Cent: HMTI-Fc Ab - Gao J., y col., BMB Rep. 2009 Oct 31;42(10):636-41.

Symphogen: Documento US20110217305

60 Union Stem Cell & Gene Engineering, China - Liu HQ., y col., Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. Mayo de 2010;26(5):456-8.

**(18) NCA (CEACAM6)**

65 Nucleótido

Nº de registro de GenBank M18728  
 Versión de Genbank nº M18728.1 GI:189084  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:48 AM

5 Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA59907  
 Versión de Genbank nº AAA59907.1 GI:189085  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:48 AM

10

Referencias cruzadas

Barnett T., y col *Genomics* 3, 59-66, 1988; Tawaragi Y., y col *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 150, 89-96, 1988; Strausberg R.L., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99:16899-16903, 2002; WO2004/063709; EP1439393 (reivindicación 7); WO2004/044178 (Ejemplo 4); WO2004/031238; WO2003/042661 (reivindicación 12); WO2002/78524 (Ejemplo 2); WO2002/86443 (reivindicación 27; página 427); WO2002/60317 (reivindicación 2); Registro: P40199; Q14920; EMBL; M29541; documento AAA59915.1.

15

EMBL; documento M18728.

20

**(19) MDP (DPEP1)**

Nucleótido

Nº de registro de GenBank BC017023  
 Versión de Genbank nº BC017023.1 GI:16877538  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 6 de marzo de 2012 01:00 PM

25

Polipéptido

30

Nº de registro de GenBank AAH17023  
 Versión de Genbank nº AAH17023.1 GM6877539  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 6 de marzo de 2012 01:00 PM

35

Referencias cruzadas

*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99 (26): 16899-16903 (2002); WO2003/016475 (reivindicación 1); WO2002/64798 (reivindicación 33; páginas 85-87); JP05003790 (Fig. 6-8); WO99/46284 (Fig. 9); MIM:179780.

40

**(20) IL20R-alfa (IL20Ra, ZCYTOR7)**

Nucleótido

Nº de registro de GenBank AF184971  
 Versión de Genbank nº AF184971.1 GI:6013324  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de marzo de 2010 10:00 PM

45

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAF01320  
 Versión de Genbank nº AAF01320.1 GI:6013325  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de marzo de 2010 10:00 PM

50

Referencias cruzadas

55

Clark H.F., y col. *Genome Res.* 13, 2265-2270, 2003; Mungall A.J., y col. *Nature* 425, 805-811, 2003; Blumberg H., y col. *Cell* 104, 9-19, 2001; Dumoutier L., y col. *J. Immunol.* 167, 3545-3549, 2001; Parrish-Novak J., y col. *J. Biol. Chem.* 277, 47517-47523, 2002; Pletnev S., y col. (2003) 10 *Biochemistry* 42:12617-12624; Sheikh F., y col (2004) *J. Immunol.* 172, 2006-2010; EP1394274 (Ejemplo 11); US2004/005320 (Ejemplo 5); WO2003/029262 (página 74-75); WO2003/002717 (reivindicación 2; página 63); WO2002/22153 (página 45-47); US2002/042366 (página 20-21); WO2001/46261 (página 57-59); WO2001/46232 (página 63-65); WO98/37193 (reivindicación 1; páginas 55-59); Registro: Q9UHF4; Q6UWA9; Q96SH8; EMBL; AF184971; documento AAF01320.1.

60

**(21) Brevicano (BCAN, BEHAB)**

65

Nucleótido

Nº de registro de GenBank AF229053  
 Versión de Genbank nº AF229053.1 GI:10798902  
 5 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 12:58 AM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAG23135  
 10 Versión de Genbank nº AAG23135.1 GM0798903  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 12:58 AM

Referencias cruzadas

15 Gary S.C., y col *Gene* 256, 139-147, 2000; Clark H.F., y col. *Genome Res.* 13, 2265-2270, 2003; Strausberg R.L., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 16899-16903, 2002; US2003/186372 (reivindicación 11); US2003/186373 (reivindicación 11); US2003/119131 (reivindicación 1; Fig. 52); US2003/119122 (reivindicación 1; 20 Fig. 52); US2003/119126 (reivindicación 1); US2003/119121 (reivindicación 1; Fig. 52); US2003/119129 (reivindicación 1); US2003/119130 (reivindicación 1); US2003/119128 (reivindicación 1; Fig. 52); US2003/119125 (reivindicación 1);  
 20 WO2003/016475 (reivindicación 1); WO2002/02634 (reivindicación 1)

**(22) EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5)**

Nucleótido

25 Nº de registro de GenBank NM 004442  
 Versión de Genbank nº NM\_004442.6 GI: 111118979  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 8 de septiembre de 2012 04:43 PM

Polipéptido

30 Nº de registro de GenBank NP\_004433  
 Versión de Genbank nº NP\_004433.2 GI:21396504  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 8 de septiembre de 2012 04:43 PM

Referencias cruzadas

40 Chan, J. y Watt, V.M., *Oncogene* 6 (6), 1057-1061 (1991) *Oncogene* 10 (5):897-905 (1995), *Annu. Rev. Neurosci.* 21:309-345 (1998), *Int. Rev. Cytol.* 196:177-244 (2000)); WO2003042661 (reivindicación 12); WO200053216 (reivindicación 1; página 41); WO2004065576 (reivindicación 1); WO2004020583 (reivindicación 9); WO2003004529 (página 128-132); WO200053216 (reivindicación 1; página 42); MIM:600997.

**(23) ASLG659 (B7h)**

Nucleótido

45 Nº de registro de GenBank AX092328  
 Versión de Genbank nº AX092328.1 GI:13444478  
 50 Fecha de actualización del registro de GenBank: 26 de enero de 2011 07:37 AM

Referencias cruzadas

55 US2004/0101899 (reivindicación 2); WO2003104399 (reivindicación 11); WO2004000221 (Fig. 3); US2003/165504 (reivindicación 1); US2003/124140 (Ejemplo 2); US2003/065143 (Fig. 60); WO2002/102235 (reivindicación 13; página 299); US2003/091580 (Ejemplo 2); WO2002/10187 (reivindicación 6; Fig. 10); WO2001/94641 (reivindicación 12; Fig. 7b); WO2002/02624 (reivindicación 13; Fig. 1A-1B); US2002/034749 (reivindicación 54; páginas 45-46); WO2002/06317 (Ejemplo 2; páginas 320-321, reivindicación 34; páginas 321-322); WO2002/71928 (página 468-469); WO2002/02587 (Ejemplo 1; Fig. 1); WO2001/40269 (Ejemplo 3; Páginas 190-192); WO2000/36107 (Ejemplo 2; páginas 205-207); WO2004/053079 (reivindicación 12); WO2003/004989 (reivindicación 1); WO2002/71928 (páginas 233-234, 452-453); WO 01/16318.

**(24) PSCA (precursor de antígenos citoblásticos de la próstata)**

Nucleótido

65 Nº de registro de GenBank AJ297436

Versión de Genbank nº AJ297436.1 GI:9367211

Fecha de actualización del registro de GenBank: 1 de febrero de 2011 11:25 AM

Polipéptido

5

Nº de registro de GenBank CAB97347

Versión de Genbank nº CAB97347.1 GI:9367212

Fecha de actualización del registro de GenBank: 1 de febrero de 2011 11:25 AM

10 Referencias cruzadas

Reiter R.E., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 1735-1740, 1998; Gu Z., y col. *Oncogene* 19, 1288-1296, 2000; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2000) 275(3):783-788; WO2004/022709; EP1394274 (Ejemplo 11); US2004/018553 (reivindicación 17); WO2003/008537 (reivindicación 1); WO2002/81646 (reivindicación 1; página 164); WO2003/003906 (reivindicación 10; página 288); WO2001/40309 (Ejemplo 1; Fig. 17); US2001/055751 (Ejemplo 1; Fig. 1b); WO2000/32752 (reivindicación 18; Fig. 1); WO98/51805 (reivindicación 17; página 97); WO98/51824 (reivindicación 10; página 94); WO98/40403 (reivindicación 2; Fig. 1B); Registro: 043653; EMBL; AF043498; Documento AAC39607.1

20 **(25) GEDA**

Nucleótido

Nº de registro de GenBank AY260763

25 Versión de Genbank nº AY260763.1 GI:30102448

Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 02:24 AM

Polipéptido

30 Nº de registro de GenBank AAP14954

Versión de Genbank nº AAP14954.1 GI:30102449

Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 02:24 AM

Referencias cruzadas

35

Proteína similar al componente de fusión del lipoma HMGIC AP14954 /pid=AAP14954.1 - Homo sapiens (humano); documentos WO2003/054152 (reivindicación 20); WO2003/000842 (reivindicación 1); WO2003/023013 (Ejemplo 3, reivindicación 20); US2003/194704 (reivindicación 45); GI:30102449;

40 **(26) BAFF-R (receptor del factor activante de linfocitos B, receptor 3 de BLyS, BR3)**

Nucleótido

Nº de registro de GenBank AF116456

45 Versión de Genbank nº AF116456.1 GI:4585274

Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de marzo de 2010 09:44 PM

Polipéptido

50 Nº de registro de GenBank AAD25356

Versión de Genbank nº AAD25356.1 GI:4585275

Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de marzo de 2010 09:44 PM

Referencias cruzadas

55

Receptor de BAFF /pid=NP\_443177.1 - Homo sapiens: Thompson, J.S., y col., *Science* 293 (5537), 2108-2111 (2001); WO2004/058309; WO2004/011611; WO2003/045422 (Ejemplo; páginas 32-33); WO2003/014294 (reivindicación 35; Fig. 6B); WO2003/035846 (reivindicación 70; páginas 615-616); WO2002/94852 (Col 136-137); WO2002/38766 25 (reivindicación 3; página 133); WO2002/24909 (Ejemplo 3; Fig. 3); MIM:606269; NP\_443177.1; NM\_052945\_1; Documento AF132600

60

**(27) CD22 (isoforma del receptor CD22-B de linfocitos B, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814)**

Nucleótido

65

Nº de registro de GenBank AK026467

Versión de Genbank nº AK026467.1 GI:10439337

Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de septiembre de 2006 11:24 PM

Polipéptido

5           Nº de registro de GenBank BAB15489  
Versión de Genbank nº BAB15489.1 GI:10439338  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de septiembre de 2006 11:24 PM

10 Referencias cruzadas

Wilson y col. (1991) *J. Exp. Med.* 173:137-146; 30 WO2003/072036 (reivindicación 1; Fig. 1); IM:107266; NP\_001762.1; documento NM\_001771\_1.

15 **(27a) CD22 (molécula CD22)**

Nucleótido

20           Nº de registro de GenBank X52785  
Versión de Genbank nº X52785.1 GI:29778  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de febrero de 2011 10:09 AM

Polipéptido

25           Nº de registro de GenBank CAA36988  
Versión de Genbank nº CAA36988.1 GI:29779  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de febrero de 2011 10:09 AM

Referencias cruzadas

30 Stamenkovic I. y col., *Nature* 345 (6270), 74-77 (1990)

Otra información

35           Símbolo oficial: Documento CD22  
Otros pseudónimos: SIGLEC-2, SIGLEC2  
Otras designaciones: receptor CD22 de linfocitos B; molécula de adhesión a células de linfocitos B; BL-CAM; antígeno CD22; antígeno de superficie de linfocitos T Leu-14; lectina 2 similar a Ig de unión a ácido siálico; lectina 2 similar a Ig de unión a ácido siálico

40 **ANTICUERPOS**

G5/44 (Inotuzumab): DiJoseph JF. y col., *Cancer Immunol Immunother.* 2005 Jan;54(1):11-24.

45 Epratuzumab - Goldenberg DM., y col., *Expert Rev Anticancer Ther.* 6:(10): 1341-53, 2006.

**(28) CD79a (CD79A, CD79alfa), alfa asociada a inmunoglobulina, una proteína específica de linfocitos B que interacciona covalentemente con Ig beta (CD79B) y forma un complejo sobre la superficie con moléculas de IgM 35,**

50 *traduce una señal que participa en la diferenciación de linfocitos B), pl: 4,84, MW: 25028 TM: 2 Cromosoma del gen [P]: 19q13.2).*

Nucleótido

55           Nº de registro de GenBank NM\_001783  
Versión de Genbank nº NM\_001783.3 GI:90193587  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 26 de junio de 2012 01:48 PM

Polipéptido

60           Nº de registro de GenBank NP\_001774  
Versión de Genbank nº NP\_001774.1 GI:4502685  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 26 de junio de 2012 01:48 PM

65

Referencias cruzadas

WO2003/088808, US2003/0228319; WO2003/062401 (reivindicación 9); US2002/150573 (reivindicación 4, páginas 13-14); WO99/58658 (reivindicación 13, Fig. 16); WO92/07574 (Fig. 1); US5644033; Ha y col. (1992) *J. Immunol.* 148(5): 1526-1531; Muller y col (1992) *Eur. J. Immunol.* 22:1621-1625; Hashimoto y col. (1994) *Immunogenetics* 40(4):287-295; Preud'homme y col. (1992) *Clin. Exp. Immunol.* 90(1): 141-146; Yu y col. (1992) *J. Immunol.* 148(2):633-637; Sakaguchi y col. (1988) *EMBO J.* 7(11 ):3457-3464

**(29)** *CXCR5 (receptor 1 del linfoma de Burkitt, un receptor acoplado a la proteína G que se activa por la quimiocina CXCL13, funciona en la migración de linfocitos y defensa humoral, desempeña una función 10 en la infección por el VIH-2 y quizás desarrollo de SIDA, linfoma, mieloma y leucemia); 372 aa, pl: 8,54 MW: 41959 TM: 7. Cromosoma delgen [P]: 11q23.3,*

Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_001716  
 Versión de Genbank nº NM\_001716.4 GI:342307092  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:49 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_001707  
 Versión de Genbank nº NP\_001707.1 GI:4502415  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:49 PM

Referencias cruzadas

WO2004/040000; WO2004/015426; US2003/105292 (Ejemplo 2); US6555339 (Ejemplo 2); WO2002/61087 (Fig. 1); WO2001/57188 (reivindicación 20, página 269); WO2001/72830 (páginas 12-13); WO2000/22129 (Ejemplo 1, páginas 152-153, Ejemplo 2, páginas 254-256); WO99/28468 (reivindicación 1, página 38); US5440021 (Ejemplo 2, col 49-52); WO94/28931 (páginas 56-58); WO92/17497 (reivindicación 7, Fig. 5); Dobner y col (1992) *Eur. J. Immunol.* 22:2795-2799; Barella y col (1995) *Biochem. J.* 309:773-779

**(30)** *HLA-DOB (subunidad beta de la molécula de MHC de clase II (antígeno Ia) que se une a péptidos y los presenta 20 a linfocitos T CD4+); 273 aa, pl: 6,56, MW: 30820. TM: 1. Cromosoma delgen [P]: 6p21.3)*

Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_002120  
 Versión de Genbank nº NM\_002120.3 GI:118402587  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 8 de septiembre de 2012 04:46 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_002111  
 Versión de Genbank nº NP\_002111.1 GI:4504403  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 8 de septiembre de 2012 04:46 PM

Referencias cruzadas

Tonnelle y col. (1985) *EMBO J.* 4(11):2839-2847; Jonsson y col. (1989) *Immunogenetics* 29(6):411-413; Beck y col.(1992) *J. Mol. Biol.* 228:433-441; Strausberg y col. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 99:16899-16903; Serenius y col. (1987) *J. Biol. Chem.* 262:8759-8766; Beck y col.(1996) *J. Mol. Biol.* 25 255:1-13; Naruse y col (2002) *Tissue Antigens* 59:512-519; WO99/58658 (reivindicación 13, Fig. 15); US6153408 (Col 35-38); US5976551 (col 168-170); US6011146 (col 145-146); Kasahara y col (1989) *Immunogenetics* 30(1):66-68; Larhammar y col (1985) *J. Biol. Chem.* 260(26):14111-14119

**(31)** *P2X5 (canal 5 de iones regulado por el ligando de los receptores purinérgicos P2X, un canal de iones regulado por ATP extracelular, puede participar en la transmisión sináptica y neurogénesis, la deficiencia puede contribuir a la patofisiología de la inestabilidad del detrusor idiopático); 422 aa, pl: 7,63, MW: 47206 TM: 1. Cromosoma delgen [P]: 17p13.3).*

Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_002561  
 Versión de Genbank nº NM\_002561.3 GI:325197202

Fecha de actualización del registro de GenBank: 27 de junio de 2012 12:41 PM

Polipéptido

5        Nº de registro de GenBank NP\_002552  
Versión de Genbank nº NP\_002552.2 GI:28416933  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 27 de junio de 2012 12:41 PM

Referencias cruzadas

10        Le y col. (1997) FEBS Lett. 418(1-2): 195-199; WO2004/047749; WO2003/072035 (reivindicación 10); Touchman y col. (2000) Genome Res. 10:165-173; WO2002/22660 (reivindicación 20); WO2003/093444 (reivindicación 1); WO2003/087768 (reivindicación 1); WO2003/029277 (página 82)

15        **(32)** *CD72 (antígeno de diferenciación de linfocitos B CD72, Lyb-2); 359 aa, pl: 8,66, MW: 40225, TM: 1 5 Cromosoma del gen [P]: 9p13.3).*

Nucleótido

20        Nº de registro de GenBank NM\_001782  
Versión de Genbank nº NM\_001782.2 GI:194018444  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 26 de junio de 2012 01:43 PM

Polipéptido

25        Nº de registro de GenBank NP\_001773  
Versión de Genbank nº NP\_001773.1 GI:4502683  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 26 de junio de 2012 01:43 PM

30        Referencias cruzadas

WO2004042346 (reivindicación 65); WO2003/026493 (páginas 51-52, 57-58); WO2000/75655 (páginas 105-106); Von Hoegen y col. (1990) *J. Immunol.* 144(12):4870-4877; Strausberg y col. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 99:16899-16903.

35        **(33)** *LY64 (antígeno 64 de linfocitos (RP105), proteína de membrana de tipo I de la familia de repeticiones ricas en leucina (LRR), regula la activación de linfocitos B y la apoptosis, la pérdida de función está asociada a la elevada actividad de la enfermedad en pacientes con lupus eritematosos sistémico); 661 aa, pl: 6,20, MW: 74147 TM: 1. Cromosoma del gen [P]: 5q12).*

40        Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_005582  
Versión de Genbank nº NM\_005582.2 GI:167555126  
45        Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de septiembre de 2012 01:50 PM

Polipéptido

50        Nº de registro de GenBank NP\_005573  
Versión de Genbank nº NP\_005573.2 GI:167555127  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de septiembre de 2012 01:50 PM

Referencias cruzadas

55        US2002/193567; WO97/07198 (reivindicación 11, páginas 39-42); Miura y col. (1996) *15 Genomics* 38(3):299-304; Miura y col. (1998) *Blood* 92:2815-2822; WO2003/083047; WO97/44452 (reivindicación 8, páginas 57-61); WO2000/12130 (páginas 24-26).

60        **(34)** *FcRH1 (proteína 1 similar al receptor de Fc, un receptor putativo para el dominio Fc de inmunoglobulina que contiene dominios similares a Ig tipo C2 e ITAM, puede tener una función en la diferenciación de linfocitos B); 429 aa, pl: 5,28, MW: 46925 TM: 1. Cromosoma del gen [P]: 1q21-1q22)*

Nucleótido

65        Nº de registro de GenBank NM\_052938  
Versión de Genbank nº NM\_052938.4 GI:226958543

Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de septiembre de 2012 01:43 PM

Polipéptido

5        Nº de registro de GenBank NP\_443170  
 Versión de Genbank nº NP\_443170.1 GI:16418419  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de septiembre de 2012 01:43 PM

Referencias cruzadas

10        WO2003/077836; WO2001/38490 (reivindicación 6, Fig. 18E-1-18-E-2); Davis y col. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 98 (17):9772-9777; WO2003/089624 (reivindicación 8); EP1347046 (reivindicación 1); WO2003/089624 (reivindicación 7).

15        **(35)** *IRTA2 (2 asociado a la translocalización de receptores de la superfamilia de inmunoglobulina, un inmunoreceptor putativo con posibles funciones en el desarrollo de linfocitos B y linfomagénesis; la desregulación del gen por translocalización se produce en algunos tumores malignos de linfocitos B); 977 aa, pl: 6,88, MW: 106468, TM: 1. Cromosoma delgen [P]: 1q21)*

20        Nucleótido

      Nº de registro de GenBank AF343662  
 Versión de Genbank nº AF343662.1 GI:13591709  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 01:16 AM

25        Polipéptido

      Nº de registro de GenBank AAK31325  
 Versión de Genbank nº AAK31325.1 GI: 13591710  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 01:16 AM

30        Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 01:16 AM

Referencias cruzadas

35        AF343663, AF343664, AF343665, AF369794, AF397453, AK090423, AK090475, AL834187, AY358085; Ratón:AK089756, AY158090, AY506558; NP\_112571.1; WO2003/024392 (reivindicación 2, Fig. 97); Nakayama y col. (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 277:(1): 124-127; WO2003/077836; WO2001/38490 (reivindicación 3, Fig. 18B-1-18B-2).

40        **(36)** *TENB2 (TMEFF2, tomoregulina, TPEF, HPP1, TR, proteoglicano de transmembrana 35 putativo, relacionado con la familia de EGF/heregulina de factores de crecimiento y folistatina); 374 aa)*

Nucleótido

45        Nº de registro de GenBank AF179274  
 Versión de Genbank nº AF179274.2 GI:12280939  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 01:05 AM

Polipéptido

50        Nº de registro de GenBank AAD55776  
 Versión de Genbank nº AAD55776.2 GI:12280940  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 11 de marzo de 2010 01:05 AM

Referencias cruzadas

55        Registro NCBI: AAD55776, AAF91397, AAG49451, NCBI RefSeq: NP\_057276; NCBI Gene: 23671; OMIM: 605734; SwissProt Q9UIK5; AY358907, CAF85723, CQ782436; WO2004/074320; JP2004113151; WO2003/042661; WO2003/009814; EP1295944 (páginas 69-70); WO2002/30268 (página 329); WO2001/90304; US2004/249130; US2004/022727; WO2004/063355; US2004/197325; US2003/232350; 5 US2004/005563; US2003/124579; Horie y col. (2000) *Genomics* 67:146-152; Uchida y col. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266:593-602; Liang y col. (2000) *Cancer Res.* 60:4907-12; Glynne-Jones y col. (2001) *Int J Cancer.* Oct 15; 94 (2):178-84.

**(37)** *PSMA - FOLH1 (folato hidrolasa (antígeno de membrana específico de la próstata) 1)*

65        Nucleótido

Nº de registro de GenBank M99487  
 Versión de Genbank nº M99487.1 GI:190663  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:48 AM

5 Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA60209  
 Versión de Genbank nº AAA60209.1 GI: 190664  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:48 AM

10

Referencias cruzadas

Israeli R.S., y col. *Cancer Res.* 53 (2), 227-230 (1993)

15 Otra información

Símbolo oficial: FOLH1  
 Otros pseudónimos: GIG27, FGCP, FOLH, GCP2, GCPII, NAALAD1, NAALAdasa, PSM, PSMA, mGCP  
 Otras designaciones: ácido dipeptidasa 1 ligada a alfa N-acetilado; ácido dipeptidasa I ligada a alfa N-acetilado;  
 20 NAALADasa I; proteína del gen 27 inhibidor del crecimiento celular; folilpoli-gamma-glutamato carboxipeptidasa;  
 glutamato carboxilasa II; glutamato carboxipeptidasa 2; glutamato carboxipeptidasa II; glutamato  
 carboxipeptidasa de membrana; variante F del antígeno de membrana específico de la próstata;  
 pteroilpoligamma-glutamato carboxipeptidasa

25 ANTICUERPOS

Documento US 7.666.425:  
 Anticuerpos producidos por hibridomas que tienen las siguientes referencias de ATCC: nº de registro de ATCC  
 30 HB-12101, nº de registro de ATCC HB-12109, nº de registro de ATCC HB-12127 y nº de registro de ATCC HB-  
 12126.

Proscan: un anticuerpo monoclonal seleccionado del grupo que consiste en 8H12, 3E11, 17G1, 29B4, 30C1 y  
 20F2 (documento US 7.811.564; Moffett S., y col., Hybridoma (Larchmt). diciembre de 2007;26(6):363-72).

35 Cytogen: anticuerpos monoclonales 7E11-C5 (nº de registro de ATCC HB 10494) y 9H10-A4 (nº de registro de  
 ATCC HB11430) - documento US 5.763.202

GlycoMimetics: NUH2 - nº de registro de ATCC HB 9762 (documento US 7.135.301)

40 Human Genome Science: HPRAJ70 - nº de registro de ATCC 97131 (documento US 6.824.993); secuencia de  
 aminoácidos codificada por el clon de ADNc (HPRAJ70) depositado como el depósito nº 97131 de la Colección  
 Americana de Cultivos Tipo ("ATCC")

45 Medarex: anticuerpos anti-PSMA que carecen de restos de fucosilo - documento US 7.875.278

50 Los anticuerpos anti-PSMA de ratón incluyen los anticuerpos 3F5.4G6, 3D7.1.1, 4E10-1.14, 3E11, 4D8, 3E6, 3C9,  
 2C7, 1G3, 3C4, 3C6, 4D4, 1G9, 5C8B9, 3G6, 4C8B9, y monoclonales. Los hibridomas que secretan 3F5.4G6,  
 3D7.1.1, 4E10-1.14, 3E11, 4D8, 3E6, 3C9, 2C7, 1G3, 3C4, 3C6, 4D4, 1G9, 5C8B9, 3G6 o 4C8B9 se han depositado  
 públicamente y se describen en la patente de EE.UU. nº 6.159.508. Los hibridomas relevantes se han depositado  
 públicamente y se describen en la patente de EE.UU. nº 6.107.090. Además, los anticuerpos anti-PSMA  
 humanizados, que incluyen una versión humanizada de J591, se describen en más detalle en la publicación PCT  
 WO 02/098897.

55 Otros anticuerpos anti-PSMA humana de ratón se han descrito en la materia, tales como mAb 107-1A4 (Wang, S. y  
 col. (2001) *Int. J. Cancer* 92:871-876) y mAb 2C9 (Kato, K. y col. (2003) *Int. J. Urol.* 10:439-444).

60 Ejemplos de anticuerpos monoclonales anti-PSMA humana incluyen los anticuerpos 4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9,  
 2A10, 2C6, 2F5 y 1C3, aislados y caracterizados estructuralmente como se ha descrito originalmente en las  
 publicaciones PCT WO 01/09192 y el documento WO 03/064606 y en la solicitud provisional de EE.UU. nº de serie  
 60/654.125, titulada "Human Monoclonal Antibodies to Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA)", presentada el  
 18 de febrero de 2005. Las secuencias de aminoácidos de V.sub.H de 4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6,  
 2F5 y 1C3 se muestran en SEQ ID Nos: 1-9, respectivamente. Las secuencias de aminoácidos de V.sub.L de 4A3,  
 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5 y 1C3 se muestran en SEQ ID NOs: 10-18, respectivamente.

65 Otros anticuerpos anti-PSMA humanos incluyen los anticuerpos desvelados en la publicación PCT WO 03/034903 y  
 la solicitud de EE.UU. nº 2004/0033229.

NW Biotherapeutics: Una línea celular de hibridoma seleccionada del grupo que consiste en 3F5.4G6 que tiene número de registro de ATCC HB12060, 3D7-1.I. que tiene número de registro de ATCC HB12309, 4E10-1.14 que tiene número de registro de ATCC HB12310.3E11 (ATCC HB12488), 4D8 (ATCC HB12487), 3E6 (ATCC HB12486), 3C9 (ATCC HB12484), 2C7 (ATCC HB12490), 1G3 (ATCC HB12489), 3C4 (ATCC HB12494), 3C6 (ATCC HB12491), 4D4 (ATCC HB12493), 1G9 (ATCC HB12495), 5C8B9 (ATCC HB12492) y 3G6 (ATCC HB12485) - véase el documento US 6.150.508

PSMA Development Company / Progenics / Cytogen - Seattle Genetics: mAb 3.9, producido por el hibridoma depositado bajo el nº de registro de ATCC PTA-3258 o mAb 10.3, producido por el hibridoma depositado bajo el nº de registro de ATCC PTA-3347 - documento US 7.850.971

PSMA Development Company - Composiciones de anticuerpos para PSMA (documento US 20080286284, Tabla 1) La presente solicitud es una divisionaria de la solicitud de patente de EE.UU. nº de serie 10/395.894, presentada el 21 de marzo de 2003 (documento US 7.850.971)

Hospital universitario de Friburgo, Alemania - mAbs 3/A12, 3/E7 y 3/F11 (Wolf P. y col., Prostate. 2010 Apr 1;70(5):562-9).

**(38) SST (receptor de somatostatina; obsérvese que hay 5 subtipos)**

(38.1) SSTR2 (receptor 2 de somatostatina)

Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_001050  
 Versión de Genbank nº NM\_001050.2 GI:44890054  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 19 de agosto de 2012 01:37 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_001041  
 Versión de Genbank nº NP\_001041.1 GI:4557859  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 19 de agosto de 2012 01:37 PM

Referencias cruzadas

Yamada Y., y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89 (1), 251-255 (1992); Susini C., y co.I Ann Oncol. 2006 Dec; 17(12):1733-42

Otra información

Símbolo oficial: SSTR2  
 Otras designaciones: SRIF-1; SS2R; receptor de somatostatina tipo 2

(38.2) SSTR5 (receptor 5 de somatostatina)

Nucleótido

Nº de registro de GenBank D16827  
 Versión de Genbank nº D16827.1 GI:487683  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 1 de agosto de 2006 12:45 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank BAA04107  
 Versión de Genbank nº BAA04107.1 GI:487684  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 1 de agosto de 2006 12:45 PM

Referencias cruzadas

Yamada,Y., y col. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 195 (2), 844-852 (1993)

Otra información

Símbolo oficial: SSTR5  
 Otros pseudónimos: SS-5-R

Otras designaciones: receptor de somatostatina subtipo 5; receptor de somatostatina tipo 5

(38.3) SSTR1  
(38.4) SSTR3  
5 (38.5) SSTR4

**AvB6 - Ambas subunidades (39+40)**

(39) ITGAV (*integrina, alfa V*;

10 Nucleótido

Nº de registro de Genbank M14648 J02826 M18365  
Versión de Genbank nº M14648.1 GI:340306  
15 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:56 AM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA36808  
20 Versión de Genbank nº AAA36808.1 GI:340307  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:56 AM

Referencias cruzadas

25 Suzuki S., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83 (22), 8614-8618 (1986)

Otra información

Símbolo oficial: ITGAV  
30 Otros pseudónimos: CD51, MSK8, VNRA, VTNR  
Otras designaciones: antígeno identificado por el anticuerpo monoclonal L230; integrina alfa-V; integrina alfa-Vbeta-3; integrina, alfa V (receptor de vitronectina, polipéptido alfa, antígeno CD51); subunidad alfa del receptor de vitronectina

35 **(40) ITGB6 (*integrina, beta 6*)**

Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_000888  
40 Versión de Genbank nº NM\_000888.3 GI:9966771  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 27 de junio de 2012 12:46 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_000879  
45 Versión de Genbank nº NP\_000879.2 GI:9625002  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 27 de junio de 2012 12:46 PM

Referencias cruzadas

50 Sheppard D.J., y col. *Biol. Chem.* 265 (20), 11502-11507 (1990)

Otra información

55 Símbolo oficial: ITGB6  
Otras designaciones: integrina beta-6

**ANTICUERPOS**

60 Biogen: Documento US 7.943.742 - Los clones de hibridoma 6.3G9 y 6.8G6 se depositaron en la ATCC, números de registro ATCC PTA-3649 y -3645, respectivamente.

65 Biogen: Documento US7.465.449 - En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende las mismas secuencias de polipéptidos de las cadenas pesadas y ligeras que un anticuerpo producido por el hibridoma 6.1A8, 6.3G9, 6.8G6, 6.2B1, 6.2B10, 6.2A1, 6.2E5, 7.1G10, 7.7G5 ó 7.1C5.

Centocor (J&J): Documentos US7.550.142; US7.163.681

Por ejemplo, en el documento US 7.550.142 - un anticuerpo que tiene regiones variables de las cadenas pesadas humanas y de las cadenas ligeras humanas que comprenden las secuencias de aminoácidos mostradas en SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 8.

5

Seattle Genetics: 15H3 (Ryan MC. y col., Cancer Res April 15, 2012; 72(8 Supplement): **4630**)

**(41) CEACAEM 5 (molécula 5 de adhesión a células relacionada con el antígeno carcinoembrionario)**

10 Nucleótido

Nº de registro de GenBank M17303

Versión de Genbank nº M17303.1 GI:178676

Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 AM

15

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAB59513

Versión de Genbank nº AAB59513.1 GI:178677

20

Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 AM

Referencias cruzadas

Beauchemin N., y col. *Mol. Cell. Biol.* 7 (9), 3221-3230 (1987)

25

Otra información

Símbolo oficial: CEACAM5

Otros pseudónimos: CD66e, CEA

30

Otras designaciones: antígeno 100 de meconio

**ANTICUERPOS**

AstraZeneca-MedImmune: Documentos US 20100330103; US20080057063;

35

US20020142359

- por ejemplo, un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad (CDR) con las siguientes secuencias: cadena pesada; CDR1 - DNYMH, CDR2 - WIDPENGDT E YAPKFRG, CDR3 - LIYAGYLAMD Y; y cadena ligera CDR1 - SASSSVTYMH, CDR2 - STSNLAS, CDR3 - QQRSTYPLT.
- Hibridoma 806.077 depositado como el depósito nº 96022936 de la Colección Europea de Cultivos celulares (ECACC).

40

Research Corporation Technologies, Inc.: Documento US5.047.507

45

Bayer Corporation: Documento US6.013.772

BioAlliance: Documentos US7.982.017; US7.674.605

50

- Documento US 7.674.605

- un anticuerpo que comprende la secuencia de la región variable de la cadena pesada de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:2.

55

- un anticuerpo que comprende la secuencia de la región variable de la cadena pesada de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

Celltech Therapeutics Limited: Documento US5.877.293

60

The Dow Chemical Company: Documentos US5.472.693; US6.417.337; US6.333.405

Documento US5.472.693 - por ejemplo, ATCC No. CRL-11215

Documento US6.417.337 - por ejemplo, ATCC CRL-12208

65

Documento US6.333.405 - por ejemplo, ATCC CRL-12208

Immunomedics, Inc: Documentos US7.534.431; US7.230.084; US7.300.644; US6.730.300;

US20110189085

- 5 - un anticuerpo que tiene CDR de la región variable de la cadena ligera comprende: CDR1 comprende KASQDVGTSVA (SEQ ID NO: 20); CDR2 comprende WTSTRHT (SEQ ID NO: 21); y CDR3 comprende QQYSLYRS (SEQ ID NO: 22);  
 10 y las CDR de la región variable de la cadena pesada de dicho anticuerpo anti-CEA comprenden: CDR1 comprende TYWEM (SEQ ID NO: 23); CDR2 comprende EIHPDSSTINYAPSLKD (SEQ ID NO: 24); y CDR3 comprende LYFGFPWFAY (SEQ ID NO: 25).

US20100221175; US20090092598; US20070202044; US20110064653;  
 US20090185974; documento US20080069775.

- 15 **(42) MET** (*proto-oncogén met; receptor del factor de crecimiento de hepatocitos*)

Nucleótido

- 20 N° de registro de GenBank M35073  
 Versión de Genbank n° M35073.1 GI:187553  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 6 de marzo de 2012 11:12 AM

Polipéptido

- 25 N° de registro de GenBank AAA59589  
 Versión de Genbank n° AAA59589.1 GI:553531  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 6 de marzo de 2012 11:12 AM

Referencias cruzadas

- 30 Dean M., y co.l *Nature* 318 (6044), 385-388 (1985)

Otra información

- 35 Símbolo oficial: MET  
 Otros pseudónimos: AUTS9, HGFR, RCCP2, c-Met  
 Otras designaciones: receptor de HGF; receptor de HGF/SF; receptor de SF; receptor del factor de crecimiento de hepatocitos; tirosina cinasa del proto-oncogén met; proto-oncogén c-Met; factor de dispersión del receptor; proteína tirosina-cinasa Met

40 **ANTICUERPOS**

- 45 Abgenix/Pfizer: Documento US20100040629  
 por ejemplo, el anticuerpo producido por el hibridoma 13.3.2 que tiene el número de registro de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) PTA-5026; el anticuerpo producido por el hibridoma 9.1.2 que tiene el número de registro de ATCC PTA-5027; el anticuerpo producido por el hibridoma 8.70.2 que tiene el número de registro de ATCC PTA-5028; o el anticuerpo producido por el hibridoma 6.90.3 que tiene el número de registro de ATCC PTA-5029.

- 50 Amgen/Pfizer: Documento US20050054019  
 por ejemplo, un anticuerpo que comprende una cadena pesada que tiene las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 2 en la que X2 es glutamato y X4 es serina y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 4 en la que X8 es alanina, sin las secuencias señal; un anticuerpo que comprende una cadena pesada que tiene las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 6 y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 8, sin las secuencias señal; un anticuerpo que comprende una cadena pesada que tiene las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 10 y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 12, sin las secuencias señal; o un anticuerpo que comprende una cadena pesada que tiene las secuencias de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 14 y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 16, sin las secuencias señal.

Agouron Pharmaceuticals (ahora Pfizer): Documento US20060035907

- 65 Eli Lilly: Documento US20100129369

Genentech: Documentos US5.686.292; US20100028337; US20100016241; US20070129301; US20070098707; US20070092520, US20060270594; US20060134104; US20060035278; US20050233960; US20050037431

5 US 5.686.292 - por ejemplo, ATCC HB-11894 y ATCC HB-11895  
US 20100016241 - por ejemplo, ATCC HB-11894 (hibridoma 1A3.3.13) o HB-11895 (hibridoma 5D5.11.6)

Centro Médico de la Defensa Nacional, Taiwán: Lu RM., y col., *Biomaterials*. Abril de 2011;32(12):3265-74.

10 Novartis: US20090175860

- por ejemplo, un anticuerpo que comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada 4687, en el que las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena pesada 4687 son los restos 26-35, 50-65 y 98-102, respectivamente, de la SEQ ID NO: 58; y las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera 5097, en el que las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de la cadena ligera 5097 son los restos 24-39, 55-61 y 94-100 de SEQ ID NO: 37.

Pharmacia Corporation: Documento US20040166544

20 Pierre Fabre: US20110239316, US20110097262, Documento US20100115639

Samsung: Documento US 20110129481 - por ejemplo, un anticuerpo monoclonal producido a partir de una célula de hibridoma que tiene el número de registro KCLRF-BP-00219 o el número de registro de KCLRF-BP-00223.

25 Samsung: Documento US 20110104176 - por ejemplo, un anticuerpo producido por una célula de hibridoma que tiene el número de registro: KCLRF-BP-00220.

University of Turin Medical School: DN-30 Pacchiana G., y col. *J Biol Chem*. 12 de noviembre 2010; 285(46):36149-57

30 Van Andel Research Institute: Jiao Y., y col. *Mol Biotechnol*. 2005 Sep;31(1):41-54.

**(43) MUC1 (mucina 1, asociada a la superficie celular)**

35 Nucleótido

Nº de registro de GenBank J05581  
Versión de Genbank nº J05581.1 GI:188869  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:48 AM

40

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA59876  
Versión de Genbank nº AAA59876.1 GI:188870  
45 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:48 AM

Referencias cruzadas

50 Gendler S.J., y col., *J. Biol. Chem.* 265 (25), 15286-15293 (1990)

Otra información

Símbolo oficial: Documento MUC1  
Otros pseudónimos: RP11-263K19,2, CD227, EMA, H23AG, KL-6, MAM6, MUC-1, MUC-1/SEC,  
55 MUC-1/X, MUC1/ZD, PEM, PEMT, PUM  
Otras designaciones: antígeno DF3; antígeno H23; antígeno DF3 asociado a carcinoma de mama; mucina asociada a carcinoma; episialina; krebs von den Lungen-6; mucina 1, transmembrana; mucina-1; mucina urinaria reactiva con cacahuete; mucina epitelial polimórfica; mucina epitelial asociada a tumor; antígeno de la membrana epitelial asociado a tumor; mucina asociada a tumor

60

**ANTICUERPOS**

AltaRex-Quest Pharma Tech: Documento US 6.716.966 - por ejemplo, un anticuerpo para Alt-1 producido por el hibridoma ATCC nº PTA-975.

65

AltaRex-Quest Pharma Tech: Documento US7.147.850

CRT: 5E5 - Sorensen AL., y col., *Glycobiology* vol. 16 nº 2 pág. 96-107, 2006; HMFG2 - Burchell J., y col., *Cancer Res.*, 47, 5476-5482 (1987)

Glycotope GT-MAB: GT-MAB 2.5-GEX (sitio web: <http://www.glycotope.com/pipeline/pankomab-gex>)

5 Immunogen: Documento US7.202.346

- por ejemplo, anticuerpo MJ-170: línea celular de hibridoma MJ-170 nº de registro de ATCC PTA-5286  
anticuerpo monoclonal MJ-171: línea celular de hibridoma MJ-171 nº de registro de ATCC PTA-5287;  
10 anticuerpo monoclonal MJ-172: línea celular de hibridoma MJ-172 nº de registro de ATCC PTA-5288; o  
anticuerpo monoclonal MJ-173: línea celular de hibridoma MJ-173 nº de registro de ATCC PTA-5302

Immunomedics: Documento US 6.653.104

15 Ramot Tel Aviv Uni: Documento US7.897.351

Regents Uni. CA: US 7.183.388; US20040005647; US20030077676.

Roche GlycArt: Documento US8.021.856

20 Centro Nacional Ruso de Investigaciones Oncológicas: Imuteran-Ivanov PK., y col., *Biotechnol J.* 2007 Jul;2(7):863-70

25 Universidad Técnica de Braunschweig: (IIB6, HT186-B7, HT186-D11, HT186-G2, HT200-3A-C1, HT220-M-D1, HT220-M-G8) - Thie H., y col., *PLoS One.* 2011 Jan 14;6(1):e15921

#### (44) CA9 (anhidrasa carbónica IX)

##### Nucleótido

30 Nº de registro de Genbank. Documento X66839  
Versión de Genbank nº X66839.1 GI:1000701  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de febrero de 2011 10:15 AM

##### Polipéptido

Nº de registro de GenBank CAA47315  
Versión de Genbank nº CAA47315.1 GI:1000702  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 2 de febrero de 2011 10:15 AM

##### Referencias cruzadas

Pastorek J., y col., *Oncogene* 9 (10), 2877-2888 (1994)

##### Otra información

Símbolo oficial: Documento CA9  
Otros pseudónimos: CAIX, MN  
Otras designaciones: CA-IX; P54/58N; antígeno G250 asociado a RCC; proteína G250 asociada a RCC;  
50 carbonato deshidratasa IX; anhidrasa carbónica 9; deshidratasa carbónica; antígeno MN de membrana; pMW1;  
antígeno G250 asociado a carcinoma de células renales

#### ANTICUERPOS

55 Abgenix/Amgen: Documento US20040018198

Affibody: moléculas de Affibody anti-CAIX (<http://www.affibody.com/en/Product-Portfolio/Pipeline/>)

Bayer: Documento US7.462.696

60 Bayer/Morphosys: 3ee9 mAb - Petrul HM., y col., *Mol Cancer Ther.* 2012 Feb;11 (2):340-9

Escuela Médica de Harvard: Anticuerpos G10, G36, G37, G39, G45, G57, G106, G119, G6, G27, G40 y G125.  
Xu C., y col., *PLoS One.* 2010 Mar 10;5(3):e9625

65 Instituto de Virología, Academia Eslovaca de Ciencias (Bayer) - Documento US5.955.075

- por ejemplo, M75 - registro ATCC nº HB 11128 o MN12 - registro ATCC nº HB 11647

Instituto de Virología, Academia Eslovaca de Ciencias: Documento US7.816.493

- 5 - por ejemplo, el anticuerpo monoclonal M75 que es secretado del hibridoma VU-M75, que se depositó en la Colección Americana de Cultivos Tipo bajo ATCC nº HB 11128; o el anticuerpo monoclonal V/10 secretado del hibridoma V/10-VU, que se depositó en la Autoridad Depositaria Internacional de la Colección Coordinada Belga de Microorganismos (BCCM) en el Laboratorium voor Moleculaire Biologie-Plasmidencollectie (LMBP) en la Universeit Gent en Gante, Bélgica, bajo el registro nº LMBP 6009CB.

10 Instituto de Virología, Academia Eslovaca de Ciencias - Documentos US20080177046; US20080176310; US20080176258; Documento US20050031623

Novartis: Documento US20090252738

- 15 Wilex: Documento US7.691.375 - por ejemplo, el anticuerpo producido por la línea celular de hibridoma DSM ASC 2526.

Wilex: Documento US20110123537; Rencarex: Kennett RH., y col., *Curr Opin Mol Ther.* 2003 Feb;5 (1):70-5

- 20 Xencor: Documento US20090162382

**(45) EGFRvIII (receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), variante de transcrito 3,**

25 Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_201283

Versión de Genbank nº NM\_201283.1 GI:41327733

Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:47 PM

30

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_958440

Versión de Genbank nº NP\_958440.1 GI:41327734

Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:47 PM

35

Referencias cruzadas

Batra SK., y col., *Cell Growth Differ* 1995;6:1251-1259.

40

**ANTICUERPOS:**

Documentos US7.628.986 y US7.736.644 (Amgen)

- 45 Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 142 y variantes y una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 144 y variantes.

Documento US20100111979 (Amgen)

Por ejemplo, un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende:

50

CDR1 que consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos para la región CDR1 de anticuerpos 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16 y 333 ( SEQ ID NO: 17);

55

CDR2 que consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos para la región CDR2 de anticuerpos 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16 y 333 ( SEQ ID NO: 17); y CDR3 que consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos para la región CDR3 de anticuerpos 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16 y 333 ( SEQ ID NO: 17).

60

Documento US20090240038 (Amgen)

- 65 Por ejemplo, un anticuerpo que tiene al menos uno de los polipéptidos de la cadena pesada o ligera comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos seleccionada del

grupo que consiste en: SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144, y cualquier combinación de los mismos.

Documento US20090175887 (Amgen)

Por ejemplo, un anticuerpo que tiene una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de anticuerpo 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16 y 333 (SEQ ID NO: 17).

Documento US20090156790 (Amgen)

Por ejemplo, un anticuerpo que tiene el polipéptido de la cadena pesada y un polipéptido de la cadena ligera, en el que al menos uno de los polipéptidos de la cadena pesada o ligera comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos el 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144, y cualquier combinación de los mismos.

US20090155282, Documentos US20090155282, US20050059087 y US20050053608 (Amgen)

Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de anticuerpo 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16 y 333 (SEQ ID NO: 17).

MR1-1 (documento US7.129.332; Duke)

Por ejemplo, un anticuerpo de variante que tiene la secuencia de SEQ ID NO.18 con las sustituciones S98P-T99Y en CDR3 VH y F92W en CDR3 VL.

L8A4, H10, Y10 (Wikstrand CJ. y col., Cancer Res. 1995 Jul 15;55(14):3140-8; Duke)

US20090311803 (Universidad de Harvard)

Por ejemplo, SEQ ID NO:9 para la región variable de la cadena pesada del anticuerpo y SEQ ID NO: 3 para las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera

Documento US20070274991 (EMD72000, también conocido como matuzumab; Universidad de Harvard)

Por ejemplo, SEQ ID NO: 3 y 9 para la cadena ligera y cadena pesada, respectivamente

Documento US6.129.915 (Schering)

Por ejemplo, SEQ. ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

mAb CH12 - Wang H., y col., FASEB J. 2012 Jan;26(1):73-80 (Instituto del Cáncer de Shanghai).

RAbDMVIII - Gupta P., y col., BMC Biotechnol. 2010 Oct 7;10:72 (Centro Médico de la Universidad de Stanford).

mAb Ua30 - Ohman L., y col., Tumour Biol. 2002 Mar-Apr;23(2):61-9 (Universidad de Uppsala).

Han DG., y col., Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. 2010 Jan;30(1):25-9 (Universidad de Xi'an Jiaotong).

**(46) CD33 (molécula de CD33)**

Nucleótido

Nº de registro de GenBank M\_23197

Versión de Genbank nº NM\_23197.1 GI:180097

Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 AM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA51948

Versión de Genbank nº AAA51948.1 GI:188098

Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 AM

Referencias cruzadas

Simmons D., y col. J. Immunol. 141 (8), 2797-2800 (1988)

Otra información

Símbolo oficial: Documento CD33

Otros pseudónimos: SIGLEC-3, SIGLEC3, Documento p67

5 Otras designaciones: antígeno CD33 (gp67); gp67; antígeno de superficie CD33 de células mieloides; lectina 3 similar a Ig de unión a ácido siálico; lectina similar a Ig de unión al ácido siálico

**ANTICUERPOS**

10 H195 (lintuzumab) - Raza A., y col., *Leuk Lymphoma*. 2009 Aug;50(8): 1336-44; documento US6.759.045 (Seattle Genetics/Immunomedics)

mAb OKT9: Sutherland, D.R. y col. *Proc Natl Acad Sci USA* 78(7): 4515-4519 1981, Schneider, C., y col. *J Biol Chem* 257, 8516-8522 (1982)

15 mAb E6: Hoogenboom, H.R., y col. *J Immunol* 144, 3211-3217 (1990)

Documento US6.590.088 (Human Genome Sciences)

Por ejemplo, SEQ ID NO: 1 y 2 y nº de registro de ATCC 97521

20 Documento US7.557.189 (Immunogen)

Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende tres CDR que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-3 y una región variable de la cadena ligera que comprende tres CDR que tienen las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 4-6.

25 **(47) CD19 (molécula de CD19)**

Nucleótido

30 Nº de registro de GenBank NM\_001178098

Versión de Genbank nº NM\_001178098.1 GI:296010920

Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de septiembre de 2012 12:43 AM

Polipéptido

35 Nº de registro de GenBank NP\_001171569

Versión de Genbank nº NP\_001171569.1 GI:296010921

Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de septiembre de 2012 12:43 AM

40 Referencias cruzadas

Tedder TF., y col. *J. Immunol.* 143 (2): 712-7 (1989)

Otra información

45 Símbolo oficial: Documento CD19

Otros pseudónimos: B4, Documento CVID3

Otras designaciones: antígeno CD19 de linfocitos B; antígeno de superficie B4 de linfocitos B; antígeno de superficie de linfocitos T Leu-12; antígeno CD19 de diferenciación

50 **ANTICUERPOS**

Immunogen: HuB4 - Al-Katib AM., y col. *Clin Cancer Res*. 2009 Jun 15;15(12):4038-45.

55 4G7: Kügler M., y col., *Protein Eng Des Sel*. 2009 Mar;22(3): 135-47

Por ejemplo, secuencias en la Fig. 3 de Knappik, A. y col., *J Mol Biol* 2000 Feb;296(1):57-86

AstraZeneca /MedImmune: MEDI-551 - Herbst R., y col., *J Pharmacol Exp Ther*. 2010 Oct;335(1):213-22

60 Glenmark Pharmaceuticals: GBR-401 - Hou S., y col., *Mol Cancer Ther* November 2011 10 (suplemento de resúmenes de la reunión) C164

Documento US7.109.304 (Immunomedics)

65 Por ejemplo, un anticuerpo que comprende la secuencia de hA19Vk (SEQ ID NO: 7) y la secuencia de hA19VH (SEQ ID NO: 10)

Documento US7.902.338 (Immunomedics)

Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende las secuencias de CDR de la región determinante de la complementariedad de la cadena ligera CDR1 de SEQ ID NO: 16 (KASQSVYDYGDSYLN); CDR2 de SEQ ID NO: 17 (DASNLVS); y CDR3 de SEQ ID NO: 18 (QQSTEDPWT) y las secuencias de CDR de la cadena pesada CDR1 de SEQ ID NO: 19 (SYWMN); CDR2 de SEQ ID NO: 20 (QIWPGDGDNTYNGKFKG) y CDR3 de SEQ ID NO: 21 (RETTTVGRIYYAMDY) y también comprende secuencias de la región estructural (FR) y región constante de anticuerpo humano con uno o más restos de aminoácidos de la región estructural sustituidos de las secuencias de la región estructural correspondientes del anticuerpo murino parental, y en el que dichos restos de FR sustituidos comprenden la sustitución de serina por fenilalanina en el resto de Kabat 91 de la región variable de la cadena pesada.

Medarex: MDX-1342 - Cardarelli PM., y col., *Cancer Immunol Immunother.* 2010 Feb;59(2):257-65.

MorphoSys/Xencor: MOR-208/XmAb-5574 - Zalevsky J., y col., *Blood.* 2009 Apr 16; 113(16):3735-43

Documento US7.968.687 (Seattle Genetics)

Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno que comprende un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:9 y un dominio variable de la cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24.

4G7 chim - Lang P., y col., *Blood.* 15 de mayo de 2004;103(10):3982-5 (Universidad de Tubingen)  
Por ejemplo, Por ejemplo, la Fig. 6 y SEQ ID NO: 80 del documento US20120082664

Escuela de Medicina de la Universidad de Zhejiang: 2E8 - Zhang J., y col., *J Drug Target.* 2010 Nov;18(9):675-8

**(48) IL2RA (receptor de interleucina 2, alfa); secuencia de referencia de NCBI: NM\_000417.2);**

Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_000417

Versión de Genbank nº NM\_000417.2 GI:269973860

Fecha de actualización del registro de GenBank: 09 de septiembre de 2012 04:59 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_000408

Versión de Genbank nº NP\_000408.1 GI:4557667

Fecha de actualización del registro de GenBank: 09 de septiembre de 2012 04:59 PM

Referencias cruzadas

Kuziel W.A., y col., *J. Invest. Dermatol.* 94 (6 SUPPL), 27S-32S (1990)

Otra información

Símbolo oficial: Documento IL2RA

Otros pseudónimos: RP11-536K7,1, CD25, IDDM10, IL2R, TCGFR

Otras designaciones: subunidad alfa del receptor de FIL-2; IL-2-RA; subunidad alfa de IL-2R; IL2-RA; antígeno TAC; subunidad alfa del receptor de interleucina-2; p55

**ANTICUERPOS**

Documento US6.383.487 (Novartis/UCL: Baxilisimab [Simulect])

Documento US6.521.230 (Novartis/UCL: Baxilisimab [Simulect])

Por ejemplo, un anticuerpo que tiene un sitio de unión al antígeno comprende al menos un dominio que comprende CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos en SEQ. ID. NO: 7, CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos en SEQ. ID. NO: 8 y CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos en SEQ. ID. NO: 9; o dichos CDR1, CDR2 y CDR3 tomados en secuencia en conjunto comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos el 90 % idéntica a SEQ. ID. NO: 7, 8 y 9 tomados en secuencia en conjunto.

Daclizumab-Rech AJ., y col., *Ann N Y Acad Sci.* 2009 Sep; 1174:99-106 (Roche)

**(49) AXL (tirosina cinasa de receptor de AXL)**

Nucleótido

Nº de registro de GenBank M76125  
Versión de Genbank nº M76125.1 GI:292869  
5 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 8:53 AM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA61243  
10 Versión de Genbank nº AAA61243.1 GI:29870  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 8:53 AM

Referencias cruzadas

15 O'Bryan J.P., y col. *Mol. Cell. Biol.* 11 (10), 5016-5031 (1991); Bergsagel P.L., y col. *J. Immunol.* 148 (2), 590-596 (1992)

Otra información

20 Símbolo oficial: AXL  
Otros pseudónimos: JTK11, UFO  
Otras designaciones: oncogén AXL; secuencia/gen transformante de AXL; oncogén AXL; receptor UFO de proteína tirosina-cinasa

25 *ANTICUERPOS*

YW327.6S2 - Ye X., y col., *Oncogene*. 2010 Sep 23;29(38):5254-64. (Genentech)

BergenBio: BGB324 (<http://www.bergenbio.com/BGB324>)

30 **(50)** *CD30 - TNFRSF8 (superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral, miembro 8)*

Nucleótido

35 Nº de registro de GenBank M83554  
Versión de Genbank nº M83554.1 GI:180095  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 8:53 AM

Polipéptido

40 Nº de registro de GenBank AAA51947  
Versión de Genbank nº AAA51947.1 GI:180096  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 8:53 AM

45 Referencias cruzadas

Durkop H., y col., *Cell* 68 (3), 421-427 (1992)

Otra información

50 Símbolo oficial: TNFRSF8  
Otros pseudónimos: CD30, D1S166E, Ki-1  
Otras designaciones: receptor de CD30L; antígeno Ki-1; receptor de CD30 de citocina; antígeno CD30 de activación de linfocitos; superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral, miembro 8

55 **(51)** *BCMA (antígeno de maduración de linfocitos B) - TNFRSF17 (superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral, miembro 17)*

Nucleótido

60 Nº de registro de GenBank Z29574  
Versión de Genbank nº Z29574.1 GI:471244  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de febrero de 2011 10:40 AM

65 Polipéptido

Nº de registro de GenBank CAA82690  
Versión de Genbank nº CAA82690.1 GI:471245  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de febrero de 2011 10:40 AM

5 Referencias cruzadas

Laabi Y., y col., *Nucleic Acids Res.* 22 (7), 1147-1154 (1994)

10 Otra información

Símbolo oficial: TNFRSF17  
Otros pseudónimos: BCM, al BCMA, CD269  
Otras designaciones: antígeno de maduración de linfocitos B; factor de maduración de linfocitos B; proteína de maduración de linfocitos B; superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral, miembro 17

15 **(52)** *Ag de CT - CTA (antígenos testiculares de cáncer)*

Referencias cruzadas

20 Fratta E., y col. *Mol Oncol.* 2011 Apr;5(2): 164-82; Lim SH., y col., *Am J Blood Res.* 2012;2(1):29-35.

**(53)** *CD174 (Lewis Y) - FUT3 (fucosiltransferasa 3 (galactósido 3(4)-L-fucosiltransferasa, grupo sanguíneo de Lewis)*

Nucleótido

25 Nº de registro de GenBank NM000149  
Versión de Genbank nº NM000149.3 GI:148277008  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 26 de junio de 2012 04:49 PM

30 Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_000140  
Versión de Genbank nº NP\_000140.1 GI:4503809  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 26 de junio de 2012 04:49 PM

35 Referencias cruzadas

Kukowska-Latallo, J.F., y col., *Genes Dev.* 4 (8), 1288-1303 (1990)

40 Otra información

Símbolo oficial: FUT3  
Otros pseudónimos: CD174, FT3B, FucT-III, LE, Les  
Otras designaciones: FT de Lewis; alfa-(1,3/1,4)-fucosiltransferasa; grupo sanguíneo Lewis alfa-4-fucosiltransferasa; fucosiltransferasa III; galactósido 3(4)-L-fucosiltransferasa

45 **(54)** *CLEC14A (familia 14 del dominio de lectina tipo C, miembro A; nº de registro de GenBank NM175060)*

Nucleótido

50 Nº de registro de GenBank NM175060  
Versión de Genbank nº NM175060.2 GI:371123930  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 01 de abril de 2012 03:34 PM

55 Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_778230  
Versión de Genbank nº NP\_778230.1 GI:28269707  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 01 de abril de 2012 03:34 PM

60 Otra información

Símbolo oficial: CLEC14A  
Otros pseudónimos: UNQ236/PR0269, C14orf27, CEG1, EGFR-5  
Otras designaciones: familia 14 del dominio de lectina tipo C, miembro A; proteína que contiene dominio similar a CIECT y EGF; receptor 5 del factor de crecimiento epidérmico

65

**(55) GRP78 - HSPA5 (proteína 5 de 70 kDa de choque térmico (proteína regulada por glucosa, 78 kDa)**

Nucleótido

5      Nº de registro de GenBank NM005347  
Versión de Genbank nº NM005347.4 GI:305855105  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:42 PM

Polipéptido

10      Nº de registro de GenBank NP\_005338  
Versión de Genbank nº NP\_005338.1 GI:16507237  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:42 PM

15      Referencias cruzadas

Ting J., y col. DNA 7 (4), 275-286 (1988)

Otra información

20      Símbolo oficial: HSPA5  
Otros pseudónimos: BIP, GRP78, MIF2  
Otras designaciones: proteína de 78 kDa regulada por glucosa; proteína de unión grp78 al Ca(2+) de la luz del  
retículo endoplásmico; proteína de unión a la cadena pesada de la inmunoglobulina

25      (56) CD70 (molécula CD70) L08096

Nucleótido

30      Nº de registro de GenBank L08096  
Versión de Genbank nº L08096.1 GI:307127  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2012 08:54 AM

Polipéptido

35      Nº de registro de GenBank AAA36175  
Versión de Genbank nº AAA36175.1 GI:307128  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2012 08:54 AM

40      Referencias cruzadas

Goodwin R.G., y col., Cell 73 (3), 447-456 (1993)

Otra información

45      Símbolo oficial: CD70  
Otros pseudónimos: CD27L, CD27LG, TNFSF7  
Otras designaciones: ligando CD27; CD27-L; antígeno CD70; antígeno Ki-24; antígeno de superficie CD70;  
superfamilia del factor de necrosis tumoral (ligando), miembro 7; superfamilia del ligando del factor de necrosis  
50      tumoral, miembro 7

**ANTICUERPOS**

55      MDX-1411 contra CD70 (Medarex)

hi F6 (Oflazoglu, E., y col., Clin Cancer Res. 2008 Oct 1;14(19):6171-80; Seattle Genetics) Por ejemplo, véase el documento US20060083736 SEQ ID NO: 1, 2, 11 y 12 y la Fig. 1.

**(57) Antígenos específicos de células madre. Por ejemplo:**

- 60
- 5T4 (véase la entrada (63) más adelante)
  - CD25 (véase la entrada (48) anteriormente)
  - CD32

65       Polipéptido

- N° de registro de GenBank ABK42161
- Versión de Genbank n° ABK42161.1 GI:117616286
- Fecha de actualización del registro de GenBank: 25 de julio de 2007 03:00 PM

5 • LGR5/GPR49

○ Nucleótido

- 10
- N° de registro de GenBank NM\_003667
  - Versión de Genbank n° NM\_003667.2 GI:24475886
  - Fecha de actualización del registro de GenBank: 22 de julio de 2012 03:38 PM

□ Polipéptido

- 15
- N° de registro de GenBank NP\_003658
  - Versión de Genbank n° NP\_003658.1 GI:4504379
  - Fecha de actualización del registro de GenBank: 22 de julio de 2012 03:38 PM

• Prominina/CD133

20

○ Nucleótido

- 25
- N° de registro de GenBank NM\_006017
  - Versión de Genbank n° NM\_006017.2 GI:224994187
  - Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:47 PM

□ Polipéptido

- 30
- N° de registro de GenBank NP\_006008
  - Versión de Genbank n° NP\_006008.1 GI:5174387
  - Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:47 PM

**(58) ASG-5**

35 Referencias cruzadas

(Smith L.M. y col., AACR 2010 Annual Meeting (resumen n° 2590); Gudas J.M., y col. AACR 2010 Annual Meeting (resumen n° 4393))

40 *ANTICUERPOS*

Anticuerpo anti-AGS-5: M6.131 (Smith, L.M., y col., AACR 2010 Annual Meeting (resumen n° 2590))

**(59) ENPP3 (pirofosfatasa/fosfodiesterasa 3 de ectonucleótido)**

45

Nucleótido

- 50
- N° de registro de GenBank AF005632
  - Versión de Genbank n° AF005632.2 GI:4432589
  - Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de marzo de 2010 09:41 PM

Polipéptido

- 55
- N° de registro de GenBank AAC51813
  - Versión de Genbank n° AAC51813.1 GI:2465540
  - Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de marzo de 2010 09:41 PM

Referencias cruzadas

- 60 Jin-Hua P., y col. Genomics 45 (2), 412-415 (1997)

Otra información

- 65
- Símbolo oficial: ENPP3
  - Otros pseudónimos: RP5-988G15,3, B10, CD203c, NPP3, PD-IBETA, PDNP3 Otras designaciones: E-NPP 3; dJ1005H11.3 (fosfodiesterasa I/nucleótido pirofosfatasa 3); dJ914N13.3 (fosfodiesterasa I/nucleótido

pirofosfatasa 3); miembro 3 de la familia de ectonucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa; gp130RB13-6; fosfodiesterasa I beta; fosfodiesterasa I/nucleótido pirofosfatasa 3; fosfodiesterasa-1 beta

**(60) PRR4 (4 rica en prolina (lacrima))**

5

Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_007244

Versión de Genbank nº NM\_007244.2 GI:154448885

10 Fecha de actualización del registro de GenBank: 28 de junio de 2012 12:39 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_009175

15 Versión de Genbank nº NP\_009175.2 GI:154448886

Fecha de actualización del registro de GenBank: 28 de junio de 2012 12:39 PM

Referencias cruzadas

20 Dickinson D.P., y col., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 36 (10), 2020-2031 (1995)

Otra información

Símbolo oficial: PRR4

25 Otros pseudónimos: LPRP, PROL4

Otras designaciones: proteína rica en prolina lacrima; proteína 4 rica en prolina asociada a carcinoma nasofaríngeo; polipéptido 4 rico en prolina; proteína 4 rica en prolina

**(61) GCC - GUCY2C (guanilato ciclasa 2C (receptor de enterotoxina estable al calor)**

30

Nº de registro de GenBank NM\_004963

Versión de Genbank nº NM\_004963.3 GI:222080082

Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de septiembre de 2012 01:50 PM

35 Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_004954

Versión de Genbank nº NP\_004954.2 GI:222080083

40 Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de septiembre de 2012 01:50 PM

Referencias cruzadas

45 De Sauvage F.J., y col., *J. Biol. Chem.* 266 (27), 17912-17918 (1991); Singh S., y col. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 179 (3), 1455-1463 (1991)

Otra información

Símbolo oficial: GUCY2C

50 Otros pseudónimos: DIAR6, GUC2C, MUCH, STAR

Otras designaciones: GC-C; receptor de STA; guanilil ciclasa C; hSTAR; receptor de enterotoxina estable al calor; guanilato ciclasa intestinal

**(62) Liv-1- SLC39A6 (familia 39 de transportadores de solutos (transportador de cinc), miembro 6)**

55 Nucleótido

Nº de registro de GenBank U41060

Versión de Genbank nº U41060.2 GI: 12711792

60 Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de noviembre de 2009 04:35 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA96258

Versión de Genbank nº AAA96258.2 GI: 12711793

65 Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de noviembre de 2009 04:35 PM

Referencias cruzadas

Taylor KM., y col., *Biochim Biophys Acta*. 2003 Apr 1; 1611(1-2):16-30

5 Otra información

Símbolo oficial: SLC39A6 Otros pseudónimos: LIV-1

10 Otras designaciones: proteína LIV-1, regulada por estrógeno; ZIP-6; proteína LIV-1 regulada por estrógeno; familia 39 de transportadores de solutos (transportador de ión metálico), miembro 6; familia de transportadores de solutos 39 miembro 6; transportador de cinc ZIP6; proteína 6 similar a zrt- y lrt

**(63) 5T4, glucoproteína de trofoblastos, TPBG - TPBG (glucoproteína de trofoblastos)**

Nucleótido

15 N° de registro de GenBank AJ012159  
Versión de Genbank n° AJ012159.1 GI:3805946  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 01 de febrero de 2011 10:27 AM

20 Polipéptido

N° de registro de GenBank CAA09930  
Versión de Genbank n° CAA09930.1 GI:3805947  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 01 de febrero de 2011 10:27 AM

25 Referencias cruzadas

King K.W.,y col. *Biochim. Biophys. . Acta* 1445 (3), 257-270 (1999)

30 Otra información

- Símbolo oficial: TPBG
- Otros pseudónimos: 5T4, 5T4AG, M6P1
- Otras designaciones: antígeno oncofetal 5T4; glucoproteína de trofoblastos oncofetales 5T4; glucoproteína de oncotrofoblastos 5T4

**(64) CD56 - NCMA1 (molécula 1 de adhesión a células neurales)**

Nucleótido

40 N° de registro de GenBank NM\_000615  
Versión de Genbank n° NM\_000615.6 GI:336285433  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de septiembre de 2012 02:32 PM

45 Polipéptido

N° de registro de GenBank NP\_000606  
Versión de Genbank n° NP\_000606.3 GI:94420689  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de septiembre de 2012 02:32 PM

50 Referencias cruzadas

Dickson,G., y col., *Cell* 50 (7), 1119-1130 (1987)

55 Otra información

Símbolo oficial: NCAM1

Otros pseudónimos: CD56, MSK39, NCAM

60 Otras designaciones: antígeno reconocido por el anticuerpo monoclonal 5.1 H11; molécula de adhesión a células neurales, NCAM

**ANTICUERPOS**

Immunogen: HuN901 (Smith SV. y col., *Curr Opin Mol Ther*. 2005 Aug;7(4):394-401)

65 Por ejemplo, véase humanizado de anticuerpo N901 murino. Véase la Fig. 1b y 1e de Roguska, M.A., y col., *Proc Natl Acad Sci USA* Feb 1994;91:969-973.

**(65) CanAg (antígeno asociado a tumor CA242)**

Referencias cruzadas

5 Haglund C., y col., Br J Cancer 60:845-851, 1989; Baeckstrom D., y col., J Biol Chem 266:21537-21547, 1991

*ANTICUERPOS*

huC242 (Tolcher AW y col., J Clin Oncol. 15 ene 2003;21 (2):211-22; Immunogen)

10 Por ejemplo, véase el documento US20080138898A1 SEQ ID NO: 1 y 2

**(66) FOLR1 (receptor 1 de folato)**

Nucleótido

15

Nº de registro de GenBank J05013

Versión de Genbank nº J05013.1 GI: 182417

Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 AM

20

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA35823

Versión de Genbank nº AAA35823.1 GI: 182418

Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 AM

25

Referencias cruzadas

Elwood P.C., y col., J. Biol. Chem. 264 (25), 14893-14901 (1989)

30

Otra información

Símbolo oficial: FOLR1

Otros pseudónimos: FBP, FOLR

Otras designaciones: FR-alfa; células KB FBP; proteína de unión a folato adulta; proteína de unión a folato;

35

receptor alfa de folato; receptor de folato, adulto; antígeno MOv18 asociado a tumor de ovario

*ANTICUERPOS*

M9346A - Whiteman KR., y col., Cancer Res April 15, 2012; 72(8 Supplement): 4628 (Immunogen)

40

**(67) GPNMB (glucoproteína (transmembrana) nmb)**

Nucleótido

45

Nº de registro de GenBank X76534

Versión de Genbank nº X76534.1 GI:666042

Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de febrero de 2011 10:10 AM

50

Polipéptido

Nº de registro de GenBank CAA54044

Versión de Genbank nº CAA54044.1 GI:666043

Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de febrero de 2011 10:10 AM

55

Referencias cruzadas

Weterman M.A., y col. Int. J. Cancer 60 (1), 73-81 (1995)

60

Otra información

Símbolo oficial: GPNMB

Otros pseudónimos: UNQ1725/PR09925, HGFIN, NMB

Otras designaciones: glucoproteína NMB; proteína similar a nmb de glucoproteína; osteoactivina; HGFIN de transmembrana de glucoproteína; NMB de transmembrana de glucoproteína

65

ANTICUERPOS

Celldex Therapeutics: CR011 (Tse KF. y col., *Clin Cancer Res.* 2006 Feb 15; 12:(4): 1373-82)  
 Por ejemplo, véase el documento EP1827492B1 SEQ ID NO: 22, 24, 26, 31, 33 y 35

5

**(68) TIM-1 - HAVCR1 (receptor 1 celular del virus de la hepatitis A)**

Nucleótido

10

Nº de registro de GenBank AF043724  
 Versión de Genbank nº AF043724.1 GI:2827453  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de marzo de 2010 06:24 PM

Polipéptido

15

Nº de registro de GenBank AAC39862  
 Versión de Genbank nº AAC39862.1 GI:2827454  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de marzo de 2010 06:24 PM

20

Referencias cruzadas

Feigelstock D., y col. *J. Virol.* 72 (8), 6621-6628 (1998)

25

Otra información

Símbolo oficial: HAVCR1  
 Otros pseudónimos: HAVCR, HAVCR-1, KIM-1, KIM1, TIM, TIM-1, TIM1, TIMD-1, TIMD1  
 Otras designaciones: proteína 1 del dominio de inmunoglobulina y dominio de mucina de linfocitos T; proteína 1 de la membrana de linfocitos T; molécula 1 de lesión renal

30

**(69) RG-1/Mindina diana de tumor de la próstata - Mindina/RG-1**

Referencias cruzadas

35

Parry R., y col. *Cancer Res.* 2005 Sep 15;65(18):8397-405

**(70) B7-H4 - VTCN1 (inhibidor 1 de la activación de linfocitos T que contienen el dominio del conjunto V)**

40

Nucleótido

Nº de registro de GenBank BX648021  
 Versión de Genbank nº BX648021.1 GI:34367180  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de febrero de 2011 08:40 AM

45

Referencias cruzadas

Sica GL., y col., *Immunity.* Junio de 2003;18(6):849-61

50

Otra información

Símbolo oficial: VTCN1  
 Otros pseudónimos: RP11-229A19,4, B7-H4, B7H4, B7S1, B7X, B7h.5, PR01291, VCTN1  
 Otras designaciones: miembro de la familia B7, H4; miembro 1 de la superfamilia B7; molécula coestimulante B7x de linfocitos T; molécula co-estimulante B7x de linfocitos T; inhibidor 1 de la activación de linfocitos T que contienen el dominio del conjunto V; proteína B7-H4 inmunocoestimulante

55

**(71) PTK7 (proteína tirosina cinasa 7 PTK7)**

60

Nucleótido

Nº de registro de GenBank AF447176  
 Versión de Genbank nº AF447176.1 GI:17432420  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 28 de noviembre de 2008 01:51 PM

65

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAL39062  
Versión de Genbank nº AAL39062.1 GM7432421  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 28 de noviembre de 2008 01:51 PM

5 Referencias cruzadas

Park S.K., y col. *J. Biochem.* 119 (2), 235-239 (1996)

10 Otra información

Símbolo oficial: PTK7  
Otros pseudónimos: CCK-4, CCK4  
Otras designaciones: cinasa 4 de carcinoma de colon; proteína tirosina-cinasa 7 inactiva; receptor 7 de pseudotirosina cinasa; 7 similar a la proteína tirosina-cinasa

15 **(72) CD37 (molécula de CD37)**

Nucleótido

20 Nº de registro de GenBank NM\_001040031  
Versión de Genbank nº NM\_001040031.1 GI:91807109  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 29 de julio de 2012 02:08 PM

Polipéptido

25 Nº de registro de GenBank NP\_001035120  
Versión de Genbank nº NP\_001035120.1 GI:91807110  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 29 de julio de 2012 02:08 PM

30 Referencias cruzadas

Schwartz-Albiez R., y col. *J. Immunol.* 140 (3), 905-914 (1988)

Otra información

35 Símbolo oficial: CD37  
Otros pseudónimos: GP52-40, TSPAN26  
Otras designaciones: antígeno CD37; antígeno 37 de diferenciación celular; antígeno CD37 de leucocitos; antígeno CD37 de superficie de leucocitos; tetraspanina-26; tspan-26

40 **ANTICUERPOS**

Boehringer Ingelheim: mAb 37.1 (Heider KH., y col. *Blood.* 13 oct 2011; 118 (15):4159-68)

45 Trubion: CD37-SMIP (G28-1 scFv-Ig) ((Zhao X., y col. *Blood.* 2007; 110: 2569-2577)  
Por ejemplo, véase el documento US20110171208A1 SEQ ID NO: 253

Immunogen: K7153A (Deckert J. y col., *Cancer Res* April 15, 2012; 72(8 Supplement): 4625)

50 **(73) CD138 - SDC1 (sindecano 1)**

Nucleótido

55 Nº de registro de GenBank AJ551176  
Versión de Genbank nº AJ551176.1 GI:29243141  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 01 de febrero de 2011 12:09 AM

Polipéptido

60 Nº de registro de GenBank CAD80245  
Versión de Genbank nº CAD80245.1 GI:29243142  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 01 de febrero de 2011 12:09 AM

Referencias cruzadas

65 O'Connell FP., y col. *Am J Clin Pathol.* 2004 Feb;121 (2):254-63

Otra información

Símbolo oficial: SDC1

Otros pseudónimos: CD138, SDC, SYND1, sindecano

5 Otras designaciones: antígeno CD138; receptor del factor de crecimiento de fibroblastos de proteoglicanos de sulfato de heparano; proteoglicano 1 de sindecano; sindecano-1

**ANTICUERPOS**

10 Biotest: MAb quimerizado (nBT062) - (Jagannath S. y col., Poster ASH #3060, 2010; solicitud de patente WIPO WO/2010/128087)

Por ejemplo, véase el documento US20090232810 SEQ ID NO: 1 y 2

Immunogen: B-B4 (Tassone P. y col., Blood 104\_3688-3696)

Por ejemplo, véase el documento US20090175863A1 SEQ ID NO: 1 y 2

15

**(74) CD74 (molécula CD74, complejo mayor de histocompatibilidad, cadena invariante de clase II)**

Nucleótido

20 N° de registro de GenBank NM\_004355

Versión de Genbank n° NM\_004355.1 GI:343403784

Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de septiembre de 2012 02:30 PM

Polipéptido

25

N° de registro de GenBank NP\_004346

Versión de Genbank n° NP\_004346.1 GI:10835071

Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de septiembre de 2012 02:30 PM

30 Referencias cruzadas

Kudo, J., y col., *Nucleic Acids Res.* 13 (24), 8827-8841 (1985)

Otra información

35

Símbolo oficial: CD74

Otros pseudónimos: DHLAG, HLADG, II, Ia-GAMMA

40 Otras designaciones: antígeno CD74 (polipéptido invariante del complejo mayor de histocompatibilidad, asociado al antígeno de clase II); cadena gamma del antígeno de histocompatibilidad de clase II de HLA; cadena invariante asociada a antígenos de HLA-DR; HLA-DR-gamma; cadena invariante asociada a Ia; cadena gamma de HLA-DR del MHC; cadena gamma de antígenos de clase II; p33

**ANTICUERPOS**

45 Immunomedics: hLL1 (Milatuzumab,) - Berkova Z., y col. *Expert Opin Investig Drugs.* 2010 Jan;19(1):141-9)

Por ejemplo, véase el documento US20040115193 SEQ ID NO: 19, 20, 21, 22, 23 y 24

Genmab: HuMax-CD74 (véase el sitio web)

50 **(75) Claudinas - CL (Claudinas)**

Referencias cruzadas

55 Offner S., y col., *Cancer Immunol Immunother.* mayo de 2005; 54(5):431-45, Suzuki H., y col., *Ann N Y Acad Sci.* 2012 Jul; 1258:65-70)

En seres humanos, se han descrito 24 miembros de la familia - véase la referencia bibliográfica.

60 **(76) EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico)**

Nucleótido

N° de registro de GenBank NM\_005228

Versión de Genbank n° NM\_005228.3 GI:41927737

65 Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:47 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_005219

Versión de Genbank nº NP\_005219.2 GI:29725609

5 Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:47 PM

Referencias cruzadas

10 Dhomen NS., y col., *Crit Rev Oncog.* 2012;17(1):31-50

Otra información

Símbolo oficial: EGFR

Otros pseudónimos: ERBB, ERBB1, HER1, PIG61, mENA

15 Otras designaciones: homólogo del oncogén viral de la leucemia eritroblástica aviar (v-erb-b); proteína 40 inhibidora del crecimiento celular; proteína 61 inductora de proliferación celular; proto-oncogén c-ErbB-1; proteína tirosina-cinasa de receptor erbB-1

**ANTICUERPOS**

20 BMS: Cetuximab (Erbix) - Broadbridge VT., y col., *Expert Rev Anticancer Ther.* Mayo de 2012;12(5):555-65. Por ejemplo, véase el documento US6217866 - depósito ATTC nº 9764.

25 Amgen: Panitumumab (Vectibix) - Argiles G., y col. *Future Oncol.* Future Oncol. 2012 Apr;8(4):373-89 Por ejemplo, véase el documento US6235883 SEQ ID NO: 23-38.

Genmab: Zalutumumab - Rivera F., y col., *Expert Opin Biol Ther.* Mayo de 2009;9(5):667-74.

30 YM Biosciences: Nimotuzumab-Ramakrishnan MS., y col., *MAbs.* 2009 Jan-Feb;1(1):41-8. Por ejemplo, véase el documento US5891996 SEQ ID NO: 27-34.

**(77) Her3 (ErbB3) - ERBB3 (homólogo 3 (aviar) del oncogén viral de la leucemia eritroblástica v-erb-b2)**

Nucleótido

35 Nº de registro de GenBank M34309  
Versión de Genbank nº M34309.1 GI:183990  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA35979

Versión de Genbank nº AAA35979.1 GI:306841

45 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 08:47 PM

Referencias cruzadas

Plowman,G.D., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87 (13), 4905-4909 (1990)

Otra información

Símbolo oficial: ERBB3

Otros pseudónimos: ErbB-3, HER3, LCCS2, MDA-BF-1, c-erbB-3, c-erbB3, erbB3-S, p180-ErbB3, p45-sErbB3, p85-sErbB3

55 Otras designaciones: proteína c-ErbB-3 similar a proto-oncogén; proteína tirosina-cinasa erbB-3 de receptor; receptor HER3 de la superficie celular tipo tirosina cinasa

**ANTICUERPOS**

60 Merimack Pharma: MM-121 (Schoeberl B., y col. *Cancer Res.* 2010 Mar 15;70(6):2485-2494) Por ejemplo, véase el documento US2011028129 SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

**(78) RON - MST1R (receptor 1 estimulante de macrófagos (tirosina cinasa relacionada con c-met))**

Nucleótido

65

Nº de registro de GenBank X70040  
Versión de Genbank nº X70040.1 GI:36109  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de febrero de 2011 10:17 AM

5 Polipéptido

Nº de registro de GenBank CCA49634  
Versión de Genbank nº CCA49634.1 GI:36110  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de febrero de 2011 10:17 AM

10

Referencias cruzadas

Ronsin C., y col., *Oncogene* 8 (5), 1195-1202 (1993)

15 Otra información

Símbolo oficial: MST1R  
Otros pseudónimos: CD136, CDw136, PTK8, RON  
Otras designaciones: receptor de MSP; variante de MST1 R RON30; variante de MST1 R RON62; proteína tirosina cinasa 8 PTK8; variante de RON E2E3; tirosina cinasa relacionada con c-met; receptor de la proteína estimulante de macrófagos; p185-Ron; variante 1 de RON soluble; variante 2 de RON soluble; variante 3 de RON soluble; variante 4 de RON soluble

20

**(79)** *EPHA2 (receptor A2 de EPH)*

25

Nucleótido

Nº de registro de GenBank BC037166  
Versión de Genbank nº BC037166.2 GI:33879863  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 06 de marzo de 2012 01:59 AM

30

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAH37166  
Versión de Genbank nº AAH37166.1 GI:22713539  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 06 de marzo de 2012 01:59 AM

35

Referencias cruzadas

40 Strausberg R.L., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99 (26), 16899-16903 (2002)

Otra información

Símbolo oficial: EPHA2  
Otros pseudónimos: ARCC2, CTPA, CTPP1, ECK  
Otras designaciones: receptor 2 de efrina tipo A; proteína tirosina cinasa de receptor de células epiteliales; variante 1 de EPHA2 soluble; receptor ECK de la proteína tirosina-cinasa

45

*ANTICUERPOS*

50 Medimmune: 1C1 (Lee JW., y col. *Clin Cancer Res.* 2010 May 1;16(9):2562-2570)  
Por ejemplo, véase el documento US20090304721A1 Fig. 7 y 8.

50

**(80)** *CD20 - MS4A1 (4 dominios que atraviesan la membrana, subfamilia A, miembro 1)*

55

Nucleótido

Nº de registro de GenBank M27394  
Versión de Genbank nº M27394.1 GI:179307  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de noviembre de 2009 11:16 AM

60

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAA35581  
Versión de Genbank nº AAA35581.1 GI:179308  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de noviembre de 2009 11:16 AM

65

Referencias cruzadas

Tedder T.F., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85 (1), 208-212 (1988)

5 Otra información

Símbolo oficial: MS4A1

Otros pseudónimos: B1, Bp35, CD20, CVID5, LEU-16, MS4A2, S7

10 Otras designaciones: antígeno CD20 de linfocitos B; antígeno B1 de la superficie celular de linfocitos B; antígeno CD20; receptor de CD20; antígeno Leu-16 de superficie de leucocitos

**ANTICUERPOS**

15 Genentech/Roche: Rituximab - Abdulla NE., y col., *BioDrugs*. 2012 Abr 1;26(2):71-82.  
Por ejemplo, véase el documento US5736137, nº de depósito ATCC HB-69119.

GSK/Genmab: Ofatumumab - Nightingale G., y col. *Ann Pharmacother*. 2011 Oct;45(10): 1248-55.  
Por ejemplo, véase el documento US20090169550A1 SEQ ID NO: 2, 4 y 5.

20 Immunomedics: Veltuzumab - Goldenberg DM., y col., *Leuk Lymphoma*. Mayo de 2010;51(5):747-55.  
Por ejemplo, véase el documento US7919273B2 SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

**(81) Tenascina C - TNC (tenascina C)**

25 Nucleótido

Nº de registro de GenBank NM\_002160

Versión de Genbank nº NM\_002160.3 GI:340745336

30 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de septiembre de 2012 02:33 PM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_002151

Versión de Genbank nº NP\_002151.2 GI:153946395

35 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de septiembre de 2012 02:33 PM

Referencias cruzadas

40 Nies D.E., y col. *J. Biol. Chem.* 266 (5), 2818-2823 (1991); Siri A., y col., *Nucleic Acids Res.* 19 (3), 525-531 (1991)

Otra información

Símbolo oficial: TNC

Otros pseudónimos: 150-225, GMEM, GP, HXB, JI, TN, TN-C

45 Otras designaciones: GP 150-225; citotactina; antígeno de la matriz extracelular asociado a glioma; hexabraquiona (tenascina); antígeno miotendinoso; neuronectina; tenascina; isoforma 14/AD1/16 de tenascina-C

**ANTICUERPOS**

50 Philogen: G11 (von Lukowicz T. y col., *J Nucl Med*. 2007 Apr;48(4):582-7) y F16 (Pedretti M. y col., *Lung Cancer*. 2009 Apr;64(1):28-33)  
Por ejemplo, véase el documento US7968685 SEQ ID NO: 29, 35, 45 y 47.

**(82) FAP (proteína de activación de fibroblastos, alfa)**

55 Nucleótido

Nº de registro de GenBank U09278

Versión de Genbank nº U09278.1 GI: 1888315

60 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 09:22 AM

Polipéptido

Nº de registro de GenBank AAB49652

Versión de Genbank nº AAB49652.1 GI:1888316

65 Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 9:22 AM

Referencias cruzadas

Scanlan, M.J., y col., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91 (12), 5657-5661 (1994)

5 Otra información

Símbolo oficial: FAP

Otros pseudónimos: DPPIV, FAPA

10 Otras designaciones: gelatinasa de 170 kDa unida a membrana de melanoma; serina proteasa de membrana integral; seprasa

**(83)** *DKK-1 (homólogo de Dickkopf 1 (Xenopus laevis))*

Nucleótido

15

Nº de registro de GenBank NM\_012242

Versión de Genbank nº NM\_012242.2 GI:61676924

Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:48 PM

20 Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_036374

Versión de Genbank nº NP\_036374.1 GI:7110719

Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:48 PM

25

Referencias cruzadas

Fedi P. y col. *J. Biol. Chem.* 274 (27), 19465-19472 (1999)

30 Otra información

Símbolo oficial: DKK1

Otros pseudónimos: UNQ492/PRO1008, DKK-1, SK

35 Otras designaciones: proteína-1 relacionada con dickkopf; similar a dickkopf-1; proteína 1 similar a dickkopf; proteína 1 relacionada con dickkopf; hDkk-1

**ANTICUERPOS**

Novartis: BHQ880 (Fulciniti M., y col. *Blood.* 2009 Jul 9;114(2):371-379)

40 Por ejemplo, véase el documento US20120052070A1 SEQ ID NO: 100 y 108.

**(84)** *CD52 (molécula de CD52)*

Nucleótido

45

Nº de registro de GenBank NM\_001803

Versión de Genbank nº NM\_001803.2 GI:68342029

Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:48 PM

50 Polipéptido

Nº de registro de GenBank NP\_001794

Versión de Genbank nº NP\_001794.2 GI:68342030

Fecha de actualización del registro de GenBank: 30 de septiembre de 2012 01:48 PM

55

Referencias cruzadas

Xia M.Q., y col. *Eur. J. Immunol.* 21 (7), 1677-1684 (1991)

60 Otra información

Símbolo oficial: CD52

Otros pseudónimos: CDW52

65 Otras designaciones: antígeno CAMPATH-1; antígeno CD52 (antígeno CAMPATH-1); antígeno CDW52 (antígeno CAMPATH-1); antígeno 1 de la patología de cambridge; proteína E5 secretora epididimal; he5; proteína 5 específica de epididimis humana

ANTICUERPOS

Alemtuzumab (Campath) - Skoetz N., y col., *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 Feb 15;2:CD008078.  
 Por ejemplo, véase el nº de registro a DrugBank DB00087 (BIOD00109, BTD00109)

5  
**(85) CS1 - SLAMF7 (miembro 7 de la familia de SLAM)**

Nucleótido

10      Nº de registro de GenBank NM\_021181  
 Versión de Genbank nº NM\_021181.3 GI: 1993571  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 29 de junio de 2012 11:24 AM

Polipéptido

15      Nº de registro de GenBank NP\_067004  
 Versión de Genbank nº NP\_067004.3 GM9923572  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 29 de junio de 2012 11:24 AM

20      Referencias cruzadas

Boles K.S., y col., *Immunogenetics* 52 (3-4), 302-307 (2001)

Otra información

25      Símbolo oficial: SLAMF7  
 Otros pseudónimos: UNQ576/PR01138, 19A, CD319, CRACC, CS1  
 Otras designaciones: proteína 19A24; subconjunto 1 de CD2; células citotóxicas activantes del receptor similar a CD2; células citotóxicas activantes del receptor similar a CD2; proteína FOAP-12 de la membrana; proteína similar a LY9 novedoso (antígeno 9 de linfocitos); proteína 19A

30

ANTICUERPOS

35      BMS: elotuzumab/HuLuc63 (Benson DM. y col., *J Clin Oncol.* 2012 Jun 1;30(16):2013-2015)  
 Por ejemplo, véase el documento US20110206701 SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16.

**(86) Endoglina - ENG (endoglina)**

Nucleótido

40      Nº de registro de GenBank AF035753  
 Versión de Genbank nº AF035753.1 GI:3452260  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de marzo de 2010 06:36 PM

Polipéptido

45      Nº de registro de GenBank AAC32802  
 Versión de Genbank nº AAC32802.1 GI:3452261  
 Fecha de actualización del registro de GenBank: 10 de marzo de 2010 06:36 PM

50

Referencias cruzadas

Rius C., y col., *Blood* 92 (12), 4677-4690 (1998)  
 Símbolo oficial: ENG

55      Otra información

Otros pseudónimos: RP11-228B15,2, CD105, END, HHT1, ORW, ORW1  
 Otras designaciones: antígeno CD105

60      **(87) Anexina A1 - ANXA1 (anexina A1)**

Nucleótido

65      Nº de registro de GenBank X05908  
 Versión de Genbank nº X05908.1 GI:34387

Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de febrero de 2011 10:02 AM

Polipéptido

5      Nº de registro de GenBank CCA29338  
Versión de Genbank nº CCA29338.1 GI:34388  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 02 de febrero de 2011 10:02 AM

Referencias cruzadas

10      Wallner B.P.,y col. *Nature* 320 (6057), 77-81 (1986)

Otra información

15      Símbolo oficial: ANXA1  
Otros pseudónimos: RP11-71A24,1, ANX1, LPC1  
Otras designaciones: anexina I (lipocortina I); anexina-1; calpactina II; calpactina-2; cromobindina-9; lipocortina I; p35; proteína inhibidora de fosfolipasa A2

20      **(88)** *V-CAM (CD106) - VCAM1 (molécula 1 de adhesión a células vasculares)*

Nucleótido

25      Nº de registro de GenBank M60335  
Versión de Genbank nº M60335.1 GI:340193  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 8:56 AM

Polipéptido

30      Nº de registro de GenBank AAA61269  
Versión de Genbank nº AAA61269.1 GI:340194  
Fecha de actualización del registro de GenBank: 23 de junio de 2010 8:56 AM

Referencias cruzadas

35      Hession C., y col., *J. Biol. Chem.* 266 (11), 6682-6685 (1991)

Otra información

40      Símbolo oficial VCAM1  
Otros pseudónimos: CD106, INCAM-100  
Otras designaciones: antígeno CD106; proteína 1 de adhesión a células vasculares

**Secuencias de anticuerpos**

45      *Anti-Integrina  $\alpha v \beta 6$*

RHAB6.2

QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWVRQAPGQGLEWMGWIDPENGDTE  
YAPKFQGRFVFLDTSVSTAYLQISLKAEDTAVYYCTRGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAG  
50      PYPFDYWGQGTLVTVSS

RHCB6.2

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFIDSYMHWVRQAPGQRLEWMGWIDPENGDTE  
YAPKFQGRVTITTDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVAG  
55      PYPFDYWGQGTLVTVSS

RHF

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNFIDSYMHWVRQAPGQRLEWMGWIDPENGDT  
EYAPKFQGRVFTTDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCNEGTPTPGYFFDYWGQGLTVT  
SS

5 RHFB6

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNFIDSYMHWVRQAPGQRLEWMGWIDPENGDT  
EYAPKFQGRVFTTDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCNEGTPTAVPNLRGDLQVLAQKVA  
GPYYFDYWGQGLTVTVSS

10 RHAY100bP

QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWRQAPGQGLEWMGWIDPENGDT  
YAPKFQGRFVFLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTGPYPFDYWGQGLTVTVSS

RKF

15 ENVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRF  
SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIK

RKFL36L50

20 ENVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWLQQKPGQAPRLLIYLTSNLASGIPDRF  
SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIK

RKC

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRFS  
GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGKVEIK

25 *Anti-CD33*

CD33 Hum195 VH

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTDYNMHWVRQAPGQGLEWIGYIYPYNGGTG  
YNQKFKSKATITADESTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRPAMDYWGQGLTVTVSS

30 CD33 Hum195 VK

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGS  
VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKVEIK

35

*Anti-CD 19*

VH acondicionada superficialmente de CD19 B4

QVQLVQPGAEEVVKPGASVKLSCKTSGYTFSTNWMHWVKQRPGQGLEWIGEIDPSDSYTN  
YNQNFKGKAKLTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYYAMDYWGQGTSVTV  
5 SS

VK acondicionada superficialmente de CD19 B4

EIVLTQSPAIMASAPGERVTMTCSASSGVNYMHWYQQKPGTSPRRWIYDTSKLASGVPAR  
10 FSGSGSGTSYSLTISSMEPEDAATYYCHQRGSYTFGGGKLEIK

*Anti-Her2*

Cadena de VH de herceptina

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY  
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTS  
15 S

Cadena de VL de herceptina

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSR  
20 FSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIK

*Anti-CD25*

Simulect VK (también conocido como Basiliximab)

QIVSTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSRSYMQWYQQKPGTSPKRWIYDTSKLASGVPAR  
25 FSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYTFGGGKLEIK

Simulect VH

QLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYFTRYWMHWIKQRPGQGLEWIGAIYPGNSDTSYN  
30 QKFEGKAKLTAVTSASTAYMELSSLTHEDSAVYYCSRDYGYFDFWGQGTLLTVSS

*Anti-PSMA*

VH '1 desinmunizado

EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGKGLEWIGNINPNNGGTTYN  
35 QKFEDKATLTVDKSTDAYMELSSLRSEDVAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVSS

VK '1 desinmunizado

DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGPSPKLLIYWASTRHTGIPSR  
40 FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIK

VH1 '5 desinmunizado

EVKLVESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNF  
ATHYAESVKGRVTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTGVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

5 VH2 '5 desinmunizado

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFA  
THYAESVKGRVTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

10 VH3 '5 desinmunizado

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFA  
THYAESVKGRVTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

VH4 '5 desinmunizado

15 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNNFA  
THYAESVKGRFTISRDDSKSIVYLQMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

VK1 '5 desinmunizado

20 NIVMTQFPSSMSASVGDRVTITCKASENVGTYVSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPD  
RFTGSGSATDFTLTISLQTEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEMK

VK2 '5 desinmunizado

25 NIVMTQFPSSMSASVGDRVTITCKASENVGTYVSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPD  
RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

VK3 '5 desinmunizado

30 NIQMTQFPSAMSASVGDRVTITCKASENVGTYVSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPD  
RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

VK4 '5 desinmunizado

30 NIQMTQFPSAMSASVGDRVTITCKASENVGTYVSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVPD  
RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

VK DI '5 desinmunizado

35 NIVMTQFPKMSASAGERMTLTCKASENVGTYVSWYQQKPTQSPKMLIYGASNRFTGVPD  
RFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGKLEMK

VH DI '5 desinmunizado

40 EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASGFTFSNYWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRSQSNNFA  
THYAESVKGRVIISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

RHA '5 humanizado

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVGEIRSQSNNFA  
THYAESVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

5 RHB '5 humanizado

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFA  
THYAESVKGRVIISRDDSKNTVYLMNSLRTEDEAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

10 RHC '5 humanizado

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFA  
THYAESVKGRVIISRDDSKNTVYLMNSLRTEDEAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

RHD '5 humanizado

15 RHE '5 humanizado

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFA  
THYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLMNSLRTEDEAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

20 RHF '5 humanizado

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFA  
THYAESVKGRVIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDEAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

25 RHG '5 humanizado

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNNFA  
THYAESVKGRVIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDEAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

30 RKA '5 humanizado

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPSR  
FSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGKVEIK

RKB '5 humanizado

35 RKC '5 humanizado

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPS  
RFSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGKVEIK

40

RKD '5 humanizado

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPS  
RFSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGGTKVEIK

5 RKE '5 humanizado

NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVPDR  
FTGSGSATDFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGGTKVEIK

10 RKF '5 humanizado

NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPSR  
FSGSGSATDFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGGTKVEIK

RKG '5 humanizado

15 NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVPDR  
FTGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGGTKVEIK

20 El anticuerpo parental también puede ser una proteína de fusión que comprende una secuencia de péptidos de unión a albúmina (ABP) (Dennis y col. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" *J Biol Chem.* 277:35035-35043; documento WO 01/45746). Los anticuerpos de la invención incluyen proteínas de fusión con secuencias de ABP enseñadas por: (i) Dennis y col. (2002) *J Biol Chem.* 277:35035-35043 en las Tablas III y IV, página 35038; (ii) documento US 2004/0001827 en [0076]; y (iii) documento WO 01/45746 en las páginas 12-13 y todas las cuales se incorporan en el presente documento por referencia.

25 En una realización, el anticuerpo se ha producido para dirigirse específicamente al antígeno relacionado con el tumor  $\alpha_v\beta_6$ .

30 El agente de unión a célula puede marcarse, por ejemplo, para ayudar en la detección o purificación del agente tanto antes de la incorporación como un conjugado, o como parte del conjugado. La marca puede ser una marca de biotina. En otra realización, el agente de unión a célula puede marcarse con un radioisótopo.

Las realizaciones de la presente invención incluyen ConjA en el que el agente de unión a célula está seleccionado de un anticuerpo para cualquiera de los antígenos tratados anteriormente.

35 Las realizaciones de la presente invención incluyen ConjB en el que el agente de unión a célula está seleccionado de un anticuerpo a cualquiera de los antígenos tratados anteriormente.

Las realizaciones de la presente invención incluyen ConjA en el que el agente de unión a célula está seleccionado de cualquiera de los anticuerpos tratados anteriormente.

40 Las realizaciones de la presente invención incluyen ConjB en el que el agente de unión a célula está seleccionado de cualquiera de los anticuerpos tratados anteriormente.

45 La presente invención también se puede referir a conjugados en los que el agente de unión a células está seleccionado de un anticuerpo para cualquiera de los antígenos tratados anteriormente y cualquiera de los anticuerpos tratados anteriormente relacionados a distintos fármacos.

*Carga de fármaco*

50 La carga de fármaco es el número promedio de fármacos de PBD por agente de unión a célula, por ejemplo, anticuerpo. Si los compuestos de la invención están unidos a cisteínas, la carga de fármaco puede oscilar de 1 a 8 fármacos (D) por agente de unión a célula, es decir, en los que 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 restos de fármaco están covalentemente unidos al agente de unión a célula. Las composiciones de conjugados incluyen colecciones de agentes de unión a célula, por ejemplo, anticuerpos, conjugados con un intervalo de fármacos, de 1 y 8.

55

Si los compuestos de la invención están unidos a lisinas, la carga de fármaco puede oscilar de 1 a 80 fármacos (D) por agente de unión a célula, aunque puede preferirse un límite superior de 40, 20, 10 ó 8. Las composiciones de conjugados incluyen colecciones de agentes de unión a célula, por ejemplo, anticuerpos, conjugados con un intervalo de fármacos, de 1 a 80, 1 a 40, 1 a 20, 1 a 10 ó 1 a 8.

5 El número promedio de fármacos por anticuerpo en preparaciones de ADC de reacciones de conjugación puede caracterizarse mediante medios convencionales tales como UV, HPLC en fase inversa, HIC, espectroscopía de masas, ensayo de ELISA y electroforesis. También puede determinarse la distribución cuantitativa de ADC en términos de p. Por ELISA, puede determinarse el valor promediado de p en una preparación particular de ADC  
10 (Hamblett y col. (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson y col (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852). Sin embargo, la distribución de valores de p (fármaco) no es discernible por la unión anticuerpo-antígeno y la limitación de la detección de ELISA. Asimismo, el ensayo de ELISA para la detección de conjugados de anticuerpo-fármaco no determina si los restos de fármaco están unidos al anticuerpo, tal como los fragmentos de la cadena pesada o cadena ligera, o los restos de aminoácidos particulares. En algunos casos, puede lograrse la separación, purificación y caracterización de ADC homogéneos en los que p es un cierto valor de ADC con otras cargas de fármaco por  
15 medios tales como HPLC de fase inversa o electroforesis. Tales técnicas también son aplicables a otros tipos de conjugados.

20 Para algunos conjugados de anticuerpo-fármaco, p puede estar limitado por el número de sitios de unión sobre el anticuerpo. Por ejemplo, un anticuerpo puede tener solo uno o varios grupos tiol de cisteína, o puede tener solo uno o varios grupos tiol suficientemente reactivos mediante los cuales puede unirse un enlazador. Mayor carga de fármaco, por ejemplo,  $p > 5$ , puede producir agregación, insolubilidad, toxicidad o pérdida de la permeabilidad celular de ciertos conjugados de anticuerpo-fármaco.

25 Normalmente, menos del máximo teórico de los restos de fármaco están conjugados con un anticuerpo durante una reacción de conjugación. Un anticuerpo puede contener, por ejemplo, muchos restos de lisina que no reaccionan con el producto intermedio de fármaco-conector (D-L) o reactivo conector. Solo los grupos lisina más reactivos pueden reaccionar con un reactivo de conector reactivo con amina. Asimismo, solo los grupos tiol de cisteína más reactivos pueden reaccionar con un reactivo de enlazador reactivo con tiol. En general, los anticuerpos no contienen muchos,  
30 si los hay, grupos tiol de cisteína libres y reactivos que puedan ligarse a un resto de fármaco. La mayoría de los restos de tiol de cisteína en los anticuerpos de los compuestos existen como puentes de disulfuro y deben reducirse con un agente reductor tal como ditioneitol (DTT) o TCEP, bajo condiciones reductoras parciales o totales. La carga (relación de fármaco/anticuerpo) de un ADC puede controlarse de varias maneras diferentes, que incluyen: (i) limitando el exceso molar de producto intermedio de fármaco-conector (D-L) o reactivo de conector con respecto al anticuerpo, (ii) limitando el tiempo de reacción de la conjugación o temperatura, y (iii) condiciones reductoras  
35 parciales o reductoras limitantes para la modificación del tiol de cisteína.

Ciertos anticuerpos tienen disulfuros entre cadenas reducibles, es decir, puentes de cisteína. Los anticuerpos pueden hacerse reactivos para la conjugación con reactivos de enlazador mediante tratamiento con un agente reductor tal como DTT (ditiotretitol). Cada puente de cisteína formará así, teóricamente, dos nucleófilos de tiol reactivos. Pueden introducirse grupos nucleófilos adicionales en anticuerpos mediante la reacción de lisinas con 2-  
40 iminotiolano (reactivo de Traut) produciendo la conversión de una amina en un tiol. Los grupos tiol reactivos pueden introducirse en el anticuerpo (o fragmento del mismo) manipulando por ingeniería uno, dos, tres, cuatro o más restos de cisteína (por ejemplo, preparando anticuerpos mutantes que comprenden uno o más restos del aminoácido cisteína no nativos). El documento US 7521541 enseña a manipular anticuerpos mediante introducción de aminoácidos de cisteína reactivos.

Los aminoácidos de cisteína pueden manipularse por ingeniería en sitios reactivos en un anticuerpo y que no forman enlaces disulfuro entre cadenas o intermoleculares (Junutula, y col., 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornan y col. (2009) Blood 114(13):2721-2729; documentos US 7521541; US 7723485; WO2009/052249). Los tioles de cisteína manipulados por ingeniería pueden reaccionar con reactivos de enlazador o los reactivos de fármaco-  
50 enlazador de la presente invención que tienen grupos electrófilos reactivos con tiol, tales como maleimida o alfa-haloamidas para formar ADC con anticuerpos manipulados por ingeniería por cisteína y el resto de fármacos de PBD. Así, la localización del resto de fármaco puede diseñarse, controlarse y conocerse. La carga de fármaco puede controlarse, ya que los grupos tiol de cisteína manipulados por ingeniería normalmente reaccionan con reactivos de enlazador reactivos con tiol o reactivos de fármaco-enlazador en alto rendimiento. La manipulación de un anticuerpo IgG para introducir un aminoácido de cisteína por sustitución en un único sitio sobre la cadena pesada o ligera proporciona dos nuevas cisteínas sobre el anticuerpo simétrico. Una carga de fármaco próxima a 2 puede lograrse con casi homogeneidad del producto de conjugación ADC.

60 Si más de un grupo nucleófilo o electrófilo del anticuerpo reacciona con un producto intermedio de fármaco-enlazador, o reactivo de enlazador seguido de resto de fármaco reactivo, entonces el producto resultante es una mezcla de compuestos de ADC con una distribución de restos de fármaco unidos a un anticuerpo, por ejemplo, 1, 2, 3, etc. Los procedimientos de cromatografía de líquidos tales como fase inversa polimérica (PLRP) e interacción hidrófoba (HIC) pueden separar compuestos en la mezcla por el valor de carga del fármaco. Las preparaciones de ADC con un único valor de carga de fármaco (p) pueden aislarse, sin embargo, estos ADC de valor de carga único  
65

pueden todavía ser mezclas heterogéneas debido a que los restos de fármaco pueden unirse, mediante el enlazador, en diferentes sitios sobre el anticuerpo.

De este modo, las composiciones de conjugado de anticuerpo-fármaco de la invención incluyen mezclas de compuestos de conjugados de anticuerpo-fármaco en las que el anticuerpo tiene uno o más restos de fármaco de PBD y en las que los restos de fármaco pueden unirse al anticuerpo en diversos restos de aminoácidos.

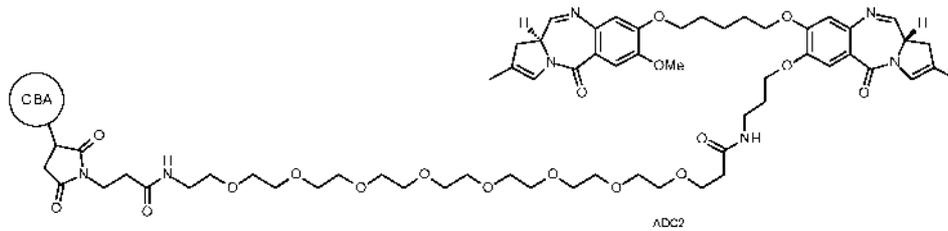
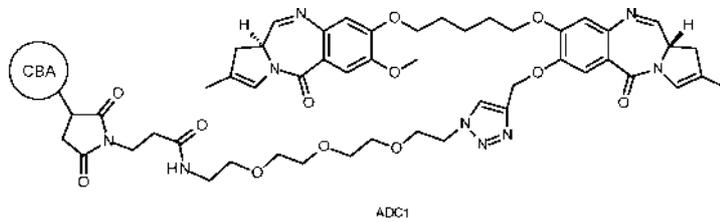
En una realización, En una realización, el número promedio de grupos de pirrolobenzodiazepina diméricos por agente de unión a célula está en el intervalo 1 a 20. En algunas realizaciones, el intervalo está seleccionado de 1 a 8, 2 a 8, 2 a 6, 2 a 4, y 4 a 8.

En algunas realizaciones, hay un grupo de pirrolobenzodiazepina dimérico por agente de unión a célula.

*Compuestos preferidos*

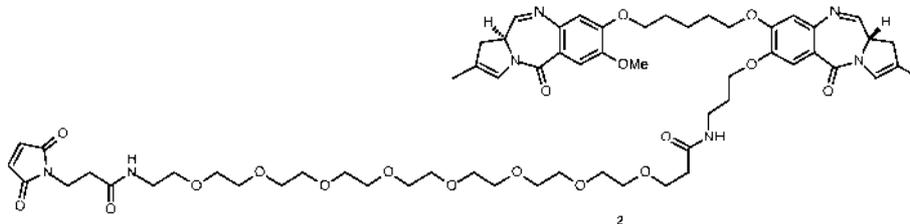
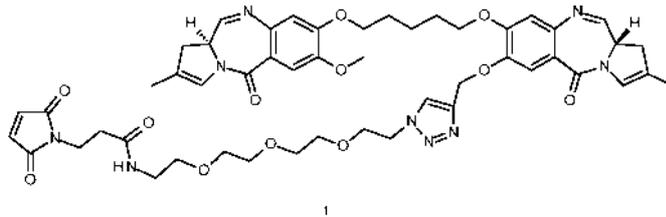
15

Los compuestos particularmente preferidos del segundo aspecto de la presente invención incluyen:



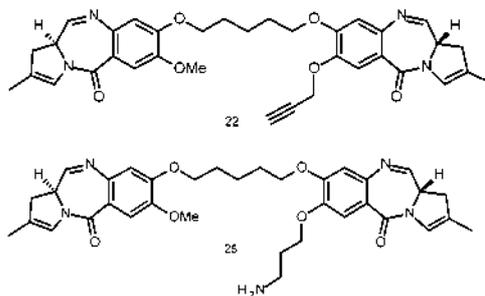
20

Los compuestos particularmente preferidos del segundo aspecto de la presente invención incluyen:



25

Los compuestos particularmente preferidos del tercer aspecto de la presente invención incluyen:



### Sustituyentes

- 5 La expresión "opcionalmente sustituido", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo principal que puede estar no sustituido o que puede estar sustituido.

Salvo que se especifique otra cosa, el término "sustituido", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo principal que porta uno o más sustituyentes. El término "sustituyente" se usa en el presente documento en el sentido convencional y se refiere a un resto químico que está unido covalentemente a, o si fuera adecuado, fusionado a, un grupo principal. Se conoce bien una amplia diversidad de sustituyentes y también son bien conocidos los métodos para su formación e introducción en diversos grupos principales.

15 En una realización preferida, los sustituyentes descritos en el presente documento (que incluyen los sustituyentes opcionales) se limitan a aquellos grupos que no son reactivos a un agente de unión celular. El enlace al agente de unión celular en el presente caso se forma a partir del puente entre los dos restos de PBD a través de un grupo enlazador al agente de unión celular. Los grupos funcionales reactivos localizados en otras partes de la estructura de PBD pueden ser capaces de formar enlaces adicionales al agente de unión celular (esto puede denominarse reticulación). Estos enlaces adicionales pueden alterar el transporte y la actividad biológica del conjugado. Por lo tanto, en alguna realización, los sustituyentes adicionales se limitan a aquellos que carecen de funcionalidad reactiva.

En una realización, los sustituyentes se seleccionan entre el grupo que consiste en R, OR, SR, NRR', NO<sub>2</sub>, halo, CO<sub>2</sub>R, COR, CONH<sub>2</sub>, CONHR y CONRR'.

- 25 En una realización, los sustituyentes se seleccionan entre el grupo que consiste en R, OR, SR, NRR', NO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>R, COR, CONH<sub>2</sub>, CONHR y CONRR'.

En una realización, los sustituyentes se seleccionan entre el grupo que consiste en R, OR, SR, NRR', NO<sub>2</sub> y halo.

En una realización, los sustituyentes se seleccionan entre el grupo que consiste en R, OR, SR, NRR' y NO<sub>2</sub>.

- 30 Cualquiera de las realizaciones anteriormente mencionadas puede aplicarse a cualquiera de los sustituyentes descritos en el presente documento. Como alternativa, los sustituyentes pueden seleccionarse entre uno o más de los grupos enumerados a continuación.

A continuación se describen con más detalle ejemplos de sustituyentes.

- 35 Alquilo C<sub>1-12</sub>: El término "alquilo C<sub>1-12</sub>", como se usa en el presente documento, se refiere a un resto monovalente obtenido mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono de un compuesto hidrocarburo que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, el cual puede ser alifático o alicíclico y puede estar saturado o insaturado (p. ej., parcialmente insaturado, completamente insaturado). Por lo tanto, el término "alquilo" incluye las subclases alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, etc., tratadas a continuación.

Los ejemplos de grupos alquilo saturados incluyen, pero sin limitación, metilo (C<sub>1</sub>), etilo (C<sub>2</sub>), propilo (C<sub>3</sub>), butilo (C<sub>4</sub>), pentilo (C<sub>5</sub>), hexilo (C<sub>6</sub>) y heptilo (C<sub>7</sub>).

- 45 Los ejemplos de grupos alquilo lineales saturados incluyen, pero sin limitación, metilo (C<sub>1</sub>), etilo (C<sub>2</sub>), n-propilo (C<sub>3</sub>), n-butilo (C<sub>4</sub>), n-pentilo (amilo) (C<sub>5</sub>), n-hexilo (C<sub>6</sub>) y n-heptilo (C<sub>7</sub>).

Los ejemplos de grupos alquilo ramificados saturados incluyen iso-propilo (C<sub>3</sub>), iso-butilo (C<sub>4</sub>), sec-butilo (C<sub>4</sub>), terc-butilo (C<sub>4</sub>), iso-pentilo (C<sub>5</sub>) y neo-pentilo (C<sub>5</sub>).

- 50 Un grupo alquilo opcionalmente puede interrumpirse mediante uno o más heteroátomos seleccionados entre O, N(H) y S. Dichos grupos pueden denominarse "heteroalquilo".

- 55 Heteroalquilo C<sub>2-12</sub>: El término "heteroalquilo C<sub>2-12</sub>", como se usa en el presente documento, se refiere a un resto monovalente obtenido mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo de carbono de un compuesto

hidrocarburo que tiene de 2 a 12 átomos de carbono y uno o más heteroátomos seleccionados entre O, N(H) y S, preferentemente O y S.

5 Los ejemplos de grupos heteroalquilo incluyen, pero sin limitación, aquellos que comprenden una o más unidades de etilenglicol del tipo  $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)-$ . El terminal de un grupo heteroalquilo puede estar en la forma primaria de un heteroátomo, por ejemplo  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$  o  $-\text{NH}_2$ . En una realización preferida, el terminal es  $-\text{CH}_3$ .

10 Alqueno  $\text{C}_{2-12}$ : El término "alqueno  $\text{C}_{2-12}$ ", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo que tiene uno o más dobles enlaces carbono-carbono.

Los ejemplos de grupos alqueno insaturados incluyen, pero sin limitación, etenilo (vinilo,  $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 1-propenilo ( $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$ ), 2-propenilo (alilo,  $-\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), isopropenilo (1-metilvinilo,  $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ), butenilo ( $\text{C}_4$ ), pentenilo ( $\text{C}_5$ ) y hexenilo ( $\text{C}_6$ ).

15 Alquino  $\text{C}_{2-12}$ : El término "alquino  $\text{C}_{2-12}$ ", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo que tiene uno o más triples enlaces carbono-carbono.

Los ejemplos de grupos alquino insaturados incluyen, pero sin limitación, etinilo ( $-\text{C}\equiv\text{CH}$ ) y 2-propinilo (propargilo,  $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$ ).

20 Cicloalquilo  $\text{C}_{3-12}$ : El término "cicloalquilo  $\text{C}_{3-12}$ ", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo que es también un grupo ciclico; es decir, un resto monovalente obtenido mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo en el anillo alicíclico de un compuesto de hidrocarburo cíclico (carbocíclico), cuyo resto tiene de 3 a 7 átomos de carbono, incluyendo de 3 a 7 átomos en el anillo.

25 Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, pero sin limitación, los procedentes de:

compuestos de hidrocarburos monocíclicos saturados:

30 ciclopropano ( $\text{C}_3$ ), ciclobutano ( $\text{C}_4$ ), ciclopentano ( $\text{C}_5$ ), ciclohexano ( $\text{C}_6$ ), cicloheptano ( $\text{C}_7$ ), metilciclopropano ( $\text{C}_4$ ), dimetilciclopropano ( $\text{C}_5$ ), metilciclobutano ( $\text{C}_5$ ), dimetilciclobutano ( $\text{C}_6$ ), metilciclopentano ( $\text{C}_6$ ), dimetilciclopentano ( $\text{C}_7$ ) y metilciclohexano ( $\text{C}_7$ );

compuestos de hidrocarburo monocíclico insaturado:

35 ciclopropeno ( $\text{C}_3$ ), ciclobuteno ( $\text{C}_4$ ), ciclopenteno ( $\text{C}_5$ ), ciclohexeno ( $\text{C}_6$ ), metilciclopropeno ( $\text{C}_4$ ), dimetilciclopropeno ( $\text{C}_5$ ), metilciclobuteno ( $\text{C}_5$ ), dimetilciclobuteno ( $\text{C}_6$ ), metilciclopenteno ( $\text{C}_6$ ), dimetilciclopenteno ( $\text{C}_7$ ) y metilciclohexeno ( $\text{C}_7$ ) y

compuestos de hidrocarburo policíclico saturado:  
norcarano ( $\text{C}_7$ ), norpinano ( $\text{C}_7$ ), norbornano ( $\text{C}_7$ ).

40 Heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$ : El término "heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$ ", como se usa en el presente documento, se refiere a un resto monovalente obtenido mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo en el anillo de un compuesto heterocíclico, cuyo resto tiene de 3 a 20 átomos en el anillo, de los que de 1 a 10 son heteroátomos en el anillo. Preferentemente, cada anillo tiene de 3 a 7 átomos en el anillo, de los que de 1 a 4 son heteroátomos en el anillo.

45 En este contexto, los prefijos (por ejemplo,  $\text{C}_{3-20}$ ,  $\text{C}_{3-7}$ ,  $\text{C}_{5-6}$ , etc.) denotan el número de átomos en el anillo o el intervalo del número de átomos en el anillo, ya sean átomos de carbono o heteroátomos. Por ejemplo, el término "heterociclilo  $\text{C}_{5-6}$ ", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo heterociclilo que tiene 5 o 6 átomos en el anillo.

50 Los ejemplos de grupos heterociclilo monocíclicos incluyen, pero sin limitación, los procedentes de:

$\text{N}_1$ : aziridina ( $\text{C}_3$ ), azetidina ( $\text{C}_4$ ), pirrolidina (tetrahidropirrol) ( $\text{C}_5$ ), pirrolina (por ejemplo, 3-pirrolina, 2,5-dihidropirrol) ( $\text{C}_5$ ), 2H-pirrol o 3H-pirrol (isopirrol, isoazol) ( $\text{C}_5$ ), piperidina ( $\text{C}_6$ ), dihidropiridina ( $\text{C}_6$ ), tetrahidropiridina ( $\text{C}_6$ ), azepina ( $\text{C}_7$ );

55  $\text{O}_1$ : oxirano ( $\text{C}_3$ ), oxetano ( $\text{C}_4$ ), oxolano (tetrahidrofurano) ( $\text{C}_5$ ), oxol (dihidrofurano) ( $\text{C}_5$ ), oxano (tetrahidropirano) ( $\text{C}_6$ ), dihidropirano ( $\text{C}_6$ ), pirano ( $\text{C}_6$ ), oxepina ( $\text{C}_7$ );

$\text{S}_1$ : tiirano ( $\text{C}_3$ ), tietano ( $\text{C}_4$ ), tiolano (tetrahidrotiofeno) ( $\text{C}_5$ ), tiano (tetrahidrotiopirano) ( $\text{C}_6$ ), tiepano ( $\text{C}_7$ );

$\text{O}_2$ : dioxolano ( $\text{C}_5$ ), dioxano ( $\text{C}_6$ ) y dioxepano ( $\text{C}_7$ );

$\text{O}_3$ : trioxano ( $\text{C}_6$ );

60  $\text{N}_2$ : imidazolidina ( $\text{C}_5$ ), pirazolidina (diazolidina) ( $\text{C}_5$ ), imidazolina ( $\text{C}_5$ ), pirazolina (dihidropirazol) ( $\text{C}_5$ ), piperazina ( $\text{C}_6$ );

$\text{N}_1\text{O}_1$ : tetrahidrooxazol ( $\text{C}_5$ ), dihidrooxazol ( $\text{C}_5$ ), tetrahidroisoxazol ( $\text{C}_5$ ), dihidroisoxazol ( $\text{C}_5$ ), morfolina ( $\text{C}_6$ ), tetrahidrooxazina ( $\text{C}_6$ ), dihidrooxazina ( $\text{C}_6$ ), oxazina ( $\text{C}_6$ );

$\text{N}_1\text{S}_1$ : tiazolina ( $\text{C}_5$ ), tiazolidina ( $\text{C}_5$ ), tiomorfolina ( $\text{C}_6$ );

$\text{N}_2\text{O}_1$ : oxadiazina ( $\text{C}_6$ );

65  $\text{O}_1\text{S}_1$ : oxatiol ( $\text{C}_5$ ) y oxatiano (tioxano) ( $\text{C}_6$ ) y  $\text{N}_1\text{O}_1\text{S}_1$ : oxatiazina ( $\text{C}_6$ ).

Los ejemplos de grupos heterociclilo monocíclicos sustituidos incluyen los obtenidos a partir de sacáridos, en forma cíclica, por ejemplo, furanosas (C<sub>5</sub>), tales como arabinofurano, lixofurano, ribofurano y xilofurano y piranosas (C<sub>6</sub>), tales como alopirano, altropirano, glucopirano, manopirano, gulopirano, idopirano, galactopirano y talopirano.

5 Arilo C<sub>5-20</sub>: El término "arilo C<sub>5-20</sub>", como se usa en el presente documento, se refiere a un resto monovalente obtenido mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo en el anillo aromático de un compuesto aromático, cuyo resto tiene de 3 a 20 átomos en el anillo. Preferentemente, cada anillo tiene de 5 a 7 átomos en el anillo.

10 En este contexto, los prefijos (por ejemplo, C<sub>3-20</sub>, C<sub>5-7</sub>, C<sub>5-6</sub>, etc.) denotan el número de átomos en el anillo o el intervalo del número de átomos en el anillo, ya sean átomos de carbono o heteroátomos. Por ejemplo, el término "arilo C<sub>5-6</sub>", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo arilo que tiene 5 o 6 átomos en el anillo.

15 Los átomos en el anillo pueden ser todos átomos de carbono, como en los "grupos carboarilo". Los ejemplos de grupos carboarilo incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de benceno (es decir fenilo) (C<sub>6</sub>), naftaleno (C<sub>10</sub>), azuleno (C<sub>10</sub>), antraceno (C<sub>14</sub>), fenantreno (C<sub>14</sub>), naftaceno (C<sub>18</sub>) y pireno (C<sub>16</sub>).

20 Los ejemplos de grupos arilo que comprenden anillos condensados, siendo al menos uno de los cuales un anillo aromático, incluyen, pero sin limitación, grupos obtenidos a partir de indano (por ejemplo, 2,3-dihidro-1H-indeno) (C<sub>9</sub>), indeno (C<sub>9</sub>), isoindeno (C<sub>9</sub>), tetralina (1,2,3,4-tetrahidronaftaleno) (C<sub>10</sub>), acenafteno (C<sub>12</sub>), fluoreno (C<sub>13</sub>), fenaleno (C<sub>13</sub>), acefenantreno (C<sub>15</sub>) y aceantreno (C<sub>16</sub>).

25 Como alternativa, los átomos en el anillo pueden incluir uno o más heteroátomos, como en los "grupos heteroarilo". Los ejemplos de grupos heteroarilo monocíclicos incluyen, pero sin limitación, los procedentes de:

N<sub>1</sub>: pirrol (azol) (C<sub>5</sub>), piridina (azina) (C<sub>6</sub>);

O<sub>1</sub>: furano (oxol) (C<sub>5</sub>);

S<sub>1</sub>: tiofeno (tiol) (C<sub>5</sub>);

30 N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>: oxazol (C<sub>5</sub>), isoxazol (C<sub>5</sub>), isoxazina (C<sub>6</sub>);

N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>: oxadiazol (furazan) (C<sub>5</sub>);

N<sub>3</sub>O<sub>1</sub>: oxatriazol (C<sub>5</sub>);

N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>: tiazol (C<sub>5</sub>), isotiazol (C<sub>5</sub>);

35 N<sub>2</sub>: imidazol (1,3-diazol) (C<sub>5</sub>), pirazol (1,2-diazol) (C<sub>5</sub>), piridazina (1,2-diazina) (C<sub>6</sub>), pirimidina (1,3-diazina) (C<sub>6</sub>) (por ejemplo, citosina, timina, uracilo), pirazina (1,4-diazina) (C<sub>6</sub>);

N<sub>3</sub>: triazol (C<sub>5</sub>), triazina (C<sub>6</sub>) y

N<sub>4</sub>: tetrazol (C<sub>5</sub>).

Los ejemplos de heteroarilo que comprenden anillos condensados incluyen, pero sin limitación:

40 C<sub>9</sub> (con 2 anillos condensados) derivados de benzofurano (O<sub>1</sub>), isobenzofurano (O<sub>1</sub>), indol (N<sub>1</sub>), isoindol (N<sub>1</sub>), indolizina (N<sub>1</sub>), indolina (N<sub>1</sub>), isoindolina (N<sub>1</sub>), purina (N<sub>4</sub>) (por ejemplo, adenina, guanina), benzoimidazol (N<sub>2</sub>), indazol (N<sub>2</sub>), benzoxazol (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>), benzoisoxazol (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>), benzodioxol (O<sub>2</sub>), benzofurazan (N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>), benzotriazol (N<sub>3</sub>), benzotiofurano (S<sub>1</sub>), benzotiazol (N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), benzotiadiazol (N<sub>2</sub>S);

45 C<sub>10</sub>(con 2 anillos condensados) derivados de cromeno (O<sub>1</sub>), isocromeno (O<sub>1</sub>), cromano (O<sub>1</sub>), isocromano (O<sub>1</sub>), benzodioxano (O<sub>2</sub>), quinolina (N<sub>1</sub>), isoquinolina (N<sub>1</sub>), quinolizina (N<sub>1</sub>), benzoxazina (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>), benzodiazina (N<sub>2</sub>), piridopiridina (N<sub>2</sub>), quinoxalina (N<sub>2</sub>), quinazolina (N<sub>2</sub>), cinolina (N<sub>2</sub>), ftalazina (N<sub>2</sub>), naftiridina (N<sub>2</sub>), pteridina (N<sub>4</sub>);

C<sub>11</sub> (con 2 anillos condensados) derivados de benzodiazepina (N<sub>2</sub>);

50 C<sub>13</sub>(con 3 anillos condensados) derivados de carbazol (N<sub>1</sub>), dibenzofurano (O<sub>1</sub>), dibenzotiofeno (S<sub>1</sub>), carbolina (N<sub>2</sub>), perimidina (N<sub>2</sub>), piridoindol (N<sub>2</sub>) y,

C<sub>14</sub> (con 3 anillos condensados) derivados de acridina (N<sub>1</sub>), xanteno (O<sub>1</sub>), tioxanteno (S<sub>1</sub>), oxantreno (O<sub>2</sub>), fenoxatiina (O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), fenazina (N<sub>2</sub>), fenoxazina (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>), fenotiazina (N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), tiantreno (S<sub>2</sub>), fenantridina (N<sub>1</sub>), fenantrolina (N<sub>2</sub>), fenazina (N<sub>2</sub>).

55 Los grupos anteriores, bien solos o como parte de otro sustituyente, opcionalmente pueden ellos mismos estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados entre ellos mismos y los sustituyentes adicionales enumerados a continuación.

Halo: -F, -Cl, -Br y -I.

60 Hidroxi: -OH.

Éter: -OR, donde R es un sustituyente de éter, por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub> (también denominado grupo alcoxi C<sub>1-7</sub>, tratado a continuación), un grupo heterociclilo C<sub>3-20</sub> (también denominado grupo heterociclioxi C<sub>3-20</sub>) o un grupo arilo C<sub>5-20</sub> (también denominado grupo ariloxi C<sub>5-2</sub>), preferentemente un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>.

65

Alcoxi: -OR, donde R es un grupo alquilo, por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>. Los ejemplos de grupos alcoxi C<sub>1-7</sub> incluyen, pero sin limitación, -OMe (metoxi), -OEt (etoxi), -O(nPr) (n-propoxi), -O(iPr) (isopropoxi), -O(nBu) (n-butoxi), -O(sBu) (sec-butoxi), -O(iBu) (isobutoxi) y -O(tBu) (*tert*-butoxi).

5 Acetal: -CH(OR<sup>1</sup>)(OR<sup>2</sup>), donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente sustituyentes de acetal, por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>, un grupo heterociclilo C<sub>3-20</sub> o un grupo arilo C<sub>5-20</sub>, preferentemente un grupo alquilo C<sub>1-7</sub> o, en el caso de un grupo acetal "cíclico", R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, tomados junto con los dos átomos de oxígeno a los que están unidos y los átomos de carbono a los que están unidos, forman un anillo heterocíclico que tiene de 4 a 8 átomos en el anillo. Los ejemplos de grupos acetal incluyen, pero sin limitación, -CH(OMe)<sub>2</sub>, -CH(OEt)<sub>2</sub> y -CH(OMe)(OEt).

10 Hemiacetal: -CH(OH)(OR<sup>1</sup>), donde R<sup>1</sup> es un sustituyente de hemiacetal, por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>, un grupo heterociclilo C<sub>3-20</sub> o un grupo arilo C<sub>5-20</sub>, preferentemente un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>. Los ejemplos de grupos hemiacetal incluyen, pero sin limitación, -CH(OH)(OMe) y -CH(OH)(OEt).

15 Cetal: -CR(OR<sup>1</sup>)(OR<sup>2</sup>), donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se define para los acetales y R es un sustituyente de cetal distinto de hidrógeno, por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>, un grupo heterociclilo C<sub>3-20</sub> o un grupo arilo C<sub>5-20</sub>, preferentemente un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>. Los ejemplos de grupos cetal incluyen, pero sin limitación, -C(Me)(OMe)<sub>2</sub>, -C(Me)(OEt)<sub>2</sub>, -C(Me)(OMe)(OEt), -C(Et)(OMe)<sub>2</sub>, -C(Et)(OEt)<sub>2</sub> y -C(Et)(OMe)(OEt).

20 Hemicetal: -CR(OH)(OR<sup>1</sup>), donde R<sup>1</sup> es como se define para hemiacetales y R es un sustituyente de hemicetal distinto de hidrógeno, por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>, un grupo heterociclilo C<sub>3-20</sub> o un grupo arilo C<sub>5-20</sub>, preferentemente un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>. Los ejemplos de grupos hemiacetal incluyen, pero sin limitación, -C(Me)(OH)(OMe), -C(Et)(OH)(OMe), -C(Me)(OH)(OEt) y -C(Et)(OH)(OEt).

25 Oxo (ceto, -ona): =O.

Tiona (tiocetona): =S.

30 Imino (imina): =NR, donde R es un sustituyente de imina, por ejemplo, hidrógeno, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>, un grupo heterociclilo C<sub>3-20</sub> o un grupo arilo C<sub>5-20</sub>, preferentemente hidrógeno o un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>. Los ejemplos de grupos éster incluyen, pero sin limitación, =NH, =NMe, =NEt y =NPh.

Formilo (carbaldehído, carboxaldehído): -C(=O)H.

35 Acilo (ceto): -C(=O)R, donde R es un sustituyente de acilo, por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub> (también denominado alquilacilo C<sub>1-7</sub> o alcanilo C<sub>1-7</sub>), un grupo heterociclilo C<sub>3-20</sub> (también denominado heterocicilacilo C<sub>3-20</sub>) o un grupo arilo C<sub>5-20</sub> (también denominado arilacilo C<sub>5-20</sub>), preferentemente un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>. Los ejemplos de grupos acilo incluyen, pero sin limitación, -C(=O)CH<sub>3</sub> (acetilo), -C(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (propionilo), -C(=O)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (t-butirilo) y -C(=O)Ph (benzoilo, fenona).

40 Carboxi (ácido carboxílico): -C(=O)OH.

Tiocarboxi (ácido tiocarboxílico): -C(=S)SH.

45 Tiolocarboxi (ácido tiolocarboxílico): -C(=O)SH.

Tionocarboxi (ácido tionocarboxílico): -C(=S)OH.

50 Ácido imídico: -C(=NH)OH.

Ácido hidroxámico: -C(=NOH)OH.

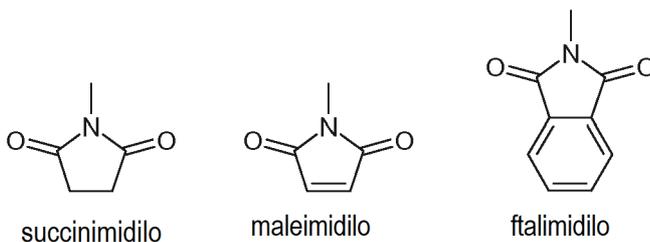
Éster (carboxilato, éster de ácido carboxílico, oxicarbonilo): -C(=O)OR, donde R es un sustituyente de éster, por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>, un grupo heterociclilo C<sub>3-20</sub> o un grupo arilo C<sub>5-20</sub>, preferentemente un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>. Los ejemplos de grupos éster incluyen, pero sin limitación, -C(=O)OCH<sub>3</sub>, -C(=O)OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -C(=O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> y -C(=O)OPh.

60 Aciloxi (éster inverso): -OC(=O)R, donde R es un sustituyente de aciloxi, por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>, un grupo heterociclilo C<sub>3-20</sub> o un grupo arilo C<sub>5-20</sub>, preferentemente un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>. Los ejemplos de grupos aciloxi incluyen, pero sin limitación, -OC(=O)CH<sub>3</sub> (acetoxi), -OC(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -OC(=O)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -OC(=O)Ph y -OC(=O)CH<sub>2</sub>Ph.

Oxicarboiloxi: -OC(=O)OR, donde R es un sustituyente de éster, por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>, un grupo heterociclilo C<sub>3-20</sub> o un grupo arilo C<sub>5-20</sub>, preferentemente un grupo alquilo C<sub>1-7</sub>.

65 Los ejemplos de grupos éster incluyen, pero sin limitación, -OC(=O)OCH<sub>3</sub>, -OC(=O)OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -OC(=O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> y -OC(=O)OPh.

- Amino:  $-NR^1R^2$ , donde  $R^1$  y  $R^2$  son independientemente sustituyentes de amino, por ejemplo, hidrógeno, un grupo alquilo  $C_{1-7}$  (también denominado alquilamino  $C_{1-7}$  o di-alquilamino  $C_{1-7}$ ), un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente H o un grupo alquilo  $C_{1-7}$  o, en el caso de un grupo amino "cíclico",  $R^1$  y  $R^2$ , tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico que tiene de 4 a 8 átomos en el anillo.
- 5 Los grupos amino pueden ser primarios ( $-NH_2$ ), secundarios ( $-NHR^1$ ) o terciarios ( $-NHR^1R^2$ ) y, en forma catiónica, pueden ser cuaternarios ( $-^+NR^1R^2R^3$ ). Los ejemplos de grupos amino incluyen, pero sin limitación,  $-NH_2$ ,  $-NHCH_3$ ,  $-NHC(CH_3)_2$ ,  $-N(CH_3)_2$ ,  $-N(CH_2CH_3)_2$  y  $-NHPh$ . Los ejemplos de grupos amino cíclicos incluyen, pero sin limitación, aziridino, azetidino, pirrolidino, piperidino, piperazino, morfolino y tiomorfolino.
- 10 Amido (carbamoilo, carbamilo, aminocarbonilo, carboxamida):  $-C(=O)NR^1R^2$ , donde  $R^1$  y  $R^2$  son independientemente sustituyentes de amino, como se define para los grupos amino. Los ejemplos de grupos amido incluyen, pero sin limitación,  $-C(=O)NH_2$ ,  $-C(=O)NHCH_3$ ,  $-C(=O)N(CH_3)_2$ ,  $-C(=O)NHCH_2CH_3$  y  $-C(=O)N(CH_2CH_3)_2$ , así como grupos amido en los que  $R^1$  y  $R^2$ , junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman una estructura heterocíclica como en, por ejemplo, piperidincarbonilo, morfolincarbonilo, tiomorfolincarbonilo y piperazincarbonilo.
- 15 Tioamido (tiocarbamilo):  $-C(=S)NR^1R^2$ , donde  $R^1$  y  $R^2$  son independientemente sustituyentes de amino, como se define para los grupos amino. Los ejemplos de grupos amido incluyen, pero sin limitación,  $-C(=S)NH_2$ ,  $-C(=S)NHCH_3$ ,  $-C(=S)N(CH_3)_2$  y  $-C(=S)NHCH_2CH_3$ .
- 20 Acilamido (acilamino):  $-NR^1C(=O)R^2$ , donde  $R^1$  es un sustituyente de amida, por ejemplo, hidrógeno, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente hidrógeno o un grupo alquilo  $C_{1-7}$  y  $R^2$  es un sustituyente de acilo, por ejemplo, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente hidrógeno o un grupo alquilo  $C_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos acilamida incluyen, pero sin limitación,  $-NHC(=O)CH_3$ ,  $-NHC(=O)CH_2CH_3$  y  $-NHC(=O)Ph$ .  $R^1$  y  $R^2$  juntos pueden formar una estructura cíclica, como en, por
- 25 ejemplo, succinimidilo, maleimidilo y ftalimidilo:

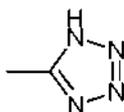


- 30 Aminocarbonilo:  $-OC(=O)NR^1R^2$ , donde  $R^1$  y  $R^2$  son independientemente sustituyentes de amino, como se define para los grupos amino. Los ejemplos de grupos aminocarbonilo incluyen, pero sin limitación,  $-OC(=O)NH_2$ ,  $-OC(=O)NHMe$ ,  $-OC(=O)NMe_2$  y  $-OC(=O)NEt_2$ .

- 35 Ureido:  $-N(R^1)CONR^2R^3$  donde  $R^2$  y  $R^3$  son independientemente sustituyentes de amino, como se define para los grupos amino y  $R^1$  es un sustituyente de ureido, por ejemplo, hidrógeno, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente hidrógeno o un grupo alquilo  $C_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos ureido incluyen, pero sin limitación,  $-NHCONH_2$ ,  $-NHCONHMe$ ,  $-NHCONHMe$ ,  $-NHCONMe_2$ ,  $-NHCONEt_2$ ,  $-NMeCONH_2$ ,  $-NMeCONHMe$ ,  $-NMeCONHMe$ ,  $-NMeCONMe_2$  y  $-NMeCONEt_2$ .

- 40 Guanidino:  $-NH-C(=NH)NH_2$ .

Tetrazolilo: un anillo aromático de cinco miembros que tiene cuatro átomos de nitrógeno y un átomo de carbono,



- 45 Imino:  $=NR$ , donde  $R$  es un sustituyente de imina, por ejemplo, hidrógeno, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente H o un grupo alquilo  $C_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos imino incluyen, pero sin limitación,  $=NH$ ,  $=NMe$  y  $=NEt$ .

- 50 Amidina (amidino):  $-C(=NR)NR_2$ , donde cada  $R$  es un sustituyente de amidina, por ejemplo, hidrógeno, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente H o un grupo alquilo  $C_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos de amidina incluyen, pero sin limitación,  $-C(=NH)NH_2$ ,  $-C(=NH)NMe_2$  y  $-C(=NMe)NMe_2$ .

- Nitro:  $-\text{NO}_2$ .
- Nitroso:  $-\text{NO}$ .
- 5 Azido:  $-\text{N}_3$ .
- Ciano (nitrilo, carbonitrilo):  $-\text{CN}$ .
- 10 Isociano:  $-\text{NC}$ .
- Cianato:  $-\text{OCN}$ .
- Isocianato:  $-\text{NCO}$ .
- 15 Tiociano (tiocianato):  $-\text{SCN}$ .
- Isotiociano (isotiocianato):  $-\text{NCS}$ .
- 20 Sulfhidrilo (tiol, mercapto):  $-\text{SH}$ .
- Tioéter (sulfuro):  $-\text{SR}$ , donde R es un sustituyente de tioéter, por ejemplo, un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$  (también denominado un grupo alquilitio  $\text{C}_{1-7}$ ), un grupo heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$  o un grupo arilo  $\text{C}_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos alquilitio  $\text{C}_{1-7}$  incluyen, pero sin limitación,  $-\text{SCH}_3$  y  $-\text{SCH}_2\text{CH}_3$ .
- 25 Disulfuro:  $-\text{SS-R}$ , donde R es un sustituyente de disulfuro, por ejemplo, un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$  o un grupo arilo  $\text{C}_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$  (también denominado en el presente documento disulfuro de alquilo  $\text{C}_{1-7}$ ). Los ejemplos de grupos de disulfuro de alquilo  $\text{C}_{1-7}$  incluyen, pero sin limitación,  $-\text{SSCH}_3$  y  $-\text{SSCH}_2\text{CH}_3$ .
- 30 Sulfina (sulfínico, sulfóxido):  $-\text{S(=O)R}$ , donde R es un sustituyente de sulfina, por ejemplo, un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$  o un grupo arilo  $\text{C}_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos sulfina incluyen, pero sin limitación,  $-\text{S(=O)CH}_3$  y  $-\text{S(=O)CH}_2\text{CH}_3$ .
- 35 Sulfona (sulfonilo):  $-\text{S(=O)}_2\text{R}$ , donde R es un sustituyente de sulfona, por ejemplo, un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$  o un grupo arilo  $\text{C}_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ , incluyendo, por ejemplo, un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$  fluorado o perfluorado. Los ejemplos de grupos sulfona incluyen, pero sin limitación,  $-\text{S(=O)}_2\text{CH}_3$  (metanosulfonilo, mesilo),  $-\text{S(=O)}_2\text{CF}_3$  (triflilo),  $-\text{S(=O)}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  (esilo),  $-\text{S(=O)}_2\text{C}_6\text{H}_5$  (nonafililo),  $-\text{S(=O)}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$  (tresilo),  $-\text{S(=O)}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$  (taurilo),  $-\text{S(=O)}_2\text{Ph}$  (fenilsulfonilo, besilo), 4-metilfenilsulfonilo (tosilo), 4-clorofenilsulfonilo (closilo), 4-bromofenilsulfonilo (brosilo), 4-nitrofenilo (nosilo), 2-naftalenosulfonato (napsilo) y 5-dimetilamino-naftalen-1-ilsulfonato (dansilo).
- 40 Ácido sulfínico (sulfino):  $-\text{S(=O)OH}$ ,  $-\text{SO}_2\text{H}$ .
- 45 Ácido sulfónico (sulfo):  $-\text{S(=O)}_2\text{OH}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ .
- Sulfinato (éster de ácido sulfínico):  $-\text{S(=O)OR}$ ; donde R es un sustituyente de sulfinato, por ejemplo, un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$  o un grupo arilo  $\text{C}_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos sulfinato incluyen, pero sin limitación,  $-\text{S(=O)OCH}_3$  (metoxisulfonilo; sulfinato de metilo) y  $-\text{S(=O)OCH}_2\text{CH}_3$  (etoxisulfonilo; sulfinato de etilo).
- 50 Sulfonato (éster de ácido sulfónico):  $-\text{S(=O)}_2\text{OR}$ , donde R es un sustituyente de sulfonato, por ejemplo, un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$  o un grupo arilo  $\text{C}_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos sulfonato incluyen, pero sin limitación,  $-\text{S(=O)}_2\text{OCH}_3$  (metoxisulfonilo; sulfonato de metilo) y  $-\text{S(=O)}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$  (etoxisulfonilo; sulfonato de etilo).
- 55 Sulfiniloxi:  $-\text{OS(=O)R}$ , donde R es un sustituyente de sulfiniloxi, por ejemplo, un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$  o un grupo arilo  $\text{C}_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos sulfiniloxi incluyen, pero sin limitación,  $-\text{OS(=O)CH}_3$  y  $-\text{OS(=O)CH}_2\text{CH}_3$ .
- 60 Sulfoniloxi:  $-\text{OS(=O)}_2\text{R}$ , donde R es un sustituyente de sulfoniloxi, por ejemplo, un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$  o un grupo arilo  $\text{C}_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos sulfoniloxi incluyen, pero sin limitación,  $-\text{OS(=O)}_2\text{CH}_3$  (mesilato) y  $-\text{OS(=O)}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  (esilato).
- 65 Sulfato:  $-\text{OS(=O)}_2\text{OR}$ ; donde R es un sustituyente de sulfato, por ejemplo, un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$  o un grupo arilo  $\text{C}_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $\text{C}_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos sulfato incluyen, pero sin limitación,  $-\text{OS(=O)}_2\text{OCH}_3$  y  $-\text{SO(=O)}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ .

Sulfamilo (sulfamoilo; amida de ácido sulfínico; sulfinamida):  $-S(=O)NR^1R^2$ , donde  $R^1$  y  $R^2$  son independientemente sustituyentes de amino, como se define para los grupos amino. Los ejemplos de grupos sulfamilo incluyen, pero sin limitación,  $-S(=O)NH_2$ ,  $-S(=O)NH(CH_3)$ ,  $-S(=O)N(CH_3)_2$ ,  $-S(=O)NH(CH_2CH_3)$ ,  $-S(=O)N(CH_2CH_3)_2$  y  $-S(=O)NHPH$ .

5 Sulfonamido (sulfinamoilo; amida de ácido sulfónico; sulfonamida):  $-S(=O)_2NR^1R^2$ , donde  $R^1$  y  $R^2$  son independientemente sustituyentes de amino, como se define para los grupos amino. Los ejemplos de grupos sulfonamido incluyen, pero sin limitación,  $-S(=O)_2NH_2$ ,  $-S(=O)_2NH(CH_3)$ ,  $-S(=O)_2N(CH_3)_2$ ,  $-S(=O)_2NH(CH_2CH_3)$ ,  $-S(=O)_2N(CH_2CH_3)_2$  y  $-S(=O)_2NHPH$ .

10 Sulfamino:  $-NR^1S(=O)_2OH$ , donde  $R^1$  es un sustituyente de amino, como se define para los grupos amino. Los ejemplos de grupos sulfamino incluyen, pero sin limitación,  $-NHS(=O)_2OH$  y  $-N(CH_3)S(=O)_2OH$ .

Sulfonamino:  $-NR^1S(=O)_2R$ , donde  $R^1$  es un sustituyente de amino, como se define para los grupos amino y R es un sustituyente de sulfonamino, por ejemplo, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $C_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos sulfonamino incluyen, pero sin limitación,  $-NHS(=O)_2CH_3$  y  $-N(CH_3)S(=O)_2C_6H_5$ .

15 Sulfinamino:  $-NR^1S(=O)R$ , donde  $R^1$  es un sustituyente de amino, como se define para los grupos amino y R es un sustituyente sulfinamino, por ejemplo, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $C_{1-7}$ . Los ejemplos de grupos sulfinamino incluyen, pero sin limitación,  $-NHS(=O)CH_3$  y  $-N(CH_3)S(=O)C_6H_5$ .

20 Fosfino (fosfina):  $-PR_2$ , donde R es un sustituyente de fosfino, por ejemplo, -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ . Los ejemplos de grupos fosfino incluyen, pero sin limitación,  $-PH_2$ ,  $-P(CH_3)_2$ ,  $-P(CH_2CH_3)_2$ ,  $-P(t-Bu)_2$  y  $-P(Ph)_2$ .

25 Fosfo:  $-P(=O)_2$ .

30 Fosfinilo (óxido de fosfina):  $-P(=O)R_2$ , donde R es un sustituyente de fosfinilo, por ejemplo, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente un grupo alquilo  $C_{1-7}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ . Los ejemplos de grupos fosfinilo incluyen, pero sin limitación,  $-P(=O)(CH_3)_2$ ,  $-P(=O)(CH_2CH_3)_2$ ,  $-P(=O)(t-Bu)_2$  y  $-P(=O)(Ph)_2$ .

35 Ácido fosfónico (fosfono):  $-P(=O)(OH)_2$ .

40 Fosfonato (éster de fosfono):  $-P(=O)(OR)_2$ , donde R es un sustituyente de fosfonato, por ejemplo, -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ . Los ejemplos de grupos fosfonato incluyen, pero sin limitación,  $-P(=O)(OCH_3)_2$ ,  $-P(=O)(OCH_2CH_3)_2$ ,  $-P(=O)(O-t-Bu)_2$  y  $-P(=O)(OPh)_2$ .

45 Ácido fosfórico (fosfonoxi):  $-OP(=O)(OH)_2$ .

50 Fosfato (éster de fosfonoxi):  $-OP(=O)(OR)_2$ , donde R es un sustituyente de fosfato, por ejemplo, -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ . Los ejemplos de grupos fosfato incluyen, pero sin limitación,  $-OP(=O)(OCH_3)_2$ ,  $-OP(=O)(OCH_2CH_3)_2$ ,  $-OP(=O)(O-t-Bu)_2$  y  $-OP(=O)(OPh)_2$ .

55 Ácido fosforoso:  $-OP(OH)_2$ .

60 Fosfito:  $-OP(OR)_2$ , donde R es un sustituyente de fosfito, por ejemplo, -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$ , un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ . Los ejemplos de grupos fosfito incluyen, pero sin limitación,  $-OP(OCH_3)_2$ ,  $-OP(OCH_2CH_3)_2$ ,  $-OP(O-t-Bu)_2$  y  $-OP(OPh)_2$ .

65 Fosforamidita:  $-OP(OR^1)-NR^2_2$ , donde  $R^1$  y  $R^2$  son sustituyentes de fosforamidita, por ejemplo, -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$  (opcionalmente sustituido), un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ . Los ejemplos de grupos fosforamidita incluyen, pero sin limitación,  $-OP(OCH_2CH_3)-N(CH_3)_2$ ,  $-OP(OCH_2CH_3)-N(i-Pr)_2$  y  $-OP(OCH_2CH_2CN)-N(i-Pr)_2$ .

70 Fosforamidato:  $-OP(=O)(OR^1)-NR^2_2$ , donde  $R^1$  y  $R^2$  son sustituyentes de fosforamidato, por ejemplo, -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$  (opcionalmente sustituido), un grupo heterociclilo  $C_{3-20}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ , preferentemente -H, un grupo alquilo  $C_{1-7}$  o un grupo arilo  $C_{5-20}$ . Los ejemplos de grupos fosforamidato incluyen, pero sin limitación,  $-OP(=O)(OCH_2CH_3)-N(CH_3)_2$ ,  $-OP(=O)(OCH_2CH_3)-N(i-Pr)_2$  y  $-OP(=O)(OCH_2CH_2CN)-N(i-Pr)_2$ .

## Alquilenos

Alquilenos C<sub>3-12</sub>: El término "alquilenos C<sub>3-12</sub>", como se usa en el presente documento, se refiere a un resto bidentado obtenido mediante la eliminación de dos átomos de hidrógeno, bien ambos del mismo átomo de carbono o bien uno de cada uno de los dos átomos de carbono diferentes, de un compuesto hidrocarburo que tiene de 3 a 12 átomos de carbono (a menos que se indique otra cosa), que puede ser alifático o alicíclico y que puede ser saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado. Por lo tanto, el término "alquilenos" incluye las subclases de alquilenos, alquilenos, cicloalquilenos, etc., tratadas a continuación.

Los ejemplos de grupos alquilenos C<sub>3-12</sub> lineales saturados incluyen, pero sin limitación, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- donde n es un número entero de 3 a 12, por ejemplo, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(propileno), -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(butileno), -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(pentileno) y -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-(heptileno).

Los ejemplos de grupos alquilenos C<sub>3-12</sub> ramificados saturados incluyen, pero sin limitación, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-, -CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>- y -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-.

Los ejemplos de grupos alquilenos C<sub>3-12</sub> lineales parcialmente insaturados (alquilenos C<sub>3-12</sub> y grupos alquilenos) incluyen, pero sin limitación, -CH=CH-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>-, -CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH=CH-CH=CH-, -CH=CH-CH=CH-CH<sub>2</sub>-, -CH=CH-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH=CH-, -CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH=CH- y -CH<sub>2</sub>-C≡C-CH<sub>2</sub>-.

Los ejemplos de grupos alquilenos C<sub>3-12</sub> ramificados parcialmente insaturados (alquilenos C<sub>3-12</sub> y grupos alquilenos) incluyen, pero sin limitación, -C(CH<sub>3</sub>)=CH-, -C(CH<sub>3</sub>)=CH-CH<sub>2</sub>-, -CH=CH-CH(CH<sub>3</sub>)- y -C≡C-CH(CH<sub>3</sub>)-

Los ejemplos de grupos alquilenos C<sub>3-12</sub> alicíclicos saturados (cicloalquilenos C<sub>3-12</sub>) incluyen, pero sin limitación, ciclopentileno (p. ej., ciclopent-1,3-ileno) y ciclohexileno (p. ej., ciclohex-1,4-ileno).

Los ejemplos de grupos alquilenos C<sub>3-12</sub> alicíclicos parcialmente insaturados (cicloalquilenos C<sub>3-12</sub>) incluyen, pero sin limitación, ciclopentenileno (p. ej., 4-ciclopenten-1,3-ileno), ciclohexenileno (p. ej., 2-ciclohexen-1,4-ileno; 3-ciclohexen-1,2-ileno; 2,5-ciclohexadien-1,4-ileno).

## Otras formas incluidas

Salvo que se especifique otra cosa, se incluyen en lo anterior las formas iónica, sal, solvato y protegida bien conocidas de estos sustituyentes. Por ejemplo, una referencia al ácido carboxílico (-COOH) también incluye la forma aniónica (carboxilato) (-COO<sup>-</sup>), una sal o un solvato de la misma, así como las formas protegidas convencionales. De manera similar, una referencia a un grupo amino incluye la forma protonada (-N<sup>+</sup>HR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>), una sal o un solvato del grupo amino, por ejemplo, una sal de clorhidrato, así como las formas protegidas convencionales de un grupo amino. De manera similar, una referencia a un grupo hidroxilo también incluye la forma aniónica (-O<sup>-</sup>), una sal o un solvato de la misma, así como las formas protegidas convencionales.

## Sales

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular una sal correspondiente del compuesto activo, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable. Se tratan ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables en Berge, *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 66, 1-19 (1977).

Por ejemplo, si el compuesto es aniónico o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico (p. ej., -COOH puede ser -COO<sup>-</sup>), entonces puede formarse una sal con un catión adecuado. Los ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, iones de metal alcalino tales como Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>, cationes alcalinotérreos tales como Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup> y otros cationes tales como Al<sup>3+</sup>. Los ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, ion amonio (es decir NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) e iones de amonio sustituidos (p. ej., NH<sub>3</sub>R<sup>+</sup>, NH<sub>2</sub>R<sub>2</sub><sup>+</sup>, NHR<sub>3</sub><sup>+</sup>, NR<sub>4</sub><sup>+</sup>). Los ejemplos de algunos iones amonio sustituido adecuados son los procedentes de: etilamina, dietilamina, dicitlohexilamina, trietilamina, butilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, bencilamina, fenilbencilamina, colina, meglumina y trometamina, así como aminoácidos, tales como lisina y arginina. Un ejemplo de un ion de amonio cuaternario común es N(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Si el compuesto es catiónico o tiene un grupo funcional que puede ser catiónico (por ejemplo, -NH<sub>2</sub> puede ser -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), entonces puede formarse una sal con un anión adecuado. Los ejemplos de aniones inorgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de los ácidos inorgánicos siguientes: clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico y fosforoso.

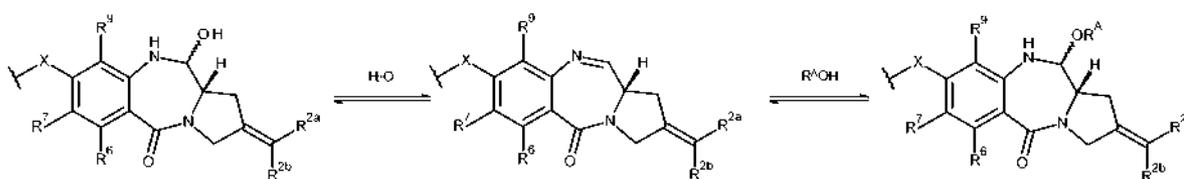
Los ejemplos de aniones orgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de los ácidos orgánicos siguientes: ácido 2-acetioxi benzoico, acético, ascórbico, aspártico, benzoico, canforsulfónico, cinámico, cítrico, edético, etanodisulfónico, etanosulfónico, fumárico, gluqueptónico, glucónico, glutámico, glicólico,

hidroximaleico, hidroxinaftaleno carboxílico, isetiónico, láctico, lactobiónico, láurico, maleico, málico, metanosulfónico, múxico, oleico, oxálico, palmítico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fenilsulfónico, propiónico, pirúvico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, tartárico, toluenosulfónico, trifluoroacético y valérico. Los ejemplos de aniones orgánicos poliméricos adecuados incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de los ácidos poliméricos siguientes: ácido tánico, carboximetilcelulosa.

#### Solvatos

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manejar un solvato correspondiente del compuesto activo. En el presente documento el término "solvato" se usa en el sentido convencional para referirse a un complejo de soluto (por ejemplo compuesto activo, sal del compuesto activo) y disolvente. Si el disolvente es agua, el solvato se puede definir oportunamente como un hidrato, por ejemplo, un mono-hidrato, un di-hidrato, un tri-hidrato, etc.

La invención incluye compuestos en los que un disolvente se añade a través del enlace imina del resto PBD, que se ilustra a continuación, donde el disolvente es agua o un alcohol ( $R^A\text{OH}$ , donde  $R^A$  es alquilo  $C_{1-4}$ ):



Estas formas pueden denominarse las formas carbinolamina y éter de carbinolamina del PBD (tal como se describe en la sección anterior en referencia a  $R^{10}$ ). El resto de estos equilibrios depende de las condiciones en las que se encuentran los compuestos, así como de la naturaleza del resto en sí mismo.

Estos compuestos particulares se pueden aislar en forma sólida, por ejemplo, por liofilización.

#### Isómeros

Ciertos compuestos de la invención pueden existir en una o más formas geométrica, óptica, enantiomérica, diastereomérica, epimérica, atrópica, estereoisomérica, tautomérica, conformacional o anomérica, particulares incluyendo, pero sin limitación, formas cis y trans; formas E y Z; formas c, t y r; formas endo y exo; formas R, S y meso; formas D y L; formas d y l; formas (+) y (-); formas ceto, enol y enolato; formas sin y anti; formas sinclinal y anticlinal; formas  $\alpha$  y  $\beta$ ; formas axiales y ecuatoriales; formas barco, silla, torsión, sobre y media silla y combinaciones de las mismas, en lo sucesivo en el presente documento denominadas de forma colectiva como "isómeros" (o "formas isoméricas").

El término "quiral" se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no superponerse a la compañera de imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que se superponen a su compañera de imagen especular.

El término "estereoisómeros" se refiere a compuestos que tienen idéntica constitución química, pero se diferencian con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

"Diastereómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares entre sí. Los diastereómeros tienen propiedades físicas diferentes, por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Las mezclas de diastereómeros pueden separarse mediante procedimientos analíticos de alta resolución, tales como electroforesis y cromatografía.

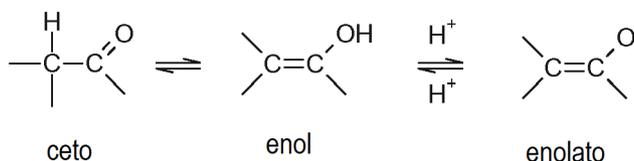
"Enantiómeros" se refiere a dos estereoisómeros de un compuesto que no son imágenes especulares superponibles entre sí.

Las convenciones y definiciones estereoquímicas usadas en el presente documento siguen generalmente a S. P. Parker, Ed., *McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* (1984) McGraw-Hill Book Company, Nueva York y Eliel, E. y Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1994. Los compuestos de la invención pueden contener centros asimétricos o quirales y por lo tanto existen en diferentes formas estereoisoméricas. Se pretende que todas las formas estereoisoméricas de los compuestos de la invención, incluyendo, pero sin limitación, diastereómeros, enantiómeros y atropisómeros, así como mezclas de los mismos, tales como mezclas racémicas, formen parte de la presente invención. Muchos de los compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de luz polarizada. En la descripción de un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L o R y S, se usan para indicar la configuración absoluta de la molécula en torno a su centro o centros quirales. Los prefijos d y l o (+) y (-) se emplean para indicar el sentido en el que el compuesto rota el plano de luz polarizada, significando (-) o l que el compuesto es levógiro. Un compuesto

con el prefijo (+) o d es dextrógiro. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos salvo por que son imágenes especulares entre sí. Un estereoisómero específico puede denominarse también enantiómero y una mezcla de dichos isómeros se denomina a menudo una mezcla enantiomérica. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina mezcla racémica o racemato, que puede aparecer cuando no ha habido estereoselección ni estereoespecificidad en un proceso o reacción química. Los términos “mezcla racémica” y “racemato” se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas, desprovista de actividad óptica.

Cabe destacar que, excepto como se trata a continuación para formas tautoméricas, están específicamente excluidos del término “isómeros”, tal como se usa en el presente documento, los isómeros estructurales (o constitucionales) (es decir, isómeros que difieren en las conexiones entre átomos en lugar de simplemente en la posición de los átomos en el espacio). Por ejemplo, una referencia a un grupo metoxi,  $-\text{OCH}_3$ , no debe interpretarse como una referencia a su isómero estructural, un grupo hidroximetilo,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ . De manera similar, una referencia al orto-clorofenilo no debe interpretarse como una referencia a su isómero estructural, el metaclorofenilo. Sin embargo, una referencia a una clase de estructuras bien puede incluir formas estructuralmente isoméricas que pertenecen a esa clase (por ejemplo, alquilo  $\text{C}_{1-7}$  incluye n-propilo e iso-propilo; butilo incluye n, iso, *sec* y *terc*-butilo; metoxifenilo incluye orto, meta y para-metoxifenilo).

La exclusión anterior no se refiere a formas tautoméricas, por ejemplo, formas ceto, enol y enolato, como en, por ejemplo, los siguientes pares tautoméricos: ceto/enol (ilustrado a continuación), imina/enamina, amida/imino alcohol, amidina/amidina, nitroso/oxima, tiocetona/enetiol, N-nitroso/hiroxiazo y nitro/aci-nitro.



El término “tautómero” o “forma tautomérica” se refiere a isómeros estructurales de energías diferentes que son interconvertibles mediante una barrera de baja energía. Por ejemplo, los tautómeros de protón (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen interconversiones mediante migración de un protón, tal como isomerizaciones ceto-enol e imina-enamina. Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones mediante la reorganización de algunos de los electrones de enlace.

Cabe destacar que en el término “isómero” están incluidos de forma específica los compuestos con una o más sustituciones isotópicas. Por ejemplo, H puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo  $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$  (D) y  $^3\text{H}$  (T); C puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo  $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  y  $^{14}\text{C}$ ; O puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo  $^{16}\text{O}$  y  $^{18}\text{O}$  y similares.

Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como, pero sin limitación  $^2\text{H}$  (deuterio, D),  $^3\text{H}$  (tritio),  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{36}\text{Cl}$  y  $^{125}\text{I}$ . Se incluyen diversos compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, por ejemplo aquellos en los que se incorporan isótopos radiactivos tales como  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y  $^{14}\text{C}$ . Dichos compuestos marcados isotópicamente pueden ser útiles en estudios metabólicos, estudios de cinética de reacción, técnicas de detección o formación de imágenes, tales como tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), incluyendo ensayos de distribución de tejido de sustrato o fármaco o en el tratamiento radiactivo de pacientes. Los compuestos terapéuticos marcados con deuterio o sustituidos de la invención pueden tener propiedades DMPK (de metabolismo del fármaco y farmacocinéticas) mejoradas, con respecto a distribución, metabolismo y excreción (ADME). La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio pueden proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo semivida *in vivo* aumentada o requerimientos de dosificación reducidos. Un compuesto marcado por  $^{18}\text{F}$  puede ser útil para estudios de PET o SPECT. Los compuestos marcados isotópicamente de esta invención y sus profármacos generalmente pueden prepararse llevando a cabo los procedimientos desvelados en los esquemas o en los ejemplos y preparaciones descritos a continuación sustituyendo un reactivo no marcado isotópicamente por un reactivo marcado isotópicamente fácilmente disponible. Además, la sustitución con isótopos más pesados, particularmente deuterio (es decir,  $2\text{H}$  o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo semivida *in vivo* aumentada o requerimientos de dosificación reducidos o una mejora en el índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera un sustituyente. La concentración de dicho isótopo más pesado, específicamente deuterio, puede definirse mediante un factor de enriquecimiento isotópico. En los compuestos de esta invención cualquier átomo no designado específicamente como un isótopo particular está destinado a representar cualquier isótopo estable de ese átomo.

Salvo que se especifique otra cosa, una referencia a un compuesto particular incluye todas las formas isoméricas, incluyendo (total o parcialmente) mezclas racémicas y otras mezclas de las mismas. Los métodos de preparación (p. ej., síntesis asimétrica) y separación (p. ej., cristalización fraccionada y medios cromatográficos) de dichas formas

isoméricas se conocen en la técnica o se obtienen fácilmente adaptando los métodos enseñados en el presente documento o métodos conocidos, de una manera conocida.

### **Actividad biológica**

5

#### Ensayos de proliferación celular *in vitro*

En general, Generalmente, la actividad citotóxica o citostática de un conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC) se mide: exponiendo las células de mamífero que tienen proteínas receptoras, por ejemplo, HER2, al anticuerpo del ADC en un medio de cultivo celular; cultivar las células durante un periodo de aproximadamente 6 horas a aproximadamente 5 días; y medir la viabilidad celular. Los ensayos *in vitro* basados en células se usan para medir la viabilidad (proliferación), citotoxicidad e inducción de apoptosis (activación por caspasas) de un ADC de la invención.

La potencia *in vitro* de conjugados de anticuerpo-fármaco puede medirse por un ensayo de proliferación celular. El ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® es un procedimiento de ensayo homogéneo comercialmente disponible (Promega Corp., Madison, WI), basado en la expresión recombinante de luciferasa de coleópteros (patentes de EE.UU. n.º 5583024; 5674713 y 5700670). Este ensayo de proliferación celular determina el número de células viables en cultivo basándose en la cuantificación de ATP presente, un indicador de células metabólicamente activas (Crouch y col. (1993) *J. Immunol. Meth.* 160:81-88; documento US 6602677). El CellTiter-Glo® se realiza en formato de 96 pocillos, haciéndolo susceptible a cribado de alta resolución automatizado (HTS) (Cree y col. (1995) *AntiCancer Drugs* 6:398-404). El procedimiento de ensayo homogéneo implica añadir el único reactivo (reactivo CellTiter-Glo®) directamente a las células cultivadas en medio complementado con suero. No se requiere el lavado de células, eliminación de medio y múltiples etapas de pipeteado. El sistema detecta tan solo 15 células/pocillo en un formato de 384 pocillos en 10 minutos después de añadir reactivo y mezclar. Las células pueden tratarse continuamente con ADC, o pueden tratarse y separarse de ADC. En general, las células tratadas brevemente, es decir, 3 horas, mostraron los mismos efectos de potencia que las células continuamente tratadas.

El formato "añadir-mezclar-medir" homogéneo produce la lisis celular y generación de una señal luminiscente proporcional a la cantidad de ATP presente. La cantidad de ATP es directamente proporcional al número de células presentes en el cultivo. El ensayo CellTiter-Glo® genera una señal luminiscente "de tipo brillo", producida por la reacción de la luciferasa, que tiene una semivida generalmente superior a cinco horas, dependiendo del tipo de célula y del medio usado. Las células viables se reflejan en unidades relativas de luminiscencia (URL). El sustrato, luciferina de escarabajo, se descarboxila oxidativamente por luciferasa de luciérnaga recombinante, con la conversión concomitante de ATP en AMP y generación de fotones.

La potencia *in vitro* de conjugados de anticuerpo-fármaco también puede medirse por un ensayo de citotoxicidad. Se lavan células adherentes cultivadas con PBS, se desprenden con tripsina, se diluyen en medio completo, que contiene 10 % de FCS, se centrifugan, se resuspenden en medio fresco y se cuentan con un hemocitómetro. Los cultivos en suspensión se cuentan directamente. Suspensiones monodispersas de células adecuadas para el recuento pueden requerir la agitación de la suspensión por aspiración repetida para romper los grupos de células.

La suspensión de células se diluye a la densidad de siembra deseada y se dispensa (100 µl por pocillo) en placas de 96 pocillos negras. Se incuban placas de líneas de células adherentes durante la noche para permitir la adherencia. Pueden usarse cultivos celulares en suspensión el día de la siembra.

Se prepara una solución madre (1 ml) de ADC (20 µg/ml) en el medio de cultivo celular apropiado. Se preparan diluciones de 10 veces en serie de ADC de solución madre en tubos de centrifuga de 15 ml transfiriendo en serie 100 µl a 900 µl de medio de cultivo celular.

Se dispensan cuatro pocillos por duplicado de cada dilución de ADC (100 µl) en placas de 96 pocillos negras, previamente sembradas con suspensión de células (100 µl), produciendo un volumen final de 200 µl. Los pocillos de control reciben medio de cultivo celular (100 µl).

Si el tiempo de duplicación de la línea celular es superior a 30 horas, la incubación de ADC es durante 5 días, si no se hace una incubación de cuatro días.

Al final del periodo de incubación, se evalúa la viabilidad celular con el ensayo de azul Alamar. Se dispensa azul Alamar (Invitrogen) sobre la placa completa (20 µl por pocillo) y se incuba durante 4 horas. Se mide la fluorescencia de azul Alamar a la excitación de 570 nm, emisión de 585 nm sobre el lector de placas Varioskan Flash. El porcentaje de supervivencia celular se calcula a partir de la fluorescencia media en los pocillos tratados con ADC en comparación con la fluorescencia media en los pocillos de control.

#### Eficacia *in vivo*

La eficacia *in vivo* de los conjugados de anticuerpo-fármaco (ADC) de la invención puede medirse por estudios de xenoinjerto de tumor en ratones. Por ejemplo, la eficacia *in vivo* de un ADC anti-HER2 de la invención puede

medirse por un modelo de ratón de explante transgénico de HER2 de alta expresión. Se propaga un aloinjerto del ratón transgénico Fo5 mmtv que no responde a, o responde poco a, terapia con HERCEPTIN®. Los sujetos se tratan una vez con ADC a ciertos niveles de dosis (mg/kg) y exposición al fármaco PBD ( $\mu\text{g}/\text{m}^2$ ); y control con tampón placebo (vehículo) y se monitorizan durante dos semanas o más para medir el tiempo hasta el duplicado del tumor, logaritmo de la destrucción celular y el encogimiento tumoral.

### Uso

Los conjugados de la invención pueden usarse para proporcionar un compuesto de PBD en una localización diana.

La localización diana es preferentemente una población de células proliferativas. El anticuerpo es un anticuerpo para un antígeno presente sobre una población de células proliferativas.

En una realización, el antígeno está ausente o presente a un nivel reducido en una población de células no proliferativas en comparación con la cantidad de antígeno presente en la población de células proliferativas, por ejemplo, una población de células tumorales.

La localización diana puede ser *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*.

Los compuestos de conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC) de la invención incluyen aquellos con utilidad para actividad contra el cáncer. En particular, los compuestos incluyen un anticuerpo conjugado, es decir, covalentemente unido por un enlazador, a un resto de fármaco de PBD.

En la localización diana el enlazador puede no estar escindido. Los compuestos de conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC) de la invención pueden tener un efecto citotóxico sin escisión del enlazador para liberar un resto de fármaco de PBD. Los conjugados de anticuerpo-fármaco (ADC) de la invención administran selectivamente un agente citotóxico a tejido tumoral, por lo que puede conseguirse mayor selectividad, es decir, una menor dosis eficaz.

Por tanto, en un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de conjugado como se describe en el presente documento para su uso en terapia.

En otro aspecto también se proporciona un compuesto de conjugado como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento de una enfermedad proliferativa. Un segundo aspecto de la presente invención proporciona el uso de un compuesto de conjugado en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad proliferativa.

Un experto en la técnica puede determinar fácilmente si un conjugado candidato trata o no una afección proliferativa para cualquier tipo de célula particular. Por ejemplo, los ensayos que se pueden usar de manera práctica para evaluar la actividad ofrecida por un compuesto particular se describen en los ejemplos a continuación.

El término "enfermedad proliferativa" se refiere a una proliferación celular no deseada o incontrolada de células excesivas o anormales que no es deseada, tal como, crecimiento neoplásico o hiperplásico, *in vitro* o *in vivo*.

Ejemplos de afecciones proliferativas incluyen, pero sin limitación, proliferación celular benigna, premaligna y maligna, incluyendo, aunque sin limitación, neoplasmas y tumores (p. ej., histiocitoma, glioma, astrocitoma, osteoma), cánceres (p. ej., cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer gastrointestinal, cáncer de intestino, cáncer de colon, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, cáncer de próstata, cáncer de testículos, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de cerebro, sarcoma, osteosarcoma, sarcoma de Kaposi, melanoma), leucemias, psoriasis, enfermedades óseas, trastornos fibroproliferativos (p. ej., de tejidos conectivos) y aterosclerosis. Cánceres de particular interés incluyen, pero sin limitación, leucemias y cánceres de ovario.

Puede tratarse cualquier tipo de célula, incluyendo, aunque sin limitación, pulmón, gastrointestinal (que incluye, por ejemplo, intestino, colon), mama (mamario), ovárico, próstata, hígado (hepático), riñón (renal), vejiga, páncreas, cerebro y piel.

En una realización, el tratamiento es de un cáncer pancreático.

En una realización, el tratamiento es de un tumor que tiene integrina  $\alpha_v\beta_6$  sobre la superficie de la célula.

Se contempla que los conjugados de anticuerpo-fármaco (ADC) de la presente invención pueden usarse para tratar diversas enfermedades o trastornos, por ejemplo, caracterizados por la expresión en exceso de un antígeno de tumor. Afecciones o trastornos hiperproliferativos a modo de ejemplo incluyen tumores benignos o malignos; leucemia, tumores malignos hematológicos y linfoides. Otros incluyen trastornos neuronales, de la glía, astrocíticos, hipotalámicos, glandulares, macrofágicos, epiteliales, del estroma, blastocélulas, inflamatorios, angiogénicos e inmunológicos, que incluyen autoinmunitarios.

En general, la enfermedad o trastorno que va a tratarse es una enfermedad hiperproliferativa tal como cáncer. Ejemplos de cáncer que van a tratarse en el presente documento incluyen, pero sin limitación, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia o tumores malignos linfoides. Más ejemplos particulares de dichos cánceres incluyen cáncer de células escamosas (por ejemplo cáncer de células escamosas epitelial), cáncer de pulmón incluyendo

5 cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso de pulmón, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago incluyendo cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, carcinoma de endometrio o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer de

10 vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma del pene, así como cáncer de cabeza y cuello.

Enfermedades autoinmunitarias para las que los compuestos de ADC pueden usarse en el tratamiento incluyen trastornos reumatológicos (tales como, por ejemplo, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, esclerodermia, lupus, tales como LES y nefritis lúpica, polimiositis/dermatomiositis, crioglobulinemia, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos y artropatía psoriásica), artrosis, trastornos gastrointestinales y del hígado autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, enfermedades inflamatorias del intestino (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), gastritis autoinmunitaria y anemia perniciosa, hepatitis autoinmunitaria, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria y celiacía), vasculitis (tales como, por ejemplo, vasculitis asociada a ANCA, incluyendo la

15 vasculitis de Churg-Strauss, la granulomatosis de Wegener y la poliarteritis), trastornos neurológicos autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, esclerosis múltiple, síndrome de opsoclonía-mioclónia, miastenia grave, neuromielitis óptica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer y polineuropatías autoinmunitarias), trastornos renales (tales como, por ejemplo, glomerulonefritis, síndrome de Goodpasture y la enfermedad de Berger), trastornos dermatológicos autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, psoriasis, urticaria, urticaria, pénfigo vulgar, pénfigo ampoloso y lupus eritematoso cutáneo), trastornos hematológicos (tales como, por ejemplo, púrpura trombocitopénica, púrpura trombocitopénica trombótica, púrpura postransfusional y anemia hemolítica autoinmunitaria), aterosclerosis, uveítis, enfermedades autoinmunitarias de la audición (tales como, por ejemplo,

20 enfermedad del oído interno y pérdida de audición), enfermedad de Behcet, síndrome de Raynaud, trasplante de órganos y trastornos endocrinos autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, trastornos autoinmunitarios relacionados con la diabetes tales como diabetes mellitus insulino dependiente (DMID), enfermedad de Addison y enfermedad tiroidea autoinmunitaria (por ejemplo, enfermedad de Grave y tiroiditis)). Las más preferidas de tales enfermedades incluyen, por ejemplo, artritis reumatoide, colitis ulcerosa, vasculitis asociada a ANCA, lupus, esclerosis múltiple, síndrome de Sjögren, enfermedad de Graves, DMID, anemia perniciosa, tiroiditis y glomerulonefritis.

### 35 **Tratamiento**

Los conjugados de la presente invención se pueden usar en un método de terapia. También se proporciona un conjugado tal como se define en las reivindicaciones para su uso en un procedimiento de tratamiento, que comprende administrar a un sujeto que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto

40 de conjugado de la invención. El término "cantidad terapéuticamente eficaz" es una cantidad suficiente para mostrar un beneficio a un paciente. Dicho beneficio puede ser al menos la mejora de al menos un síntoma. La cantidad real administrada, y la velocidad y el ciclo de tiempo de administración, dependerán de la naturaleza y la gravedad de lo que se está tratando. La prescripción del tratamiento, por ej., las decisiones sobre la dosificación, es de la responsabilidad de los facultativos generales y otros médicos.

Un compuesto de la invención se puede administrar solo o en combinación con otros tratamientos, de forma simultánea o secuencial dependiendo de la afección a tratar. Ejemplos de tratamientos y terapias incluyen, pero sin limitación, quimioterapia (la administración de agentes activos, que incluye, por ejemplo, fármacos, tales como quimioterapéuticos); cirugía; y radioterapia.

50

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer, independientemente del mecanismo de acción. Clases de agentes quimioterapéuticos incluyen, aunque sin limitación: agentes alquilantes, antimetabolitos, alcaloides de las plantas de venenos del huso, antibióticos citotóxicos/antitumorales, inhibidores de topoisomerasas, anticuerpos, fotosensibilizadores e inhibidores de cinasas. Los agentes quimioterapéuticos incluyen

55 compuestos usados en "terapia dirigida" y quimioterapia convencional.

Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen: erlotinib (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), docetaxel (TAXOTERE®, Sanofi-Aventis), 5-FU (fluorouracilo, 5-fluorouracilo, CAS n° 51-21-8), gemcitabina (GEMZAR®, Lilly), PD-0325901 (CAS n° 391210-10-9, Pfizer), cisplatino (cis-diamina, dicloroplatino (II), CAS n° 15663-27-1), carboplatino (CAS n° 41575-94-4), paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), temozolomida (4-metil-5-oxo-2,3,4,6,8-pentazabicyclo [4.3.0] nona-2,7,9-trieno-9-carboxamida, CAS n° 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough), tamoxifeno ((Z)-2-[4-(1,2-difenilbut-1-enil)fenoxi]-N,N-dimetiletanamina, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®) y doxorubicina (ADRIAMYCIN®), Akti-1/2, HPPD y rapamicina.

60

Más ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen: oxaliplatino (ELOXATIN®, Sanofi), bortezomib (VELCADE®, Millennium Pharm.), sutent (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), letrozol (FEMARA®, Novartis), mesilato de imatinib

(GLEEVEC®, Novartis), XL-518 (inhibidor Mek, Exelixis, documento WO 2007/044515), ARRY-886 (inhibidor Mek, AZD6244, Array BioPharma, Astra Zeneca), SF-1126 (inhibidor de PI3K, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (inhibidor de PI3K, Novartis), XL-147 (inhibidor de PI3K, Exelixis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), leucovorina (ácido fólico), rapamicina (sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), lapatinib (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), lonafarnib (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), sorafenib (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), irinotecan (CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer), tipifarnib (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), ABRAXANE™ (sin Cremophor), formulaciones de nanopartículas de paclitaxel diseñadas con albúmina (Amercan Pharmaceutical Partners, Schaumberg, IL), vandetanib (rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca), clorambucilo, AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), temsirolimus (TORISEL®, Wyeth), pazopanib (GlaxoSmithKline), canfosfamida (TELCYTA®, Telik), tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXAN®, NEOSAR®); alquilsulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocouona, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilmelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); una camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos de adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiatrina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clornafazina, clorofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enediina (por ejemplo, caliqueamicina, caliqueamicina gamma 1I, caliqueamicina omega 1 (*Angew Chem. Intl. Ed. Engl.* (1994) 33:183-186); dinemicina, dinemicina A; bisfosfonatos, tal como clodronato; una esperamicina; así como cromóforo de neocarcinostatina y cromóforos de antibióticos de enediina relacionados con cromoproteína), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carcinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina y desoxidoxorrubicina), epirubicina, esorubicina, idarrubicina, nemorubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico, tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxilfluridina, encitabina, floxuridina; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, mepitiostano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reabastecedor del ácido fólico tal como ácido fólico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziouona; elfornitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiourea; lentinan; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; complejo de polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxana; rizoxina; sizofiran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazona; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; capecitabina (XELODA®, Roche); ibandronato; CPT-11; inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; y sales farmacéuticamente aceptables, ácidos y derivados de cualquiera de los anteriores.

También se incluyen en la definición de "agente quimioterapéutico": (i) agentes antihormonales que actúan regulando o inhibiendo la acción de hormonas en tumores, tales como antiestrógenos y moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERM), que incluye, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo NOLVADEX®; citrato de tamoxifeno), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y FARESTON® (citrato de toremifina); (ii) inhibidores de la aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógeno en las glándulas suprarrenales, tal como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, MEGASE® (acetato de megestrol), AROMASIN® (exemestano; Pfizer), Pfizer, formestano, fadrozol, RIVISOR® (vorozol), FEMARA® (letrozol; Novartis) y ARIMIDEX® (anastrozol; AstraZeneca); (iii) antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, y goserelina; así como troxacitabina (un análogo nucleosídico de 1,3-dioxolano citosina); (iv) inhibidores de proteínas cinasas tales como inhibidores de MEK (documento WO 2007/044515); (v) inhibidores de la lípido cinasa; (vi) oligonucleótidos antisentido, particularmente, los que inhiben la expresión de genes en rutas de señalización implicadas en proliferación celular anómala, por ejemplo, PKC-alfa, Raf y H-Ras, tales como oblimersen (GENA SENSE®, Genta Inc.); (vii) ribozimas tales como inhibidores de la expresión de VEGF (por ejemplo, ANGIOZYME®) e inhibidores de la expresión de HER2; (viii) vacunas tales como vacunas de terapia génica, por ejemplo, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® y VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; inhibidores de la topoisomerasa 1 tales como LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) agentes antiangiogénicos tales como bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); y sales farmacéuticamente aceptables, ácidos y derivados de cualquiera de los anteriores.

También se incluyen en la definición de “agente quimioterapéutico” anticuerpos terapéuticos tales como alemtuzumab (Campath), bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); cetuximab (ERBITUX®, Imclone); panitumumab (VECTIBIX®, Amgen), rituximab (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idee), pertuzumab (OMNITARG™, 2C4, Genentech), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), tositumomab (Bexxar, Corixia), y el conjugado de anticuerpo-fármaco, gemtuzumab ozogamicina (MYLOTARG®, Wyeth).

Anticuerpos monoclonales humanizados con potencial terapéutico como agentes quimioterapéuticos en combinación con los conjugados de la invención incluyen: alemtuzumab, apolizumab, aselizumab, atlizumab, bapineuzumab, bevacizumab, bivatuzumab mertansina, cantuzumab mertansina, cedelizumab, certolizumab pegol, cidfusituzumab, cidtuzumab, daclizumab, eculizumab, efalizumab, epratuzumab, erlizumab, felvizumab, fontolizumab, gemtuzumab ozogamicina, inotuzumab ozogamicina, ipilimumab, labetuzumab, lintuzumab, matuzumab, mepolizumab, motavizumab, motovizumab, natalizumab, nimotuzumab, nolovizumab, numavizumab, ocrelizumab, omalizumab, palivizumab, pascolizumab, peefusituzumab, pectuzumab, pertuzumab, pexelizumab, ralivizumab, ranibizumab, reslivizumab, reslizumab, resivizumab, rovelizumab, ruplizumab, sibrotuzumab, siplizumab, sontuzumab, tacatuzumab tetraxetán, tadocizumab, talizumab, tefibazumab, toclizumab, toralizumab, trastuzumab, tucotuzumab celmoleucina, tucusituzumab, umavizumab, urtoxazumab y visilizumab.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención, y para su uso de acuerdo con la presente invención, pueden comprender, además del principio activo, o, es decir, un compuesto de conjugado, un excipiente farmacéuticamente aceptable, vehículo, un tampón, un estabilizador farmacéuticamente aceptables u otros materiales bien conocidos por los expertos en la materia. Dichos materiales deben ser no tóxicos y no deben interferir con la eficacia del principio activo. La naturaleza precisa del vehículo u otro material dependerá de la vía de administración, que puede ser oral, o por inyección, p. ej., cutánea, subcutánea o intravenosa.

Las composiciones farmacéuticas para la administración oral pueden estar en forma de comprimido, cápsula, polvo o líquido. Un comprimido puede comprender un vehículo sólido o un adyuvante. Las composiciones farmacéuticas líquidas generalmente comprenden un vehículo líquido tal como agua, petróleo, aceites animales o vegetales, aceite mineral o aceite sintético. Puede incluirse solución salina fisiológica, dextrosa u otra solución de sacáridos o glicoles tales como etilenglicol, propilenglicol o polietilenglicol. Una cápsula puede comprender un vehículo sólido tal como gelatina.

Para la inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, o la inyección en el sitio de afección, el principio activo estará en forma de una solución acuosa parenteralmente aceptable que está libre de pirógenos y tiene pH, isotonicidad y estabilidad adecuados. Los expertos en la materia serán muy capaces de preparar soluciones adecuadas usando, por ejemplo, vehículos isotónicos tales como inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de Ringer con lactato. Pueden incluirse conservantes, estabilizantes, tampones, antioxidantes y/u otros aditivos, según lo necesario.

### **Formulaciones**

Aunque es posible usar el compuesto de conjugado (por ejemplo, administrarse) solo, frecuentemente es preferible que esté presente como una composición o formulación.

En una realización, la composición es una composición farmacéutica (por ejemplo, formulación, preparación, medicamento) que comprende un compuesto de conjugado, como se describe en el presente documento, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la composición es una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de conjugado, como se describe en el presente documento, junto con uno o varios de otros componentes farmacéuticamente aceptables muy conocidos para aquellos expertos en la materia, que incluye, pero sin limitación, vehículos, excipientes, adyuvantes, cargas, tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos (por ejemplo, agentes humectantes), agentes enmascaradores, agentes colorantes, aromatizantes y edulcorantes farmacéuticamente aceptables.

En una realización, la composición comprende además otros agentes activos, por ejemplo, otros agentes terapéuticos o profilácticos.

Vehículos, diluyentes, excipientes, etc., pueden encontrarse en textos farmacéuticos estándar. Véase, por ejemplo, Handbook of Pharmaceutical Additives, 2ª edición (eds. M. Ash y I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, Nueva York, USA), Remington's Pharmaceutical Sciences, 20ª edición, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; y Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2ª edición, 1994.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a procedimientos de preparación de una composición farmacéutica que comprenden mezclar al menos un conjugado radiomarcado con [<sup>11</sup>C] o compuesto similar a conjugado, como se definen en el presente documento, junto con uno o varios de otros componentes farmacéuticamente aceptables muy conocidos para aquellos expertos en la materia, por ejemplo, vehículos, diluyentes, excipientes, etc. Si se formulan

como unidades discretas (por ejemplo, comprimidos, etc.), cada unidad contiene una cantidad predeterminada (dosificación) del compuesto activo.

La expresión "farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos, Ingredientes, materiales, composiciones, formas de dosificación, etc., que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ejemplo, humano) sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otro problema o complicación, proporcionado con una relación beneficio/riesgo razonable. Cada vehículo, diluyente, excipiente, etc., debe también ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros componentes de la formulación.

Las formulaciones pueden prepararse por cualquier procedimiento muy conocido en la técnica de la farmacia. Dichos métodos incluyen la etapa de poner en asociación el principio activo con un vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan poniendo uniforme e íntimamente en asociación el compuesto activo con vehículos (por ejemplo, vehículos líquidos, vehículo sólido finamente dividido, etc.), y luego moldear el producto, si fuera necesario.

La formulación puede prepararse para proporcionar liberación rápida o lenta; inmediata, retardada, controlada o liberación sostenida; o una combinación de las mismas.

Las formulaciones adecuadas para administración parenteral (por ejemplo, mediante inyección), incluyen líquidos estériles, libres de pirógenos, isotónicos, acuosos o no acuosos (por ejemplo, disoluciones, suspensiones), en los que el principio activo se disuelve, suspende o proporciona de otro modo (por ejemplo, en un liposoma u otra micropartícula). Tales líquidos pueden contener adicionalmente otros ingredientes farmacéuticamente aceptables, tales como antioxidantes, tampones, conservantes, estabilizantes, bacteriostáticos, agentes de suspensión, agentes espesantes y solutos que convierten la formulación en isotónica con la sangre (u otro fluido corporal relevante) del receptor previsto. Ejemplos de excipientes incluyen, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales y similares. Ejemplos de vehículos isotónicos adecuados para su uso en tales formulaciones incluyen inyección de cloruro sódico, solución de Ringer o inyección de Ringer con lactato. Normalmente, la concentración del principio activo en el líquido es de aproximadamente 1 ng/ml a aproximadamente 10 µg/ml, por ejemplo, de aproximadamente 10 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes sellados de dosis unitaria o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales, y puede almacenarse en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere solo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Se pueden preparar soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas a partir de polvos, gránulos y comprimidos.

### **Dosificaciones**

Se apreciará por un experto en la materia que las dosificaciones apropiadas del compuesto de conjugado, y composiciones que comprenden el compuesto de conjugado, pueden variar de paciente a paciente. Determinar la dosificación óptima implicará generalmente equilibrar el nivel de beneficio terapéutico contra cualquier riesgo o efectos secundarios perjudiciales. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de varios factores que incluyen, pero sin limitación, la actividad del compuesto particular, de la vía de administración, del tiempo de administración, la tasa de eliminación del compuesto, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación, la gravedad de la afección, y la especie, el sexo, edad, peso, afección, salud general e historia médica previa del paciente. La cantidad de compuesto y la vía de administración serán por último lugar a criterio del médico, veterinario o profesional clínico, aunque generalmente la dosificación se seleccionará para lograr concentraciones locales en el sitio de acción que consiguen el efecto deseado sin causar efectos secundarios nocivos o perjudiciales sustanciales.

La administración puede efectuarse en una dosis, continuamente o intermitentemente (por ejemplo, en dosis divididas a intervalos apropiados) durante el transcurso del tratamiento. Procedimientos de determinación de los medios más eficaces y de dosificación de la administración son muy conocidos para aquellos expertos en la materia y variarán con la formulación usada para la terapia, el fin de la terapia, la(s) célula(s) diana(s) que está(n) tratándose y el sujeto que está tratándose. Pueden llevarse a cabo administraciones individuales o múltiples con el nivel de dosis y patrón que se selecciona por el médico práctico, veterinario o profesional clínico.

En general, una dosis adecuada del compuesto activo está en el intervalo de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 25 mg (más normalmente aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 mg) por kilogramo de peso corporal del sujeto por día. Si el compuesto activo es una sal, un éster, una amida, un profármaco, o similar, la cantidad administrada se calcula basándose en el compuesto parental y así el peso real que va a usarse se aumenta proporcionalmente.

En una realización, el compuesto activo se administra a un paciente humano según la siguiente pauta de dosificación: aproximadamente 100 mg, 3 veces al día.

En una realización, el compuesto activo se administra a un paciente humano según la siguiente pauta de dosificación: aproximadamente 150 mg, 2 veces al día.

5 En una realización, el compuesto activo se administra a un paciente humano según la siguiente pauta de dosificación: aproximadamente 200 mg, 2 veces al día.

Sin embargo, en una realización, el compuesto de conjugado se administra a un paciente humano según la siguiente pauta de dosificación: aproximadamente 50 o aproximadamente 75 mg, 3 o 4 veces al día.

10 En una realización, el compuesto de conjugado se administra a un paciente humano según la siguiente pauta de dosificación: aproximadamente 100 o aproximadamente 125 mg, 2 veces al día.

15 Las cantidades de dosificación descritas anteriormente pueden aplicarse al conjugado (incluyendo el resto de PBD y el conector al anticuerpo) o a la cantidad eficaz de compuesto de PBD proporcionada, por ejemplo, la cantidad de compuesto que es liberable después de la escisión del enlazador.

20 Para la prevención o tratamiento de la enfermedad, la dosificación apropiada de un ADC de la invención dependerá del tipo de enfermedad que va a tratarse, como se ha definido anteriormente, la gravedad y la evolución de la enfermedad, si la molécula se administra para fines preventivos o terapéuticos, terapia previa, la historia clínica del paciente y respuesta al anticuerpo, y el criterio del médico adjunto. La molécula se administra adecuadamente al  
 25 paciente de una vez o durante una serie de tratamientos. Dependiendo del tipo y de la gravedad de la enfermedad, aproximadamente 1 µg/kg a 15 mg/kg (por ejemplo, 0,1-20 mg/kg) de molécula es una dosificación candidata inicial para administración al paciente, ya sea, por ejemplo, mediante una o más administraciones separadas o mediante infusión continua. Una dosificación diaria típica puede variar desde aproximadamente 1 µg/kg a 100 mg/kg o más,  
 30 dependiendo de los factores mencionados anteriormente. Una dosificación a modo de ejemplo de ADC a administrar al paciente está en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg de peso del paciente. Para administraciones repetidas a lo largo de varios días o un periodo mayor, dependiendo de la afección, se continuará el tratamiento hasta que suceda una supresión deseada de los síntomas de enfermedad. Una pauta de dosificación a modo de ejemplo comprende un ciclo de administración de una dosis de carga inicial de aproximadamente 4  
 35 mg/kg, seguido de dosis adicionales cada semana, dos semanas o tres semanas de un ADC. Otros regímenes de dosificación pueden ser útiles. El progreso de esta terapia se controla fácilmente mediante técnicas y ensayos convencionales.

### 35 **Tratamiento**

El término "tratamiento", cuando se usan en el contexto del tratamiento de una afección, se refiere generalmente a tratamiento y terapia, tanto de un ser humano como un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en el que se logra algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso de la afección, e incluye una  
 40 reducción en la tasa de progreso, una detención en la tasa de progreso, regresión de la afección, mejora de la afección y cura de la afección. También se incluye el tratamiento como medida profiláctica (es decir, profilaxis, prevención).

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de un compuesto activo, o un material, composición o dosificación que comprende un compuesto activo, que es  
 45 eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se administra según una pauta de tratamiento deseada.

De manera similar, el término "cantidad profilácticamente eficaz", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de un compuesto activo, o un material, composición o dosificación que comprende un  
 50 compuesto activo, que es eficaz para producir algún efecto profiláctico deseado, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se administra según una pauta de tratamiento deseada.

### *Preparación de conjugados de anticuerpo-fármaco*

55 Los conjugados de anticuerpo-fármaco pueden prepararse por varias vías, empleando reacciones de química orgánica, condiciones y reactivos conocidos para aquellos expertos en la materia, que incluyen: (1) reacción de un grupo nucleófilo de un anticuerpo con un reactivo de enlazador bivalente, para formar un Ab-L intermediario de anticuerpo-enlazador, a través de un enlace covalente, seguido por reacción con un reactivo de resto de fármaco activado; y (2) reacción de un reactivo de resto de fármaco con un reactivo enlazador, para formar un D-L reactivo de fármaco-enlazador, a través de un enlace covalente, seguido por reacción con el nucleófilo de un anticuerpo. Los  
 60 procedimientos de conjugación (1) y (2) pueden emplearse con varios anticuerpos y enlazadores para preparar los conjugados anticuerpo-fármaco de la invención.

65 Grupos nucleófilos sobre anticuerpos incluyen, pero sin limitación, a grupos tio de cadena lateral, por ejemplo, cisteína. Los grupos tiol son nucleófilos y capaces de reaccionar para formar enlaces covalentes con grupos electrófilos sobre restos de enlazador tales como aquellos de la presente invención. Ciertos anticuerpos tienen

disulfuros entre cadenas reducibles, es decir, puentes de cisteína. Los anticuerpos pueden hacerse reactivos para la conjugación con reactivos de enlazador mediante tratamiento con un agente reductor tal como DTT (reactivo de Cleland, ditiotreitól) o TCEP (clorhidrato de tris(2-carboxietil)fosfina; Getz y col. (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; Soltéc Ventures, Beverly, MA). Cada puente de disulfuro de cisteína formará así, teóricamente, dos nucleófilos de tiol reactivos. Pueden introducirse grupos nucleófilos adicionales en anticuerpos mediante la reacción de lisinas con 2-iminotiolano (reactivo de Traut) produciendo la conversión de una amina en un tiol.

### El sujeto/paciente

- 10 El sujeto/paciente puede ser un animal, mamífero, un mamífero placentario, un marsupial (por ejemplo, canguro, tejón australiano), un monotremo (por ejemplo, ornitorrinco), un roedor (por ejemplo, una cobaya, un hámster, una rata, un ratón), murino (por ejemplo, un ratón), un lagomorfo (por ejemplo, un conejo), aviar (por ejemplo, un ave), canino (por ejemplo, un perro), felino (por ejemplo, un gato), equino (por ejemplo, un caballo), porcino (por ejemplo, un cerdo), ovino (por ejemplo, una oveja), bovino (por ejemplo, una vaca), un primate, simio (por ejemplo, un simio inferior o simio superior), un simio inferior (por ejemplo, tití, babuino), un simio superior (por ejemplo, gorila, chimpancé, orangután, gibón), o un ser humano.

Además, el sujeto/paciente puede estar en cualquiera de sus formas de desarrollo, por ejemplo, un feto. En una realización preferida, el sujeto/paciente es un ser humano.

En una realización, el paciente es una población en la que cada paciente tiene un tumor que tiene integrina  $\alpha_v\beta_6$  sobre la superficie de la célula.

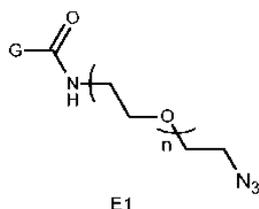
### Síntesis

- 25 Los conjugados de fórmula A pueden sintetizarse a partir de los correspondientes compuestos enlazadores de fármaco de fórmula B haciéndolos reaccionar con agentes de unión celular en condiciones apropiadas. Por lo tanto, los conjugados donde Y es de fórmula A1 pueden sintetizarse a partir de los compuestos enlazadores de fármaco donde  $Y^L$  es de fórmula B1. Los conjugados donde Y es de fórmula A2 pueden sintetizarse a partir de los compuestos enlazadores de fármacos donde  $Y^L$  es de fórmula B2. Los conjugados donde Y es de fórmula A3 pueden sintetizarse a partir de los compuestos enlazadores de fármacos donde  $Y^L$  es de fórmula B3.

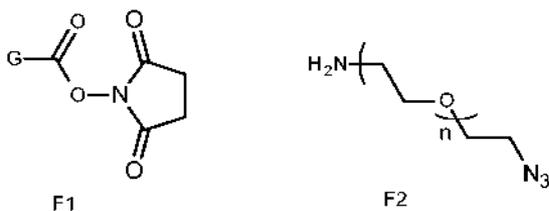
35 Las condiciones, tal como se han descrito anteriormente, dependerán del tipo de enlace que se forme entre el compuesto enlazador de fármaco y el agente de unión celular, el cual refleja en sí mismo la naturaleza del sitio de unión en el agente de unión celular.

Los compuestos enlazadores de fármaco de fórmula B pueden sintetizarse a partir de los correspondientes compuestos de fórmula C.

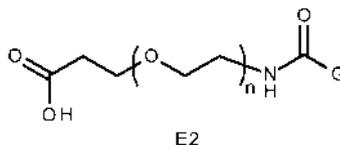
- 40 Los compuestos enlazadores de fármaco donde  $Y^L$  es de fórmula B1 pueden sintetizarse a partir de los compuestos donde  $Y^C$  es de fórmula C1, mediante reacción con un compuesto de fórmula E1:



- 45 en un disolvente apropiado. Los compuestos de fórmula E1 pueden formarse *in situ* mediante reacción de los compuestos de fórmulas F1 y F2:

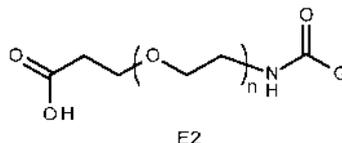


- 50 Los compuestos enlazadores de fármaco donde  $Y^L$  es de fórmula B2 pueden sintetizarse a partir de los compuestos donde  $Y^C$  es de fórmula C2, mediante reacción con un compuesto de fórmula E2:



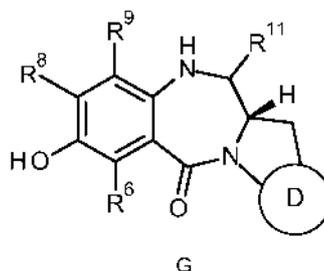
en un disolvente apropiado, en presencia de un reactivo de acoplamiento de amida.

- 5 Los compuestos enlazadores de fármaco donde  $Y^L$  es de fórmula B3 pueden sintetizarse a partir de los compuestos donde  $Y^C$  es de fórmula C3, mediante reacción con un compuesto de fórmula E2:

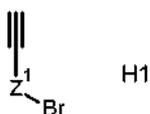


- 10 en un disolvente apropiado, en presencia de un reactivo de acoplamiento de amida.

El compuesto de fórmula C se puede fabricar a partir del correspondiente compuesto de fórmula G:

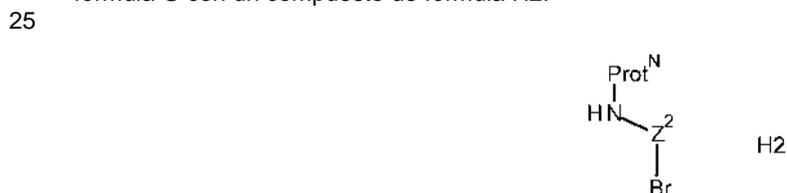


- 15 Los compuestos de fórmula C donde  $Y^C$  es de fórmula C1 pueden sintetizarse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula G con un compuesto de fórmula H1:



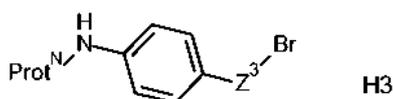
- 20 en presencia de yoduro de tetrabutilamonio y carbonato potásico.

Los compuestos de fórmula C donde  $Y^C$  es de fórmula C2 pueden sintetizarse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula G con un compuesto de fórmula H2:



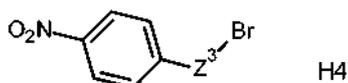
- 30 donde  $Pro^N$  es un grupo protector de amina, tal como Alloc, en presencia de yoduro de tetrabutilamonio y carbonato potásico, seguido de desprotección de la amina en condiciones convencionales. El grupo protector usado debe ser ortogonal a cualquier otro de los grupos protectores en el compuesto.

Los compuestos de fórmula C donde  $Y^C$  es de fórmula C3 pueden sintetizarse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula G con un compuesto de fórmula H3:



5 donde Pro<sup>N</sup> es un grupo protector de amina, tal como Alloc, en presencia de yoduro de tetrabutilamonio y carbonato potásico, seguido de desprotección de la amina en condiciones convencionales. El grupo protector usado debe ser ortogonal a cualquier otro de los grupos protectores en el compuesto.

Como alternativa, los compuestos de fórmula C donde Y<sup>C</sup> es de fórmula C3 puede sintetizarse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula G con un compuesto de fórmula H4:



10 en presencia de yoduro de tetrabutilamonio y carbonato potásico, seguido de reducción del grupo nitro en condiciones convencionales.

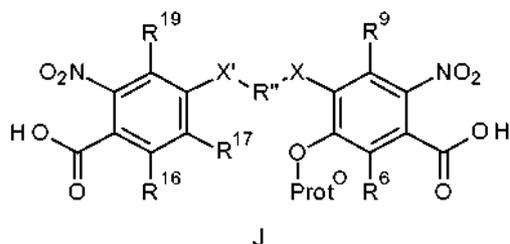
15 El compuesto de fórmula G que contiene un único resto de PBD puede sintetizarse de acuerdo con la divulgación del documento WO 2005/085259 y, en particular, el análisis de las páginas 31 a 39, que se incorpora en el presente documento por referencia. También se hace referencia a las enseñanzas de la solicitud pendiente de aprobación PCT/EP2012/070232, presentada el 12 de octubre de 2012.

20 La síntesis de compuestos de PBD que contienen dos restos de imina se trata extensamente en las referencias siguientes, cuyos análisis se incorporan en el presente documento por referencia:

- a) documento WO 00/12508 (páginas 14 a 30);
- b) documento WO 2005/023814 (páginas 3 a 10);
- 25 c) documento WO 2004/043963 (páginas 28 a 29);
- d) documento WO 2005/085251 (páginas 30 a 39) y
- e) documento WO 2011/130598 (páginas 126 a 150).

30 La divulgación del documento WO 2005/085259 analizado anteriormente también es relevante para la síntesis de compuestos de fórmula G que comprenden dos restos de PBD. Los métodos de síntesis desvelados en el presente documento pueden modificarse para incluir un grupo hidroxilo protegido ortogonalmente en C7 (es decir el grupo R<sup>A</sup> en el esquema 4).

35 Como alternativa, los compuestos de fórmula G pueden sintetizarse como se describe en las referencias anteriores, pero partiendo de un núcleo dímero de fórmula J:



40 donde Prot<sup>O</sup> es un grupo protector de hidroxilo. Dichos compuestos de fórmula J pueden fabricarse mediante métodos análogos a los de los ejemplos de la presente solicitud.

#### Grupos protectores de amina

45 Los expertos en la técnica conocen bien los grupos protectores de amina. Se hace referencia concreta a la divulgación de grupos protectores adecuados en Greene's Protecting Groups in Organic Synthesis, cuarta edición, John Wiley & Sons, 2007 (ISBN 978-0-471-69754-1), páginas 696-871.

*Grupos protectores de hidroxilo*

Los expertos en la técnica conocen bien los grupos protectores de hidroxilo. Se hace referencia concreta a la divulgación de grupos protectores adecuados en Greene's Protecting Groups in Organic Synthesis, cuarta edición, John Wiley & Sons, 2007 (ISBN 978-0-471-69754-1), páginas 16-298.

**Condiciones generales**

El progreso de la reacción se controló mediante cromatografía de capa fina (TLC) usando gel de sílice Merck Kieselgel 60 F254, con indicador fluorescente, sobre placas de aluminio. La visualización de la TLC se logró con luz UV o vapor de yodo, a menos que se indique otra cosa. La cromatografía ultrarrápida se llevó a cabo usando gel de sílice Merck Kieselgel 60 F254. Los disolventes de extracción y cromatografía se compraron y usaron sin purificación adicional de Fisher Scientific, R. U. Todos los productos químicos se compraron de Aldrich, VWR y Combi Blocks. Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se obtuvieron en un espectrómetro Bruker Avance 400. Las constantes de acoplamiento se citan en hercios (Hz). Los cambios químicos se recogen en partes por millón (ppm) con referencia a tetrametilsilano. Las multiplicidades de espín se denominan s (singlete), sa (singlete ancho), d (doblete), t (triplete), c (cuadruplete), q (quintuplete) y m (multiplete).

*Método 1 de CLEM (por defecto cuando no se especifique)*

La HPLC (Waters Alliance 2695) se llevó a cabo usando una fase móvil de agua (A) (ácido fórmico al 0,1%) y acetonitrilo (B) (ácido fórmico al 0,1%). Gradiente: composición inicial 5% de B mantenido durante 1,0 min, después se aumentó de 5% de B hasta 95% de B durante un periodo de 3 min. La composición se mantuvo durante 0,1 min al 95% de B, después se volvió al 5% de B en 0,03 minutos y se mantuvo así durante 0,87 min. El tiempo total de ejecución del gradiente fue de 5 min.

El caudal fue de 3,0 ml/min, se dividieron 400  $\mu\text{l}$  mediante una pieza en T de volumen muerto que pasa al espectrómetro de masas. Intervalo de detección de longitud de onda: 220 a 400 nm. Tipo de función: matriz de diodos (535 exploraciones). Columna: Phenomenex Onyx Monolithic C18 50 x 4,60 mm.

*Método 2 de CLEM*

La HPLC (Waters Alliance 2695) se llevó a cabo usando una fase móvil de agua (A) (ácido fórmico al 0,1%) y acetonitrilo (B) (ácido fórmico al 0,1%). Gradiente: composición inicial 5% de B mantenido durante 1,0 min, después se aumentó de 5% de B hasta 95% de B durante un periodo de 2,5 min. La composición se mantuvo durante 0,5 min al 95% de B, después se volvió al 5% de B en 0,1 minutos y se mantuvo así durante 0,9 min. El tiempo total de ejecución del gradiente fue de 5 min.

El caudal fue de 3,0 ml/min, se dividieron 400  $\mu\text{l}$  mediante una pieza en T de volumen muerto que pasa al espectrómetro de masas. Intervalo de detección de longitud de onda: 220 a 400 nm. Tipo de función: matriz de diodos (535 exploraciones). Columna: Phenomenex Onyx Monolithic C18 50 x 4,60 mm."

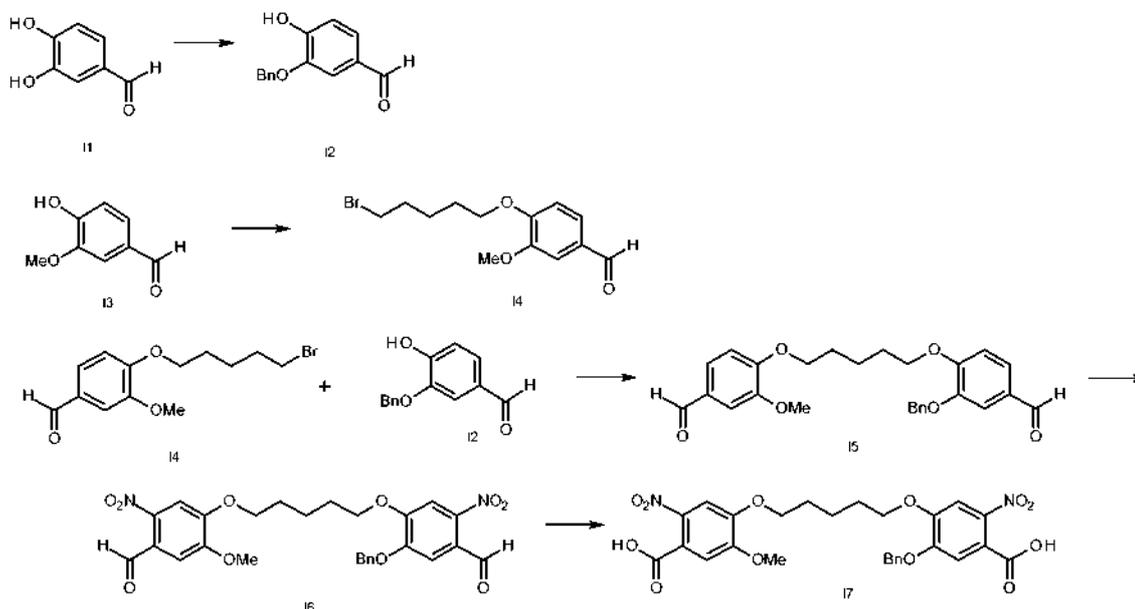
*Método 3 de CLEM*

Se llevó a cabo la HPLC (Shimazu LCMS-2020) usando una fase móvil de agua (A) (ácido fórmico al 0,1%) y acetonitrilo (B) (ácido fórmico al 0,1%). Gradiente: composición inicial 5% de B mantenido durante 0,25 min, después se aumentó de 5% de B hasta 100% de B durante un periodo de 2 min. La composición se mantuvo durante 0,50 min al 100% de B, después se volvió al 5% de B en 0,05 minutos y se mantuvo así durante 0,05 min. El tiempo total de ejecución del gradiente fue de 3 minutos.

El caudal fue de 0,8 ml/min. Intervalo de detección de longitud de onda: 220 a 400 nm. Columna: Waters Acquity UPLC BEH Shield RP18 1,7  $\mu\text{m}$  2,1x50 mm.

## Síntesis de intermedios clave

## (a) Ácido 5-(benciloxi)-4-((5-(4-carboxi-2-metoxi-5-nitrofenoxi)pentil)oxi)-2-nitrobenzoico (17)



5

## (i) 3-(benciloxi)-4-hidroxibenzaldehído (12)

Se aclaró hidruro sódico (51,2 g, 1,27 mol, 2,2 equiv.) dos veces con hexano en un matraz de tres bocas y se añadió DMSO anhidro (800 ml.). El matraz se puso en un baño de agua a temperatura ambiente. Se añadió gota a toda una solución de 3,4-dihidroxibenzaldehído 11 (80 g, 579,2 mmol) en DMSO seco (160 ml.), con un embudo de adición, durante 40 minutos y la mezcla de reacción se agitó 30 minutos en atmósfera de argón. Durante la adición se forma una gran cantidad gas hidrógeno, por lo que en una de las bocas se coloca una salida con algodón hidrófilo y cloruro de calcio. Después se añadió gota a gota bromuro de bencilo (68,8 ml, 579,2 mmol, 1 equiv.) y la reacción se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se vertió en hielo y se inactivó con HCl (1 M) hasta pH ácido y se extrajo con EtOAc. Después la fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y el exceso de disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se sometió a un lecho de sílice con diclorometano puro. El material resultante se precipitó con un mínimo de diclorometano en hexano. El precipitado blanco resultante se filtró y se secó para proporcionar el compuesto deseado (80,7 g, 60% de rendimiento). CL/EM (Método 3) 1,43 min (sin ionización). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,81 (s, 1H), 7,51 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,45 - 7,34 (m, 7H), 7,06 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 5,17 (s, 2H).

## (ii) 4-((5-bromopentil)oxi)-3-metoxibenzaldehído (14)

Se disolvió vanilina 13 (50 g, 328 mmol) en acetona (1 l). Se añadieron dibromopentano (227 g, 985 mmol, 3 equiv.) y carbonato potásico (68 g, 492 mmol, 1,5 equiv.). La suspensión se calentó a 65 °C y se agitó durante 2 horas y después a 80 °C durante 30 minutos. El carbonato potásico resultante se filtró y el exceso de disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se sometió a un lecho de sílice: EtOAc al 7,5% en hexano (4 l), después EtOAc al 10% en hexano (1 l) y EtOAc al 25% en hexano para proporcionar un sólido de color blanco (53,7 g, 54% de rendimiento). CL/EM (Método 3) 1,63 min (ES+) m/z (intensidad relativa) 302,53 ([M+H]<sup>+</sup>, 100). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9,83 (s, 1H), 7,42 (dd, J = 8,1, 1,9 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 4,10 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,43 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 1,92 (m, 4H), 1,64 (tt, J = 9,7, 6,2 Hz, 2H).

## (iii) 3-(benciloxi)-4-((5-(4-formil-2-etoxifenoxi)pentil)oxi) benzaldehído (15)

Se disolvieron 4-((5-bromopentil)oxi)-3-metoxibenzaldehído 14 (40,0 g, 132,81 mmol, 1 equiv.) y 3-(benciloxi)-4-hidroxibenzaldehído 12 (30,3 g, 132,81 mmol, 1 equiv.) en dimetilformamida (200 ml). Se añadieron carbonato potásico (13,8 g, 99,61 mmol, 0,75 equiv.) y yoduro de tetrabutilamonio (4,9 g, 13,28 mmol, 0,1 equiv.). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C y se agitó durante 12 horas. El carbonato potásico resultante se filtró y el exceso de disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en acetato de etilo y posteriormente se lavó con agua, NaOH 1 N, HCl 1 N, agua y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y el exceso de disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para proporcionar el compuesto deseado (75 g, rendimiento cuantitativo) en forma de un aceite de color amarillo claro.

CL/EM (Método 3) 1,77 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 449,15  $[M+H]^+$ , 471,25  $[M + Na]^+$ . RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  9,83 (s, 1H), 9,81 (s, 1H), 7,46 (dd,  $J = 3,1, 1,4$  Hz, 2H), 7,43 (d,  $J = 1,7$  Hz, 2H), 7,41 (dd,  $J = 8,1, 1,9$  Hz, 1H), 7,39 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 7,37 - 7,32 (m, 2H), 7,30 (dd,  $J = 5,0, 3,6$  Hz, 1H), 6,97 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 6,92 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 5,15 (s, 2H), 4,13 (t,  $J = 6,4$  Hz, 2H), 4,09 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H), 3,88 (s, 3H), 2,01 - 1,89 (m, 4H), 1,77 - 1,64 (m, 2H).

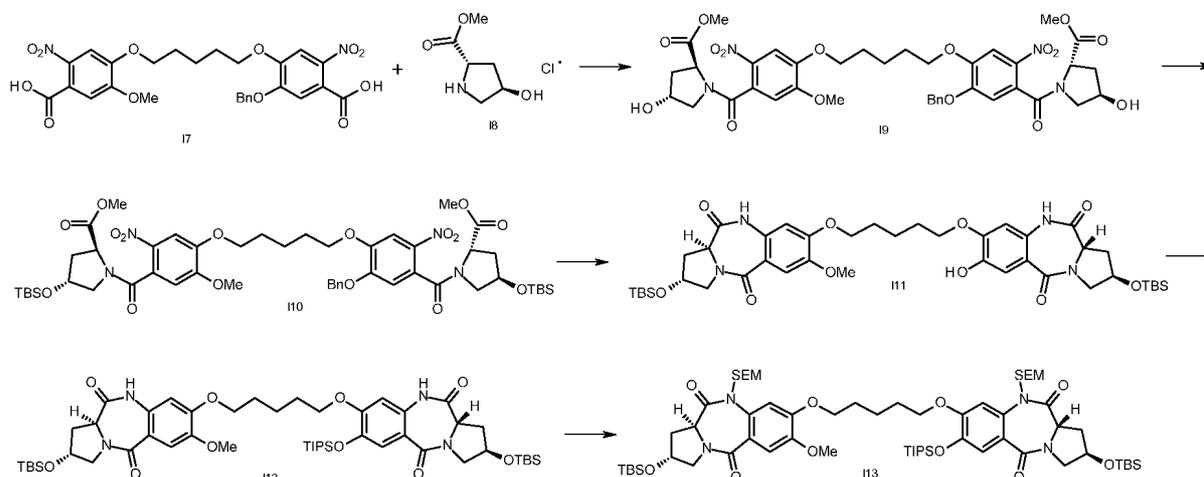
(iv) 5-(benciloxi)-4-((5-(4-formil-2-metoxi-5-nitrofenoxi)pentil)oxi)-2-nitrobenzaldehído (16)

Se disolvió 3-(benciloxi)-4-((5-(4-formil-2-etoxifenoxi)pentil)oxi) benzaldehído 15 (30 g, 66,40 mmol) en diclorometano (60 ml) y se le añadió a ácido nítrico (68%, 60 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 20 minutos y a temperatura ambiente durante 3 horas y después se añadió agua fría. El precipitado formado se filtró y se lavó con agua. El sólido de color blanco se secó al vacío. Se obtuvieron 42 g de sólido de color blanco (>100% de rendimiento debido al agua residual). CL/EM (Método 3) 1,88 min, sin ionización. RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  10,44 (s, 1H), 10,41 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,46-7,30 (m, 6H), 5,25 (s, 2H), 4,20 (dd,  $J = 12,2, 5,9$  Hz, 2H), 4,13 (dd,  $J = 15,1, 8,7$  Hz, 2H), 3,96 (s, 3H), 2,01 (dt,  $J = 14,1, 6,4$  Hz, 4H), 1,80 - 1,65 (m, 2H).

(v) Ácido 5-(benciloxi)-4-((5-(4-carboxi-2-metoxi-5-nitrofenoxi)pentil)oxi)-2-nitrobenzoico (17)

Una solución de clorito sódico (35,3 g, 390 mmol, 5 equiv.) y fosfato sódico (26,2 g, 218,4 mmol, 2,8 equiv.) en agua (250 ml) se añadió a una solución de 5-(benciloxi)-4-((5-(4-formil-2-metoxi-5-nitrofenoxi)pentil)oxi)-2-nitrobenzaldehído 16 (42 g, 78 mmol) en THF (200 ml). Después se añadió rápidamente peróxido de hidrógeno (60%, 103 ml, 2,18 mol, 28 equiv.). Después de 30 min, la reacción se inactivó con HCl 1 N y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó dos veces con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en un mínimo de diclorometano y se eliminó por precipitación con éter. El sólido de color amarillo claro (26 g, 58%) se filtró y se lavó con éter y se usó como producto en bruto en la siguiente reacción. CL/EM (Método 3) 1,69 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 569,35  $[M+H]^+$ .

(b) (2R, 11aS)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-8-((5-(((2R, 11aS)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-5, 11-dioxo-7-((trioisopropilsilil)oxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3,5,10,11,11a-hexahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-7-metoxi-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H, 11aH)-diona (113)



(i) 1-(4-((5-(2-(benciloxi)-4-((2S,4R)-4-hidroxi-2-(metoxicarbonil)pirrolidin-1-carbonil)-5-nitrofenoxi)pentil)oxi)-5-metoxi-2-nitrobenzoil)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (19)

Se añadió cloruro de oxalilo (7,6 ml, 89,92 mmol, 3 equiv.) a una solución de 17 (17,1 g, 29,97 mmol) en diclorometano (150 ml) y DMF (2 ml). Después de 20 min el disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida y se añadió un mínimo de diclorometano para disolver el producto en bruto y se trituró con éter dietílico. El sólido de color amarillo formado se filtró y se añadió en porciones a una solución de 18 (13,6 g, 74,93 mmol, 2,5 equiv.) y trietilamina (20,92 ml, 149,87 mmol, 5 equiv.) en diclorometano (100 ml) a -40 °C. La reacción se completó tras pocos minutos. El disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida y el residuo resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice; 50% de acetato de etilo en hexano a 100% de acetato de etilo para recoger el producto de adición mono y después del 5% al 20% de metanol en diclorometano). Se recogieron las fracciones puras y se combinaron y el exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para dar el producto (15 g, 61% en 3 etapas). CL/EM (Método 3) 1,47 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 825,45 ( $[M+H]^+$ , 100). RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7,65 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,45 - 7,27 (m, 5H), 6,89 (s, 1H), 6,81 (s, 1H), 5,20 (s, 2H), 4,85 - 4,74 (m, 2H), 4,40 (d,  $J = 20,3$  Hz, 2H), 4,21 - 4,02 (m, 4H), 3,91 (s, 3H), 3,79 (s,

6H), 3,53-3,41 (m, 2H), 3,13 (d,  $J = 11,1$  Hz, 1H), 3,04 (d,  $J = 11,0$  Hz, 1H), 2,79 - 2,72 (m,  $J = 4,3$  Hz, 1H), 2,63 (s, 1H), 2,42 - 2,32 (m, 2H), 2,21 - 2,06 (m,  $J = 11,3$  Hz, 2H), 2,02 - 1,89 (m, 4H), 1,76 - 1,65 (m, 2H).

(ii) 1-(4-((5-(2-(benciloxi)-4-((2S,4R)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2-(metoxicarbonil)pirrolidin-1-carbonil)-5-nitrofenoxi)pentil)oxi)-5-metoxi-2-nitrobenzoil)-4-((terc-butildimetilsilil)oxi)pirrolidin-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (110)

19 (14 g, 16,97 mmol), cloruro de terc-butildimetilsililo (12,8 g, 84,87 mmol, 5 equiv.) e imidazol (13,9 g, 203,64 mmol, 12 equiv.) se mezclaron juntos a 120 °C. La reacción se completó tras 30 minutos. El residuo resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice; 10% de acetato de etilo en hexano a 100% de acetato de etilo). Se recogieron las fracciones puras y se combinaron y el exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para dar el producto (17 g, cuantitativo).

CL/EM (Método 3) 2,17 min. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,69 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,43 - 7,27 (m, 5H), 6,87 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 5,17 (d,  $J = 5,6$  Hz, 2H), 4,73 - 7,79 (m, 2H), 4,45 - 4,34 (m, 2H), 4,32 - 4,10 (m, 2H), 4,09 - 4,00 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,80 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,48-3,41 (m, 1H), 3,29 (dd,  $J = 10,3, 4,6$  Hz, 1H), 3,03 (dd,  $J = 10,4, 2,4$  Hz, 2H), 2,96 (dd,  $J = 10,2, 2,8$  Hz, 2H), 2,31 - 2,21 (m, 2H), 2,19 - 2,05 (m, 2H), 2,00 - 1,88 (m, 4H), 1,74-1,66 (m, 2H), 0,82 (s, 18H), 0,02 (d,  $J = 1,1$  Hz, 6H), -0,03 (d,  $J = 5,5$  Hz, 6H).

(iii) (2R, 11aS)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-8-((5-(((2R,11aS)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-hidroxi-5,11-dioxo-2,3,5,10,11,11a-hexahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-7-metoxi-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (111)

Se añadió formiato de amonio (106 g, 168 mmol, 10 equiv.) a una solución de 110 (17,7 g, 16,80 mmol) en etanol (500 ml). Se humedeció paladio sobre carbono (1,8 g, 10%) con acetato de etilo y se añadió a la mezcla de reacción. La solución se calentó a 70 °C. Después de 20 min, la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se lavó con acetato de etilo. El disolvente se eliminó por evaporación rotatoria. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con cloruro de amonio acuoso saturado y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida para dar el compuesto deseado (13,9 g, 98%) en forma de una goma amarilla.

CL/EM (Método 3) 1,91 min, (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 839,35 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100).

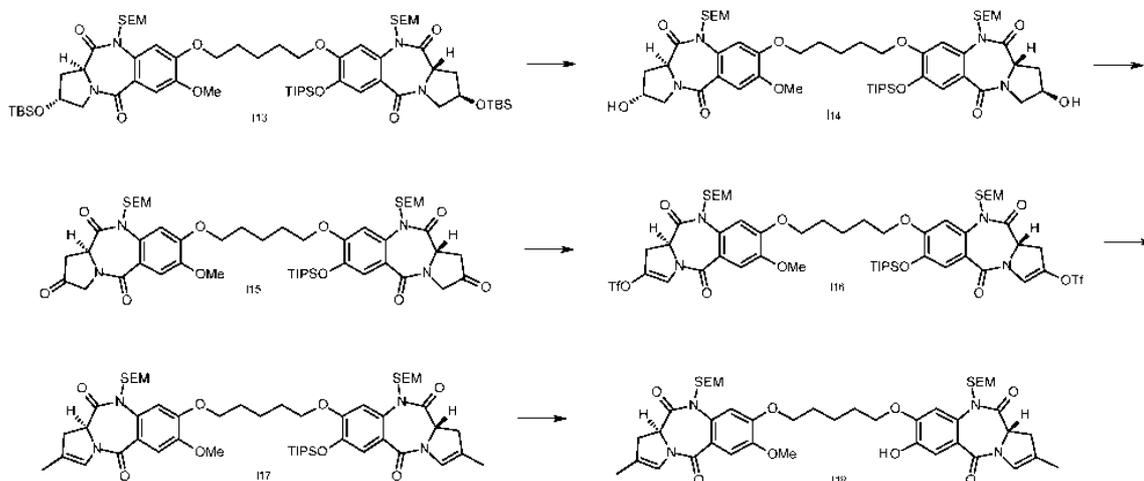
(iv) (2R, 11aS)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-8-((5-(((2R,11aS)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-5,11-dioxo-7-((triospropilsilil)oxi)-2,3,5,10,11,11a-hexahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-7-metoxi-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (112)

111 (13,9 g, 16,56 mmol), cloruro de triospropilsililo (3,6 ml, 18,36 mmol, 1,1 equiv.) e imidazol (3,4 g, 49,94 mmol, 3 equiv.) se mezclaron juntos a 120 °C. La reacción se completó tras 30 minutos. El residuo resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice; 10% de acetato de etilo en hexano a 100% de acetato de etilo). Se recogieron las fracciones puras y se combinaron y el exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para dar el producto (15,4 g, 93%). CL/EM (Método 3) 2,31 min, RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9,81 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 7,43 (s, 2H), 6,47 (s, 1H), 6,42 (s, 1H), 4,54 - 4,43 (m, 2H), 4,17 (dt,  $J = 7,6, 3,8$  Hz, 2H), 4,00 (t,  $J = 6,4$  Hz, 2H), 3,95 (t,  $J = 6,2$  Hz, 2H), 3,87 (s, 3H), 3,73 - 3,58 (m, 4H), 2,84 - 2,76 (m, 2H), 2,09 - 1,96 (m, 1H), 1,92-1,85 (m, 4H), 1,68-1,62 (m, 2H), 1,31 - 1,17 (m, 3H), 1,08 (d,  $J = 2,5$  Hz, 9H), 1,06 (d,  $J = 2,5$  Hz, 9H), 0,85 (s, 9H), 0,84 (s, 9H), 0,06 (s, 6H), 0,07 (s, 6H).

(v) (2R, 11aS)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-8-((5-(((2R,11aS)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-5,11-dioxo-7-((triospropilsilil)oxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3,5,10,11,11a-hexahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-7-metoxi-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (113)

Se disolvió 112 (15,4 g, 15,74 mmol) en tetrahidrofurano seco (250 ml.) y se enfrió a -30 °C (hielo seco / acetona). Después se añadió n-butillitio (29 ml, 46,41 mmol, 3 equiv.) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a -30 °C. Después se añadió gota a gota cloruro de 2-(trimetilsilil)etoximetilo (8,2 ml, 46,41 mmol, 3 equiv.) y se eliminó el baño frío. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas y el disolvente se eliminó por evaporación rotatoria. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida para dar el compuesto deseado en forma de un aceite de color amarillo usado como producto en bruto para la siguiente reacción. RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,34 (s, 1H), 7,33 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 5,49 (dd,  $J = 10,0, 1,8$  Hz, 2H), 4,64 (dd,  $J = 9,9, 7,5$  Hz, 2H), 4,56 (dt,  $J = 8,9, 5,7$  Hz, 2H), 4,21 (dt,  $J = 8,6, 4,4$  Hz, 2H), 4,09 - 3,93 (m, 4H), 3,91 (s, 3H), 3,82 - 3,61 (m, 6H), 3,61 - 3,50 (m, 2H), 2,90 - 2,76 (m, 2H), 2,03 - 1,97 (m, 2H), 1,97 - 1,86 (m, 4H), 1,75-1,64 (m, 2H), 1,34-1,19 (m, 3H), 1,10 (d,  $J = 2,7$  Hz, 9H), 1,08 (d,  $J = 2,7$  Hz, 9H), 0,96 (ddd,  $J = 9,1, 6,9, 2,0$  Hz, 4H), 0,86 (d,  $J = 2,9$  Hz, 9H), 0,85 (d,  $J = 2,9$  Hz, 9H), 0,09 (s, 6H), 0,07 (s, 6H), 0,01 (d,  $J = 3,2$  Hz, 18H).

(c) (S)-7-hidroxi-8-((5-(((S)-7-metoxi-2-metil-5,11-dioxo-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-5,10,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metil-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (118)



5

(i) (2R,11aS)-2-hidroxi-8-((5-(((2R,11aS)-2-hidroxi-5,11-dioxo-7-((triisopropilsilil)oxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3,5,10,11,11a-hexahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-7-metoxi-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (114)

10

El producto en bruto 113 (15,74 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano seco (40 ml.) y una solución de HCl *v/v conc.* al 1% en metanol (120 ml). La mezcla de reacción se agitó 2 horas a temperatura ambiente; se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua (dos veces), bicarbonato sódico acuoso saturado y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida para dar el compuesto deseado en forma de un aceite de color amarillo usado como producto en bruto para la siguiente reacción. CL/EM (Método 3) 2,08 min, (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 1027,40 [M+H]<sup>+</sup>, RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,32 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 5,49 (dd, *J* = 10,0, 3,2 Hz, 2H), 4,69-4,57 (m, 3H), 4,33 - 4,24 (m, 2H), 4,16 - 3,93 (m, 4H), 3,88 (s, 3H), 3,89 - 3,55 (m, 6H), 3,00 - 2,88 (m, 2H), 2,53 (a, 1H), 2,17-2,05 (m, 2H), 2,00-1,86 (m, 4H), 1,78-1,63 (m, 3H), 1,46-1,39 (m, 2H), 1,36-1,19 (m, 4H), 1,09 (s, 9H), 1,07 (s, 9H), 1,01 -0,92 (m, 4H), 0,02 (s, 18H).

20

(ii) (S)-7-metoxi-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-8-((5-(((S)-2,5,11-trioxo-7-((triisopropilsilil)oxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3,5,10,11,11a-hexahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-2,5,11(3H,10H,11aH)-triona (115)

25

Se añadió TCCA (1,62 g, 7,00 mmol, 1,2 equiv.) a una solución de producto en bruto 114 (5,84 mmol), TEMPO (90 mg, 0,58 mmol, 0,1 equiv.) y acetato sódico (1,14 g, 14,00 mmol, 2,4 equiv.) en diclorometano (120 ml.) a -10 °C (acetona / hielo). La reacción se agitó durante 30 min y se filtró a través de celite. Después la mezcla de reacción se inactivó con bicarbonato sódico acuoso saturado. La fase orgánica se lavó con tiosulfato sódico y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice; del 20% al 70% de acetato de etilo en hexano). Se recogieron las fracciones puras y se combinaron y el exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para dar el producto (3,21 g, 54% en 3 etapas). CL/EM (Método 3) 2,17 min, (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 1023,75 [M+H]<sup>+</sup>, RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,32 (s, 2H), 7,23 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 5,53 (dd, *J* = 10,0, 1,6 Hz, 2H), 4,70 (t, *J* = 9,6 Hz, 2H), 4,66 - 4,58 (m, 2H), 4,22 (d, *J* = 20,1 Hz, 2H), 4,13 - 3,95 (m, 4H), 3,91 (s, 3H), 3,89 - 3,74 (m, 4H), 3,72 - 3,62 (m, 2H), 3,56 (ddd, *J* = 19,2, 5,8, 3,1 Hz, 2H), 2,78 (dd, *J* = 19,3, 9,9 Hz, 2H), 1,95 (dd, *J* = 14,6, 7,3 Hz, 4H), 1,76-1,63 (m, 2H), 1,33-1,23 (m, 3H), 1,10 (s, 9H), 1,09 (s, 9H), 1,02-0,90 (m, 4H), 0,02 (s, 18H).

35

(iii) Trifluorometanosulfonato de (S)-8-((5-(((S)-5,11-dioxo-2-((trifluorometil)sulfonil)oxi)-7-((triisopropilsilil)oxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-5,10,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-7-metoxi-5,11-dioxo-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-5,10,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-2-ilo (116)

40

Se inyectó 2,6-lutidina anhidro (2,12 ml, 18,17 mmol, 6,2 equiv.) en una porción a una solución de 115 (3 g, 2,93 mmol) en diclorometano seco (40 ml.) a -50 °C (acetona / hielo seco). Después se añadió lentamente anhídrido triflico (2,12 ml, 18,17 mmol, 6 equiv.) mientras se controlaba la temperatura. Después de 20 minutos se añadió agua fría a la mezcla de reacción aún fría y la capa orgánica se separó y se lavó con bicarbonato sódico saturado frío, salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación

45

rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice; del 5% al 20% de acetato de etilo en hexano). Se recogieron las fracciones puras y se combinaron y el exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para dar el producto (3,1 g, 82%). CL/EM (Método 3) 2,37 min, sin ionización, RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,32 (s, 2H), 7,23 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 5,54 (d, *J* = 10,0 Hz, 2H), 4,74-4,66 (m, 2H), 4,63 (d, *J* = 11,0 Hz, 2H), 4,09 - 3,96 (m, 4H), 3,94 - 3,87 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,82 - 3,76 (m, 2H), 3,69 - 3,65 (m, 2H), 3,22 - 3,08 (m, 2H), 1,99 - 1,90 (m, 4H), 1,75 - 1,64 (m, 2H), 1,33 - 1,21 (m, 3H), 1,11 (d, *J* = 1,1 Hz, 9H), 1,09 (d, *J* = 1,1 Hz, 9H), 1,01 - 0,91 (m, 4H), 0,02 (s, 18H).

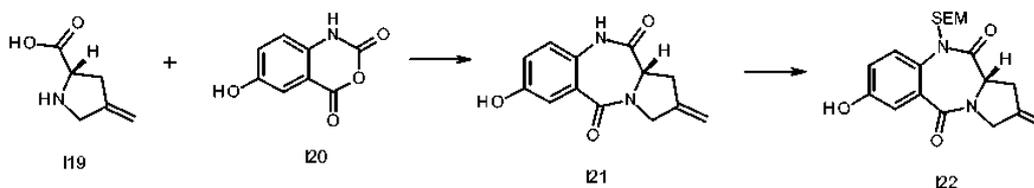
(iv) (S)-7-metoxi-2-metil-8-((5-(((S)-2-metil-5,11-dioxo-7-((triisopropilsilil)oxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-5,10,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (117)

Se añadió trifetilarsina (588 mg, 1,92 mmol, 0,8 equiv.) a una mezcla de triflato 116 (3,1 g, 2,4 mmol, 1 equiv.), ácido metilborónico (1,0 g, 16,8 mmol, 7 equiv.), óxido de plata (4,45 g, 19,2 mmol, 8 equiv.) y fosfato potásico tribásico (6,1 g, 28,8 mmol, 12 equiv.) en dioxano seco (40 ml.) en atmósfera de argón. La reacción se lavó abundantemente con argón 3 veces y se añadió cloruro de bis(benzonitrilo)paladio (II) (184 mg, 0,48 mmol, 0,2 equiv.). La reacción se lavó abundantemente con argón 3 veces más antes de agitarse a 70 °C. Después de 1 hora, se observó mediante TLC que la reacción se había completado y se filtró a través de un lecho de celite. El disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice; del 20% al 50% de acetato de etilo / hexano). Se recogieron las fracciones puras y se combinaron y el exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida proporcionando el producto (1,1 g, 36%). CL/EM (Método 3) 2,34 min, sin ionización, RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,35 (s, 2H), 7,20 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 6,68 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H), 6,64 (d, *J* = 1,4 Hz, 1H), 5,53 (s, 1H), 5,51 (s, 1H), 4,67 (t, *J* = 10,1 Hz, 2H), 4,45 (dt, *J* = 10,5, 3,2 Hz, 2H), 4,08 - 3,94 (m, 4H), 3,90 (s, 3H), 3,77 (dd, *J* = 8,9, 7,5 Hz, 2H), 3,68 (dt, *J* = 10,0, 5,2 Hz, 2H), 3,43 (d, *J* = 16,5 Hz, 2H), 2,78 (d, *J* = 10,4 Hz, 2H), 2,00 - 1,86 (m, 4H), 1,83 (s, 3H), 1,82 (s, 3H), 1,72 - 1,68 (m, 2H), 1,30 - 1,25 (m, 3H), 1,09 (s, 9H), 1,06 (s, 9H), 0,99 - 0,94 (m, 4H), 0,02 (s, 18H).

(v) (S)-7-hidroxi-8-((5-(((S)-7-metoxi-2-metil-5,11-dioxo-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-5,10,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metil-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (118)

Se añadió acetato de litio (110 mg, 1,08 mmol, 1 equiv.) a una solución del compuesto 117 (1,1 g, 1,08 mmol) en dimetilformamida húmeda (20 ml, 50:1 DMF/agua). La reacción se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo y se lavó con ácido cítrico (pH ~ 3) y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida para proporcionar el producto (1,03 g, cuantitativo). CL/EM (Método 3) 1,98 min, (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 863,35 [M+H]<sup>+</sup>, RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,44 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 6,70 - 6,62 (m, 2H), 6,21 (a, 1H), 5,51 (dd, *J* = 10,0, 5,3 Hz, 2H), 4,66 (dd, *J* = 11,3, 10,1 Hz, 2H), 4,46 (dd, *J* = 10,4, 3,2 Hz, 2H), 4,18 - 3,99 (m, 4H), 3,90 (s, 3H), 3,78 (td, *J* = 9,7, 6,9 Hz, 2H), 3,67 (td, *J* = 9,7, 6,8 Hz, 2H), 3,49 - 3,35 (m, 2H), 2,81 - 2,68 (m, 2H), 2,00 - 1,89 (m, 4H), 1,82 (s, 3H), 1,81 (s, 3H), 1,75-1,63 (m, 2H), 0,97 (ddd, *J* = 9,9, 6,6, 3,3 Hz, 4H), 0,01 (s, 18H).

(d) (S)-7-hidroxi-2-metilen-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (123)



(i) (S)-7-hidroxi-2-metilen-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (121)

Se suspendieron anhídrido isatoico de fenol 120 (1,59 g, 8,88 mmol, 1 equiv.), clorhidrato 119 (1,60 g, 9,7 mmol, 1,1 equiv.), diisopropiletilamina (2,06 ml, 11,8 mmol, 1,3 equiv.) en DMSO (8 ml) y se calentaron a 120 °C durante 15 minutos. El control por CL/EM mostró el consumo total del material de partida. La mezcla de reacción se diluyó con agua y hielo y el precipitado resultante se recogió por filtración (1 g). El producto se volvió a cristalizar en acetoneitrilo para producir el producto deseado (600 mg). CL/EM (1,97 min (ES-) *m/z* (intensidad relativa) 242,7 ([M-H]<sup>-</sup>, 100)); RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO) δ 10,24 (s, 1H), 9,64 (s, 1H), 7,15 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 7,01-6,90 (m, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,31-4,16 (m, 2H), 4,03 (dd, *J* = 16,2, 1,3 Hz, 1H), 3,20 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H), 2,77 (dd, *J* = 15,9, 9,4 Hz, 1H).

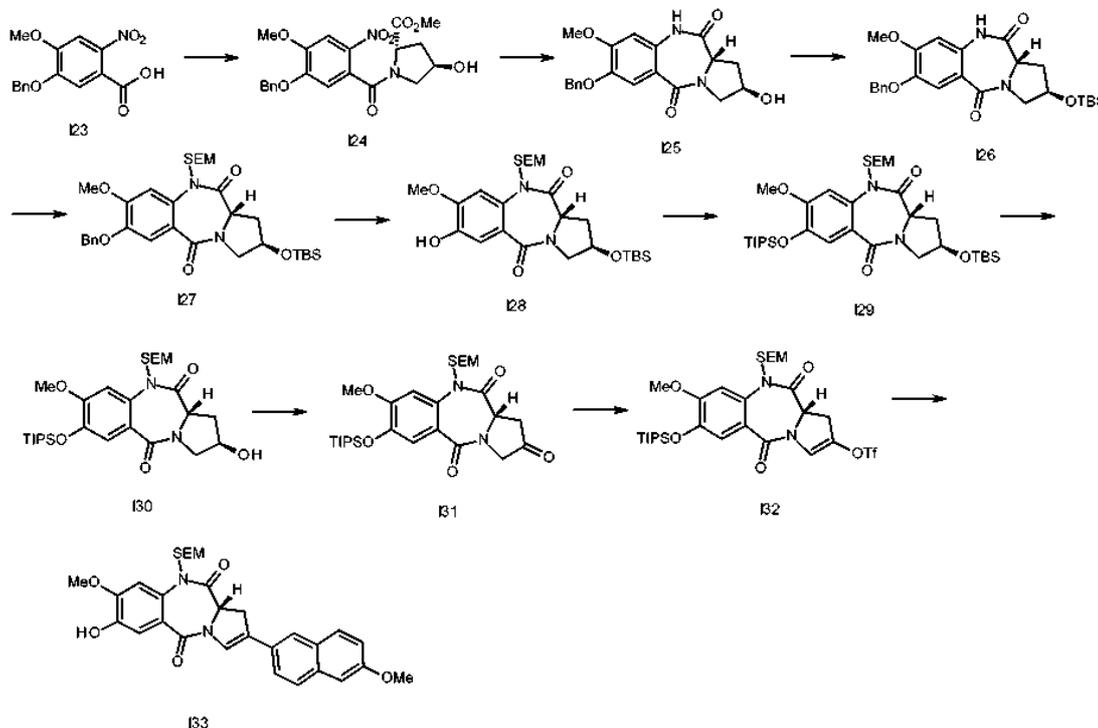
55

(ii) (S)-7-hidroxi-2-metilen-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (122)

5 Se añadió n-Buli (2,51 ml, 4,02 mmol, 2,2 eq) a una suspensión de dilactama de fenol 121 (447 mg, 1,83 mmol, 1 equiv.) en THF anhidro a -78 °C. Se inyectó cloruro SEM (670 mg, 711 µl, 4,02 mmol, 2,2 equiv.) lentamente con agitación vigorosa. Se permitió que la mezcla volviera a la temperatura ambiente y se trató con HCl diluido en metanol (3 gotas de ácido clorhídrico concentrado / 50 ml de metanol). La mezcla se calentó a 40 °C para acelerar la hidrólisis de los éteres fenólicos SEM y la reacción se controló por CL/EM y TLC (acetato de etilo). La mezcla se repartió entre acetato de etilo y agua, seguido de un lavado con salmuera. La cromatografía ultrarrápida en columna (80/20 acetato de etilo / hexano) dio el producto con un 73% de rendimiento (502 mg). CL/EM (3,10 min (ES-) *m/z* (intensidad relativa) 372,9 ([M-H]<sup>-</sup>, 100)).

15 (e) (S)-8-metoxi-2-(6-metoxinaftalen-2-il)-7-((triisopropilsilil)oxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (133)

15



(i) 1-(5-(benciloxi)-4-metoxi-2-nitrobenzoil)-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato de (2S,4R)-metilo (124)

20 Se añadió cloruro de oxalilo (1,19 ml, 1,73 g, 13,6 mmol) a una suspensión en agitación del ácido nitrobenzoico 123 (2,77 g, 9,1 mmol) y DMF (3 gotas) en DCM anhidro (50 ml). Después de la efervescencia inicial, la suspensión de reacción se convirtió en una solución y la mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 16 horas. La conversión al cloruro de ácido se confirmó mediante tratamiento de una muestra de la mezcla de reacción con MeOH y el éster metílico resultante se observó por CL/EM (3,27 min). La mayoría del disolvente se eliminó por evaporación a presión reducida; la solución concentrada resultante se volvió a disolver en una cantidad mínima de DCM seco y se trituró con éter dietílico. El precipitado de color amarillo resultante se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico frío y se secó durante 1 hora en un horno de vacío a 40 °C. El cloruro de ácido sólido se añadió en porciones durante un periodo de 5 min a una suspensión en agitación de clorhidrato de (2S,4R)-metil-4-hidroxipirrolidin-2-carboxilato (1,86 g, 10,2 mmol, 1,15 equiv.) y TEA (3,10 ml, 2,25 g, 22,2 mmol, 2,5 equiv.) en DCM (40 ml) a -40 °C (hielo seco/CH<sub>3</sub>CN). Inmediatamente, la reacción se completó según se juzgó mediante CL/EM (2,70 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 431,01 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)) y mediante TLC (acetato de etilo). La mezcla se diluyó con DCM (20 ml) y se lavó con HCl 1 N (30 ml), NaHCO<sub>3</sub> saturado (30 ml) y salmuera (40 ml), se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y el disolvente se evaporó al vacío para dar el producto bruto en forma de un sólido de color naranja (3,7 g, 94%). CL/EM (2,70 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 431,01 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)); RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,70 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,48 - 7,30 (m, 5H), 6,89 (s, 1H), 5,29 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H), 5,25 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,84 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 4,40 (s, 1H), 3,99 (d, *J* = 10,0 Hz, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,46 (s, 1H), 3,33 (dd, *J* = 11,3, 4,2 Hz, 1H), 3,12 - 2,96 (m, 1H), 2,51 - 2,29 (m, 1H), 2,22 - 2,07 (m, 1H).

(ii) (2R,11aS)-7-(benciloxi)-2-hidroxi-8-metoxi-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (125)

Se añadió polvo de cinc (10 g, 153 mmol, 19 eq (exceso)) a una solución de nitro-éster 124 (3,5 g, 8,1 mmol) en ácido fórmico al 5% en metanol (70 ml). Se observó exotermia, seguido de reducción del nitro de la anilina. CL/EM (2,47 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 401,03 ( $[M+H]^+$ , 100)). La suspensión resultante se filtró a través de celite y se lavó con metanol (30 ml) para dar un filtrado transparente. El disolvente y el ácido fórmico residual se eliminaron por evaporación. Se volvió a disolver el residuo en metanol y se añadió hidrazina hidrato (380  $\mu$ l, 12,2 mmol) a la solución y la mezcla de reacción se calentó a 60 °C hasta que se observó que se había completado. CL/EM (2,45 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 369,01 ( $[M+H]^+$ , 100)). La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente, el disolvente se eliminó al vacío, el residuo se trituró con éter dietílico y el precipitado se recuperó por filtración y se secó en un desecador al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un polvo de color blanco (2,77 g, 92%). CL/EM (2,45 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 369,01 ( $[M+H]^+$ , 100)). RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7,95 (s, 1H), 7,52-7,34 (m, 6H), 6,77 (s, 1H), 5,14 (s, 2H), 4,33 (dd,  $J$  = 8,9, 4,4 Hz, 1H), 4,19 (dd,  $J$  = 8,0, 6,0 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,65 (dd,  $J$  = 11,8, 3,3 Hz, 1H), 3,50 - 3,42 (m, 1H), 2,70 - 2,60 (m, 1H), 2,03 - 1,91 (m, 1H).

(iii) (2R,11aS)-7-(benciloxi)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-8-metoxi-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(101-1,11aH)-diona (126)

Se añadió TBSCl (5,32 g, 35,3 mmol) e imidazol (5,76 g, 84,6 mmol) a una solución de la dilactama 125 (2,6 g, 7,1 mmol) en DMF anhidro (30 ml.) a 0 °C (hielo/acetona). La mezcla se dejó en agitación en atmósfera de nitrógeno durante 3 horas tiempo tras el cual la reacción se consideró completa según se juzgó mediante CL/EM (3,60 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 483,09 ( $[M+H]^+$ , 100)). La mezcla de reacción se vertió en hielo (~ 200 ml) y se dejó calentar a temperatura ambiente con agitación. El precipitado blanco resultante se recogió por filtración al vacío, se lavó con H<sub>2</sub>O, se volvió a disolver en acetato de etilo y se secó sobre sulfato de magnesio seguido de evaporación por rotación al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna (50/50 acetato de etilo / hexano) para proporcionar el compuesto deseado (2,42 g, 71%). CL/EM (3,60 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 483,09 ( $[M+H]^+$ , 100)). RMN  $^1H$  (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8,26 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,49 - 7,28 (m, 5H), 6,47 (s, 1H), 5,16 (c,  $J$  = 11,9 Hz, 2H), 4,51 (p,  $J$  = 5,5 Hz, 1H), 4,19 (dd,  $J$  = 8,2, 4,3 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,68 (ddd,  $J$  = 27,8, 11,9, 5,4 Hz, 2H), 2,82 (dt,  $J$  = 12,7, 4,9 Hz, 1H), 2,17-1,94 (m, 1H), 0,92-0,81 (m, 9H), 0,08 (d,  $J$  = 3,0 Hz, 6H).

(iv) (2R,11aS)-7-(benciloxi)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-8-metoxi-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (127)

Se añadió gota a gota una solución de n-BuLi (4,7 ml de una solución en hexano 1,6 M, 7,52 mmol) a una suspensión en agitación de la dilactama 126 (2,42 g, 5,01 mmol) en THF anhidro (30 ml) a -60 °C en atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó en agitación a esta temperatura durante 1 hora en cuyo momento se añadió gota a gota SEMCl (1,33 ml, 1,25 g, 7,51 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas en atmósfera de nitrógeno. La reacción se consideró completa según se juzgó mediante TLC (EtOAc) y CL/EM (4,30 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 613,16 ( $[M+H]^+$ , 100)). El THF se eliminó por evaporación al vacío y el residuo resultante se disolvió en EtOAc (100 ml), se lavó con H<sub>2</sub>O (100 ml) y salmuera (30 ml), se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar la dilactama protegida por N10-SEM en bruto (2,23 g, 72%). El producto se llevó a la siguiente etapa sin purificación. CL/EM (4,30 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 613,16 ( $[M+H]^+$ , 100)). RMN  $^1H$  (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,49 - 7,28 (m, 6H), 7,24 (s, 1H), 5,55-5,49 (m, 1H), 5,18 (c,  $J$  = 11,9 Hz, 2H), 4,68-4,61 (m, 1H), 4,56 (p,  $J$  = 5,8 Hz, 1H), 4,22 (dd,  $J$  = 8,2, 3,8 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,83 - 3,58 (m, 4H), 3,58 - 3,50 (m, 1H), 2,84 (ddd,  $J$  = 12,8, 5,5, 4,0 Hz, 1H), 2,05 - 1,96 (m, 1H), 1,04 - 0,89 (m, 6H), 0,89 - 0,84 (m, 9H), 0,05 - 0,00 (m, 9H).

(v) (2R,11aS)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-7-hidroxi-8-metoxi-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (128)

Se hidrogenó éter bencilico 127 (2,23 g, 3,63 mmol) en acetato de etilo (40 ml.) a 40 PSI (275,79 kPa) durante una noche en un hidrogenador Parr en presencia de Pd al 10%/C (220 mg, 10% p/p) tras lo cual se observó que se había completado mediante CL/EM. Los sólidos se eliminaron por filtración sobre celite y el filtrado resultante se concentró al vacío. Se observó que el residuo resultante era de una pureza satisfactoria y se llevó a las siguientes etapas sin más purificación. (1,90 g, 100%). CL/EM (3,87 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 522,81 ( $[M+H]^+$ , 100)). RMN  $^1H$  (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,46 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,51 (d,  $J$  = 9,9 Hz, 1H), 4,66 (d,  $J$  = 8,1 Hz, 1H), 4,57 (p,  $J$  = 5,8 Hz, 1H), 4,23 (dd,  $J$  = 8,2, 3,8 Hz, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,84-3,50 (m, 4H), 2,92-2,74 (m, 1H), 2,10-1,90 (m, 1H), 1,06-0,89 (m, 2H), 0,89-0,82 (m, 9H), 0,09 (d,  $J$  = 0,9 Hz, 6H), 0,03 (d,  $J$  = 3,2 Hz, 9H).

(vi) (2R,11aS)-2-((terc-butildimetilsilil)oxi)-8-metoxi-7-((triisopropilsilil)oxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (129)

Se añadió triisopropilsililcloruro puro (1,55 ml, 1,39 g, 7,24 mmol) a una mezcla de imidazol (743 mg, 10,9 mmol) y el fenol 128 preparado previamente (1,90 g, 3,64 mmol) (molidos juntos). La mezcla se calentó hasta que el fenol y el imidazol se fundieron y se convirtieron en una solución (100 °C). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante

5 min y después se dejó enfriar, tras lo cual se observó que se formaba un sólido en el fondo del matraz. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc al 5%/ hexanos y se cargó directamente sobre gel de sílice y la columna se eluyó con EtOAc al 5%/ hexanos, seguido de EtOAc al 10%/hexanos. El exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida, seguido de secado a alto vacío para proporcionar en forma de un aceite (2,5 g, 100%).

5 CL/EM (4,50 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 679,49 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,36 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 5,51 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,63 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,55 (p, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,21 (dd, *J* = 8,1, 4,1 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,72-3,51 (m, 4H), 2,91 -2,75 (m, 1H), 2,10-1,94 (m, 1H), 1,33 -1,21 (m, 3H), 1,09 (dd, *J* = 7,4, 2,0 Hz, 18H), 1,00-0,89 (m, 2H), 0,89 - 0,81 (m, 9H), 0,08 (s, 6H), 0,03 (s, 9H).

10 (vii) (2*R*, 11*aS*)-2-hidroxi-8-metoxi-7-((*triisopropilsilil*)oxi)-10-((2-(*trimetilsilil*)etoxi)metil)-2,3-dihidro-1*H*-benzo[*e*]pirrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-5, 11(10*H*, 11*aH*)-diona (130)

El éter secundario de TBS I29 (2,5 g, 3,68 mmol) se disolvió en una mezcla de HCL ac. conc. al 1% v/v en metanol (20 ml.) y THF (5 ml). Después de agitar durante 6 h a 20 °C, el análisis de la mezcla de reacción mediante TLC (50:50 v/v EtOAc/Hexano) reveló que la reacción casi se había completado. La mezcla de reacción se disolvió en EtOAc (100 ml.) y se lavó con agua (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (60 ml), se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se evaporaron a presión reducida para proporcionar el producto en bruto que se llevó directamente a la etapa siguiente en forma de producto en bruto. (2,08 g, 3,68 mmol, 100%). CL/EM 3,77 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 565,29 ([M+H]<sup>+</sup>, 100).

20 (viii) (*S*)-8-metoxi-7-((*triisopropilsilil*)oxi)-10-((2-(*trimetilsilil*)etoxi)metil)-1*H*-benzo[*e*]pirrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-2,5,11(3*H*, 10*H*, 11*aH*)-triona (131)

Se añadió TCCA (600 mg, 2,58 mmol, 0,7 equiv.) a una solución en agitación de I30 (2,08 g, 3,68 mmol, 1 equiv.) y TEMPO (57 mg, 0,36 mmol, 0,1 equiv.) en diclorometano seco (50 ml.) a -10 °C (baño de hielo/acetona). La mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 20 minutos, en cuyo punto la TLC (25/75 acetato de etilo/hexano) reveló el consumo completo del material de partida. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (50 ml), tiosulfato sódico (1,5 g en 50 ml) y salmuera (100 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio. La evaporación rotatoria a presión reducida seguido de cromatografía ultrarrápida en columna (elución de gradiente: de 90:10 v/v de hexano/EtOAc a 80:20 v/v de hexano/EtOAc) proporcionó el producto deseado (1,40 g, 67%). CL/EM 3,87 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 563,05 ([M+H]<sup>+</sup>, 100); RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,35 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 5,55 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,69 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,63 (dd, *J* = 9,9, 3,1 Hz, 1H), 4,23 (d, *J* = 20,1 Hz, 1H), 3,91 - 3,83 (m, 4H), 3,79 (td, *J* = 9,7, 6,7 Hz, 1H), 3,68 (td, *J* = 9,7, 6,7 Hz, 1H), 3,56 (dd, *J* = 19,2, 3,1 Hz, 1H), 2,78 (dd, *J* = 18,2, 9,9 Hz, 1H), 1,34 - 1,21 (m, 3H), 1,10 (d, *J* = 7,3 Hz, 18H), 0,98 (ddd, *J* = 9,6, 6,5, 4,1 Hz, 2H), 0,05 -0,01 (m, 9H).

35 (ix) Trifluorometanosulfonato de (*S*)-8-metoxi-5,11-dioxo-7-((*triisopropilsilil*)oxi)-10-((2-(*trimetilsilil*)etoxi)metil)-5,10,11,11*a*-tetrahidro-1*H*-benzo[*e*]pirrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-2-ilo (132)

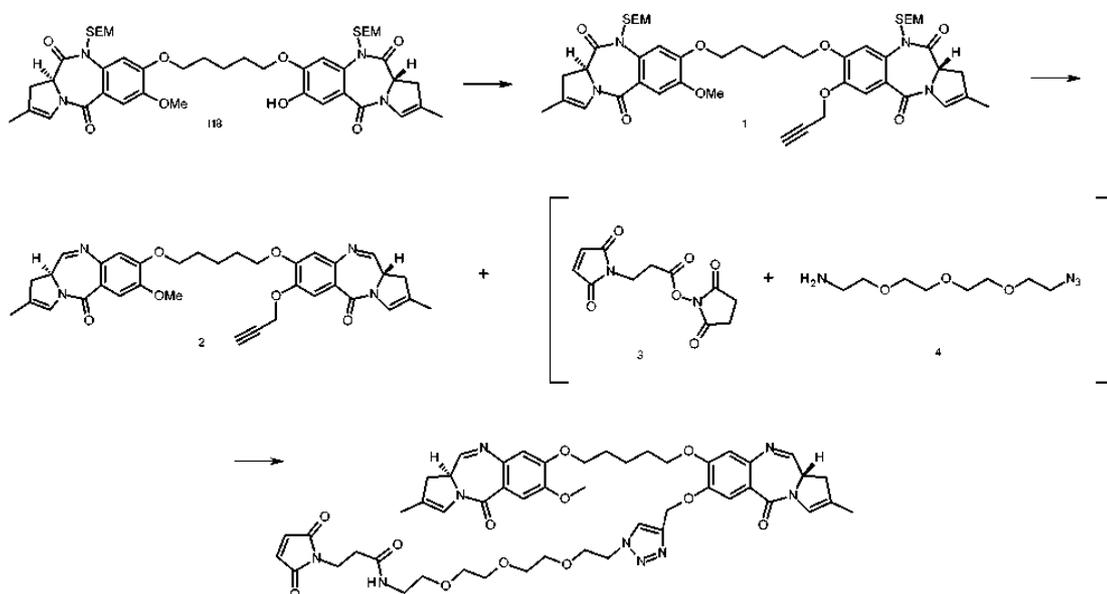
40 Se inyectó anhídrido trifílico (1,24 ml, 2,08 g, 7,37 mmol, 3 equiv.) (temperatura controlada) a una suspensión en agitación vigorosa de cetona 131 (1,40 g, 2,49 mmol, 1 equiv.) en diclorometano seco (50 ml.) en presencia de 2,6-lutidina (1,16 ml, 1,06 g, 9,96 mmol, 4 equiv., secado sobre tamices) a -50 °C (baño de acetona/hielo seco). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 1,5 horas cuando la CL/EM, tras un mini tratamiento (agua/diclorometano), reveló que la reacción se había completado. Se añadió agua a la mezcla de reacción aún fría y la capa orgánica se separó y se lavó con bicarbonato sódico saturado, salmuera y sulfato de magnesio. La fase orgánica se filtró y el exceso de disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (elución de gradiente: de 95:5 v/v de hexano/EtOAc a 80:20 v/v de hexano/EtOAc) proporcionó el producto deseado (1,34 g, 77%). CL/EM (Método 2) 4,08 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 716,82 ([M + Na]<sup>+</sup>, 100). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,34 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,11 (t, *J* = 2,0 Hz, 1H), 5,55 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,69 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 4,63 (dd, *J* = 11,0, 3,7 Hz, 1H), 3,91 (ddd, *J* = 16,3, 3,7, 1,8 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,80 (td, *J* = 9,5, 7,1 Hz, 1H), 3,69 (td, *J* = 9,5, 7,1 Hz, 1H), 3,16 (ddd, *J* = 16,3, 11,1, 2,4 Hz, 1H), 1,34-1,20 (m, 3H), 1,10 (d, *J* = 7,2 Hz, 18H), 1,02-0,94 (m, 2H), 0,05-0,01 (m, 9H).

55 (x) (*S*)-8-metoxi-2-(6-metoxinaftalen-2-ilo)-7-((*triisopropilsilil*)oxi)-10-((2-(*trimetilsilil*)etoxi)metil)-1*H*-benzo[*e*]pirrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-5, 11(10*H*, 11*aH*)-diona (133)

60 Se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (112 mg, 95,2 μmol, 0,05 equiv.) a una mezcla en agitación de triflato de enol I32 (1,35 g, 1,94 mmol), ácido 6-metoxi-2-naftilborónico (1,02 g, 5,05 mmol, 2,6 equiv.), K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1,07 g, 5,04 mmol), dioxano (15 ml). La mezcla de reacción se dejó en agitación en atmósfera de argón durante 2 horas a 35 °C, tiempo tras el cual se observó el consumo completo del material de partida mediante TLC (EtOAc/hexano) y CL/EM (4,22 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 702,88 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)). La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con salmuera (200 ml), se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó a presión reducida para proporcionar el producto en bruto. La purificación por cromatografía ultrarrápida (elución de gradiente: de 90:10 v/v de hexano/EtOAc a 70:30 v/v de hexano/EtOAc) proporcionó el arilo C2 protegido por TIPS que se volvió a disolver inmediatamente en DMF húmeda (50/1 de DMF/agua v/v). Se añadió acetato de litio sólido (198 mg, 1,94 mmol, 1 equiv.) y la reacción se dejó proceder durante 3 horas a 40 °C seguido de tres días a -20 °C. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de

etilo y se lavó con ácido cítrico (pH ~ 3), agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y el exceso de acetato de etilo se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para proporcionar el material desprotegido (1,17 g, cuantitativo). : CL/EM (3,33 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 546,77 ( $[M+H]^+$ , 100)).

## 5 Ejemplo 1



10 (a) *(S)*-7-metoxi-2-metil-8-((5-(((*S*)-2-metil-5,11-dioxo-7-(prop-2-in-1-iloxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-5,10,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (1)

Se añadió yoduro de tetrabutilamonio (34 mg, 0,093 mmol, 0,2 equiv.), carbonato potásico (96 mg, 0,694 mmol, 1,5 equiv.) y bromuro de propargilo (0,1 ml, 0,973 mmol, 2,1 equiv.) a una solución de alcohol 118 (400 mg, 0,463 mmol) de dimetilformamida (10 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 70 °C tras lo cual se observó mediante CL/EM que se había completado la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua tres veces, salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y el exceso de disolvente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para proporcionar el producto deseado (448 mg, cuantitativo). CL/EM (Método 3) 2,04 min, sin ionización, RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,52 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 6,67 (s, 2H), 5,52 (dd, *J* = 10,0, 4,2 Hz, 2H), 4,78 (t, *J* = 2,5 Hz, 2H), 4,68 (dd, *J* = 10,0, 7,8 Hz, 2H), 4,46 (dt, *J* = 10,4, 3,4 Hz, 2H), 4,14 - 4,00 (m, 4H), 3,90 (s, 3H), 3,84 - 3,73 (m, 2H), 3,73 - 3,62 (m, 2H), 3,44 (d, *J* = 16,6 Hz, 2H), 2,80 - 2,72 (m, 2H), 2,52 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H), 1,99 - 1,92 (m, 4H), 1,83 (s, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,75 - 1,68 (m, 2H), 0,97 (ddd, *J* = 9,7, 6,7, 3,0 Hz, 4H), 0,01 (s, 18H).

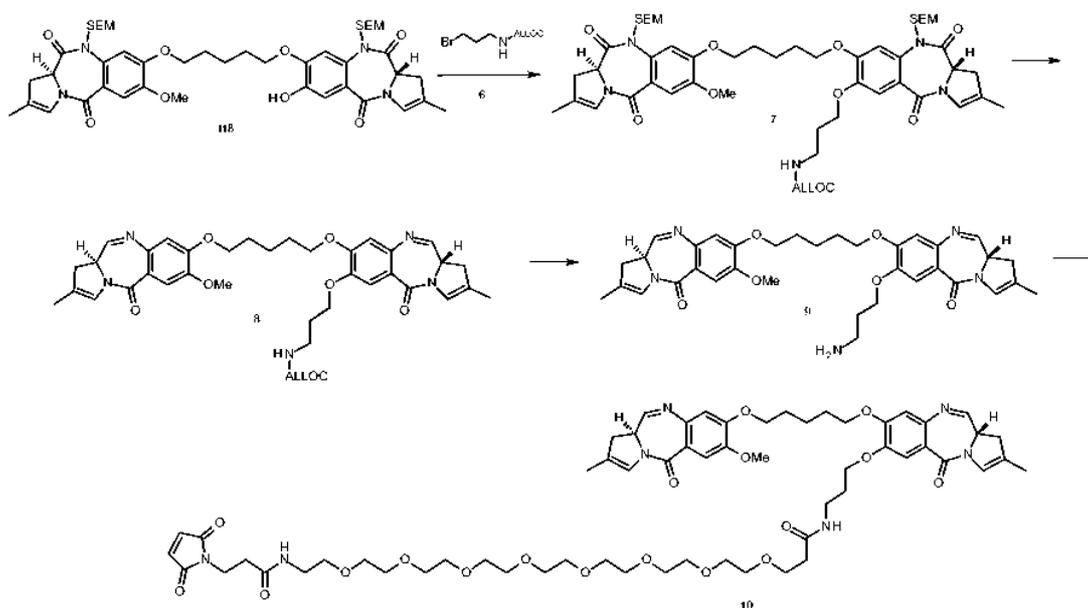
25 (b) *(S)*-7-metoxi-2-metil-8-((5-(((*S*)-2-metil-5-oxo-7-(prop-2-in-1-iloxi)-5,11a-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5(11aH)-ona (2)

El compuesto 1 (500 mg, 0,55 mmol) se disolvió en THF seco (15 ml) y se enfrió a -78 °C. Después se añadió trietilborohidruro de litio (1,39 ml, 1,39 mmol, 2,5 equiv.) gota a gota. La reacción se agitó en atmósfera de argón a -78 °C. Después de 30 minutos, el baño de refrigeración se eliminó y se añadió agua. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo y se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se disolvió con una mezcla de diclorometano / metanol / agua (3 / 6 / 1, 6 ml / 12 ml / 2 ml). Se añadió gel de sílice hasta que la solución se espesó y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 5 días. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice; metanol al 5% /cloroformo). Se recogieron las fracciones puras y se combinaron y el exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida proporcionando el producto deseado (240 mg, 72%). CL/EM (Método 3) 1,88 min, (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 608,68  $[M+H]^+$ , RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,80 (d, *J* = 4,1 Hz, 1H), 7,79 (d, *J* = 4,1 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,72 (a, 2H), 4,81 -4,76 (m, 2H), 4,28-4,18 (m, 2H), 4,12-4,01 (m, 4H), 3,91 (s, 3H), 3,24 - 3,09 (m, 2H), 2,94 (dd, *J* = 16,8, 5,0 Hz, 2H), 2,52 (t, *J* = 2,3 Hz, 1H), 1,99 - 1,85 (m, 4H), 1,81 (s, 6H), 1,71 - 1,60 (m, 2H).

(c) 3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-N-(2-(2-(2-(2-(4-(((S)-8-((5-(((S)-7-metoxi-2-metil-5-oxo-5,11 a-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metil-5-oxo-5,11a-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-il)oxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etoxi)etoxi)etil)propanamida (5)

- 5 Se añadió azida 4 (64  $\mu$ l, 0,328 mmol, 1,2 equiv.) a una solución de succinimida 3 (100 mg, 0,375 mmol, 1,3 equiv.) en DMSO seco (2 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. En otro matraz de fondo redondo, se disolvió el compuesto 2 (170 mg, 0,279 mmol) en *tert*-butanol (2 ml). Se añadió agua (2 ml) seguida de ascorbato sódico (11 mg, 0,056 mmol, 0,2 equiv.) y sulfato de cobre (4 mg, 0,014 mmol, 0,05 equiv.). La mezcla de reacción (con la reacción de 4 y 3) en DMSO se añadió después a la mezcla de reacción en agua/ *tert*-butanol. La mezcla de reacción se desgasificó con argón y se agitó a temperatura ambiente. La reacción se completó tras 1 hora y después se diluyó con diclorometano y se lavó con agua dos veces, salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice; del 2% al 10% de metanol /cloroformo). Se recogieron las fracciones puras y se combinaron y el exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida proporcionando el producto deseado (40 mg, 15 %). CL/EM (Método 3) 1,29 min, (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 978,40 [M+H]<sup>+</sup>

## Ejemplo 2



20

(a) 3-(((S)-8-((5-(((S)-7-metoxi-2-metil-5,11-dioxo-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-5,10,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metil-5,11-dioxo-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-5,10,11,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-il)oxi)propil)carbamato de alilo (7)

25

Se añadió yoduro de tetrabutilamonio (34 mg, 0,093 mmol, 0,2 equiv.), carbonato potásico (96 mg, 0,694 mmol, 1,5 equiv.) y 6 (154 mg, 0,695 mmol, 1,5 equiv.) a una solución de alcohol 118 (400 mg, 0,463 mmol) en dimetilformamida (5 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 70 °C tras lo cual se observó mediante CL/EM que se había completado la reacción. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua tres veces, salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida para proporcionar el producto deseado (420 mg, 90%).

30

CL/EM (Método 3) 2,05 min, (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 863,35 [M+H]<sup>+</sup>, RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,33 (s, 1H), 7,31 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 7,17 (s, 1H), 6,64 (a, 2H), 5,87 (ddd,  $J = 22,7, 10,9, 5,7$  Hz, 1H), 5,57 (a, 1H), 5,48 (dd,  $J = 10,0, 3,0$  Hz, 2H), 5,22 (dd,  $J = 18,3, 1,4$  Hz, 1H), 5,15 (dd,  $J = 10,4, 1,2$  Hz, 1H), 4,67 (t,  $J = 9,9$  Hz, 2H), 4,51 (d,  $J = 5,5$  Hz, 2H), 4,44 (ddd,  $J = 10,4, 5,2, 3,3$  Hz, 2H), 4,16 - 3,99 (m, 6H), 3,87 (s, 3H), 3,79 - 3,72 (tdd, 2H), 3,70 - 3,59 (m, 2H), 3,43 (a, 1H), 3,42 - 3,34 (m, 3H), 2,73 (dd,  $J = 16,6, 10,5$  Hz, 2H), 2,04 - 1,88 (m, 6H), 1,80 (s, 6H), 1,66 (d,  $J = 7,0$  Hz, 2H), 0,94 (ddt,  $J = 9,4, 6,6, 2,5$  Hz, 4H), 0,01 (s, 18H).

35

(b) 3-(((S)-8-((5-(((S)-7-metoxi-2-metil-5-oxo-5,11a-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metil-5-oxo-5,11a-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-il)oxi)propil)carbamato de alilo (8)

40

Se disolvió el compuesto 7 (580 mg, 0,55 mmol) en THF seco (15 ml.) y se enfrió a -78 °C. Después se añadió trietilborohidruro de litio (1,44 ml, 1,44 mmol, 2,5 equiv.) gota a gota. La reacción se agitó en atmósfera de argón a -78 °C. Después de 30 minutos, el baño de refrigeración se eliminó y se añadió agua. La mezcla de reacción se

extrajo con acetato de etilo y se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se disolvió con una mezcla de diclorometano / metanol / agua (3 / 6 / 1, 6 ml / 12 ml / 2 ml). Se añadió gel de sílice hasta que la solución se espesó y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 5 días. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se eliminó el exceso de disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice; metanol al 5% /cloroformo). Se recogieron las fracciones puras y se combinaron y el exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida proporcionando el producto deseado (220 mg, 54 %). CL/EM (Método 3) 1,41 min, (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 712,40 [M+H]<sup>+</sup>, RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,80 (dd, *J* = 3,9, 1,0 Hz, 2H), 7,49 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 6,78 (s, 2H), 6,73 (d, *J* = 1,3 Hz, 2H), 5,96-5,83 (m, 1H), 5,68 (a, 1H), 5,27 (d, *J* = 17,2 Hz, 1H), 5,17 (dd, *J* = 10,4, 1,2 Hz, 1H), 4,54 (d, *J* = 5,1 Hz, 2H), 4,28-4,16 (m, 2H), 4,16-4,00 (m, 6H), 3,91 (s, 3H), 3,48 (a, 1H), 3,50 - 3,38 (m, 2H), 3,36 - 3,34 (m, 1H), 3,24 - 3,11 (m, 2H), 2,95 (dd, *J* = 16,8, 4,8 Hz, 2H), 2,05-2,00 (m, 2H), 1,99-1,89 (m, 4H), 1,83 (s, 6H).

15 (c) (S)-7-(3-aminopropoxi)-8-((5-(((S)-7-metoxi-2-metil-5-oxo-5,11a-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metil-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5(11aH)-ona (9)

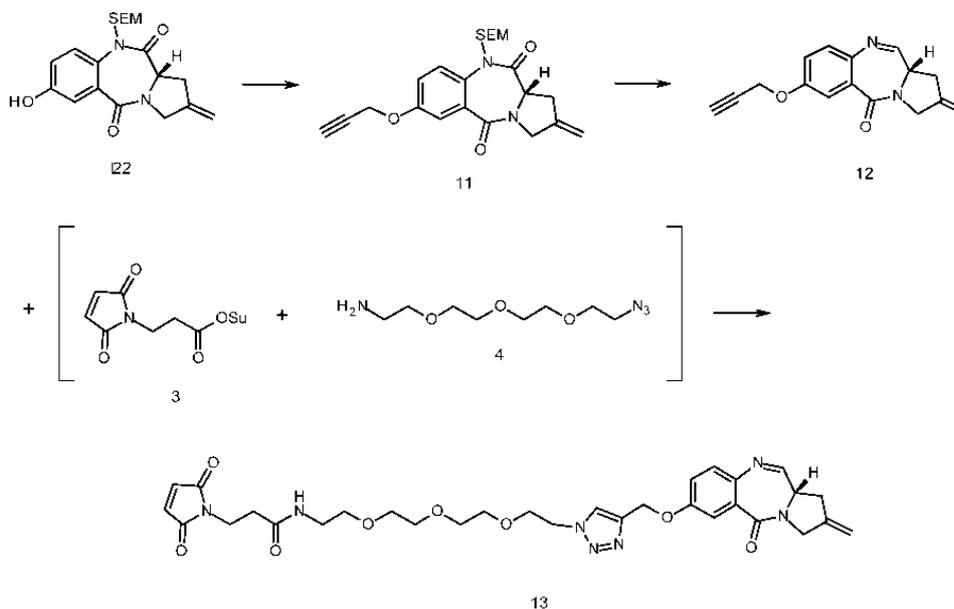
Se añadió *tetrakis*(trifenilfosfina)paladio (0) (7 mg, 0,006 mmol, 0,06 equiv.) a una solución de 8 (80 mg, 0,112 mmol) y pirrolidina (23 µl, 0,28 mmol, 2,5 equiv.) en diclorometano seco (2 ml). La reacción se lavó abundantemente con argón tres veces y se agitó 3 horas a temperatura ambiente. Después, la reacción se diluyó con diclorometano y se lavó secuencialmente con cloruro de amonio acuoso saturado y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y el exceso de diclorometano se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se usó en forma de una mezcla de producto en bruto para la siguiente reacción. CL/EM (Método 3) 1,05 min, (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 628,35 [M+H]<sup>+</sup>.

25 (d) 1-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)propanamido)-N-(3-(((S)-8-((5-(((S)-7-metoxi-2-metil-5-oxo-5,11a-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)pentil)oxi)-2-metil-5-oxo-5,11a-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-il)oxi)propil)-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxaheptacosan-27-amida (10)

30 Se añadió 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI, 11 mg, 0,060 mmol, 1,1 equiv.) a una solución del producto en bruto 9 (0,056 mmol) y Mal-(PEG)<sub>8</sub>-ácido (35 mg, 0,060 mmol, 1,1 equiv.) en diclorometano seco (2 ml). La reacción se desgasificó tres veces con argón y se agitó durante 1 hora y ya no se observó mediante CL/EM la presencia de material de partida. La reacción se diluyó con diclorometano y se lavó secuencialmente con agua y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y el exceso de diclorometano se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida. El residuo resultante se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (gel de sílice; 100% de cloroformo a de 10% metanol en cloroformo). Se recogieron las fracciones puras y se combinaron y el exceso de eluyente se eliminó por evaporación rotatoria a presión reducida para dar el producto deseado (19 mg, 28% en 2 etapas). CL/EM (Método 3) 1,30 min, (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 1202,55 [M+H]<sup>+</sup>. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,79 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 6,77 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 6,72 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 6,68 (s, 2H), 6,45 - 6,34 (m, 1H), 4,59 - 4,48 (m, 1H), 4,28 - 4,20 (m, 1H), 4,18 - 3,95 (m, 6H), 3,91 (s, 2H), 3,86 - 3,75 (m, 4H), 3,75 - 3,67 (m, 2H), 3,63 - 3,58 (m, 28H), 3,54 - 3,49 (m, 2H), 3,49 - 3,36 (m, 6H), 3,35 - 3,34 (m, 1H), 3,20 - 3,13 (m, 2H), 2,94 (d, *J* = 16,8 Hz, 2H), 2,50 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,46 - 2,37 (m, 2H), 2,07 - 1,99 (m, 2H), 1,97 - 1,91 (m, 4H), 1,82 (s, 3H), 1,77 (s, 3H), 1,69 - 1,63 (m, 2H), 0,90 - 0,77 (m, 1H).

45

## Ejemplo 3



- 5 (a) *(S)*-2-metilen-7-(prop-2-in-1-iloxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (11)

Se añadió bromuro de propargilo (149  $\mu$ l, 158 mg, 1,33 mmol, 1,05 equiv.) a una suspensión de fenol 122 (477 mg, 1,27 mmol, 1 equiv.), TBAI (47 mg, 0,127 mmol, 0,1 equiv.) y carbonato potásico (132 mg, 0,96 mmol, 0,75 equiv.) en DMF seca (10 ml), y se agitó a 75 °C durante 1 hora cuando se observó que se había completado. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (100 ml) y agua (100 ml). Los extractos orgánicos se volvieron a lavar con agua (2 x 100 ml) y salmuera (50 ml.) y se secaron sobre sulfato de magnesio. Rendimiento = 420 mg (80%). CL/EM (3,43 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 413,07 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)); RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,63 (dd,  $J$  = 9,0, 1,7 Hz, 1H), 7,44 (d,  $J$  = 3,1 Hz, 1H), 7,17-7,11 (m, 1H), 5,48 (dd,  $J$  = 9,9, 1,5 Hz, 1H), 5,22 - 5,07 (m, 2H), 4,74 (d,  $J$  = 2,7 Hz, 2H), 4,68 (d,  $J$  = 9,2 Hz, 1H), 4,40 - 4,14 (m, 3H), 3,69 (dtd,  $J$  = 16,8, 9,6, 7,7 Hz, 2H), 3,43 (d,  $J$  = 15,9 Hz, 1H), 2,88 - 2,71 (m, 1H), 2,60 - 2,47 (m, 1H), 1,04 - 0,88 (m, 2H), 0,08 - -0,06 (m, 9H).

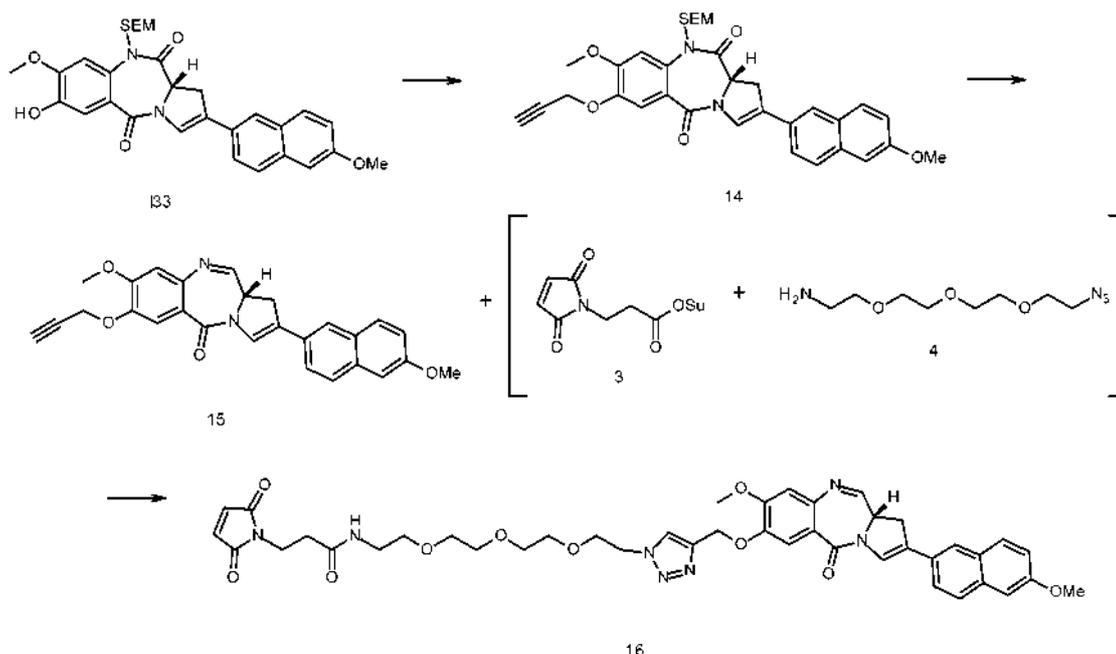
- (b) *(S)*-2-metilen-7-(prop-2-in-1-iloxi)-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5(11aH)-ona (12)

Se inyectó lentamente solución de superhidruro 1 M en THF (1,32 ml, 1,3 equiv.) a una solución de dilactama 11 (420 mg, 1,02 mmol, 1 eq) en THF a -78 °C. La reacción se controló durante 1 hora, tiempo tras el cual se observó la conversión completa del material de partida directamente mediante CL/EM (3,02 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 267,10 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)). La mezcla de reacción se diluyó cuidadosamente con H<sub>2</sub>O (500 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (1 x 50 ml) y salmuera (1 x 20 ml), se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se evaporaron a presión reducida a 35 °C para proporcionar el intermedio SEM-carbinolamina. El sólido de color blanco se disolvió inmediatamente en EtOH (40 ml), DCM (15 ml) y H<sub>2</sub>O (5 ml) y se trató con gel de sílice ultrarrápido (30 g). La suspensión espesa se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 72 horas, tiempo tras el cual se observó la formación de una cantidad significativa del producto deseado mediante TLC (95:5 v/v CHCl<sub>3</sub>/MeOH). La mezcla de reacción se filtró a través de un embudo de sinterización de porosidad 3 muy ancho y la torta se enjuagó lenta y exhaustivamente con 90:10 v/v CHCl<sub>3</sub>/MeOH hasta que no se eluyó más producto (comprobado mediante TLC). El filtrado se lavó con salmuera (300 ml), se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó al vacío, seguido de secado a alto vacío, para proporcionar el producto en bruto. La purificación por cromatografía ultrarrápida (elución de gradiente: CHCl<sub>3</sub> de calidad HPLC al 100% a CHCl<sub>3</sub>/MeOH 98:2 v/v) dio el producto deseado en forma de una mezcla de éteres de carbinolamina e imina (155 mg, 57%). Para obtener una muestra de RMN, se trató el material (10 mg) con CHCl<sub>3</sub> de calidad HPLC (50 ml) y se dejó en reposo durante una noche para promover la formación de la forma de imina. El disolvente se eliminó por evaporación a presión reducida y el residuo se volvió a tratar con CHCl<sub>3</sub> de calidad HPLC (50 ml) y se dejó en reposo durante 4 horas. CL/EM (2,28 min (ES+)  $m/z$  (intensidad relativa) 267,10 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)); RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,71 (d,  $J$  = 4,4 Hz, 1H), 7,60 (d,  $J$  = 3,0 Hz, 1H), 7,29 (d,  $J$  = 8,8 Hz, 1H), 7,17 (dd,  $J$  = 8,8, 3,0 Hz, 1H), 5,23 - 5,19 (m, 1H), 5,18 (s, 1H), 4,79 - 4,75 (m, 2H), 4,32 - 4,26 (m, 1H), 3,89 (s, 1H), 3,78-3,69 (m, 1H), 3,49 (d,  $J$  = 5,5 Hz, 1H), 3,12 (dd,  $J$  = 16,1, 9,1 Hz, 1H), 2,96 (dd,  $J$  = 3,0, 1,4 Hz, 1H).

(c) (S)-3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-N-(2-(2-(2-(2-(4-(((2-metilen-5-oxo-2,3,5,11a-tetrahidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-il)oxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etoxi)etoxi)etoxi)etil)propanamida (13)

Se añadió amino-(Peg)<sub>3</sub>-azida 4 (86,1 mg, 78 µl, 0,39 mmol 1,05 equiv.) a una solución de maleimida succinimida 3 (100 mg, 0,38 mmol, 1 equiv.) en DMSO (0,5 ml) a 25 °C y se hizo reaccionar durante 45 minutos. Esta solución se añadió a una mezcla de propargilo-PBD 12 (100 mg, 0,38 mmol, 1 equiv.), ascorbato sódico (15 mg, 0,076 mmol, 0,2 equiv.) y sulfato de cobre (4,69 mg, 0,018 mmol, 0,05 equiv.) en *tert*-butanol/agua 1/1 v/v (1,2 ml). La reacción se desgasificó y se dejó proceder en atmósfera de argón. Después de 2 horas, el perfil CL/EM de la reacción se consideró alentador, con una formación significativa de producto junto con el amino-(peg)<sub>3</sub>-PBD. Cuando se dejó proceder durante una noche, el perfil CL/EM se empobreció. La mezcla de reacción se repartió entre cloroformo/metanol (90/10, v/v) y agua. Los extractos orgánicos se lavaron con agua, seguido de salmuera y se secaron sobre sulfato de magnesio. Los volátiles se eliminaron mediante evaporación por rotación al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna (gradiente metanol/cloroformo 1/99 a 20/80). El producto (mancha oscura bajo luz UV) apareció en forma de fracciones con el amino-(peg)<sub>3</sub>-PBD (brillo azul bajo luz UV) y se volvió a purificar mediante TLC preparativa (25 mg, 10%). CL/EM (2,28 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 636,16 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)); RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,90 (s, 1H), 7,71 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 7,61 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H), 7,29 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,18 (dd, *J* = 8,8, 3,0 Hz, 1H), 6,67 (s, 2H), 6,46 (s, 1H), 5,26 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 5,23-5,16 (m, 2H), 4,61 - 4,53 (m, 2H), 4,32 - 4,25 (m, 1H), 3,94 - 3,87 (m, 2H), 3,82 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 3,65 - 3,53 (m, 10H), 3,52 - 3,46 (m, 3H), 3,43-3,35 (m, 2H), 3,14 (dd, *J* = 16,0, 9,0 Hz, 1H), 2,95 (dd, *J* = 16,0, 1,5 Hz, 1H), 2,49 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H).

#### Ejemplo 4



(a) (S)-8-metoxi-2-(6-metoxinaftalen-2-il)-7-(prop-2-in-1-iloxi)-10-((2-(trimetilsilil)etoxi)metil)-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-diona (14)

Se añadió bromuro de propargilo (251 µl, 2,24 mmol 1,05 equiv.) a una suspensión de fenol en bruto I33 (1,17 g, 2,14 mmol, 1 equiv.), TBAI (79 mg, 0,21 mmol, 1 equiv.) y carbonato potásico (221 mg, 1,60 mmol, 0,75 equiv.) en DMF seca (10 ml) y se agitó a 75 °C durante 1 hora cuando se observó que se había completado. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (100 ml.) y agua (100 ml). Los extractos orgánicos se volvieron a lavar con agua (2 x 100 ml) y salmuera (50 ml) y se secaron sobre sulfato de magnesio. El residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida en columna (elución de gradiente: de 35:65 v/v hexano/Et 20 a 0:100 v/v hexano/Et<sub>2</sub>O) proporcionó el producto deseado (594 mg, 47% a partir del producto en bruto, 52% en tres etapas). CL/EM (3,85 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 584,92 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)); [α]<sub>D</sub><sup>21</sup> = +345° (c = 0,229, cloroformo); RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,75 - 7,64 (m, 3H), 7,64 - 7,55 (m, 2H), 7,52 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,19-7,08 (m, 2H), 5,59 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 4,92-4,77 (m, 2H), 4,71 (dd, *J* = 10,4, 3,8 Hz, 2H), 4,08 (ddd, *J* = 16,0, 3,3, 1,7 Hz, 1H), 3,97-3,89 (m, 6H), 3,83 (td, *J* = 9,4, 7,2 Hz, 1H), 3,72 (td, *J* = 9,4, 7,1 Hz, 1H), 3,27 (ddd, *J* = 15,9, 10,6, 2,1 Hz, 1H), 2,56 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H), 1,05 - 0,95 (m, 2H), 0,07 - 0,02 (m, 9H).

(b) (S)-8-metoxi-2-(6-metoxinaftalen-2-il)-7-(prop-2-in-1-iloxi)-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5(11aH)-ona (15)

Se inyectó lentamente solución de superhidruro 1 M en THF (1,27 ml, 1,27 mmol, 1,3 equiv.) a una solución de dilactama 14 (573 mg, 0,98 mmol, 1 equiv.) en THF (10 ml) a -78 °C. La reacción se controló durante 1 hora, tiempo tras el cual se observó la conversión completa del material de partida directamente mediante CL/EM (3,03 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 456,88 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)). La mezcla de reacción se diluyó cuidadosamente con H<sub>2</sub>O (500 ml) y se extrajo con cloroformo (50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (1 x 50 ml) y salmuera (1 x 20 ml), se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se evaporaron a presión reducida a 35 °C para proporcionar el intermedio SEM-carbinolamina. El sólido de color blanco se disolvió inmediatamente en EtOH (40 ml), DCM (15 ml) y H<sub>2</sub>O (5 ml) y se trató con gel de sílice ultrarrápido (30 g). La suspensión espesa se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 72 horas, tiempo tras el cual se observó la formación de una cantidad significativa del producto deseado mediante TLC (95:5 v/v CHCl<sub>3</sub>/MeOH). La mezcla de reacción se filtró a través de un embudo de sinterización de porosidad 3 muy ancho y la torta se enjuagó lenta y exhaustivamente con 90:10 v/v CHCl<sub>3</sub>/MeOH hasta que no se eluyó más producto (comprobado mediante TLC). El filtrado se lavó con salmuera (100 ml), se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporó al vacío, seguido de secado a alto vacío, para proporcionar el producto en bruto. La purificación por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo) dio el producto deseado (100 mg, 23%). Para obtener una muestra de RMN, se trató el material (10 mg) con CHCl<sub>3</sub> de calidad HPLC (50 ml) y se dejó en reposo durante una noche para promover la formación de la forma de imina. El disolvente se eliminó por evaporación a presión reducida y el residuo se volvió a tratar con CHCl<sub>3</sub> de calidad HPLC (50 ml) y se dejó en reposo durante 4 horas. CL/EM (3,03 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 456,88 ([M + H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 100)); RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,96 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 7,74 - 7,68 (m, 3H), 7,63 - 7,57 (m, 3H), 7,19 - 7,09 (m, 2H), 6,87 (s, 1H), 4,87 (dd, *J* = 4,6, 2,4 Hz, 2H), 4,49 (ddd, *J* = 11,6, 5,1, 4,1 Hz, 1H), 3,99-3,91 (m, 6H), 3,72 (ddd, *J* = 16,1, 11,5, 2,0 Hz, 1H), 3,53 (ddd, *J* = 16,2, 5,1, 1,7 Hz, 1H), 2,56 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H).

(c) (S)-3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-N-(2-(2-(2-(4-(((8-metoxi-2-(6-metoxinaftalen-2-il)-5-oxo-5,11a-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-7-il)oxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etoxi)etoxi)etil)propanamida (16)

Se añadió amino-(Peg)<sub>3</sub>-azida 4 (34,2 µl, 37,6 mg, 0,17 mmol, 0,9 equiv.) a una solución de maleimida succinimida 3 (56,1 mg, 0,21 mmol, 1,1 equiv.) en DMSO (0,5 ml) a 25 °C y se hizo reaccionar durante 45 minutos. Esta solución se añadió a una mezcla de propargilo-PBD 15 (84 mg, 0,19 mmol, 1 equiv.), ascorbato sódico (7,6 mg, 0,038 mmol, 0,2 equiv.) y sulfato de cobre (2,4 mg, 0,010 mmol, 0,05 equiv.) en *tert*-butanol/agua 1/1 v/v (1 ml). DMSO (2,5 ml) para mejorar la solubilidad. La reacción se desgasificó y se dejó proceder en atmósfera de argón. Después de 5 horas, el perfil de la CL/EM de la reacción mostró una formación significativa de producto. La mezcla de reacción se repartió entre cloroformo y agua. Los extractos orgánicos se lavaron con agua, seguido de salmuera y se secaron sobre sulfato de magnesio. Los volátiles se eliminaron mediante evaporación por rotación al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida en columna (gradiente metanol/cloroformo de 1/99 a 5/95) para dar el producto deseado. Rendimiento: 64 mg (41%). CL/EM (2,85 min (ES+) *m/z* (intensidad relativa) 808,61 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)); RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,96 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,74 - 7,68 (m, 3H), 7,64 - 7,56 (m, 3H), 7,19-7,10 (m, 2H), 6,86 (s, 1H), 6,65 (s, 2H), 6,44 (s, 1H), 5,33 (c, *J* = 11,9 Hz, 2H), 4,60-4,54 (m, 2H), 4,50 (dt, *J* = 9,1, 5,0 Hz, 1H), 3,95 - 3,88 (m, 8H), 3,82 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 3,77 - 3,65 (m, 2H), 3,65 - 3,58 (m, 5H), 3,58 - 3,51 (m, 3H), 3,52 - 3,47 (m, 2H), 3,39 (dd, *J* = 10,6, 5,3 Hz, 2H), 2,49 (td, *J* = 7,0, 0,8 Hz, 2H).

## Ejemplo 5

### Procedimiento general de conjugación de anticuerpos

Se diluyen anticuerpos a 1-5 mg/ml en un tampón de reducción (ejemplos: solución salina tamponada con fosfato PBS, tampón histidina, tampón borato de sodio, tampón Tris). Se añade una solución recientemente preparada de TCEP (clorhidrato de tris(2-carboxietil)fosfina) para reducir selectivamente los puentes de disulfuro de cisteína. La cantidad de TCEP es proporcional al nivel objetivo de reducción, dentro de 1 a 4 equivalentes molares por anticuerpo, que generan 2 a 8 tioles reactivos. Después de la reducción durante varias horas a 37 °C, la mezcla se enfría hasta temperatura ambiente y el exceso de fármaco-enlazador (**5**, **10**, **13**, **16**) se añade como una solución de DMSO diluida (contenido de DMSO final de hasta el 10 % en volumen/volumen de mezcla de reacción). La mezcla se agita suavemente a tanto 4 °C como a temperatura ambiente durante el tiempo apropiado, generalmente 1-3 horas. El exceso de tioles reactivos puede hacerse reaccionar con un 'reactivo de encapuchado de tiol' como N-etilmaleimida (NEM) al final de la conjugación. Los conjugados de anticuerpo-fármaco se concentran usando filtros de concentración centrífuga con un corte de peso molecular de 10 kDa o superior, a continuación se purifican por filtración de flujo tangencial (TFF) o cromatografía de líquidos rápida de proteínas (FPLC). Los de conjugados de anticuerpo-fármaco correspondientes pueden determinarse por análisis de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) o cromatografía de líquidos de resolución ultra-alta (UHPLC) para evaluar la relación de fármaco por anticuerpo (DAR) usando cromatografía de fase inversa (RP) o cromatografía de interacción hidrófoba (HIC), acoplada a detección UV-visible, de fluorescencia o por espectrómetro de masas; el nivel de agregados y la pureza de los monómeros puede analizarse por HPLC o UHPLC usando cromatografía de exclusión por tamaño acoplada a detección UV-visible, de fluorescencia o por espectrómetro de masas. La concentración de conjugado final se determina por una combinación de ensayo espectroscópico (absorbancia a 280, 214 y 330 nm) y bioquímico (ensayo

con ácido bicinconínico BCA; Smith, P.K., y col. (1985) *Anal. Biochem.* **150** (1): 76-85; usando un anticuerpo IgG de concentración conocida como referencia). Los conjugados de anticuerpo-fármaco se esterilizan generalmente por filtración usando filtros de 0,2  $\mu\text{m}$  bajo condiciones asépticas, y se guardan a +4 °C, -20 °C o -80 °C.

5 Ejemplos de conjugaciones particulares se describen a continuación.

*Conjugado A1 (Herceptin-10, ConjA)*

10 Se diluyó Herceptin™ (2,0 mg, 13,3 nanomoles) en 1,8 ml de un tampón de reducción que contiene borato de sodio 10 mM a pH 8,4, EDTA 2,5 mM y una concentración final de anticuerpo de 1,11 mg/ml. Se añade una solución 10 mM de TCEP (2 equivalentes molares/anticuerpo, 26,6 nanomoles, 2,66  $\mu\text{l}$ ) y la mezcla de reducción se calienta a +37 °C durante 2,5 horas en un bloque térmico. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, se añade el compuesto **10** como una solución de DMSO (3,5 equivalentes molares/anticuerpo, 45 nanomoles, en 0,2 ml de DMSO). La solución se mezcla durante 2 horas a temperatura ambiente, a continuación, la conjugación se  
15 interrumpe mediante la adición de N-etil maleimida (1 micromol, 10  $\mu\text{l}$  a 100 mM) seguido 15 minutos después por N-acetil cisteína (1,5 micromoles, 15  $\mu\text{l}$  a 100 mM), a continuación se inyecta en una FPLC AKTA™ usando una columna XK16/70 de GE Healthcare rellena con Superdex 200 PG, eluyendo con 1,5 ml/min de solución salina tamponada con fosfato (PBS) esterilizada por filtración. Las fracciones correspondientes al pico de monómero de ConjA1 se reúnen, se concentran usando un filtro de centrifuga de 50 kDa de MWCO Amicon Ultracell de 15 ml, se  
20 analizan y se esterilizan por filtración. El ensayo de BCA proporciona una concentración de ConjA final a 1,49 mg/ml en 1,2 ml, y la masa obtenida de ConjA1 es 1,79 mg (90 % de rendimiento).

25 El análisis de UHPLC en un sistema Shimadzu Prominence usando una columna Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150 x 2,1 mm que eluye con un gradiente de agua y acetonitrilo sobre una muestra reducida de ConjA1 a 280 nm y 330 nm (específica del compuesto **10**) muestra una mezcla de cadenas ligeras y pesadas unidas a varias moléculas del compuesto **10**, de acuerdo con una relación de fármaco por anticuerpo (DAR) de 2,7 moléculas del compuesto **10** por anticuerpo.

30 El análisis de UHPLC en un sistema Shimadzu Prominence usando una columna Waters Acquity UPLC BEH200 SEC 1.7  $\mu\text{m}$  4,6 x 150 mm eluyendo con solución salina tamponada con fosfato (PBS) esterilizada por filtración que contiene un 5 % de isopropanol (v/v) sobre una muestra de ConjA a 280 nm muestra una pureza de monómeros del 99 % sin impurezas detectadas.

*Conjugado A2 (Herceptin-10, ConjA2)*

35 Se diluyó Herceptin™ (2,0 mg, 13,3 nanomoles) en 1,8 ml de un tampón de reducción que contiene borato de sodio 10 mM a pH 8,4, EDTA 2,5 mM y una concentración final de anticuerpo de 1,11 mg/ml. Se añade una solución 10 mM de TCEP (2 equivalentes molares/anticuerpo, 26,6 nanomoles, 2,66  $\mu\text{l}$ ) y la mezcla de reducción se calienta a +37 °C durante 2,5 horas en un bloque térmico. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, se añade el compuesto **10** como una solución de DMSO (3,5 equivalentes molares/anticuerpo, 45 nanomoles, en 0,2 ml de DMSO). La solución se mezcla durante 2 horas a temperatura ambiente, a continuación, la conjugación se  
40 interrumpió mediante la adición de N-etil maleimida (1 micromol, 10  $\mu\text{l}$  a 100 mM) seguido 15 minutos a continuación por N-acetil cisteína (1,5 micromoles 15  $\mu\text{l}$  a 100 mM), a continuación se inyecta en una FPLC AKTA™ usando una columna XK16/70 de GE Healthcare rellena con Superdex™ 200 PG, eluyendo con 1,5 ml/min de solución salina tamponada con fosfato (PBS) esterilizada por filtración. Las fracciones correspondientes al pico de monómero de ConjA2 se reúnen, se concentran usando un filtro de centrifuga de 50 kDa de MWCO Amicon Ultracell de 15 ml, se  
45 analizan y se esterilizan por filtración. El ensayo de BCA proporciona una concentración de ConjA2 final a 1,49 mg/ml en 1,2 ml, y la masa obtenida de ConjA2 es 1,79 mg (90 % de rendimiento).

50 El análisis de UHPLC en un sistema Shimadzu Prominence usando una columna Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150 x 2,1 mm que eluye con un gradiente de agua y acetonitrilo sobre una muestra reducida de ConjA2 a 280 nm y 330 nm (específica del compuesto **10**) muestra una mezcla de cadenas ligeras y pesadas unidas a varias moléculas del compuesto **10**, de acuerdo con una relación de fármaco por anticuerpo (DAR) de 2,7 moléculas del compuesto **10** por anticuerpo.

55 El análisis de UHPLC en un sistema Shimadzu Prominence usando una columna Waters Acquity UPLC BEH200 SEC 1.7  $\mu\text{m}$  4,6 x 150 mm eluyendo con solución salina tamponada con fosfato (PBS) esterilizada por filtración que contiene un 5 % de isopropanol (v/v) sobre una muestra de ConjA2 a 280 nm muestra una pureza de monómeros del 99 % sin impurezas detectadas.

60 *Conjugado B (Herceptin-5, ConjB)*

65 Se diluyó Herceptin™ (2,0 mg, 13,3 nanomoles) en 1,8 ml de un tampón de reducción que contiene borato de sodio 10 mM a pH 8,4, EDTA 2,5 mM y una concentración final de anticuerpo de 1,11 mg/ml. Se añade una solución 10 mM de TCEP (2 equivalentes molares/anticuerpo, 26,6 nanomoles, 2,66  $\mu\text{l}$ ) y la mezcla de reducción se calienta a +37 °C durante 2,0 horas en un bloque térmico. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, se añade el

compuesto 5 como una solución de DMSO (10 equivalentes molares/anticuerpo, 133 nanomoles, en 0,2 ml. DMSO). La solución se mezcla durante 1 horas a temperatura ambiente, a continuación, la conjugación se inyectó en una FPLC AKTA™ usando una columna XK16/70 de GE Healthcare rellena con Superdex 200 PG, eluyendo con 1,5 ml/min de solución salina tamponada con fosfato (PBS) esterilizada por filtración. Las fracciones correspondientes al pico de monómero de ConjB se reúnen, se concentran usando un filtro de centrifuga de 50 kDa de MWCO Amicon Ultracell de 15 ml, se analizan y se esterilizan por filtración. El ensayo de BCA proporciona una concentración de ConjB final a 3,13 mg/ml en 0,65 ml, y la masa obtenida de ConjB es 1,61 mg (80% de rendimiento).

El análisis de UHPLC en un sistema Shimadzu Prominence usando una columna Phenomenex Aeris 3.6u XB-C18 150 x 2,1 mm que eluye con un gradiente de agua y acetonitrilo sobre una muestra reducida de ConjB a 280 nm y 330 nm (especifica del compuesto 5) muestra una mezcla de cadenas ligeras y pesadas unidas a varias moléculas del compuesto 5, de acuerdo con una relación de fármaco por anticuerpo (DAR) de 4 moléculas del compuesto 5 por anticuerpo.

El análisis de UHPLC en un sistema Shimadzu Prominence usando una columna Waters Acquity UPLC BEH200 SEC 1.7 um 4.6 x 150 mm eluyendo con solución salina tamponada con fosfato (PBS) esterilizada por filtración que contiene un 5 % de isopropanol (v/v) sobre una muestra de ConjB a 280 nm muestra una pureza de monómeros del 98,6 %.

#### 20 *Conjugado C (Herceptin-13, ConjC)*

Se diluyó Herceptin™ (1,0 mg, 6,7 nanomoles) en 0,9 ml de un tampón de reducción que contiene borato de sodio 10 mM a pH 8,4, EDTA 2,5 mM y una concentración final de anticuerpo de 1,11 mg/ml. Se añade una solución 1 mM de TCEP (3 equivalentes molares/anticuerpo, 20 nanomoles, 20 µl) y la mezcla de reducción se calienta a +37 °C durante 1,5 horas en un bloque térmico. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, se añade el compuesto 13 como una solución de DMSO (10 equivalentes molares/anticuerpo, 67 nanomoles, en 0,1 ml de DMSO). La solución se mezcla durante 1 horas a temperatura ambiente, la mezcla de conjugación se analizó a continuación mediante HPLC y se inyectó en una FPLC AKTA™ usando una columna XK16/70 de GE Healthcare rellena con Superdex™ 200 PG, eluyendo con 1,5 ml/min de solución salina tamponada con fosfato (PBS) esterilizada por filtración. Las fracciones correspondientes al pico de monómero de ConjC se reúnen, se concentran usando un filtro de centrifuga de 50 kDa de MWCO Amicon Ultracell de 15 ml, se analizan y se esterilizan por filtración. El ensayo de BCA proporciona una concentración de ConjC final a 0,70 mg/ml en 1,0 ml, y la masa obtenida de ConjC es 0,70 mg (70% de rendimiento).

El análisis de UHPLC en un sistema Shimadzu Prominence usando una columna Agilent Technologies PLRP-S 1000A 5 µm 50 x 2,1 mm que eluye con un gradiente de agua y acetonitrilo sobre una muestra reducida de ConjC a 280 nm y 330 nm (especifica del compuesto 13) muestra una mezcla de cadenas ligeras y pesadas unidas a varias moléculas del compuesto 13, de acuerdo con una relación de fármaco por anticuerpo (DAR) de > 2,7 moléculas del compuesto 13 por anticuerpo.

#### 40 *Conjugado D (Herceptin-16, ConjD)*

Se diluyó Herceptin™ en 0,9 ml de un tampón de reducción que contiene borato de sodio 10 mM a pH 8,4, EDTA 2,5 mM y una concentración final de anticuerpo de 1,11 mg/ml. Se añade una solución 1 mM de TCEP (3 equivalentes molares/anticuerpo, 20 nanomoles, 20 µl) y la mezcla de reducción se calienta a +37 °C durante 1,5 horas en un bloque térmico. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, se añade el compuesto 16 como una solución de DMSO (10 equivalentes molares/anticuerpo, 67 nanomoles, en 0,1 ml de DMSO). La solución se mezcla durante 1 horas a temperatura ambiente, la mezcla de conjugación se analizó a continuación mediante HPLC y se inyectó en una FPLC AKTA™ usando una columna XK16/70 de GE Healthcare rellena con Superdex™ 200 PG, eluyendo con 1,5 ml/min de solución salina tamponada con fosfato (PBS) esterilizada por filtración. Las fracciones correspondientes al pico de monómero de ConjD se reúnen, se concentran usando un filtro de centrifuga de 50 kDa de MWCO Amicon Ultracell de 15 ml, se analizan y se esterilizan por filtración. El ensayo de BCA proporciona una concentración de ConjD final a 0,55 mg/ml en 1,0 ml, y la masa obtenida de ConjD es 0,55 mg (55% de rendimiento).

El análisis de UHPLC en un sistema Shimadzu Prominence usando una columna Agilent Technologies PLRP-S 1000A 5 µm 50 x 2,1 mm que eluye con un gradiente de agua y acetonitrilo sobre una muestra reducida de ConjD a 280 nm y 330 nm (especifica del compuesto 16) muestra una mezcla de cadenas ligeras y pesadas unidas a varias moléculas del compuesto 16, de acuerdo con una relación de fármaco por anticuerpo (DAR) de 3,56 moléculas del compuesto 16 por anticuerpo.

#### 60 **Ejemplo 6: Estudios de eficacia de ADC *in vivo***

Ratones CB.17 SCID, con edades de 8-12 semanas, pueden inyectarse subcutáneamente con fragmentos de tumor de 1 mm<sup>3</sup> en el flanco. Cuando los tumores alcanzan un tamaño promedio de 100 - 150 mg, se puede empezar el tratamiento. Los ratones se pueden pesar dos veces a la semana. El tamaño tumoral se puede medir dos veces a la semana. Los animales se monitorizan individualmente. El punto final del experimento es un volumen tumoral de

1000 mm<sup>3</sup> o 60 días, lo que suceda primero. Los que responden pueden ser seguidos más tiempo.

- 5 Grupos de 10 ratones xenoinjertados se inyectan i.v. con 0,2 ml de conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC), o anticuerpo desnudo, en solución salina tamponada con fosfato (vehículo) o con 0,2 ml de vehículo solo. La concentración de ADC se ajusta para dar, por ejemplo, 0,3 o 1,0 mg de ADC/kg de peso corporal en una dosis única. Pueden administrarse tres dosis idénticas a cada ratón a intervalos de, por ejemplo, por ejemplo, 1 semana.

**Ejemplo 7: Estudios de eficacia de ADC *in vitro***

- 10 Medio de subconfluente (aproximadamente 80-90 % de conflucneica) de células SK-BR-3 en un matraz T75 se aspiró y se añadió PBS (aproximadamente 20 ml) para enjuagar el medio de cultivo. El PBS se aspiró y se añadió tripsina-EDTA (5 ml). El matraz se devolvió al incubador gaseado a 37 °C durante hasta aproximadamente 5 minutos. El matraz se golpeó fuertemente para desplazar y disociar células del plástico. La suspensión celular se transfirió a un tubo de centrifugación con cierre de rosca de 50 ml estéril. Se añadió el medio (McCoy's + 10 % FCS)
- 15 a un volumen final de 15 ml y, a continuación, se centrifugó el tubo (400 g durante 5 min). El sobrenadante se aspiró y a continuación los gránulos se volvieron a suspender en 10 ml de medio de cultivo. Puede ser necesario la repetición de la aspiración (arriba y abajo de una pipeta de 10 ml) para romper las agrupaciones de células y producir suspensiones celulares monodispersas adecuadas para el recuento. La suspensión celular (10µl) se mezcló con azul de tripano (10µl) y se contaron las células vivas/muertas con un haemocitómetro para determinar la concentración y viabilidad celular. La suspensión celular se diluyó a 20x10<sup>4</sup>/ml y se suministraron 50µl en placas con fondo plano de 96 pocillos transparentes. Las células se incuparon durante la noche para permitir su recuperación antes de su uso.
- 20

- 25 Se fabricó una solución madre (1 ml) de conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC) (20 µg/ml) mediante dilución de ADC esterilizado por filtración en un medio de cultivo celular. Se fabricó un conjunto de diluciones de 8x 10 veces de ADC de solución madre en una placa de 24 pocillos mediante transferencia en serie de 100µl sobre 900µl de medio de cultivo celular.

- 30 Se suministraron 50µl de cada dilución de ADC en 4 pocillos de répica de la placa de 96 pocillos, que contenía 50µl de suspensión celular cultivada el día anterior. Los pocillos de control reciben 50µl de medio de cultivo celular. La placa de 96 pocillos que contenía células y ADC se incubó a 37 °C en un incubador gasificado con CO<sub>2</sub> durante 4 días. Al final del periodo de incubación, se midieron las células viables mediante ensayo de MTS. Se suministró MTS (Promega) (20µl por pocillo) en cada pocillo y se incubó durante 4 horas a 37 °C en el incubador gasificado con CO<sub>2</sub>. Se midió una buena absorbancia a 490 nm. El porcentaje de supervivencia celular se calcula a partir de la absorbancia media en los pocillos tratados con 4 ADC en comparación con la absorbancia media en los 4 pocillos de control (100 %).
- 35

CAF	CE <sub>50</sub> (µg/ml)
ConjA	0,06187

Abreviaturas

- Ac acetilo
- Acm acetamidometilo
- Alloc aliloxicarbonilo
- Boc dicarbonato de di-*terc*-butilo
- t-Bu *terc*-butilo
- Bzl bencilo, donde Bzl-OMe es metoxibencilo y Bzl-Me es metilbenceno
- Cbz o Z benciloxi-carbonilo, donde Z-Cl y Z-Br son cloro y bromobenciloxi carbonilo respectivamente
- DMF *N,N*-dimetilformamida
- Dnp dinitrofenilo
- DTT ditioneitol
- Fmoc 9-*H*-fluoren-9-ilmetoxicarbonilo
- imp grupo protector de la imina *N*-10: 3-(2-metoxietoxi)propanoato-Val-Ala-PAB
- MC-OSu maleimidocaproil-*O-N*-succinimida
- Moc metoxicarbonilo
- MP maleimidopropanamida
- Mtr 4-metoxi-2,3,6-trimetilbencenosulfonilo
- PAB para-aminobenciloxicarbonilo
- PEG etilenoxi
- PNZ carbamato de *p*-nitrobencilo
- Psec 2-(fenilsulfonil)etoxicarbonilo
- TBDMS *terc*-butildimetilsililo
- TBDPS *terc*-butildifenilsililo
- Teoc 2-(trimetilsilil)etoxicarbonilo

Tos           tosilo  
 Troc         cloruro de 2,2,2-tricloretoxicarbonilo  
 Trt          tritulo  
 Xan         xantilo

**Referencias**

Las siguientes referencias se incorporan por referencia en su totalidad:

- 5           EP 0522868
- EP 0875569
- EP 1295944
- EP 1347046
- 10          EP 1394274
- EP 1394274
- EP 1439393
- JP 05003790
- JP 2004113151
- 15          JP 58180487
- US 2001/055751
- US 2002/034749
- US 2002/042366
- US 2002/150573
- 20          US 2002/193567
- US 2003/0228319
- US 2003/060612
- US 2003/064397
- US 2003/065143
- 25          US 2003/091580
- US 2003/096961
- US 2003/105292
- US 2003/109676
- US 2003/118592
- 30          US 2003/119121
- US 2003/119122
- US 2003/119125
- US 2003/119126
- US 2003/119128
- 35          US 2003/119129
- US 2003/119130
- US 2003/119131
- US 2003/124140
- US 2003/124579
- 40          US 2003/129192
- US 2003/134790-A1
- US 2003/143557
- US 2003/157089
- US 2003/165504
- 45          US 2003/185830
- US 2003/186372
- US 2003/186373
- US 2003/194704
- US 2003/206918
- 50          US 2003/219806
- US 2003/224411
- US 2003/224454
- US 2003/232056
- US 2003/232350
- 55          US 20030096743
- US 20030130189
- US 2003096743
- US 2003130189
- US 2004/0001827
- 60          US 2004/005320
- US 2004/005538
- US 2004/005563

US 2004/005598  
 US 2004/0101899  
 US 2004/018553  
 US 2004/022727  
 5 US 2004/044179  
 US 2004/044180  
 US 2004/101874  
 US 2004/197325  
 US 2004/249130  
 10 US 20040018194  
 US 20040052793  
 US 20040052793  
 US 20040121940  
 US 2005/271615  
 15 US 2006/116422  
 US 4816567  
 US 5362852  
 US 5440021  
 US 5583024  
 20 US 5621002  
 US 5644033  
 US 5674713  
 US 5700670  
 US 5773223  
 25 US 5792616  
 US 5854399  
 US 5869445  
 US 5976551  
 US 6011146  
 30 US 6153408  
 US 6214345  
 US 6218519  
 US 6268488  
 US 6518404  
 35 US 6534482  
 US 6555339  
 US 6602677  
 US 6677435  
 US 6759509  
 40 US 6835807  
 US 7223837  
 US 7375078  
 US 7521541  
 US 7723485  
 45 WO 00/012508  
 WO 00/12507  
 WO 00/12508  
 WO 01/16318  
 WO 01/45746  
 50 WO 02/088172  
 WO 03/026577  
 WO 03/043583  
 WO 04/032828  
 WO 2000/12130  
 55 WO 2000/14228  
 WO 2000/20579  
 WO 2000/22129  
 WO 2000/32752  
 WO 2000/36107  
 60 WO 2000/40614  
 WO 2000/44899  
 WO 2000/55351  
 WO 2000/75655  
 WO 200053216  
 65 WO 2001/00244  
 WO 2001/38490

WO 2001/40269  
 WO 2001/40309  
 WO 2001/41787  
 WO 2001/46232  
 5 WO 2001/46261  
 WO 2001/48204  
 WO 2001/53463  
 WO 2001/57188  
 WO 2001/62794  
 10 WO 2001/66689  
 WO 2001/72830  
 WO 2001/72962  
 WO 2001/75177  
 WO 2001/77172  
 15 WO 2001/88133  
 WO 2001/90304  
 WO 2001/94641  
 WO 2001/98351  
 WO 2002/02587  
 20 WO 2002/02624  
 WO 2002/06317  
 WO 2002/06339  
 WO 2002/101075  
 WO 2002/10187  
 25 WO 2002/102235  
 WO 2002/10382  
 WO 2002/12341  
 WO 2002/13847  
 WO 2002/14503  
 30 WO 2002/16413  
 WO 2002/16429  
 WO 2002/22153  
 WO 2002/22636  
 WO 2002/22660  
 35 WO 2002/22808  
 WO 2002/24909  
 WO 2002/26822  
 WO 2002/30268  
 WO 2002/38766  
 40 WO 2002/54940  
 WO 2002/59377  
 WO 2002/60317  
 WO 2002/61087;  
 WO 2002/64798  
 45 WO 2002/71928  
 WO 2002/72596  
 WO 2002/78524  
 WO 2002/81646  
 WO 2002/83866  
 50 WO 2002/86443  
 WO 2002/88170  
 WO 2002/89747  
 WO 2002/92836  
 WO 2002/94852  
 55 WO 2002/98358  
 WO 2002/99074  
 WO 2002/99122  
 WO 2003/000842  
 WO 2003/002717  
 60 WO 2003/003906  
 WO 2003/003984  
 WO 2003/004989  
 WO 2003/008537  
 WO 2003/009814  
 65 WO 2003/014294  
 WO 2003/016475

WO 2003/016494  
 WO 2003/018621  
 WO 2003/022995  
 WO 2003/023013  
 5 WO 2003/024392  
 WO 2003/025138  
 WO 2003/025148  
 WO 2003/025228  
 WO 2003/026493  
 10 WO 2003/029262  
 WO 2003/029277  
 WO 2003/029421  
 WO 2003/034984  
 WO 2003/035846  
 15 WO 2003/042661  
 WO 2003/045422  
 WO 2003/048202  
 WO 2003/054152  
 WO 2003/055439  
 20 WO 2003/055443  
 WO 2003/062401  
 WO 2003/062401  
 WO 2003/072035  
 WO 2003/072036  
 25 WO 2003/077836  
 WO 2003/081210  
 WO 2003/083041  
 WO 2003/083047  
 WO 2003/083074  
 30 WO 2003/087306  
 WO 2003/087768  
 WO 2003/088808  
 WO 2003/089624  
 WO 2003/089904  
 35 WO 2003/093444  
 WO 2003/097803  
 WO 2003/101283  
 WO 2003/101400  
 WO 2003/104270  
 40 WO 2003/104275  
 WO 2003/105758  
 WO 2003004529  
 WO 2003042661  
 WO 2003104399  
 45 WO 2004/000997  
 WO 2004/001004  
 WO 2004/009622  
 WO 2004/011611  
 WO 2004/015426  
 50 WO 2004/016225  
 WO 2004/020595  
 WO 2004/022709  
 WO 2004/022778  
 WO 2004/027049  
 55 WO 2004/031238  
 WO 2004/032828  
 WO 2004/032842  
 WO 2004/040000  
 WO 2004/043361  
 60 WO 2004/043963  
 WO 2004/044178  
 WO 2004/045516  
 WO 2004/045520  
 WO 2004/045553  
 65 WO 2004/046342  
 WO 2004/047749

- WO 2004/048938  
 WO 2004/053079  
 WO 2004/063355  
 WO 2004/063362  
 5 WO 2004/063709  
 WO 2004/065577  
 WO 2004/074320  
 WO 2004000221  
 WO 2004020583  
 10 WO 2004042346  
 WO 2004065576  
 WO 2005/023814  
 WO 2005/082023  
 WO 2005/085251  
 15 WO 2006/111759  
 WO 2007/044515  
 WO 2007/085930  
 WO 2009/052249  
 WO 2010/091150  
 20 WO 91/02536  
 WO 92/07574  
 WO 92/17497  
 WO 94/10312  
 WO 94/28931  
 25 WO 9630514  
 WO 97/07198  
 WO 97/44452  
 WO 98/13059  
 WO 98/37193  
 30 WO 98/40403  
 WO 98/51805  
 WO 98/51824  
 WO 99/28468  
 WO 99/46284  
 35 WO 99/58658
- Am. J. Hum. Genet. 49 (3): 555-565 (1991)  
 Amiel J., *et al* Hum. Mol. Genet. 5, 355-357, 1996  
 Amir *et al* (2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42: 4494-4499  
 40 Amsberry, *et al* (1990) J. Org. Chem. 55:5867  
 Angew Chem. Inti. Ed. Engl. (1994) 33: 183-186  
 Annu. Rev. Neurosci. 21: 309-345 (1998)  
 Arai H. *et al* J. Biol. Chem. 268, 3463-3470, 1993  
 Arai H. *et al* Jpn. Circ. J. 56, 1303-1307, 1992  
 45 Arima, *et al.*, J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972)  
 Attie T., *et al*, Hum. Mol. Genet. 4, 2407-2409, 1995  
 Auricchio A., *et al* Hum. Mol. Genet. 5: 351-354, 1996  
 Barel M., *et al* Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998  
 Barella *et al* (1995) Biochem. J. 309: 773-779  
 50 Barnett T., *et al* Genomics 3, 59-66, 1988  
 Beck *et al* (1992) J. Mol. Biol. 228: 433-441  
 Beck *et al* (1996) J. Mol. Biol. 255: 1-13  
 Berge, *et al.*, J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977)  
 Biochem. Biophys. Res. Commun. (2000) 275(3): 783-788  
 55 Biochem. Biophys. Res. Commun. 255 (2), 283-288 (1999)  
 Blood (2002) 100 (9):3068-3076 Blood 99 (8): 2662-2669 (2002)  
 Blumberg H., *et al* Cell 104, 9-19, 2001  
 Bose, *et al.*, Tetrahedron, 48, 751-758 (1992)  
 Bourgeois C., *et al* J. Clin. Endocrinol. Metab. 82, 3116-3123, 1997  
 60 Brinster *et al* (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:836  
 Buchman y Berg (1988) Mol. Cell. Biol. 8:4395  
 Cancer Res. 61 (15), 5857-5860 (2001)  
 Carl *et al* (1981) J. Med. Chem. 24: 479-480  
 Carlsson *et al* (1978) Biochem. J. 173: 723-737  
 65 Carter, P. (2006) Nature Reviews Immunology 6: 343-357  
 Cell 109 (3): 397-407 (2002)

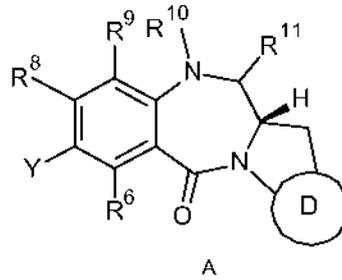
- CellTiter Glo Luminescent Cell Viability Assay, Promega Corp. Technical Bulletin TB288  
 Chakravarty *et al* (1983) J. Med. Chem. 26: 638-644  
 Chan, J. y Watt, V. M., Oncogene 6 (6), 1057-1061 (1991)  
 Child *et al* (1999) J. Biol. Chem. 274: 24335-24341  
 5 Cho H.-S., *et al* Nature 421, 756-760, 2003  
 Ciccodicola, A., *et al* EMBO J. 8(7): 1987-1991 (1989)  
 Clackson *et al* (1991) Nature, 352: 624-628  
 Clark H. F., *et al* Genome Res. 13, 2265-2270, 2003  
 Corey E, Quinn JE, Buhler KR, *et al*. LuCap35: a new model of prostate cancer progression to androgen  
 10 independence. The Prostate 2003; 55: 239-46  
 Coussens L., *et al* Science (1985) 230(4730): 1132-1139  
 Cree *et al* (1995) AntiCancer Drugs 6: 398-404  
 Crouch *et al* (1993) J. Immunol. Meth. 160: 81-88  
 Davis *et al* (2001) Proc. Natl. Acad. Sci USA 98(17): 9772-9777  
 15 de Groot *et al* (2001) J. Org. Chem. 66: 8815-8830  
 de Groot *et al* (2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42: 4490-4494  
 Dennis *et al*. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" J  
 Biol Chem. 277: 35035-35043  
 Dobner *et al* (1992) Eur. J. Immunol. 22: 2795-2799  
 20 Dornan *et al* (2009) Blood 114(13): 2721-2729  
 Doronina *et al* (2006) Bioconj. Chem. 17: 114-124  
 Dubowchik *et al*. Bioconjugate Chemistry, 2002, 13, 855-869  
 Dubowchik, *et al*. (1997) Tetrahedron Letters, 38: 5257-60  
 Dumoutier L., *et al* J. Immunol. 167, 3545-3549, 2001  
 25 E. Schröder y K. Lubke, The Peptides, volumen 1, págs. 76-136 (1965) Academic Press Ehsani A., *et al* (1993)  
 Genomics 15, 426-429  
 Eliel, E. y Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1994  
 Elshourbagy N. A., *et al* J. Biol. Chem. 268, 3873-3879, 1993 Erickson *et al* (2006) Cancer Res. 66(8): 1-8  
 Feild, J.A., *et al* (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 258 (3): 578-582  
 30 Fields, G. y Noble, R. (1990) "Solid phase peptide synthesis utilizing 9-fluoroenylmethoxycarbonyl amino acids",  
 Int. J. Peptide Protein Res. 35: 161-214  
 Fuchs S., *et al* Mol. Med. 7, 115-124, 2001 Fujisaku *et al* (1989) J. Biol. Chem. 264 (4): 2118-2125  
 Gary S. C., *et al* Gene 256, 139-147, 2000  
 Gaugitsch, H.W., *et al* (1992) J. Biol. Chem. 267 (16): 11267-11273  
 35 Geiser *et al* "Automation of solid-phase peptide synthesis" in Macromolecular Sequencing and Synthesis, Alan R.  
 Liss, Inc., 1988, págs. 199-218  
 Genome Res. 13 (10): 2265-2270 (2003)  
 Genomics 62 (2): 281-284 (1999)  
 Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3: 138-146  
 40 Getz *et al* (1999) Anal. Biochem. Vol 273: 73-80  
 Glynne-Jones *et al* (2001) Int J Cancer. Oct 15; 94(2): 178-84  
 Gregson *et al*., Chem. Commun. 1999, 797-798  
 Gregson *et al*., J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174  
 Gu Z., *et al* Oncogene 19, 1288-1296, 2000  
 45 Ha *et al* (1992) J. Immunol. 148(5): 1526-1531  
 Haendler B., *et al* J. Cardiovasc. Pharmacol. 20, s1-S4, 1992  
 Hamann P. (2005) Expert Opin. Ther. Patentes 15(9): 1087-1103  
 Hamblett *et al* (2004) Clin. Cancer Res. 10: 7063-7070  
 Handbook of Pharmaceutical Additives, 2ª edición (eds. M. Ash e I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources,  
 50 Inc., Endicott, Nueva York, EEUU)  
 Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2ª edición, 1994  
 Hara, *et al*., J. Antibiotics, 41, 702-704 (1988)  
 Hashimoto *et al* (1994) Immunogenetics 40(4): 287-295  
 Hay *et al*. (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237  
 55 Herdwinj, P. *et al*., Canadian Journal of Chemistry. 1982, 60, 2903-7  
 Hermanson, G.T. (1996) Bioconjugate Techniques; Academic Press: Nueva York, págs. 234-242  
 Hochlowski, *et al*., J. Antibiotics, 40, 145-148 (1987)  
 Hofstra R. M. W., *et al* Eur. J. Hum. Genet. 5, 180-185, 1997  
 Hofstra R. M. W., *et al* Nat. Genet. 12, 445-447, 1996 Horie *et al* (2000) Genomics 67: 146-152  
 60 Hubert, R.S., *et al* (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU 96 (25): 14523-14528  
 Hurley y Needham-VanDevanter, Acc. Chem. Res., 19, 230-237 (1986)  
 Immunogenetics 54 (2): 87-95 (2002)  
 Int. Rev. Cytol. 196: 177-244 (2000)  
 Itoh, *et al*., J. Antibiotics, 41, 1281-1284 (1988)  
 65 J. Biol. Chem. 270 (37): 21984-21990 (1995)  
 J. Biol. Chem. 276 (29): 27371-27375 (2001)

- J. Biol. Chem. 277 (22): 19665-19672 (2002)  
 J. Biol. Chem. 278 (33): 30813-30820 (2003)  
 Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5ª edición, Garland Publishing, Nueva York
- 5 Jeffrey *et al* (2005) *J. Med. Chem.* 48: 1344-1358  
 Jonsson *et al* (1989) *Immunogenetics* 29(6): 411-413  
 Junutula, *et al.*, 2008b *Nature Biotech.*, 26(8): 925-932  
 Kang, G-D., *et al.*, *Chem. Commun.*, 2003, 1680-1689
- 10 Kasahara *et al* (1989) *Immunogenetics* 30(1): 66-68  
 King *et al* (2002) *Tetrahedron Letters* 43: 1987-1990  
 Kingsbury *et al* (1984) *J. Med. Chem.* 27:1447  
 Kohler *et al* (1975) *Nature* 256:495  
 Kohn, en *Antibiotics III*. Springer-Verlag, Nueva York, págs. 3-11 (1975).  
 Konishi, *et al.*, *J. Antibiotics*, 37, 200-206 (1984)
- 15 Kovtun *et al* (2006) *Cancer Res.* 66(6): 3214-3121  
 Kuhns J. J., *et al* *J. Biol. Chem.* 274, 36422-36427, 1999  
 Kuminoto, *et al.*, *J. Antibiotics*, 33, 665-667 (1980)  
 Kurebayashi *et al* (1999) *Brit. Jour. Cancer* 79(5-6): 707-717  
 Lab. Invest. 82 (11): 1573-1582 (2002)
- 20 Lambert J. (2005) *Current Opin. en Pharmacol.* 5: 543-549  
 Langley y Thurston, *J. Org. Chem.*, 52, 91-97 (1987)  
 Larhammar *et al* (1985) *J. Biol. Chem.* 260(26): 14111-14119  
 Law *et al* (2006) *Cancer Res.* 66(4): 2328-2337  
 Le *et al* (1997) *FEBS Lett.* 418(1-2):195-199
- 25 Leber, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 2992-2993 (1988)  
 Leimgruber, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 5791-5793 (1965)  
 Leimgruber, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 5793-5795 (1965)  
 Levenson *et al* (1997) *Cancer Res.* 57(15): 3071-3078  
 Liang *et al* (2000) *Cancer Res.* 60: 4907-12
- 30 Manfre, F. *et al.*, *J. Org. Chem.* 1992, 57, 2060-2065  
 Marks *et al* (1991) *J. Mol. Biol.*, 222: 581-597  
 McDonagh (2006) *Protein Eng. Design & Sel.*, 19(7): 299-307  
 Mendoza *et al* (2002) *Cancer Res.* 62: 5485-5488  
 Miller *et al* (2003) *Jour. of Immunology* 170: 4854-4861
- 35 Miura *et al* (1996) *Genomics* 38(3): 299-304  
 Miura *et al* (1998) *Blood* 92: 2815-2822  
 Moore M., *et al* *Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* 84, 9194-9198, 1987  
 Morrison *et al* (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU*, 81: 6851-6855  
 Muller *et al* (1992) *Eur. J. Immunol.* 22 (6): 1621-1625
- 40 Mungall A. J., *et al* *Nature* 425, 805-811, 2003  
 Nagase T., *et al* (2000) *DNA Res.* 7 (2): 143-150  
 Nakamuta M., *et al* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 177, 34-39, 1991  
 Nakayama *et al* (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 277(1): 124-127  
 Naruse *et al* (2002) *Tissue Antigens* 59: 512-519
- 45 *Nature* 395 (6699): 288-291 (1998)  
 Neuberger y Williams (1988) *Nucleic Acids Res.* 16:6713  
 Novabiochem Catalog 2006/2007  
 Ogawa Y., *et al* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 178, 248-255, 1991  
 Okamoto Y., *et al* *Biol. Chem.* 272, 21589-21596, 1997
- 50 *Oncogene* 10 (5): 897-905 (1995)  
*Oncogene* 14(11 ): 1377-1382 (1997))  
 Parrish-Novak J., *et al* *J. Biol. Chem.* 277, 47517-47523, 2002 Payne, G. (2003)  
*Cancer Cell* 3: 207-212 Phillips *et al* (2008) *Cancer Res.* 68(22): 9280-9290  
 Pingault V., *et al* (2002) *Hum. Genet.* 111, 198-206
- 55 Pletnev S., i (2003) *Biochemistry* 42: 12617-12624 Preud'homme *et al* (1992) *Clin. Exp.*  
*Immunol.* 90(1 ): 141 -146  
*Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* (2003) 100 (7): 4126-4131  
*Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* 93 (1): 136-140 (1996)  
*Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* 98 (17): 9772-9777 (2001)
- 60 *Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* 99 (26): 16899-16903 (2002)  
*Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* 96 (20): 11531-11536 (1999)  
*Protective Groups in Organic Synthesis*, Greene y Wuts, 3ª edición, 1999, John Wiley & Sons Inc.  
 Puffenberger E. G., *et al* *Cell* 79, 1257-1266, 1994  
 Rao *et al* (1997) *Breast Cancer Res. and Treatment* 45: 149-158
- 65 Reiter R. E., *et al* *Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* 95, 1735-1740, 1998  
 Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 20ª edición, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000

- Rodrigues *et al* (1995) *Chemistry Biology* 2:223 Ross *et al* (2002) *Cancer Res.* 62: 2546-2553  
 S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, Nueva York  
 Sakaguchi *et al* (1988) *EMBO J.* 7(11): 3457-3464 Sakamoto A., Yanagisawa M.,  
*et al* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 178, 656-663, 1991  
 5 Sanderson *et al* (2005) *Clin. Cancer Res.* 11: 843-852  
 Semba K., *et al* *Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* 82, 6497-6501, 1985  
 Servenius *et al* (1987) *J. Biol. Chem.* 262: 8759-8766  
 Shamis *et al* (2004) *J. Am. Chem. Soc.* 126: 1726-1731 Sheikh F., *et al* (2004) *J. Immunol.* 172, 2006-2010  
 Shimizu, *et al*, *J. Antibiotics*, 29, 2492-2503 (1982)  
 10 Sinha S. K., *et al* (1993) *J. Immunol.* 150, 5311-5320  
 Storm *et al* (1972) *J. Amer. Chem. Soc.* 94:5815  
 Strausberg *et al* (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci EEUU* 99: 16899-16903  
 Sun *et al* (2002) *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12: 2213-2215  
 Sun *et al* (2003) *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 11: 1761 -1768  
 15 Svensson P. J., *et al* *Hum. Genet.* 103, 145-148, 1998  
 Swiercz J. M., *et al* *J. Cell Biol.* 165, 869-880, 2004  
 Syrigos y Epenetos (1999) *Anticancer Research* 19: 605-614  
 Takeuchi, *et al.*, *J. Antibiotics*, 29, 93-96 (1976)  
 Tawaragi Y., *et al* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 150, 89-96, 1988 ten Dijke, P., *et al* *Science* 264 (5155):  
 20 101-104 (1994)  
 Thompson, J. S., *et al* *Science* 293 (5537), 2108-2111 (2001) WO 2004/058309 Thurston, *et al.*, *Chem. Brit.*, 26,  
 767-772 (1990)  
 Thurston, *et al.*, *Chem. Rev.* 1994, 433-465 (1994)  
 Toki *et al* (2002) *J. Org. Chem.* 67: 1866-1872  
 25 Tonnelle *et al* (1985) *EMBO J.* 4(11 ): 2839-2847  
 Touchman *et al* (2000) *Genome Res.* 10: 165-173  
 Trail *et al* (2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52: 328-337  
 Tsunakawa, *et al.*, *J. Antibiotics*, 41, 1366-1373 (1988)  
 Tsutsumi M., *et al* *Gene* 228, 43-49, 1999  
 30 Uchida *et al* (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266: 593-602  
 Verheij J. B., *et al* *Am. J. Med. Genet.* 108, 223-225, 2002  
 Von Hoegen *et al* (1990) *J. Immunol.* 144(12): 4870-4877  
 Webster *et al* (1994) *Semin. Cancer Biol.* 5: 69-76  
 Weis J. J., *et al* *J. Exp. Med.* 167, 1047-1066, 1988  
 35 Weis J. J., *et al* *Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* 83, 5639-5643, 1986  
 Wilson *et al* (1991) *J. Exp. Med.* 173: 137-146  
 Wu *et al* (2005) *Nature Biotech.* 23(9): 1137-1145  
 Xie *et al* (2006) *Expert. Opin. Biol. Ther.* 6(3): 281-291  
 Xu, M. J., *et al* (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280 (3): 768-775 WO 2004/016225  
 40 Xu, X. Z., *et al* *Proc. Natl. Acad. Sci. EEUU* 98 (19): 10692-10697 (2001) Yamaguchi, N., *et al* *Biol. Chem.* 269  
 (2), 805-808 (1994)  
 Yamamoto T., *et al* *Nature* 319, 230-234, 1986 Yu *et al* (1992) *J. Immunol.* 148(2) 633-637

REIVINDICACIONES

1. Un conjugado de fórmula (A):

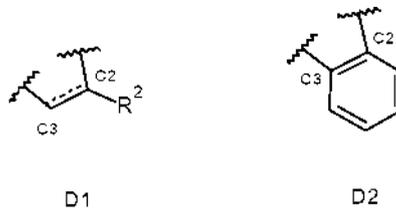


5

y sales y solvatos del mismo, donde:

D representa el grupo D1 o el D2:

10



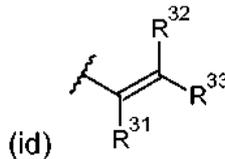
;

la línea de puntos indica la presencia opcional de un enlace doble entre C2 y C3; cuando hay un doble enlace presente entre C2 y C3, R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en:

15

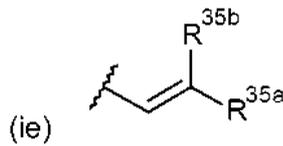
- (ia) grupo arilo C<sub>5-10</sub>, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados entre el grupo que comprende: halo, nitro, ciano, éter, carboxi, éster, alquilo C<sub>1-7</sub>, heterociclilo C<sub>3-7</sub> y bis-oxi-alquilenos C<sub>1-3</sub>;
- (ib) alquilo C<sub>1-5</sub> alifático saturado;
- (ic) cicloalquilo C<sub>3-6</sub> saturado;

20



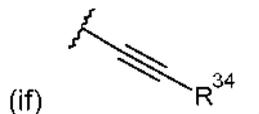
donde cada uno de R<sup>31</sup>, R<sup>32</sup> y R<sup>33</sup> se seleccionan independientemente entre H, alquilo C<sub>1-3</sub> saturado, alqueno C<sub>2-3</sub>, alquino y ciclopropilo C<sub>2-3</sub>, donde el número total de átomos de carbono en el grupo R<sup>2</sup> no es mayor de 5;

25



en donde uno de R<sup>35a</sup> y R<sup>35b</sup> es H y el otro se selecciona entre: fenilo, dicho fenilo está opcionalmente sustituido con un grupo seleccionado entre halo, metilo, metoxi; piridilo y tiofenilo y

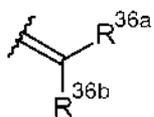
30



donde R<sup>34</sup> se selecciona entre: H; alquilo C<sub>1-3</sub> saturado; alqueno C<sub>2-3</sub>; alquino C<sub>2-3</sub>; ciclopropilo; fenilo, dicho

fenilo está opcionalmente sustituido con un grupo seleccionado entre halo, metilo, metoxi; piridilo y tiofenilo; (ig) halo;

5 cuando hay un enlace sencillo presente entre C2 y C3, R<sup>2</sup> es



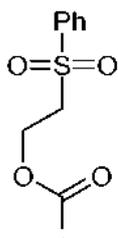
10 donde R<sup>36a</sup> y R<sup>36b</sup> se seleccionan independientemente entre H, F, alquilo C<sub>1-4</sub> saturado, alqueno C<sub>2-3</sub>, cuyos grupos alquilo y alqueno están opcionalmente sustituidos con un grupo seleccionado entre alquilamido C<sub>1-4</sub> y éster de alquilo C<sub>1-4</sub>; o, cuando uno de R<sup>36a</sup> y R<sup>36b</sup> es H, el otro se selecciona entre nitrilo y un éster de alquilo C<sub>1-</sub>

15 o R<sup>6</sup> y R<sup>9</sup> se seleccionan independientemente entre H, R, OH, OR, SH, SR, NH<sub>2</sub>, NHR, NRR', NO<sub>2</sub>, SnMe<sub>3</sub> y halo;

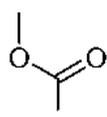
(a) R<sup>10</sup> es H y R<sup>11</sup> es OH u OR<sup>A</sup>, donde R<sup>A</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub> o

(b) R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> forman un doble enlace nitrógeno-carbono entre los átomos de nitrógeno y carbono a los que están unidos o

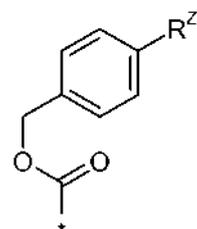
20 (c) R<sup>10</sup> es H y R<sup>11</sup> es OSO<sub>z</sub>M, donde z es 2 o 3 y M es un catión monovalente farmacéuticamente aceptable o (d) R<sup>11</sup> es OH u OR<sup>A</sup>, donde R<sup>A</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub> y R<sup>10</sup> se selecciona entre:



(d-i) ;

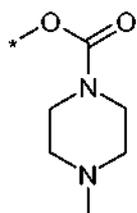


(d-ii) ;



(d-iii) ;

25 donde R<sup>Z</sup> se selecciona entre:

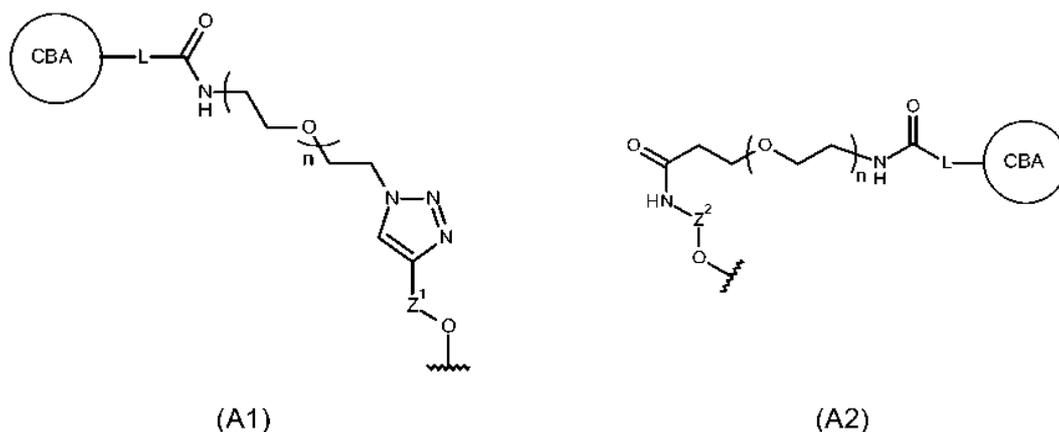


(z-i) ;

- (z-ii)  $\text{OC(=O)CH}_3$ ;
- (z-iii)  $\text{NO}_2$ ;
- (z-iv)  $\text{OMe}$ ;
- (z-v) glucorónido;

5 (z-vi)  $-\text{C(=O)-X}_1\text{-NHC(=O)X}_2\text{-NH-R}^{\text{ZC}}$ , donde  $-\text{C(=O)-X}_1\text{-NH-}$  y  $-\text{C(=O)-X}_2\text{-NH-}$  representan restos de aminoácidos naturales y  $\text{R}^{\text{ZC}}$  se selecciona entre Me, OMe,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OMe}$ ;

Y se selecciona entre las fórmulas A1 y A2:



10

- $\text{Z}^1$  es un grupo alquileo  $\text{C}_{1-3}$ ;
- $\text{Z}^2$  es un grupo alquileo  $\text{C}_{1-3}$ ;
- L es un enlazador conectado a un agente de unión celular;
- CBA es el agente de unión celular;
- n es un número entero entre 0 y 48;

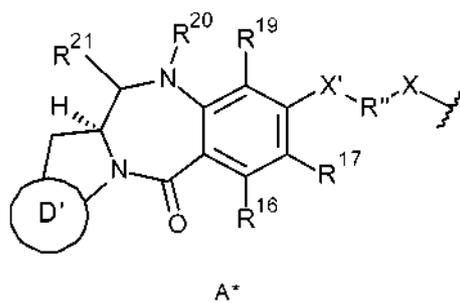
15

20 cada uno de R y R' se selecciona independientemente entre los grupos alquilo  $\text{C}_{1-12}$ , heterociclilo  $\text{C}_{3-20}$  y arilo  $\text{C}_{5-20}$  opcionalmente sustituidos y, opcionalmente en relación con el grupo  $\text{NRR}'$ , R y R' junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 4, 5, 6 o 7 miembros opcionalmente sustituido;  $\text{R}^8$  es o:

20

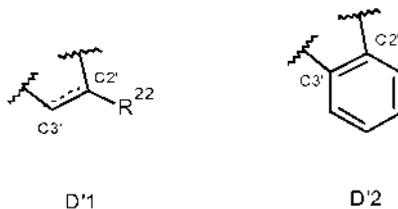
- (a) independientemente seleccionado entre H, R, OH, OR, SH, SR,  $\text{NH}_2$ , NHR,  $\text{NRR}'$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{SnMe}_3$  y halo o
- (b) de fórmula  $\text{A}^*$ :

25



30 donde:  
D' representa el grupo D'1 o el D'2:

30



donde la línea de puntos indica la presencia opcional de un doble enlace entre  $\text{C}2'$  y  $\text{C}3'$ ;

$R^{17}$  se selecciona independientemente entre H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ ,  $NO_2$ ,  $SnMe_3$  y halo;  
 $R^n$  es un grupo alquileo  $C_{3-12}$ , cuya cadena puede estar interrumpida por uno o más heteroátomos, por ejemplo O, S, N(H), NMe y/o anillos aromáticos, por ejemplo benceno o piridina, anillos que están opcionalmente sustituidos y

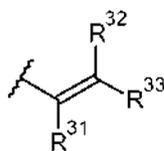
X y X' se seleccionan independientemente entre O, S y N(H) y  
 $R^{22}$ ,  $R^{16}$ ,  $R^{19}$ ,  $R^{20}$  y  $R^{21}$  son como se define para  $R^2$ ,  $R^6$ ,  $R^9$ ,  $R^{10}$  y  $R^{11}$  respectivamente.

2. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 1, en donde  $R^6$  y  $R^9$  son ambos H.

3. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde D es D1, hay un doble enlace entre C2 y C3 y  $R^2$  es un fenilo, que puede tener de uno a tres grupos sustituyentes seleccionados entre metoxi, etoxi, flúor, cloro, ciano, bis-oxi-metileno, metil-piperazinilo, morfolino y metil-tiofenilo.

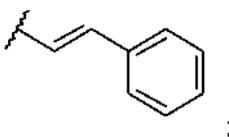
4. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde D es D1, hay un doble enlace entre C2 y C3 y  $R^2$  se selecciona entre:

- (a) metilo, etilo o propilo;
- (b) ciclopropilo;
- (c) un grupo de fórmula:

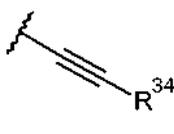


en donde el número total de átomos de carbono en el grupo  $R^2$  no es más de 3;

(d) el grupo:

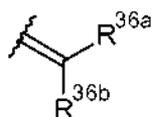


(e) un grupo de fórmula:



en donde  $R^{34}$  se selecciona entre H y metilo.

5. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde D es D1, hay un único enlace entre C2 y C3 y  $R^2$  es



en donde:

- (a)  $R^{36a}$  y  $R^{36b}$  son ambos H;
- (b)  $R^{36a}$  y  $R^{36b}$  son ambos metilo;
- (c) uno de  $R^{36a}$  y  $R^{36b}$  es H y el otro se selecciona entre metilo y etilo.

6. El conjugado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde  $R^{10}$  es H y  $R^{11}$  es OH.

7. El conjugado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> forman un doble enlace nitrógeno-carbono entre los átomos de nitrógeno y carbono a los cuales están unidos.

8. El conjugado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde R<sup>8</sup> es OR<sup>8A</sup>, donde R<sup>8A</sup> es Me.

9. El conjugado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde R<sup>8</sup> es de fórmula A\*, X y X' son O, R<sup>n</sup> es alquileo C<sub>3-7</sub> y R<sup>17</sup> es OR<sup>17A</sup>, donde R<sup>17A</sup> es Me.

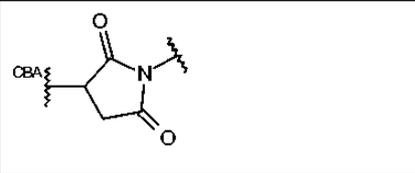
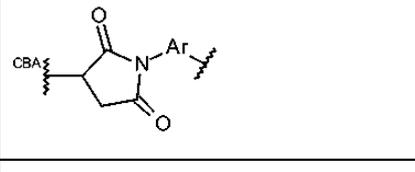
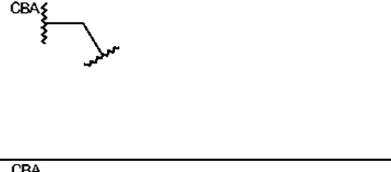
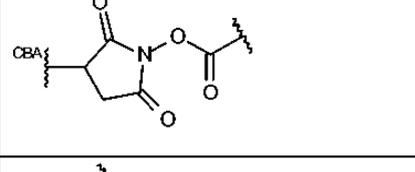
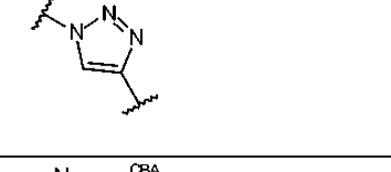
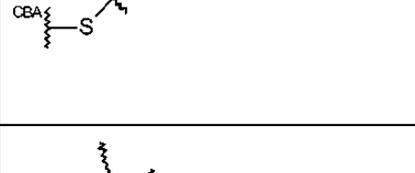
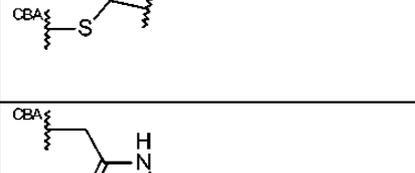
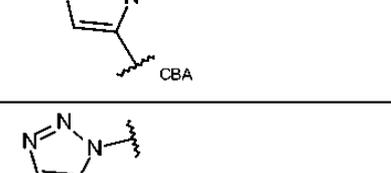
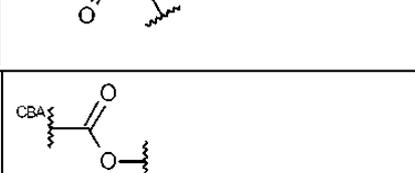
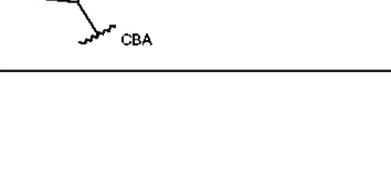
10. El conjugado de acuerdo con la reivindicación 9, en donde R<sup>16</sup>, R<sup>19</sup>, R<sup>20</sup>, R<sup>21</sup> y D' son los mismos que R<sup>6</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup> y D respectivamente.

11. El conjugado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde L es de fórmula:



donde m es de 0 a 6 y

L<sup>A</sup> se selecciona entre:

(L <sup>A1-1</sup> )		(L <sup>A6</sup> )	
(L <sup>A1-2</sup> )		(L <sup>A7</sup> )	
(L <sup>A2</sup> )		(L <sup>A8-1</sup> )	
(L <sup>A3-1</sup> )		(L <sup>A8-2</sup> )	
(L <sup>A3-2</sup> )		(L <sup>A9-1</sup> )	
(L <sup>A4</sup> )		(L <sup>A9-2</sup> )	
(L <sup>A5</sup> )			

donde Ar representa un grupo arileno C<sub>5-6</sub>.

12. El conjugado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que el agente de unión a célula es un anticuerpo o un fragmento activo del mismo, en donde el anticuerpo o el fragmento de anticuerpo es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo de un antígeno asociado a tumor.

13. El conjugado de la reivindicación 12, en el que el anticuerpo, o el fragmento de anticuerpo, es un anticuerpo que se une a uno o más antígenos asociados a tumor o receptores de la superficie celular seleccionados de (1)-(88):

- 5       **(1)** BMPR1B;
- (2)** E16;
- (3)** STEAP1;
- (4)** 0772P;
- (5)** MPF;
- 10       **(6)** Napi3b;
- (7)** Sema 5b;
- (8)** PSCA hlg;
- (9)** ETBR;
- (10)** MSG783;
- 15       **(11)** STEAP2;
- (12)** TrpM4;
- (13)** CRIPTO;
- (14)** CD21;
- (15)** CD79b;
- 20       **(16)** FcRH2;
- (17)** HER2;
- (18)** NCA;
- (19)** MDP;
- (20)** IL20R-alfa;
- 25       **(21)** Brevicano;
- (22)** EphB2R;
- (23)** ASLG659;
- (24)** PSCA;
- (25)** GEDA;
- 30       **(26)** BAFF-R;
- (27)** CD22;
- (28)** CD79a;
- (29)** CXCR5;
- (30)** HLA-DOB;
- 35       **(31)** P2X5;
- (32)** CD72;
- (33)** LY64;
- (34)** FcRH1;
- (35)** IRTA2;
- 40       **(36)** TENB2;
- (37)** PSMA - FOLH1;
- (38)** SST;
- (38.1)** SSTR2;
- (38.2)** SSTR5;
- 45        **(38.3)** SSTR1;
- (38.4)** SSTR3;
- (38.5)** SSTR4;
- (39)** ITGAV;
- (40)** ITGB6;
- 50       **(41)** CEACAM5;
- (42)** MET;
- (43)** MUC1;
- (44)** CA9;
- (45)** EGFRvIII;
- 55       **(46)** CD33;
- (47)** CD19;
- (48)** IL2RA;
- (49)** AXL;
- (50)** CD30 - TNFRSF8;
- 60       **(51)** BCMA - TNFRSF17;
- (52)** CT Ags - CTA;
- (53)** CD174 (Lewis Y) - FUT3;
- (54)** CLEC14A;
- (55)** GRP78 - HSPA5;
- 65       **(56)** CD70;
- (57)** Antígenos específicos de células madre;

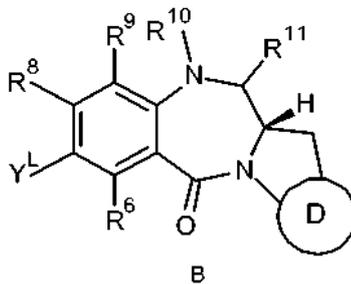
- (58) ASG-5;
- (59) ENPP3;
- (60) PRR4;
- (61) GCC - GUCY2C;
- 5 (62) Liv-1 - SLC39A6;
- (63) 5T4;
- (64) CD56-NCMA1;
- (65) CanAg;
- (66) FOLR1;
- 10 (67) GPNMB;
- (68) TIM-1 -HAVCR1;
- (69) RG-1/Mindina diana de tumor de la próstata - Mindina/RG-1;
- (70) B7-H4 - VTCN1;
- (71) PTK7;
- 15 (72) CD37;
- (73) CD138-SDC1;
- (74) CD74;
- (75) Claudinas - CL;
- (76) EGFR;
- 20 (77) Her3;
- (78) RON - MST1R;
- (79) EPHA2;
- (80) CD20-MS4A1;
- (81) Tenascina C - TNC;
- 25 (82) FAP;
- (83) DKK-1;
- (84) CD52;
- (85) CS1 - SLAMF7;
- (86) Endoglina- ENG;
- 30 (87) Anexina A1 - ANXA1;
- (88) V-CAM (CD106) - VCAM1.

14. El conjugado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para su uso en terapia.

35 15. Una composición farmacéutica que comprende el conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, un diluyente, un vehículo o un excipiente farmacéuticamente aceptables.

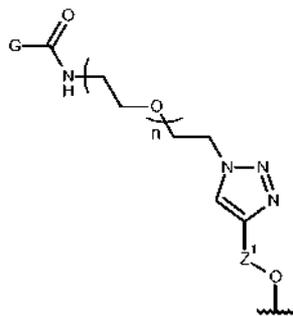
16. El conjugado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 15, para su uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto.

40 17. Un compuesto de fórmula (B):

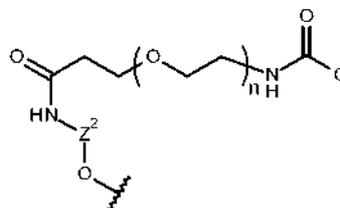


45 en donde:

YL se selecciona entre las fórmulas B1 y B2:



(B1)



(B2)

G es un enlazador para conectar a un agente de unión celular y D, R<sup>6</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, Z<sup>1</sup>, Z<sup>2</sup> y n son como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.

5

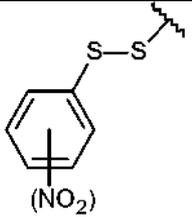
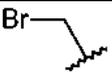
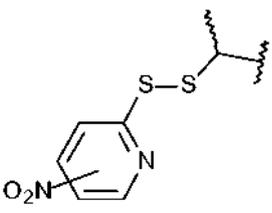
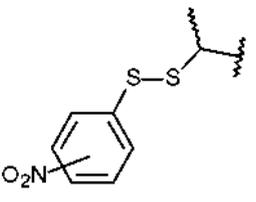
18. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 17, donde G es de fórmula:



10

donde m es de 0 a 6 y G<sup>A</sup> se selecciona entre:

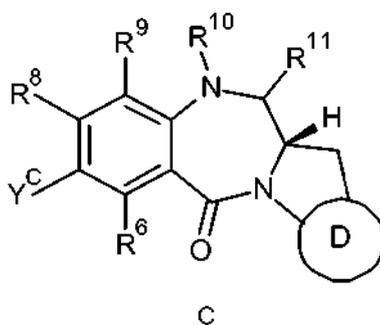
(G <sup>A1-1</sup> )		(G <sup>A4</sup> )	
(G <sup>A1-2</sup> )			donde Hal = I, Br, Cl
(G <sup>A2</sup> )		(G <sup>A5</sup> )	
(G <sup>A3-1</sup> )		(G <sup>A6</sup> )	
	donde el grupo NO <sub>2</sub> es opcional		

(G <sup>A3-2</sup> )	 <p>donde el grupo NO<sub>2</sub> es opcional</p>	(G <sup>A7</sup> )	
(G <sup>A3-3</sup> )	 <p>donde el grupo NO<sub>2</sub> es opcional</p>	(G <sup>A8</sup> )	
(G <sup>A3-4</sup> )	 <p>donde el grupo NO<sub>2</sub> es opcional</p>	(G <sup>A9</sup> )	

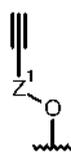
donde Ar representa un grupo arileno C<sub>5-6</sub>.

19. Un compuesto de fórmula (C):

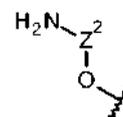
5



donde Y<sup>c</sup> se selecciona entre las fórmulas C1 y C2:



(C1)



(C2)

10

y D, R<sup>6</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, Z<sup>1</sup> y Z<sup>2</sup> son como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.