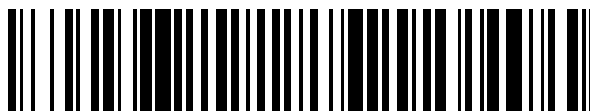


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 701 076**

51 Int. Cl.:

<b>C07C 317/02</b>	(2006.01)	<b>C07F 9/572</b>	(2006.01)
<b>C07C 317/06</b>	(2006.01)	<b>C07F 9/58</b>	(2006.01)
<b>C07F 9/30</b>	(2006.01)	<b>C07F 9/6558</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/10</b>	(2006.01)	<b>C07F 9/6561</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/662</b>	(2006.01)	<b>C07D 401/12</b>	(2006.01)
<b>A61K 49/00</b>	(2006.01)	<b>C07D 207/46</b>	(2006.01)
<b>A61P 31/00</b>	(2006.01)	<b>C07F 9/32</b>	(2006.01)
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)	<b>A61K 47/68</b>	(2007.01)
<b>A61P 37/00</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/454</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.11.2012 PCT/IB2012/056700**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **30.05.2014 WO14080251**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.11.2012 E 12888899 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.09.2018 EP 2922818**

54 Título: **Enlazadores hidrofílicos y sus usos para la conjugación de fármacos a las moléculas que se unen a las células**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**20.02.2019**

73 Titular/es:  
**HANGZHOU DAC BIOTECH CO., LTD (100.0%)  
Room B2001-B2019 Building 2. No. 452 Sixth  
Street HEDA  
Hangzhou City, Zhejiang Province 310018, CN**

72 Inventor/es:  
**ZHAO, R. YONGXIN**

74 Agente/Representante:  
**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 701 076 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

Enlazadores hidrofílicos y sus usos para la conjugación de fármacos a las moléculas que se unen a las células

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a la preparación de nuevos enlazadores hidrofílicos usados para la conjugación de un fármaco, en particular, un agente citotóxico a una molécula biológica. La presente invención también se refiere a métodos para fabricar conjugados de agente de unión a la célula-fármaco (agente citotóxico) que comprenden cualquiera de las modificaciones de fármacos con estos enlazadores hidrofílicos primero, seguido por la reacción con agentes de unión a la célula; o la modificación de los agentes de unión a la célula con estos enlazadores hidrofílicos primero, seguido por la reacción con los fármacos.

10 Antecedentes de la invención

En la actualidad, el desarrollo de una terapia dirigida contra el cáncer requiere no solo complementar la quimioterapia y la radioterapia convencionales, al tiempo que evita las células sanas, reduciendo o eliminando en gran medida los efectos secundarios a menudo desagradables, sino también el objetivo de superar la resistencia a los fármacos (Turk, D y Szakács, G., *Curr Opin Drug Discov Devel.* 2009, 12, 246; Zhao, R. et al., *J. Med. Chem.* 2011, 56, 5404; Yauch, R. L., *Settleman, J. Curr Opin Genet Dev.* 2012, 22, 45). Hay varios suministros sistémicos para el tratamiento dirigido de tumores que se han estudiado durante las últimas tres décadas: administración dirigida de fármacos activados por calor; administración selectiva de fármacos para el cáncer a los tejidos mediante el uso de sistemas de transporte mediados por portadores; terapia de profármacos activados por tumores para la administración dirigida de quimioterapia; filtración del fármaco inducida por presión a través de los vasos al tumor; promover la permeación selectiva del agente anticancerígeno en el tumor; direccionamiento en dos etapas con un anticuerpo biespecífico; administración específica al sitio y activación por luz de proteínas anticancerígenas. Se han estudiado muchas formulaciones y portadores especiales para determinar la administración de fármacos contra el cáncer, tal como los portadores de fármacos basados en albúmina; quimioterapia mejorada con carbohidratos; portadores de fármacos basados en proteínas y péptidos; ácidos grasos como vectores de direccionamiento para fármacos activos; portadores de microesferas; anticuerpos monoclonales como portadores; vitaminas, por ejemplo, folatos como portadores; portadores de nanopartículas; portadores de liposomas, por ejemplo, liposomas pegilados (encerrados en una bicapa de polietilenglicol); portadores de polietilenglicol (PEG); portadores de moléculas de unión a antígeno de cadena sencilla; portadores de micelas poliméricas; portadores de fármacos basados en lipoproteínas; dendrímeros; etc. Un vehículo de administración de fármacos ideal debe ser no tóxico, biocompatible, no inmunogénico y biodegradable (Scott, R; Crabbe, D; et al. (2008) *Expert Opin. Drug Deli.* 5, 459) y evitar el reconocimiento por parte de mecanismos de defensa del huésped (Saltzman, W.; Torchilin, V. (2008). "Drug Delivery Systems" Access Science. McGraw-Hill Co.). El vínculo entre los vehículos de administración, en particular, los anticuerpos y el agente que destruye las células juega un papel crítico en el desarrollo de sistemas de administración dirigida de fármacos, ya que la naturaleza del enlazador afecta significativamente la potencia, la selectividad y la farmacocinética de los conjugados resultantes (Zhao, R.; Wilhelm, S. et al., (2011) *J. Med. Chem.* 36, 5404; Doronina, S.; Mendelsohn, B.; et al., (2006) *Bioconjug Chem.* 17, 114; Hamann, P.; Hinman, L.; et al. (2005) *Bioconjug Chem.* 16, 346). Se han utilizado cuatro tipos de enlazadores para la preparación de conjugados de agente de unión a la célula-fármaco que han ingresado a la clínica: (a) enlazadores lábiles al ácido, que explotan el microambiente intracelular endosomal y lisosomal intracelular ácido; (b) enlazadores escindibles por proteasas lisosomales; (c) enlazadores de tioéter químicamente estables que liberan un aducto de lisilo después de la degradación proteolítica del anticuerpo dentro de la célula; y (d) enlazadores que contienen disulfuro, que se escinden tras la exposición a un tiol intracelular (Zhao, R.; Wilhelm, S. et al., 2011 *J. Med. Chem.* 36, 5404).

Se han descrito conjugados de agentes de unión a la célula con fármacos o compuestos químicos modificados a través de diferentes tipos de enlazadores (patentes de Estados Unidos Nos. 4.680.338; 5.122.368; 5.141.648; 5.208.020; 5.416.064; 5.475.092; 5.543.390; 5.563.250 5.585.499; 5.880.270; 6.214.345; 6.436.931; 6.372.738; 6.340.701; 6.989.452; 7.129.261; 7.375.078; 7.498.302; 7.507.420; 7.691.962; 7.910.594; 7.968.586; 7.989.434; 7.994.135; 7.999.083; 8.153.768; 8.236.319, Zhao, R.; et al., (2011) *J. Med. Chem.* 36, 5404; Doronina, S.; et al., (2006) *Bioconjug Chem.* 17, 114; Hamann, P.; et al. (2005) *Bioconjug Chem.* 16, 346). Típicamente, en estos conjugados, los agentes de unión a la célula se modifican primero con un agente bifuncional tal como SPDP (3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo), o SMCC (succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato), o SPDB (4-(2-piridilditio)butanoato de N-succinimidilo), para introducir un disulfuro activo o un resto maleimido. La reacción con un fármaco citotóxico que contiene tiol proporciona un conjugado en el que el agente de unión a la célula, como un anticuerpo monoclonal, y el fármaco están unidos mediante enlaces disulfuro o enlaces tioéter.

55 Sin embargo, el uso de conjugados de molécula de unión a la célula-fármaco, tales como conjugados de anticuerpo-fármaco (ADC), en terapias en desarrollo para una amplia variedad de cánceres se ha visto limitado tanto por la disponibilidad de agentes de direccionamiento específicos (portadores) así como las metodologías de conjugación que dan como resultado la formación de agregados de proteínas cuando aumenta la cantidad de los fármacos que se conjugan con el vehículo (es decir, la carga del fármaco). Normalmente, la tendencia de los conjugados de fármacos

citotóxicos a agregarse es especialmente problemática cuando las reacciones de conjugación se realizan con los enlazadores hidrófobos. Dado que una mayor carga de fármaco aumenta la potencia inherente del conjugado, es deseable tener tanto fármaco cargado en el portador como sea consistente con la retención de la afinidad de la proteína portadora. La presencia de proteínas agregadas, que pueden ser inespecíficamente tóxicas e inmunogénicas y, por lo tanto, deben eliminarse para aplicaciones terapéuticas, hace que el proceso de escalamiento para la producción de estos conjugados sea más difícil y disminuye el rendimiento de los productos.

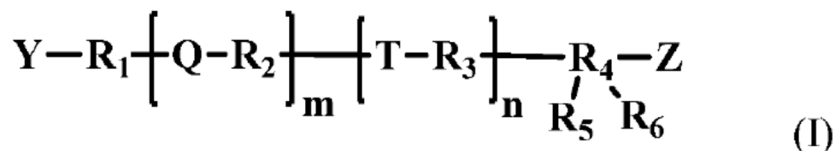
El documento WO 2012/145112 describe enlazadores que contienen sulfóxido o selenio para conjugar un fármaco citotóxico con un agente de unión a la célula. El documento US 4.227.918 describe las sulfonas de halogenoetilo que se aplican a una planta o hábitat para regular el crecimiento de las plantas. Brouwer, et al., Bioorg, Med. Chem. 15 (2007) 6985-6993 describen clorometil sulfóxidos como una nueva clase de inhibidores selectivos irreversibles de la cisteína proteasa. Block, et al., Tetrahedron 60 (2004) 7525-7541 describe la síntesis y las reacciones de varias clorometilsulfonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas, que se describen como reactivos de Ramberg-Bäckland "preenvasados".

En consecuencia, existe una necesidad crítica de mejorar los métodos para conjugar fármacos/fármacos citotóxicos con portadores (moléculas de unión a la célula) que minimicen la cantidad de agregación y, por lo tanto, permitan una carga de fármaco tan alta como sea posible a través de la aplicación de un enlazador hidrofílico.

### Sumario de la invención

La presente invención proporciona enlazadores hidrofílicos que contienen grupos fosfinato, sulfonilo y/o sulfóxido para unir los fármacos a un agente de unión a la célula (por ejemplo, un anticuerpo). La fórmula preferida de conjugados de molécula de unión a la célula - enlazador hidrofílico - fármaco puede representarse como: Cb-(-L-Fármaco)<sub>n</sub>, en donde Cb es un agente de unión a la célula, L es un enlazador hidrofílico, Fármaco es una molécula de fármaco, y n es un número entero de 1 a 20. Las ventajas de aplicar el enlazador hidrofílico en el conjugado de la molécula de unión a la célula-fármaco son: a) la reducción de la agregación de los conjugados en medios basados en agua; b) permitir un conjugado con una mayor relación de fármaco por molécula de unión a la célula, lo que resulta en una mayor potencia; c) que se retiene dentro de la célula objetivo después de que el enlazador del fármaco se libera de los conjugados, que puede combatir las células resistentes a múltiples fármacos (MDR) que expresan la permeabilidad de la glicoproteína (Pgp).

En un aspecto de la presente invención, el enlazador hidrofílico está representado por la fórmula (I) en la que Y puede reaccionar con un agente de unión a la célula y Z puede reaccionar con un fármaco citotóxico:



en el que:

Y representa un grupo funcional que permite la reacción con un agente de unión a la célula;

Q y T son -P(=O)(OM)-, o -S(O<sub>2</sub>)-, o -S(O)-;

m y n son números enteros de 0 a 5, pero no 0 al mismo tiempo; además, cuando m = 1, n = 0, Q no es -P(=O)(OM)-; o cuando n = 1, m = 0, T no es -P(=O)(OM)-;

Z representa un grupo funcional que permite el enlace de un fármaco citotóxico a través de un enlace disulfuro, tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éter, éster, carbamato, carbonato, amina (secundaria, terciaria o cuaternaria), imina, cicloheteroalquileo, heteroaromático, alcóxima o amida, seleccionándose dicho grupo funcional Z de tiol, disulfuro, amino, carboxi, aldehídos, maleimido, haloacetilo, hidracinas e hidroxí;

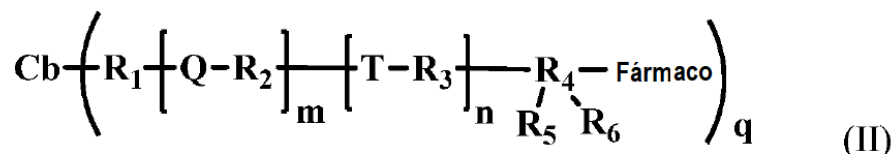
R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> son iguales o diferentes y son H, alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, alqueno o alquino lineal, ramificado o cíclico, o 1-6 átomos de carbono de los ésteres, éter, amida o unidad de polietileno de fórmula (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>, en donde p es un número entero de 0 a 1.000, o una combinación de los mismos;

o R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> son respectivamente una cadena de átomos seleccionados de C, N, O, S, Si y P que conectan covalentemente el ligando de unión a la superficie celular, el grupo fosfinato o sulfonilo, el fármaco conjugado y entre ellos mismos (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub>), en donde dichos átomos se combinan en cualquier forma químicamente relevante, tal

como mediante la formación de alquileno, alquenileno y alquinileno, éteres, polioxilalquileno, ésteres, aminas, iminas, poliaminas, hidrazinas, hidrazonas, amidas, ureas, semicarbazidas, carbazidas, alcoxiaminas, alcoxilaminas, uretanos, aminoácidos, péptidos, aciloxilaminas, ácidos hidroxámicos, o una combinación de los mismos;

M es H, o Na, o K, o  $N^+R_1R_2R_3$  o una sal farmacéutica, en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  se describieron anteriormente.

- 5 En otro aspecto, esta invención proporciona un conjugado de agente de unión a la célula-fármaco de fórmula (II), en el que el agente de unión a la célula, Cb, y el fármaco, Fármaco, han reaccionado en los dos extremos del enlazador hidrofílico:



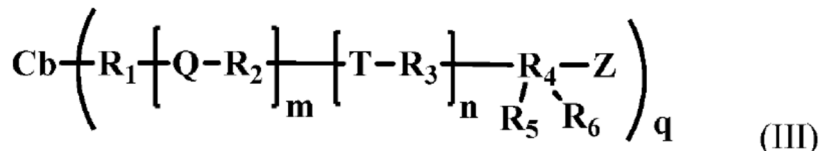
en el que:

- 10 Cb representa un agente de unión a la célula;

Fármaco representa el fármaco unido al agente de unión a la célula mediante el enlazador hidrofílico por un enlace disulfuro, tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éter, éster, carbamato, carbonato, cicloheteroalquilo, heteroaromático, alcoxima o amida;

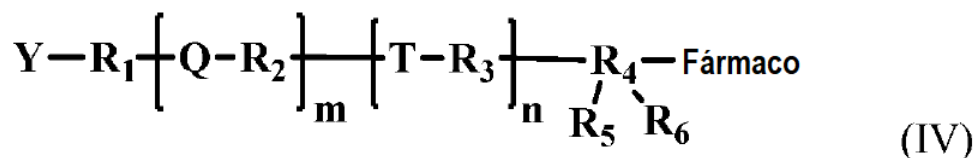
- 15 q es 1 ~ 20; Q, T, m, n,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$  y M se describen de la misma manera que previamente en la fórmula (I).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un agente de unión a la célula modificado de fórmula (III), en el que el agente de unión a la célula, Cb, ha reaccionado con el enlazador hidrofílico, que todavía tiene Z, un grupo capaz de reacción con un fármaco:



- 20 en el que los sustituyentes son como se definieron anteriormente.

En un aspecto aún adicional, la presente invención proporciona un fármaco modificado de fórmula (IV), en el que el fármaco, Fármaco, ha reaccionado con el enlazador hidrofílico, que todavía tiene Y, un grupo capaz de reaccionar con el agente de unión a la célula:



- 25 en el que los sustituyentes son como se definieron anteriormente.

La presente invención se refiere además a un método para fabricar un conjugado de molécula de unión a la célula-fármaco de fórmula (II), en el que el fármaco está unido a un agente de unión a la célula a través del enlazador hidrofílico.

La presente divulgación también se refiere a un método para fabricar una molécula de unión a la célula modificada de fórmula (III), en la que la molécula de unión a la célula reacciona con el enlazador hidrofílico.

La presente divulgación también se refiere a un método para fabricar un fármaco modificado de fórmula (IV), en el que el fármaco reacciona con el enlazador hidrofílico.

5 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la síntesis de reactivos de entrelazamiento que contienen difosfinato que contienen un grupo piridildisulfuro y un éster de ácido carboxílico reactivo, y el enlazador utilizado para la conjugación de un anticuerpo. El fosfinato de amonio se convierte primero en bis(trimetilsilil)fosfonito, seguido de la adición de Michael con un acrilato y luego la reacción de sustitución con una cantidad en exceso de 1,2-dibromoetano para formar ácido (2-bromoetil)(3-  
10 etoxi-3-oxopropil)fosfínico (4). El resto de ácido bromoetil fosfínico (5) se sustituyó luego con bis(trimetilsilil)fosfonito (2) y 1,2-dibromoetano para generar ácido (2-bromoetil)(2-(etoxi(3-etoxi-3-oxopropil)fosforil)etil)fosfínico (8), cuyo grupo bromuro se reemplazó luego por etil xantogenato de potasio, seguido de hidrólisis básica y una reacción de sustitución con un exceso de 2,2'-ditiobispiridina, así como una reacción de condensación del ácido 10 con N-  
15 hidroxisuccinimida (NHS) en un medio ácido que utiliza el agente de acoplamiento de carbodiimida EDC para producir el enlazador de difosfinato (11). El enlazador 11 se puede usar para la conjugación de fármacos con una molécula de unión a la célula (tal como un anticuerpo).

La Figura 2 muestra la síntesis de un enlazador 18 que contiene trifosfinato que contiene un grupo piridildisulfuro y un éster de ácido carboxílico reactivo. El enlazador se puede usar para la conjugación de un fármaco a una molécula de unión a la célula a través de un enlace disulfuro.

20 La Figura 3 muestra la síntesis de entrelazadores 23 que contienen tetrafosfinato que contienen un éster de ácido carboxílico reactivo y un grupo piridildisulfuro, que permite el enlace de un fármaco a una molécula de unión a la célula a través de un enlace disulfuro.

La Figura 4 muestra la síntesis de un entrelazador 26 que contiene difosfinato que contiene un grupo maleimido y un éster de ácido carboxílico reactivo que permite el enlace de un fármaco a una molécula de unión a la célula a través  
25 de un enlace tioéter.

La Figura 5 muestra la síntesis de enlazadores que contienen monofosfinato, difosfinato, trifosfinato y tetrafosfinato que contienen un grupo piridildisulfuro y un éster de ácido carboxílico reactivo mediante la sustitución del 2-bromoacetato de etilo con bis(trimetilsilil)fosfonito (2).

30 La Figura 6 muestra la síntesis de reactivos de enlazamiento que contienen grupos vinilsulfonilo (55), monosulfonilo (61) y disulfonilo (69).

Las Figuras 7 muestran la síntesis de enlazadores mono y disulfonilo.

La Figura 8 muestra la síntesis de enlazadores monosulfonilo que contienen polietilenglicoles.

La Figura 9 muestra la síntesis de enlazadores disulfonilo que contienen polietilenglicoles. El enlazador se puede usar para la conjugación de un anticuerpo o una proteína a través de un enlace disulfuro.

35 La Figura 10 muestra la síntesis de un enlazador hidrofílico que contiene un ácido fosfínico y un grupo sulfonilo.

La Figura 11 muestra la síntesis de un enlazador hidrofílico que contiene grupos fosfinato, sulfonilo y cetona que se pueden usar para la conjugación de un fármaco a un anticuerpo o una proteína a través de un enlace de hidrazona.

La Figura 12 muestra la síntesis de enlazadores hidrofílicos que contienen un disulfonilo, polietilenglicoles, un piridildisulfuro muy impedido y grupos éster de ácido carboxílico reactivo mediante la sustitución de 1,3-dibromo-3-  
40 metilbutano. El enlazador se utiliza para la conjugación de fármacos con un anticuerpo o una proteína a través de un enlace disulfuro que causa el impedimento.

La Figura 13 muestra la síntesis de enlazadores hidrofílicos que contienen un fosfinato y grupos sulfonilo que se usan para la conjugación de fármacos a una molécula de unión a la célula, ya sea a través de un triazol o mediante un  
enlace tioéter.

45 La Figura 14, muestra la síntesis de enlazadores hidrofílicos que contienen un grupo disulfonilo, fosfinato, piridildisulfuro, una cadena de polietilenglicol (PEG) y un éster de ácido carboxílico reactivo. Los enlazadores se utilizan para la conjugación de una molécula de unión a la célula a través del enlace tioéter a la célula.

La Figura 15 muestra la síntesis de enlazadores hidrofílicos que contienen un disulfonilo, fosfinato, alcoxilamino y sustituyentes maleimido, lo que permite que el fármaco que contiene cetona o aldehído se unan a un anticuerpo a través de un tioéter y un enlace alcoxima.

5 La Figura 16 muestra la síntesis de enlazadores que contienen disulfonilo que contienen un alcoxilamino y un sustituyente maleimido, lo que permite que el fármaco que contiene cetona o aldehído se unan a un anticuerpo a través de un tioéter y un enlace alcoxima.

La Figura 17 muestra la síntesis de enlazadores que contienen sulfóxido y que contienen disulfóxido que se utilizan para la conjugación de fármacos con una molécula de unión a la célula mediante un enlace disulfuro.

10 Las Figuras 18 muestran la síntesis de un enlazador (221) que contiene disulfonilo que se usa para la conjugación de fármacos citotóxicos que contienen amina con un anticuerpo a través del enlace Val-Cit-PABC.

La Figura 19 (19-a~19-z) muestra las estructuras de conjugado anticuerpo-fármaco (ADC) de los agentes citotóxicos típicos (los análogos de las tubulinas, caliqueamicinas, maitansinoides, auristatinas, doxorubicina, daunorrubicina, CC -1065, dímeros de pirrolobenzodiazepina) a través de los enlazadores hidrofílicos de esta patente.

15 La Figura 20 muestra el uso de un enlazador (86) hidrofílico para modificar un agente de unión a la célula (anticuerpo antiHer2) y seguir con la producción de un conjugado de agente de unión a la célula-fármaco (TZ03) que contiene el enlazador hidrofílico.

La Figura 21 muestra ensayos de citotoxicidad in vitro durante 5 días del conjugado antiCD22-TZ041 (análogo de tubulina) con diferentes relaciones de carga de fármaco a través de un enlazador (86) hidrofílico.

#### Descripción detallada de la invención

#### 20 Definiciones

"Alquilo" significa un grupo hidrocarburo alifático que puede ser lineal o ramificado que tiene 1 a 8 átomos de carbono en la cadena o cíclico. "Ramificado" significa que uno o muchos grupos alquilo inferiores tales como metilo, etilo o propilo están unidos a una cadena de alquilo lineal. Ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, t-butilo, n-pentilo, 3-pentilo, octilo, nonilo, decilo, ciclopentilo, ciclohexilo, 2,2-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, 3,3-dimetilpentilo, 2,3,4-trimetilpentilo, 3-metilhexilo, 2,2-dimetilhexilo, 2,4-dimetilhexilo, 2,5-dimetilhexilo, 3,5-dimetilhexilo, 2,4-dimetilpentilo, 2-metilheptilo, 3-metilheptilo, n-heptilo, isoheptilo, n-octilo e isooctilo. Un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> puede estar sustituido o no sustituido con uno o más grupos que incluyen, pero no se limitan a, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH<sub>2</sub>, -C(O)NHR', -C(O)N(R')<sub>2</sub>-NHC(O)R', -S(O)<sub>2</sub>R', -S(O)R', -OH, -halógeno (F, Cl, Br o I), -N<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(R'), -N(R')<sub>2</sub> y -CN; donde cada R' se selecciona independientemente entre -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> y arilo.

Un "carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>" significa un anillo carbocíclico no aromático saturado o insaturado de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros. Los carbociclos C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> representativos incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentadienilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, 1,3-ciclohexadienilo, 1,4-ciclohexadienilo, cicloheptilo, 1,3-cicloheptadienilo, 1,3,5-cicloheptatrienilo, ciclooctilo y ciclooctadienilo. Un grupo carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> puede estar sustituido o no sustituido con uno o más grupos que incluyen, pero no se limitan a, -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH<sub>2</sub>, -C(O)NHR', -C(O)N(R')<sub>2</sub>-NHC(O)R', -S(O)<sub>2</sub>R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(R'), -N(R')<sub>2</sub> y -CN; donde cada R' se selecciona independientemente entre -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> y arilo.

Un "carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>" se refiere a un grupo carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> definido anteriormente en el que uno de los átomos de hidrógeno en el carbociclo se reemplaza con un enlace.

40 "Heterociclo" se refiere a un carbociclo C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub> aromático o no aromático en el que uno a cuatro de los átomos de carbono del anillo se reemplazan independientemente con un heteroátomo del grupo de O, N, S, Se y P. Los heteroátomos preferibles son oxígeno, nitrógeno y azufre. Los heterociclos adecuados también se describen en The Handbook of Chemistry and Physics, 76a Edición, CRC Press, Inc., 1995-1996, págs. 2-25 a 2-26, cuya descripción se incorpora aquí como referencia.

45 El heterociclo no aromático preferido incluye, pero no se limita a, pirrolidinilo, pirazolidinilo, imidazolidinilo, oxiranilo, tetrahidrofuranilo, dioxolanilo, tetrahidropirranilo, dioxanilo, dioxolanilo, piperidilo, piperazinilo, morfolinilo, piranilo, imidazolinilo, pirrolinilo, pirazolinilo, tiazolidinilo, tetrahidropirranilo, ditanilo, tiomorfolinilo, dihidropirranilo, tetrahidropirranilo, dihidropirranilo, tetrahidropiridilo, dihidropiridilo, tetrahidropiridinilo, dihidropirranilo, azepanilo, así como los sistemas fusionados que resultan de la condensación con un grupo fenilo.

"Alquilo", "cicloalquilo", "alquenido", "alquinilo", "arilo", "heteroarilo", "heterocíclico" y similares se refieren también al correspondiente "alquilenno", "cicloalquileno", "alquilenno", "alquinileno", "arileno", "heteroarileno", "heterocicleno" y similares que se forman por la eliminación de dos átomos de hidrógeno.

"Átomo de halógeno" se refiere a un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo; preferiblemente un átomo de bromo y cloro.

5 "Farmacéuticamente" o "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica o indeseada cuando se administran a un animal o un ser humano, según corresponda.

10 El "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier portador, diluyente, adyuvante o vehículo, como agentes conservantes o antioxidantes, rellenos, agentes desintegrantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticas activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. Los ingredientes activos suplementarios también pueden incorporarse en las composiciones como combinaciones terapéuticas adecuadas.

20 Como se usa en el presente documento, "sales farmacéuticas" se refiere a derivados de los compuestos divulgados en los que el compuesto original se modifica haciendo sales ácidas o básicas de los mismos. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto original formado, por ejemplo, a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales convencionales no tóxicas incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como acético, propiónico, succínico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, bencenosulfónico, glucorónico, glutámico, benzoico, salicílico, toluensulfónico, oxálico, fumárico, maleico, láctico y similares. Las sales de adición adicionales incluyen sales de amonio tales como trometamina, meglumina, epolamina, etc., sales de metales tales como sodio, potasio, calcio, zinc o magnesio.

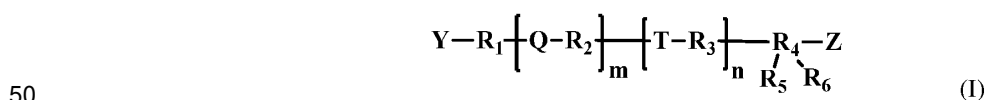
30 Las sales farmacéuticas de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto original que contiene un resto básico o ácido por métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse mediante reacción de las formas ácidas o básicas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En general, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Las listas de sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª edición, Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, pág. 1418, cuya descripción se incorpora a la presente por referencia.

Los nuevos conjugados descritos en este documento utilizan entrelazadores hidrofílicos. En las Figuras 1 a 18 se muestran ejemplos de algunos entrelazadores adecuados y su síntesis.

35 Los enlazadores hidrofílicos

40 Las rutas sintéticas para producir entrelazadores hidrofílicos, así como la preparación de los conjugados de fármacos con moléculas de unión a la célula de la presente invención se muestran en las Figuras 1-19. Los entrelazadores hidrofílicos poseen tres elementos: a) sustituyentes que son grupos fosfinato, sulfonilo o sulfóxido, o una mezcla de estos grupos, b) un grupo, tal como un éster de N-hidroxisuccinimida, grupo maleimido, grupo haloacetilo e hidracida, capaces de reacción con un agente de unión a la célula, y c) un grupo, tal como, pero sin limitarse a, un disulfuro, maleimida, haloacetilo, aldehído, cetona, azida, amina, alcoxilamino e hidracida, capaz de reaccionar con un fármaco. Los sustituyentes hidrofílicos pueden introducirse mediante los métodos descritos en el presente documento. Por ejemplo, de los sustituyentes de fosfinato, pueden introducirse tratando primero un fosfinato de amonio disponible en el mercado con un acrilato mediante la adición de Michael y seguido por la sustitución de la cantidad en exceso de dibromoalcano por un grupo de fosfinato. Por ejemplo, de los sustituyentes sulfonilo y sulfóxido, pueden introducirse primero por la generación de componentes tioéter, seguido de la oxidación de estos componentes. En las Figuras 1-19 se divulga una síntesis más detallada de los enlazadores hidrofílicos y sus usos para la preparación de conjugados de ligando de unión a la célula-fármaco de esta invención.

Preferiblemente, los enlazadores hidrofílicos son compuestos de la fórmula (I) a continuación:



en la que:

Y representa un grupo funcional que permite la reacción con un agente de unión a la célula;

Q y T son  $-P(=O)(OM)-$ , o  $-S(O_2)-$ , o  $-S(O)-$ ;

m y n son números enteros de 0 a 5, pero no 0 al mismo tiempo; además, cuando  $m = 1$ ,  $n = 0$ , Q no es  $-P(=O)(OM)-$ ; o cuando  $n = 1$ ,  $m = 0$ , T no es  $-P(=O)(OM)-$ ;

- 5 Z representa un grupo funcional que permite el enlace de un fármaco citotóxico a través de un disulfuro, tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éter, éster, carbamato, carbonato, amina (secundaria, terciaria o cuaternaria), imina, cicloheteroalquileo, heteroaromático, alcoxima o enlace amida;

10  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5$  y  $R_6$  son iguales o diferentes y son H, alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, alqueno o alquino lineal, ramificado o cíclico, o 1~6 átomos de carbono de los ésteres, éter, amida o unidad de polietileno de fórmula  $(OCH_2CH_2)_p$ , donde p es un número entero de 0 a aproximadamente 1.000, o una combinación de los mismos.

15 En otra realización,  $R_1, R_2, R_3$  y  $R_4$  pueden ser respectivamente una cadena de átomos seleccionados de C, N, O, S, Si y P que conectan covalentemente el ligando de unión a la superficie celular, el grupo fosfinato o sulfonilo o sulfóxido, el fármaco conjugado y ellos mismos ( $R_1, R_2, R_3$  y  $R_4$ ). Los átomos utilizados en la formación del enlazador hidrofílico se pueden combinar de todas las formas químicamente relevantes, tales como la formación de alquileo, alqueno y alquino, éteres, polioxialquileo, ésteres, aminas, iminas, poliaminas, hidracinas, hidrazonas, amidas, ureas, semicarbazidas, carbazidas, alcoxiaminas, alcoxilaminas, uretanos, aminoácidos, aciloxilaminas, ácidos hidroxámicos y muchos otros. Además, debe entenderse que los átomos que forman el enlazador (L) pueden ser saturados o insaturados, o pueden ser radicales, o pueden ser ciclados uno tras el otro para formar estructuras cíclicas divalentes, 20 incluyendo cicloalcanos, éteres cíclicos, aminas cíclicas, arílenos, heteroarílenos y similares en el enlazador.

M es H, o Na, o K, o  $N^+R_1R_2R_3$  o una sal farmacéutica.  $R_1, R_2$  y  $R_3$  se describieron anteriormente.

25 Los ejemplos del grupo funcional, Y, que permite la reacción con un agente de unión a la célula incluyen agentes que reaccionan con aminas tales como, pero sin limitarse a, ésteres de N-hidroxisuccinimida, ésteres de p-nitrofenilo, ésteres de dinitrofenilo, ésteres de pentafluorofenilo; agentes reactivos tiol tales como, pero sin limitarse a, piridildisulfuros, nitropiridildisulfuros, maleimididas, haloacetatos y cloruros de ácido carboxílico.

Los ejemplos del grupo funcional, Z, que permite el enlace de un fármaco citotóxico, incluyen grupos que permiten el enlace a través de un enlace disulfuro, o tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éster, carbamato, carbonato, alcoxima o enlace. Tales grupos funcionales incluyen, pero no se limitan a, tiol, disulfuro, amino, carboxi, aldehídos, maleimido, haloacetilo, hidrazinas e hidroxilo.

- 30 En realizaciones preferidas,  $R_1, R_2, R_3$  y  $R_4$  son alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, o unidad de polietileno de fórmula  $(OCH_2CH_2)_p$ ,  $p = 1 \sim 100$ .

35 La síntesis de entrelazadores que contienen 2-ditio-piridilo de fórmulas (I) se muestra, por ejemplo, en las Figuras 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14 y 17. La síntesis de entrelazadores que contienen maleimido de la fórmula (I) se muestra, por ejemplo, en las Figuras 4, 8, 9, 10, 12, 14 y 18. La síntesis de entrelazadores que contienen tioéter de la fórmula (I) se muestra, por ejemplo, en las Figuras 6, 8, 10 y 13. La síntesis de entrelazadores hidrofílicos que contienen polietilenglicol de fórmula (I), se muestra, por ejemplo, en las Figuras 8, 9 y 14. La síntesis de entrelazadores hidrofílicos que contienen azida de fórmula (I) para la cicloaddición 1,3-dipolar de Huisgen de azidas a alquinos se muestra, por ejemplo, en las Figuras 13. La síntesis de entrelazadores hidrofílicos de fórmula (I) que contienen una hidracida o restos de cetona que permiten el enlace a través de enlaces ácidos lábiles se muestra, por ejemplo, en las 40 Figuras 11, 16 y 18. La síntesis de los entrelazadores hidrofílicos de fórmula (I) que portan un resto alcoxilamino que permite el enlace a través de enlaces alcoxima se muestra, por ejemplo, en las Figuras 15 y 16. La síntesis de los entrelazadores que contienen dipéptidos de la fórmula (I) se muestra, por ejemplo, en la Figura 18.

Conjugados de agente de unión a la célula-fármaco

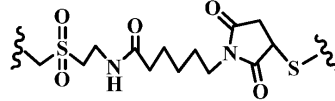
45 Los conjugados de la presente invención pueden representarse por la siguiente fórmula,  $Cb-(-L-Fármaco)_n$ , en la que Cb es un agente de unión a la célula, L es un enlazador hidrofílico, Fármaco es una molécula de fármaco y n es un número entero de 1 a 20.

50 El enlazador hidrofílico L puede estar compuesto por uno o más componentes enlazadores. Los ejemplos de componentes enlazadores incluyen 6-maleimidocaproilo ("MC"), maleimidopropanoilo ("MP"), valina-citrulina ("val-cit" o "vc"), alanina-fenilalanina ("ala-phe" o "af"), p-aminobenciloicarbonylo ("PAB"), 4-tiopentanoato ("SPP"), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato ("MCC"), (4-acetil)aminobenzoato ("SIAB"), 4-tio-butirato (SPDB), 4-tio-2-

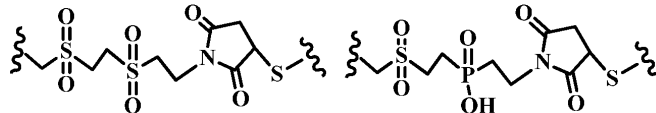


hidroxisulfonyl-butirato (2-sulfo-SPDB), etilenoxi-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- como una o más unidades de repetición ("EO" o "PEO"). Se conocen componentes enlazadores adicionales en la técnica y algunos se describen en el presente documento.

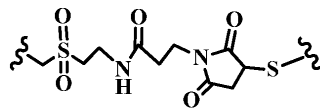
Las estructuras de ejemplo de estos componentes que contienen enlazadores son:



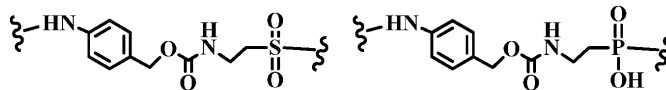
5 (MC, que contiene 6-maleimidocaproilo)



(ME, que contiene etil maleimido)

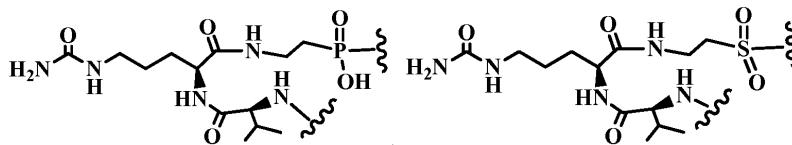


(MP, que contiene propanoil maleimido)

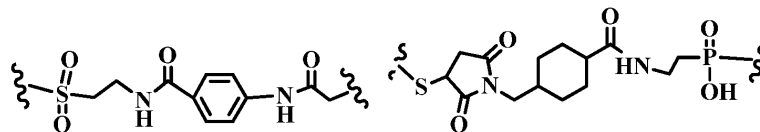


10

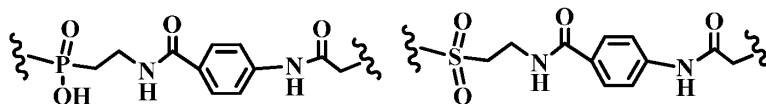
(PAB, que contiene p-aminobenciloxycarbonilo)



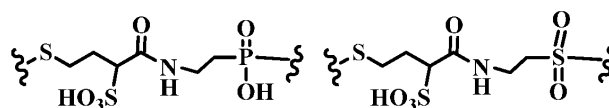
(que contiene valina-citrulina)



15 (MCC, carboxilato de 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1)

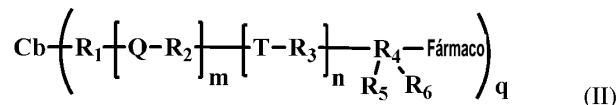


(que contiene (4-acetil)aminobenzoato)



(4-tio-2-hidroxisulfonyl-butirato, 2-sulfo-SPDB)

Preferiblemente, los conjugados tienen la siguiente fórmula (II):



en la que:

Cb representa un agente de unión a la célula;

- 5 Fármaco representa el fármaco unido al agente de unión a la célula a través de los enlazadores hidrofílicos de esta invención mediante un enlace disulfuro, tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éter, carbamato, carbonato, anillo heterocíclico, amina, imina, alcoxima o amida;

q es 1 ~ 20; Q, T, m, n, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub> y M se describen de la misma manera que anteriormente en la fórmula (I).

- 10 Como se describe con más detalle a continuación, el fármaco puede ser cualquiera de muchos fármacos de molécula pequeña, que incluyen, pero no se limitan a, tubulinas, caliqueamicinas, auristatinas, maitansinoides, análogos de CC-1065, morfolinol, doxorubicinas, taxanos, criptoficinas, epotilonas, y dímeros de benzodiazepina (por ejemplo, dímeros de pirrolobenzodiazepina (PBD) o tomaimicina), indolinobenzodiazepinas, imidazobenzotiadiazepinas u oxazolidinobenzodiazepinas).

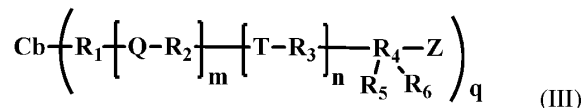
- 15 Para sintetizar el conjugado, el agente de unión a la célula puede modificarse primero con los enlazadores hidrofílicos de la presente invención para introducir grupos disulfuro reactivo, maleimido, haloacetilo, azida, 1-ino, cetona o grupos hidracida. La síntesis de los conjugados agente de unión a la célula-fármaco unidos por enlaces disulfuro se logra mediante un intercambio de disulfuro entre el enlace disulfuro en el agente de unión a la célula modificado y un fármaco que contiene un grupo tiol libre. La síntesis de los conjugados agente de unión a la célula-fármaco unidos a través del  
20 tioéter se logra por reacción del agente de unión a la célula modificado con maleimido o haloacetilo o etilsulfonilo y un fármaco que contiene un grupo tiol libre. La síntesis de conjugados que portan un enlace hidrazona lábil a los ácidos se puede lograr mediante la reacción de un grupo carbonilo con el resto hidracida en el enlazador, mediante métodos conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, P. Hamann et al., Hinman, LM, y al, Cancer Res. 53, 3336-334, 1993; B. Laguzza et al., J. Med. Chem., 32; 548-555, 1959; P. Trail et al., Cancer Res., 57; 100-105, 1997).

- 25 Alternativamente, el fármaco puede modificarse con los enlazadores hidrofílicos de la presente invención para proporcionar un fármaco modificado de fórmula (IV) con una función capaz de reaccionar con un agente de unión a la célula. Por ejemplo, un fármaco que contiene tiol se puede hacer reaccionar con el enlazador hidrofílico de fórmula (I) que porta un sustituyente maleimido o haloacetilo o etilsulfonilo a pH neutro en un regulador acuoso para producir un fármaco conectado al enlazador hidrofílico a través de un enlace tioéter. Un fármaco que contiene tiol puede sufrir un  
30 intercambio de disulfuro con un enlazador hidrofílico que porta un resto piridilditio para obtener un fármaco modificado unido a través de un enlace disulfuro al entrelazador hidrofílico. Un fármaco que porta un grupo hidroxilo o un grupo tiol puede reaccionar con un enlazador hidrofílico que porta un halógeno de esta invención, en presencia de una base suave, para producir un fármaco modificado que porta un enlace éter o tiol éter. Un fármaco que contiene un grupo hidroxilo puede condensarse con un entrelazador hidrofílico de fórmula (I) que porta un grupo carboxilo, en presencia  
35 de un agente deshidratante, tal como EDC o diciclohexilcarbodiimida, para obtener un enlace éster. Un fármaco que contiene un grupo amino puede sufrir condensación similar con un grupo carboxilo en el enlazador hidrofílico de fórmula (I) para obtener un enlace amida.

- El conjugado se puede purificar por medios bioquímicos estándar, tales como filtración en gel en una columna Sephadex G25 o Sephacryl S300, cromatografía de adsorción e intercambio iónico o mediante diálisis. En algunos  
40 casos (por ejemplo, ácido fólico, hormona estimulante de melanocitos, EGF, etc.), los conjugados de agente de unión a la célula-fármaco pueden purificarse por cromatografía, tal como por HPLC, cromatografía en columna de presión media o cromatografía de intercambio iónico.

Agentes de unión a la célula modificada

- 45 El agente de unión a la célula modificada por reacción con enlazadores de la presente invención se representa preferiblemente por la fórmula (III)



en la que los sustituyentes son como se describió anteriormente para los enlazadores hidrofílicos y los conjugados de agente de unión a la célula-fármaco.

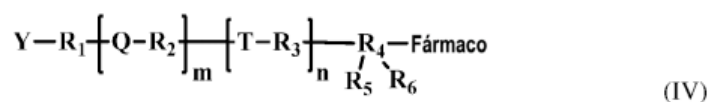
En realizaciones preferidas, Z es un sustituyente disulfuro, un maleimido, un grupo haloacetilo o un éster de N-hidroxisuccinimida, y Cb enlazado con R<sub>1</sub> es a través del enlace tioéter, amida o disulfuro. El agente de unión a la célula modificado se puede preparar a través de una reacción del agente de unión a la célula con los enlazadores hidrofílicos por métodos conocidos en la técnica para otros agentes de entrelazamiento (patentes de Estados Unidos Nos. 5.846.545, 5.585.499, 5.475.092, 5.414.064, 5.208.020 y 4.563.304; Carlsson, J. et al., *Biochem. J.* (1978) 173, 723-737 (1978); Goff, DA, *Bioconjugate Chem.* (1990), 1, 381-386; L. Delprino et al., *J. Pharm. Sci.* (1993), 82, 506-512; S. Arpicco et al., *Bioconjugate Chem* (1997), 8, 327-337).

Ventajosamente, debido a que los grupos fosfinato y los grupos sulfonilo en los enlazadores hidrofílicos son solubles en agua o requieren solo un pequeño porcentaje de disolvente orgánico para mantener la solubilidad en solución acuosa, la reacción entre el agente de unión a la célula y el agente de entrelazamiento puede llevarse a cabo en solución acuosa. El reactivo de entrelazamiento se disuelve en un regulador acuoso, que contiene opcionalmente una pequeña cantidad (típicamente <10% en volumen) de un disolvente orgánico polar que es miscible con agua, por ejemplo, diferentes alcoholes, como metanol, etanol y propanol, acetona, acetonitrilo, tetrahidrofurano (THF), 1,4-dioxano, dimetilformamida (DMF), dimetil acetamida (DMA) o dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración alta, por ejemplo 1-100 mM, y luego se agrega una alícuota apropiada a la solución acuosa regulada del agente de unión a la célula. Una alícuota apropiada es una cantidad de solución que introduce de 1 a 10 grupos de entrelazamiento por agente de unión a la célula, preferiblemente de 1 a 5 grupos, y el volumen que debe agregarse no debe superar el 10%, preferiblemente el 5%, y lo más preferiblemente 0-3% del volumen de la solución del agente de unión a la célula. Las soluciones acuosas para los agentes de unión a la célula se regulan entre pH 6 y 9, preferiblemente entre 6,5 y 7,5 y pueden contener cualquier sal de regulador no nucleofílica útil para estos intervalos de pH. Los reguladores típicos incluyen reguladores de fosfato, clorhidrato de trietanolamina, HEPES y MOPS, que pueden contener componentes adicionales, como ciclodextrinas, sacarosa y sales, por ejemplo, NaCl y KCl. Después de la adición, la reacción se incuba a una temperatura de 4°C a 40°C, preferiblemente a temperatura ambiente. El progreso de la reacción se puede monitorizar midiendo el aumento en la absorción a 320 nm u otra longitud de onda apropiada. Una vez completada la reacción, el aislamiento del agente de unión a la célula modificado se puede realizar de forma rutinaria, utilizando por ejemplo cromatografía de filtración en gel o cromatografía de adsorción.

La extensión de la modificación se puede evaluar midiendo la absorbancia del grupo nitropiridina tiona, dinitropiridina ditiona, piridina tiona, carboxamidopiridina ditiona y dicarboxamidopiridina liberado. La Figura 20 muestra los resultados de la modificación del agente de unión a la célula, el anticuerpo her2, con un entrelazador hidrofílico de la presente invención. El curso temporal de la incorporación del enlazador/anticuerpo (L/A) se muestra, por ejemplo, junto con los fármacos/anticuerpo (D/A) enlazados. Los entrelazadores hidrofílicos descritos en este documento tienen diversos grupos funcionales que pueden reaccionar con cualquier agente de unión a la célula que posea un sustituyente adecuado. Por ejemplo, los agentes de unión a la célula que portan un sustituyente amino o hidroxilo pueden reaccionar con los entrelazadores que portan un éster de N-hidroxisuccinimida (NHS), los agentes de unión a la célula que portan un sustituyente tiol pueden reaccionar con los entrelazadores que portan un grupo maleimido o haloacetilo. Además, los agentes de unión a la célula que portan un sustituyente carbonilo pueden reaccionar con los entrelazadores que portan una hidracida o una hidroxilamina. Un experto en la técnica puede determinar fácilmente qué enlazador usar basándose en la reactividad conocida del grupo funcional disponible en el agente de unión a la célula.

#### Fármacos citotóxicos modificados

Los fármacos citotóxicos modificados por reacción con entrelazadores de la presente invención están representados preferiblemente por la fórmula (IV):



en la que los sustituyentes son como se definieron anteriormente.

En realizaciones preferidas, Y es un sustituyente disulfuro, un maleimido, un grupo haloacetilo o un éster de N-hidroxisuccinimida.

Los fármacos modificados pueden prepararse haciendo reaccionar el fármaco con los entrelazadores de la presente invención para producir un fármaco modificado de fórmula (IV) que tiene una función capaz de reaccionar con un agente de unión a la célula. Por ejemplo, un fármaco que contiene tiol se puede hacer reaccionar con el entrelazador de fórmula (I) que porta un sustituyente maleimido a pH neutro en un regulador acuoso para obtener un fármaco conectado al enlazador hidrofílico a través del enlace tioéter. Un fármaco que contiene tiol puede sufrir un intercambio

de disulfuro con un enlazador hidrofílico que porta un resto piridilditio para obtener un fármaco modificado unido a través de un enlace disulfuro al entrelazador hidrofílico. Un fármaco que porta un grupo hidroxilo se puede hacer reaccionar con un entrelazador que porta un halógeno, en presencia de una base suave, para producir un fármaco modificado que porta un enlace éter. Un fármaco que contiene un grupo hidroxilo puede condensarse con un entrelazador de fórmula (I) que porta un grupo carboxilo, en presencia de un agente deshidratante, tal como EDC o dicitohexilcarbodimida (DCC), para producir un enlace éster. Un fármaco que porta un grupo tiol puede reaccionar con un entrelazador que porta un grupo maleimido o un vinilsulfonilo, o un haloacetilo, para producir un enlace tioéter que contiene un fármaco modificado. Un fármaco que contiene un grupo amino puede experimentar condensación similar con un grupo carboxilo en el entrelazador hidrofílico de fórmula (I) para producir un enlace amida. El fármaco modificado puede purificarse mediante métodos estándar, tales como cromatografía en columna sobre gel de sílice o alúmina, cristalización, cromatografía preparatoria de capa fina, cromatografía de intercambio iónico o HPLC.

#### Agentes de unión a la célula

La molécula de unión a la célula que comprende los conjugados y los agentes de unión a la célula modificados de la presente invención puede ser de cualquier tipo actualmente conocido o por conocer, molécula que se une a complejos con o reacciona con un resto de una población de células se buscó terapéutica o bien biológicamente modificada.

Los agentes de unión a la célula incluyen, pero no se limitan a, proteínas de gran peso molecular tales como, por ejemplo, anticuerpos de longitud completa (anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, dímeros, multímeros, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos); anticuerpos de cadena sencilla; fragmentos de anticuerpos tales como Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, F<sub>v</sub>, [Parham, J. Immunol. 131, 2895-2902 (1983)], fragmentos producidos por una biblioteca de expresión de Fab, anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id), de CDR y fragmentos de unión a epítipo de cualquiera de los anteriores que se unen de forma inmunoespecífica a antígenos de células cancerosas, antígenos virales, antígenos microbianos o una proteína generada por el sistema inmunitario que es capaz de reconocer, unirse a un antígeno específico o que exhibe la actividad biológica deseada (Miller et al. (2003) J. of Immunology 170: 4854-4861); interferones (como los de tipo I, II, III); péptidos; linfoquinas como la IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, GM-CSF, interferón gamma (IFN-γ); hormonas como la insulina, TRH (hormonas liberadoras de tirotrópina), MSH (hormona estimulante de los melanocitos), hormonas esteroides, como los andrógenos y estrógenos, hormona estimulante de los melanocitos (MSH); factores de crecimiento y factores estimulantes de colonias tales como factores de crecimiento epidérmico (EGF), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), factores de crecimiento transformantes (TGF), tales como TGFα, TGFβ, insulina y factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I, IGF-II) G-CSF, M-CSF y GM-CSF [Burgess, Immunology Today, 5, 155-158 (1984)]; factores de crecimiento de vacuna (VGF); factores de crecimiento de fibroblastos (FGF); proteínas de menor peso molecular, polipéptidos, péptidos y hormonas peptídicas, tales como bombesina, gastrina, péptido liberador de gastrina; factores de crecimiento derivados de las plaquetas; interleuquina y citoquinas, tales como interleuquina 2 (IL-2), interleuquina 6 (IL-6), factores inhibidores de la leucemia, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF); vitaminas, como el folato; apoproteínas y glicoproteínas, tales como transferrina [O'Keefe et al., 260 J. Biol. Chem. 932-937 (1985)]; proteínas o lipoproteínas de unión a azúcar, tales como lectinas; moléculas de transporte de nutrientes a la célula; e inhibidores moleculares pequeños, como los inhibidores del antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA) e inhibidores de la tirosina quinasa molecular pequeña (TKI), no péptidos o cualquier otra molécula o sustancia de unión a la célula, como los polímeros bioactivos (Dhar, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 2008, 105, 17356-61); dendrímeros (Lee, et al., Nat. Biotechnol. 2005, 23, 1517-26; Almutairi, et al.; Proc. Natl. Acad. Sci. 2009, 106, 685-90); nanopartículas (Liong, et al., ACS Nano, 2008, 19, 1309-12; Medarova, et al., Nat. Med. 2007, 13, 372-7; Javier, et al., Bioconjugate Chem. 2008, 19, 1309-12); liposomas (Medinai, et al., Curr. Phar. Des. 2004, 10, 2981-9); cápsides virales (Flenniken, et al., Viruses Nanotechnol. 2009, 327, 71-93). En general, los anticuerpos monoclonales se prefieren como agentes de unión a la superficie celular si está disponible uno apropiado. Y los anticuerpos pueden ser murinos, humanos, humanizados, quiméricos o derivados de otras especies.

La producción de anticuerpos utilizados en la presente invención implica procedimientos *in vivo* o *in vitro* o combinación de los mismos. Los métodos para producir anticuerpos peptídicos antirreceptor policlonales son bien conocidos en la técnica, tal como en la patente de Estados Unidos No. 4.493.795 (de Nestor et al.). Un anticuerpo monoclonal generalmente se fabrica fusionando células de mieloma con células de bazo de un ratón que se ha inmunizado con el antígeno deseado (Köhler, G.; Milstein, C. (1975). Nature 256: 495-497). Los procedimientos detallados se describen en "Antibodies - A Laboratory Manual", Harlow y Lane, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York (1988), que se incorpora aquí como referencia. En particular, los anticuerpos monoclonales se producen inmunizando ratones, ratas, hámsteres o cualquier otro mamífero con el antígeno de interés, como la célula objetivo intacta, los antígenos aislados de la célula objetivo, el virus completo, el virus completo atenuado y las proteínas virales. Los esplenocitos se fusionan típicamente con células de mieloma utilizando polietilenglicol (PEG) 6000. Los híbridos fusionados se seleccionan por su sensibilidad a HAT (hipoxantina-aminopterina-timina). Los hibridomas que producen un anticuerpo monoclonal útil en la práctica de esta invención se identifican por su capacidad para inmunorreaccionar con receptores específicos o inhibir la actividad del receptor en células objetivo.

Un anticuerpo monoclonal usado en la presente invención puede producirse iniciando un cultivo de hibridoma monoclonal que comprende un medio nutriente que contiene un hibridoma que secreta moléculas de anticuerpo de la

especificidad de antígeno apropiada. El cultivo se mantiene bajo condiciones y durante un período de tiempo suficiente para que el hibridoma secrete las moléculas de anticuerpo en el medio. Luego se recoge el medio que contiene el anticuerpo. Las moléculas de anticuerpo pueden luego aislarse mediante técnicas bien conocidas, como el uso de cromatografía de afinidad de proteína A; cromatografías aniónica, catiónica, hidrófoba, o de exclusión por tamaño (particularmente por afinidad para el antígeno específico después de la proteína A y cromatografía en columna por tamaño); centrifugación, solubilidad diferencial, o por cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas.

Los medios útiles para la preparación de estas composiciones son bien conocidos en la técnica y están disponibles comercialmente e incluyen medios de cultivo sintéticos. Un ejemplo de un medio sintético es el medio esencial mínimo de Dulbecco (DMEM; Dulbecco et al., *Viol.* 8, 396 (1959)) suplementado con 4,5 g/L de glucosa, glutamina 20 mM, 20% de suero de ternera fetal y con un agente antiespumante, tal como copolímero en bloque de polioxi-etileno-polioxi-propileno.

Además, también se pueden crear líneas celulares productoras de anticuerpos mediante técnicas distintas a la fusión, como la transformación directa de linfocitos B con ADN oncogénico o la transfección con un oncovirus, como el virus de Epstein-Barr (EBV, también llamado herpesvirus 4 humano (HHV-4)) o herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi (KSHV). Véase, las patentes de Estados Unidos Nos. 4.341.761; 4.399.121; 4.427.783; 4.444.887; 4.451.570; 4.466.917; 4.472.500; 4.491.632; 4.493.890. Un anticuerpo monoclonal también puede producirse a través de un péptido o péptidos antirreceptores que contienen el terminal carboxilo como se describe y es bien conocido en la técnica. Véase Niman et al., *Proc. Natl Acad Sci. USA*, 80: 4949-4953 (1983); Geysen et al., *Proc. Natl Acad Sci. USA*, 82: 178-182 (1985); Lei et al. *Biochemistry* 34 (20): 6675-6688, (1995). Típicamente, el péptido antirreceptor o un análogo de péptido se usa solo o conjugado con un portador inmunogénico, como el inmunógeno para producir anticuerpos monoclonales péptido antirreceptor.

También hay una serie de otras técnicas bien conocidas para fabricar anticuerpos monoclonales como moléculas de unión en esta invención. Particularmente útiles son los métodos para producir anticuerpos completamente humanos. Un método es la tecnología de presentación en fagos que se puede utilizar para seleccionar un intervalo de anticuerpos humanos que se unen específicamente al antígeno utilizando métodos de enriquecimiento por afinidad. La presentación en fagos se ha descrito detalladamente en la literatura y la construcción y selección de bibliotecas de presentación en fagos son bien conocidas en la técnica, véase, por ejemplo, Dente et al., *Gene*. 148 (1): 7-13 (1994); Little et al., *Biotechnol Adv.* 12 (3): 539-55 (1994); Clackson et al., *Nature* 352: 264-628 (1991); Huse et al., *Science* 246: 1275-1281 (1989).

Los anticuerpos monoclonales derivados por la técnica de hibridoma de otra especie que no sea la humana, como el ratón, pueden humanizarse para evitar los anticuerpos humanos antirratón cuando se infunden en humanos. Entre los métodos más comunes de humanización de anticuerpos se encuentran el injerto y la renovación de la superficie de la región determinante de la complementariedad. Estos métodos se han descrito ampliamente, véase, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos Nos. 5.859.205 y 6.797.492; Liu et al., *Immunol Rev.* 222: 9-27 (2008); Almagro et al., *Front Biosci.* 13: 1619-33 (2008); Lazar et al., *Mol Immunol.* 44 (8): 1986-98 (2007); Li et al., *Proc. Natl Acad Sci. USA*. 103 (10): 3557-62 (2006), cada una incorporada en el presente documento por referencia. Los anticuerpos completamente humanos también pueden prepararse inmunizando ratones transgénicos, conejos, monos u otros mamíferos, que portan grandes porciones de las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina humana, con un inmunógeno. Ejemplos de tales ratones son: el Xenomouse (Abgenix, Inc.), el HuMAb-Mouse (Medarex/BMS), el VelociMouse (Regeneron), véase también las patentes de Estados Unidos Nos. 6.596.541, 6.207.418, 6.150.584, 6.111.166, 6.075.181, 5.922.545, 5.661.016, 5.545.806, 5.436.149 y 5.569.825. En la terapia humana, las regiones variables murinas y las regiones constantes humanas también pueden fusionarse para construir los llamados "anticuerpos quiméricos" que son considerablemente menos inmunogénicos en el hombre que los mAb murinos (Kipriyanov et al., *Mol Biotechnol.* 26: 39-60 (2004); Houdebine, *Curr Opin Biotechnol.* 13: 625-9 (2002), cada una incorporada aquí como referencia). Además, la mutagénesis dirigida al sitio en la región variable de un anticuerpo puede resultar en un anticuerpo con mayor afinidad y especificidad por su antígeno (Brannigan et al., *Nat Rev Mol Cell Biol.* 3: 964-70, (2002)); Adams et al., *J. Immunol Methods.* 231: 249-60 (1999)) y el intercambio de regiones constantes de un mAb puede mejorar su capacidad para mediar las funciones efectoras de la unión y la citotoxicidad.

Los anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de células malignas también pueden obtenerse comercialmente o producirse mediante cualquier método conocido por un experto en la técnica tal como, por ejemplo, síntesis química o técnicas de expresión recombinante. La secuencia de nucleótidos que codifica anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de células malignas se puede obtener comercialmente, por ejemplo, de la base de datos del GenBank o de una base de datos similar, las publicaciones de la literatura o mediante clonación y secuenciación de rutina.

Aparte de un anticuerpo, un péptido o proteína que se une/bloquea/destina o de alguna otra manera interactúa con los epítopos o receptores correspondientes en una célula seleccionada puede usarse como una molécula de unión. Estos péptidos o proteínas podrían ser cualquier péptido o proteínas al azar que tengan afinidad por los epítopos o receptores correspondientes y no necesariamente tienen que ser de la familia de las inmunoglobulinas. Estos péptidos se pueden aislar mediante técnicas similares a las de los anticuerpos de presentación en fagos (Szardenings, *J Recept Signal Transduct Res.* 2003; 23 (4): 307-49). El uso de péptidos de tales bibliotecas de péptidos aleatorios puede ser

similar a anticuerpos y fragmentos de anticuerpos. Las moléculas de unión de péptidos o proteínas pueden conjugarse o unirse a moléculas o materiales grandes, tales como, pero sin limitarse a, una albúmina, un polímero, un liposoma, una nanopartícula, siempre que dicha unión permita que el péptido o proteína retenga su especificidad de unión al antígeno.

- 5 Los ejemplos de anticuerpos utilizados para la conjugación de fármacos a través de los enlazadores hidrofílicos de esta prevención para tratar el cáncer, enfermedad autoinmune y enfermedad infecciosa incluyen, pero no se limitan a, 3F8 (anti-GD2), Abagovomab (anti CA-125), Abciximab (anti CD41 (integrina alfa-IIb), Adalimumab (anti-TNF- $\alpha$ ), Adecatumumab (anti-EpCAM, CD326), Afelimomab (anti-TNF- $\alpha$ ); Afutuzumab (anti-CD20), Alacizumab pegol (anti-VEGFR2), ALD518 (anti-IL-6), Alemtuzumab (Campath, MabCampath, anti-CD52), Altumomab (anti-CEA),  
 10 Anatumomab (anti-TAG-72), Anrukinzumab (IMA-638, anti-IL-13), Apolizumab (anti-HLA-DR), Arcitumomab (anti-CEA), Aselizumab (anti-L-selectina (CD62L), Atlizumab (tocilizumab, Actemra, RoActemra, receptor anti-IL-6), Atorolimomab (anti- factor Rhesus), Bapineuzumab (anti-beta amiloide), Basiliximab (Simulect, antiCD25 (cadena  $\alpha$  del receptor de IL-2), Baviximab (anti-fosfatidilserina), Bectumomab (LymphoScan, anti-CD22), Belimumab (Benlysta, LymphoStat B, anti-BAFF), Benralizumab (anti-CD125), Bertilimumab (anti-CCL11 (eotaxina-1)),  
 15 Besilesomab (Scintimun, antígeno relacionado con anti-CEA), Bevacizumab (Avastina, anti-VEGF-A), Biciromab (FibriScint, anti-cadena beta de fibrina II), Bivatuzumab (anti-CD44 v6), Blinatumomab (BiTE, anti-CD19), Brentuximab (cAC10, anti-CD30 TNFRSF8), Briakinumab (anti-IL-12, IL-23), Canakinumab (Ilaris, anti-IL-1), Cantuzumab (C242, anti-CanAg), Capromab, Catumaxomab (Removab, anti-EpCAM, anti-CD3), CC49 (anti-TAG-72), Cedelizumab (anti-CD4), Certolizumab pegol (Cimzia anti-TNF- $\alpha$ ), Cetuximab (Erbix, IMC-C225, anti-EGFR), Citatuzumab bogatox (anti-EpCAM), Cixutumumab (anti-IGF-1), Clenoliximab (anti-CD4), Clivatuzumab (anti-MUCI), Conatumumab (anti-TRAIL-R2), CR6261 (anti-hemaglutinina de influenza A), Dacetuzumab (anti-CD40), Daclizumab (Zenapax, anti-CD25 (cadena  $\alpha$  del receptor de IL-2)), Daratumumab (anti-CD38 (ADP ribosa hidrolasa cíclica), Denosumab (Prolia, anti-RANKL), Detumomab (anti- célula de linfoma B), Dorlimomab, Dorlixizumab, Echromeximab (anti- gangliósido GD3),  
 20 Eculizumab (Soliris, anti-C5), Edobacomab (anti-endotoxina), Edrecolomab (Panorex, MAb17-1A, anti-EpCAM), Efalizumab (Raptiva, anti-LFA-1 (CD11a), Efungumab (Mycograb, anti -Hsp90), Elotuzumab (anti-SLAMF7), Elsilimomab (anti-IL-6), Enlimomab pegol (anti-ICAM-1 (CD54)), Epitumomab (anti-episialina), Epratuzumab (anti-CD22), Erlizumab (anti-ITGB2 (CD18), Ertumaxomab (Rexomon, anti-HER2/neu, CD3), Etaracizumab (Abegrin, anti-integrin  $\alpha_v\beta_3$ ), Exbivirumab (anti-antígeno de superficie de hepatitis B), Fanolesomab (NeutroSpec, anti-CD15), Faralimomab (anti-receptor de interferón), Farletuzumab (anti-receptor de folato 1), Felvizumab (anti-virus sincitial respiratorio), Fezakinumab (anti-IL-22), Figitumumab (anti-receptor IGF-1), Fontolizumab (anti-IFN- $\gamma$ ), Foravirumab (anti-glicoproteína del virus de la rabia), Fresolimumab (anti-TGF- $\beta$ ), Galiximab (anti-CD80), Gantenerumab (anti-beta amiloide), Gavilimomab (anti-CD147 (basigin)), Gemtuzumab (anti-CD33), Girentuximab (anti-anhidrasa carbónica 9), Glembatumumab (CR011, anti-GPNMB), Golimumab (Simponi, anti-TNF- $\alpha$ ), Gomiliximab (anti-CD23 (receptor de IgE)), Ibalizumab (anti-CD4), Ibritumomab (anti-CD20), Igovomab (Indimacis-125, anti-CA-125), Imciromab (Myoscint, anti-miosina cardíaca), Infliximab (Remicade, anti-TNF- $\alpha$ ), Intetumumab (anti-CD51), Inolimomab (anti-CD25 (cadena  $\alpha$  del receptor de IL-2)), Inotuzumab (anti-CD22), Ipilimumab (anti-CD152), Iratumumab (anti-CD30 (TNFRSF8)), Keliximab (anti-CD4), Labetuzumab (CEA-Cide, anti-CEA), Lebrikizumab (anti-IL-13), Lemalesomab (anti-NCA-90 (antígeno de granulocitos)), Lerdelimomab (anti-TGF beta 2), Lexatumumab (anti-TRAIL-R2), Libivirumab (anti-antígeno de superficie de hepatitis B), Lintuzumab (anti-CD33), Lucatumumab (anti-CD40), Lumiliximab (anti-CD23 (receptor de IgE)), Mapatumumab (anti-TRAIL-R1), Maslimomab (anti-receptor de células T), Matuzumab (anti-EGFR), Mepolizumab (Bosatria, anti- IL-5), Metelimomab (anti-TGF beta 1), Milatuzumab (anti-CD74), Minretumomab (anti-TAG-72), Mitumomab (BEC-2, anti-gangliósido GD3), Morolimomab (anti-factor Rhesus), Motavizumab (Numax, anti-virus sincitial respiratorio), Muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3, anti-CD3), Nacolomab (anti-C242), Naptumomab (anti-5T4), Natalizumab (Tysabri, anti-integrina  $\alpha_4$ ), Nebacumab (anti-endotoxina), Necitumumab (anti-EGFR),  
 45 Nerelimomab (anti-TNF- $\alpha$ ), Nimotuzumab (Theracim, Theraloc, anti-EGFR), Nofetumomab, Ocrelizumab (anti-CD20), Odulimomab (Afolimomab, anti-LFA-1 (CD11a)), Ofatumumab (Arzerra, anti-CD20), Olaratumab (anti-PDGF-R  $\alpha$ ), Omalizumab (Xolair, anti-región Fc de IgE), Opportuzumab (anti-EpCAM), Oregovomab (OvaRex, anti-CA-125), Otelixizumab (anti-CD3), Pagibaximab (anti-ácido lipoteicoico), Palivizumab (Synagis, Abbosynagis, anti-virus sincitial respiratorio), Panitumumab (Vectibix, ABX-EGF, anti-EGFR), Panobacumab (anti-*Pseudomonas aeruginosa*), Pascolizumab (anti-IL-4), Pemtumomab (Theragyn, anti-MUCI), Pertuzumab (Omnitarg, 2C4, anti-HER2/neu), Pexelizumab (anti-C5), Pintumomab (anti-antígeno adenocarcinoma), Priliximab (anti-CD4), Pritumumab (anti-vimentina), PRO 140 (anti-CCR5), Racotumomab (1E10, anti-(ácido N-glicolilneuramínico (NeuGc, NGNA)-gangliósidos GM3)), Rafivirumab (anti- glicoproteína del virus de la rabia), Ramucirumab (anti-VEGFR2), Ranibizumab (Lucentis, anti-VEGF-A), Raxibacumab (anti- toxina del ántrax, antígeno protector), Regavirumab (anti-glicoproteína B de citomegalovirus), Reslizumab (anti-IL-5), Rilotumumab (anti-HGF), Rituximab (MabThera, Rituxanmab, anti-CD20), Robatumumab (anti-receptor de IGF-1), Rontalizumab (anti-IFN- $\alpha$ ), Rovelizumab (LeukArrest, anti-CD11, CD18), Rupilizumab (Antova, anti-CD 154 (CD40L), Satumomab (anti-TAG-72), Sevirumab (anti-citomegalovirus), Sibrotuzumab (anti-FAP), Sifalimumab (anti-IFN- $\alpha$ ), Siltuximab (anti-IL-6), Siplizumab (anti-CD2), (Smart) MI95 (anti-CD33), Solanezumab (anti-beta amiloide), Sonepcizumab (anti-esfingosina-1-fosfato), Sontuzumab (anti-episialina),  
 60 Stamulumab (anti-miostatina), Sulesomab (LeukoScan, anti-NCA-90 (antígeno de granulocitos), Tacatuzumab (anti-alfa-fetoproteína), Tadocizumab (anti-integrina  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ), Talizumab (anti-IgE), Tanezumab (anti-NGF), Taplitumomab (anti-CD19), Tefibazumab (Aurexis, (anti-factor de agrupamiento A), Telimomab, Tenatumomab (anti-tenascina C), Teneliximab (anti-CD40), Teplizumab (anti-CD3), TGN1412 (anti-CD28), Ticilimumab (Tremelimomab, (anti-CTLA-4), Tigatuzumab (anti-TRAIL-R2), TNX-650 (anti-IL-13), Tocilizumab (Atlizumab, Actemra, RoActemra, (anti-receptor de IL-6), Toralizumab (anti-CD154 (CD40L)), Tositumomab (anti-CD20), Trastuzumab (Herceptina, (anti-HER2/neu),

5 Tremelimumab (anti-CTLA-4), Tucotuzumab celmoleukina (anti-EpCAM), Tuvirumab (anti-virus de la hepatitis B),  
 Urtoxazumab (anti-*Escherichia coli*), Ustekinumab (Stelara, anti-IL-12, IL-23), Vapaliximab (anti-AOC3 (VAP-1)),  
 Vedolizumab, (anti-integrina  $\alpha_4\beta_7$ ), Veltuzumab (anti-CD20), Vepalimomab (anti-AOC3 (VAP-1)), Visilizumab (Nuvion,  
 anti-CD3), Vitaxin (anti-integrina vascular  $\alpha v\beta_3$ ), Volociximab (anti-integrina  $\alpha_5\beta_1$ ), Votumumab (HumaSPECT, anti-  
 10 antígeno tumoral CTAA16.88), Zalutumumab (HuMax-EGFr, (anti-EGFR), Zanolimumab (HuMax-CD4, anti-CD4),  
 Ziralimumab (anti-CD147 (basigina)), Zolimumab (anti-CD5), Etanercept (Enbrel®), Alefacept (Amevive®), Abatacept  
 (Orencia®), Rilonacept (Arcalyst), 14F7 [anti-IRP-2 (proteína reguladora del hierro 2)], 14G2a (anti-gangliósido GD2,  
 del Nat. Cancer Inst. para melanoma y tumores sólidos), J591 (anti-PSMA, Weill Cornell Medical School para cánceres  
 de próstata), 225.28S [anti-HMW-MAA (antígeno asociado al melanoma de alto peso molecular), Sorin Radiofarmaci  
 S.R.L. (Milán, Italia) para melanoma], COL-1 (anti-CEACAM3, CGM1, del Nat. Cancer Inst. USA para cánceres  
 15 colorrectales y gástricos), CYT-356 (Oncotad®, para cánceres de próstata), HNK20 (OraVax Inc. para virus sincitial  
 respiratorio), ImmuRAIT (de Immunomedics para NHL), Lym-1 (anti-HLA-DRIO, Peregrine Pharm. para cánceres),  
 MAK-195F [anti-TNF (factor de necrosis tumoral; TNFA, TNF-alfa; TNFSF2), de Abbott/Knoll para el choque tóxico por  
 sepsis], MEDI-500 [T10B9, anti-CD3, TP $\alpha\beta$  (receptor de células T alfa/beta), complejo, de MedImmune Inc para la  
 enfermedad de injerto contra huésped], RING SCAN [anti-TAG 72 (glucoproteína 72 asociada al tumor), de Neoprobe  
 Corp. para cánceres de mama, colon y recto], Avicidina (anti-EPCAM (molécula de adhesión de células epiteliales),  
 anti-TACSTDI (transductor 1 de señal de calcio asociado al tumor), anti GA733-2 (proteína 2 asociada a tumor  
 gastrointestinal), anti-EGP-2 (glicoproteína 2 epitelial); anti-KSA; antígeno KS1/4; M4S; antígeno tumoral 17-1A;  
 20 CD326, de NeoRx Corp. para colon, ovario, cánceres de próstata y NHL]; LymphoCide (Immunomedics, NJ), Smart  
 ID10 (Protein Design Labs), Oncolym (Techniclone Inc, CA), Allomune (BioTransplant, CA), anti-VEGF (Genentech,  
 CA); CEAcide (Immunomedics, NJ), IMC-1C11 (ImClone Systems, NJ) y Cetuximab (ImClone, NJ).

Otros anticuerpos como ligandos de unión incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos contra los siguientes antígenos:  
 25 Aminopeptidasa N (CD13), Anexina A1, B7-H3 (CD276, varios cánceres), CA125 (ovario), CA15-3 (carcinomas),  
 CA19-9 (carcinomas), L6 (carcinomas), Lewis Y (carcinomas), Lewis X (carcinomas), alfa fetoproteína (carcinomas),  
 CA242 (colorrectal), fosfatasa alcalina placentaria (carcinomas), antígeno prostático específico (próstata), fosfatasa  
 30 ácido prostática (próstata), factor de crecimiento epidérmico (carcinomas), CD2 (enfermedad de Hodgkin, linfoma NHL,  
 mieloma múltiple), épsilon CD3 (linfoma de células T, cánceres de pulmón, mama, gástrico, de ovario, enfermedades  
 autoinmunes, ascitis maligna), CD19 (neoplasias malignas de células B), CD20 (linfoma no Hodgkin), CD22 (leucemia,  
 linfoma, mieloma múltiple, SLE), CD30 (linfoma de Hodgkin), CD33 (leucemia, enfermedades autoinmunes), CD38  
 (mieloma múltiple), CD40 (linfoma, mieloma múltiple, leucemia (CLL)), CD51 (melanoma metastásico, sarcoma), CD52  
 (leucemia), CD56 (cánceres de pulmón de células pequeñas, cáncer de ovario, carcinoma de células de Merkel y  
 tumor líquido, mieloma múltiple), CD66e (cánceres), CD70 (carcinoma de células renales metastásico y linfoma no  
 Hodgkin), CD74 (mieloma múltiple), CD80 (linfoma), CD98 (cánceres), mucina (carcinomas), CD221 (tumores sólidos),  
 35 CD227 (cánceres de mama, ovario), CD262 (NSCLC y otros cánceres), CD309 (cánceres de ovario), CD326 (tumores  
 sólidos), CEACAM3 (cánceres colorrectal, gástrico), CEACAM5 (antígeno carcinoembrionario; CEA, CD66e)  
 (cánceres de mama, colorrectal y pulmonar), DLL4 ( $\Delta$ -tipo-4), EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico,  
 varios tipos de cáncer), CTLA4 (melanoma), CXCR4 (CD184, hematología-oncología, tumores sólidos), Endoglin  
 (CD105, tumores sólidos), EPCAM (molécula de adhesión de células epiteliales, cánceres de vejiga, cabeza, cuello,  
 40 colon, próstata NHL y de ovario), ERBB2 (receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico; cánceres de pulmón, mama,  
 próstata), FCGR1 (enfermedades autoinmunes), FOLR (receptor de folato, cánceres de ovario), gangliósido GD2  
 (cánceres), G-28 (un glicolípido antígeno de la superficie de la célula, melanoma), idiotipo GD3 (cánceres), proteínas  
 de choque térmico (cánceres), HER1 (cánceres de pulmón, estómago), HER2 (cánceres de mama, pulmón y ovario),  
 HLA-DR10 (NHL), HLA-DRB (NHL, leucemia de células B), gonadotropina coriónica humana (carcinoma), IGF1R  
 (receptor del factor 1 de crecimiento similar a la insulina, tumores sólidos, cáncer de sangre), receptor de IL-2 (receptor  
 45 de interleuquina 2, leucemia de células T y linfomas), IL-6R (receptor de interleuquina 6, mieloma múltiple, RA,  
 enfermedad de Castleman, tumores dependientes de IL6), integrinas ( $\alpha v\beta_3$ ,  $\alpha_5\beta_1$ ,  $\alpha_6\beta_4$ ,  $\alpha 11\beta_3$ ,  $\alpha_5\beta_5$ ,  $\alpha v\beta_5$ , para varios  
 tipos de cáncer), MAGe-1 (carcinomas), MAGe-2 (carcinomas), MAGe-3 (carcinomas), MAGe 4 (carcinomas), anti-  
 receptor de transferrina (carcinomas), p97 (melanoma), MS4A1 (subfamilia A miembro 1 de 4 dominios que abarca la  
 50 membrana, linfoma de células B no Hodgkin, leucemia), MUC1 o MUC1-KLH (cáncer de mama, ovario, cuello uterino,  
 bronquios y gastrointestinal), MUC16 (CA125) (cánceres de ovario), CEA (colorrectal), gp100 (melanoma), MART1  
 (melanoma), MPG (melanoma), MS4A1 (subfamilia A de 4 dominios que abarca la membrana, cánceres de pulmón  
 de células pequeñas, NHL), Nucleolina, producto del oncogén Neu (carcinomas), P21 (carcinomas), Parátipo de anti-  
 (ácido N-glicolilneuramínico, cánceres de mama, melanoma), fosfatasa alcalina testicular similar a PLAP (cánceres de  
 ovario, testicular), PSMA (tumores de próstata), PSA (próstata), ROBO4, TAG 72 (glicoproteína 72 asociada al tumor,  
 55 AML, cánceres gástrico, colorrectal, de ovario), proteína transmembrana de las células T (cánceres), Tie (CD202b),  
 TNFRSF 10B (miembro 10B de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral, cánceres), TNFRSF13B  
 (miembro 13B de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral, mieloma múltiple, NHL, otros cánceres,  
 RA y SLE), TPBG (glicoproteína trofoblástica, carcinoma de células renales), TRAIL-R1 (receptor 1 del ligando que  
 induce apoptosis de necrosis tumoral, linfoma, NHL, cánceres colorrectal, pulmón), VCAM-1 (CD106, melanoma),  
 60 VEGF, VEGF-A, VEGF-2 (CD309) (varios cánceres). Se han revisado algunos otros antígenos asociados a tumores  
 reconocidos por anticuerpos (Gerber, et al., mAbs 1: 3, 247-253 (2009); Novellino et al., Cancer Immunol Immunother.  
 54 (3), 187-207 (2005). Franke, et al., Cancer Biother Radiopharm. 2000, 15, 459-76). Ejemplos de estos antígenos  
 contra los cuales se encuentran los anticuerpos: Muchos otros grupos de diferenciaciones (CD4, CD5, CD6, CD7,  
 CD8, CD9, CD10, CD11a, CD11c, CD12w, CD14, CD15, CD16, CDw17, CD18, CD21, CD21, CD21, CD21, CD24,

5 CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD31, CD32, CD34, CD35, CD36, CD37, CD41, CD42, CD43, CD44, CD45, CD46, CD47, CD48, CD49b, CD49c, CD53, CD54, CD55, CD58, CD59, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD63, CD68, CD69, CD71, CD72, CD79, CD81, CD83, CD86, CD87, CD88, CD89, CD90, CD91, CD95, CD96, CD100, CD103, CD105, CD106, CD109, CD117, CD120, CD127, CD133, CD134, CD135, CD138, CD141, CD142, CD144, CD144, CD147, CD151, CD152, CD154, CD156, CD163, CD163, CD166, CDw186, CD195, CD202 (a, b), CD209, CD235a, CD271, CD303, CD304), Anexina A1, Nucleolina, Endoglin (CD105), ROBO4, Amino-peptidasa N, similar a 4 (DLL4), VEGFR-2 (CD309), CXCR4 9CD184), Tie2, B7-H3, WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, Idiotipo, MAGE A3, p53 no mutante, NY-ESO-1, GD2, CEA, MelanA/MART1, mutante de Ras, gp100, mutante de p53, proteinasa 3 (PR1), bcr-abl, tirosinasa, survivina, hTERT, puntos de corte de translocación de sarcoma, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (gen de fusión ETS de TMPRSS2), NA17, PAX3, ALK, receptor de andrógeno, ciclina B1, ácido polisialico, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, Fucosil GM1, mesotelina, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP1B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, anhidrasa carbónica IX, PAX5, OY-TES1, proteína espermática 17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, Legumain, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-1, FAP, PDGFR-β, MAD-CT-2, antígeno 1 relacionado con Fos.

15 En otra realización específica, se usan los conjugados de unión a la célula-fármaco a través de los enlazadores hidrofílicos de esta invención para el tratamiento de cánceres. Los cánceres incluyen, pero no se limitan a, carcinoma adrenocortical, cáncer anal, cáncer de vejiga, tumor cerebral (glioma del tronco encefálico en adultos, astrocitoma cerebeloso en niños, astrocitoma cerebral, ependimoma, meduloblastoma, tumores neuroectodérmico primitivo supratentorial y pineal, glioma de vías oculares e hipotalámico), cáncer de mama, tumor carcinoide, gastrointestinal, carcinoma de primario desconocido, cáncer cervical, cáncer de colon, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer de los conductos biliares extrahepáticos, Familia de tumores de Ewing (PNET), tumor de células germinales extracraneales, cáncer de ojo, melanoma intraocular, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico (estómago), tumor de células germinales, extragonadal, tumor trofoblástico gestacional, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de la hipofaringe, carcinoma de células de los islotes, cáncer de riñón (cáncer de células renales), cáncer de la laringe, leucemia (linfoblástica aguda, mielóide aguda, linfocítica crónica, mielógena crónica, de células pilosas, cáncer de labios y la cavidad oral, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (células no pequeñas, células pequeñas, linfoma (relacionado con el SIDA, sistema nervioso central, células T cutáneas, enfermedad de Hodgkin, enfermedad no Hodgkin, mesotelioma maligno, melanoma, carcinoma de células de Merkel, cáncer de cuello escamoso metastásico con mieloma múltiple oculto primario y otros neoplasmas de células plasmáticas, micosis fungoide, síndrome mielodisplásico, trastornos mieloproliferativos, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, cáncer oral, cáncer de la orofaringe, osteosarcoma, cáncer de ovario (epitelial, tumor de células germinales, tumor potencial de baja malignidad), cáncer pancreático (exocrino, carcinoma de células de islotes), cáncer del seno paranasal y cavidad nasal, cáncer de paratiroides, cáncer de pene, cáncer de feocromocitoma, cáncer de la pituitaria, neoplasma de células plasmáticas, rabdomiosarcoma de cáncer de próstata, cáncer rectal, cáncer de células renales (cáncer de riñón), de pelvis renal y útero (células de transición), cáncer de glándulas salivales, síndrome de Sezary, cáncer de piel, cáncer de piel (linfoma cutáneo de células T, sarcoma de Kaposi, melanoma), cáncer de intestino delgado, sarcoma de tejido blando, cáncer de estómago, cáncer de testículo, timoma (maligno), cáncer de tiroides, cáncer de uretra, cáncer de útero (sarcoma), cáncer inusual de la infancia, cáncer de vagina, cáncer de vulva, tumor de Wilms.

40 En otra realización específica, los conjugados de unión a la célula-fármaco a través de los enlazadores hidrofílicos de esta invención se usan de acuerdo con las composiciones y métodos para el tratamiento o prevención de una enfermedad autoinmune. Las enfermedades autoinmunes incluyen, pero no se limitan a, hepatitis crónica activa autoinmune aclorhidria, encefalomiелitis diseminada aguda, leucoencefalitis hemorrágica aguda, enfermedad de Addison, agammaglobulinemia, alopecia areata, esclerosis lateral amiotrófica, espondilitis anquilosante, anti-nefritis GMB/TBM, síndrome antifosfolípido, síndrome antisintetasa, artritis, alergia atópica, dermatitis atópica, anemia aplásica autoinmune, cardiomiopatía autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, enfermedad autoinmune del oído interno, síndrome linfoproliferativo autoinmune, neuropatía periférica autoinmune, pancreatitis autoinmune, síndrome poliendocrino autoinmune tipos I, II y III, dermatitis autoinmune de progesterona, púrpura trombocitopénica autoinmune, uveítis autoinmune, enfermedad de Balo/esclerosis concéntrica de Balo, síndrome de Bechets, enfermedad de Berger, encefalitis de Bickerstaff, síndrome de Blau, penfigoide bulloso, enfermedad de Castleman, enfermedad de Chagas, síndrome de disfunción inmune y fatiga crónica, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, osteomielitis multifocal recurrente crónica, enfermedad de Lyme crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome de Churg-Strauss, penfigoide cicatricial, enfermedad celíaca, síndrome de Cogan, enfermedad de aglutininas frías, deficiencia del componente 2 del complemento, arteriopatía craneal, síndrome de CREST, enfermedad de Crohn (un tipo de enfermedad inflamatoria idiopática del intestino), síndrome de Cushing, angeítis leucocitoclástica cutánea, enfermedad de Deigo, enfermedad de Dercum, dermatitis herpetiforme, dermatomiositis, diabetes mellitus tipo 1, esclerosis sistémica cutánea difusa, síndrome de Dressler, lupus eritematoso discoide, eczema, endometriosis, artritis relacionada con entesitis, fasciitis eosinofílica, epidermólisis bullosa adquirida, eritema nodoso, crioglobulinemia mixta esencial, síndrome de Evan, fibrodisplasia osificante progresiva, fibromialgia, fibromiositis, alveolitis fibrosa, gastritis, penfigoide gastrointestinal, arteritis de células gigantes, glomerulonefritis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré, encefalitis de Hashimoto, tiroiditis de Hashimoto, anemia hemolítica, purpura de Henoch-Schonlein, herpes gestacional, hidradenitis supurativa, síndrome de Hughes (véase síndrome de antifosfolípido), hipogammaglobulinemia, enfermedades desmielinizantes inflamatorias idiopáticas, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura trombocitopénica idiopática (véase púrpura



trombocitopénica autoinmune), nefropatía por IgA (también enfermedad de Berger), miositis por cuerpos de inclusión, polineuropatía desmielinizante inflamatoria, cistitis intersticial, síndrome de intestino irritable, artritis idiopática juvenil, artritis reumatoide juvenil, enfermedad de Kawasaki, síndrome miasténico de Lambert-Eaton, vasculitis leucocitoclástica, líquen plano, líquen escleroso, enfermedad de IgA lineal (LAD), enfermedad de Lou Gehrig (también esclerosis lateral amiotrófica), hepatitis lupoidea, lupus eritematoso, síndrome de Majeed, enfermedad de Ménière, poliangiitis microscópica, síndrome de Miller-Fisher, enfermedad mixta de tejido conectivo, morfea, enfermedad de Mucha-Habermann, síndrome de Muckle-Wells, mieloma múltiple, esclerosis múltiple, miastenia grave, miositis, narcolepsia, neuromielitis óptica (enfermedad de Devic), neuromiotonía, penfigoide cicatricial ocular, síndrome de opsoclono-mioclono, tiroiditis de Ord, reumatismo palindrómico, PANDAS (trastornos neuropsiquiátricos autoinmunes pediátricos asociados con estreptococos), degeneración cerebelar paraneoplásica, hemoglobinuria paroxística nocturna, síndrome de Parry Romberg, síndrome de Parsonnage-Turner, pars planitis, pénfigo, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, encefalomiелitis perivenosa, síndrome de POEMS, poliarteritis venosa, polimialgia reumática, polimiositis, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, neuropatía inflamatoria progresiva, psoriasis, artritis psoriásica, pioderma gangrenoso, aplasia eritrocítica pura, encefalitis de Rasmussen, fenómeno de Raynaud, policondritis recidivante, síndrome de Reiter, síndrome de las piernas inquietas, fibrosis retroperitoneal, artritis reumatoide, fiebre reumatoide, sarcoidosis, esquizofrenia, síndrome de Schmidt, síndrome de Schnitzler, escleritis, esclerodermia, síndrome de Sjögren, espondiloartropatía, síndrome de la sangre pegajosa, enfermedad de Still, síndrome de la persona rígida, endocarditis bacteriana subaguda, síndrome de Susac, síndrome de Sweet, corea de Sydenham, oftalmía simpática, arteritis de Takayasu, arteritis temporal (arteritis de células gigantes), síndrome de Tolosa-Hunt, mielitis transversa, colitis ulcerosa (un tipo de enfermedad idiopática inflamatoria del intestino), enfermedad del tejido conectivo no diferenciado, espondiloartropatía no diferenciada, vasculitis, vitíligo, granulomatosis de Wegener, síndrome de Wilson, síndrome de Wiskott-Aldrich.

En otra realización específica, una molécula de unión utilizada para el conjugado a través de los enlazadores hidrofílicos de esta invención para el tratamiento o la prevención de una enfermedad autoinmune incluye, pero no se limita a, anti-anticuerpo elastina; Abys contra anticuerpos de células epiteliales; anti-anticuerpo de proteína colágeno de tipo IV anticuerpo de membrana basal; anti-anticuerpo nuclear; anti-ADN de cadena doble; anti-ADN de cadena sencilla, anti-anticuerpo de cardiolipina IgM, IgG; anti-anticuerpo celíaco; anti-anticuerpo de fosfolípido IgK, IgG; anti-anticuerpo SM; anti-anticuerpo mitocondrial; anticuerpo tiroideo; anticuerpo microsomal, anticuerpo de células T; anticuerpo de tiroglobulina, anti SCL-70; anti-Jo; anti-U.sub.IRNP; anti-La/SSB; anti SSA; anti SSB; anti-anticuerpo de células perinatales; anti histonas; Anti RNP; C-ANCA; P-ANCA; anticentrómero; anti-anticuerpo de fibrilarina y anti GBM, anti-anticuerpo gangliósido; anti-anticuerpo de desmogeína 3; anti-anticuerpo p62; anticuerpo anti-splOO; anti-anticuerpo mitocondrial (M2); anticuerpo del factor reumatoide; anti-anticuerpo MCV; anti-anticuerpo topoisomerasa; anti-anticuerpo anti-citoplasmático neutrófilo (cANCA);

En ciertas realizaciones preferidas, la molécula de unión para el conjugado en la presente invención, puede unirse tanto a un receptor como a un complejo del receptor expresado en un linfocito activado que está asociado con una enfermedad autoinmune. El receptor o complejo receptor puede comprender un miembro de la superfamilia del gen de inmunoglobulina (por ejemplo, CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD22, CD28, CD37, CD38, CD56, CD70, CD79, CD90, CD125, CD152/CTLA- 4, PD-1 o ICOS), un miembro de la superfamilia de receptores de TNF (por ejemplo, CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, INF-R1, TNFR-2, RANK, TACI, BCMA, osteoprotegerina, Apo2/TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRAIL-R4 y APO-3), una integrina, un receptor de citoquina, un receptor de quimioquina, una proteína de histocompatibilidad, una lectina (tipo C, tipo S, o tipo I), o una proteína de control del complemento.

En otra realización específica, los ligandos de unión útiles que son inmunoespecíficos para un antígeno viral o microbiano son anticuerpos monoclonales humanos o humanizados. Tal como se usa en el presente documento, el término "antígeno viral" incluye, pero no se limita a, cualquier péptido viral, proteína polipeptídica (por ejemplo, gp120 de VIH, nef de VIH, glicoproteína F de RSV, neuraminidasa del virus de la influenza, hemaglutinina del virus de la influenza, tax del HTLV, glicoproteína del virus del herpes simple (por ejemplo, gB, gC, gD y gE) y antígeno de superficie de la hepatitis B) que es capaz de provocar una respuesta inmune. Como se usa en este documento, el término "antígeno microbiano" incluye, pero no se limita a, cualquier péptido, polipéptido, proteína, sacárido, polisacárido o molécula lipídica microbiana (por ejemplo, un polipéptido bacteriano, de hongos, protozoos patógenos o de levadura que incluyen, por ejemplo, LPS y polisacárido capsular 5/8) que es capaz de provocar una respuesta inmune. Los ejemplos de anticuerpos disponibles para la infección viral o microbiana incluyen, pero no se limitan a, Palivizumab, que es un anti-anticuerpo monoclonal del virus sincitial respiratorio humanizado para el tratamiento de la infección por RSV; PRO542, que es un anticuerpo de fusión CD4 para el tratamiento de la infección por VIH; Ostavir, que es un anticuerpo humano para el tratamiento del virus de la hepatitis B; PROTVIR, que es un anticuerpo IgG1.sub.1 humanizado para el tratamiento del citomegalovirus; y anti-anticuerpos LPS.

Los conjugados de moléculas de unión a la célula-fármaco a través de los enlazadores hidrofílicos de esta invención se pueden usar en el tratamiento de enfermedades infecciosas. Estas enfermedades infecciosas incluyen, pero no se limitan a, infecciones por Acinetobacter, actinomicosis, enfermedad del sueño africana (tripanosis africana), SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida), amebiasis, anaplasmosis, ántrax, infección por Arcanobacterium haemolyticum, fiebre hemorrágica argentina, ascariasis, ascariolosis, aspergilosis, infección por Astrovirus, Babesiosis,

- 5 infección por *Bacillus cereus*, neumonía bacteriana, vaginosis bacteriana, infección por bacteroides, balantidiasis, infección por *Baylisascaris*, infección por el virus BK, piedra negra, infección por *Blastocystis hominis*, blastomicosis, fiebre hemorrágica boliviana, infección por *Borrelia*, botulismo (y botulismo infantil), fiebre hemorrágica brasileña, brucelosis, infección por *Burkholderia*, úlcera de Buruli, infección por *Calicivirus* (Norovirus y Sapovirus),
- 10 campilobacteriosis, candidiasis (moniliasis; tordo), enfermedad por arañazo de gato, celulitis, enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana), chancroide, varicela, clamidia, infección por *Chlamydomyxa pneumoniae*, cólera, cromoblastomicosis, clonorquiasis, infección por *Clostridium difficile*, coccidioidomicosis, fiebre de la garrapata de Colorado, resfriado común (rinofaringitis viral aguda; coriza aguda), enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, criptococosis, criptosporidiosis, larva migratoria cutánea, ciclosporiasis, cisticercosis,
- 15 infección por citomegalovirus, fiebre del dengue, dientamoebiasis, difteria, difilobotriasis, dracunculosis, fiebre hemorrágica del Ébola, equinococosis, erliquiosis, enterobiasis (infección por lombriz intestinal), infección por enterococos, infección por enterovirus, tifus epidémico, eritema infeccioso (quinta enfermedad), exantema súbito, fasciolopsiasis, fasciolosis, insomnio familiar fatal, filariasis, intoxicación alimentaria por *Clostridium perfringens*, infección amebiana de vida libre, infección por *Fusobacterium*, gangrena gaseosa (mionecrosis clostridial), geotricosis, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, giardiasis, glanders, gnatostomiasis, gonorrea, granuloma inguinal (Donovanosis), Infección estreptocócica del grupo A, infección estreptocócica del grupo B, infección por *Haemophilus influenzae*, enfermedad de manos, pies y boca (HFMD), síndrome pulmonar por Hantavirus, infección por *Helicobacter pylori*, síndrome hemolítico-urémico, fiebre hemorrágica con síndrome renal, hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis D, hepatitis E, herpes simple, histoplasmosis, infección por anquilostoma, infección por bocavirus humano,
- 20 ehrlichiosis ewingii humana, anaplasmosis granulocítica humana, infección por metapneumovirus humano, ehrlichiosis monocítica humana, infección por papilomavirus humano, infección por el virus de la parainfluenza humana, himenolepiasis, mononucleosis infecciosa por el virus de Epstein-Barr (Mono), influenza, isosporiasis, enfermedad de Kawasaki, queratitis, infección por *Kingella kingae*, Kuru, fiebre de Lassa, legionelosis (enfermedad de los legionarios) legionelosis (fiebre de Pontiac), leishmaniasis, lepra, leptospirosis, listeriosis, enfermedad de Lyme (borreliosis de Lyme), filariasis linfática (elefantiasis), coriomeningitis linfocítica, malaria, fiebre hemorrágica de Marburg, sarampión, melioidosis (enfermedad de Whitmore), meningitis, enfermedad meningocócica, metagonimiasis, microsporidiosis, molusco contagioso, paperas, tifus murino (tifus endémico), neumonía por micoplasma, micetoma, miyiasis, conjuntivitis neonatal (oftalmia neonatal), (Nueva) Variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD, nvCJD), nocardiosis, oncocercosis (ceguera del río), paracoccidioidomicosis (blastomicosis sudamericana), paragonimiasis,
- 25 pasteurellosis, Pediculosis capitis (piojos de la cabeza), Pediculosis corporis (piojos del cuerpo), Pediculosis pubis (piojos púbicos, piojos cangrejo), enfermedad inflamatoria pélvica, tos ferina (coqueluche), plaga, infección neumocócica, neumonía por neumocistis, neumonía, poliomielitis, infección por *Prevotella*, meningoencefalitis amebiana primaria, leucoencefalitis multifocal progresiva, psitacosis, fiebre Q, rabia, fiebre por mordedura de rata, infección por virus sincitial respiratorio, rinosporidiosis, infección por rinovirus, infección por *Rickettsia*, fiebre del Valle de Rift, fiebre manchada de las Montañas Rocosas, infección por rotavirus, rubéola, salmonelosis, SARS (síndrome respiratorio agudo severo), sarna, esquistosomiasis, sepsis, shigelosis (disentería bacilar), culebrilla (herpes zóster), viruela, esporotricosis, intoxicación alimentaria por estafilococos, infección por estafilococos, Strongyloidiasis, sífilis, teniasis, tétanos (Lockjaw), *Tinea barbae* (Picadura de barbero), *Tinea capitis* (tiña del cuero cabelludo), *Tinea corporis* (tiña del cuerpo), *Tinea cruris* (tiña inguinal), *Tinea manuum* (tiña de la mano), *Tinea nigra*, *Tinea pedis* (pie de atleta),
- 30 *Tinea unguium* (onicomicosis), *Tinea versicolor* (pitiriasis versicolor), toxocaríasis (Ocular Larva Migrans), Toxocaríasis (larva migrans visceral), toxoplasmosis, triquinelosis, tricomoniasis, tricuriasis (infección por gusano látigo), tuberculosis, tularemia, infección por *Ureaplasma urealyticum*, encefalitis equina venezolana, fiebre hemorrágica venezolana, neumonía viral, fiebre del Nilo Occidental, piedra blanca (*Tinea blanca*), infección por *Yersinia pseudotuberculosis*, yersiniosis, fiebre amarilla, cigomicosis.
- 35
- 40
- 45 Las moléculas de unión a la célula, que son más propensas a ser anticuerpos descritos en esta patente que son contra cepas patógenas incluyen, pero sin limitarse a, *Acinetobacter baumannii*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces gerencseriae* y *Propionibacterium propionicus*, *Trypanosoma brucei*, VIH (virus de inmunodeficiencia humana), *Entamoeba histolytica*, género *Anaplasma*, *Bacillus anthracis*, *Arcanobacterium haemolyticum*, Virus Junin, *Ascaris lumbricoides*, género *Aspergillus*, familia *Astroviridae*, género *Babesia*, *Bacillus cereus*, bacterias múltiples, género *Bacteroides*, *Balantidium coli*, género *Baylisascaris*, virus BK, *Piedraia hortae*, *Blastocystis hominis*, *Blastomyces dermatitidis*, virus Machupo, género *Borrelia*, *Clostridium botulinum*, *Sabia*, género *Brucella*, usualmente *Burkholderia cepacia* y otras especies de *Burkholderia*, *Mycobacterium ulcerans*, familia *Caliciviridae*, género *Campylobacter*, usualmente *Candida albicans* y otras especies de *Candida*, *Bartonella henselae*, estreptococos y estafilococos del grupo A, *Trypanosoma cruzi*, *Haemophilus ducreyi*, virus de la varicella zoster (VZV), *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydomyxa pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Clonorchis sinensis*, *Clostridium difficile*, *Coccidioides immitis* y *Coccidioides posadasii*, virus de la fiebre de la garrapata de Colorado, rinovirus, coronavirus, príon de la CJD, virus de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, *Cryptococcus neoformans*, género *Cryptosporidium*, *Ancylostoma braziliense*; parásitos múltiples, *Cyclospora cayentanensis*, *Taenia solium*, *Cytomegalovirus*, virus del dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4) - *Flavivirus*, *Dientamoeba fragilis*, *Corynebacterium diphtheriae*,
- 50 *Diphyllobothrium*, *Dracunculus medinensis*, virus del Ébola, género *Echinococcus*, género *Ehrlichia*, *Enterobius vermicularis*, género *Enterococcus*, género *Enterovirus*, *Rickettsia prowazekii*, *Parvovirus B19*, herpesvirus humano 6 y herpesvirus humano 7, *Fasciolopsis buski*, *Fasciola hepática* y *Fasciola gigantica*, príon de FFI, superfamilia *Filaroidea*, *Clostridium perfringens*, género *Fisobacterium*, *Clostridium perfringens*; otras especies de *Clostridium*, *Geotrichum candidum*, príon de GSS, *Giardia intestinalis*, *Burkholderia mallei*, *Gnathostoma spinigerum* y
- 55 *Gnathostoma hispidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Klebsiella granulomatis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus*
- 60
- 65

agalactiae, Haemophilus influenzae, Enterovirus, principalmente virus Coxsackie A y Enterovirus 71, virus Sin Nombre, Helicobacter pylori, Escherichia coli O157:H7, familia Bunyaviridae, virus de la hepatitis A, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, virus de la hepatitis D, virus de la hepatitis E, virus del herpes simple 1, virus del herpes simple 2, Histoplasma capsulatum, Ancylostoma duodenale y Necator americanus, Hemophilus influenzae, bocavirus humano, Ehrlichia ewingii, Anaplasma phagocytophilum, metapneumovirus humano, Ehrlichia chaffeensis, Virus del papiloma humano, virus de parainfluenza humana, Hymenolepis nana y Hymenolepis diminuta, virus de Epstein-Barr, familia Orthomyxoviridae, Isospora belli, Kingella kingae, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella ozaenas, Klebsiella rhinoscleromatis, prion de Kuru, virus de Lassa, Legionella pneumophila, Legionella pneumophila, Leishmania genus, Mycobacterium leprae y Mycobacterium lepromatosis, género Leptospira, Listeria monocytogenes, Borrelia burgdorferi y otras especies de Borrelia, Wuchereria bancrofti y Brugia malayi, virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV), género Plasmodium, virus de Marburg, virus del sarampión, Burkholderia pseudomallei, Neisseria meningitidis, Metagonimus yokagawai, Microsporidia phylum, virus Molluscum contagiosum (MCV), virus de las paperas, Rickettsia typhi, Mycoplasma pneumoniae, numerosas especies de bacterias (Actinomycetoma) y hongos (Eumycetoma), larvas de moscas dipteras parásitas, Chlamydia trachomatis y Neisseria gonorrhoeae, prion de vCJD, Nocardia asteroides y otras especies de Nocardia, Onchocerca volvulus, Paracoccidioides brasiliensis, Paragonimus westernmani y otras especies de Paragonimus, género Pasteurella, Pediculus humanus capitis, Pediculus humanus corporis, Phthirus pubis, Bordetella pertussis, Yersinia pestis, Streptococcus pneumoniae, Pneumocystis jirovecii, Poliovirus, género Prevotella, Naegleria fowleri, virus JC, Chlamydia psittaci, Coxiella burnetii, virus de la rabia, Streptobacillus moniliformis y Spirillum minus, virus sincitial respiratorio, Rhinosporidium seeberi, Rhinovirus, género Rickettsia, Rickettsia akari, virus de la fiebre del Valle del Rift, Rickettsia rickettsii, Rotavirus, virus de la rubeola, género Salmonella, coronavirus del SARS, Sarcptes scabiei, género Schistosoma, género Shigella, virus de la varicela zóster, viruela mayor o viruela menor, Sporothrix schenckii, género Staphylococcus, género Staphylococcus, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Strongyloides stercoralis, Treponema pallidum, género Taenia, Clostridium tetani, género Trichophyton, Trichophyton tonsurans, género Trichophyton, Epidermophyton floccosum, Trichophyton rubrum, y Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Hortaea werneckii, género Trichophyton, género Malassezia, Toxocara canis o Toxocara cati, Toxoplasma gondii, Trichinella spiralis, Trichomonas vaginalis, Trichuris trichiura, Mycobacterium tuberculosis, Francisella tularensis, Ureaplasma urealyticum, virus de la encefalitis equina venezolana, Vibrio cholerae, virus Guanarito, virus del Nilo Occidental, Trichosporon beigeli, Yersinia pseudotuberculosis, Yersinia enterocolitica, virus de la fiebre amarilla, orden Mucorales (Mucormycosis) y orden Entomophthorales (Entomophthoramycosis), Pseudomonas aeruginosa, Campylobacter (Vibrio) fetal, Aeromonas hydrophila, Edwardsiella tarda, Yersinia pestis, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Salmonella typhimurium, Treponema pertenue, Treponema carateneum, Borrelia vincentii, Borrelia burgdorferi, Leptospira icterohemorrhagiae, Pneumocystis carinii, Brucella abortus, Brucella suis, Brucella melitensis, Mycoplasma spp., Rickettsia prowazeki, Rickettsia tsutsugumushi, Clamidia spp.; hongos patógenos (Aspergillus fumigatus, Candida albicans, Histoplasma capsulatum); protozoos (Entamoeba histolytica, Trichomonas tenax, Trichomonas hominis, Trypanosoma gambiense, Trypanosoma rhodesiense, Leishmania donovani, Leishmania tropica, Leishmania braziliensis, Pneumocystis pneumonia, Plasmodium vivax, Plasmodium falciparum, Plasmodium malariae); o helmintos (Schistosoma japonicum, Schistosoma mansoni, Schistosoma haematobium, y anquilostomas).

Otros anticuerpos como ligandos de unión a la célula utilizados en esta invención para el tratamiento de enfermedades virales incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos contra antígenos de virus patógenos, que incluyen como ejemplos y no como limitación: Poxviridae, Herpesviridae, Adenoviridae, Papovaviridae, Enteroviridae, Picornaviridae, Parvoviridae, Reoviridae, Retroviridae, virus de la influenza, virus de la parainfluenza, paperas, sarampión, virus sincitial respiratorio, rubéola, Arboviridae, Rhabdoviridae, Arenaviridae, virus de la hepatitis no de tipo A/no de tipo B, Rhinoviridae, Coronaviridae, Rotoviridae, Oncovirus [tales como, HBV (carcinoma hepatocelular), HPV (cáncer cervical, cáncer anal), herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi (sarcoma de Kaposi), virus de Epstein-Barr (carcinoma nasofaríngeo, linfoma de Burkitt, linfoma primario del sistema nervioso central), MCPyV (cáncer de células de Merkel), SV40 (virus de los simios 40), HCV (carcinoma hepatocelular), HTLV-I (leucemia/linfoma de células T en adultos)], trastornos inmunes causados por virus: [tales como virus de inmunodeficiencia humana (SIDA)]; virus del sistema nervioso central: [tales como JCV (leucoencefalopatía multifocal progresiva), MeV (panencefalitis esclerosante subaguda), LCV (coriomeningitis linfocítica), encefalitis por arbovirus, Orthomyxoviridae (probable) (Encefalitis letárgica), Rv (Rabia), virus Chandipura, meningitis Herpesviral, síndrome de Ramsay Hunt tipo II; Poliovirus (poliomielitis, síndrome posterior a la polio), HTLV-I (paraparesia espástica tropical)]; Citomegalovirus (retinitis por citomegalovirus, HSV (queratitis herpética)); virus cardiovascular [tales como el CBV (pericarditis, miocarditis)]; sistema respiratorio/nasofaringitis viral aguda/neumonía viral: [virus de Epstein-Barr (infección por EBV/mononucleosis infecciosa), Citomegalovirus; coronavirus del SARS (síndrome respiratorio agudo severo) Orthomyxoviridae: Influenzavirus A/B/C (Influenza/Influenza aviar), Paramyxovirus: virus de parainfluenza humana (Parainfluenza), RSV (virus sincitial respiratorio humano), hMPV]; virus del sistema digestivo [MuV (paperas), citomegalovirus (esofagitis por citomegalovirus); Adenovirus (infección por adenovirus); Rotavirus, Norovirus, Astrovirus, Coronavirus; HBV (virus de la hepatitis B), CBV, HAV (virus de la hepatitis A), HCV (virus de la hepatitis C), HDV (virus de la hepatitis D), HEV (virus de la hepatitis E), HGV (virus de la hepatitis G)]; virus urogenital [tal como, el virus BK, MuV (paperas)].

De acuerdo con un objeto adicional, la presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden el conjugado a través de los enlazadores hidrofílicos de la invención junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable para el tratamiento de cáncer y trastornos autoinmunes. El método para el tratamiento

del cáncer y los trastornos autoinmunes se puede practicar *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*. Los ejemplos de usos *in vitro* incluyen tratamientos de cultivos celulares para destruir todas las células, excepto las variantes deseadas que no expresan el antígeno objetivo; o para matar variantes que expresan antígenos no deseados. Los ejemplos de los usos *ex vivo* incluyen tratamientos de células madre hematopoyéticas (HSC) antes de la realización del trasplante (HSCT) en el mismo paciente para matar células enfermas o malignas. Por ejemplo, tratamiento clínico *ex vivo* para eliminar células tumorales o linfoides de la médula ósea antes del trasplante autólogo en el tratamiento del cáncer o en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, o para eliminar las células T y otras células linfoides de la médula ósea o tejido alogénico antes del trasplante para prevenir la enfermedad de injerto contra huésped, se puede llevar a cabo de la siguiente manera. La médula ósea se extrae del paciente u otro individuo y luego se incuba en medio que contiene suero al que se agrega el conjugado de la invención, las concentraciones varían de aproximadamente 1 pM a 0,1 mM, durante aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 48 horas a aproximadamente 37°C. Las condiciones exactas de concentración y el tiempo de incubación (= dosis) se determinan fácilmente por parte de los médicos expertos. Después de la incubación, las células de la médula ósea se lavan con medio que contiene suero y se devuelven al paciente por infusión i.v. según métodos conocidos. En circunstancias en las que el paciente recibe otro tratamiento, como un ciclo de quimioterapia ablativa o irradiación total del cuerpo entre el momento de la extracción de la médula y la reinfusión de las células tratadas, las células de la médula tratadas se almacenan congeladas en nitrógeno líquido utilizando equipos médicos estándar.

Para uso clínico *in vivo*, el conjugado a través de los enlazadores de la invención se suministrará como soluciones o como un sólido liofilizado que se puede redissolver en agua estéril para inyección. Ejemplos de protocolos adecuados de administración de conjugados son los siguientes. Los conjugados se administran semanalmente durante 8 semanas como un bolo i.v. Las dosis en bolo se administran en 50 a 500 mL de solución salina normal a la que se puede agregar albúmina de suero humano (por ejemplo, 0,5 a 1 mL de una solución concentrada de albúmina de suero humano, 100 mg/mL). Las dosis serán de aproximadamente 50 µg a 200 mg/kg de peso corporal por semana, i.v. (intervalo de 10 µg a 200 mg/kg por inyección). Ocho semanas después del tratamiento, el paciente puede recibir un segundo tratamiento. Los protocolos clínicos específicos con respecto a la vía de administración, excipientes, diluyentes, dosis, tiempos, etc., pueden ser determinados por los médicos calificados.

Los ejemplos de afecciones médicas que pueden tratarse de acuerdo con los métodos *in vivo* o *ex vivo* de la destrucción de poblaciones de células seleccionadas incluyen tumores malignos de cualquier tipo de cáncer, enfermedades autoinmunes, rechazos de injertos e infecciones (virales, bacterianas o parasitarias).

La cantidad de un conjugado que se requiere para lograr el efecto biológico deseado, variará dependiendo de una serie de factores, que incluyen las características químicas, la potencia y la biodisponibilidad de los conjugados, el tipo de enfermedad, la especie a la que pertenece el paciente, el estado de enfermedad del paciente, la vía de administración, todos los factores que dictan las dosis requeridas, el suministro y el régimen a administrar.

En términos generales, los conjugados a través de los enlazadores de esta invención pueden proporcionarse en una solución reguladora fisiológica acuosa que contiene de un 0,1 a un 10% p/v de conjugados para administración parenteral. Los intervalos de dosis típicos son de 1 µg/kg a 0,1 g/kg de peso corporal por día; un intervalo de dosis preferido es de 0,01 mg/kg a 20 mg/kg de peso corporal por día o una dosis equivalente en un niño humano. La dosis preferida del fármaco a administrar es probable que dependa de variables tales como el tipo y el grado de progresión de la enfermedad o trastorno, el estado general de salud del paciente en particular, la eficacia biológica relativa del compuesto seleccionado, la formulación del compuesto, la vía de administración (intravenosa, intramuscular u otra), las propiedades farmacocinéticas del compuesto por la vía de administración elegida y la velocidad (bolo o infusión continua) y el calendario de administraciones (número de repeticiones en un período de tiempo determinado).

Los conjugados a través de los enlazadores de la presente invención también pueden administrarse en formas de dosis unitarias, en donde el término "dosis unitaria" significa una dosis única que puede administrarse a un paciente, y que se puede manejar fácilmente y envasarse, permaneciendo como una dosis unitaria física y químicamente estable que comprende el propio conjugado activo, o como una composición farmacéuticamente aceptable, como se describe a continuación. Como tales, los intervalos de dosis diarias totales típicas son de 0,01 a 100 mg/kg de peso corporal. A modo de guía general, las dosis unitarias para humanos varían de 1 mg a 3.000 mg por día. Preferiblemente, el intervalo de dosis unitaria es de 1 a 500 mg administrados de una a cuatro veces al día, e incluso más preferiblemente de 10 mg a 500 mg, una vez al día. Los conjugados proporcionados en el presente documento pueden formularse en composiciones farmacéuticas por mezcla con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Dichas composiciones de dosis unitarias pueden prepararse para uso por administración oral, particularmente en forma de comprimidos, cápsulas simples o cápsulas de gel blandas; o intranasalmente, en particular en forma de polvos, gotas nasales o aerosoles; o dérmicamente, por ejemplo, tópicamente en ungüentos, cremas, lociones, geles o aerosoles, o a través de parches transdérmicos.

#### Agentes farmacológicos/citotóxicos

Los fármacos que pueden conjugarse con una molécula de unión a la célula en la presente invención son fármacos de molécula pequeña que incluyen agentes citotóxicos, que pueden unirse a o después de que se modifiquen para

unirse al agente de unión a la célula. Un "fármaco de molécula pequeña" se usa ampliamente en el presente documento para referirse a un compuesto orgánico, inorgánico u organometálico que puede tener un peso molecular de, por ejemplo, 100 a 1.800, más adecuadamente de 120 a 1.400. Los fármacos de molécula pequeña están bien caracterizados en la técnica, tal como en el documento WO05058367A2, y en la patente de Estados Unidos No. 4.956.303, pero no se limitan a, y se incorporan en su totalidad por referencia. Los fármacos incluyen fármacos conocidos y aquellos que pueden llegar a ser fármacos conocidos.

Los fármacos que se conocen incluyen, pero no se limitan a, 1) Agentes quimioterapéuticos: a) Agentes alquilantes: tales como las mostazas nitrogenadas: clorambucil, clornafazina, ciclofosfamida, dacarbazina, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, manomustina, mitobronitol, melfalán, mitolactol, pipobromano, novembiquina, fenesterina, predinimustina, tiotepa, trofosfamida, mostaza de uracilo; CC-1065 (incluyendo su adozelesina, carzelesina y análogos sintéticos de bizelesina); duocarmicina (incluidos los análogos sintéticos, KW-2189 y CBI-TMI); dímeros de benzodiazepina (por ejemplo, dímeros de pirrolbenzodiazepina (PBD) o tomamicina, indolinobenzodiazepinas, imidazobenzotiazidiazepinas, u oxazolidinobenzodiazepinas); nitrosoureas: (carmustina, lomustina, clorozotocina, fotemustina, nimustina, ranimustina); alquilsulfonatos: (busulfan, treosulfan, improsulfan y pipsulfan); triazenos: (dacarbazina); compuestos que contienen platino: (carboplatino, cisplatino, oxaliplatino); aziridinas, tales como benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilfosfoamida y trimetilolmelamina]; b) Alcaloides vegetales: tales como alcaloides de la Vinca: (vincristina, vinblastina, vindesina, vinorelbina, navelbin); Taxoides: (paclitaxel, docetaxol) y sus análogos, Maitansinoides (DM1, DM2, DM3, DM4, maitansina y ansamitocinas) y sus análogos, criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); epitolonas, eleuterobina, discodermolida, briostatinas, dolostatinas, auristatinas, tubulinas, cefalostatina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiostatina; c) Inhibidores de la ADN topoisomerasa: tales como [Epipodofilinas: (9-aminocamptotecina, camptotecina, crisnatol, daunomicina, etopósido, etopósido fosfato, irinotecano, mitoxantrona, novantrona, ácidos retinoicos (retinoles), tenipósido, topotecano, 9-nitrocamptotecina (RFS 2000)). mitomicinas: (mitomicina C)]; d) Antimetabolitos: tales como {[Antifolato: inhibidores de DHFR: (metotrexato, trimetrexato, denopterina, pteropterina, aminopterina (ácido 4-aminopterico) o los otros análogos del ácido fólico); inhibidores de la IMP deshidrogenasa: (ácido micofenólico, tiazofurina, ribavirina, EICAR); inhibidores de la ribonucleótido reductasa: (hidroxiurea, deferoxamina)]; [análogos de pirimidina: análogos de uracilo: (ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, 6-azauridina, capecitabina (Xeloda), carmofur, citarabina, ideoxixidina, doxifluridina, encitabina, 5-fluorouracilo, flouxuridina, ratitrexed (Tomudex)]; análogos de la citosina: (citarabina, arabinósido de citosina, fludarabina); análogos de la purina: (azatioprina, fludarabina, mercaptopurina, tiampirina, tioguanina)]; reponedor de ácido fólico, tal como ácido frolínico]; e) Terapias hormonales: como los antagonistas del receptor: [Antiéstrógeno: (megestrol, raloxifeno, tamoxifeno); agonistas de la LHRH: (goserlina, acetato de leuprolida); antiandrógenos: (bicalutamida, flutamida, calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, goserlina, leuprolida, mepitostano, nilutamida, testolactona, trilostano y otros inhibidores de andrógenos)]; retinoides/deltoides: [análogos de la vitamina D3: (CB 1093, EB 1089 KH 1060, colecalciferol, ergocalciferol); terapias fotodinámicas: (verteporfina, ftalcianina, Pc4 fotosensibilizador, demetoxihipocrelina A)]; citoquinas: (interferón alfa, interferón gamma, factor de necrosis tumoral (TNF), proteínas humanas que contienen un dominio de TNF)]; f) Inhibidores de la quinasa, como BIBW 2992 (anti-EGFR/Erb2), imatinib, gefitinib, pegaptanib, sorafenib, dasatinib, sunitinib, erlotinib, nilotinib, lapatinib, axitinib, pazopanib, vandetanib, E7080 (anti-VEGFR2), mubritinib, ponatinib (AP24534), bafetinib (INNO-406), bosutinib (SKI-606), cabozantinib, Trastuzumab, Ranibizumab, Panitumumab, ispinesib; g) antibióticos, como los antibióticos enediina (por ejemplo, caliqueamicinas, especialmente caliqueamicina  $\gamma$ 1,  $\delta$ 1,  $\alpha$ 1 y  $\beta$ 1, véase, por ejemplo, J. Med. Chem., 39 (11), 2103-2117 (1996), Angew Chem Int. Ed. Engl. 33: 183-186 (1994); dinemicina, incluyendo la dinemicina A y la desoxidinemicina; esperamicina, kedarcidina, C-1027, maduropeptina, así como cromóforos de neocarzinostatina y cromóforos relacionados con el antibiótico de cromoproteína enediina, aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina; cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina, epirubicina, esorrubicina, idarrubicina, marcelomicina, nitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; f) Otros: tales como policétidos (acetogeninas), especialmente bullatacina y bullatacinona; gemcitabina, epoxomicinas (por ejemplo, carfilzomib), bortezomib, talidomida, lenalidomida, pomalidomida, tosedostat, zibrestat, PLX4032, STA-9090, Stimuvax, alovectina 7, Xegeva, Provenge, Yervoy, inhibidores de isoprenilación (tales como Lovastatina), neurotoxinas dopaminérgicas (tales como el ion 1-metil-4-fenilpiridinio), inhibidores del ciclo celular (como estaurosporina), actinomicinas (como actinomicina D, dactinomicina), bleomicinas (como bleomicina A2, bleomicina B2, peplomicina), antraciclinas (como daunorrubicina, doxorubicina (adriamicina), idarrubicina, epirubicina, pirarrubicina, zorrubicina, mitoxantrona, inhibidores de la MDR (como el verapamilo), inhibidores de la ATPasa de  $Ca^{2+}$  (tales como la taspigargina), inhibidores de la histona deacetilasa (Vorinostat, Romidepsina, Panobinostat, ácido valproico, Mocetinostat (MGCD0103), Belinostat, PCI-24781, Entinostat, SB939, Resminostat, Givinostat, AR-42, CUDC-101, sulforafano, Tricostatina A); Taspigargina, Celecoxib, glitazonas, galato de epigalocatequina, Disulfiram, Salinosporamida A; antiadrenales, tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina arabinósido, bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; eflornitina (DFMO), elfomitina; acetato de eliptinio, etoglucido; nitrato de galio; gacitosina, hidroxiurea; ibandronato, lentinan; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; ácido podofilínico; 2-etilhidracida; procarbazina; PSK®; razoxano; rizoxina; sizofiran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziuona; 2,2',2''-

trichlorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verrucarina A, roridina A y anguidina); uretano, ARNip, fármacos antisentido y una enzima nucleolítica.

- 2) Un agente de la enfermedad anti-autoinmune incluye, pero no se limita a, ciclosporina, ciclosporina A, ácido aminocaproico, azatioprina, bromocriptina, clorambucilo, cloroquina, ciclofosfamida, corticosteroides (por ejemplo, amcinonida, betametasona, budesonida, hidrocortisona, flunisolida, propionato de fluticasona, fluocortolona danazol, dexametasona, triamcinolona acetona, dipropionato de beclometasona), DHEA, enanercept, hidroxiclороquina, infliximab, meloxicam, metotrexato, mofetilo, micofenilato, prednisona, sirolimus, tacrolimus.
- 3) Un agente contra la enfermedad infecciosa incluye, pero no se limita a, a) Aminoglucósidos: amikacina, astromicina, gentamicina (netilmicina, sisomicina, isicamicina), higromicina B, kanamicina (amikacina, arbekacina, bekanamicina, dibekacina, tobramicina), neomicina, (framcicetina, paromomicina, ribostamicina), netilmicina, espectinomomicina, estreptomomicina, tobramicina, verdamicina; b) Anfenicoles: azidanfenicol, cloranfenicol, florfenicol, tianfenicol; c) Ansamycinas: geldanamicina, herbimicina; d) Carbapenems: biapenem, doripenem, ertapenem, imipenem/cilastatina, meropenem, panipenem; e) Cefems: carbacefem (loracarbef), cefacetil, cefaclor, cefradina, cefadroxil, cefalonio, cefaloridina, cefalotin o cefalotina, cefalexina, cefaloglicina, cefamandol, cefapirina, cefatrizina, cefazaflur, cefazedonol, cefazolina, cefbuperazona, cefcapene, cefdaloxima, cefepim, cefminox, cefoxitina, cefprozil, cefroxadina, ceftazol, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefepim, cefetamet, cefmenoxima, cefodizima, cefonicid, cefoperazona, ceforanida, cefotaxima, cefotiam, ceftazopran, cefalexina, cefpimizol, cefpiramida, cefpirom, cefpodoxima, cefprozil, cefquinoma, cefsulodin, ceftazidima, cefteteram, ceftibuten, ceftioleño, ceftizoxima, ceftobiprol, ceftriaxona, cefuroxima, cefuzonam, cefamicina (cefoxitina, cefotetan, cefmetazol), oxacefem (flomoxef, latamoxef); f) Glicopéptidos: bleomicina, vancomicina (oritavancina, telavancina), teicoplanina (dalbavancina), ramoplanina; g) Gliciliclinas: por ejemplo, tigeciclina; h) Inhibidores de la  $\beta$ -lactamasa: penam (sulbactam, tazobactam), clavam (ácido clavulánico); i). Lincosamidas: clindamicina, lincomicina; j) Lipopéptidos: daptomicina, A54145, antibióticos dependientes de calcio (CDA); k) Macrólidos: azitromicina, cetromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, fluritromicina, josamicina cetólido (telitromicina, cetromicina), midecamicina, miocamicina, oleandomicina, rifamicinas (rifampicina, rifampina, rifabutina, rifapentina), rokitamicina, roxitromicina, espectinomomicina, espiramicina, tacrolimus (FK506), troleandomicina, telitromicina; l) Monobactamas: aztreonam, tigemonam; m). Oxazolidinonas: linezolid; n). Penicilinas: amoxicilina, ampicilina (pivampicilina, hetacilina, bacampicilina, metampicilina, talampicilina), azidocilina, azlocilina, bencilpenicilina, bencilpenicilina benzatínica, fenoximetilpenicilina benzatínica, clometocilina, bencilpenicilina procaína, carbenicilina (carindacilina), cloxacilina, dicloxacilina, epicilina, flucloxacilina, mecilinam (pivmecilinam), mezlocilina, meticilina, nafcilina, oxacilina, penamecilina, penicilina, feneticilina, fetoximetilpenicilina, piperacilina, propicilina, sulbencilina, temocilina, ticarcilina; o). Polipéptidos: bacitracina, colistina, polimixina B; p) Quinolonas: alatrofloxacin, balofloxacin, ciprofloxacin, clinafloxacin, danofloxacin, difloxacin, enoxacin, enrofloxacin, floxacin, garenoxacin, gatifloxacin, gemifloxacin, grepafloxacin, kano trovafloxacin, levofloxacin, lomefloxacin, marbofloxacin, moxifloxacin, nadifloxacin, norfloxacin, orbifloxacin, ofloxacin, pefloxacin, trovafloxacin, grepafloxacin, sitafloxacin, esparfloxacin, temafloxacin, tosufloxacin, trovafloxacin; q). Estreptograminas: pristinamicina, quinupristina /dalfopristina; r) Sulfonamidas: mafenida, prontosil, sulfacetamida, sulfametizol, sulfanilimida, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprim, trimetoprim-sulfametoxazol (co-trimoxazol); s) Antibacterianos esteroides: por ejemplo, ácido fusídico; t) Tetraciclinas: doxiciclina, clortetraciclina, clomociclina, demeclociclina, limeciclina, meclociclina, metaciclina, minociclina, oxitetraciclina, penimepiciclina, rolitetraciclina, tetraciclina, glicilicliclinas (por ejemplo, tigeciclina); u) Otros tipos de antibióticos: annonacina, arsfenammina, inhibidores de bactoprenol (Bacitracina), inhibidores de DADAL/AR (cicloserina), dictiostatina, discodermolida, eleuterobina, epotilona, etambutol, etopósido, faropenem, ácido fusídico, furazolidiona, isoniazida, laulimalida, metronidazol, mupirocina, micolactona, inhibidores de la síntesis de NAM (por ejemplo, fosfomicina), nitrofurantoina, paclitaxel, platensimicina, pirazinamida, quinupristina/dalfopristina, rifampicina (rifampicina), tazobactam tinidazol, uvaricina;
- 4) Fármacos antivirales: a) Inhibidores de entrada/fusión: aplaviroc, maraviroc, vicriviroc, *gp41* (enfuvirtide), PRO 140, CD4 (ibalzumab); b) Inhibidores de la integrasa: raltegravir, elvitegravir, globoidnan A; c) Inhibidores de la maduración: bevirimat, vivecon; d) Inhibidores de la neuraminidasa: oseltamivir, zanamivir, peramivir; e) Nucleósidos y nucleótidos: abacavir, aciclovir, adefovir, amdoxovir, apricitabina, brivudina, cidofovir, clevudina, dexelvucitabina, didanosina (ddl), elvucitabina, emtricitabina (FTC), entecavir, famciclovir, fluorouracilo (5-FU), análogos de 2',3'-didesoxinucleósido 3'-fluoro-sustituido (por ejemplo, 3'-fluoro-2',3'-didesoxitimidina (FLT) y 3'-fluoro-2',3'-didesoxiguanosina (FLG), fomivirsén, ganciclovir, idoxuridina, lamivudina (3TC), l-nucleósidos (por ejemplo,  $\beta$ -l-timidina y  $\beta$ -l-2'-desoxicitudina), penciclovir, racivir, ribavirina, estampilidina, estavudina (d4T), taribavirina (viramidina), telbivudina, tenofovir, trifluridina valaciclovir, valganciclovir, zalcitabina (ddC), zidovudina (AZT); f) No nucleósidos: amantadina, ateviridina, capravirina, diarilpirimidinas (etravirina, rilpivirina), delavirdina, docosanol, emivirina, efavirenz, foscarnet (ácido fosfonórfmico), imiquimod, interferón alfa, lovirida, lodenosina, metisazona, nevirapina, NOV-205, peginterferón alfa, podofilotoxina, rifampicina, rimantadina, resiquimod (R-848), tromantadina; g) Inhibidores de proteasa: amprenavir, atazanavir, boceprevir, darunavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, pleconaril, ritonavir, saquinavir, telaprevir (VX-950), tipranavir; h) Otros tipos de fármacos antivirales: abzima, arbidol, calanolide a, ceragenina, cianovirina-n, diarilpirimidinas, galato de epigalocatequina (EGCG), foscarnet, griffithsin, taribavirina (viramidina), hidroxiurea, KP-1461, miltefosina, pleconaril, inhibidores de portmanteau, ribavirina, seliciclib.

5) Los fármacos utilizados para los conjugados a través de un enlazador hidrofílico de la presente invención también incluyen radioisótopos. Ejemplos de radioisótopos (radionúclidos) son  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{86}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{133}\text{Xe}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{211}\text{At}$ , o  $^{213}\text{Bi}$ . Los anticuerpos marcados con radioisótopos son útiles en experimentos de formación de imágenes dirigidos a receptores o pueden ser para tratamientos dirigidos, como los conjugados de anticuerpo-fármaco de la invención (Wu et al. (2005) *Nature Biotechnology* 23 (9): 1137-1146). Las moléculas de unión a la célula, por ejemplo, un anticuerpo puede marcarse con reactivos de ligando a través de los enlazadores hidrofílicos de la presente patente que se unen, forman quelatos o bien se complejan con un radioisótopo metálico, usando las técnicas descritas en *Current Protocols in Immunology*, Volúmenes 1 y 2, Coligen et al., Ed. Wiley-Interscience, Nueva York, N.Y., Pubs. (1991). Los ligandos quelantes que pueden formar complejos con un ion metálico incluyen DOTA, DOTP, DOTMA, DTPA y TETA (Macrocyclics, Dallas, Texas).

6) La presente divulgación también se refiere a sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los fármacos anteriores.

Entre los agentes citotóxicos se incluyen tubulinas, maitansinoides, y, por ejemplo, análogos de CC-1065, compuestos de daunorrubicina y doxorubicina, dímeros de benzodiazepina (por ejemplo, dímeros de pirrolbenzodiazepina (PBD), tomamincina, antramincina, indolinbenzodiazepinas, imidazobenzotiadiazepinas u oxazolidinbenzodiazepinas), caliqueamicinas y los antibióticos enediina, actinomicina, azaserinas, bleomicinas, epirubicina, tamoxifeno, idarrubicina, dolastatinas/auristatinas (por ejemplo, monometil auristatina E, MMAE, MMAF, auristatina PYE, auristatin TP, Auristatinas 2-AQ, 6-AQ, EB (AEB) y EFP (AEFP)), duocarmicinas, tiotepa, vincristina, hemisterlinas y esperamicinas, y sus análogos y derivados.

Las tubulinas que se prefieren para la conjugación en la presente invención son bien conocidas en la técnica y pueden aislarse de fuentes naturales según métodos conocidos o prepararse sintéticamente según métodos conocidos (por ejemplo, Balasubramanian, R.; et al. *J. Med. Chem.*, 2009, 52, 238-240. Wipf, P.; et al. *Org. Lett.*, 2004, 6, 4057-4060. Pando, O.; et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133, 7692-7695. Reddy, J. A.; et al. *Mol. Pharmaceutics*, 2009, 6, 1518-1525.

Raghavan, B.; et al. *J. Med. Chem.*, 2008, 51, 1530-1533. Patterson, A. W.; et al. *J. Org. Chem.*, 2008, 73, 4362-4369. Pando, O.; et al. *Org. Lett.*, 2009, 11 (24), páginas 5567-5569. Wipf, P.; et al. *Org. Lett.*, 2007, 9 (8), 1605-1607. Friestad, G. K.; *Org. Lett.*, 2004, 6, páginas 3249-3252. Hillary M. Peltier, H. M.; et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 16018-16019. Chandrasekhar, S.; et al. *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 9531-9534. Liu, Y.; et al. *Mol. Pharmaceutics*, 2012, 9, 168-175. Friestad, G. K.; et al. *Org. Lett.*, 2009, 11, 1095-1098. Kubicek, K.; et al., *Angew Chem Int Ed Engl*, 2010, 49: páginas 4809-12. Chai, Y.; et al., *Chem Biol*, 2010, 17: 296-309. Ullrich, A.; et al., *Angew Chem Int Ed Engl*, 2009, 48, 4422-5. Sani, M.; et al. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2007, 46, 3526-9. Domling, A.; et al., *Angew Chem Int Ed Engl*, 2006, 45, 7235-9. Solicitudes de patente: Zanda, M.; et al, solicitud de patente canadiense CA 2710693 (2011). Chai, Y.; et al. solicitud de patente europea 2174947 (2010), PCT WO 2010034724. Leamon, C.; et al, PCT WO 2010033733, WO 2009002993. Ellman, J.; et al, PCT WO 2009134279; PCT WO 2009012958, solicitud de patente de Estados Unidos 20110263650, 20110021568, Matschiner, G.; et al, PCT WO 2009095447. Vlahov, I.; et al, PCT WO 2009055562, WO 2008112873. Low, P.; et al, PCT WO 2009026177. Richter, W., PCT WO 2008138561. Kjems, J.; et al, PCT WO 2008125116. Davis, M.; et al, PCT WO 2008076333. Diener, J.; et al, solicitud de patente de Estados Unidos 20070041901, WO 2006096754. Matschiner, G.; et al, PCT WO 2006056464. Vaghefi, F.; et al, 5 PCT WO 2006033913. Doemling, A., Ger. Offen. DE 102004030227; PCT WO 2004005327; WO 2004005326; WO2004005269. Stanton, M.; et al, publicación de la solicitud de patente de Estados Unidos 20040249130. Hoefle, G.; et al, Ger. Offen. DE 10254439; DE 10241152; DE 10008089. Leung, D.; et al, PCT WO 2002077036. Reichenbach, H.; et al, Ger. Offen. DE 19638870; Wolfgang, R.; US 20120129779, Chen, H., solicitud de patente de Estados Unidos 20110027274. La estructura preferida de las tubulinas para la conjugación de moléculas de unión a la célula se describe en la solicitud de patente PCT/IB2012/053554.

Las caliqueamicinas y sus antibióticos de enediina relacionados se describen en: Nicolaou, K. C. et al., *Science* 1992, 256, 1172-1178; *Proc. Natl Acad Sci USA*. 1993, 90, 5881-5888), patentes de Estados Unidos Nos. 4.970.198; 5.053.394; 5.108.912; 5.264.586; 5.384.412; 5.606.040; 5.712.374; 5.714.586; 5.739.116; 5.770.701; 5.770.710; 5.773.001; 5.877.296; 6.015.562; 6.124.310; 8.153.768.

Los maitansinoides y los análogos de maitansinol se describen en las patentes de Estados Unidos Nos. 4,256,746, 4,361,650 and 4,307,016, 4,294,757, 4,294,757, 4,371,533, 4,424,219, 4,331,598, 4,450,254, 4,364,866, 4,313,946, 4,315,929, 4,362,663, 4,322,348, 4,371,533, 4,424,219, 5,208,020, 5,416,064, 5,208,020; 5,416,064; 6,333.410; 6,441,163; 6,716,821, 7,276,497, 7,301,019, 7,303,749, 7,368,565, 7,411,063, 7,851,432, 8,163.888.

Los taxanos, que incluyen Paclitaxel (Taxol), un producto natural citotóxico, y docetaxel (Taxoter), un derivado semisintético, y sus análogos se ejemplifican en: K C. Nicolaou et al., *J. Am. Chem. Soc.* 117, 2409-2420, (1995); Ojima et al., *J. Med. Chem.* 39: 3889 - 3896 (1996); 40: 267-278 (1997); 45, 5620-5623 (2002); Ojima et al., *Proc. Natl Acad Sci.*, 96: 4256-4261 (1999); Kim et al., *Bull. Korean Chem. Soc.*, 20, 1389-1390 (1999); Miller, et al. *J. Med. Chem.*, 47, 4802-4805 (2004); las patentes de Estados Unidos Nos. 5.475.011, 5.728.849, 5.811.452; 6.340.701;

6.372.738; 6.391.913, 6.436.931; 6.589.979; 6.596.757; 6.706.708; 7.008.942; 7.186.851; 7.217.819; 7,276,499; 7,598,290; 7,667,054

Los análogos de CC-1065 y los análogos de doucarmicina, así como su síntesis, se describen en, por ejemplo, Warpehoski et al., J. Med. Chem. 31: 590-603 (1988), D. Boger et al., J. Org. Chem; 66; 6654-6661, 2001; las patentes de los Estados Unidos Nos. 4169888, 4391904, 4671958, 4816567, 4912227, 4923990, 4952394, 4975278, 4978757, 4994578, 5037993, 5070092, 5084468, 5101038, 5117006, 5137877, 5138059, 5147786, 5187186, 5223409, 5225539, 5288514, 5324483, 5332740, 5332837, 5334528, 5403484, 5427908, 5475092, 5495009, 5530101, 5545806, 5547667, 5569825, 5571698, 5573922, 5580717, 5585089, 5585499, 5587161, 5595499, 5606017, 5622929, 5625126, 5629430, 5633425, 5641780, 5660829, 5661016, 5686237, 5693762, 5703080, 5712374, 5714586, 5739116, 5739350, 5770429, 5773001, 5773435, 5786377 5786486, 5789650, 5814318, 5846545, 5874299, 5877296, 5877397, 5885793, 5939598, 5962216, 5969108, 5985908, 6060608, 6066742, 6075181, 6103236, 6114598, 6130237, 6132722, 6143901, 6150584, 6162963, 6172197, 6180370, 6194612, 6214345, 6262271, 6281354, 6310209, 6329497, 6342480, 6486326, 6512101, 6521404, 6534660, 6544731, 6548530, 6555313, 6555693, 6566336, 6,586,618, 6593081, 6630579, 6756397, 6759509, 6762179, 6884869, 6897034, 6946455, 7,049,316, 7087600, 7091186, 7115573, 7129261, 7214663, 7223837, 7304032, 7329507, 7329760, 7388026, 7655660, 7655661, 7906545, 8012978.

Daunorrubicina/Doxorrubicina y su síntesis se ejemplifican en: Hurwitz, E., et al., Cancer Res. 35, 1175-1181 (1975). Yang, H. M., y Reisfeld, R. A., Proc. Natl. Acad. Sci. 85, 1189-1193 (1988); Pietersz, C. A., E., et al., E., et al., Cancer Res. 48, 926-9311 (1988); Trouet, et al., 79, 626-629 (1982); Z. Brich et al., J. Controlled Release, 19, 245-258 (1992); Chen et al., Syn. Comm., 33, 2377-2390, 2003; King et al., Bioconj. Chem., 10, 279-288, 1999; King et al., J. Med. Chem., 45, 4336-4343, 2002; Kratz et al., J Med Chem. 45, 5523-33. 2002; Kratz et al., Biol Pharm Bull. Jan. 21, 56-61, 1998; Lau et al., Bioorg. Med. Chem. 3, 1305-1312, 1995; Scott et al., Bioorg. Med. I Chem. Lett. 6, 1491-1496; 1996; Watanabe et al., Tokai J. Experimental Clin. Med. 15, 327-334, 1990; Zhou et al., J. Am. Chem. Soc. 126, 15656-7, 2004; WO 01/38318; patentes de Estados Unidos Nos. 5.106.951; 5.122.368; 5.146.064; 5.177.016; 5.208.323; 5.824.805; 6.146.658; 6.214.345; 7.569.358; 7.803.903; 8.084.586; 8.053.205.

Las auristatinas (por ejemplo, auristatina E (AE), auristatina EB (AEB), auristatina EFP (AEFP), monometil auristatina E (MMAE), Monometilauristatina (MMAF), Auristatina F fenilén diamina (AFP) y una variante de fenilalanina de MMAE) que son análogos sintéticos de dolastatinas, se describen en Int. J. Oncol. 15:367-72 (1999); Molecular Cancer Therapeutics, vol. 3, No. 8, pp. 921-932 (2004); solicitudes de patente Estadounidenses Nos. 11134826, 20060074008, 2006022925. Patentes de Estados Unidos Nos. 4414205, 4753894, 4764368, 4816444, 4879278, 4943628, 4978744, 5122368, 5165923, 5169774, 5286637, 5410024, 5521284, 5530097, 5554725, 5585089, 5599902, 5629197, 5635483, 5654399, 5663149, 5665860, 5708146, 5714586, 5741892, 5767236, 5767237, 5780588, 5821337, 5840699, 5965537, 6004934, 6033876, 6034065, 6048720, 6054297, 6054561, 6124431, 6143721, 6162930, 6214345, 6239104, 6323315, 6342219, 6342221, 6407213, 6569834, 6620911, 6639055, 6884869, 6913748, 7090843, 7091186, 7097840, 7098305, 7098308, 7498298, 7375078, 7462352, 7553816, 7659241, 7662387, 7745394, 7754681, 7829531, 7837980, 7837995, 7902338, 7964566, 7964567, 7851437, 7994135.

Los dímeros de benzodiazepina (por ejemplo, dímeros de pirrolobenzodiazepina (PBD) o tomamicina), indolino benzodiazepinas, imidazobenzotiadiazepinas u oxazolidinobenzodiazepinas) que son agentes citotóxicos preferidos de acuerdo con la presente invención, son ejemplos de la técnica: patentes de los Estados Unidos Nos. 8.163.736; 8.153.627; 8.034.808; 7.834.005; 7.741.319; 7.704.924; 7.691.848; 7.678.787; 7.612.062; 7.608.615; 7.557.099; 7.528.128; 7.528.126; 7.511.032; 7.429.658; 7.407.951; 7.326.700; 7.312.210; 7.265.105; 7.202.239; 7.189.710; 7.173.026; 7.109.193; 7.067.511; 7.064.120; 7.056.913; 7.049.311; 7.022.699; 7.015.215; 6.979.684; 6.951.853; 6.884.799; 6.800.622; 6.747.144; 6.660.856; 6.608.192; 6.562.806; 6.977.254; 6.951.853; 6.909.006; 6.344.451; 5.880.122; 4.935.362; 4.764.616; 4.761.412; 4.723.007; 4.723.003; 4.683.230; 4.663.453; 4.508.647; 4.464.467; 4.427.587; 4.000.304; solicitudes de patente de los Estados Unidos Nos. 20100203007, 20100316656, 20030195196.

Los análogos y derivados de los fármacos/agentes citotóxicos descritos en la presente patente pueden conjugarse a través de un enlazador hidrofílico de la presente patente. Un experto en la técnica de fármacos/agentes citotóxicos entenderá fácilmente que cada uno de los fármacos/agentes citotóxicos descritos en el presente documento puede modificarse de tal manera que el compuesto resultante aún retenga la especificidad y/o actividad del compuesto de partida. El experto en la materia también entenderá que muchos de estos compuestos pueden usarse en lugar de los fármacos/agentes citotóxicos descritos en el presente documento.

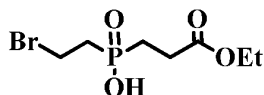
### Ejemplos

La invención se describe adicionalmente en los siguientes ejemplos, que no pretenden limitar el alcance de la invención. Las líneas celulares descritas en los siguientes ejemplos se mantuvieron en cultivo según las condiciones especificadas por la American Type Culture Collection (ATCC) o Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Alemania (DMSZ), a menos que se especifique lo contrario. Los reactivos de cultivo celular se obtuvieron a través de Invitrogen Corp., a menos que se especifique lo contrario. Todos los disolventes



anhidros se obtuvieron comercialmente y se almacenaron en botellas Sure-seal bajo atmósfera de nitrógeno. Todos los demás reactivos y disolventes se adquirieron con el grado más alto disponible y se utilizaron sin purificación adicional. Los espectros de RMN se registraron en el instrumento Varian Mercury 300 MHz. Los cambios químicos ( $\delta$ ) se reportan en partes por millón (ppm) referenciados con respecto a tetrametilsilano a 0,00 y las constantes de acoplamiento (J) se reportan en Hz. Los datos del espectro de masas de baja resolución se adquirieron en un espectrómetro de masas Waters Micromass ZMD con el módulo de separaciones de HPLC 2795 de Waters y el detector de matriz de fotodiodos 2996.

**Ejemplo 1:** Ácido (2-bromoetil)(3-etoxi-3-oxopropil)fosfínico (o 3-[2-bromoetil(hidroxi)fosfinil]propanoato de etilo) (4)



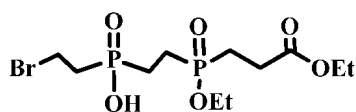
Una mezcla de hipofosfito de amonio (8,00 g, 96 mmol) y hexametildisilazano (20,0 mL, 96 mmol) se calentó a 120°C durante 1 h bajo atmósfera de argón. Después de enfriar la mezcla a 0°C, se añadió cuidadosamente gota a gota acrilato de etilo (10,4 mL, 96 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 50°C durante 2 h. Luego, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió dibromoetano (40,0 mL) y la mezcla se agitó durante 5 horas a 120°C. El trimetilbromosilano formado y el exceso de dibromoetano se eliminaron al vacío. Luego se añadieron gota a gota 100 mL de etanol acuoso (1:1) al residuo y se calentaron a reflujo durante 0,5 h. A continuación, el disolvente se eliminó al vacío y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y el disolvente se eliminó al vacío para producir el compuesto 4 del título (10,85 g, 41% de rendimiento). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  1,26 (t, J = 7,1 Hz, 3H), 2,07 (m, 2H), 2,42 (m, 2H), 2,62 (m, 2H), 3,59 (m, 2H), 4,15 (q, J = 7,1 Hz, 2H). RMN <sup>31</sup>P (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  49,5; ESI MS m/z-C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>BrO<sub>4</sub>P (M-H), calculado 271,98, encontrado 271,97.

**Ejemplo 2.** 3-[2-Bromoetil(etoxi)fosfinil]propanoato de etilo (5) y 3-[etoxi(vinil)fosfinil]propanoato de etilo (6).



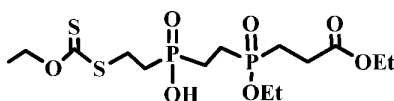
Se trató una cantidad de 10,84 g de 4 (20 mmol) con 100,0 mL de ortoformiato de trietilo y la mezcla se sometió a reflujo con una trampa Dean-Stark para eliminar el etanol y el formiato de etilo. El exceso de ortoformiato de trietilo se eliminó al vacío para producir 5 y 6 ([relación 39,2:60,8 por RMN <sup>31</sup>P], 11,83 g). 6: RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1,27 (m, 6H), 2,19 (m, 2H), 2,57 (m, 2H), 4,11 (m, 4H), 6,36 (m, 3H). RMN <sup>31</sup>P (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  44,9; 5: RMN <sup>31</sup>P (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  53,3; ESI MS m/z+, 5: 323,01 (M + Na), 6: 243,09 (M + Na).

**Ejemplo 3.** Ácido (2-bromoetil)(2-(etoxi(3-etoxi-3-oxopropil)fosforil)etil)fosfínico (8).



Una mezcla de hipofosfito de amonio (8,00 g, 96 mmol) y hexametildisilazano (20,0 mL, 96 mmol) se calentó a 120°C durante 1 h bajo atmósfera de argón. Después de enfriar la mezcla a 0°C, se añadió cuidadosamente gota a gota acrilato de etilo (10,4 mL, 96 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 50°C durante 2 h. Luego, se agregó la mezcla del compuesto 5 y 6 (10,0 g, 38,4 mmol estimada a partir de la relación anterior) y se calentó a 120°C durante 2 h bajo atmósfera de argón, seguido de la adición de 1,2-dibromoetano (40 mL) y la mezcla se agitó durante 5 h a 120°C. Después de eliminar el disolvente al vacío, se agregaron gota a gota 100 mL de etanol acuoso (1:1) al residuo y se calentaron a reflujo durante 0,5 h. La mezcla se concentró y se purificó mediante una columna cromatográfica de SiO<sub>2</sub> (1:20 a 1:10 de MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) para proporcionar el compuesto 8 del título (6,48 g, 43% de rendimiento). ESI MS m/z-391,2 (M - H).

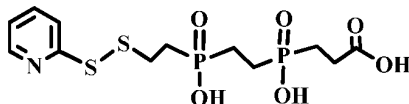
**Ejemplo 4.** Ácido (2-(etoxi(3-etoxi-3-oxopropil)fosforil)etil)(2-((etoxicarbonotioil)tio)etil)fosfínico (9).



Se añadió al compuesto 8 (6,01 g, 15,30 mmol) en 150 mL de etanol xantogenato etílico de potasio (3,00 g, 18,75 mmol). Después de agitarse bajo atmósfera de Ar durante 3 h, la mezcla se acidificó con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 3 M a pH 3,0. La mezcla se concentró y se purificó en una columna de SiO<sub>2</sub> eluida con agua/MeCN/HOAc (1:10:0,01), se reunió la

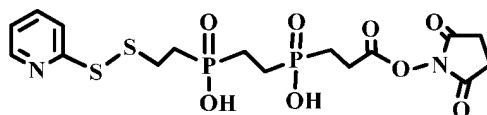
fracción, se añadió DMF (~5 mL), se evaporó a sequedad para proporcionar el compuesto 9 del título (5,38 g, rendimiento del 83%). ESI MS, m/z- 433,10 (M-H).

**Ejemplo 5.** Ácido 3-(hidroxi(2-(hidroxi(2-(piridin-2-ildisulfanil)etil)fosforil)etil)fosforil)propanoico (10)



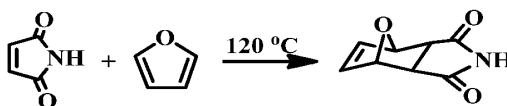
5 Al compuesto 9 (5,00 g, 11,51 mmol) en 100 mL de metanol se le añadieron 50 mL de NaOH 3 M. Después de agitarse bajo atmósfera de Ar durante 3 h, la mezcla se neutralizó con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 3 M a pH 7,2 bajo atmósfera de Ar. La mezcla se añadió gota a gota a la solución de 1,2-bis(piridin-2-il)disulfano (10,0 g, 45,45 mmol) en 200 mL de metanol. Después de agitarse durante 4 h bajo atmósfera de Ar, la mezcla se concentró, se diluyó con EtOAc/hexano (1:1), se separó y la capa orgánica se lavó con agua pura (3 x 25 mL) mientras que cada capa acuosa generada se lavó con EtOAc/hexano (1:1, 35 mL). Las capas acuosas se combinaron, se acidificaron con HCl/HOAc a pH ~ 2, se concentraron a 10 mL, se diluyeron con MeCN (60 mL), se trataron con ultrasonido (o se agitaron rápidamente) durante 1 h, se filtraron, se lavaron los sedimentos con agua/MeCN (1:10). Luego se concentró la solución y se purificó en una columna de SiO<sub>2</sub> eluida con agua/MeCN/HOAc (1:8:0,01), se reunió la fracción, se añadió DMF (~5 mL), se evaporó a sequedad para proporcionar el compuesto 10 del título (3,62 g, rendimiento del 79%). ESI MS, m/z- 398,02 (M-H).

15 **Ejemplo 6.** Ácido 3-((2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi)-3-oxopropil(2-(hidroxi(2-(piridin-2-ildisulfanil)etil)fosforil)etil)fosfínico (11).



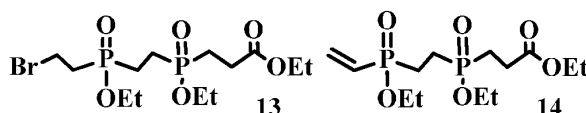
20 Al compuesto 10 (200 g, 5,01 mmol) en DMA (50 mL) se le añadieron 0,2 mL de HCl (concentrado) y la mezcla se evaporó a sequedad. Luego se añadió el compuesto redissuelto en DMA seco (60 mL), NHS (0,80 g, 6,95 mmol) y EDC (3,00 g, 15,62 mmol). La mezcla se agitó bajo atmósfera de Ar durante la noche, se evaporó y se purificó en cromatografía C-18 corta eluida con agua/dioxano a 4°C. Las fracciones que contenían el producto se agruparon, se congelaron a -78°C, se liofilizaron para proporcionar el compuesto del título (1,26 g, rendimiento del 51%). MS m/z- 495,2 (M-H).

**Ejemplo 7.** 3,6-endoxo- -tetrahidroftaluro



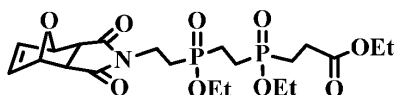
25 Al compuesto maleimida (10,0 g, 103,0 mmol) en éter etílico (350 mL) se le añadió furano (11,0 mL, 151,2 mmol). La mezcla se calentó en 1 L de bomba autoclave a 100°C durante 8 h. La bomba se enfrió a temperatura ambiente y el sólido de su interior se enjuagó con metanol, se concentró y se cristalizó en acetato de etilo/hexano para proporcionar 16,9 g (99%) del compuesto del título. RMN <sup>1</sup>H (DMF-d<sub>7</sub>, 300 MHz): 11,06 (s, 1H) (NH), 6,61 (m, 2H), 5,15 (m, 2H), 2,97 (m, 2H). RMN <sup>13</sup>C 178,86, 137,72, 82,05, 49,93. MS m/z + 188,4 (M + Na).

30 **Ejemplo 8.** 3-((2-((2-Bromoetil)(etoxi)fosforil)etil)(etoxi)fosforil)propanoato de etilo (13), 3-(Etoxi(2-(etoxi(vinil)fosforil)etil) fosforil)propanoato de etilo (14).



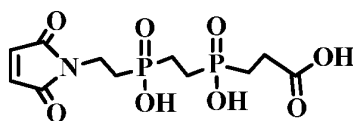
35 El compuesto 8 (4,51 g, 11,47 mmol) se trató con 100,0 mL de ortoformiato de trietilo y la mezcla se sometió a reflujo con una trampa Dean-Stark para eliminar el etanol y el formato de etilo. El exceso de ortoformiato de trietilo se eliminó al vacío para producir la mezcla de 13 y 14. ESI MS m/z+, 13: 443,10 (M + Na), 14: 363,20 (M + Na).

**Ejemplo 9.** 3-((2-((2-(3,6-Endoxo-Δ-tetrahidroftalido)etil)(etoxi)fosforil)etil)(etoxi)fosforil)propanoato de etilo, o 3-((2-((2-((3aR,4R,7S)-1,3-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahidro-1H-4,7-epoxiisindol-2(3H)-il)etil)(etoxi)fosforil)etil)(etoxi)fosforil)propanoato de etilo (24)



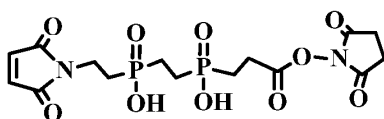
5 Se añadió  $K_2CO_3$  (4,2 g, 30,39 mmol) y KI (0,40 g, 3,45 mmol) a 6-endo- $\Delta$ -tetrahidroftalido (2,40 g, 14,55 mmol) en DMA (60 mL). Después de agitar bajo atmósfera de Ar durante 1 h, se añadió la mezcla de compuesto 13 y 14 (2,6 g, ~6,80 mmol estimado) en DMA (10 mL). La mezcla se agitó bajo atmósfera de Ar durante la noche, se evaporó, se volvió a disolver en EtOAc (100 mL), se lavó con agua (2 x 50 mL) y  $NaH_2PO_4$  1,0 M (2 x 50 mL), se secó sobre  $Na_2SO_4$ , se filtró, se evaporó y se purificó por cromatografía de  $SiO_2$  eluido con EtOAc/hexano (1:10~1:5) para proporcionar el compuesto del título (2,64 g, rendimiento del 77%). ESI MS m/z+ 528,60 (M + Na).

**Ejemplo 10.** Ácido 3-((2-((2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etil)(hidroxi-fosforil)etil)(hidroxi-fosforil)propanoico (25)



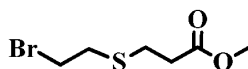
10 El compuesto 24 (2,60 g, 5,14 mmol), en la mezcla de DMA (20 mL), tolueno (20 mL) y HCl (8 N, 10 mL) se calentó a 120 ~ 140°C durante 8 h. Durante el tiempo de reacción, se agregaron gradualmente 5 x 10 mL de agua para mantener el volumen de reacción en alrededor de 40 mL. La mezcla se concentró y se purificó por cromatografía C-18 eluida con (1:10:0,01 a 1:3:0,01) agua/ $CH_3CN$ /HOAc para proporcionar el compuesto del título (1,12 g, rendimiento del 62%). ESI MS m/z- 352,10 (M - H).

**Ejemplo 11.** Ácido (2-((2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etil)(hidroxi-fosforil)etil)(3-((2,5-dioxopirrolidina-1-il)oxi)-3-oxopropil)fosfínico (26)



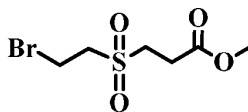
20 Al compuesto 25 (1,10 g, 3,11 mmol) en DMA (50 mL) se le añadió 0,1 mL de HCl (concentrado) y la mezcla se evaporó a sequedad. Luego, al compuesto redissuelto en DMA seco (40 mL) se le añadió NHS (0,41 g, 3,56 mmol) y EDC (2,00 g, 10,42 mmol). La mezcla se agitó bajo atmósfera de Ar durante la noche, se evaporó y se purificó en cromatografía de  $SiO_2$  eluida con 1:1:1% de acetona/DCM/HOAc, se reunieron las fracciones, se evaporaron y se solidificaron con EtOH/Tol/Hexano para proporcionar el compuesto del título (712 mg, rendimiento del 51 %). ESI MS m/z- 449,10 (M-H).

25 **Ejemplo 12.** 3-((2-bromoetil)tio)propanoato de metilo (52)



30 Una mezcla de 3-mercaptopropanoato de metilo (5,20 g, 51,6 mmol) y 1,2-dibromoetano (30 mL, 348,1 mmol) en DIPEA (100 mL) se agitó a 45°C durante 8 h. La mezcla se concentró al vacío y se purificó en  $SiO_2$  eluido con EtOAc/hexano (1:12 a 1:5) para producir el compuesto del título 52 (9,09 g, rendimiento del 78%). ESI MS m/z- 249,20 (M + Na).

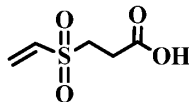
**Ejemplo 13.** 3-((2-Bromoetil)sulfonil)propanoato de metilo (53).



35 El 3-((2-bromoetil)tio)propanoato de metilo 52 (4,50 g, 19,91 mmol) en ácido acético (40 mL),  $H_2O_2$  (30%, 20 mL) y  $KMnO_4$  (1,00 g, 6,33 mmol) se agitó durante la noche. La mezcla se concentró, se diluyó con EtOAc (100 mL) y  $NaH_2PO_4$  1 M (150 mL), se separó, la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre  $Na_2SO_4$ , se filtraron, se concentraron y se purificaron en una columna de  $SiO_2$  eluido

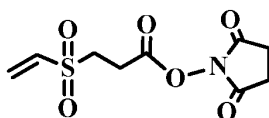
con EtOAc/hexano (1:10~1:5) para proporcionar el compuesto del título (4,05 g, rendimiento del 79%). ESI MS m/z+ 281,02 (M + Na).

**Ejemplo 14.** Ácido 3-(vinilsulfonyl)propanoico (54)



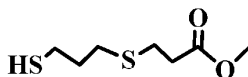
5 Al compuesto 53 (4,0 g, 15,50 mmol) en 50 mL de THF se le añadió NaOH 1 M (50 mL). Después de agitar bajo atmósfera de Ar durante 24 h, la mezcla se ajustó a pH = 7 con HCl 1 M a 4°C, se concentró, se diluyó con EtOAc (100 mL) y se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (4 x 80 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, se evaporaron y la purificación cromatográfica en SiO<sub>2</sub> (1:15 a 1:10 de MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) para proporcionar el compuesto 54 del título (1,80 g, rendimiento del 71%). ESI MS m/z- 163,10 (M-H).

**Ejemplo 15.** 2,5-dioxopirrolidin-1-il 3-(vinilsulfonyl)propanoato (55)



15 Al compuesto 54 (1,70 g, 10,36 mmol) en DMA (50 mL) se le añadió NHS (1,75 g, 15,21 mmol) y EDC (5,00 g, 26,04 mmol). La mezcla se agitó bajo atmósfera de Ar durante la noche, se evaporó y se purificó en cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluida con EtOAc/hexano (1:10~1:4), se reunieron las fracciones y se evaporó para proporcionar el compuesto del título (2,24 g, rendimiento del 83%). ESI MS m/z+ 284,10 (M + Na).

**Ejemplo 16.** 3-((3-Mercaptopropil)tio)propanoato de metilo (64).



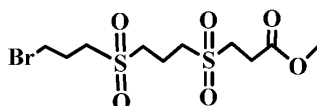
20 Al compuesto 63 (10,010 g, 60,25 mmol) en DMA (40 mL) se le añadió propano-1,3-ditio (40,0 g, 370,3 mmol) y DIPEA (100 mL). La mezcla se agitó a 45°C bajo atmósfera de Ar durante 8 h, se evaporó y se purificó en cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluyendo con 1:10:0,01% de EtOAc/DCM/HOAc, se reunieron las fracciones y se evaporó para proporcionar el compuesto del título (9,58 g, rendimiento del 82%). ESIMS m/z+ 217,2 (M + Na).

**Ejemplo 17.** 3-((3-((3-Bromopropil)tio)propil)tio)propanoato de metilo (65)

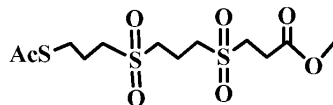


25 Al compuesto 64 (5,01 g, 25,76 mmol) en DMA (40 mL) se le añadió 1,3-dibromopropano (30,0 g, 150,0 mmol) y DIPEA (100 mL). La mezcla se agitó a 45°C bajo atmósfera de Ar durante 8 h, se evaporó y se purificó en cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluyendo con EtOAc/hexano (1:10 a 1:5), se reunieron las fracciones, se evaporó para proporcionar el compuesto 65 del título (6,87 g, rendimiento del 85%). ESIMS m/z+ 337,2 (M + Na).

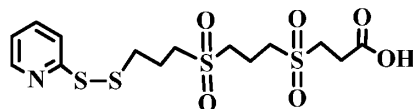
**Ejemplo 18.** 3-((3-((3-Bromopropil)sulfonyl)propil)sulfonyl)propanoato de metilo (66)



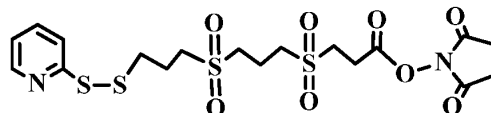
30 Al compuesto 65 (6,70 g, 21,33 mmol) en ácido acético (40 mL), se le añadió H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (33%, 20 mL) y KMnO<sub>4</sub> (1,01 g, 6,33 mmol). La mezcla se agitó a 40°C durante la noche. La mezcla se concentró, se diluyó con EtOAc (100 mL) y NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 M (100 mL), se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 80 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, se evaporaron, se purificaron mediante cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluyendo con EtOAc/hexano (1:10~1:4) para proporcionar el compuesto del título (6,69 g, rendimiento del 83%). ESI MS m/z+ 401,10 (M + Na).

**Ejemplo 19.** 3-((3-((3-(Acetiltio)propil)sulfonyl)propil)sulfonyl)propanoato de metilo (67)

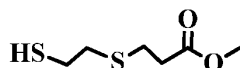
Al compuesto 66 (6,60 g, 17,46 mmol) en 100 mL de THF se le añadió ácido tioacético (3,0 mL, 41,97 mmol) y DIPEA (20 mL, 115,0 mmol). La mezcla se agitó a 40°C durante la noche, se evaporó, se evaporó junto con ácido acético (5 mL)/tolueno (200 mL) y se purificó con cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluida con EtOAc/hexano (1:10 a 1: 4) para proporcionar el compuesto del título (5,22 g, rendimiento del 80%). ESI MS m/z+ 397,10 (M + Na).

**Ejemplo 20.** Ácido 3-((3-((3-(piridin-2-ildisulfanil)propil)sulfonyl)propil)sulfonyl)propanoico (68)

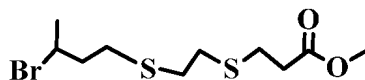
Al compuesto 67 (5,20 g, 13,90 mmol) en 100 mL de metanol se le añadieron 50 mL de NaOH 3 M. Después de agitarse bajo atmósfera de Ar durante 3 h, la mezcla se neutralizó con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 3 M a pH 7,2 bajo atmósfera de Ar. La mezcla se añadió gota a gota a la solución de 1,2-bis(5-piridin-2-il)disulfano (15,0 g, 68,18 mmol) en 200 mL de metanol. Después de agitarse durante 24 h bajo atmósfera de Ar, la mezcla se concentró, se diluyó con EtOAc/hexano (1:1), se separó y la capa orgánica se lavó con agua pura (3 x 25 mL) mientras que capa acuosa generada se lavó con EtOAc/hexano (1:1, 35 mL). Las capas acuosas se combinaron, se acidificaron con HCl/HOAc a pH 3~4, se concentraron a 10 mL, se diluyeron con MeCN (60 mL), se trataron con ultrasonido (o se agitaron rápidamente) durante 1 h, se filtraron, se lavaron los sedimentos con agua/MeCN (1:10). Después, la solución se concentró y se purificó en una columna de SiO<sub>2</sub> eluida con CH<sub>3</sub>OH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/HOAc (1:10:0,01), se reunió la fracción, se evaporó a sequedad para proporcionar el compuesto 68 del título (5,93 g, rendimiento del 82%). ESI MS, m/z- 426,10 (M-H).

**Ejemplo 21.** 2,5-dioxopirrolidin-1-il 3-((3-((3-(piridin-2-ildisulfanil)propil)sulfonyl)propil)sulfonyl)propanoato (69).

Al compuesto 68 (2,50 g, 6,08 mmol) en DMA (50 mL) se le añadió NHS (0,80 g, 6,96 mmol) y EDC (3,00 g, 15,62 mmol). La mezcla se agitó bajo atmósfera de Ar durante la noche, se evaporó y se purificó en cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluida con EtOAc/DCM (1:10 a 1:5), se reunieron las fracciones y se evaporó para proporcionar el compuesto del título (2,74 g, rendimiento del 86%). ESI MS m/z+ 547,10 (M + Na).

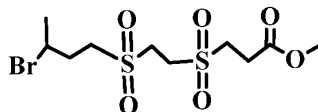
**Ejemplo 22.** 3-((3-Mercaptopropil)tio)propanoato de metilo (71).

Se añadió al 3-bromopropanoato de metilo 51 (10,010 g, 60,24 mmol) en DMA (80 mL) etano-1,2-ditio (40,0 g, 425,4 mmol) y DIPEA (150 mL). La mezcla se agitó a 45°C bajo atmósfera de Ar durante 8 h, se evaporó y se purificó en cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluyendo con 1:10:0,01% de EtOAc/DCM/HOAc, se reunieron las fracciones y se evaporó para proporcionar el compuesto 71 del título (8,56 g, rendimiento del 79%). ESIMS m/z+ 203,10 (M + Na).

**Ejemplo 23.** 3-((2-((3-Bromobutil)tio)etil)tio)propanoato de metilo (82).

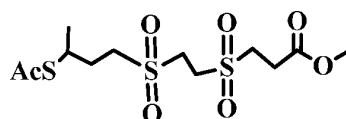
Al compuesto 71 (8,51 g, 47,26 mmol) en DMA (40 mL) se le añadió 1,3-dibromobutano (30,0 g, 140,25 mmol) y DIPEA (100 mL). La mezcla se agitó a 45°C bajo atmósfera de Ar durante 8 h, se evaporó y se purificó en cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluida con EtOAc/hexano (1:10 a 1:5), se reunieron las fracciones, se evaporó para proporcionar el compuesto 82 del título (12,16 g, rendimiento del 82%). ESI MS m/z+ 337,2 (M + Na).

**Ejemplo 24.** 3-((2-((3-Bromobutil)sulfonyl)etil)sulfonyl)propanoato de metilo (83).



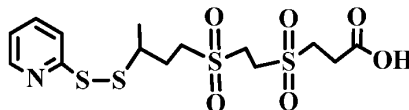
5 Al compuesto 82 (6,00 g, 19,10 mmol) que estaba en ácido acético (40 mL), se le añadió H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (33%, 20 mL) y KMnO<sub>4</sub> (1,01 g, 6,33 mmol). La mezcla se agitó a 40°C durante la noche. La mezcla se concentró, se diluyó con EtOAc (100 mL) y NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 M (100 mL), se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 80 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron, se evaporaron, se purificaron mediante cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluyendo con EtOAc/hexano (1:10 a 1:4) para proporcionar el compuesto 83 del título (6,01 g, rendimiento del 83%). ESI MS m/z+ 401,02 (M + Na).

**Ejemplo 25.** 3-((2-((3-(Acetiltio)butil)sulfonyl)etil)sulfonyl)propanoato de metilo (84).



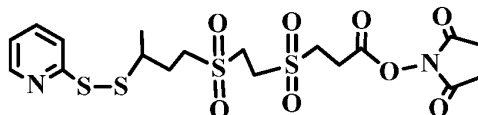
10 Al compuesto 83 (6,0 g, 15,87 mmol) en 100 mL de THF se le añadió ácido tioacético (3,0 mL, 41,97 mmol) y DIPEA (20 mL, 115,0 mmol). La mezcla se agitó a 50°C durante la noche, se evaporó, se evaporó conjuntamente con ácido acético (5 mL)/tolueno (200 mL) y se purificó con cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluida con EtOAc/hexano (1:10 a 1:4) para proporcionar el compuesto 84 del título (4,27 g, rendimiento del 72%). ESI MS m/z+ 397,20 (M + Na).

15 **Ejemplo 26.** Ácido 3-((2-((3-(piridin-2-ildisulfanil)butil)sulfonyl)etil)sulfonyl)propanoico (85).



20 Al compuesto 84 (2,10 g, 5,61 mmol) en 100 mL de metanol se agregaron 50 mL de NaOH 2 M. Después de agitarse bajo atmósfera de Ar durante 1 h, la mezcla se neutralizó con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 3 M a pH 7,2 bajo atmósfera de Ar. La mezcla se añadió gota a gota a la solución de 1,2-bis(5-piridin-2-il)disulfano (6,0 g, 27,27 mmol) en 100 mL de metanol. Después de agitarse durante 15 h bajo atmósfera de Ar, la mezcla se concentró, se diluyó con EtOAc/hexano (1:1), se separó y la capa orgánica se lavó con agua pura (3 x 25 mL) mientras que cada capa acuosa generada se lavó con EtOAc/hexano (1:1, 35 mL). Las capas acuosas se combinaron, se acidificaron con HCl/HOAc a pH 3~4, se concentraron a 10 mL, se diluyeron con MeCN (60 mL), se trataron durante 1 h, se filtraron, se lavaron los sedimentos con agua/MeCN (1:10). Después, la solución se concentró y se purificó en una columna de SiO<sub>2</sub> eluida con CH<sub>3</sub>OH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/HOAc (1:10:0,01), se reunieron las fracciones, se evaporó a sequedad para proporcionar el compuesto 85 del título (1,98 g, rendimiento del 82%). ESI MS, m/z- 426,10 (M-H).

**Ejemplo 27.** 3-((2-((3-(Piridin-2-ildisulfanil)butil)sulfonyl)etil)sulfonyl)propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (86).



30 Al compuesto 85 (1,00 g, 2,34 mmol) en DMA (50 mL) se le añadió NHS (0,41 g, 3,56 mmol) y EDC (2,00 g, 10,42 mmol). La mezcla se agitó bajo atmósfera de Ar durante la noche, se evaporó y se purificó en cromatografía de SiO<sub>2</sub> eluida con EtOAc/DCM (1:10 a 1:5), se reunieron las fracciones y se evaporó para proporcionar el compuesto del título 86 (993 mg, rendimiento del 81%). ESIMS m/z+ 547,10 (M + Na).

**Ejemplo 28.** Modificación del anticuerpo con enlazador de fosfinato.

35 El anticuerpo antiHer2 se modifica con un enlazador de fosfinato a razón de 8 mg/mL de anticuerpo, un exceso molar de 10 veces de un enlazador de fosfinato (solución madre de ~30 mM en DMA). La reacción se lleva a cabo en NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 mM, pH 7,4 con DMA (5% v/v) durante 15, 30, 60, 120 y 240 minutos a 25°C. El antiHer2 modificado se purificó mediante una columna G25 con NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM, NaCl 50 mM y EDTA 2 mM, pH 6,5 para eliminar el exceso de enlazador de fosfinato.

**Ejemplo 29:** Síntesis del conjugado.

Se disolvió un enlazador hidrofílico que contenía un enlazador de tiopiridina (SPP) en DMA a una concentración de aproximadamente 10 mM. Un anticuerpo se dializó en regulador A (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM, NaCl 50 mM, EDTA 2 mM, pH 6,5). Para la reacción del enlazador, el anticuerpo eran 8 mg/mL, y se agregaron 4-6 equivalentes de enlazador mientras se agitaba en presencia de DMA al 5% (v/v). La reacción se dejó proceder a temperatura ambiente durante 90 minutos. El enlazador sin reaccionar se eliminó del anticuerpo mediante filtración en gel Sephadex G25 utilizando una columna Sephadex G25 equilibrada con Regulador A a pH 6,5 o regulador de fosfato de potasio 150 mM que contenía NaCl 100 mM, pH 7,4 como se indica. Para el enlazador que contiene SPP, la extensión de la modificación se evaluó mediante la liberación de piridina-2-tiona utilizando DTT 50 mM y midiendo la absorbancia a 343 nm como se describe a continuación ( $\epsilon_{343} = 8080 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  para la piridina-2-tiona libre). Para la reacción de conjugación, se disolvió el fármaco que contenía tiol (tal como tubulisina TZ041) en DMA (N,N-dimetilacetamida) a una concentración de aproximadamente 10 mM. El fármaco (1-1,5 veces el exceso molar en relación con el número de moléculas enlazadoras por anticuerpo como se indica) se añadió lentamente con agitación al anticuerpo que estaba a una concentración de 2,5 mg/mL en regulador A (pH 6,5 o pH 7,4) en una concentración final de 3% (v/v) de DMA. La reacción se dejó proceder a temperatura ambiente durante los tiempos indicados. El anticuerpo conjugado con el fármaco se purificó utilizando una columna Sephadex G25 equilibrada con regulador B (PBS (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), pH 6,5). La extensión de la conjugación del fármaco con el anticuerpo se evaluó midiendo A<sub>254</sub> y A<sub>280</sub> del conjugado.

**Ejemplo 30.** En la evaluación de la citotoxicidad *in vitro* de un conjugado de tubulisina (ZT041) de anticuerpos con un enlazador disulfuro que contiene grupos sulfonilo:

Las células seleccionadas (por ejemplo, Células Ramos, 20.000 células) se cultivaron en presencia de diversas concentraciones de anticuerpo no conjugado o del conjugado de anticuerpo durante 96 horas, después de lo cual se midió la viabilidad celular mediante exclusión de yoduro de propidio y se analizó mediante citometría de flujo utilizando un Becton Dickinson FACSort (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Se midió la intensidad de fluorescencia roja (emisión a 617 nm en el canal FL2) de las células excitadas a 488 nm. Las regiones para las células viables también se fijaron utilizando tanto las propiedades de dispersión de luz directa como de dispersión de luz en ángulo recto de las células. La pérdida de viabilidad se determinó por la pérdida de células dentro de la región cerrada que define las células viables. Se calculó el número promedio de células viables para 6 cultivos replicados. La fracción de supervivencia se graficó frente a la concentración de conjugado para determinar el valor de CI<sub>50</sub> (concentración de muerte celular del 50%) del conjugado.

## 30 Referencias

Patentes de los Estados Unidos Nos. 4.680.338; 5.122.368; 5.141.648; 5.208.020; 5.416.064; 5.475.092; 5.543.390; 5.563.250; 5.585.499; 5.880.270; 6.214.345; 6.436.931; 6.372.738; 6.340.701; 6.989.452; 7.129.261; 7.375.078; 7.498.302; 7.507.420; 7.691.962; 7.910.594; 7.968.586; 7.989.434; 7.994.135; 7.999.083; 8.153.768; 8.236.319. Solicitudes de patente de los Estados Unidos Nos. 20120201809, 20120082617, 20120034295, 20110293513, 20110076722, 20110064753, 20110064752, 20110064666, 20100189727, 20100136652, 20100104589, 20100074840, 20100062008, 20090176253, 20090088390.

- Albrecht, H.; et al. J Immunol Methods 2006, 310, 100.
- Alley, S. C.; et al. Curr Opin Chem Biol 2010, 14, 529.
- Anderson, D. C.; et al. Bioconjug Chem 1993, 4, 10.
- 40 Antczak, C.; et al. Bioconjug Chem 2006,17, 1551.
- Aoki, S.; et al. Bioorg Med Chem 2009, 17, 3405.
- Austin, C. D.; et al. Proc Natl Acad Sci U S A 2005, 102, 17987.
- Barbour, N. P.; et al. Pharm Res 1995, 12, 215.
- Beeson, C.; et al. Bioconjug Chem 2003, 14, 927.
- 45 Bickel, U.; et al. Bioconjug Chem 1995, 6, 211.
- Chen, J.; et al. Expert Opin Drug Deliv 2005, 2, 873.
- DiJoseph, J. F.; et al. Blood 2004, 103, 1807.

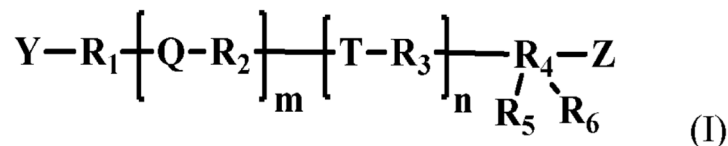
- Doronina, S. O.; et al. *Bioconjugate Chem.*, 2006, 17, 114.
- Doronina, S. O.; et al. *Bioconjug Chem* 2008, 19, 1960.
- Ebner, A.; et al. *Bioconjug Chem* 2007, 18, 1176.
- Erickson, H. K.; et al. *Bioconjug Chem* 2010, 21, 84.
- 5 Garsky, V. M.; et al. *J. Med. Chem.*, 2001, 4216.
- Greenwald, R. B.; et al. *J. Med. Chem.*, 1999, 42, 3657.
- Haenseler, E.; et al. *Biochemistry*, 1992, 31, 891.
- Hamann, P. R.; et al. *Bioconjugate Chem.*, 2002, 13, 40.
- Hamann, P. R.; et al. *Bioconjugate Chem.*, 2005, 16, 354.
- 10 Jeffrey, S. C.; et al. *J. Med. Chem.*, 2005, 48, 1344.
- Johnson, D. A.; et al. *Cancer Res* 1991, 51, 5774.
- Jones, D. S.; et al. *Bioconjug Chem* 2001, 12, 1012.
- Jones, D. S.; et al. *Bioconjug Chem* 1999, 10, 480.
- Jones, D. S.; et al. *Bioconjug Chem* 1994, 5, 390.
- 15 Kashef, N.; et al. *J Med Microbiol* 2006, 55, 1441.
- Kellogg, B. A.; et al. *Bioconjug Chem* 2011, 22, 717.
- Kelly, R. K.; et al. *Eur J Cancer* 2011, 47, 1736.
- King, H. D.; et al. *Bioconjug Chem* 1999, 10, 279.
- King, H. D.; et al., *J. Med. Chem.*, 2002, 45, 4336.
- 20 Klussman, K.; et al. *Bioconjug Chem* 2004, 15, 765.
- Kovář, M.; et al. *Bioconjugate Chem.*, 2002, 13, 206.
- Kratz, F., et al. *J. Med. Chem.*, 2002, 45, 5523.
- Kumaresan, P. R.; et al. *Bioconjug Chem* 2008, 19, 1313.
- Kumaresan, P. R.; et al. *Bioconjug Chem* 2007, 18, 175.
- 25 Lee, L. S.; et al. *Bioconjug Chem* 1999, 10, 973.
- Li, L.; et al. *Bioconjug Chem* 2002, 13, 985.
- Lipinski, T.; et al. *Glycoconj J* 2011, 28, 149.
- Meyer-Losic, F.; et al. *J. Med. Chem.*, 2006, 49, 6908.
- Mikolajczyk, S. D.; et al. *Bioconjug Chem* 1994, 5, 636.
- 30 Miller, M. L.; et al. *J. Med. Chem.*, 2004, 47, 4802.
- Mitchell, J. S.; et al. *Bioconjug Chem* 2007, 18, 268.



- Moon, S.-J.; et al. *J. Med. Chem.*, 2008, 51, 6916.
- Ojima, I.; et al. *J. Med. Chem.*, 2002, 45, 5620.
- Ruppert, C.; et al. *Bioconjug Chem* 2002, 13, 804.
- Safavy, A.; et al. *Bioconjug Chem* 2003, 14, 302.
- 5 Safavy, A.; et al. *Bioconjug Chem* 2004, 15, 1264.
- Senter, P. et al. *Photochem. Photobio.*, 1985, 42, 231.
- Scott, C. F., Jr.; et al. *J Natl Cancer Inst* 1987, 79, 1163.
- Sharkey, R. M.; et al. *Mol Cancer Ther* 2012, 11, 224.
- Siiman, O.; et al. *Bioconjugate Chem.*, 2000, 11, 549.
- 10 Skwarczynski, M.; et al. *J. Med. Chem.*, 2006, 49, 7253.
- Srinivasachar, K.; Neville, D. M., Jr. *Biochemistry* 1989, 28, 2501.
- Studer, M.; et al. *Bioconjug Chem* 1992, 3, 424.
- Sun, X.; et al. *Bioconjug Chem* 2011, 22, 728.
- Suzawa, T.; et al. *Bioorg Med Chem* 2000, 8, 2175.
- 15 Tadayoni, B. M.; et al. *Bioconjug Chem* 1993, 4, 139.
- ten Hoeve, W.; et al. *Bioconjug Chem* 1997, 8, 257.
- Tsai, N. M.; et al. *Biotechniques* 2001, 30, 396.
- Walker, M. A.; et al. *Bioorg Med Chem Lett* 2004, 14, 4323.
- Wilbur, D. S.; et al. *Bioconjug Chem* 2011, 22, 1089.
- 20 Widdison, W. C.; et al. *J. Med. Chem.*, 2006, 49, 4392.
- Zhao, R. Y.; et al. *J. Med. Chem.*, 2011, 54, 3606.
- Zhao, R. Y.; et al. *J. Med. Chem.*, 2012, 55, 766.

## REIVINDICACIONES

1. Un enlazador hidrofílico de fórmula (I).



en la que:

5 Y representa un grupo funcional que permite la reacción con un agente de unión a la célula;

Q y T son -P(=O)(OM)-, o -S(O<sub>2</sub>)-, o -S(O)-;

m y n son números enteros de 0 a 5, pero no 0 al mismo tiempo; además, cuando m = 1, n = 0, Q no es -P(=O)(OM)-; o cuando n = 1, m = 0, T no es -P(=O)(OM)-;

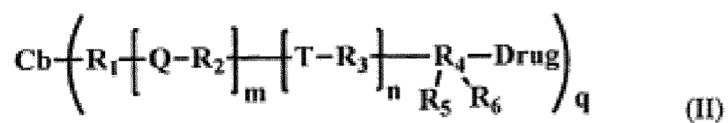
10 Z representa un grupo funcional que permite el enlace de un fármaco citotóxico a través de un enlace disulfuro, tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éter, éster, carbamato, carbonato, amina (secundaria, terciaria o cuaternaria), imina, cicloheteroalquileo, heteroaromático, alcóxima o amida, seleccionándose dicho grupo funcional Z de tiol, disulfuro, amino, carboxi, aldehídos, maleimido, haloacetilo, hidracinas e hidroxí;

15 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> son iguales o diferentes y son H, alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, alqueno o alquino lineal, ramificado o cíclico, o 1-6 átomos de carbono de los ésteres, éter, amida o unidad de polietilenoxi de fórmula (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>, en donde p es un número entero de 0 a 1.000, o una combinación de los mismos;

20 o R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> son respectivamente una cadena de átomos seleccionados de C, N, O, S, Si y P que conectan covalentemente el ligando de unión a la superficie celular, el grupo fosfinato o sulfonilo, el fármaco conjugado y entre ellos mismos (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub>), en donde dichos átomos se combinan en cualquier forma químicamente relevante, tal como mediante la formación de alquileo, alqueno y alquino, éteres, polioxialquileo, ésteres, aminas, iminas, poliaminas, hidrazinas, hidrazonas, amidas, ureas, semicarbazidas, carbazidas, alcoxiaminas, alcoxilaminas, uretanos, aminoácidos, péptidos, aciloxilaminas, ácidos hidroxámicos, o una combinación de los mismos;

M es H, o Na, o K, o N<sup>+</sup>R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>R<sub>3</sub> o una sal farmacéutica, en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se describieron anteriormente.

2. Un conjugado de agente de unión a la célula-fármaco de fórmula (II)



en la que:

Cb representa un agente de unión a la célula/molécula;

30 "Fármaco" representa un fármaco unido al agente de unión a la célula a través del enlazador hidrofílico por un enlace disulfuro, tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éter, éster, carbamato, carbonato, cicloheteroalquileo, heteroaromático, alcóxima o amida;

Q y T son -P(=O)(OM)-, o -S(O<sub>2</sub>)-, o -S(O)-;

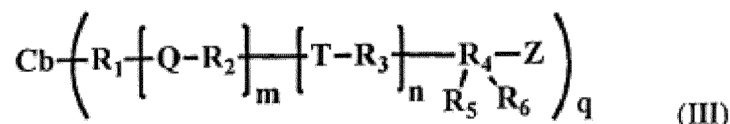
m y n son números enteros de 0 a 5, pero no 0 al mismo tiempo; además, cuando m = 1, n = 0, Q no es -P(=O)(OM)-; o cuando n = 1, m = 0, T no es -S(O)-; -P(=O)(OM)-; q es un número entero de 1 to 20;

35 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> son iguales o diferentes y son H, alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, alqueno o alquino lineal, ramificado o cíclico, o 1-6 átomos de carbono de los ésteres, éter, amida o unidad de polietilenoxi de fórmula (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>, en donde p es un número entero de 0 a 1.000, o una combinación de los mismos;

o R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> son respectivamente una cadena de átomos seleccionados de C, N, O, S, Si y P que conectan covalentemente el ligando de unión a la superficie celular, el grupo fosfinato o sulfonilo, el fármaco conjugado y entre ellos mismos (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub>), en donde dichos átomos se combinan en cualquier forma químicamente relevante;

M es H, o Na, o K, o N<sup>+</sup>R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>R<sub>3</sub> o una sal farmacéutica, en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se describieron anteriormente.

5 3. Un compuesto de fórmula (III):



en la que:

Cb representa un agente de unión a la célula/molécula;

Z representa un grupo funcional que permite la reacción con un fármaco citotóxico;

10 Q y T son -P(=O)(OM)-, o -S(O<sub>2</sub>)-, o -S(O)-;

m y n son números enteros de 0 a 5, pero no 0 al mismo tiempo; además, cuando m = 1, n = 0, Q no es -P(=O)(OM)-; o cuando n = 1, m = 0, T no es -P(=O)(OM)-; q es un número entero de 1 a 20;

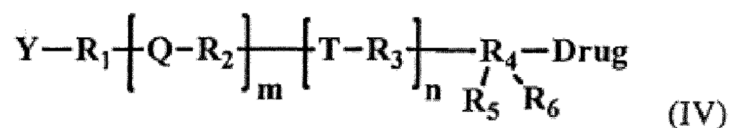
15 Z representa un grupo funcional que permite el enlace de un fármaco citotóxico a través de un enlace disulfuro, tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éter, éster, carbamato, carbonato, amina (secundaria, terciaria o cuaternaria), imina, cicloheteroalquilo, heteroaromático, alcóxima o amida;

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> son iguales o diferentes y son H, alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, alqueno o alquino lineal, ramificado o cíclico, o 1-6 átomos de carbono de los ésteres, éter, amida o unidad de polietileno de fórmula (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>, en donde p es un número entero de 0 a 1.000, o una combinación de los mismos;

20 o R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> son respectivamente una cadena de átomos seleccionados de C, N, O, S, Si y P que conectan covalentemente el ligando de unión a la superficie celular, el grupo fosfinato o sulfonilo, el fármaco conjugado y entre ellos mismos (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub>), en donde dichos átomos se combinan en cualquier forma químicamente relevante;

M es H, o Na, o K, o N<sup>+</sup>R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>R<sub>3</sub> o una sal farmacéutica, en donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> se describieron anteriormente.

4. Un compuesto de fórmula (IV):



25

en la que:

Y representa un grupo funcional que permite la reacción con un agente de unión a la célula;

Q y T son -P(=O)(OM)-, o -S(O<sub>2</sub>)-, o -S(O)-;

30 m y n son números enteros de 0 a 5, pero no 0 al mismo tiempo; además, cuando m = 1, n = 0, Q no es -P(=O)(OM)-; o cuando n = 1, m = 0, T no es -P(=O)(OM)-;

"Fármaco" representa un fármaco unido al agente de unión a la célula a través del enlazador hidrofílico por un enlace disulfuro, tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éter, éster, carbamato, carbonato, cicloheteroalquilo, heteroaromático, alcóxima o amida;

35 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> son iguales o diferentes y son H, alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, alqueno o alquino lineal, ramificado o cíclico, o 1-6 átomos

de carbono de los ésteres, éter, amida o unidad de polietilenoxi de fórmula  $(OCH_2CH_2)_p$ , en donde p es un número entero de 0 a 1.000, o una combinación de los mismos;

o  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$  son respectivamente una cadena de átomos seleccionados de C, N, O, S, Si y P que conectan covalentemente el ligando de unión a la superficie celular, el grupo fosfinato o sulfonilo, el fármaco conjugado y entre ellos mismos ( $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  y  $R_4$ ), en donde dichos átomos se combinan en cualquier forma químicamente relevante;

M es H, o Na, o K, o  $N^+R_1R_2R_3$  o una sal farmacéutica, en donde  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  se describieron anteriormente.

5. El conjugado de la reivindicación 2 o el compuesto de la reivindicación 4, en el que el "Fármaco" se selecciona de:

1) Agentes quimioterapéuticos: a) Agentes alquilantes: seleccionados de mostazas nitrogenadas (clorambucil, clornafazina, ciclofosfamida, dacarbazina, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, manomustina, mitobronitol, melfalán, mitolactol, pipobromano, novembiquina, fenesterina, predinimustina, tiotepa, trofosfamida, mostaza de uracilo); CC-1065 (incluyendo su adozelesina, carzelesina y análogos sintéticos de bizelesina); duocarmicina (incluidos los análogos sintéticos, KW-2189 y CBI-TMI); dímeros de benzodiazepina (seleccionados de dímeros de pirrolobenzodiazepina (PBD) o tomamicina, indolinobenzodiazepinas, imidazobenzotiadiazepinas, u oxazolidinobenzodiazepinas); nitrosoureas (carmustina, lomustina, clorozotocina, fotemustina, nimustina, ranimustina); alquilsulfonatos (busulfan, treosulfan, improsulfan y piposulfan); triazenos: (dacarbazina); compuestos que contienen platino: (carboplatino, cisplatino, oxaliplatino); aziridinas (benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa); etileniminas y metilamelaminas que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosfoamida y trimetilolmelamina]; b) Alcaloides vegetales seleccionados de: alcaloides de la Vinca: (vincristina, vinblastina, vindesina, vinorelbina, navelbin); Taxoides: (paclitaxel, docetaxol) y sus análogos, Maitansinoides (DM1, DM2, DM3, DM4, maitansina y ansamitocinas) y sus análogos sintéticos, criptoficinas (criptoficina 1 y criptoficina 8); epotilonas, eleuterobina, discodermolida, briostatinas, dolostatinas, auristatinas, tubulisininas, cefalostatina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiostatina; c) Inhibidores de la ADN topoisomerasa seleccionados de Epipodofilinas (9-aminocamptotecina, camptotecina, crisnatol, daunomicina, etopósido, etopósido fosfato, irinotecano, mitoxantrona, novantrona, ácidos retinoicos (retinoles), tenipósido, topotecano, 9-nitrocamptotecina (RFS 2000)); mitomicinas (mitomicina C); d) Antimetabolitos seleccionados de [Antifolato que se selecciona de: inhibidores de DHFR, metotrexato, trimetrexato, denopterina, pteropterina, aminopterina (ácido 4-aminopterico); inhibidores de la IMP deshidrogenasa (ácido micofenólico, tiazofurina, ribavirina, EICAR); inhibidores de la ribonucleótido reductasa (hidroxiurea, deferoxamina); análogos de pirimidina seleccionados de análogos de uracilo (ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, capecitabina (Xeloda), carmofur, citarabina, ideoxixidina, doxiluridina, encitabina, 5-fluorouracilo, floxuridina, ratitrexed (Tomudex)); análogos de la citosina (citarabina, arabinósido de citosina, fludarabina); análogos de la purina (azatioprina, fludarabina, mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina); reponedor de ácido fólico (ácido frolínico); e) terapias hormonales seleccionadas de antagonistas del receptor que se selecciona de: Antiestrógeno: (megestrol, raloxifeno, tamoxifeno); agonistas de la LHRH (goserlina, acetato de leuprolida); antiandrógenos (bicalutamida, flutamida, calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, goserlina, leuprolida, mepitiostano, nilutamida, testolactona, trilostano y otros inhibidores de andrógenos); retinoides/deltoides que se seleccionan de: análogos de la vitamina D3: (CB 1093, EB 1089 KH 1060, colecalciferol, ergocalciferol); terapias fotodinámicas (verteporfina, ftalocianina, Pc4 fotosensibilizador, demetoxihipocrelina A); citoquinas (interferón alfa, interferón gamma, factor de necrosis tumoral (TNF), proteínas humanas que contienen un dominio de TNF); f) Inhibidores de la quinasa seleccionados de BIBW 2992 (anti-EGFR/Erb2), imatinib, gefitinib, pegaptanib, sorafenib, dasatinib, sunitinib, erlotinib, nilotinib, lapatinib, axitinib, pazopanib, vandetanib, E7080 (anti-VEGFR2), mubritinib, ponatinib (AP24534), bafetinib (INNO-406), bosutinib (SKI-606), cabozantinib, Trastuzumab, Ranibizumab, Panitumumab, ispinesib; g) antibióticos seleccionados de los antibióticos enediina (incluyendo caliqueamicinas, especialmente caliqueamicina  $\gamma$ 1,  $\delta$ 1,  $\alpha$ 1 y  $\beta$ 1, dinemicina, incluyendo la dinemicina A y la desoxidinemicina; esperamicina, kedarcidina, C-1027, maduropeptina, cromóforo de neocarzinostatina y cromomóforos relacionados con el antibiótico de cromoproteína enediina), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina; cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina, epirubicina, esorrubicina, idarrubicina, marcelomicina, nitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; f) Otros: seleccionados de policétidos (acetogeninas), bullatacina y bullatacinona; gemcitabina, epoxomicinas (carfilzomib), bortezomib, talidomida, lenalidomida, pomalidomida, tosedostat, zibrestat, PLX4032, STA-9090, Stimuvax, alovectina 7, Xegeva, Provenge, Yervoy, inhibidores de isoprenilación (incluyendo Lovastatina), neurotoxinas dopaminérgicas (incluyendo el ion 1-metil-4-fenilpiridinio), inhibidores del ciclo celular (incluyendo estaurosporina), actinomicinas (incluyendo actinomicina D, dactinomicina), bleomicinas (bleomicina A2, bleomicina B2, peplomicina), antraciclinas (daunorrubicina, doxorubicina (adriamicina), idarrubicina, epirubicina, pirarrubicina, zorrubicina, mitoxantrona, inhibidores de la MDR (verapamilo), inhibidores de la ATPasa de  $Ca^{2+}$  (tapsigargina), inhibidores de la histona deacetilasa (Vorinostat, Romidepsina, Panobinostat, ácido valproico, Mocetinostat (MGCD0103), Belinostat, PCI-24781, Entinostat, SB939, Resminostat, Givinostat, AR-42, CUDC-101, sulforafano, Tricostatina A); Tapsigargina, Celecoxib, glitazonas, galato de epigalocatequina, Disulfiram, Salinosporamida A; antiadrenales, seleccionadas de aminoglutetimida, mitotano, trilostano; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina arabinósido, bestrabucilo;

bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziouona; eflornitina (DFMO), elfomitina; acetato de eliptinio, etoglucido; nitrato de galio; gacitosina, hidroxiourea; ibandronato, lentinan; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; ácido podofilínico; 2-etilhidracida; procarbazona; PSK®; razoxano; rizoxina; sizofiran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziouona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verrucarina A, roridina A y anguidina); uretano, ARNip, fármacos antisentido.

2) Agentes de la enfermedad antiautoinmune: ciclosporina, ciclosporina A, ácido aminocaproico, azatioprina, bromocriptina, clorambucilo, cloroquina, ciclofosfamida, corticosteroides (amcinonida, betametasona, budesonida, hidrocortisona, flunisolida, propionato de fluticasona, flucortolona danazol, dexametasona, triamcinolona acetona, dipropionato de beclometasona), DHEA, enanercept, hidroxiclороquina, infliximab, meloxicam, metotrexato, mofetilo, micofenilato, prednisona, sirolimus, tacrolimus.

3) Agentes contra la enfermedad infecciosa, a) Aminoglucósidos: amikacina, astromicina, gentamicina (netilmicina, sisomicina, isicamicina), higromicina B, kanamicina (amikacina, arbekacina, bekanamicina, dibekacina, tobramicina), neomicina, frameticina, paromomicina, ribostamicina, netilmicina, espectinomicina, estreptomina, tobramicina, verdamicina; b) Anfénolicos: azidánfenicol, cloranfenicol, florfenicol, tianfenicol; c) Ansamicinas: geldamicina, herbimicina; d) Carbapenems: biapenam, doripenam, ertapenam, imipenam/cilastatina, meropenem, panipenam; e) Cefems: carbacefem (loracarbef), cefacetil, cefaclor, cefradina, cefadroxil, cefalonio, cefaloridina, cefalotin o cefalotina, cefalexina, cefaloglicina, cefamandol, cefapirina, cefatrizina, cefazaflur, cefazedona, cefazolina, cefbuperazona, cefcapene, cefdaloxima, cefepim, cefminox, cefoxitina, cefprozil, cefroxadina, ceftazol, cefuroxima, cefixima, cefdinir, cefditoren, cefepim, cefetamet, cefmenoxima, cefodizima, cefonicid, cefoperazona, ceforanida, cefotaxima, cefotiam, ceftazopran, cefalexina, cefpimizol, cefpiramida, cefpirom, cefpodoxima, cefprozil, cefquinoma, cefsulodin, ceftazidima, ceftera, ceftibuten, ceftiole, ceftizoxima, ceftobiprol, ceftriaxona, cefuroxima, cefuzonam, cefamicina (cefoxitina, cefotetan, cefmetazol), oxacefem (flomoxef, latamoxef); f) Glicopéptidos: bleomicina, vancomicina (oritavancina, telavancina), teicoplanina (dalbavancina), ramoplanina; g) Gliciliclinas (tigeciclina); h) Inhibidores de la  $\beta$ -lactamasa: penam (sulbactam, tazobactam), clavam (ácido clavulánico); i) Lincosamidas: clindamicina, lincomicina; j) Lipopéptidos: daptomicina, A54145, antibióticos dependientes de calcio (CDA); k) Macrólidos: azitromicina, cefromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina, fluritromicina, josamicina cetólido (telitromicina, cetromicina), midecamicina, miocamicina, oleandomicina, rifamicinas (rifampicina, rifampina, rifabutina, rifapentina), rokitamicina, roxitromicina, espectinomicina, espiramicina, tacrolimus (FK506), troleandomicina, telitromicina; l) Monobactams: aztreonam, tigemonam; m) Oxazolidinonas: linezolid; n) Penicilinas: amoxicilina, ampicilina (pivampicilina, hetacilina, bacampicilina, metampicilina, talampicilina), azidocilina, azlocilina, bencilpenicilina, bencilpenicilina benzatínica, fenoximetilpenicilina benzatina, clometocilina, bencilpenicilina procaína, carbenicilina (carindacilina), cloxacilina, dicloxacilina, epicilina, flucloxacilina, mecilinam (pivmecilinam), mezlocilina, meticilina, nafcilina, oxacilina, penamecilina, penicilina, feneticilina, fetoximetilpenicilina, piperacilina, propicilina, sulbencilina, temocilina, ticarcilina; o) Polipéptidos: bacitracina, colistina, polimixina B; p) Quinolonas: alatrofloxacin, balofloxacin, ciprofloxacin, clinafloxacin, danofloxacin, difloxacin, enoxacin, enrofloxacin, floxacin, garenoxacin, gatifloxacin, gemifloxacin, grepafloxacin, kano trovafloxacin, levofloxacin, lomefloxacin, moxifloxacin, moxifloxacin, nadifloxacin, norfloxacin, orbifloxacin, ofloxacin, pefloxacin, trovafloxacin, grepafloxacin, sitafloxacin, esparfloxacin, temafloxacin, tosufloxacin, trovafloxacin; q). Estreptograminas: pristinamicina, quinupristina /dalfopristina); r) Sulfonamidas: mafenida, prontosil, sulfacetamida, sulfametizol, sulfanilimida, sulfasalazina, sulfisoxazol, trimetoprim, trimetoprim-sulfametoxazol (co-trimoxazol); s) Antibacterianos esteroides: por ejemplo, ácido fusídico; t) Tetraciclinas: doxiciclina, clortetraciclina, clomociclina, demeclociclina, limeciclina, meclociclina, metaciclina, minociclina, oxitetraciclina, penimepiciclina, rolitetraciclina, tetraciclina, glicilicliclinas (por ejemplo, tigeciclina); u) Otros tipos de antibióticos: annonacina, arsfenamina, inhibidores de bactoprenol (Bacitracina), inhibidores de DADAL/AR (cicloserina), dictioestatina, discodermolida, eleuterobina, epotilona, etambutol, etopósido, faropenem, ácido fusídico, furazolidiona, isoniazida, laulimalida, metronidazol, mupirocina, micolactona, inhibidores de la síntesis de NAM (por ejemplo, fosfomicina), nitrofurantoína, paclitaxel, platensimicina, pirazinamida, quinupristina/dalfopristina, rifampicina (rifampicina), tazobactam tinidazol, uvaricina;

4) Fármacos antivirales: a) Inhibidores de entrada/fusión: aplaviroc, maraviroc, vicriviroc, *gp41* (enfuvirtide), PRO 140, CD4 (ibalizumab); b) Inhibidores de la integrasa: raltegravir, elvitegravir, globoidnan A; c) Inhibidores de la maduración: bevirimat, vivecon; d) Inhibidores de la neuraminidasa: oseltamivir, zanamivir, peramivir; e) Nucleósidos y nucleótidos: abacavir, aciclovir, adefovir, amdoxovir, apricitabina, brivudina, cidofovir, clevudina, dexelvucitabina, didanosina (ddl), elvucitabina, emtricitabina (FTC), entecavir, famciclovir, fluorouracilo (5-FU), análogos de 2',3'-didesoxinucleósido 3'-fluoro-sustituido (por ejemplo, 3'-fluoro-2',3'-didesoxitimidina (FLT) y 3'-fluoro-2',3'-didesoxiguanosina (FLG), fomivirsén, ganciclovir, idoxuridina, lamivudina (3TC), 1-nucleósidos ( $\beta$ -l-timidina y  $\beta$ -1-2'-desoxicidina), penciclovir, racivir, ribavirina, estampidina, estavudina (d4T), taribavirina (viramidina), telbivudina, tenofovir, trifluridina valaciclovir, valganciclovir, zalcitabina (ddC), zidovudina (AZT); f) No nucleósidos: amantadina, ateviridina, capravirina, diarilpirimidinas (etravirina, rilpivirina), delavirdina, dicosanol, emivirina, efavirenz, foscarnet (ácido fosfonofórmico), imiquimod, interferón alfa, lovirida, lodenosina, metisazona, nevirapina, NOV-205, peginterferón alfa, podofilotoxina, rifampicina, rimantadina, resiquimod (R-848), tromantadina; g) Inhibidores de proteasa: amprenavir, atazanavir, boceprevir, darunavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, pleconaril, ritonavir, saquinavir, telaprevir (VX-950), tipranavir; h) Otros tipos de fármacos antivirales: abzima, arbidol, calanolide a, ceragenina, cianovirina-n,

diarilpirimidinas, galato de epigalocatequina (EGCG), foscarnet, griffithsin, taribavirina (viramidina), hidroxiurea, KP-1461, miltefosina, pleconaril, inhibidores de portmanteau, ribavirina, seliciclib.

5) Los radioisótopos seleccionados de (radionúclidos)  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{86}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{133}\text{Xe}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{211}\text{At}$ , o  $^{213}\text{Bi}$ .

5 6) Las sales o ácidos farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los fármacos anteriores.

6. El conjugado de la reivindicación 2 o el compuesto de la reivindicación 4, en el que "Fármaco" se selecciona de tubulinas, caliqueamicinas, auristatinas, maitansinoides, análogos de CC-1065, morfolinos-doxorrubicinas, taxanos, criptoficinas, epotilonas y dímeros de benzodiazepinas (seleccionados de los dímeros de pirrolobenzodiazepina (PBD) o tomaymycin, indolinobenzodiazepines, imidazobenzothiadiazepines, u oxazolidinobenzodiazepines), ARNip o una combinación de estos, y sales o ácidos farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

7. El conjugado de la reivindicación 2 o el compuesto de la reivindicación 3, en el que el agente de unión a la célula/molécula se selecciona de anticuerpos, proteínas, vitaminas (folatos), péptidos, micelas poliméricas, liposomas, portadores de fármacos basados en lipoproteínas, portadores de fármacos de nano-partículas, dendrímeros, y combinación de los mismos.

8. El conjugado de la reivindicación 2 o el compuesto de la reivindicación 3, en el que el agente de unión a la célula se une a células objetivo que se seleccionan de células tumorales, células infectadas con virus, células infectadas con microorganismos, células infectadas con parásitos, células autoinmunes, células activadas, células mieloides, células T activadas, células B o melanocitos; células que expresan CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD37, CD38, CD40, CD 51, CD52, CD56, CD66, CD74, CD79, CD80, CD98, CD125, CD221, CD227, CD262, CD309, CD326, CEACAM3, CEACAM5 (antígeno carcinoembrionario), DLL4 ( $\Delta$ -tipo-4), EGFR, CTLA4, CXCR4 (CD184), Endoglina (CD105), EPCAM (molécula de adhesión de células epiteliales), ERBB2 (receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico), FCGR1, FOLR (receptor de folato), gangliósido GD2, G-28 (un antígeno de la superficie celular, glucolípidos), idiótipo GD3, proteínas de choque térmico, HER1, HER2, HLA-DR10, HLA-DRB, gonadotropina coriónica humana, IGF1R (receptor del factor 1 de crecimiento similar a insulina), receptor de IL-2 (receptor de interleuquina 2), IL-6R (receptor de interleuquina 6), integrinas ( $\alpha\text{v}\beta 3$ ,  $\alpha 5\beta 1$ ,  $\alpha 6\beta 4$ ,  $\alpha 1\beta 3$ ,  $\alpha 5\beta 5$ ,  $\alpha \text{v}\beta 5$ ), MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE 4, receptor de anti-transferrina, p97, MS4A1 (miembro 1 de la subfamilia A de 4 dominios que abarca la membrana), MUC1 o MUC1-KLH, MUC16 (CA125), CEA, gp100, MART1, MPG, MS4A1 (subfamilia A de 4 dominios que abarca la membrana), Nucleolina, producto de Neu oncogene, P21, parátipo de anti-(ácido N-glicolilneuramínico), fosfatasa alcalina testicular similar a PLAP, PSMA, PSA, ROBO4, TAG 72 (glicoproteína 72 asociada al tumor), proteína transmembrana de las células T, Tie (CD202b), TNFRSF10B (miembro 10B de la superfamilia del receptor de necrosis tumoral), TNFRSF13B (miembro 13B de la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral), TPBG (glicoproteína trofoblástica), TRAIL-R1 (receptor 1 del ligando que induce apoptosis de necrosis tumoral), VCAM-1 (CD106), VEGF, VEGF-A, VEGF-2 (CD309), CanAg, CALLA y células que expresan el receptor del factor de crecimiento de la insulina o el receptor del factor de crecimiento epidérmico.

9. El conjugado de la reivindicación 2 o el compuesto de la reivindicación 3, en el que el agente de unión a la célula es un anticuerpo, un anticuerpo de cadena sencilla, un fragmento de anticuerpo que se une a la célula objetivo, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo monoclonal de cadena sencilla o un fragmento de anticuerpo monoclonal que se une a la célula objetivo, un anticuerpo de dominio, un fragmento de anticuerpo de dominio que se une a la célula objetivo, un anticuerpo de dominio, un fragmento de anticuerpo de dominio que se une a la célula objetivo, un anticuerpo resuperficializado, un anticuerpo de cadena única resuperficializado o un anticuerpo fragmento de anticuerpo resuperficializado que se une a la célula objetivo, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo resuperficializado, un anticuerpo de cadena sencilla humanizado o un fragmento de anticuerpo humanizado que se une a la célula objetivo, una linfoquina, una hormona, una vitamina, un factor de crecimiento, un factor estimulante de colonias, o una molécula de transporte de nutrientes.

10. El conjugado o el compuesto de acuerdo con la reivindicación 8, en el que las células tumorales se seleccionan de células de linfoma, células de mieloma, células renales, células de cáncer de mama, células de cáncer de próstata, células de cáncer de ovario, células de cáncer colorrectal, células de cáncer gástrico, células de cáncer escamosas, células de cáncer de pulmón pequeñas, células de cáncer testicular o cualquier célula que crezca y se divida a un ritmo acelerado y no regulado para causar cánceres.

11. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del inmunocombinado de la reivindicación 2 y una sal, portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable de los mismos, o una combinación de los mismos para el tratamiento o la prevención de un cáncer o una enfermedad autoinmune, o una enfermedad infecciosa.

12. El conjugado de la reivindicación 2 o el compuesto de la reivindicación 4, en el que el fármaco/agente citotóxico se selecciona de una toxina, un agente quimioterapéutico, un resto de fármaco, un antibiótico, un isótopo radioactivo y una enzima nucleolítica.
- 5 13. El conjugado de la reivindicación 2, que es un inmunoconjugado que tiene la fórmula Cb-(-L-Fármaco)<sub>n</sub>, en la que Cb es un agente de unión a la célula, L es el enlazador hidrofílico, Fármaco es una molécula de fármaco y n es un número entero de 1 a 20.
- 10 14. El conjugado de la reivindicación 13, que es un inmunoconjugado en el que el enlazador hidrofílico L está compuesto por uno o más componentes enlazadores de 6-maleimidocaproilo (MC), maleimidopropanoilo (MP), valina-citrulina (val-cit), alanina-fenilalanina (ala-phe), p-aminobenciloxycarbonilo (PAB), 4-tio-pentanoato (SPP), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (MCC), 4-tio-butirato (SPDB), que contiene maleimidoetilo (ME), 4-tio-2-hidroxisulfonil-butirato (2-sulfo-SPDB) y (4-acetil)aminobenzoato (SIAB).
- 15 15. El conjugado de la reivindicación 2 o 13, que es un inmunoconjugado en el que el Fármaco se selecciona de tubulisinás, maitansinoides, taxanoides (taxanos), análogos de CC-1065, daunorrubicina y doxorubicina, dímeros de benzodiazepinas (incluidos los dímeros de pirrolobenzodiazepina (PBD), tomamicina, antramyciná, indolinobenzodiazepinas, imidazobenzotiadiazepinas u oxazolidinobenzodiazepinas), caliqueamicinas y los antibióticos enediina, actinomicina, azaserinas, bleomicinas, epirubicina, tamoxifeno, idarrubicina, dolastatinas/auristatinas (seleccionadas entre monometil auristatina E, MMAE, MMAF, auristatina PYE, auristatin TP, Auristatinas 2-AQ, 6-AQ, EB (AEB) y EFP (AEFP)), duocarmicinas, tiotepa, vincristina, hemiasterlinas y esperamicinas.
- 20 16. El conjugado de las reivindicaciones 2 o 13, que es un inmunoconjugado que tiene actividad de destrucción celular *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*.
17. El inmunoconjugado de la reivindicación 13, en el que el enlazador comprende un péptido de 1-20 unidades de aminoácidos naturales o no naturales, o una unidad p-aminobencilo, o una unidad 6-maleimidocaproilo, o una unidad disulfuro, o una unidad tioéter, o una unidad de hidrozona, o una unidad de alcoxima.
18. El inmunoconjugado de la reivindicación 13, en el que el enlazador es escindible por una proteasa.
- 25 19. Una composición farmacéutica que comprende el conjugado de la reivindicación 2 o 13, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 30 20. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del conjugado de la reivindicación 2 o 13, en la que la composición se puede administrar simultáneamente con otros agentes terapéuticos seleccionados entre un agente quimioterapéutico, radioterapia, agentes de inmunoterapia, agentes de trastornos autoinmunes, agentes antiinfecciosos u otros inmunoconjugados para tratamiento o prevención sinérgicamente eficaz de un cáncer, o una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa.

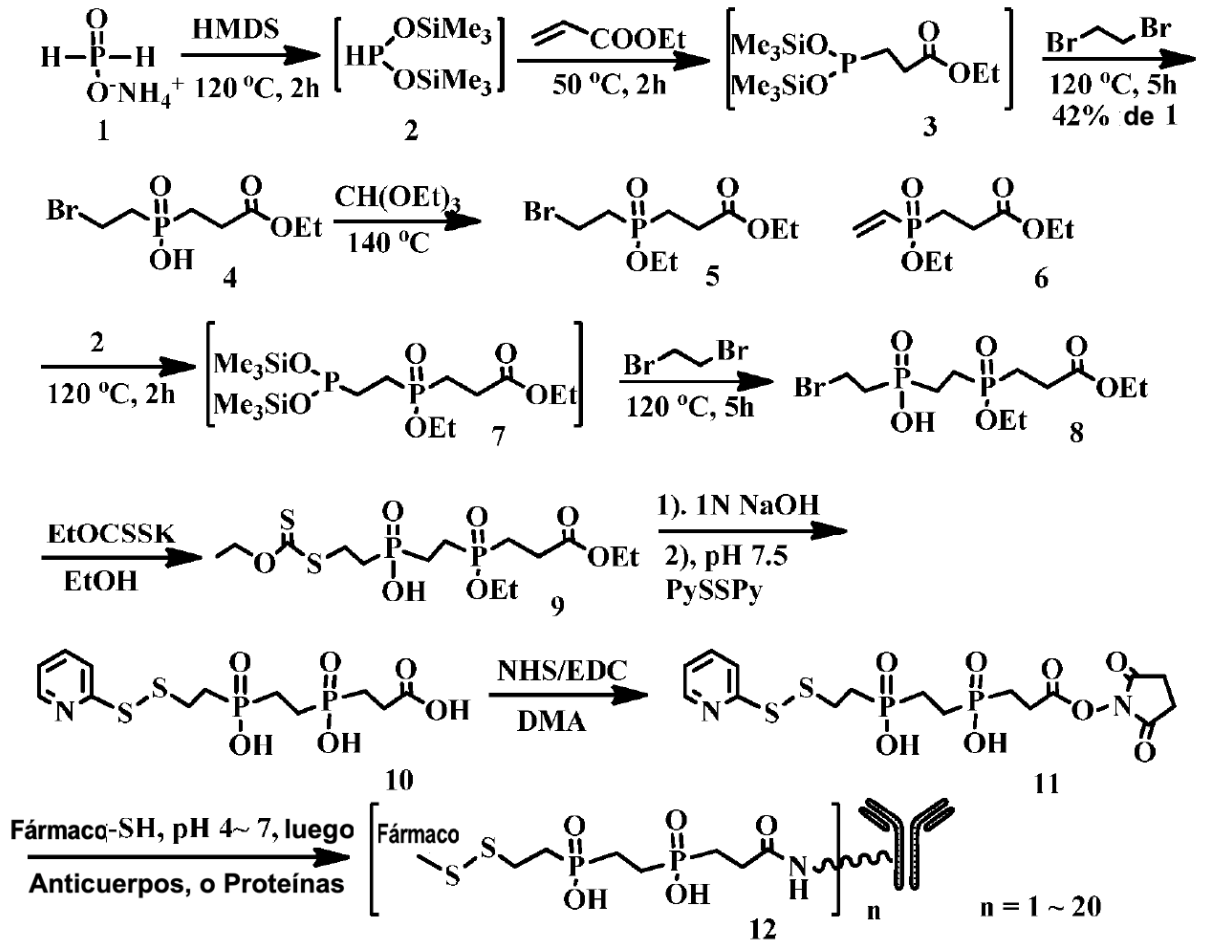


Fig. 1. La síntesis de un enlazador de ácido di-fosfínico

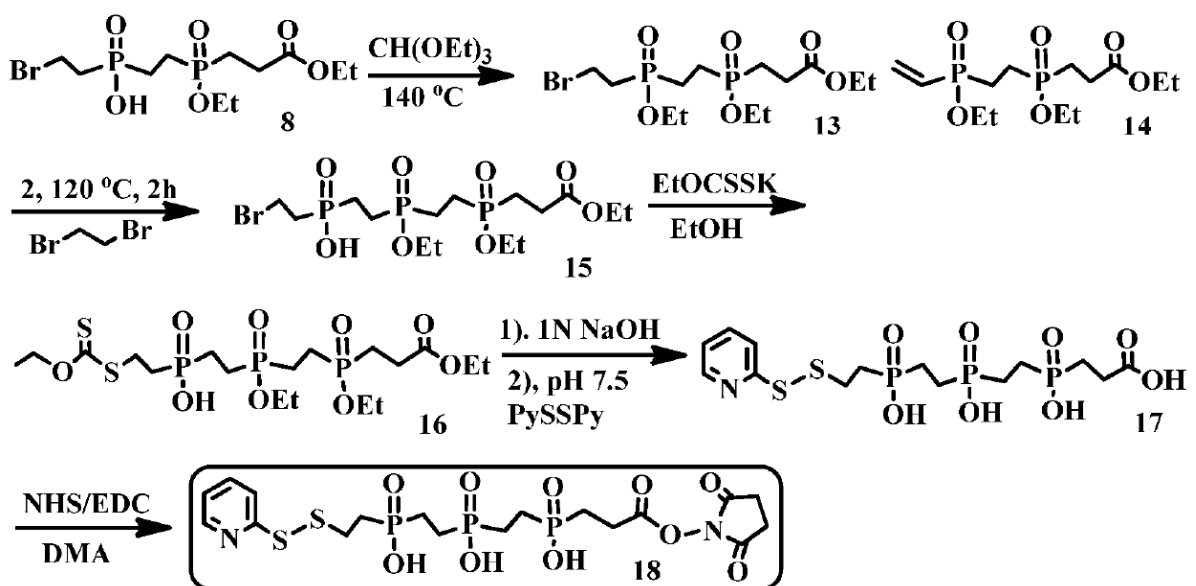


Fig. 2. La síntesis de un enlazador de ácido tri-fosfínico



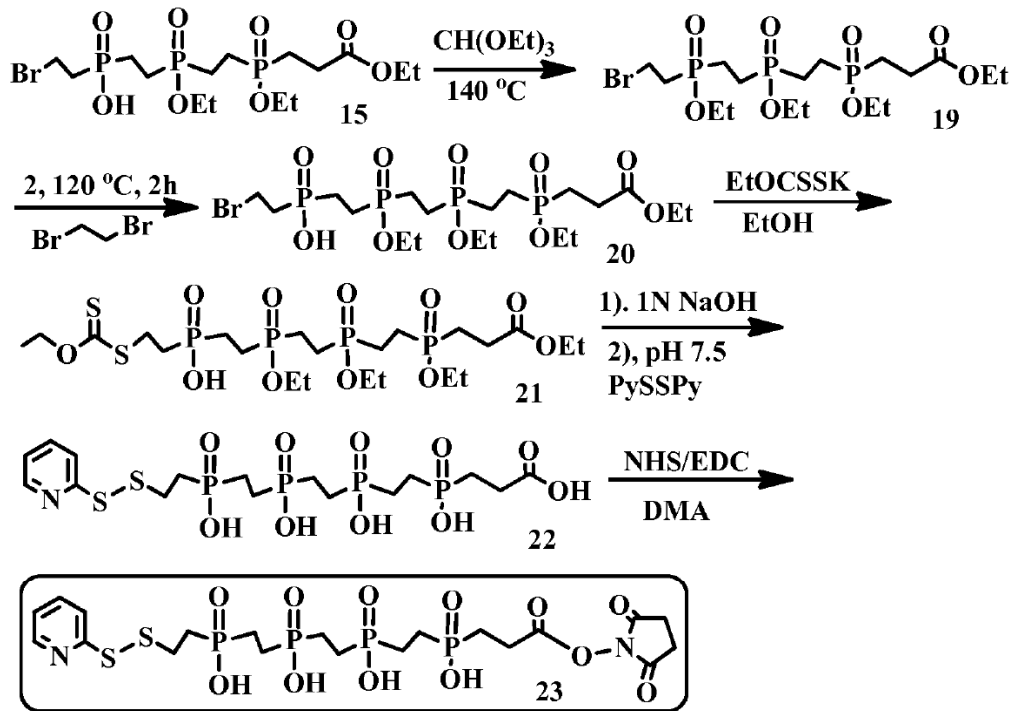


Fig. 3. La síntesis de un enlazador de ácido tetra-fosfínico

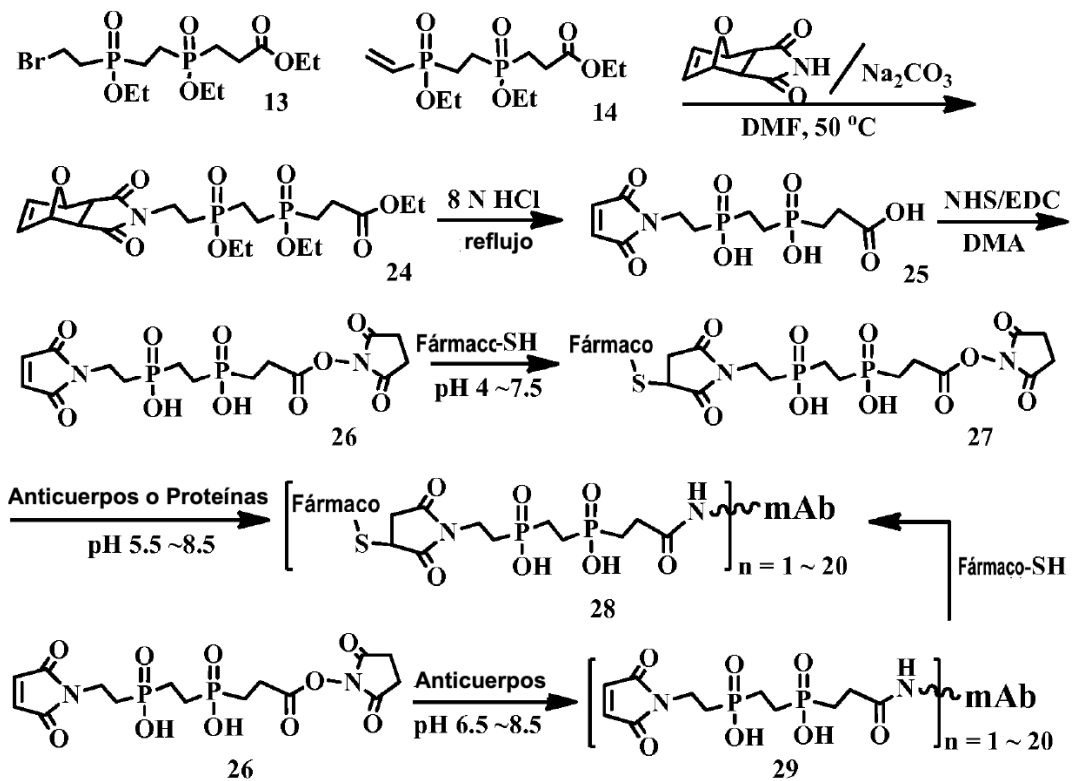


Fig. 4. La síntesis de un enlazador de ácido di-fosfínico



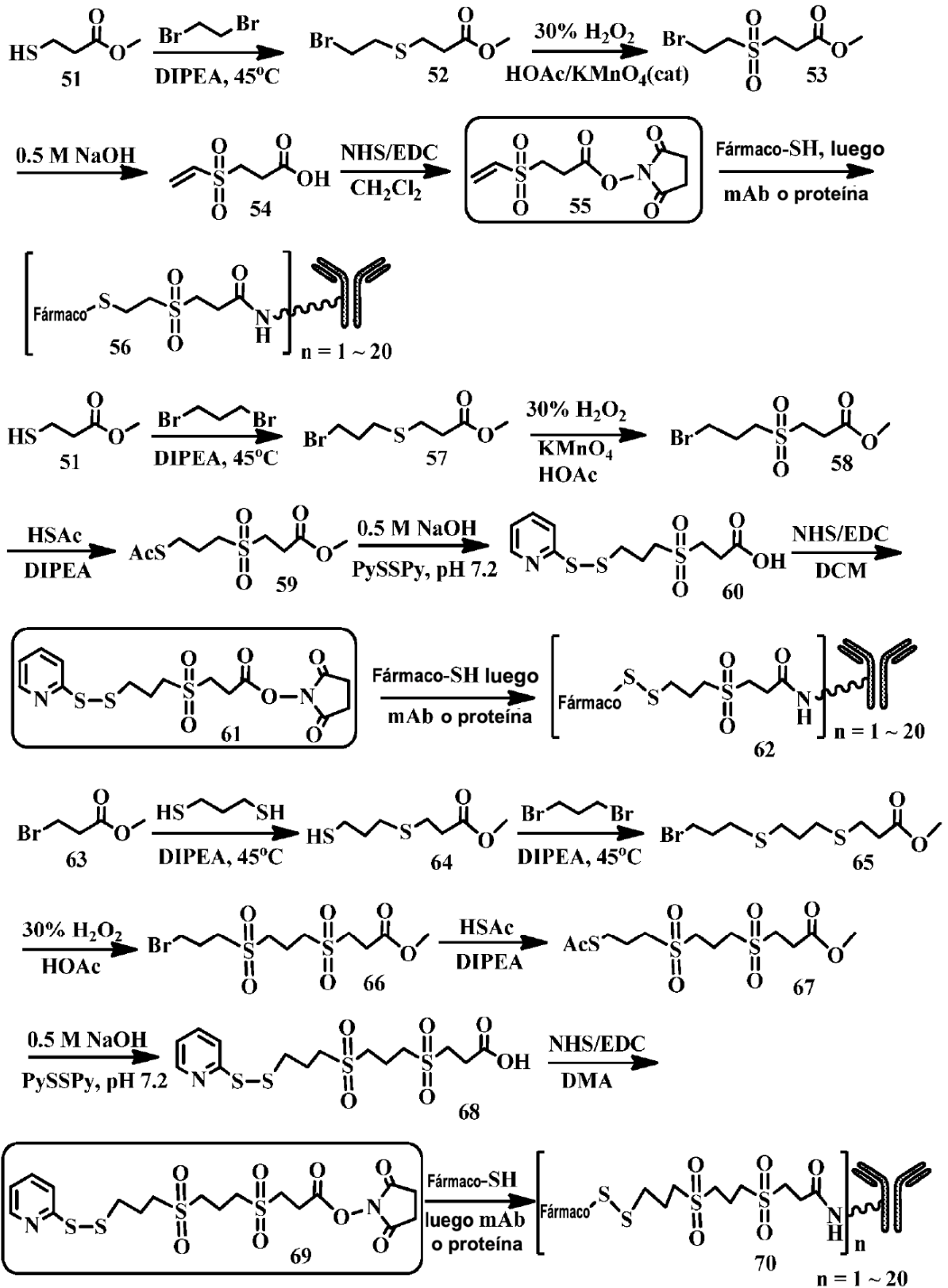


Fig. 6. La síntesis de enlazadores mono, y di-sulfonilo

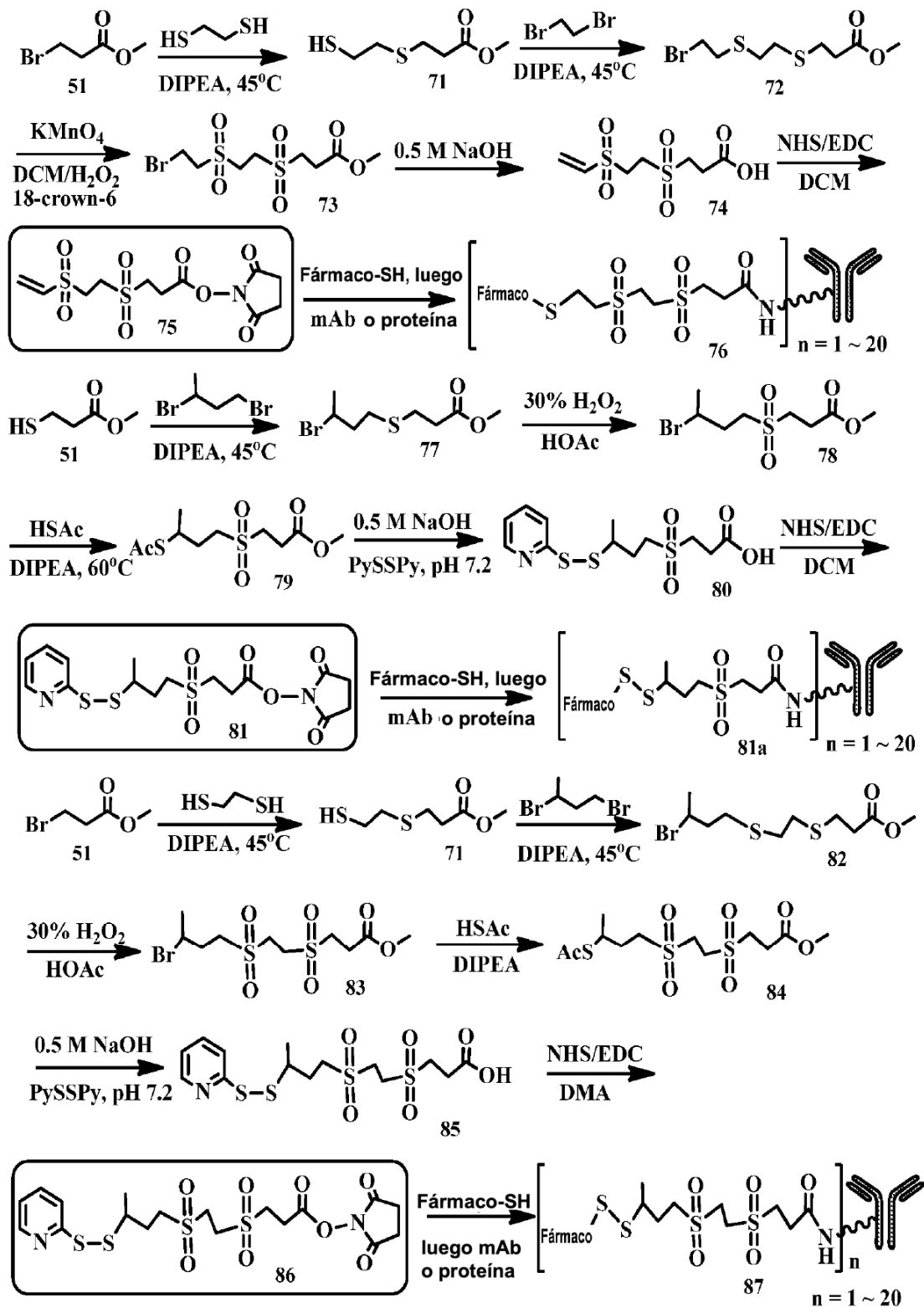


Fig. 7. La síntesis de enlazadores mono y di-sulfonilo

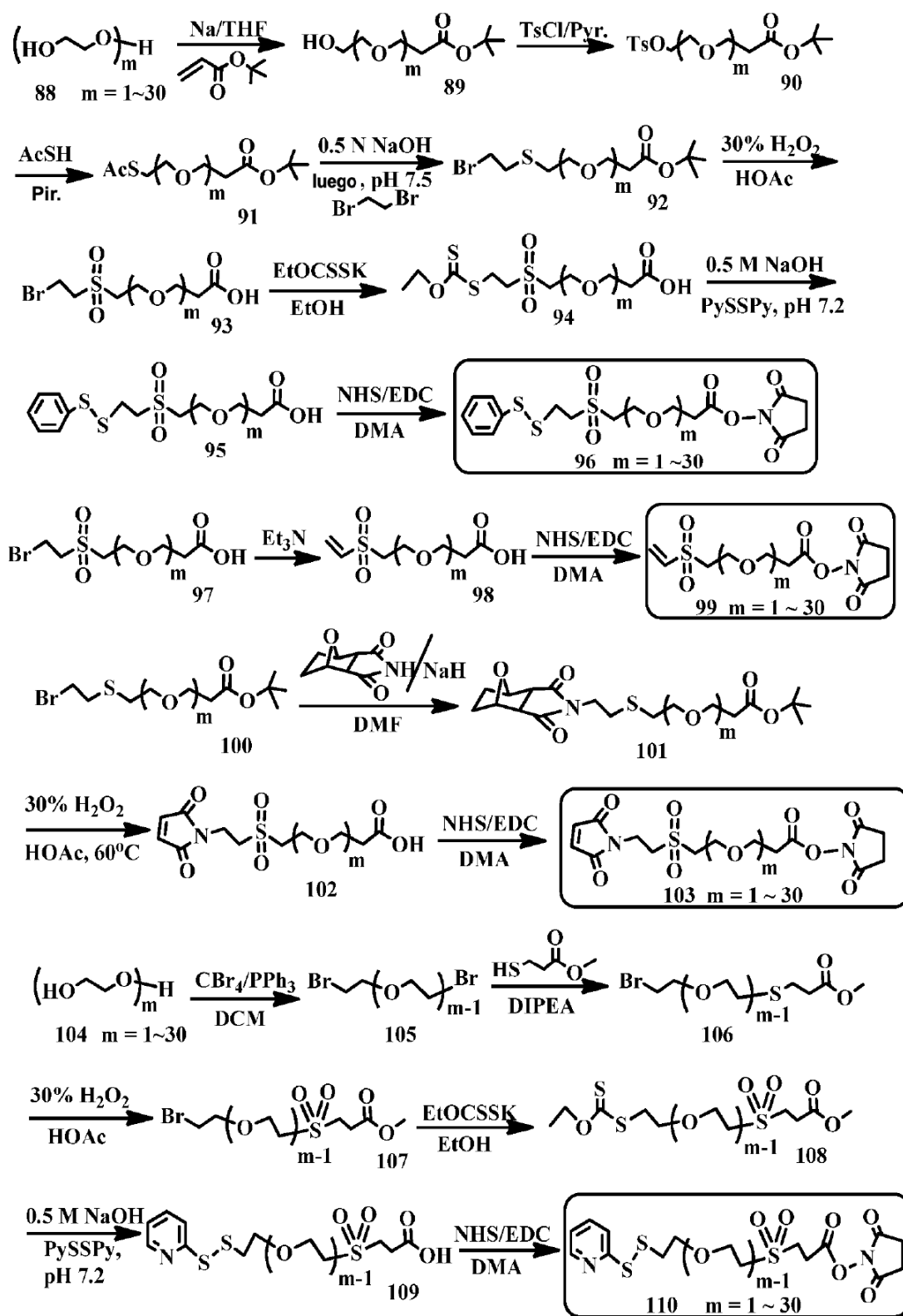


Fig. 8. La síntesis de enlazadores mono-sulfonilo que contienen polietilenglicoles

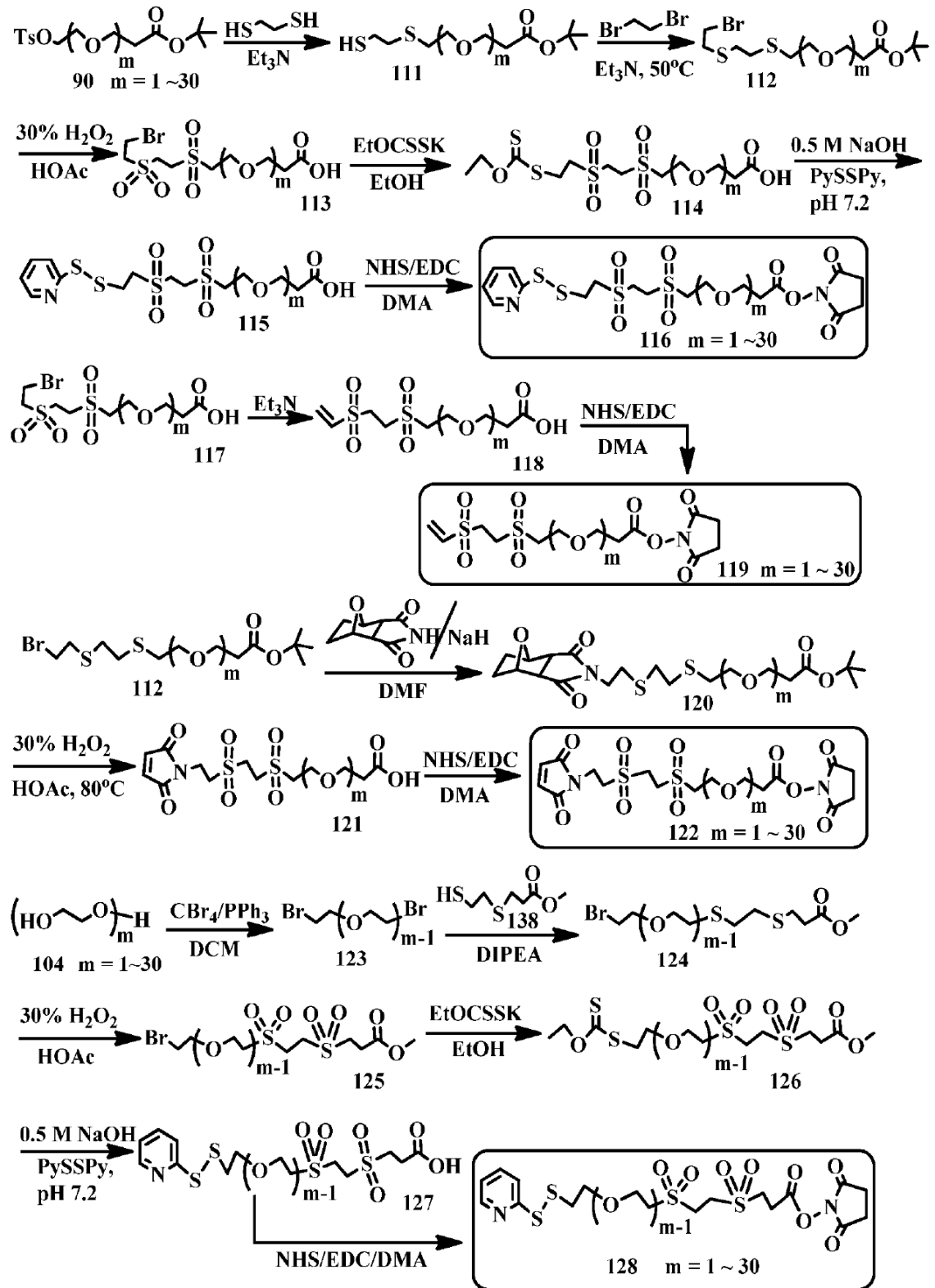


Fig. 9. La síntesis de enlazadores di-sulfonilo que contienen polietilenglicoles

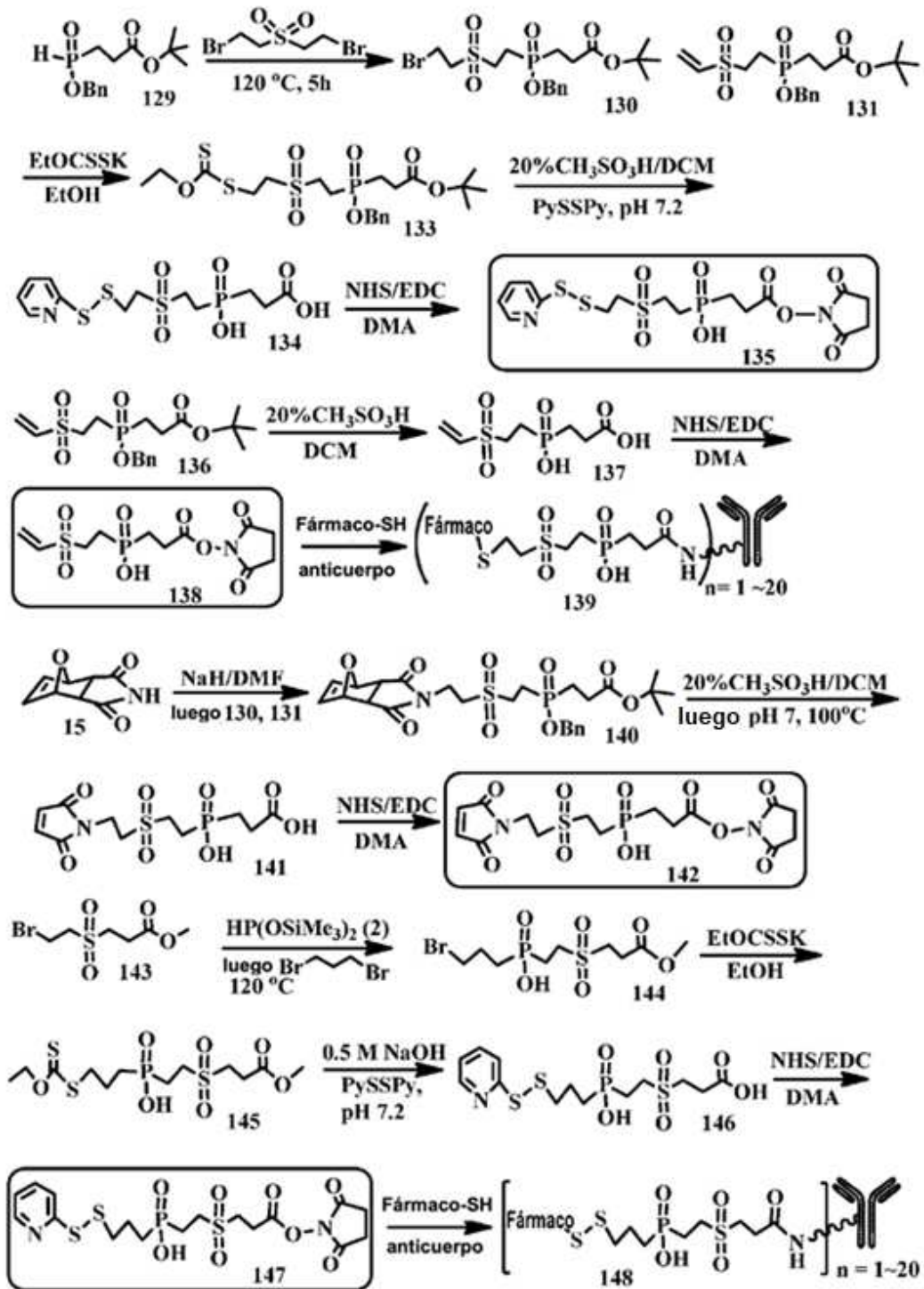


Fig. 10. La síntesis de enlazadores de sulfonilo que contienen ácido fosfínico

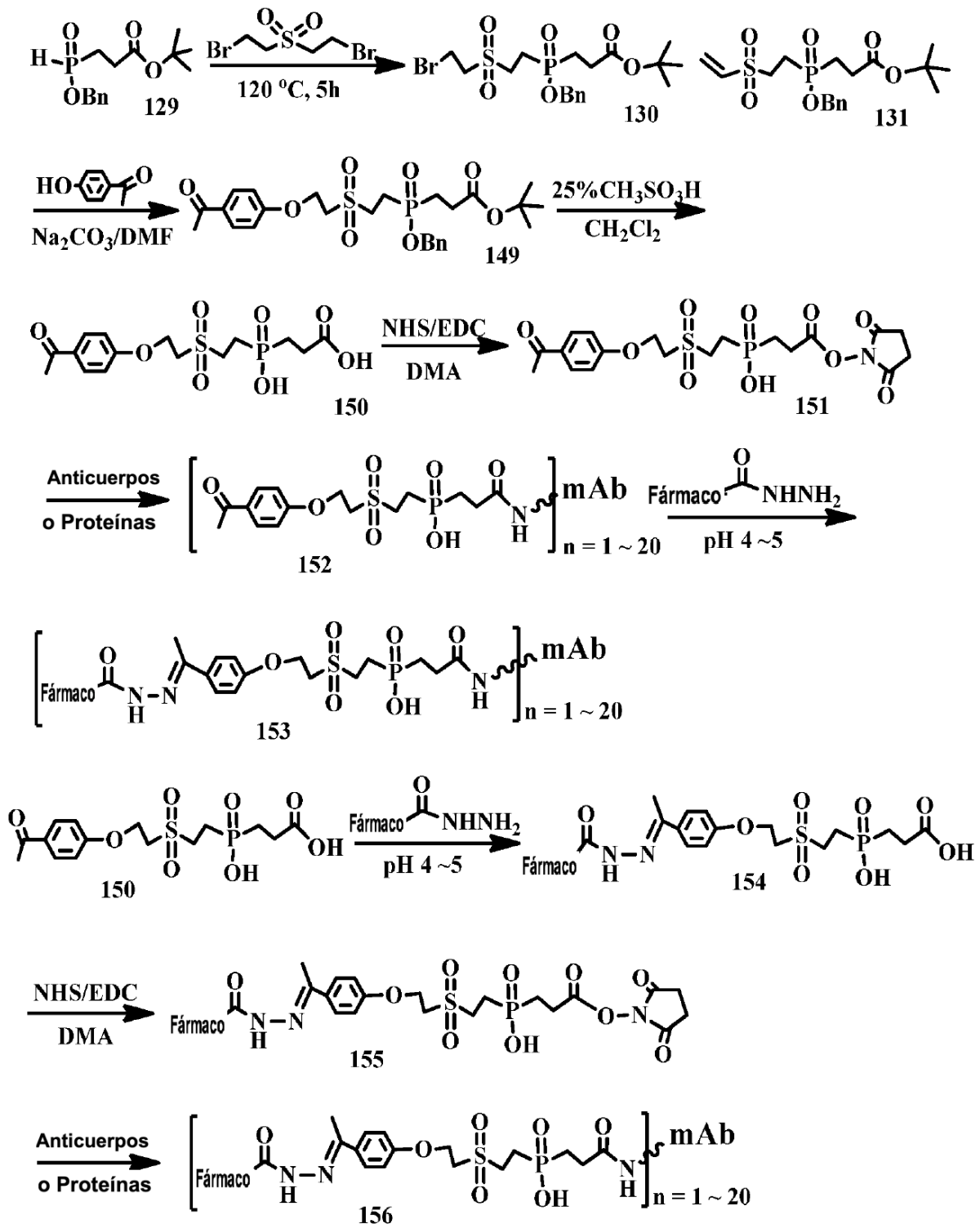


Fig. 11. La síntesis de un enlazador hidrofílico que contiene un contenido de fosfinato, un sulfonilo y grupos cetona que pueden usarse para la conjugación de un fármaco con un anticuerpo o una proteína a través de un enlace hidrazona



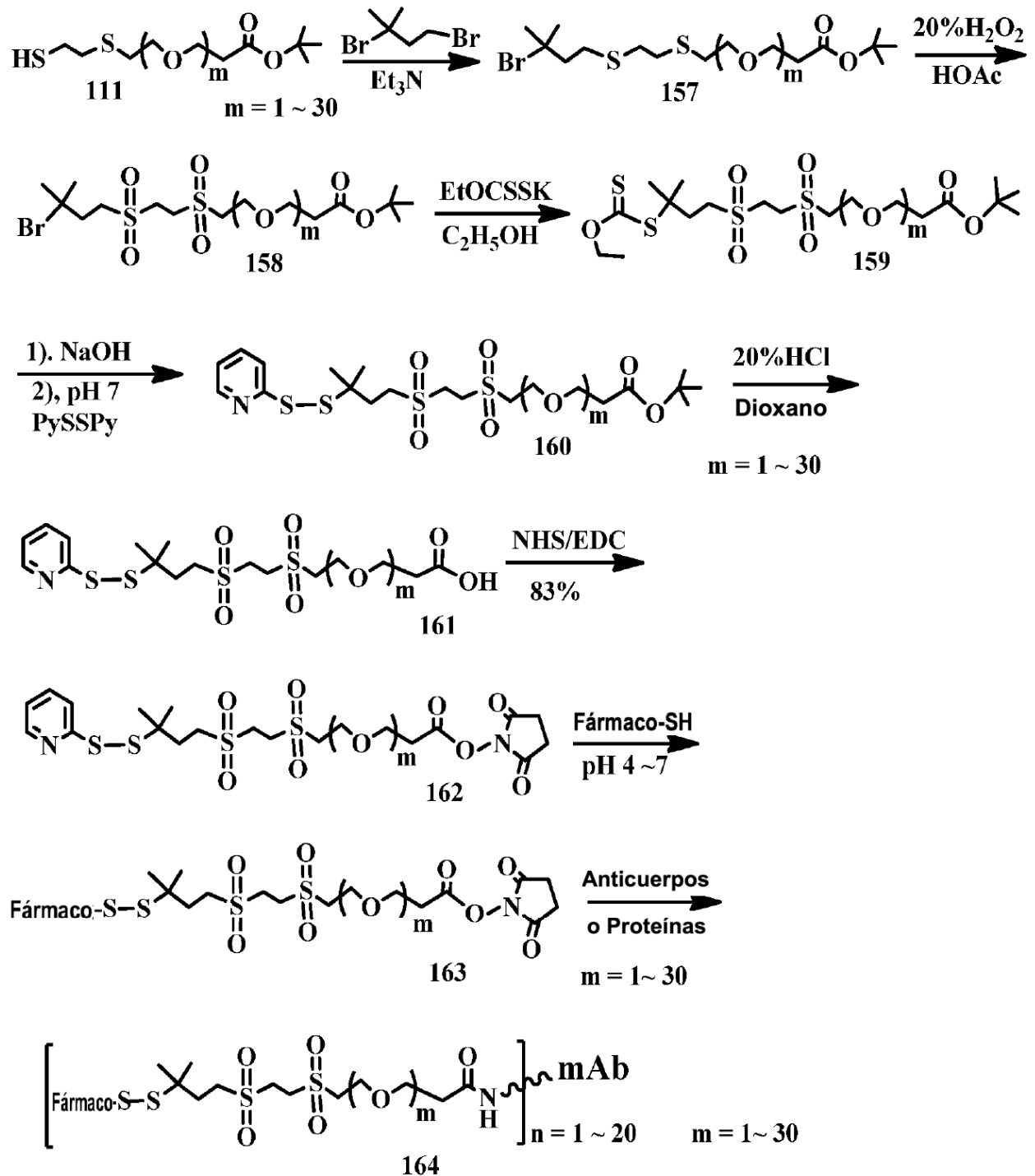


Fig. 12. La síntesis de enlazadores hidrofílicos que contienen un disulfonilo, polietilenglicoles, un grupo piridildisulfuro muy obstaculizado y un éster de ácido carboxílico reactivo a través de la sustitución de 1,3-dibromo-3-metilbutano. El enlazador se usa para la conjugación de un anticuerpo o una proteína a través de un enlace disulfuro obstructor.



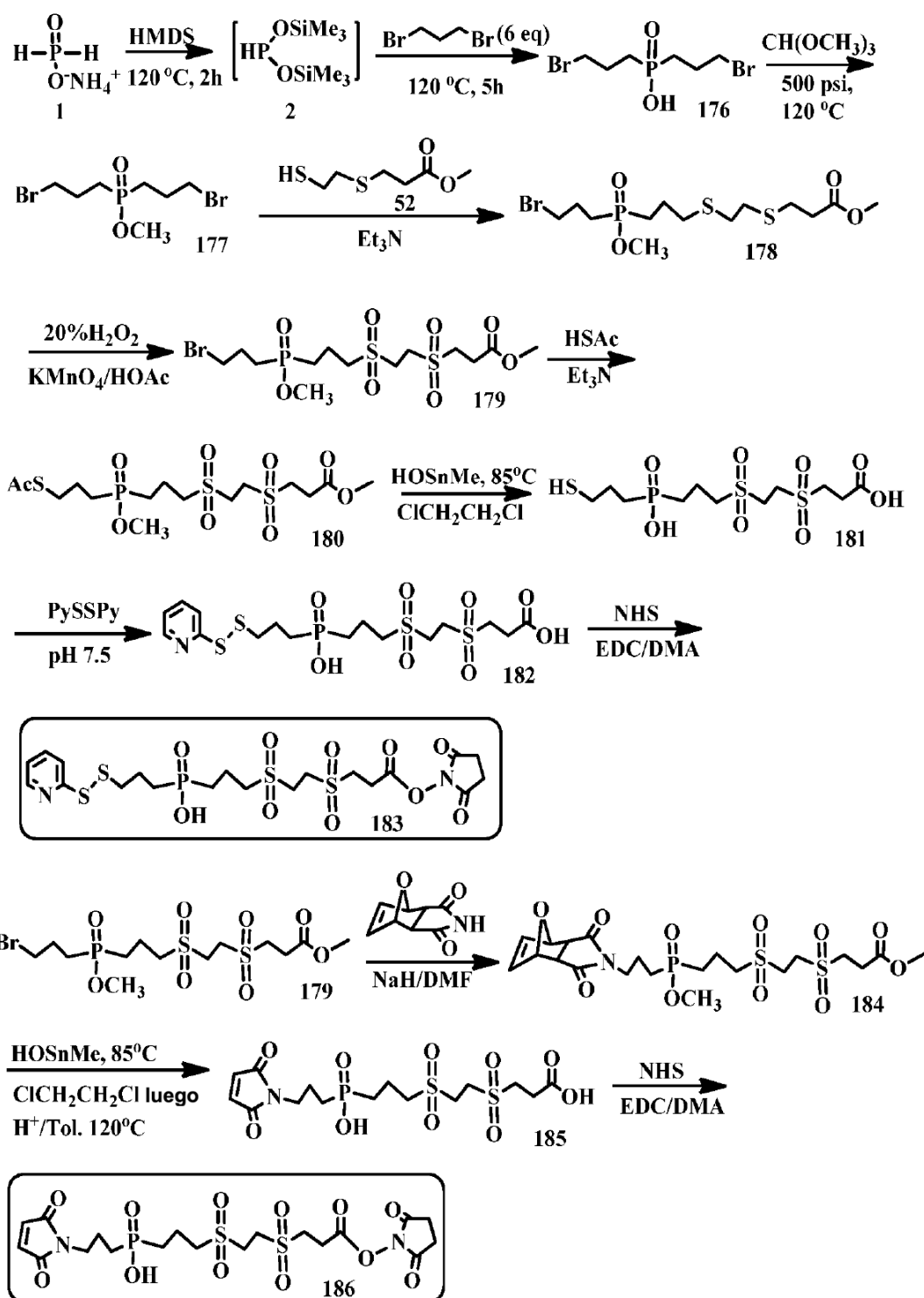


Fig. 14. La síntesis de enlazadores hidrofílicos que contienen un grupo disulfonilo, fosfinato, piridildisulfuro, una cadena de pilietilenglicol (PEG) y un éster de ácido carboxílico reactivo. Los enlazadores se usan para la conjugación de una molécula de unión a la célula a través de un enlace tioéter

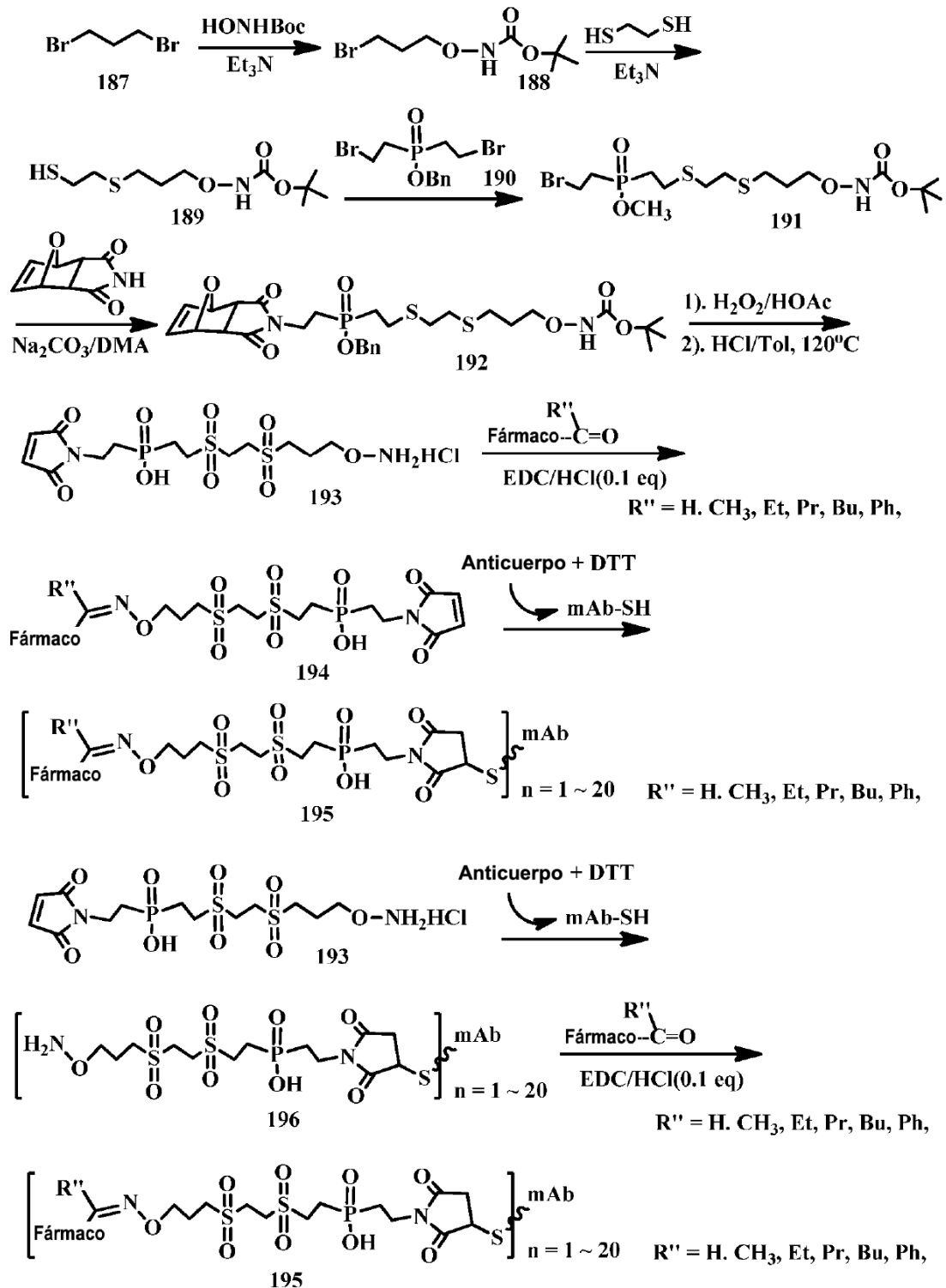


Fig. 15. La síntesis de enlazadores que contienen fosfinato y disulfonilo que contiene un sustituyente alcoxilamino y maleimido, que permite que el fármaco que contiene cetona o aldehído se enlace a un anticuerpo a través de un enlace tioéter y alcoxima

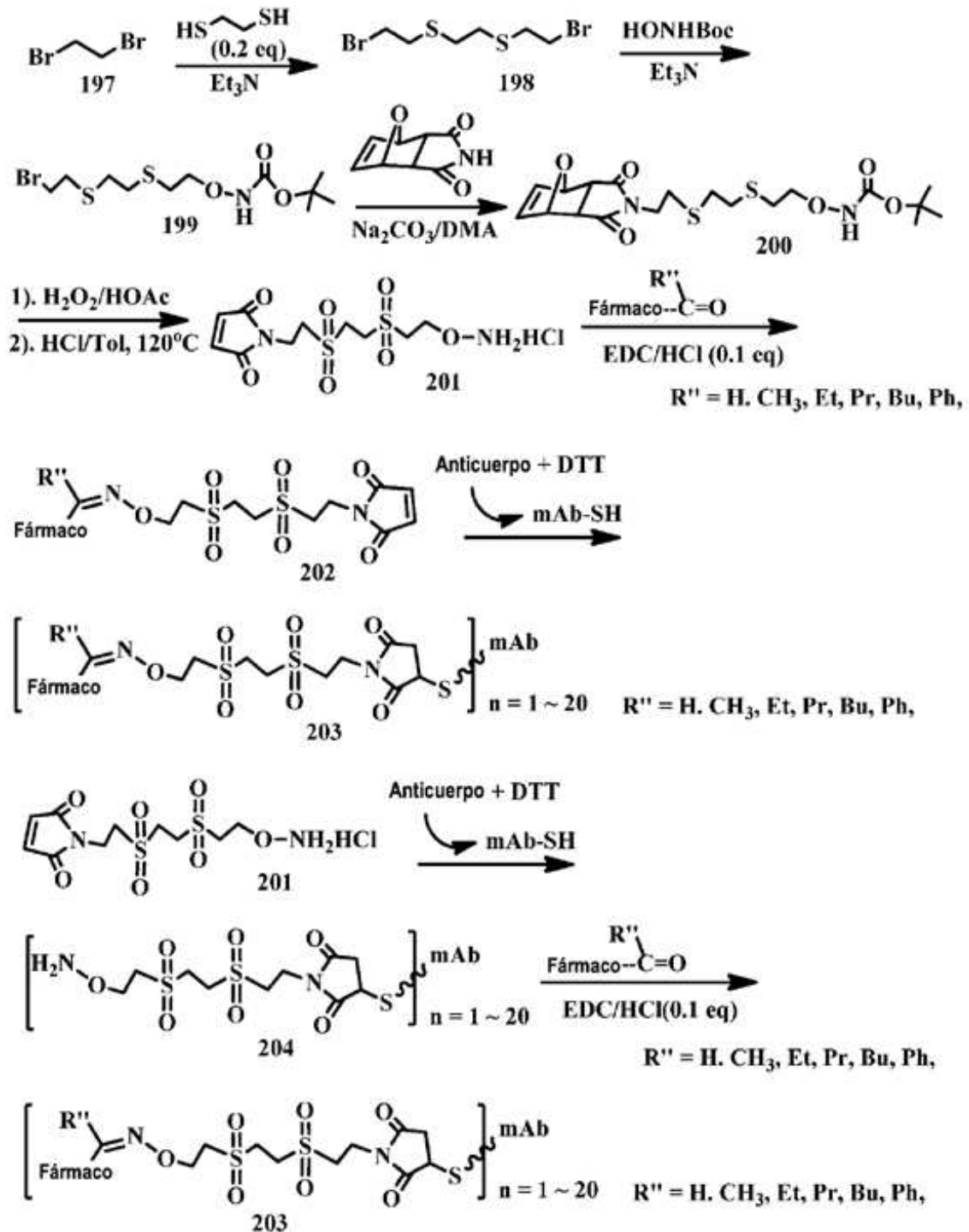


Fig. 16. La síntesis de enlaces que contienen disulfonilo que contiene un sustituyente alcoxilamino y uno maleimido, que permite que un fármaco que contiene cetona o aldehído se enlace con un anticuerpo a través de un tioéter y un enlace alcoxima

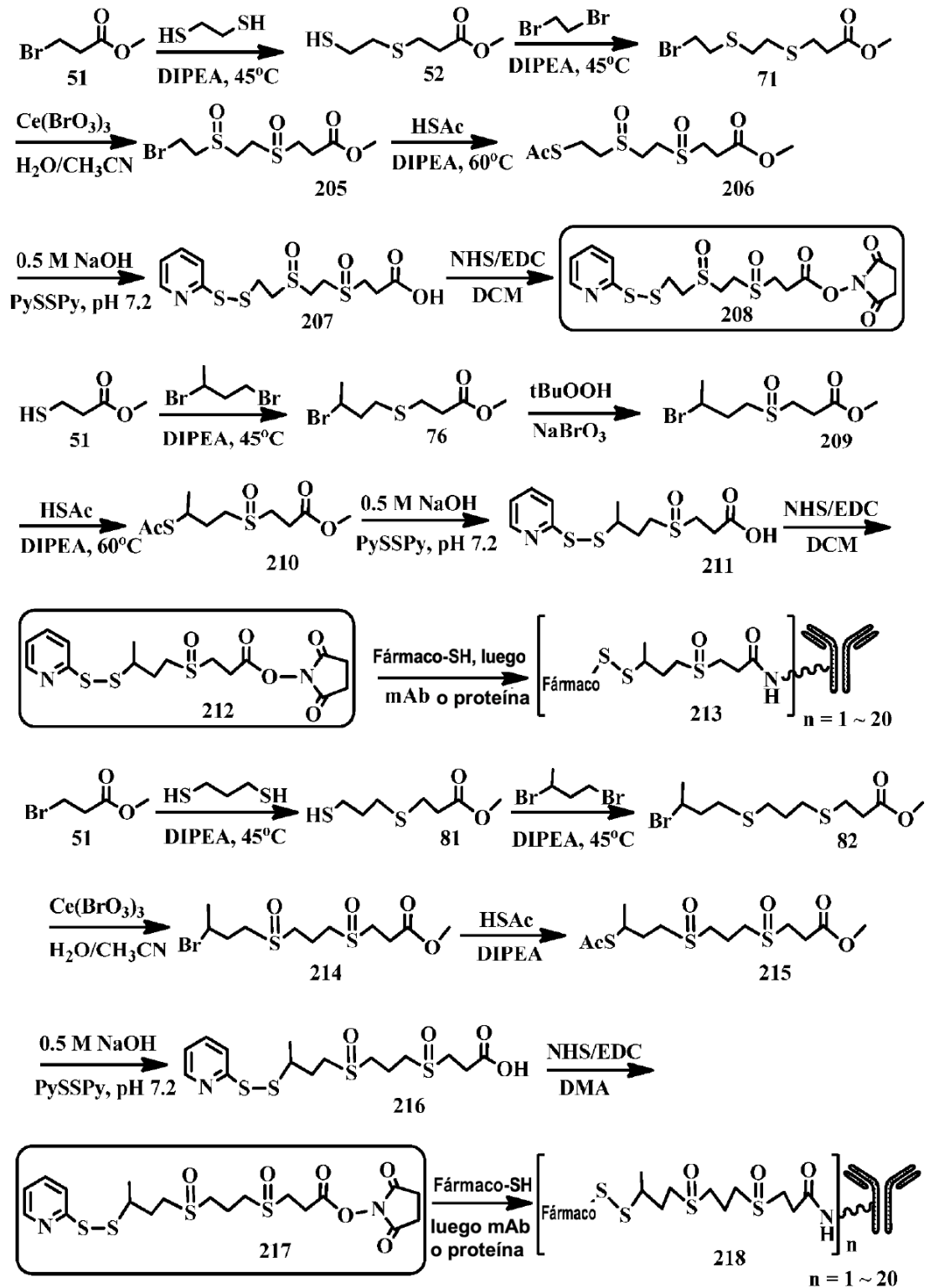


Fig. 17. La síntesis de enlaces que contienen sulfóxido y que contienen disulfóxido que se utilizan para la conjugación de fármacos con una molécula de enlazamiento a la célula a través de un enlace disulfuro

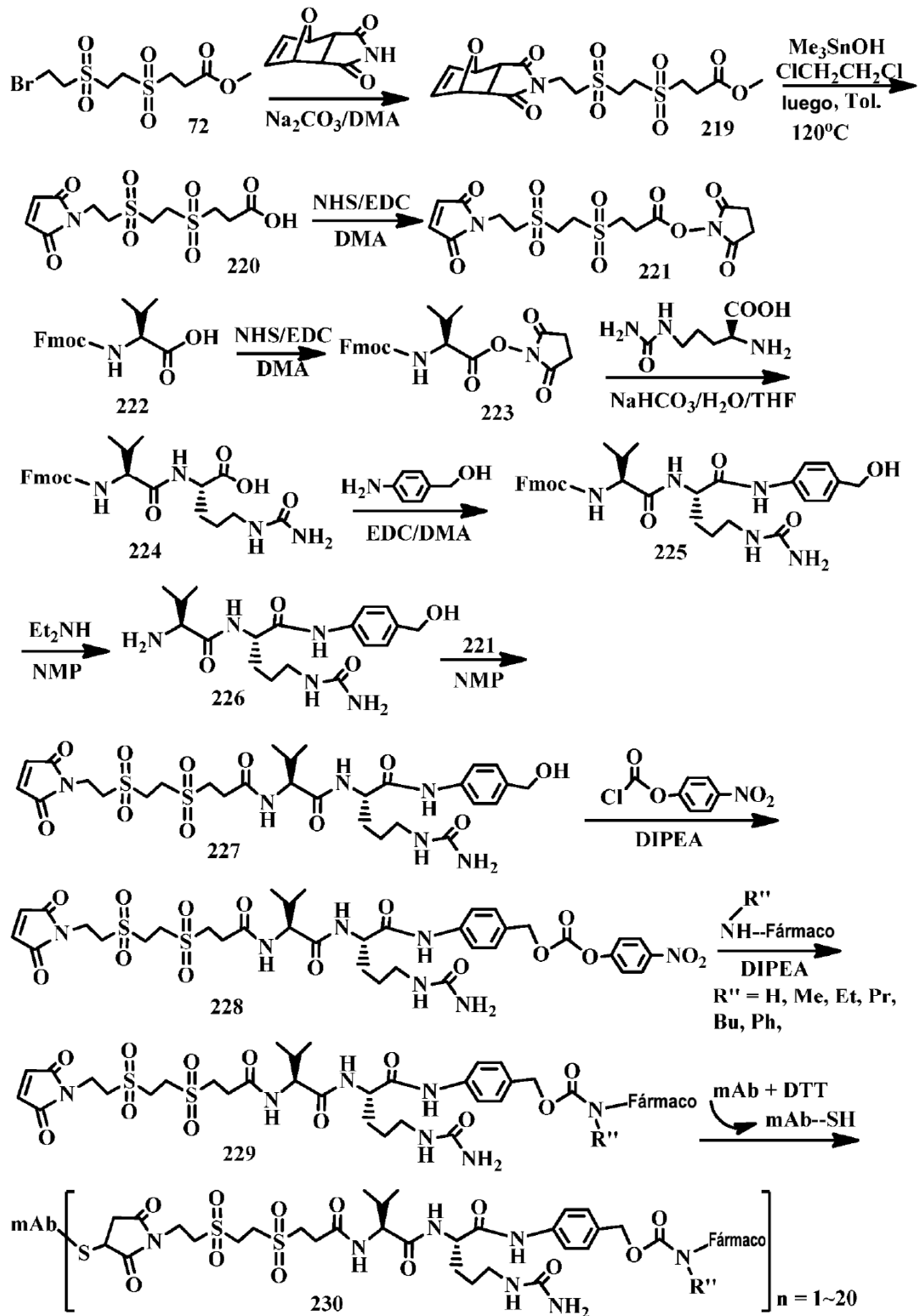
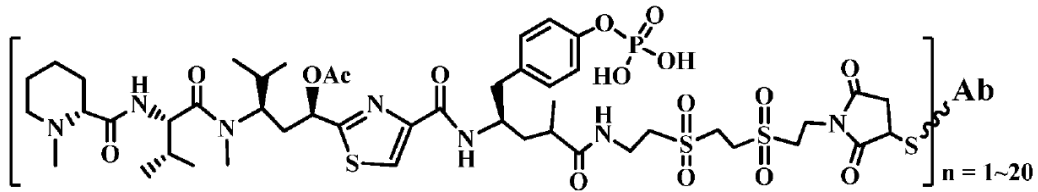
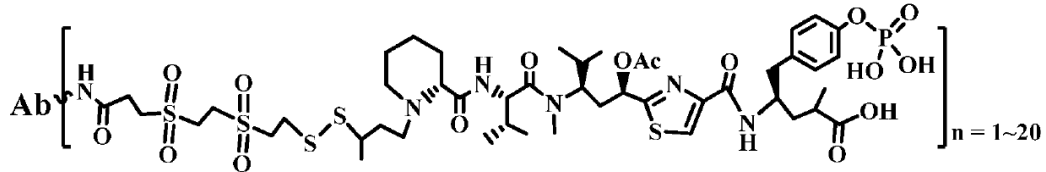


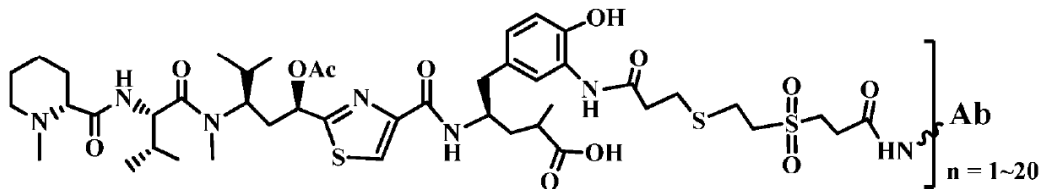
Fig. 18. La síntesis de un enlazador que contiene disulfonilo (221) que se usa para conjugación de fármacos citotóxicos que contienen amina con un anticuerpo a través del enlace Val-Cit-PABC



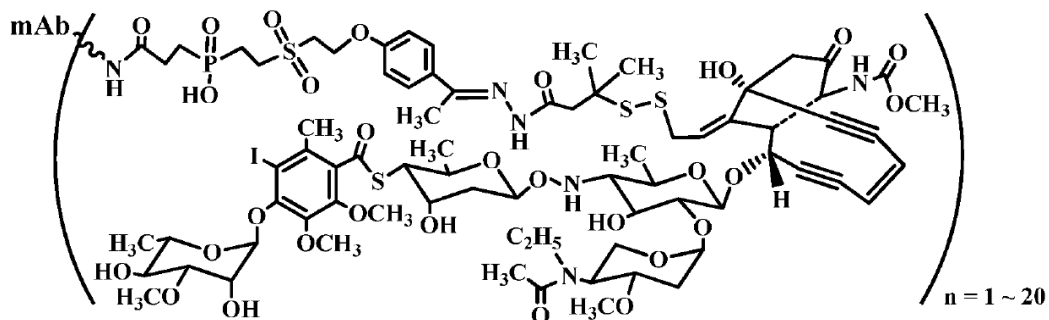
19-a). Estructura de ADC de un análogo de tubulina a través de enlazador disulfonilo.



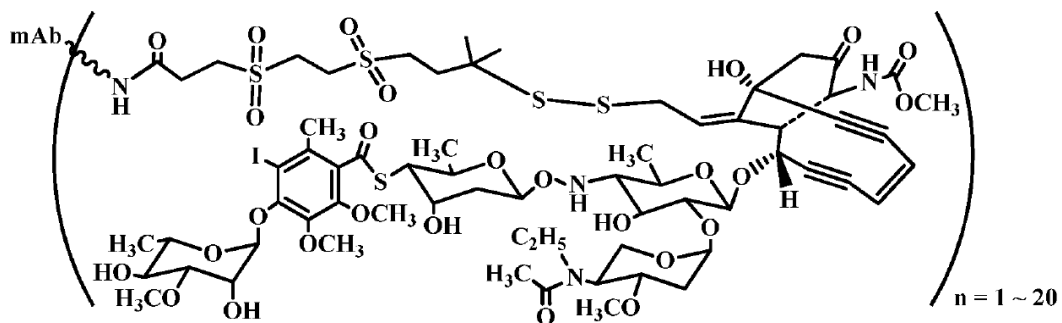
19-b). Estructura de ADC de un análogo de tubulina a través de enlazador disulfonilo.



19-c). Estructura de ADC de un análogo de tubulina a través de enlazador sulfonilo.

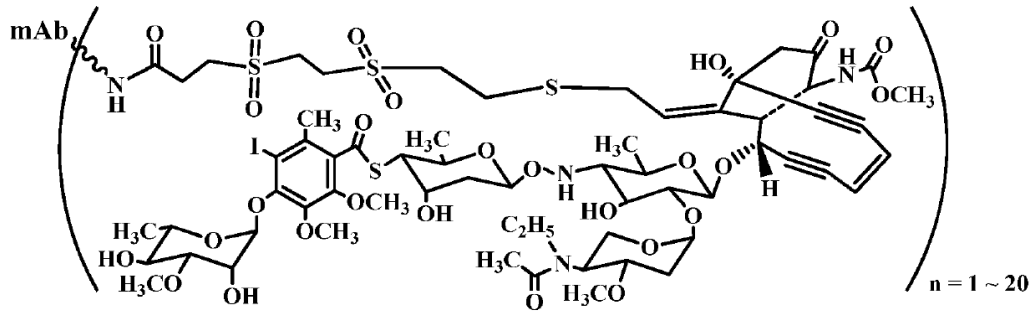


19-d). Estructura de ADC de un análogo de caliqueamicina a través de enlazador hidrofílico (a través de un enlace de hidrazona y disulfuro).

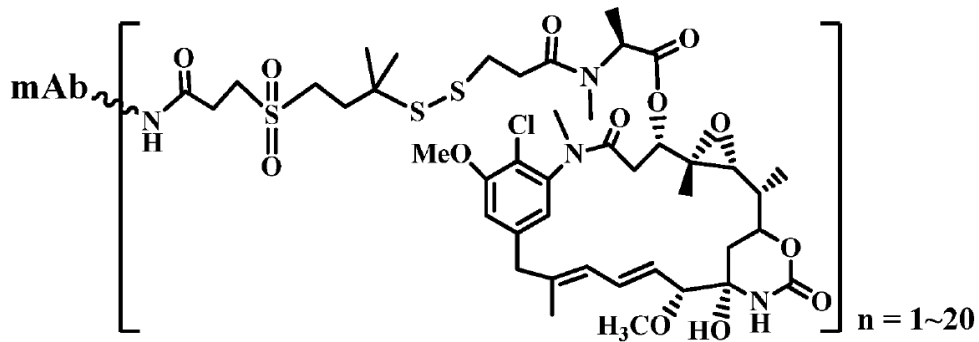


19-e). Estructura de ADC de un análogo de caliqueamicina a través de enlazador hidrofílico (enlace disulfuro)

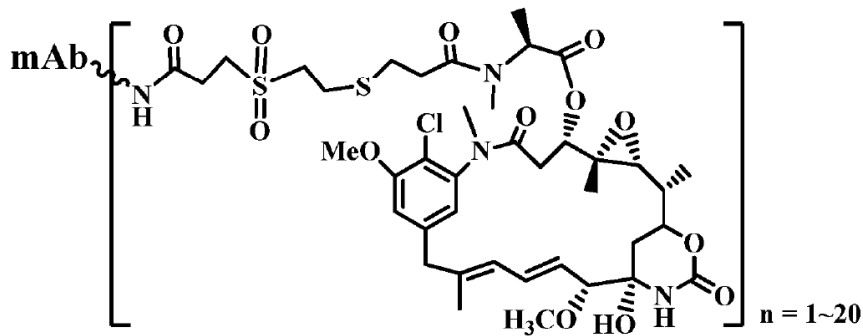




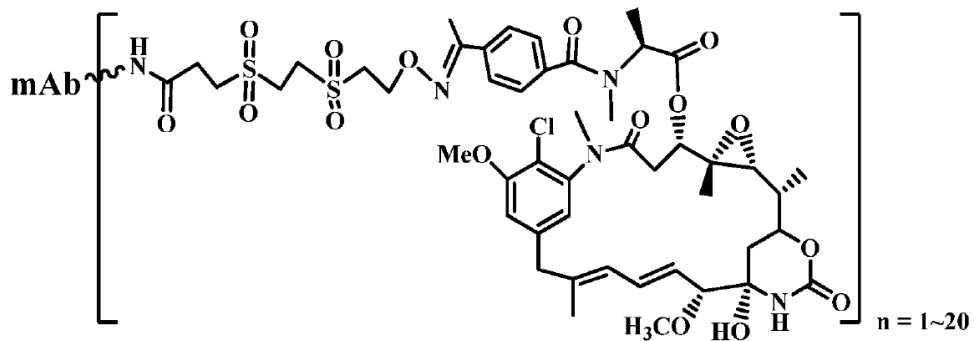
19-f). Estructura de ADC de un análogo de caliqueamicina a través de enlazador hidrofílico (enlace tioéter)



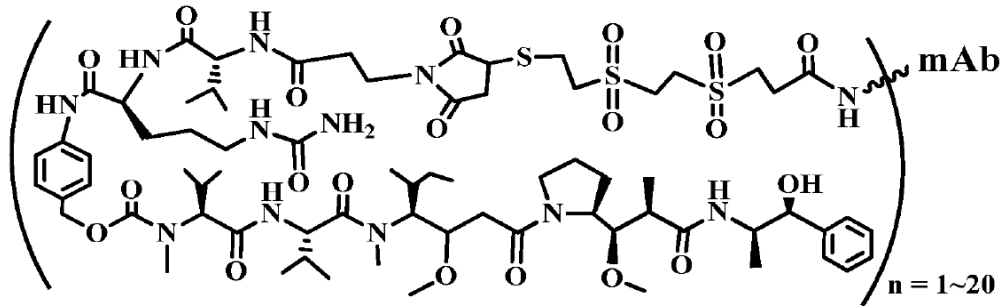
19-g). Estructura de ADC de un Maitansinoide (DM1) a través de un enlazador hidrofílico (enlace disulfuro).



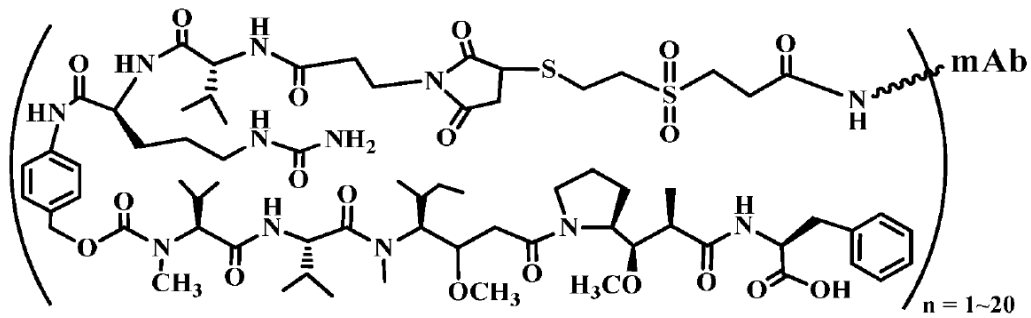
19-h). Estructura de ADC de un Maitansinoide (DM1) a través de un enlazador hidrofílico (enlace tioéter).



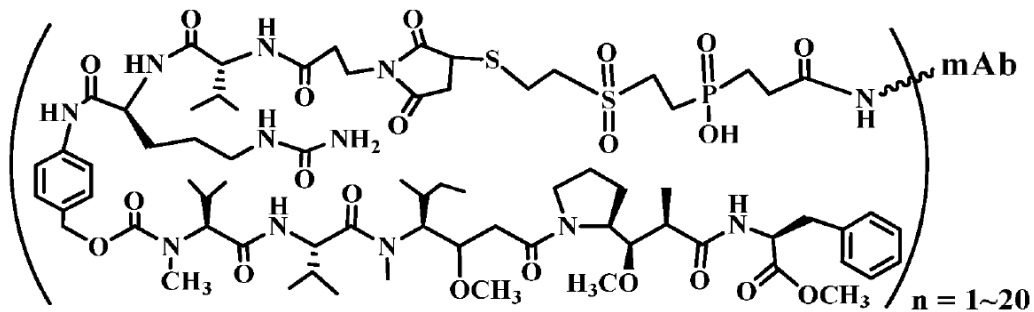
19-i). Estructura de ADC de un Maitansinoide a través de un enlazador hidrofílico (a través de enlace alcoxima).



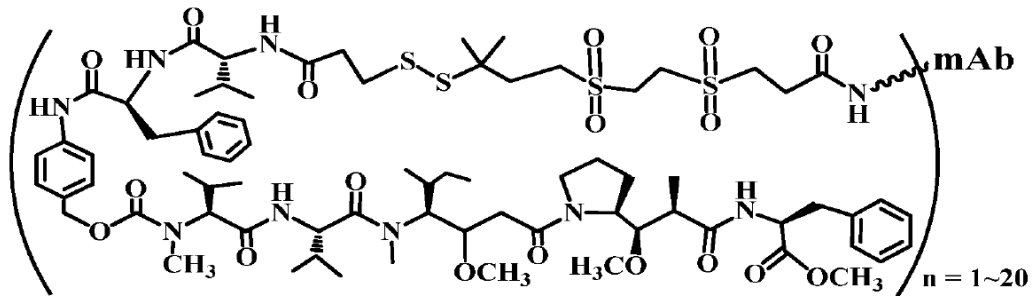
19-j). Estructura de ADC de un análogo de auristatina (monometil auristatina E (MMAE)) a través de un enlazador hidrofílico (enlaces tioéter y péptido citrulina-valina).



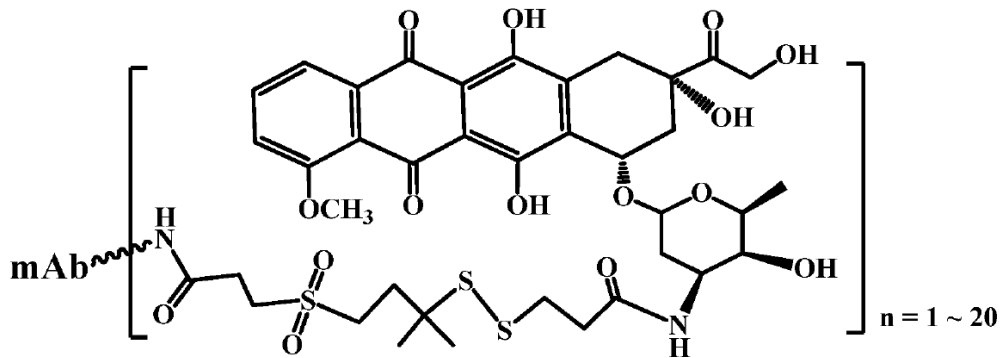
19-k). Estructura de ADC de un análogo de auristatina (monometil auristatina F (MMAF)) a través de un enlazador hidrofílico (enlaces tioéter y péptido citrulina-valina).



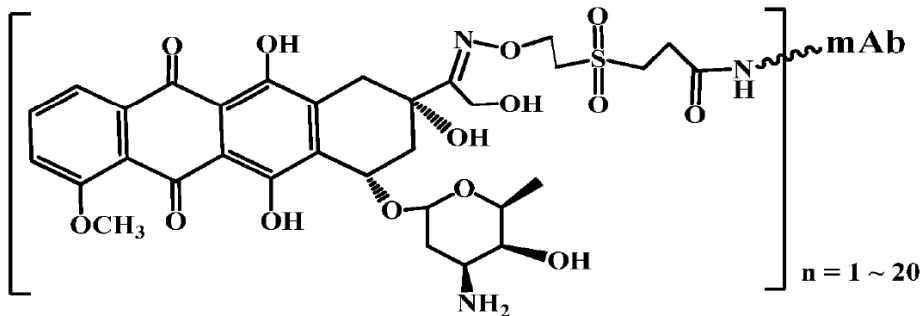
19-l). Estructura de ADC de monometil auristatina F-OMe (MMAF-OMe) a través de un enlazador hidrofílico (enlaces tioéter y péptido citrulina-valina).



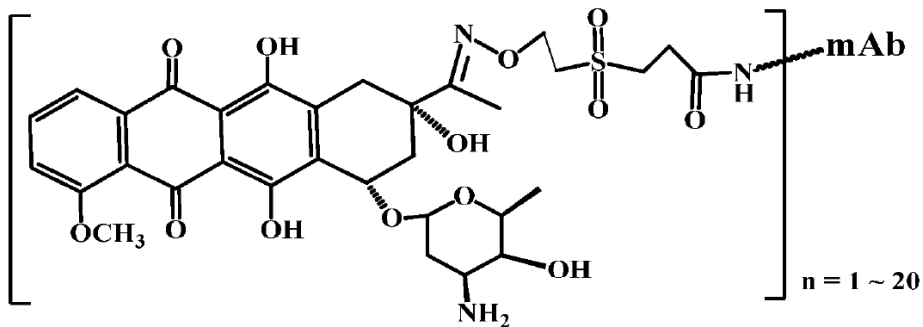
19-m). Estructura de ADC de monometil auristatina F-OMe (MMAF-OMe) a través de un enlazador hidrofílico (enlace disulfuro y péptido citrulina-valina) de esta patente.



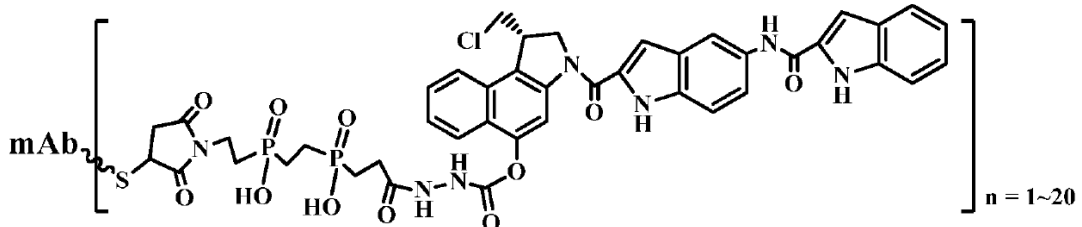
19-n). Estructura de ADC de un compuesto de doxorubicina a través de un enlazador hidrofílico (enlace disulfuro).



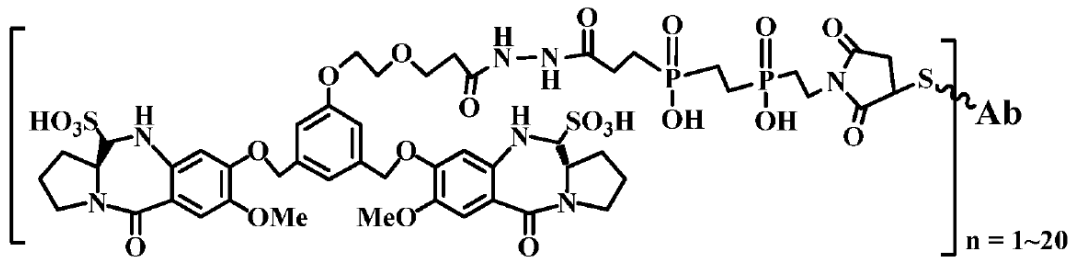
19-o). Estructura de ADC de un compuesto de doxorubicina a través de un enlazador hidrofílico (enlace alcoxima).



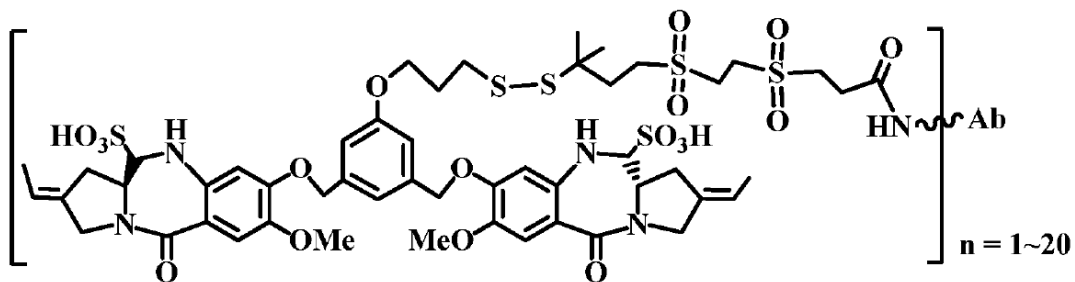
19-p). Estructura de ADC de una daunorubicina a través de un enlazador hidrofílico (enlace alcoxima).



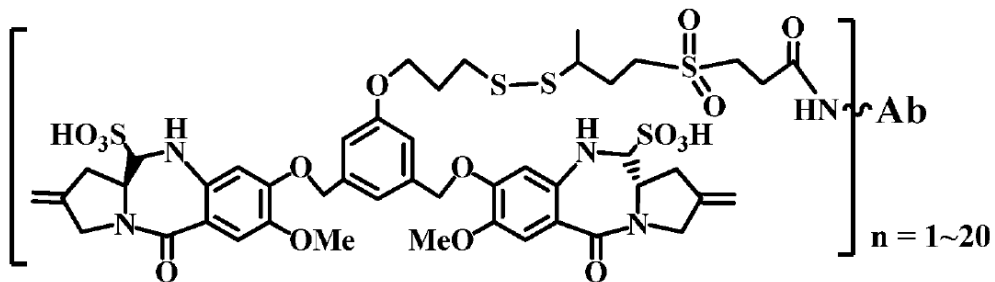
19-q). Estructura de ADC de un análogo de CC-1065 a través de un enlazador hidrofílico (enlace hidracinacarboxilato) de esta patente.



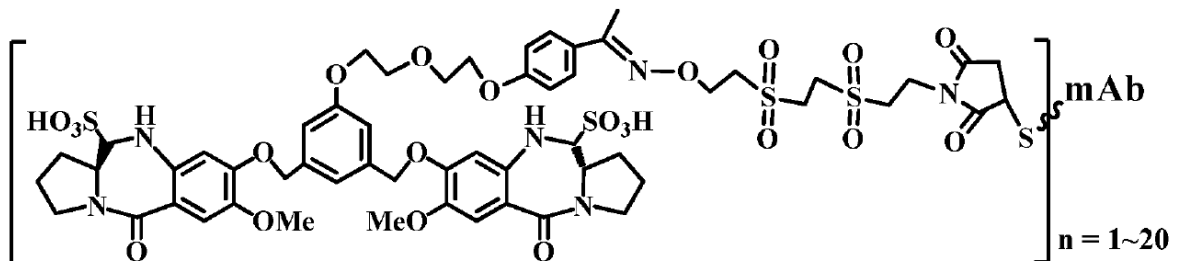
19-r). Estructura de ADC de un profármaco dimérico de pirrolobenzodiazepina a través de un enlazador hidrofílico (enlace hidrazida) de esta patente.



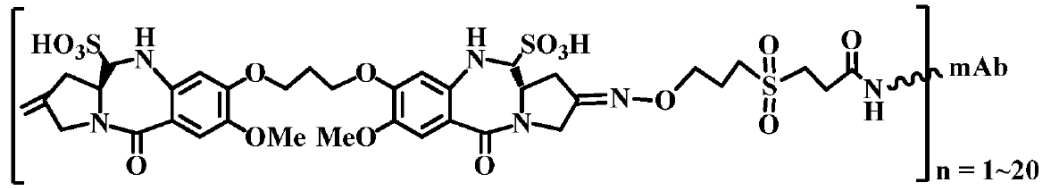
19-s). Estructura de ADC de un profármaco dimérico de pirrolobenzodiazepina (tomaimicina) a través de un enlazador hidrofílico (unión de enlace disulfuro) de esta patente.



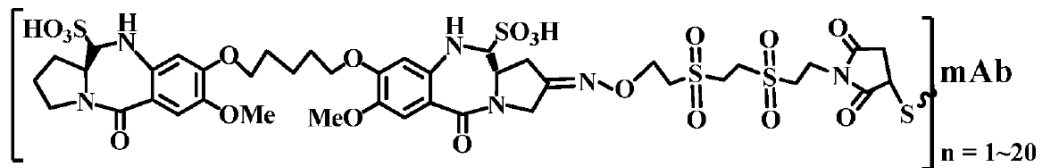
19-t). Estructura de ADC de un profármaco dimérico de pirrolobenzodiazepina a través de un enlazador hidrofílico (unión de enlace disulfuro) de esta patente.



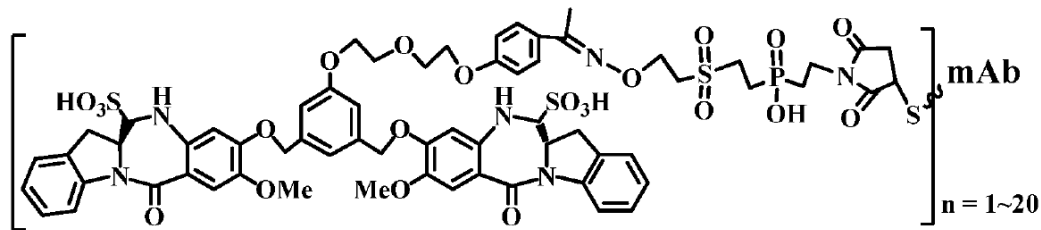
19-u). Estructura de ADC de un profármaco dimérico de pirrolobenzodiazepina a través de un enlazador hidrofílico (unión de enlace alcoxima) de esta patente.



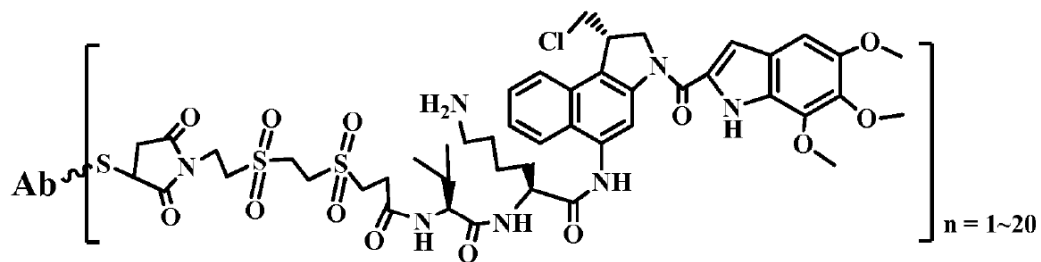
19-v). Estructura de ADC de un profármaco dimérico de pirrolobenzodiazepina a través de un enlazador hidrofílico (unión de enlace alcoxima) de esta patente.



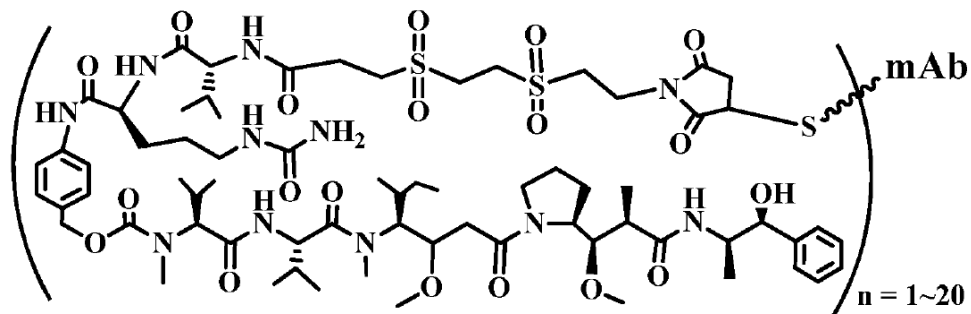
19-w). Estructura de ADC de un profármaco dimérico de pirrolobenzodiazepina a través de un enlazador hidrofílico (unión de enlace alcoxima) de esta patente.



19-x). Estructura de ADC de un profármaco dimérico de indolinobenzodiazepina a través de un enlazador hidrofílico (unión de enlace alcoxima) de esta patente.

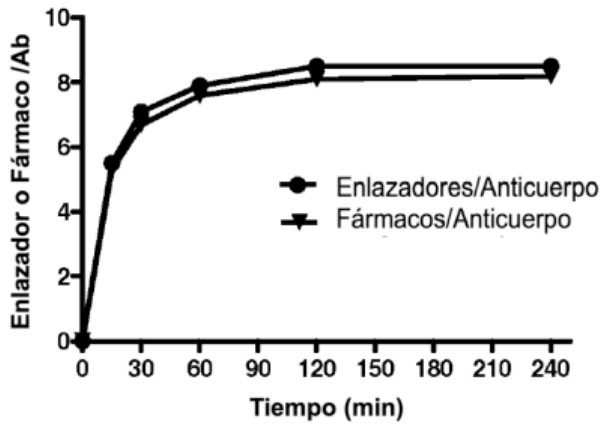


19-y). Estructura de ADC de un análogo de duocarmicina a través de un enlazador hidrofílico (enlace peptídico).



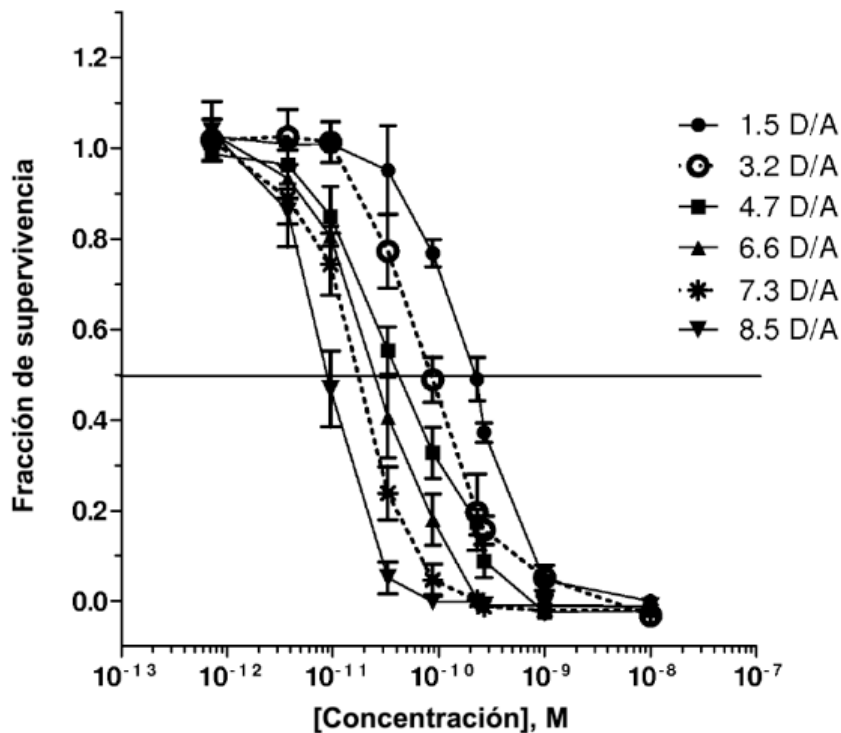
19-z). Estructura de ADC de un análogo de auristatina a través de un enlazador hidrofílico (enlaces tioéter y peptídicos de citrulina-valina).

**AntiHer2-TZ03 a través de un enlazador hidrofílico**



**Fig. 20.** El uso de un enlazador hidrofílico (86) en la modificación de un agente de unión a la célula (anticuerpo antiHer2) y seguido por la producción de un conjugado agente de unión a la célula-fármaco (TZ03) que contiene el enlazador hidrofílico.

**Citotoxicidad de conjugados antiCD22-TZ041 con diferentes cargas de fármaco en células Ramos**



**Fig. 21.** Ensayos in vivo durante 5 días de la citotoxicidad del conjugado antiCD22-TZ041 (análogo de tubulisina) con diferentes relaciones de carga de fármaco a través del enlazador hidrofílico (86).