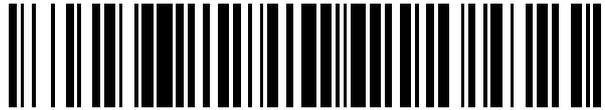


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 715 776**

51 Int. Cl.:

A61K 47/68	(2007.01)
C07K 7/02	(2006.01)
A61K 38/08	(2009.01)
A61P 35/00	(2006.01)
A61P 37/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.11.2005 PCT/US2005/041514**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.12.2006 WO06132670**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.11.2005 E 05857978 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2019 EP 1817336**

54 Título: **Auristatinas que tienen una unidad de ácido aminobenzoico en el extremo N**

30 Prioridad:

12.11.2004 US 627207 P

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

06.06.2019

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**DORONINA, SVETLANA, O. y
MENDELSON, BRIAN, A.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 715 776 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

Auristatinas que tienen una unidad de ácido aminobenzoico en el extremo N

5 **Antecedentes**

La administración de fármacos y otros agentes a células o tejidos diana para el tratamiento de cáncer y otras enfermedades ha sido el punto central de muchas investigaciones durante años. La mayoría de los agentes actualmente administrados a un paciente por vía parenteral no están dirigidos, dando como resultado una administración sistémica del agente a células y tejidos del cuerpo donde no es necesario, y frecuentemente es indeseable. Esto puede dar como resultado efectos secundarios adversos, y frecuentemente limita la dosis de un fármaco (por ejemplo, productos quimioterapéuticos (antineoplásicos), citotóxicos, agentes inhibidores enzimáticos, y fármacos antivíricos o antimicrobianos) que se puede administrar. Aunque la administración oral de fármacos se considera una forma de administración cómoda y económica, comparte los mismos problemas de toxicidad no específica para las células no diana una vez que el fármaco se ha absorbido en la circulación sistémica. Otras complicaciones implican problemas de biodisponibilidad oral y residencia del fármaco en el intestino, que produce una exposición adicional del intestino al fármaco y, por tanto, el riesgo de toxicidades para el intestino.

Por consiguiente, un objetivo principal ha sido desarrollar métodos para dirigir específicamente agentes a las células y tejidos. Los beneficios de dichos tratamientos incluyen evitar los efectos fisiológicos generales de una administración inadecuada de dichos agentes a otras células y tejidos, tales como células no infectadas. El direccionamiento intracelular se puede conseguir con métodos, compuestos y formulaciones que permitan la acumulación o retención de agentes, es decir agentes citotóxicos o citostáticos, dentro de las células. El uso de conjugados de anticuerpo-fármaco para la administración local de agentes citotóxicos o citostáticos (por ejemplo, fármacos para destruir o inhibir células tumorales en el tratamiento de cáncer) puede permitir la administración dirigida del fármaco a tumores, y la acumulación intracelular en su interior. Por el contrario, la administración sistémica de agentes farmacológicos no conjugados puede dar como resultado niveles inaceptables de toxicidad para las células normales, así como para las células tumorales que se desea eliminar.

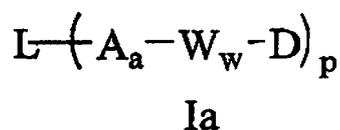
En los conjugados de anticuerpo y fármaco, el fármaco puede estar unido directamente al anticuerpo (por ejemplo, mediante un resto cisteína) o indirectamente mediante un enlazador. La internalización del anticuerpo diana después de la unión al antígeno transporta el fármaco a la célula diana. Una vez internalizado, el fármaco se puede liberar del anticuerpo mediante escisión en la lisozima o mediante otros mecanismos celulares. Para facilitar la liberación del fármaco, se puede incluir un sitio de escisión en el enlazador. En algunos conjugados, una porción de un enlazador puede permanecer unida al fármaco después de la escisión. Para evitar esto, se ha incluido un separador autoinmolable en el enlazador. Un "separador autoinmolable" es un resto químico bifuncional que es capaz de unir covalentemente de forma conjunta dos restos químicos separados en una molécula tripartita normalmente estable (por ejemplo, un conjugado anticuerpo-enlazador-fármaco). Tras la escisión, el separador se escinde espontáneamente a sí mismo del resto de la molécula para liberar el otro de dichos restos químicos separados: (Véase la patente de Estados Unidos N.º 6.214.345). Por ejemplo, una unidad de separador autoinmolable es p-aminobencilcarbamoilo (PABC).

El documento 2004/073656 divulga anticuerpos dirigidos contra CD70 y derivados de los mismos conjugados con agentes citotóxicos, inmunosupresores, u otros agentes terapéuticos, así como composiciones farmacéuticas y kits que comprenden el anticuerpo -y conjugados de derivado de anticuerpo y fármaco.

Sin embargo, existe la necesidad de un conjugado de anticuerpo-fármaco que no necesite un separador autoinmolable para una liberación eficaz del fármaco desde el conjugado de anticuerpo-fármaco cuando está enlazado mediante un enlazador enzimáticamente escindible. Estas y otras limitaciones y problemas del pasado se resuelven mediante la presente divulgación. La cita de cualquier referencia en esta solicitud no es una admisión de que la referencia es el estado de la técnica de esta solicitud.

Breve sumario

55 La presente divulgación proporciona Compuestos conjugados de la Fórmula general Ia:



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

L- es una Unidad de ligando;

-A_a-W_w- es una Unidad de ligando (LU), en la que la Unidad de ligando incluye:

-A- es una Unidad ensanchadora,

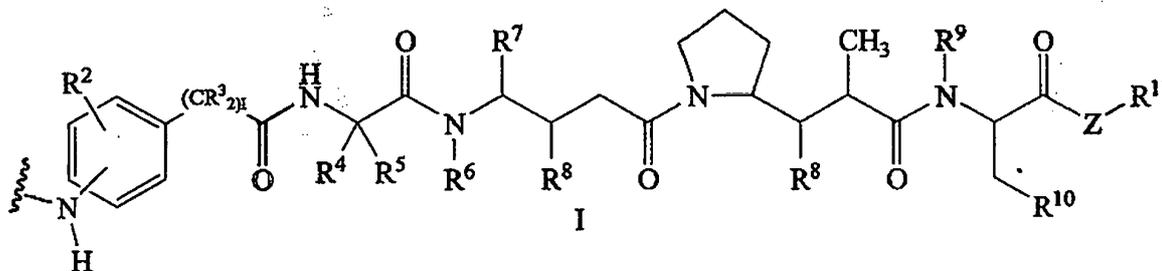
a es 0 o 1,

cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido,

5 w es un número entero comprendido entre 0 y 12,

p está comprendido de 1 a aproximadamente 20; y

-D es una Unidad de fármaco de la siguiente fórmula:



10

en la que, independientemente en cada localización:

R² se selecciona entre -hidrógeno y -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -halógeno, -NO₂, -COOH, y -C(O)OR¹¹;

cada R³ se selecciona independientemente entre -hidrógeno y -alquilo C₁-C₈;

I es un número entero comprendido de 0-10;

15

R⁴ se selecciona entre hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -carbociclo C₃-C₈, -arilo, -alquilarilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈- (carbociclo C₃-C₈), -heterociclo C₃-C₈ y -alquil C₁-C₈-(heterociclo C₃-C₈), y R⁵ se selecciona entre -H y -metilo; o R⁴ y R⁵ tienen conjuntamente la fórmula -(CR^aR^b)_n-, en la que cada R^a y R^b se seleccionan de forma independiente entre H, -alquilo C₁-C₈ y -carbociclo C₃-C₈ y n se selecciona entre 2, 3, 4, 5 y 6 y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

20

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

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

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

25

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

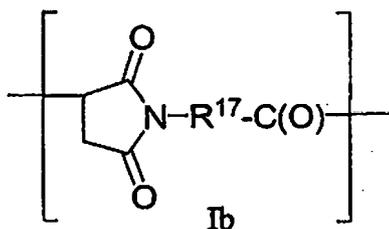
R¹⁰ se selecciona entre grupos arilo o -heterociclo C₃-C₈;

Z es -O-, -S-, -NH- o -NR¹²- donde R¹² es alquilo o arilo C₁-C₈; y

R¹¹ se selecciona entre -H, alquilo C₁-C₈, arilo, -heterociclo C₃-C₈, -(CH₂CH₂O)_r-H, -(CH₂CH₂O)_r-CH₃, -(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OH; en la que r es un número entero que varía entre 1-10.

30

En algunas realizaciones de la presente divulgación, la Unidad enlazadora tiene la Fórmula general Ib:

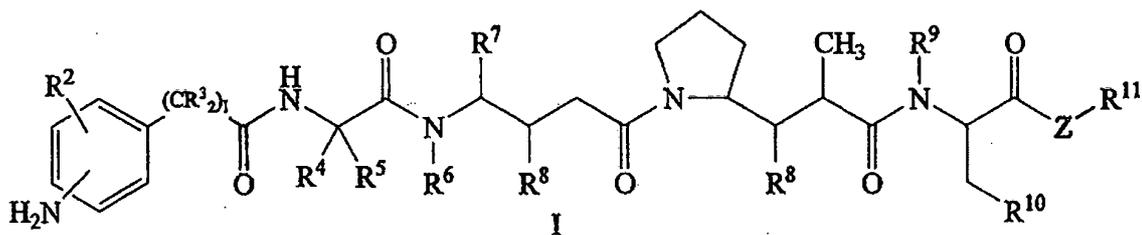


35

en la que R¹⁷ se selecciona entre -alquilenos C₁-C₁₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -O-(alquilo C₁-C₈)-, -arileno-, -alquilenos C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquilenos C₁-C₁₀-, -alquilenos C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquilenos C₁-C₁₀-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilenos C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)-, -(heterociclo C₃-C₈)-alquilenos C₁-C₁₀-, -(CH₂CH₂O)_r-, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; y r es un número entero que varía entre 1-100.

40

En otro aspecto de la presente divulgación, se proporcionan Compuestos de fármaco de la Fórmula general I:



y sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos; en la que, independientemente en cada localización:

5

R² se selecciona entre -hidrógeno y -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -halógeno, -NO₂, -COOH, y -C(O)OR¹¹; cada R³ se selecciona independientemente entre -hidrógeno y -alquilo C₁-C₈;

I es un número entero que varía entre 0-10;

10

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

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

15

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

cada R⁸ se selecciona de forma independiente entre -H, -OH, -alquilo C₁-C₈, -carbociclo C₃-C₈, -O-alquil (carbociclo C₁-C₈) y -O-(alquilo C₁-C₈);

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

20

R¹⁰ se selecciona entre grupos arilo o -heterociclo C₃-C₈;

Z es -O-, -S-, -NH-, -NR¹²- donde R¹² es alquilo o arilo C₁-C₈; y

R¹¹ se selecciona entre -H, alquilo C₁-C₈, arilo, -heterociclo C₃-C₈, -(CH₂CH₂O)_r-H, -(CH₂CH₂O)_r-CH₃, -(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OH; donde r es un número entero que varía entre 1-10.

25

En otro aspecto, se proporcionan composiciones que incluyen una cantidad eficaz de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco y un soporte o un vehículo farmacéuticamente aceptables.

30

En otro aspecto adicional, se proporcionan medicamentos para su uso en métodos para destruir o inhibir la multiplicación de una célula tumoral o una célula cancerosa. Los métodos incluyen administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de un Compuesto conjugado, un Compuesto enlazador de fármaco o un Compuesto de fármaco.

35

En otro aspecto más, se proporcionan medicamentos para su uso en métodos para destruir o inhibir la replicación de una célula que expresa un anticuerpo autoinmunitario. Los métodos incluyen administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de un Compuesto conjugado, un Compuesto enlazador-fármaco o un Compuesto de fármaco.

40

En otro aspecto más, se proporcionan medicamentos para su uso en métodos para tratar una enfermedad infecciosa. Los métodos incluyen administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de un Compuesto conjugado, un Compuesto enlazador-fármaco o un Compuesto de fármaco.

45

En otro aspecto, la divulgación proporciona metabolitos intracelulares de un Compuesto conjugado, tal como un Compuesto de fármaco, un Compuesto enlazador-fármaco o un Fragmento fármaco-enlazador.

50

La divulgación se entenderá mejor por referencia a la siguiente descripción detallada de las realizaciones ilustrativas, tomada junto con los dibujos, figuras, y esquemas acompañantes. La siguiente discusión es descriptiva; ilustrativa y a modo de ejemplo.

Breve descripción de los dibujos

55

La Figura 1 muestra la toxicidad del conjugada cAC10-108 en ratones.

La Figura 2 muestra la eficacia de los conjugados cAC10 que tienen un promedio de 4 fármacos por anticuerpo en ratones SCID.

60

DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

A menos que se indique otra cosa, se pretende que los siguientes términos y frases que se usan en el presente documento tengan los siguientes significados. Cuando se usan nombres comerciales en el presente documento, los

solicitantes pretenden incluir independientemente el nombre comercial de la formulación del producto, el fármaco genérico, y el(los) principio(s) farmacéutico(s) activo(s) del producto del nombre comercial.

5 El término "anticuerpo" se utiliza en el presente documento en el sentido más amplio y abarca específicamente anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos
 10 biespecíficos) formados por al menos dos anticuerpos intactos, y fragmentos de anticuerpo, siempre que presenten la actividad biológica deseada. El término "anticuerpo" se refiere a una molécula de inmunoglobulina de longitud completa o una porción funcionalmente activa de una molécula de inmunoglobulina de longitud completa, es decir,
 15 una molécula que contiene un sitio de unión a antígeno que se une de forma inmunespecífica a un antígeno de una diana de interés o parte de la misma. La inmunoglobulina divulgada en el presente documento puede ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, e IgA), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase de molécula de inmunoglobulina. Las inmunoglobulinas pueden derivarse de cualquier especie. En un
 20 aspecto, la inmunoglobulina es de origen humano, murino, o de conejo. En otro aspecto, los anticuerpos son policlonales, monoclonales, multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos), humanos, humanizados o quiméricos, anticuerpos lineales, anticuerpos monocatenarios, diacuerpos, maxicuerpos, minicuerpos, Fv, fragmentos Fab, fragmentos F(ab')₂, fragmentos producidos mediante una biblioteca de expresión de Fab, anticuerpos anti-idiotípicos (anti-Id), CDR, y fragmentos de unión a epitopos de cualquiera de los anteriores que se unen inmunespecíficamente a un antígeno diana.

20 La expresión "anticuerpo monoclonal" tal como se usa en el presente documento se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos salvo por las posibles mutaciones que tienen lugar de manera natural que pueden estar presentes en pequeñas cantidades. Los anticuerpos monoclonales incluyen anticuerpos quiméricos en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las correspondientes secuencias en
 25 anticuerpos derivados de una especie concreta o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo concreta, mientras que el resto de la(s) cadena(s) (son) idéntica(s) u homóloga(s) a las secuencias correspondientes de los anticuerpos derivados de otras especies o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpo, así como fragmentos de dichos anticuerpos (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 4.816.567; y Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855). Los anticuerpos monoclonales también incluyen anticuerpos
 30 humanizados que pueden contener una región constante completamente humana y las CDR de una fuente no humana.

Un "anticuerpo intacto" es uno que comprende una región variable de unión a antígeno así como un dominio constante de la cadena ligera (CL) y dominios constantes de la cadena pesada, C_H1, C_H2 y C_H3. Los dominios
 35 constantes, pueden ser dominios constantes de secuencias naturales (por ejemplo, dominios constantes de secuencias naturales humanas) o las secuencias variantes de aminoácidos de los mismos.

Un anticuerpo intacto puede tener una o más "funciones efectoras" que se refieren a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc (una región Fc de la secuencia natural o una región Fc de la secuencia variante) de un
 40 anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpos incluyen unión a C1q; citotoxicidad dependiente del complemento (CDC); unión al receptor Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC); fagocitosis; regulación negativa de los receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B; BCR), etc. En algunas realizaciones, el anticuerpo carece de función efectora.

45 Los "fragmentos de anticuerpos" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, que comprende preferentemente la región de unión a antígeno o variable del mismo. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo monocatenarias; maxicuerpos; minicuerpos; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmento(s) de anticuerpo.

50 Un anticuerpo "aislado" es uno que se ha identificado y separado y/o recuperado a partir de un componente de su entorno natural. Los componentes contaminantes de su ambiente natural son materiales que podrían interferir con los usos diagnósticos o terapéuticos del anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteicos o no proteicos. En algunas realizaciones, el anticuerpo se purificará (1) en más de un 95% en peso de anticuerpo, según se determina mediante el método de Lowry y, lo más preferentemente, en más de un 99% en peso, (2) hasta
 55 un grado suficiente para obtener al menos 15 restos en la secuencia del extremo N o la secuencia interna de aminoácidos mediante el uso de un secuenciador de copa rotatoria, o (3) hasta homogeneidad mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras o no reductoras usando azul de Coomassie o, preferentemente, tinción de plata. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo *in situ* en células recombinantes debido a que al menos un componente del ambiente natural del anticuerpo no estará presente. Habitualmente, sin embargo, el anticuerpo aislado se preparará
 60 mediante al menos una etapa de purificación.

Un anticuerpo "que se une" a un antígeno de interés es uno capaz de unirse al antígeno con afinidad suficiente de tal manera que el anticuerpo es útil para dirigirse a una célula que expresa el antígeno.

65 Un polipéptido de "secuencia natural" es aquel que tiene la misma secuencia de aminoácidos que un polipéptido derivado de su origen natural. Dichos polipéptidos de secuencia natural se pueden aislar de fuentes naturales o se

pueden producir por medios recombinantes o sintéticos. Por lo tanto, un polipéptido de secuencia natural puede tener la secuencia de aminoácidos de un polipéptido humano, polipéptido murino o polipéptido natural de cualquier otra especie de mamífero.

5 La expresión "variante de secuencia de aminoácido" se refiere a polipéptidos que tienen secuencias de aminoácidos que se diferencian en cierto grado de un polipéptido de secuencia natural. Habitualmente, las variantes de secuencia de aminoácidos tendrán al menos un 70 % de homología con al menos un dominio de unión a receptor de un ligando natural, o con al menos un dominio de unión a ligando de un receptor natural y, preferentemente, será de al menos aproximadamente un 80 %, más preferentemente, al menos aproximadamente un 90 % de homología con dicho receptor o dominios de unión a ligando. Las variantes de secuencia de aminoácidos tienen sustituciones, deleciones y/o inserciones en determinadas posiciones dentro de la secuencia de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos natural.

15 "Identidad de secuencia" se define como el porcentaje de restos en la variante de secuencia de aminoácidos que son idénticos después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia. Los métodos y los programas de ordenador para alineación son bien conocidos en la técnica. Un ejemplo preferido no limitante de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin y Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268, modificado como en Karlin y Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877. Dicho algoritmo está incorporado en los programas NBLAST y XBLAST de Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410. Pueden realizarse búsquedas de nucleótidos BLAST con el programa NBLAST, puntuación = 100, longitud de palabra = 12 para obtener secuencias de nucleótidos homólogas a un ácido nucleico que codifica una proteína de interés. Las búsquedas de proteínas por BLAST pueden realizarse con el programa XBLAST, puntuación = 50, longitud de palabra = 3 para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a de proteína de la invención. Para obtener alineaciones con huecos con fines de comparación, puede utilizarse Gapped BLAST como se describe en Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402. Como alternativa, se puede usar PSI-Blast para realizar una búsqueda iterativa que detecta relaciones distantes entre moléculas (Id.). Cuando se utilizan los programas BLAST, Gapped BLAST y PSI-Blast, pueden usarse los parámetros por defecto de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y NBLAST). (Véase, por ejemplo, la dirección del sitio web en Internet: www.ncbi.nlm.nih.gov)

30 Un "trastorno" es cualquier dolencia que se beneficiaría del tratamiento. Esto incluye trastornos crónicos o enfermedades crónicas y agudas, incluidas aquellas dolencias patológicas que predisponen al mamífero al trastorno en cuestión. Los ejemplos no limitantes de trastornos que se van a tratar en el presente documento incluyen tumores benignos y malignos; leucemia y neoplasias malignas, especialmente cáncer de mama, ovario, estómago, endometrio, glándulas salivales, pulmón, riñón, colon, tiroides, pancreático, próstata o vejiga; trastornos neuronales, gliales, astrocitales, hipotalámicos y otros trastornos glandulares, macrofágicos, epiteliales, estromales y blastocélulas; y trastornos inflamatorios, angiogénicos e inmunológicos.

40 La expresión "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de un fármaco eficaz para prevenir el crecimiento y/o destruir células cancerosas existentes. Para el tratamiento del cáncer, la eficacia puede medirse, por ejemplo, evaluando el tiempo de progresión de la enfermedad (TTP) y/o mediante la determinación de la tasa de respuesta (RR).

45 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un fármaco eficaz para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco puede reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferentemente detener) la infiltración de células cancerosas en los órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferentemente detener) la metástasis tumoral; inhibir, hasta cierto punto, el crecimiento tumoral; y/o aliviar hasta cierto punto uno o más de los síntomas asociados con el cáncer. En la medida en que el fármaco puede evitar el crecimiento y/o destruir las células cancerosas existentes, este puede ser citostático y/o citotóxico. Para el tratamiento del cáncer, la eficacia puede medirse, por ejemplo, evaluando el tiempo de progresión de la enfermedad (TTP) y/o mediante la determinación de la tasa de respuesta (RR).

55 La expresión "cantidad sustancial" se refiere a una mayoría, es decir >50% de una población, de una recogida o una muestra.

60 La expresión "metabolito intracelular" se refiere a un compuesto resultante de un proceso o reacción metabólica en el interior de una célula sobre un Compuesto conjugado (por ejemplo, un conjugado de anticuerpo y fármaco (ADC)). El proceso o reacción metabólica puede ser un proceso enzimático tal como una escisión proteolítica de un enlazador peptídico del Compuesto conjugado, o la hidrólisis de un grupo funcional tal como una hidrazona, éster o amida. Los metabolitos intracelulares incluyen anticuerpos y fármacos libres que han experimentado escisión intracelular después de la entrada, difusión, captación o transporte al interior de una célula.

65 Las expresiones "escindido intracelularmente" y "escisión intracelular" se refieren a un proceso metabólico o una reacción dentro de una célula en un Compuesto conjugado mediante la cual, la unión covalente, por ejemplo, el enlazador, entre el resto de fármaco (D) y el Ligando (por ejemplo, un anticuerpo) se rompe, dando como resultado

el fármaco libre disociado del anticuerpo en el interior de la célula. Los restos escindidos del Compuesto conjugado son por tanto metabolitos intracelulares (por ejemplo, Fragmento ligando-enlazador, Fragmento fármaco-enlazador o Fármaco).

5 El término "biodisponibilidad" se refiere a la disponibilidad sistémica (es decir, los niveles en sangre/plasma) de una cantidad dada de fármaco administrado a un paciente. La biodisponibilidad es un término absoluto que indica la medición tanto del tiempo (tasa) como la cantidad total (extensión) de fármaco que alcanza la circulación general de una forma de dosificación administrada.

10 El término "actividad citotóxica" se refiere la destrucción de células, efecto citostático o antiproliferativo de un Compuesto conjugado, Compuesto de fármaco o un metabolito intracelular. La actividad citotóxica se puede expresar como el valor de la CI_{50} , que es la concentración (molar o másica) por unidad de volumen a la que sobrevive la mitad de las células.

15 La expresión "agente citotóxico", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una sustancia que inhibe o evita la función de las células y/o produce la destrucción de las células. Se pretende que el término incluya isótopos radiactivos (por ejemplo, ^{211}At , ^{131}I , ^{125}I , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{163}Sm , ^{212}Bi , ^{32}P , ^{80}C , e isótopos radiactivos de Lu), agentes quimioterapéuticos; y toxinas tales como toxinas de molécula pequeña o toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, incluidos los análogos sintéticos y sus derivados. En algunas realizaciones, un agente citotóxico no es un isótopo radiactivo.

20 Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer.

25 El término "citoquina" es un término genérico para proteínas liberadas por una población celular que actúan en otra célula como mediadores intercelulares. Ejemplos de dichas citoquinas son linfoquinas, monoquinas y hormonas polipeptídicas tradicionales. Entre las citoquinas se incluyen hormonas del crecimiento, tal como la hormona de crecimiento humana, la hormona de crecimiento humana con N-metilmetionina y la hormona de crecimiento bovina; hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorelaxina; hormonas glucoproteicas, tales como la hormona foliculo estimulante (FSH), hormona estimulante de la tiroides (TSH) y hormona luteinizante (LH); el factor de crecimiento hepático; factor de crecimiento de fibroblastos; prolactina; lactógeno placentario; factores α y β de necrosis tumoral; sustancia inhibidora de mulleriana; péptido asociado a gonadotropina de ratón; inhibina; activina; factor de crecimiento endotelial vascular; integrina; trombopoyetina (TPO); factores de crecimiento neural, tal como NGF- β ; factor de crecimiento procedente de plaquetas; factores de crecimiento transformantes (TGF), tales como TGF- α y TGF- β ; factor de crecimiento análogo a la insulina I y II; eritropoyetina (EPO); factores osteoinductivos; interferones tales como interferón α , β y γ ; factores estimulantes de colonias (CSF), tales como CSF de macrófagos (M-CSF); CSF de granulocitos-macrófagos (GM-CSF); y granulocito-CSF (G-CSF); interleuquinas (IL) tales como IL-1, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; un factor de necrosis tumoral, tal como TNF- α o TNF- β ; y otros factores polipeptídicos que incluyen LIF y ligando de kit (KL). Como se utiliza en el presente documento, el término citoquina incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivo de células recombinantes y equivalentes biológicamente activos de las citoquinas de secuencia nativa.

40 Una molécula "aislada" es una molécula de ácido nucleico que se identifica y separa a partir de al menos una molécula de ácido nucleico contaminante con la que está asociada de manera habitual en su fuente natural. Una molécula aislada es diferente de la forma o configuración de la que se encuentra en la naturaleza. Por lo tanto, las moléculas aisladas se distinguen de las moléculas tal como existen en las células naturales.

45 La expresión "secuencias de control" se refieren a las secuencias de ADN necesarias para la expresión de una secuencia de codificación unida de manera operativa a un organismo hospedador particular, las secuencias de control que son adecuadas para procariontes, por ejemplo, incluyen un promotor, opcionalmente una secuencia de operador, y un sitio de unión al ribosoma. Se sabe que las células eucariotas utilizan promotores, señales de poliadenilación, y potenciadores.

50 Un ácido nucleico está "unido de manera operativa" cuando se coloca en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, el ADN de una presecuencia o líder de secreción está operativamente unido al ADN de un polipéptido si se expresa en forma de una preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o potenciador está operativamente unido a una secuencia de codificación si altera la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión al ribosoma está operativamente unido a una secuencia de codificación si está colocado de manera que facilite la traducción. En general, "unido de manera operativa" significa que las secuencias de ADN que están unidas son contiguas, y, en el caso de un líder de secreción, contiguas y en fase de lectura.

60 Sin embargo, los potenciadores no tienen por qué ser contiguos. La unión se puede llevar a cabo mediante ligadura en sitios de restricción convenientes. Si dichos sitios no existen, se pueden utilizar adaptadores o enlazadores de oligonucleótidos sintéticos de acuerdo con la práctica convencional.

65 Como se utiliza en el presente documento, las expresiones "célula", línea celular, y "cultivo celular" pueden usarse de forma indistinta y todas estas denominaciones incluyen la descendencia. Por lo tanto, las palabras "transformantes" y "células transformadas", incluyen la célula primaria sujeto y los cultivos derivados de la misma sin

tener en cuenta el número de transferencias. Se entiende también que toda la descendencia puede no ser precisamente idéntica en el contenido de ADN, debido a mutaciones deliberadas o inadvertidas. Se incluye la descendencia mutante que tiene la misma función o actividad biológica que la cribada para la célula originalmente transformada. Cuando se propongan designaciones distintas, esto será evidente según el contexto.

5 Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren o describen la afección fisiológica en mamíferos que se caracteriza normalmente por un crecimiento celular no regulado. Un "tumor" comprende una o más células cancerosas.

10 En el presente documento, una "enfermedad autoinmunitaria" es una enfermedad o trastorno que procede y se dirige contra los propios tejidos de un individuo o un segregado simultáneo o manifestación del mismo o dolencia resultante del anterior.

15 El término "quiral" se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no superposición del compañero de imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que pueden superponerse sobre sus compañeros de imagen especular.

El término "estereoisómeros" se refiere a compuestos que tienen una constitución química idéntica, pero se diferencian con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

20 "Diastereómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares entre sí. Los diastereómeros tienen propiedades físicas diferentes, por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Las mezclas de diastereómeros pueden separarse mediante procedimientos analíticos de alta resolución, tales como electroforesis y cromatografía.

25 "Enantiómeros" se refiere a estereoisómeros de un compuesto que no son imágenes especulares superponibles entre sí.

Las convenciones y definiciones estereoquímicas usadas en el presente documento siguen generalmente a S. P. Parker, Ed., *McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms* (1984) McGraw-Hill Book Company, Nueva York; y Eliel, E. y Wilen, S., *Stereochemistry of Organic Compounds* (1994) John Wiley & Sons, Inc., Nueva York. Muchos de los compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de luz polarizada. En la descripción de un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L, o R y S, se usan para denotar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su(s) centro(s) quiral(es). Los prefijos d y l o (+) y (-) se emplean para indicar el sentido en el que el compuesto rota el plano de luz polarizada, significando (-) o 1 que el compuesto es levógiro. Un compuesto con el prefijo (+) o d es dextrógiro. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos salvo por que son imágenes especulares entre sí. Un estereoisómero específico puede denominarse también enantiómero y una mezcla de dichos isómeros se denomina a menudo una mezcla enantiomérica. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina mezcla racémica o racemato, que puede aparecer cuando no ha habido estereoselección ni estereoespecificidad en un proceso o reacción química. Las expresiones "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas, desprovista de actividad óptica.

Los ejemplos de un "paciente" incluyen, rata, ratón, una cobaya, mono, cerdo, cabra, una vaca, un caballo, un perro, un gato, pájaros y aves. En una realización ilustrativa, el paciente es un ser humano.

45 El término "Arilo" se refiere a un grupo aromático carbocíclico. Los ejemplos de grupos arilo incluyen fenilo, naftilo y antraceno. Un grupo aromático carbocíclico o un grupo aromático heterocíclico puede estar no sustituido o sustituido con uno o más grupos que incluyen -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; en el que cada R' se selecciona de forma independiente entre H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

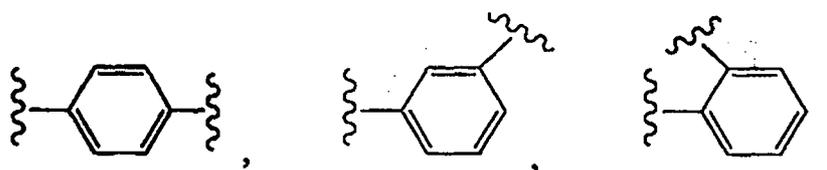
El término "alquilo C₁-C₈ alquilo" se refiere a un hidrocarburo saturado o insaturado de cadena lineal o ramificada que tiene de 1 a 8 átomos de carbono. Los grupos "-alquilo C₁-C₈" representativos incluyen -metilo, -etilo, -n-propilo, -n-butilo, -n-pentilo, -n-hexilo, -n-heptilo, -n-octilo, -n-nonilo y -n-decilo; mientras que los alquilos C₁-C₈ ramificados incluyen -isopropilo, -sec-butilo, -isobutilo, -*terc*-butilo, -isopentilo, 2-metilbutilo; los alquilos C₁-C₈ insaturados incluyen -vinilo, -alilo, -1-butenilo, -2-butenilo, -isobutilenilo, -1-pentenilo, -2-pentenilo, -3-metil-1-butenilo, -2-metil-2-butenilo, -2,3-dimetil-2-butenilo, 1-hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, -acetilenilo, -propinilo, -1-butinilo, -2-butinilo, -1-pentinilo, -2-pentinilo, -3-metil-1 butinilo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, *terc*-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, isohexilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, 3,3-dimetilpentilo, 2,3,4-trimetilpentilo, 3-metilhexilo, 2,2-dimetilhexilo, 2,4-dimetilhexilo, 2,5-dimetilhexilo, 3,5-dimetilhexilo, 2,4-dimetilpentilo, 2-metilheptilo, 3-metilheptilo, n-heptilo, isoheptilo, n-octilo, e isoctilo. Un grupo alquilo C₁-C₈ alquilo puede estar no sustituido o sustituido con uno o más grupos que incluyen -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona independientemente entre H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

El término "carbociclo C₃-C₈" se refiere a un anillo carbocíclico no aromático saturado o insaturado de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros. Los carbociclos C₃-C₈ representativos incluyen -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 C₃-C₈ puede estar no sustituido o sustituido con uno o más grupos que incluyen -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; donde cada R' se selecciona independientemente entre H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

Un "carbociclo C₃-C₈" se refiere a un grupo carbociclo C₃-C₈ definido anteriormente en el que uno de los átomos de hidrógeno del grupo carbociclo está sustituido con un enlace.

El término "alquileo C₁-C₁₀" se refiere a un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal de fórmula -(CH₂)₁₋₁₀. Los ejemplos de alquileo -C₁-C₁₀- incluyen metileno, etileno, propileno, butileno, pentileno, hexileno, heptileno, octileno, nonileno y decaleno.

El término "arileno" se refiere a un grupo arilo que tiene dos enlaces covalentes y puede estar en las configuraciones orto, meta o para tal como se muestra en las siguientes estructuras:



en las que el grupo fenilo puede estar no sustituido o sustituido con hasta cuatro grupos que incluyen -C₁-C₈ alquilo, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; en el que cada R' se selecciona de forma independiente entre H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

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

El término "heterociclo C₃-C₈" se refiere a un grupo heterociclo C₃-C₈ definido anteriormente en el que uno de los átomos de hidrógeno de los grupos heterociclo se sustituye con un enlace. Un heterociclo C₃-C₈ puede estar no sustituido o sustituido con hasta seis grupos que incluyen -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; en donde cada R' se selecciona independientemente entre H, -alquilo C₁-C₈ y arilo.

Ejemplos de un "grupo protector de hidroxilo" incluyen metoximetil éter, éter de 2-metoxietoximetilo, éteres de tetrahidropirranilo, éter de bencilo, éter de p-metoxibencilo, éter de trimetilsililo, éter de trietilsililo, éter de triisopropilsililo, éter de t-butildimetilo, éter de trifenilmetilsililo, éter de acetato, ésteres de acetato sustituidos, pivaloato, benzoato, metanosulfonato y p-toluenosulfonato.

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

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable de, por ejemplo, un Compuesto conjugado, Conjugado de fármaco-anticuerpo o un Fármaco. Las sales ilustrativas incluyen sales de sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato de ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato de ácido, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentsinato, fumarato, gluconato; glucuronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, y pamoato (es decir 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). Una sal farmacéuticamente aceptable puede implicar la inclusión de otra molécula tal como un ion acetato, un ion succinato u otro contraion. El contraion puede ser cualquier resto orgánico o inorgánico que establezca la carga del compuesto precursor. Adicionalmente, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener más de un átomo cargado en su estructura. Los casos en los que múltiples átomos cargados son parte de la sal farmacéuticamente aceptable pueden tener múltiples contraiones. Por lo tanto, una sal farmacéuticamente

aceptable puede tener uno o más átomos cargados y/ uno o más contraiones.

La expresión "solvato farmacéuticamente aceptable" o "solvato" se refiere a una asociación de una o más moléculas de disolvente y un compuesto de la invención, por ejemplo, un Compuesto conjugado, Conjugado de fármaco-anticuerpo, o un Fármaco. Los ejemplos de disolventes que forman solvatos farmacéuticamente aceptables incluyen agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético y etanolamina.

Los términos "tratar" o "tratamiento", salvo que el contexto indique otra cosa, se refieren tanto a un tratamiento terapéutico y profiláctico como a medidas preventivas, cuyo objeto es prevenir o ralentizar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico indeseado, como el desarrollo o proliferación del cáncer. Los beneficios o resultados clínicos deseados incluyen el alivio de los síntomas, la disminución del alcance de la enfermedad, estado estabilizado (es decir, que no empeora) de la enfermedad, el retraso o ralentización de la progresión de la enfermedad, mejora o paliación del estado de la enfermedad, y remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. "Tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento: Aquellos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya padecen la afección o trastorno así como aquellos propensos a tener la afección o trastorno o aquellos en los que se quiera prevenir la afección o trastorno.

En el contexto del cáncer, el término "tratamiento" incluye cualquiera o todos de: evitar el crecimiento de células tumorales, células cancerosas, o de un tumor; evitar la replicación de las células tumorales o las células cancerosas, disminuir la carga tumoral total o disminuir el número de células cancerosas, y mejorar uno o más de los síntomas asociados con la enfermedad.

En el contexto de una enfermedad autoinmunitaria, el término "tratamiento" incluye cualquiera o todos de: evitar la replicación de las células asociadas con una patología autoinmunitaria incluyendo células que producen un anticuerpo autoinmunitario, disminuir la carga de anticuerpo autoinmunitario y mejorar uno o más síntomas de una enfermedad autoinmunitaria.

En el contexto de una enfermedad infecciosa, el término "tratamiento" incluye cualquiera o todos de: evitar el crecimiento, la multiplicación o la replicación del patógeno que produce la enfermedad infecciosa y mejorar uno o más síntomas de una enfermedad infecciosa.

Las siguientes abreviaturas se usan en el presente documento y tienen las definiciones indicadas: Boc es *N*-(*t*-butoxicarbonilo), cit es citrulina, dap es dolaproína, DEPC es dietilfosforilcianidato, DIAD es diisopropilazodicarboxilato, DIEA es *N,N*-diisopropiletilamina, dil es dolaisoleuina, DMAP es 4-dimetilaminopiridina, DME es etilenglicol dimetil éter (o 1,2-dimetoxietano), DMF es *N,N*-dimetilformamida, DMSO es dimetilsulfóxido, doe es dolafenina, dov es *N,N*-dimetilvalina, DTNB es 5,5'-ditiobis(ácido 2-nitrobenzoico), DTPA es ácido dietilentriaminopentaacético, DTT es ditioneitol, EDCI es clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, EEDQ es 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina, ES-MS es espectrometría de masas con electropulverización, EtOAc es acetato de etilo, Fmoc es *N*-(9-fluorenilmetoxicarbonilo), gly es glicina, HATU es hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio), HOBt es 1-hidroxibenzotriazol, HPLC es cromatografía líquida de alta presión, ile es isoleucina, lys es lisina, MeCN (CH₃CN) es acetonitrilo, MeOH es metanol, Mtr es 4-anisildifenilmetil (o 4-metoxitritilo), ni es (1*S*, 2*R*)-(+)-norefedrina, PAB es *p*-aminobencilo, PBS es solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4), PEG es polietilenglicol, Ph es fenilo, Pnp es *p*-nitrofenilo, MC es 6-maleimidocaproilo, phe es L-fenilalanina, PyBrop es hexafluorofosfato de bromo *tris*-pirrolidinfosfonio, SEC es cromatografía de exclusión molecular, Su es succinimida, TBTU es tetrafluoroborato de O-benzotriazol-1-il-*N,N,N,N*-tetrametiluronio, TFA es ácido trifluoroacético, TLC es cromatografía en capa fina, UV es ultravioleta, y val es valina.

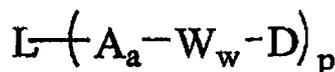
Las siguientes abreviaturas de enlazadores se usan en el presente documento y tienen las definiciones indicadas: Val Cit es una valina-citrulina, sitio de dipéptido en el enlazador escindible con proteasa; (Me)vc es *N*-metil-valina citrulina, donde el enlace peptídico del enlazador se ha modificado para evitar su escisión por la catepsina B; MC(PEG)6-OH es maleimidocaproil-polietilenglicol; SPP es 4-(2-piridilditio)pentanoato de *N*-succinimidilo; y SMCC es 4-(*N*-maleimidometil) ciclohexano-1-carboxilato de *N*-succinimidilo.

Las siguientes abreviaturas de fármacos citotóxicos se usan en el presente documento y tienen las definiciones indicadas: MMAE es mono-metil auristatina E (PM 718); MMAF es *N*-metilvalina-valina-dolaisoleucina-dolaproína-fenilalanina (PM 731,5); MMAF-DMAEA es MMAF con DMAEA (dimetilaminoetilamina) en un enlace amida con la fenilalanina del extremo C (PM 801,5); MMAF-TEG es MMAF con tetraetilenglicol esterificado con fenilalanina; y MMAF-NtBu es *N-t*-butilo, unido en forma de amida al extremo C de MMAF.

Descripción detallada

La presente divulgación proporciona Compuestos de fármaco que comprende una unidad de ácido aminobenzoico. También se proporcionan Compuestos conjugados y Compuestos de enlazador de fármaco que comprende un Fármaco-Compuesto.

En algunas realizaciones de la presente divulgación, los Conjugados de compuesto tienen la Fórmula general Ia:



Ia

5 y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos; en la que:

L- es una Unidad de ligando;

-A_a-W_w- es una Unidad de ligando (LU), en la que la Unidad de ligando incluye:

10 -A- es una Unidad ensanchadora,

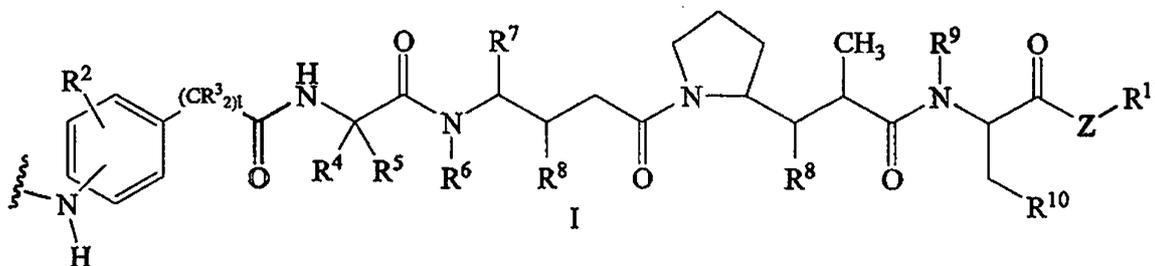
a es 0 o 1,

cada -W- es independientemente una Unidad de aminoácido,

w es un número entero comprendido entre 0 y 12,

p está comprendido de 1 a aproximadamente 20; y

15 -D es una Unidad de fármaco de la siguiente fórmula



en la que, independientemente en cada localización;

20

R² se selecciona entre -hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -halógeno, -NO₂, -COOH, y -C(O)OR¹¹;

cada R³ se selecciona independientemente entre -hidrógeno y -alquilo C₁-C₈;

l es un número entero que varía entre 0-10;

25

R⁴ se selecciona entre hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -carbociclo C₃-C₈, -arilo, -alquilarilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈- (carbociclo C₃-C₈), -heterociclo C₃-C₈ y -alquil C₁-C₈- (heterociclo C₃-C₈), y R⁵ se selecciona entre -H y -metilo; o R⁴ y R⁶ tienen conjuntamente la fórmula -(CR^aR^b)_n, en la que cada R^a y R^b se seleccionan de forma independiente entre H, -alquilo C₁-C₈ y -carbociclo C₃-C₈ y n se selecciona entre 2, 3, 4, 5 y 6 y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

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

30

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

cada R⁸ se selecciona de forma independiente entre -H, -OH, -alquilo C₁-C₈, -carbociclo C₃-C₈, -O-alquil- (carbociclo C₁-C₈) y -O-(alquilo C₁-C₈);

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

35

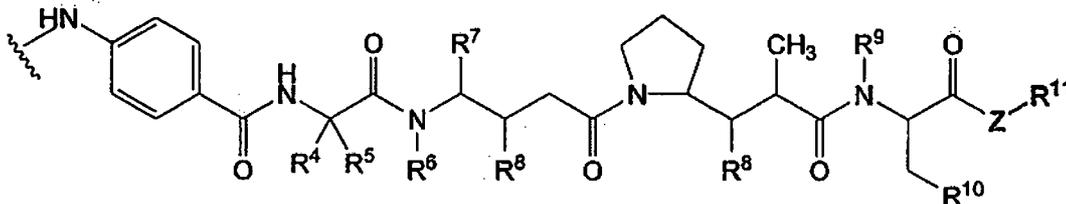
R¹⁰ se selecciona entre arilo o -heterociclo C₃-C₈;

Z es -O-, -S-, -NH- o -NR¹², donde R¹² es alquilo o arilo C₁-C₈; y

R¹¹ se selecciona entre -H, alquilo C₁-C₈, arilo, -heterociclo C₃-C₈, -(CH₂CH₂O)_r-H, -(CH₂CH₂O)_r-CH₃, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OH; en la que r es un número entero que varía entre 1-10.

40 En algunas realizaciones de la presente divulgación, la Unidad de fármaco tiene la siguiente fórmula Ic:

Ic



en la que, independientemente en cada localización:

R^4 se selecciona entre hidrógeno, -alquilo C_1-C_8 , -carbociclo C_3-C_8 , -arilo, -alquilarilo C_1-C_8 , -alquil C_1-C_8 (carbociclo C_3-C_8), -heterociclo C_3-C_8 y -alquil C_1-C_8 -(heterociclo C_3-C_8), y R^5 se selecciona entre -H y -metilo; o R^4 y R^5 tienen conjuntamente la fórmula $-(CR^aR^b)_n-$, en la que cada R^a y R^b se seleccionan de forma independiente entre H, -alquilo C_1-C_8 y -carbociclo C_3-C_8 y n se selecciona entre 2, 3, 4, 5 y 6 y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;

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

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

cada R_8 se selecciona de forma independiente entre -H, -OH, -alquilo C_1-C_8 , -carbociclo C_3-C_8 , -O-alquil (carbociclo C_1-C_8) y -O-(alquilo C_1-C_8);

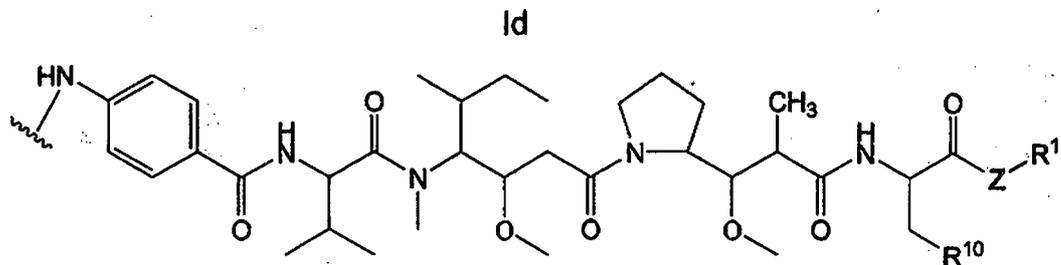
R^9 se selecciona entre H y -alquilo C_1-C_8 ;

R^{10} se selecciona entre arilo o -heterociclo C_3-C_8 ;

Z es -O-, -S-, -NH- o -NR¹²- donde R^{12} es alquilo o arilo C_1-C_8 ; y

R^{11} se selecciona entre -H, alquilo C_1-C_8 , arilo, -heterociclo C_3-C_8 , $-(CH_2CH_2O)_r-H$, $-(CH_2CH_2O)_r-CH_3$, y $-(CH_2CH_2O)_r-CH_2CH_2C(O)OH$; en la que r es un número entero que varía entre 1-10.

En algunas realizaciones de la presente divulgación, la Unidad de fármaco es de la siguiente fórmula Id:



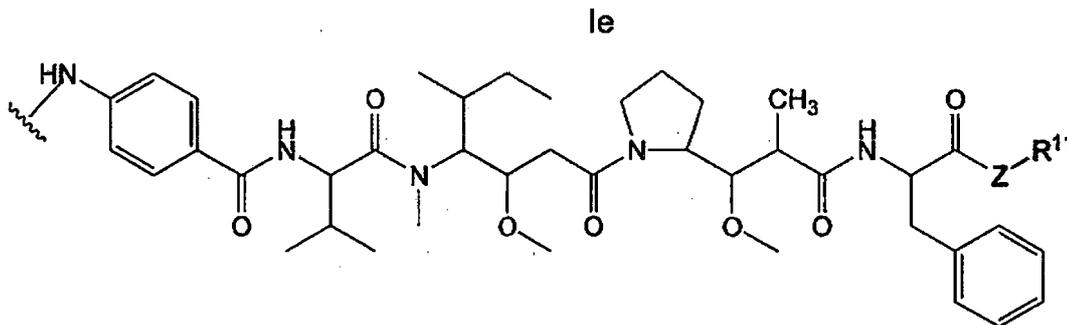
en la que, independientemente en cada localización:

R^{10} se selecciona entre grupos arilo o -heterociclo C_3-C_8 ;

Z es -O-, -S-, -NH-, o -NR¹²- donde R^{12} es alquilo C_1-C_8 o arilo; y

R^{11} se selecciona entre -H, alquilo C_1-C_8 , arilo, -heterociclo C_3-C_8 , $-(CH_2CH_2O)_r-H$, $-(CH_2CH_2O)_r-CH_3$, y $-(CH_2CH_2O)_r-CH_2CH_2C(O)OH$; en la que r es un número entero que varía entre 1-10.

En algunas realizaciones de la presente divulgación, la Unidad de fármaco tiene la siguiente fórmula Ie:



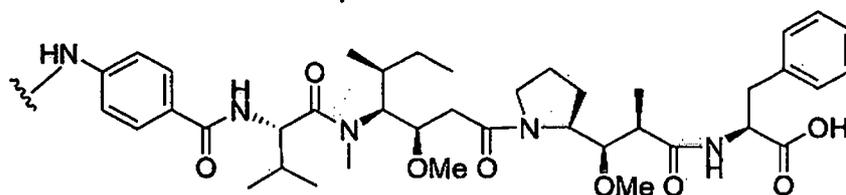
en la que:

Z es -O-, -S-, -NH- o -NR¹²- donde R^{12} es alquilo o arilo C_1-C_8 ; y

R^{11} se selecciona entre -H, alquilo C_1-C_8 , arilo, -heterociclo C_3-C_8 , $(CH_2CH_2O)_r-H$, $-(CH_2CH_2O)_r-CH_3$, y $-(CH_2CH_2O)_r-CH_2CH_2C(O)OH$; en la que r es un número entero que varía entre 1-10.

En algunas realizaciones de la presente invención, la Unidad de fármaco tiene la siguiente fórmula If:

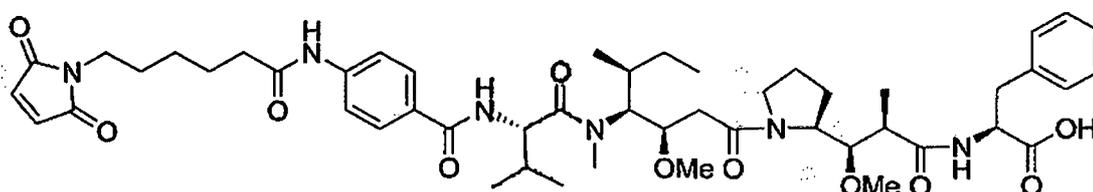
1f



En algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona un Enlazador-Compuesto de fármaco de la siguiente fórmula IIa:

5

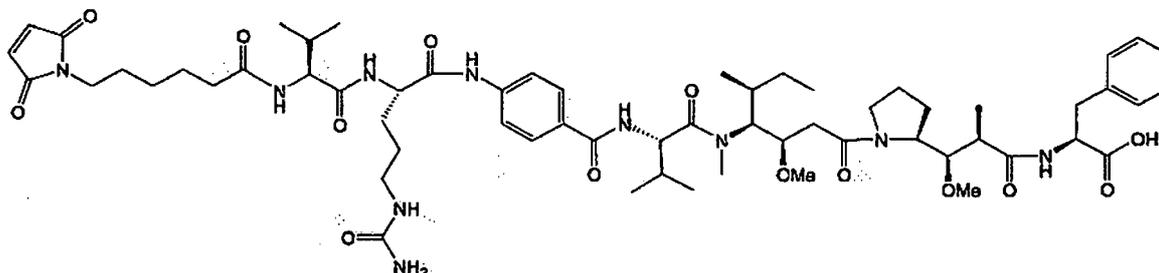
IIa



En algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona un Enlazador-Compuesto de fármaco de la siguiente fórmula IIb:

10

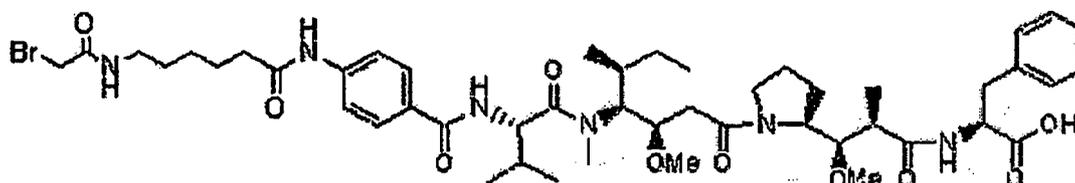
IIb



En algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona un Enlazador-Compuesto de fármaco de la siguiente fórmula IIc:

15

IIc



En realizaciones relacionadas, Br está sustituido con otro átomo de halógeno.

20 *Unidad de ligando*

La unidad de ligando (L) de los Compuestos de conjugado incluye en su alcance cualquier unidad de un ligando (L) que se une o se asocia o compleja de forma reactiva con un receptor, antígeno u otro resto receptor asociado con una población de células diana dada. Un Ligando es una molécula que se une, forma complejo con o reacciona con un resto de una población de células que se desea usar como diana. En un aspecto, la unidad de ligando actúa para administrar la unidad de fármaco a la población de células diana concreta con la cual la unidad de ligando reacciona. Dichos ligandos incluyen proteínas de peso molecular grande tales como, por ejemplo, anticuerpos de longitud

25

completa, fragmentos de anticuerpos, proteínas, polipéptidos o péptidos, lectinas, glucoproteínas, no péptidos, vitaminas, moléculas vehiculoas de nutrientes (tales como transferrina), o cualquier otra molécula o sustancia de unión a célula.

- 5 Una Unidad de ligando puede formar un enlace con una Unidad enlazadora o una Unidad de fármaco. Una Unidad de ligando puede formar un enlace con una Unidad enlazadora mediante un heteroátomo del ligando. Los heteroátomos que pueden estar presentes en una unidad de ligando incluyen azufre (en una realización, desde un grupo sulfhidrilo de un ligando), oxígeno (en una realización, desde un grupo carbonilo, carboxilo o hidroxilo de un ligando) y nitrógeno (en una realización, desde un grupo amino primario o secundario de un ligando). Estos heteroátomos pueden estar presentes en el ligando en el estado natural del ligando, por ejemplo un anticuerpo de origen natural, o pueden introducirse en el ligando mediante una modificación química.

15 En una realización, un Ligando tiene un grupo sulfhidrilo y la unidad ligando se une a la unidad enlazadora mediante el átomo de azufre del grupo sulfhidrilo. En otra realización, el ligando tiene uno o más restos lisina que pueden estar modificados químicamente para introducir uno o más grupos sulfhidrilo. La unidad de ligando se une a la unidad enlazadora mediante el grupo sulfhidrilo. Los reactivos que se pueden usar para modificar lisinas incluyen S-acetiltioacetato de N-succinimidilo (SATA) y clorhidrato de 2-iminotiolano (reactivo de Traut).

20 En otra realización, el ligando puede tener uno o más grupos de hidratos de carbono que pueden estar modificados químicamente para tener uno o más grupos sulfhidrilo. La unidad de ligando se une a la unidad enlazadora mediante el átomo de azufre del grupo sulfhidrilo. En otra realización más, el ligando puede tener uno o más grupos hidrato de carbono que se pueden oxidar para proporcionar un grupo aldehído (-CHO) (véase, por ejemplo, Laguzza et al., 1989, J. Med. Chem. 32(3):548-55). El correspondiente aldehído puede formar un enlace con un sitio reactivo de una porción en una Unidad de ligando. Los sitios reactivos que pueden reaccionar con un grupo carbonilo de un Ligando incluyen hidrazina y hidroxilamina. Otros protocolos para la modificación de proteínas para su enlace o asociación con las Unidades de fármaco se describen en Coligan et al., Current Protocols in Protein Science, vol. 2, John Wiley & Sons (2002).

30 La Unidad de ligando puede incluir, por ejemplo una proteína, polipéptido o péptido que incluye transferrina, factores de crecimiento epidérmico ("EGF"), bombesina, gastrina, péptido liberador de gastrina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, IL-2, IL-6, factor de crecimiento transformante ("TGF"), tales como TGF- α y TGF- β , factor de crecimiento de vaccinia ("VGF"), insulina y factores de crecimiento I y II de tipo insulina, lectinas y apoproteína procedente de una lipoproteína de baja densidad.

35 La Unidad de ligando también puede incluir un anticuerpo, tal como anticuerpos policlonales o anticuerpos monoclonales. El anticuerpo se puede dirigir a un determinante antigénico en particular, incluidos, por ejemplo, un antígeno de células cancerosas, un antígeno vírico, un antígeno microbiano, una proteína, un péptido, un hidrato de carbono, un producto químico, ácido nucleico, o fragmentos de los mismos. Los métodos para producir anticuerpos policlonales se conocen en la técnica. Se puede preparar un anticuerpo monoclonal (mAb) de un antígeno de interés utilizando cualquier técnica conocida en la materia. Estas incluyen la técnica del hibridoma descrita originalmente por Köhler y Milstein (1975, Nature 256, 495-497), la técnica de hibridoma de linfocitos B humanos (Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4:72), y la técnica del hibridoma del VEB (Cole et al., 1985, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., págs. 77-96). Dichos anticuerpos pueden ser de cualquier clase de inmunoglobulina incluyendo IgG, IgM, IgE, IgA, e IgD y cualquiera de sus subclases. El hibridoma que produce los mAb pueden cultivarse *in vitro* o *in vivo*.

50 El anticuerpo monoclonal puede ser, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal humano, un anticuerpo monoclonal humanizado, un fragmento de anticuerpo, o un anticuerpo quimérico (por ejemplo, un anticuerpo de ser humano-ratón). Se pueden preparar anticuerpos monoclonales humanos mediante cualquiera de numerosas técnicas conocidas en la materia (por ejemplo, Teng y col., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:7308-7312; Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4:72-79; y Olsson et al., 1982, Meth. Enzymol. 92:3-16).

55 El anticuerpo también puede ser también un anticuerpo biespecifico. Se conocen en la técnica métodos para preparar anticuerpos biespecificos. La producción tradicional de anticuerpos biespecificos de longitud completa se basa en la expresión simultánea de dos parejas de cadena pesada-cadena ligera de la inmunoglobulina, donde las dos cadenas tienen diferentes especificidades (véase, por ejemplo, Millstein et al., 1983, Nature 305:537-539; la publicación internacional n.º WO 93/08829, Traunecker et al., 1991, EMBO J. 10:3655-3659).

60 De acuerdo con un enfoque diferente, los dominios variables de anticuerpos con las especificidades de unión deseadas (sitios de combinación de anticuerpo-antígeno) se fusionan con secuencias de dominio constante de la inmunoglobulina. La fusión es preferentemente con un dominio constante de cadena pesada de la inmunoglobulina, que comprende al menos una parte de las regiones bisagra, regiones C_{H2}, y C_{H3}. Se prefiere tener la primera región constante de la cadena pesada (C_{H1}) que contiene el sitio necesario para la unión con la cadena ligera, presente en al menos una de las fusiones. Los ácidos nucleicos con secuencias que codifican las fusiones de la cadena pesada de la inmunoglobulina y, si se desea, la cadena ligera de la inmunoglobulina, se inserta en vectores de expresión separados, y se transfecta simultáneamente en un organismo hospedador adecuado. Esto proporciona flexibilidad

para ajustar las proporciones mutuas de los tres fragmentos de polipéptido en realizaciones en las que proporciones desiguales de las tres cadenas polipeptídicas usadas en la construcción proporcionan los rendimientos óptimos. Es posible, sin embargo, insertar las secuencias codificantes para dos o las tres cadenas polipeptídicas en un vector de expresión cuando la expresión de al menos dos cadenas polipeptídicas en proporciones iguales da como resultado rendimientos elevados o cuando las proporciones no son de significancia particular.

Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos pueden tener una cadena pesada de la inmunoglobulina híbrida con una primera especificidad de unión en un brazo, y una pareja de cadena pesada-cadena ligera de la inmunoglobulina híbrida (que proporciona una segunda especificidad de unión) en el otro brazo. Esta estructura asimétrica facilita la separación del compuesto biespecífico deseado de combinaciones de cadena de inmunoglobulina no deseadas, ya que la presencia de una cadena ligera de inmunoglobulina en solo una mitad de la molécula biespecífica proporciona una forma fácil de separación (publicación internacional n.º WO 94/04690).

Para detalles adicionales acerca de la generación de anticuerpos biespecíficos véanse, por ejemplo, Suresh et al., 1986, *Methods in Enzymology* 121:210; Rodrigues et al., 1993, *J. Immunology* 151:6954-6961; Carter et al., 1992, *Bio/Technology* 10:163-167; Carter et al., 1995, *J. Hematotherapy* 4:463-470; Merchant et al., 1998, *Nature Biotechnology* 16:677-681. Utilizando dichas técnicas, se pueden preparar anticuerpos biespecíficos para uso en el tratamiento o la prevención de la enfermedad como se define en el presente documento.

Se describen también anticuerpos bifuncionales en la publicación de patente europea n.º EPA 0 105 360. Como se divulga en esta referencia, los anticuerpos híbridos o bifuncionales pueden derivarse ya sea biológicamente, es decir, mediante técnicas de fusión celular, o químicamente, especialmente con agentes de reticulación o reactivos formadores de puentes disulfuro, y pueden comprender anticuerpos completos o sus fragmentos. Los métodos para obtener dichos anticuerpos híbridos se divulgan, por ejemplo, en la publicación internacional WO 83/03679, y en la publicación de patente europea n.º EPA 0 217 577.

El anticuerpo puede ser también un fragmento, derivado, o análogo funcionalmente activo de un anticuerpo que se une inmunoespecíficamente a un antígeno diana (por ejemplo, un antígeno del cáncer, un antígeno vírico, un antígeno microbiano, u otros anticuerpos unidos a células o matriz). En este sentido, "funcionalmente activo" significa que el fragmento, derivado o análogo tiene la capacidad de reconocer el mismo antígeno que el anticuerpo a partir del cual el fragmento, derivado o análogo se deriva de forma reconocida. Específicamente, en una realización ilustrativa, se puede potenciar la antigenicidad del idiotipo de la molécula de inmunoglobulina mediante la delección de las secuencias marco y de las CDR que están en el extremo C de la secuencia de la CDR que reconoce específicamente el antígeno. Para determinar qué secuencias de las CDR se unen al antígeno, se pueden usar péptidos sintéticos que contienen las secuencias de las CDR en ensayos de unión con el antígeno mediante cualquier método de ensayo de unión conocido en la materia (por ejemplo, el ensayo BIAcore) (véase, por ejemplo, Kabat y col., 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Quinta edición, National Institutes of Health, Bethesda, Md; Kabat y col., 1980, *J. Immunology* 125(3):961-969).

Otros anticuerpos útiles incluyen fragmentos de anticuerpos tales como fragmentos F(ab')₂, fragmentos Fab, Fab', fragmentos Fv, y los dímeros de cadena pesada y la cadena ligera de anticuerpos, o cualquier fragmento mínimo de los mismos tales como los Fv o los anticuerpos monocatenarios (SCA) (por ejemplo, como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 4.946.778; Bird, 1988, *Science* 242:423-42; Huston et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; y Ward et al., 1989, *Nature* 334:544-54). También se pueden usar anticuerpos recombinantes tales como anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados, que comprenden tanto porciones humanas como no humanas, que pueden fabricarse utilizando técnicas de ADN recombinante convencionales. (Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 4.816.567; y la patente de Estados Unidos n.º 4.816.397). Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpo de especies no humanas que tienen una o más regiones determinantes de complementariedad (las CDR) de la especie no humana y una región marco conservada de una molécula de inmunoglobulina humana. (Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos n.º 5.585.089). Los anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados se pueden producir mediante técnicas de ADN recombinante conocidas en la materia, por ejemplo, utilizando los métodos descritos en la publicación internacional N.º WO 87/02671; publicación de patente europea EP 0 184 187; publicación de patente europea EP 0 171 496; publicación de patente europea EP 0 173 494; publicación internacional n.º WO. 86/01533; la patente de EE.UU. n.º 4.816.567; publicación de patente europea n.º EP 012 023; Berter et al.; 1988, *Science* 240:1041-1043; Liu et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-3443; Liu et al., 1987, *J. Immunol.* 139:3521-3526; Sun et al., 1987, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:214-218; Nishimura et al., 1987, *Cancer Res.* 47:999-1005; Wood et al., 1985, *Nature* 314:446-449; Shaw et al., 1988, *J. Natl. Cancer Inst.* 80:1553-1559; Morrison, 1985, *Science* 229:1202-1207; Oi et al., 1986, *BioTechniques* 4:214; la patente de EE.UU. n.º 5.225.539; Jones et al., 1986, *Nature* 321:552-525; Verhoeyan et al, 1988, *Science* 239:1534; y Beidler et al., 1988, *J. Immunol.* 141:4053-4060.

Se pueden usar anticuerpos completamente humanos. Los anticuerpos humanos se pueden preparar, por ejemplo, utilizando ratones transgénicos que sean incapaces de expresar los genes de las cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina endógena, pero que pueden expresar los genes de la cadena pesada y ligera humana. Los ratones transgénicos se inmunizan de la manera normal con un antígeno seleccionado, por ejemplo, todo o parte de un polipéptido. Se pueden obtener anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno utilizando la tecnología del

hibridoma convencional. Los transgenes de la inmunoglobulina humana hospedados por los ratones transgénicos se redisponen durante la diferenciación de los linfocitos B y experimentan posteriormente cambio de clase y mutación somática. Por lo tanto, usando dicha técnica, es posible producir anticuerpos de IgG, IgA, IgM e IgE terapéuticamente útiles. Para una visión general de esta tecnología para producir anticuerpos humanos, véase Lonberg y Huszar (1995, *Int. Rev. Immunol.* 13:65-93). Para una descripción detallada de esta tecnología para producir anticuerpos humanos y anticuerpos monoclonales humanos y los protocolos para producir dichos anticuerpos, véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n.º 5.625.126; 5.633.425; 5.569.825; 5.661.016; y 5.545.806. Se pueden obtener otros anticuerpos humanos comercialmente de, por ejemplo, Abgenix, Inc. (Freemont, CA) y Genpharm (San Jose, CA).

Se pueden generar anticuerpos completamente humanos que reconozcan un epítipo seleccionado utilizando una técnica denominada "selección guiada". En esta solución, un anticuerpo monoclonal no humano seleccionado, por ejemplo, un anticuerpo de ratón, se usa para guiar la selección de un anticuerpo completamente humano que reconoce el mismo epítipo. (Véase, por ejemplo, Jespers et al., 1994, *Biotechnology* 12:899-903). Los anticuerpos humanos se pueden producir usando varias técnicas conocidas en la materia, incluidas las fagotecas (véase, por ejemplo, Hoogenboom y Winter, 1991, *J. Mol. Biol.* 227:381; Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.* 222:581; Quan y Carter, 2002, "The rise of monoclonal antibodies as therapeutics," en *Anti-IgE and Allergic Disease*, Jardieu, P. M. y Fick Jr., R. B., ed., Marcel Dekker, Nueva York, NY, Capítulo 20, págs. 427-469).

En otras realizaciones, el anticuerpo es una proteína de fusión de un anticuerpo, o uno de sus fragmentos funcionalmente activos. Por ejemplo, un anticuerpo se puede fusionar mediante un enlace covalente (por ejemplo, un enlace peptídico) a uno cualquiera del extremo N o el extremo C de una secuencia de aminoácidos con otra proteína (o porción de la misma, tal como al menos una porción de 10, 20 o 50 aminoácidos de la proteína) que no es el anticuerpo.

Los anticuerpos también incluyen análogos y derivados que podrían estar modificados, es decir, mediante el enlace covalente de cualquier tipo de molécula siempre que dicho enlace covalente permita al anticuerpo retener su inmunoespecificidad de unión a antígeno. Por ejemplo, aunque no de forma limitativa, los derivados y análogos de los anticuerpos incluyen aquellos que se han modificado adicionalmente, por ejemplo, mediante glucosilación, acetilación, pegilación, fosforilación, amidación, derivatización mediante grupos protectores/bloqueantes, escisión proteolítica, unión a una unidad de anticuerpo celular u otra proteína, etc. Se pueden llevar a cabo cualquiera de numerosas modificaciones químicas mediante técnicas conocidas, entre las que se incluyen escisión química específica, acetilación, formilación, síntesis metabólica en presencia de tunicamicina, etc. Adicionalmente, el análogo o derivado puede contener uno o más aminoácidos no naturales.

Los anticuerpos pueden tener modificaciones (por ejemplo, sustituciones, deleciones o adiciones) en restos de aminoácidos que interactúan con receptores Fc. En particular, los anticuerpos incluyen anticuerpos que tienen modificaciones en restos de aminoácidos identificados como implicados en la interacción entre el dominio dirigido contra Fc y el receptor de FcRn (véase, por ejemplo, la publicación internacional n.º WO 97/34631). Se pueden obtener anticuerpos inmunoespecíficos de un antígeno diana de forma comercial o producirse mediante cualquier método conocido por un experto en la materia tal como, por ejemplo, síntesis química o técnicas de expresión recombinante. Pueden obtenerse anticuerpos inmunoespecíficos que codifican la secuencia de nucleótidos de un antígeno de célula cancerosa, por ejemplo, de la base de datos GenBank o de una base de datos del tipo de ésta, publicaciones de bibliografía, o por clonación y secuenciación rutinarias.

Los ejemplos de anticuerpos disponibles para el tratamiento del cáncer incluyen anticuerpo monoclonal dirigido contra HER2 humanizado, HERCEPTIN® (trastuzumab; Genentech); RITUXAN® (rituximab; Genentech) que es un anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra CD20 para el tratamiento de pacientes con linfoma no de Hodgkin; OvaRex (AltaRex Corporation, MA) que es un anticuerpo de murino para el tratamiento del cáncer de ovario; Panorex (Glaxo Wellcome, NC) que es un anticuerpo IgG2a de murino para el tratamiento del cáncer colorrectal; Cetuximab Erbitux (Imclone Systems Inc., NY) que es un anticuerpo quimérico dirigido contra EGFR IgG para el tratamiento de cánceres positivos para el factor de crecimiento epidérmico, tales como cáncer de cabeza y cuello; Vitaxin (MedImmune, Inc., MD) que es un anticuerpo humanizado para el tratamiento del sarcoma; Campath I/H (Leukosite, MA) que es un anticuerpo de IgG1 humanizado para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (LLC); SMART MI95 (Protein Design Labs, Inc., CA) que es un anticuerpo IgG humanizado dirigido contra CD33 para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (LMA); LymphoCide (Immunomedics, Inc., NJ) que es un anticuerpo de tipo IgG humanizado dirigido contra CD22 para el tratamiento del linfoma no de Hodgkin; SMART ID10 (Protein Design Labs, Inc., CA) que es un anticuerpo humanizado dirigido contra HLA-DR para el tratamiento del linfoma no de Hodgkin; Oncolym (Techniclone, Inc., CA) que es un anticuerpo de murino radiomarcado dirigido contra HLA-Dr10 para el tratamiento del linfoma no de Hodgkin; Allomune (BioTransplant, CA) que es un mAb humanizado dirigido contra CD2 para el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin o del linfoma no de Hodgkin; Avastin (Genentech, Inc., CA) que es un anticuerpo humanizado anti-MHCII para el tratamiento de los cánceres de pulmón y colorrectal; Epratuzamab (Immunomedics, Inc., NJ y Amgen, CA) que es un anticuerpo dirigido contra CD22 para el tratamiento del linfoma no de Hodgkin; y CEAcide (Immunomedics, NJ) que es un anticuerpo humanizado dirigido contra CEA para el tratamiento del cáncer colorrectal.

Otros anticuerpos útiles para el tratamiento de cáncer incluyen anticuerpos contra los siguientes antígenos (los cánceres ilustrativos se indican entre paréntesis): CA125 (ovario), CA15-3 (carcinomas), CA19-9 (carcinomas), L6 (carcinomas), Lewis Y (carcinomas), Lewis X (carcinomas); alfa feto proteína (carcinomas), CA 242 (colorrectal), fosfatasa alcalina placentaria (carcinomas), antígeno de membrana específico de próstata (próstata), fosfatasa ácida prostática (próstata), factor de crecimiento epidérmico (carcinomas), MAGE-1 (carcinomas), MAGE-2 (carcinomas), MAGE-3 (carcinomas), MAGE-4 (carcinomas), receptor antitransferrina (carcinomas), p97 (melanoma), MUC1-KLH (cáncer de mama), CEA (colorrectal), gp100 (melanoma), MART1 (melanoma), antígeno específico de próstata (AEP) (próstata), receptor de IL-2 (linfocitos T) en leucemia y linfomas, CD20 (linfoma no de Hodgkin), CD52 (leucemia); CD33 (leucemia), CD22 (linfoma), gonadotropina coriónica humana (carcinoma), CD38 (mieloma múltiple), CD40 (linfoma), mucina (carcinomas), P21 (carcinomas), MPG (melanoma), y el producto del oncogén Neu (carcinomas). Algunos anticuerpos específicos útiles incluyen el mAb BR96 (Trail et al., 1993, Science 261:212-215), BR64 (Trail et al., 1997, Cancer Research 57:100-105), mAb contra el antígeno CD40, tales como el mAb S2C6 (Francisco et al., 2000, Cancer Res. 60:3225-3231) y variantes quiméricas y humanizadas de los mismos, los mAb contra el antígeno CD33; los mAb contra el antígeno EphA2; los mAb contra el antígeno CD70, tales como el mAb 1F6 y el mAb 2F2 y variantes quiméricas y humanizadas de los mismos, y los mAb contra el antígeno CD30, tal como AC10 (Bowen et al., 1993, J. Immunol. 151:5896-5906; Wahl et al., 2002, Cancer Res. 62(13):3736-42) y variantes quiméricas y humanizadas de los mismos. Se pueden usar otros muchos anticuerpos internalizadores que se unen a antígenos asociados a tumores y se han revisado (véanse, por ejemplo, Franke et al., 2000, Cancer Biother. Radiopharm. 15:459 76; Murray, 2000, Semin. Oncol. 27:64 70; Breitling et al., Recombinant Antibodies, John Wiley, and Sons, Nueva York, 1998).

En algunas realizaciones, los anticuerpos conocidos para el tratamiento o la prevención de una enfermedad autoinmunitaria se utilizan de acuerdo con las composiciones y métodos de la divulgación. Los anticuerpos inmunoespecíficos de un antígeno de una célula que es responsable de producir anticuerpos autoinmunitarios se puede obtener de cualquier fuente comercial o de otra fuente, o producirse mediante cualquier método conocido por un experto en la materia tal como, por ejemplo, síntesis química o técnicas de expresión recombinante.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es inmunoespecífico para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria tales como, por ejemplo, anticuerpo antinuclear; anticuerpo dirigido contra el ADNds; anticuerpo dirigido contra el ADNss, IgM de anticuerpo dirigido contra cardiolipina, IgG; IgM de anticuerpo dirigido contra fosfolípido, IgG; anticuerpo dirigido contra SM; anticuerpo dirigido contra mitocondrias; anticuerpo tiroideo; anticuerpo microsomal; anticuerpo de tiroglobulina; anticuerpo dirigido contra SCL 70; anticuerpo dirigido contra Jo; anticuerpo dirigido contra U1RNP; anticuerpo dirigido contra La/SSB; anticuerpo dirigido contra SSA; anticuerpo dirigido contra SSB; anticuerpo dirigido contra células peritales; anticuerpo dirigido contra histonas; anticuerpo dirigido contra RNP; C ANCA; P ANCA; anticuerpo anticentrómero; anticuerpo antifibrilarina y anticuerpo dirigido contra GBM. En una realización, el Ligando se une a un linfocito activado que se asocia con una enfermedad autoinmunitaria.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo se puede unir a un receptor o a un complejo receptor expresado en una célula diana (por ejemplo, un linfocito activado).

El receptor o el complejo receptor puede comprender un miembro de la superfamilia de los genes de las inmunoglobulinas, un miembro de la superfamilia de receptores de TNF, una integrina, un receptor de citoquina, un receptor de la quimioquina, una proteína de histocompatibilidad mayor, una lectina, o una proteína control del complemento. Los ejemplos no limitantes de miembros adecuados de la superfamilia de las inmunoglobulinas son CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD22, CD28, CD79, CD90, CD152/CTLA 4, PD 1, e ICOS. Los ejemplos no limitantes de miembros adecuados de la superfamilia de receptores de TNF son CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4 1BB, TNF R1, TNFR2, RANK, TACI, BCMA, osteoprotegerina, Apo2/TRAIL R1, 2, TRAIL R2, TRAIL R3, TRAIL R4, y APO 3. Los ejemplos no limitantes de integrinas adecuadas son CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD41, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD103 y CD104. Los ejemplos no limitantes de lectinas adecuadas son las lectinas del tipo C, tipo S y tipo I.

En otra realización específica, los Ligandos inmunoespecíficos útiles para un antígeno vírico o microbiano son anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos pueden ser quiméricos, humanizados o humanos. Como se utiliza en el presente documento, el término "antígeno vírico" incluye cualquier péptido vírico, proteína polipeptídica (por ejemplo, gp120 del VIH, nef del VIH, glicoproteína F del VSR, neuraminidasa del virus de la gripe, hemaglutinina del virus de la gripe, tax del HTLV, glicoproteína del virus del herpes simple (por ejemplo, gB, gC, gD y gE) y el antígeno superficial de la hepatitis B) que es capaz de estimular una respuesta inmunitaria. Como se utiliza en el presente documento, el término "antígeno microbiano" incluye cualquier péptido microbiano, así como, polipéptido, proteína, sacárido, polisacárido, o molécula de lípido (por ejemplo, bacteriano, fúngico), protozoo patógeno o polipéptido de levadura incluyendo, por ejemplo, LPS y un polisacárido capsular 5/8) que sea capaz de estimular una respuesta inmune.

Se pueden obtener comercialmente anticuerpos inmunoespecíficos de un antígeno vírico o microbiano, por ejemplo, de BD Biosciences (San Francisco, CA), Chemicon. International, Inc. (Temecula, CA), o Vector.Laboratories, Inc. (Burlingame, CA) o producirse mediante cualquier método conocido por un experto en la materia tal como, por ejemplo, síntesis química o técnicas de expresión recombinante. Se puede obtener la secuencia de nucleótidos que

codifica anticuerpos que son inmunespecíficos de un antígeno vírico o microbiano, por ejemplo, de la base de datos GenBank o de una base de datos del tipo de ésta, publicaciones de bibliografía, o por clonación y secuenciación rutinarias.

5 En una realización específica, los Ligandos útiles son aquellos que son útiles para el tratamiento de una infección vírica o microbiana de acuerdo con los métodos divulgados en el presente documento. Los ejemplos de anticuerpos útiles para el tratamiento de una infección vírica o una infección microbiana incluyen SYNAGIS (MedImmune, Inc., MD) que es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra el virus sincitial respiratorio (VSR) para el tratamiento de pacientes con infección por VSR; PRO542 (Progenies) que es un anticuerpo de fusión con CD4 útil para el tratamiento de la infección por VIH; OSTAVIR (Protein Design Labs, Inc., CA) que es un anticuerpo humano
10 útil para el tratamiento del virus de la hepatitis B; PROTOVIR (Protein Design Labs, Inc., CA) que es un anticuerpo de IgG1 humanizado útil para el tratamiento del citomegalovirus (CMV); y anticuerpos dirigidos contra LPS.

Otros anticuerpos útiles en el tratamiento de enfermedad infecciosa incluyen anticuerpos dirigidos contra antígenos de cepas patógenas de bacterias (por ejemplo, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Hemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenas*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter (Vibrio) fetus*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Edwardsiella tarda*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Treponema pallidum*, *Treponema pertenue*, *Treponema caratenum*, *Borrelia vincentii*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira icterohemorrhagiae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pneumocystis carinii*, *Francisella tularensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella melitensis*, *Mycoplasma spp.*, *Rickettsia prowazeki*, *Rickettsia tsutsugumushi*, *Chlamydia spp.*); hongos patógenos (por ejemplo, *Coccidioides immitis*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*); protozoos (*Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*, *Trichomonas tenax*, *Trichomonas hominis*, *Trichomonas vaginalis*; *Trypanosoma gambiense*, *Trypanosoma rhodesiense*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania braziliensis*, *Pneumocystis pneumonia*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*); o Helmintos (*Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichinella spiralis*, *Strongyloides stercoralis*, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mansoni*, *SSchistosoma haematobium*, y anquilostomas).

Otros anticuerpos útiles para el tratamiento de enfermedades víricas incluyen anticuerpos contra antígenos de virus patógenos, que incluyen como ejemplos y no como limitación: Poxviridae, Herpesviridae, Virus del Herpes Simple 1, Virus del Herpes Simple 2, Adenoviridae, Papovaviridae, Enteroviridae, Picomaviridae, Parvoviridae, Reoviridae, Retroviridae, los virus de la gripe, los virus de la paragripe, paperas, sarampión, virus sincitial respiratorio, rubeola, Arboviridae, Rhabdoviridae, Arenaviridae, virus de la hepatitis A, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, virus de la hepatitis E, virus de la hepatitis no A/no B, Rhinoviridae, Coronaviridae, Rotoviridae, y el virus de la inmunodeficiencia humana.

El anticuerpo también puede ser un anticuerpo que está presente en una célula diana o población de células diana. Por ejemplo, polipéptidos transmembrana y otros marcadores se pueden expresar específicamente sobre la superficie de uno o más tipo(s) concretos de células diana (por ejemplo, una célula cancerosa) en comparación con sobre una o más células normales (por ejemplo, una o más células no cancerosa(s)). A menudo, dichos marcadores se expresan de forma más abundante sobre la superficie de las células diana, o presentan mayor inmunogenicidad, en comparación con las que se encuentran en la superficie de células normales. La identificación de dichos polipéptidos antigénicos de la superficie celular ha proporcionado la capacidad de dirigirse específicamente a células cancerosas para su destrucción mediante terapias basadas en anticuerpos. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los anticuerpos incluyen anticuerpos contra antígenos asociados a tumores (TAA). Dichos antígenos asociados a tumores son bien conocidos en la técnica, y se pueden preparar para su uso en la generación de anticuerpos usando métodos e información que son bien conocidos en la materia.

Unidad enlazadora

Los Compuestos conjugados incluyen adicionalmente de forma típica una Unidad de ligando. Una "Unidad enlazadora" (LU) es un compuesto bifuncional que se puede usar para enlazar una Unidad de fármaco y una Unidad de ligando para formar un Compuesto conjugado. Dichos conjugados permiten la administración selectiva de fármacos a células diana (por ejemplo, células tumorales). Los enlazadores incluyen un radical divalente tal como un alquildilo, un arildilo, un heteroarildilo, restos tales como: $-(CR_2)_nO(CR_2)_n-$ unidades de repetición de alquilo (por ejemplo, polietiloxi, PEG, polimetileno) y alquilamino (por ejemplo, polietilenoamino, Jeffamine™); y éster diácido y amidas que incluyen succinato, succinamida, diglicolato, malonato, y caproamida.

Los Compuestos conjugados se pueden preparar usando una Unidad de ligando que tiene un sitio reactivo para su unión a la Unidad de fármaco y el Ligando. En algunas realizaciones, un Enlazador tiene un sitio reactivo que tiene un grupo electrófilo que reacciona con un grupo nucleófilo presente en un Ligando. Los grupos nucleófilos útiles en un Ligando incluyen, los grupos hidroxilo y amino. El heteroátomo del grupo nucleófilo de un Ligando reacciona con un grupo electrófilo de un Enlazador y constituye un enlace covalente con una Unidad enlazadora. Los grupos electrófilos útiles incluyen los grupos maleimida y haloacetamida. El grupo nucleófilo de un Ligando proporciona un

sitio cómodo para su unión a un Enlazador.

5 En otra realización, un Enlazador tiene un sitio reactivo que tiene un grupo nucleófilo que es reactivo con un grupo electrófilo presente en un Ligando. Los grupos electrófilos útiles en un Ligando incluyen grupos carbonilo de aldehído y cetona. El heteroátomo de un grupo nucleófilo de un Enlazador puede reaccionar con un grupo electrófilo de un Ligando y formar un enlace covalente con una unidad de Ligando. Los grupos nucleófilos de un Enlazador incluyen hidrazida, oxima, amino, hidrazina, tiosemicarbazona, hidrazina carboxilato, y arilhidrazida. El grupo electrófilo de un Ligando proporciona un sitio cómodo para su unión a un Enlazador.

10 Los grupos funcionales de ácido carboxílico y los grupos funcionales de cloroformiato son también sitios reactivos para un Enlazador ya que pueden reaccionar con grupos amino de un Fármaco para formar un enlace amida. También útil como sitio reactivo es un grupo funcional de carbonato de un Enlazador, tal como carbonato de p-nitrofenilo, que puede reaccionar con un grupo amino de un Fármaco para formar un enlace carbamato.

15 En una realización de la presente divulgación, la Unidad enlazadora tiene la fórmula:



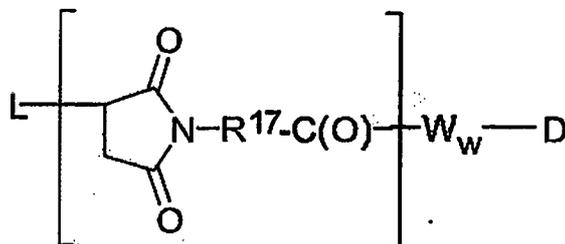
en la que:

- 20 -A- es una Unidad ensanchadora;
 a es 0 o 1;
 cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido; y
 w es un número entero comprendido entre 0 y 12.

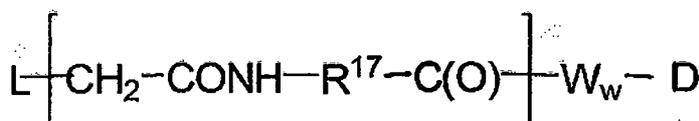
25 La unidad ensanchadora (-A-), cuando está presente, puede unir una Unidad de ligando con una unidad un aminoácido (-W-). A este respecto, una Unidad de ligando (L) tiene un grupo funcional que puede formar un enlace con un grupo funcional de una Ensanchadora. Los grupos funcionales útiles que pueden estar presentes en un ligando, tanto naturalmente como mediante manipulación química incluyen sulfhidrilo (-SH), amino, hidroxilo, carboxi,
 30 el grupo hidroxilo anómero de un hidrato de carbono, y carboxilo. En un aspecto, los grupos funcionales del Ligando son sulfhidrilo y/o amino. Se pueden generar grupos sulfhidrilo mediante reducción de un enlace disulfuro intramolecular de un ligando. Como alternativa, se pueden generar grupos sulfhidrilo mediante la reacción de un grupo amino de un resto de lisina de un ligando utilizando 2-iminotiolano (reactivo de Traut) u otro reactivo generador de sulfhidrilos.

35 En una realización, la unidad ensanchadora forma un enlace con un átomo de azufre de la unidad de ligando. Se puede derivar el átomo de azufre de un grupo sulfhidrilo de un ligando. Las Unidades ensanchadoras representativas de la presente divulgación se representan gráficamente entre los corchetes de las Fórmulas IIIa y IIIb, en las que L-, -W-, -D, w es como se ha definido anteriormente, y R¹⁷ se selecciona entre -alquileo C₁-C₁₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -O- (alquilo C₁-C₈), -arileno-, -alquileo C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquileo C₁-C₁₀-, -alquileo C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, - (carbociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquileo C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)-, -(heterociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; y r es un número entero que varía entre 1-10. Debe entenderse a partir de todas las realizaciones ilustrativas de Fórmula Ia, tales como III-VI, que incluso aunque no se hayan
 40 denotado de forma expresa, que de 1 a 20 restos de fármacos están unidos a un Ligando (p = 1-20).

45

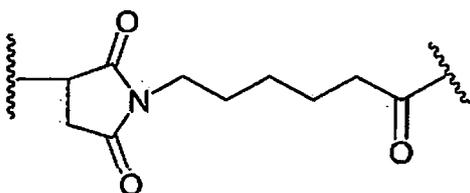


IIIa



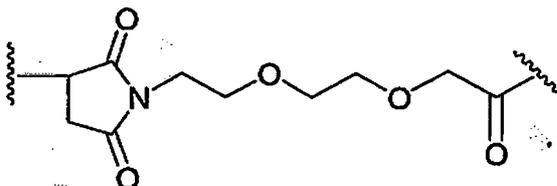
IIIb

50 Una Unidad ensanchadora ilustrativa que forma parte de la presente invención tiene la Fórmula IIIa en la que R¹⁷ es -(CH₂)₅-:



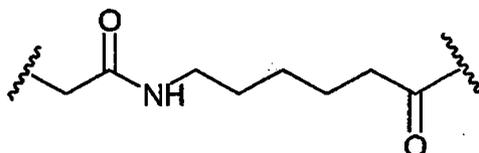
Otra Unidad ensanchadora ilustrativa que forma parte de la presente invención tiene la Fórmula IIIa en la que R¹⁷ es -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; y r es 2:

5



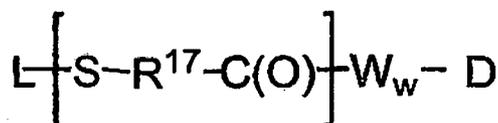
Otra ensanchadora ilustrativa que forma parte de la presente invención más tiene la Fórmula IIIb en la que R¹⁷ es -(CH₂)₅-:

10



En otra realización de la presente divulgación, la Unidad ensanchadora está unida a la Unidad de ligando mediante un enlace disulfuro entre un átomo de azufre de la Unidad de ligando y un átomo de azufre de la Unidad ensanchadora. Una Unidad ensanchadora representativa de esta realización se representa entre los corchetes de la Fórmula IV, en la que R¹⁷, L-, -W-, -D, w es como se ha definido anteriormente.

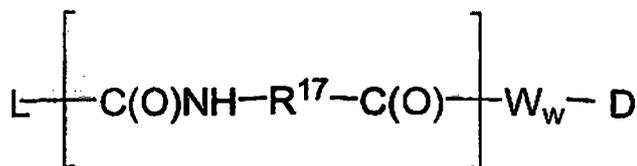
15



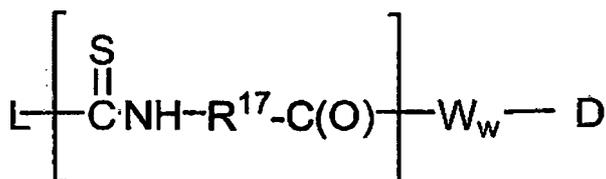
IV

En otra realización más, el grupo reactivo de la Unidad ensanchadora contiene un sitio reactivo que puede formar un enlace con un grupo amino primario o secundario de un ligando. Los ejemplos de estos sitios reactivos incluyen ésteres activados tales como ésteres de succinimida, ésteres de 4-nitrofenilo, ésteres de pentafluorofenilo, ésteres de tetrafluorofenilo, anhídridos, cloruros de ácido, cloruros de sulfonilo, isocianatos e isotiocianatos. La Unidades ensanchadoras ilustrativas de esta realización se representan entre los corchetes de las Fórmulas Va y Vb, en las que -R¹⁷-, L-, -W-, -D, y w son como se han definido anteriormente;

25



Va

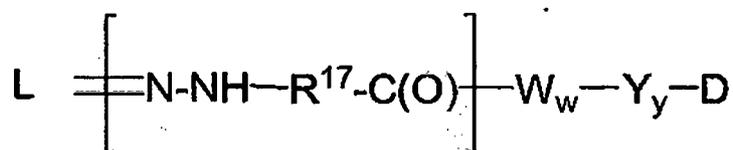


Vb

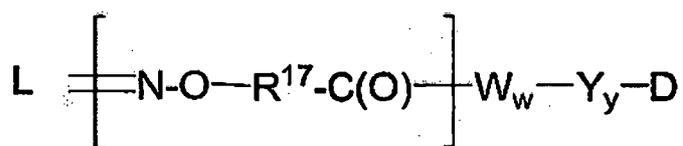
30

En otro aspecto más de la divulgación, el grupo reactivo del Ensanchador contiene un sitio reactivo que es reactivo con un grupo de hidratos de carbono modificado -S(-CHO) que puede estar presente en un ligando. Por ejemplo, un carbohidrato se puede oxidar suavemente usando un reactivo tal como peryodato sódico y la unidad resultante (-

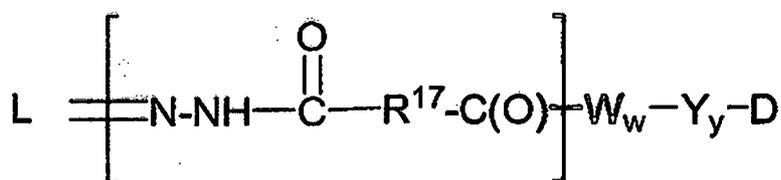
CHO): sel carbohidrato oxidado se puede condensar con un Ensanchador que contiene una funcionalidad tal como una hidrazida, una oxima, una amina primaria o secundaria, una hidrazina, una tiosemicarbazona, un carboxilato de hidrazina, y una arilhidrazida tal como las descritas por Kaneko, T. *et al.* (1991) *Bioconjugate.Chem.* 2:133-41. La Unidades representativas de estar realización de la divulgación se representan entre los corchetes de las Fórmulas **VIa**, **VIb**, y **VIc**, en las que $-R^{17}$ -, L -, $-W_w$ -, $-Y_y$ -, $-D$, w e y son tal como se ha definido anteriormente.



VIa



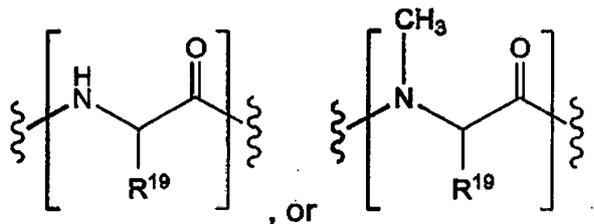
VIb



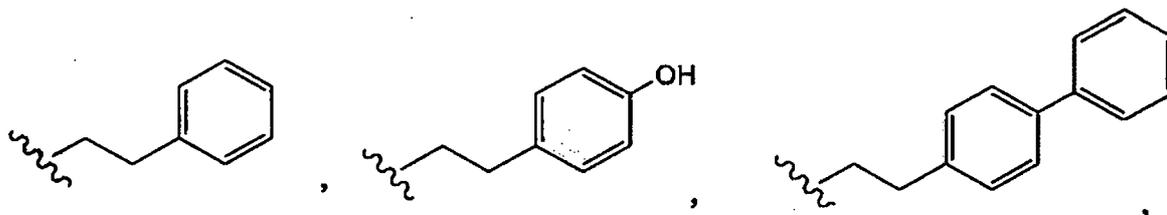
VIc

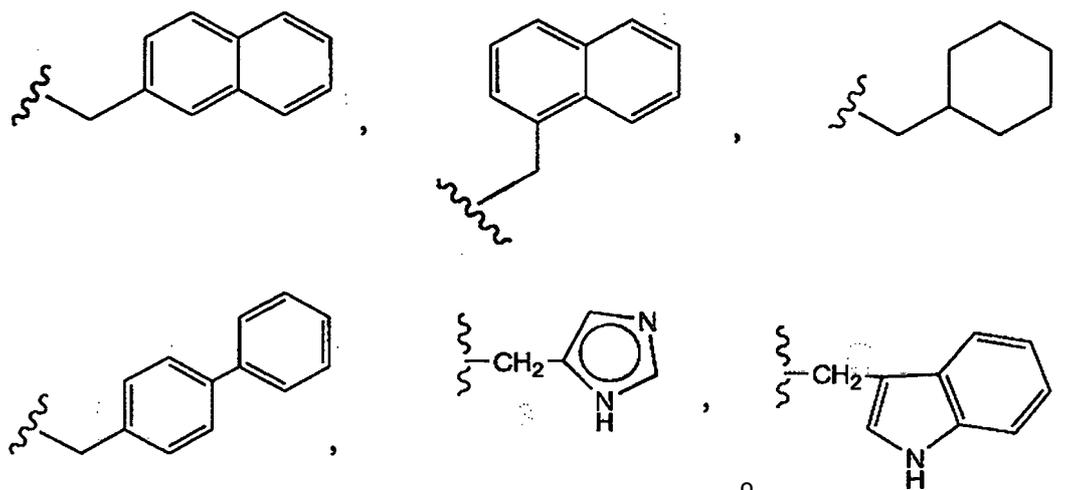
La Unidad de aminoácido ($-W$ -), cuando está presente, enlaza la Unidad ensanchadora con el Resto de fármaco, y enlaza la Unidad de ligando con la Unidad del fármaco si está ausente la Unidad ensanchadora.

$-W_w$ - es un dipéptido, tripéptido, tetrapéptido, pentapéptido, hexapéptido, heptapéptido, octapéptido, nonapéptido, decapéptido, undecapéptido o dodecapéptido. Cada unidad $-W$ - independientemente tiene la fórmula denotada a continuación en los corchetes, y w es un número entero comprendido entre 0 y 12:



en la que R^{19} es hidrógeno, metilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, bencilo, p-hidroxibencilo, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC(=NH)NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC(=NH)NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$, 2-piridilmetilo-, 3-piridilmetil 4-piridilmetil-, fenilo, ciclohexilo,

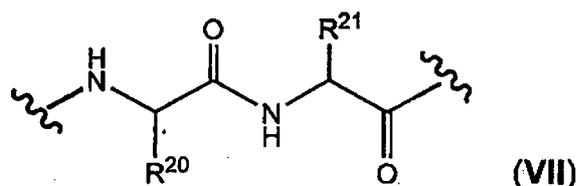




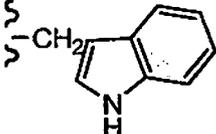
5 La Unidad de aminoácido se puede escindir enzimáticamente mediante una o más enzimas (por ejemplo, una enzima lisosómica, una proteasa asociada a tumor, una enzima intracelular) para liberar la Unidad de fármaco (-D), que en una realización se protona *in vivo* tras la liberación para proporcionar un fármaco (D).

Las unidades W_w ilustrativas se representan mediante las fórmulas (VII)-(IX):

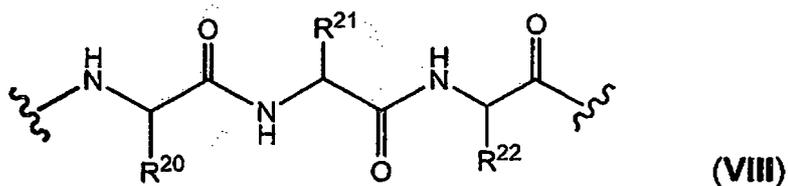
10



en las que R^{20} y R^{21} son los siguientes:

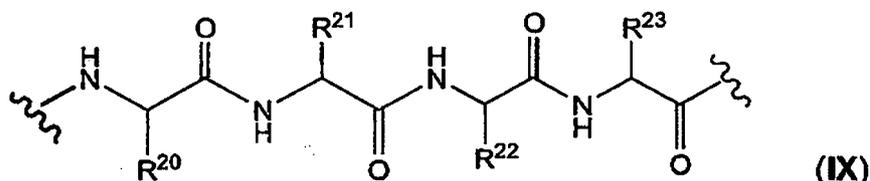
R^{20}	R^{21}
Bencilo	$(CH_2)_4NH_2$;
Metilo	$(CH_2)_4NH_2$;
Isopropilo	$(CH_2)_4NH_2$;
Isopropilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
bencilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
isobutilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
sec-butilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
	$(CH_2)_3NHCONH_2$;
	
Bencilo	metilo; y
Bencilo	$(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$;

15



en la que R^{20} , R^{21} y R^{22} son los siguientes:

R ²⁰	R ²¹	R ²²
bencilo	bencilo	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;
isopropilo	bencilo	(CH ₂) ₄ NH ₂ ; y
H	bencilo	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;



5 en la que R²⁰, R²¹, R²² y R²³ son los siguientes:

R ²⁰	R ²¹	R ²²	R ²³
H	Bencilo	isobutilo	H; y
metilo	Isobutilo	metilo	isobutilo.

10 Las Unidades de aminoácido ilustrativas incluyen unidades de fórmula (VII) donde: R²⁰ es bencilo y R²¹ es -(CH₂)₄NH₂; R²⁰ es isopropilo y R²¹ es -(CH₂)₄NH₂; o R²⁰ es isopropilo y R²¹ es -(CH₂)₃NHCONH₂. Otra Unidad de aminoácido ilustrativa es una unidad de fórmula (VIII) en la que R²⁰ es bencilo, R²¹ es bencilo, y R²² es -(CH₂)₄NH₂.

15 Las unidades -W_w- útiles se pueden diseñar y optimizar en su selectividad para la escisión enzimática mediante enzimas concretas, por ejemplo, una enzima lisozómica, una proteasa asociada a tumor, o una enzima intracelular. En una realización, una unidad -W_w- es aquella cuya escisión está catalizada por la cathepsina B, C y D, o una proteasa de plasmina.

En una realización, -W_w- es un dipéptido, tripéptido, tetrapéptido o pentapéptido.

20 Cuando R¹⁹, R²⁰, R²¹, R²² o R²³ es diferente de hidrógeno, el átomo de carbono al que R¹⁹, R²⁰, R²¹, R²² o R²³ está unido es quiral.

Cada átomo de carbono al que R¹⁹, R²⁰, R²¹, R²² o R²³ está unido está independientemente en la configuración (S) o (R).

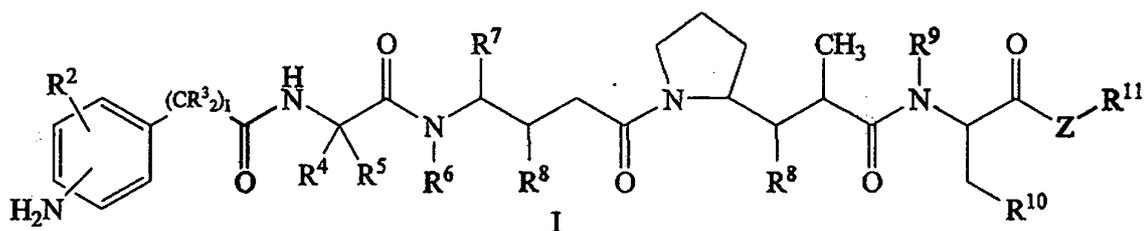
25 En una realización, la Unidad de aminoácido es valina-citrulina. En otra realización, la Unidad de aminoácido es fenilalanina-lisina (es decir fk). En otra realización más, la Unidad de aminoácido es N-metilvalina-citrulina. En otra realización más, la Unidad de aminoácido es ácido 5-aminovalérico, homofenilalanina-lisina, tetraisoquinolinacarboxilato lisina, ciclohexilalanina-lisina, ácido isonepecótico-lisina, beta-alanina lisina, glicina serina valina glutamina y ácido isonepecótico.

30 En determinadas realizaciones, la Unidad de aminoácido puede comprender aminoácidos naturales. En otras realizaciones, la Unidad de aminoácido puede comprender aminoácidos no naturales.

Compuesto de fármaco

35 El Compuesto de fármaco es del tipo dolastatina/auristatina, que han mostrado interferir con la dinámica de microtúbulos, hidrólisis de GTP, y/o la división nuclear y celular, y tienen actividad antineoplásica y antifúngica. D es una Unidad de fármaco (resto) que tiene un átomo de nitrógeno que puede formar un enlace con una Unidad de aminoácido o una Unidad ensanchadora, o una Unidad de ligando. Debe entenderse que las expresiones "unidad de fármaco" y "resto de fármaco" son sinónimas y se usan de forma indistinta en el presente documento.

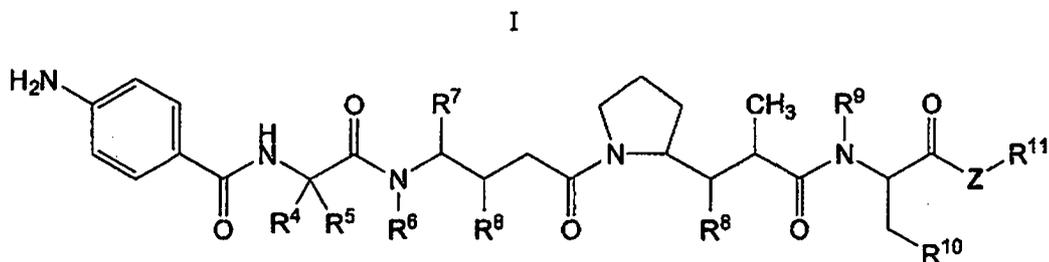
40 En algunas realizaciones de la presente divulgación, el Compuesto de fármaco tiene la siguiente Fórmula I:



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en la que, independientemente en cada localización:

- 5 R² se selecciona entre -hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -halógeno, -NO₂, -COOH, y -C(O)OR¹¹; cada R³ se selecciona independientemente entre -hidrógeno y -alquilo C₁-C₈; I es un número entero que varía entre 0-10;
- 10 R⁴ se selecciona entre hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -carbociclo C₃-C₈, -arilo, -alquilarilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈- (carbociclo C₃-C₈), -heterociclo C₃-C₈ y -alquil C₁-C₈-(heterociclo C₃-C₈); y R⁵ se selecciona entre -H y -metilo; o R⁴ y R⁵ tienen conjuntamente la fórmula -(CR^aR^b)_n, en la que cada R^a y R^b se seleccionan de forma independiente entre H, -alquilo C₁-C₈ y -carbociclo C₃-C₈ y n se selecciona entre 2, 3, 4, 5 y 6 y forman un anillo con el átomo de carbono al que están unidos;
- 15 R⁶ se selecciona entre H y -alquilo C₁-C₈;
- R⁷ se selecciona entre -H, -alquilo C₁-C₈, -carbociclo C₃-C₈, arilo, -alquilarilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-(carbociclo C₃-C₈), -heterociclo C₃-C₈ y -alquil C₁-C₈-(heterociclo C₃-C₈);
- 20 cada R⁸ se selecciona de forma independiente entre -H, -OH, -alquilo C₁-C₈, -carbociclo C₃-C₈, -O-alquil-(carbociclo C₁-C₈) y -O-(alquilo C₁-C₈);
- R⁹ se selecciona entre H y -alquilo C₁-C₈;
- R¹⁰ se selecciona entre grupos arilo o -heterociclo C₃-C₈;
- Z es -O-, -S-, -NH- o -NR¹²- donde R¹² es alquilo C₁-C₈; arilo; y
- R¹¹ se selecciona entre -H, alquilo C₁-C₈, arilo, -heterociclo C₃-C₈, -(CH₂CH₂O)_r-H, -(CH₂CH₂O)_r-CH₃, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OH; en la que r es un número entero que varía entre 1-10.

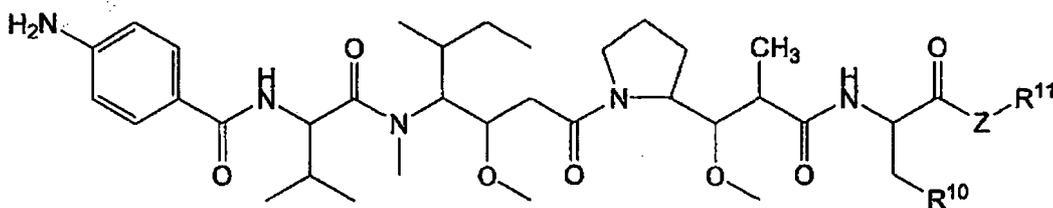
25 En algunas realizaciones de la presente divulgación, el Compuesto de fármaco tiene la siguiente Fórmula:



en la que independientemente en cada localización:

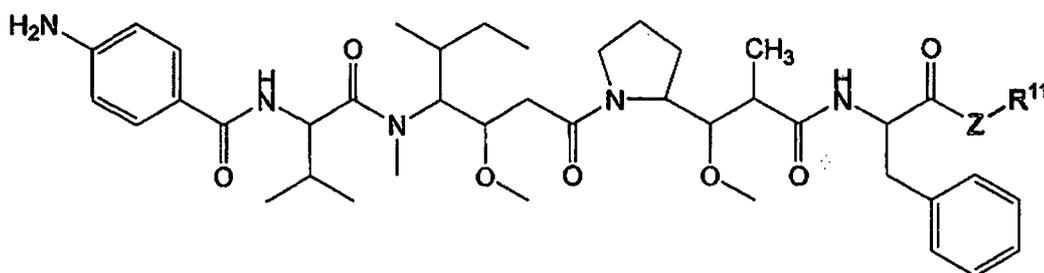
- 30 R⁴ se selecciona entre hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -carbociclo C₃-C₈, -arilo, -alquilarilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈- (carbociclo C₃-C₈), -heterociclo C₃-C₈ y -alquil C₁-C₈-(heterociclo C₃-C₈); y R⁵ se selecciona entre -H y -metilo; o R⁴ y R⁵ tienen conjuntamente la fórmula -(CR^aR^b)_n, en la que cada R^a y R^b se seleccionan de forma independiente entre H, alquilo C₁-C₈ y carbociclo C₃-C₈, n se selecciona entre 2, 3, 4, 5 y 6, y forman un anillo con el átomo de carbono al cual están unidos;
- 35 R⁶ se selecciona entre H y -alquilo C₁-C₈;
- R⁷ se selecciona entre -H, -alquilo C₁-C₈, -carbociclo C₃-C₈, arilo, -alquilarilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-(carbociclo C₃-C₈), -heterociclo C₃-C₈ y -alquil C₁-C₈-(heterociclo C₃-C₈);
- 40 cada R⁸ se selecciona de forma independiente entre -H, -OH; -alquilo C₁-C₈, -carbociclo C₃-C₈, -O-alquil-(carbociclo C₁-C₈) y -O-(alquilo C₁-C₈);
- R⁹ se selecciona entre H y -alquilo C₁-C₈;
- R¹⁰ se selecciona entre grupos arilo o -heterociclo C₃-C₈;
- Z es -O-, -S-, -NH- o -NR¹²- donde R¹² es alquilo o arilo C₁-C₈; y
- 45 R¹¹ se selecciona entre -H, alquilo C₁-C₈, arilo, -heterociclo C₃-C₈, -(CH₂CH₂O)_r-H, -(CH₂CH₂O)_r-CH₃, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OH; en la que r es un número entero que varía entre 1-10.

En algunas realizaciones de la presente divulgación, el Compuesto de fármaco tiene la siguiente Fórmula:



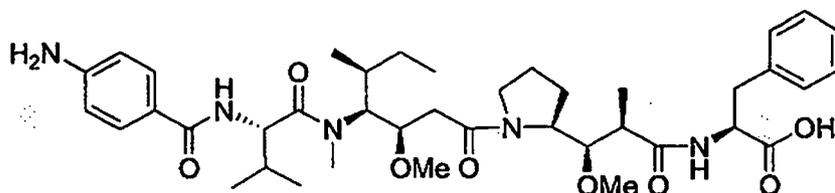
en la que independientemente en cada localización:

- 5 R¹⁰ se selecciona entre grupos arilo o -heterociclo C₃-C₈;
 Z es -O-, -S-, -NH- o -NR¹²- donde R¹² es alquilo o arilo C₁-C₈; y
 R¹¹ se selecciona entre -H, alquilo C₁-C₈, arilo, -heterociclo C₃-C₈, -(CH₂CH₂O)_r-H, -(CH₂CH₂O)_r-CH₃, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OH; en la que r es un número entero que varía entre 1-10.
- 10 En algunas realizaciones de la presente divulgación, el Compuesto de fármaco tiene la siguiente Fórmula:



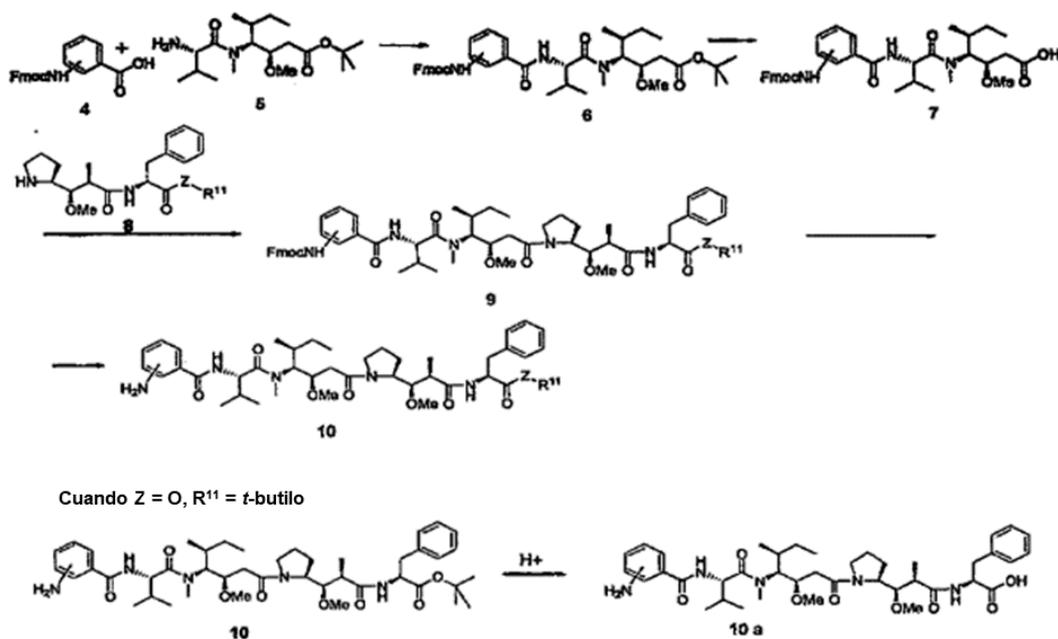
- 15 en la que Z es -O-, -S-, -NH-, o -NR¹²- donde R¹² es -alquilo C₁-C₈ o arilo; y
 R¹¹ se selecciona entre -H, alquilo C₁-C₈, arilo, -heterociclo C₃-C₈, -(CH₂CH₂O)_r-H, -(CH₂CH₂O)_r-CH₃, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OH; en la que r es un número entero que varía entre 1-10.

En algunas realizaciones de la presente invención, el Compuesto de fármaco tiene la siguiente Fórmula:



- 20
- Por lo general, los fármacos basados en péptidos se pueden preparar formando un enlace peptídico entre dos o más aminoácidos y/o fragmentos de péptido. Dichos enlaces peptídicos se pueden preparar, por ejemplo, de acuerdo con el método de síntesis en fase líquida (véase E. Schröder y K. Lubke, "The Peptides", volumen 1, págs. 76-136, 1965, Academic Press) que es bien conocido en el campo de la química de péptidos.
- 25 Los aminoácidos no naturales Boc-Dolaproína (Boc-Dap), Dolaisoleucina-OtBu (Dil-OtBu) y el dipéptido Cbz-Val-Dil-OtBu se pueden preparar como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 5.635.483 y en Pettit et al., 1998, Anti-Cancer Drug Des. p. 243.
- 30 La síntesis de los Compuestos de fármaco ilustrativos de Fórmula general I (ésteres 10 o ácidos libres 10a) se representan gráficamente en el siguiente Esquema 1.

Esquema 1



donde, Z es -O-, -S-, -NH- o -NR¹²- donde R¹² es alquilo C₁-C₈;

R¹¹ se selecciona entre -H, alquilo C₁-C₈, arilo, -heterociclo C₃-C₈, -(CH₂CH₂O)_r-H, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₃; r es un número entero que varía entre 1-10.

5

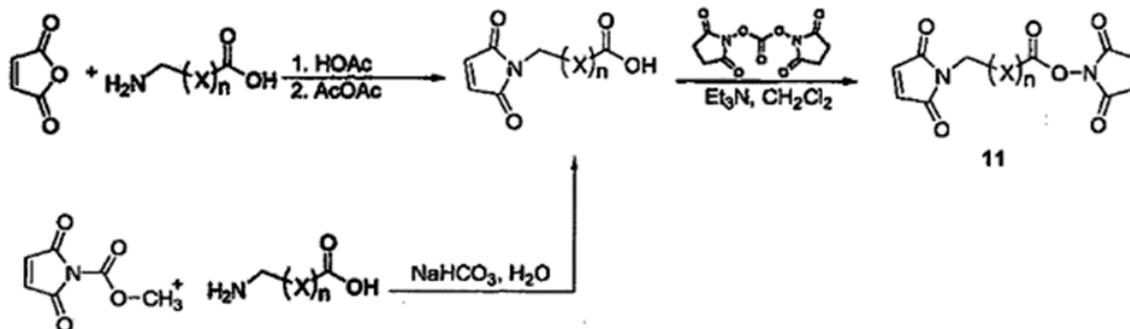
En la presente invención, Z=O y R¹¹ se selecciona entre -H, alquilo C₁-C₈. El grupo amino del grupo benzoilo está en posición meta o para.

10 En un aspecto, el compuesto 10 tiene Z = O, R¹¹ = metilo. En otro aspecto, Z = O, R¹¹ = *terc*-butilo. En otro aspecto adicional, El Compuesto de fármaco 10 tiene Z = O, R¹¹= OH (Compuesto 10a).

La síntesis de un Ensanchador ilustrativo que tiene un grupo maleimida electrófilo se ilustra más adelante en los Esquemas 2-3. Los métodos de síntesis generales útiles para la síntesis de un Enlazador se describen en el Esquema 4. El Esquema 5 presenta un detalle general para la síntesis de un Compuesto de fármaco-enlazador, mientras que el Esquema 6 presenta una ruta alternativa para preparar un Compuesto conjugado, y el Esquema 7 ilustra la síntesis de Compuestos conjugados que tienen, por ejemplo 2 o 4 fármacos por Ligando.

15

Esquema 2

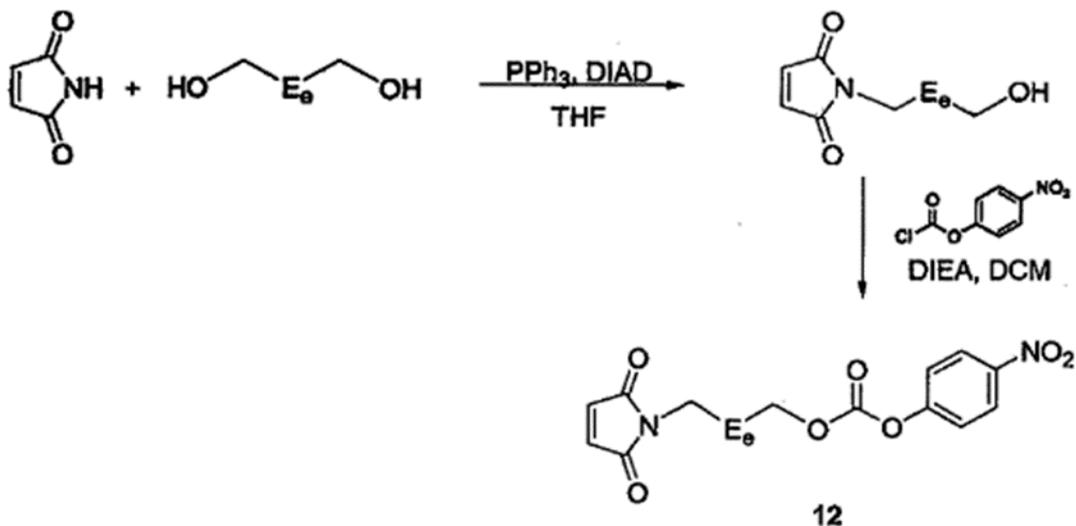


20

donde X es -CH₂- o -CH₂OCH₂-; t n es un número entero que varía en cualquiera de 0-10, siendo 5 en la invención, cuando X es -CH₂-; o 1-10, y 2 en la presente invención, cuando X es -CH₂OCH₂-.

El método que se muestra en el Esquema 3 de la presente divulgación combina maleimida con glicol en condiciones de Mitsunobu para preparar una Unidad ensanchadora de polietilenglicol (véase por ejemplo, Walker, J. Org. Chem. 1995, 60, 5352-5), seguido por la instalación de un grupo Sitio reactivo de carbonato de p-nitrofenilo.

Esquema 3



5

donde E es -CH₂- o -CH₂OCH₂-; y e es un número entero que varía entre 0-100. En algunas realizaciones, e es un número entero que varía entre 0-8. En otras realizaciones de la divulgación, e es un número entero que varía entre 0-10.

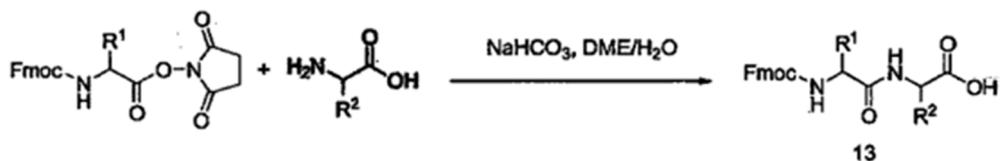
10

Como alternativa, las unidades ensanchadoras PEG-maleimida y PEG-haloacetamida se pueden preparar como se describe en Frisch et al., 1996, Bioconjugate Chem. 7:180-186.

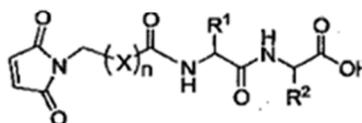
15

El Esquema 4 ilustra una síntesis general de una Unidad enlazadora ilustrativa que contiene un Grupo ensanchador de maleimida.

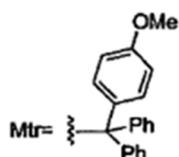
Esquema 4



1. dietilamina CH₂Cl₂
2. 11, DMF

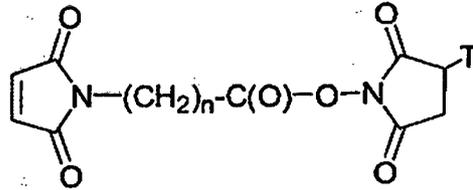


R¹ = bencilo; R² = (CH₂)₄NHMtr (15)
R¹ = isopropilo; R² = (CH₂)₃NHCONH₂ (16)

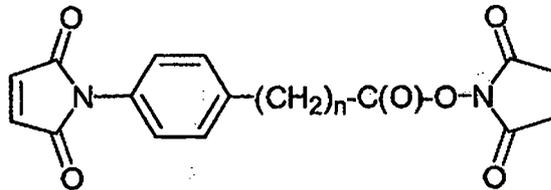


Las Unidades ensanchadoras se pueden incorporar al Enlazador usando los intermedios comerciales de Molecular Biosciences (Boulder, CO) descritos a continuación usando técnicas conocidas de síntesis orgánica.

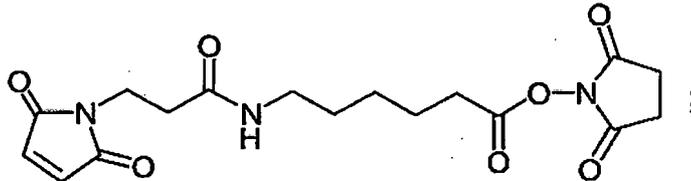
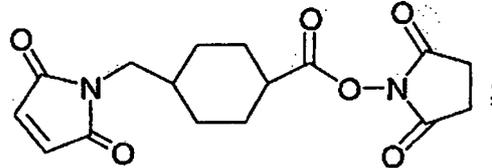
5 Los Ensanchadores de fórmula (IIIa) se pueden introducir en un Enlazador por reacción de los siguientes intermedios con el extremo N de una Unidad de aminoácido, como se representa gráficamente en los Esquemas 7 y 8:



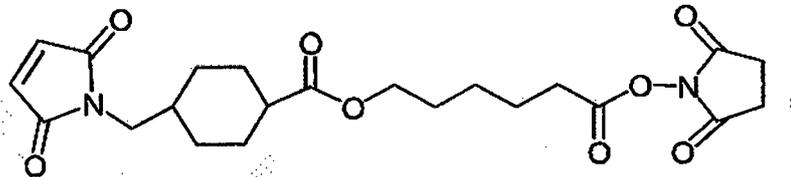
10 donde n es un número entero comprendido entre 1-10 y T es -H o -SO₃Na; siendo n 5 en la presente invención;



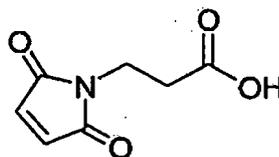
15 donde n es un número entero comprendido entre 0-3; que no forma parte de la presente invención;



20



y

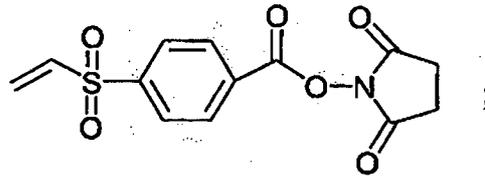


25

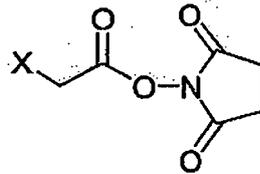
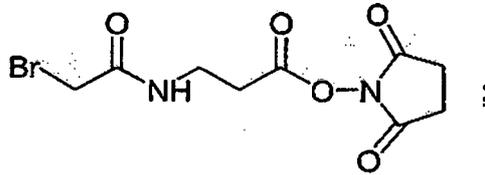
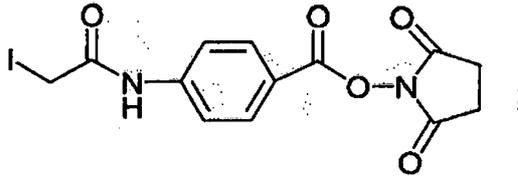
que no forma parte de la invención.

Las Unidades ensanchadoras de fórmula (IIIb) se pueden introducir en un Enlazador por reacción de los siguientes

compuestos intermedios con el extremo N de la unidad de aminoácido:

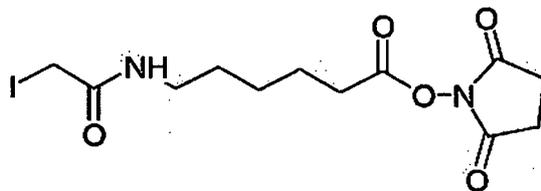


5



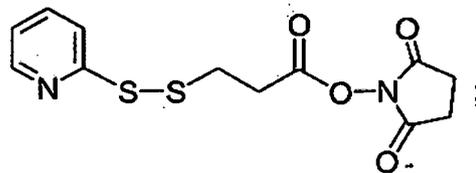
10

donde X es -Br o -I; y



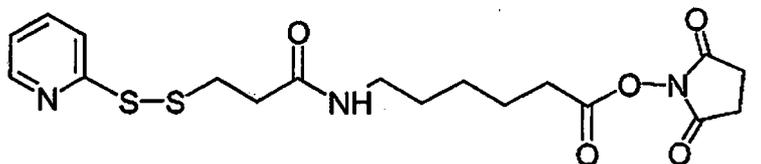
15 X= -Br en la presente invención.

Las Unidades ensanchadoras de formula (IV) se pueden introducir en un Enlazador de la presente divulgación por reacción de los siguientes compuestos intermedios con el extremo N de la unidad de aminoácido:



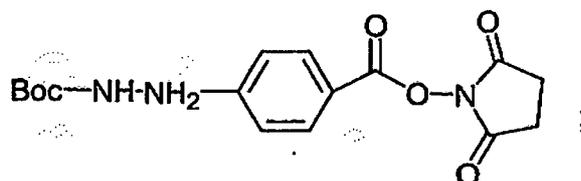
20

y

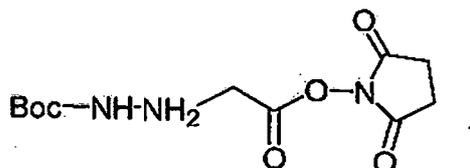


25

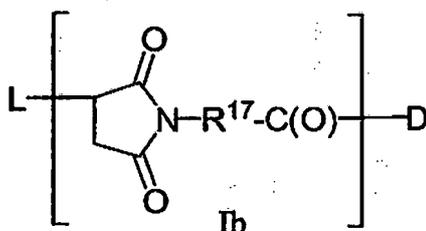
las Unidades ensanchadoras de fórmula (Va) de la presente divulgación se pueden introducir en un Enlazador por reacción de los siguientes compuestos intermedios con extremo N de la unidad de aminoácido:



5
y



- 10 Otros Ensanchadoras útiles de la presente divulgación se pueden sintetizar de acuerdo con procedimientos conocidos. Los Ensanchadores pueden tener la Fórmula general Ib



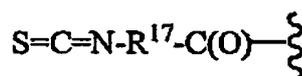
- 15 en la que R¹⁷ se selecciona entre -alquileo C₁-C₁₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -O-(alquilo C₁-C₈)-, -arileno-, -alquileo C₁-C₁₀-arileno, -arileno-alquileo C₁-C₁₀-, -alquileo C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquileo C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)-, -(heterociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -(CH₂CH₂O)_r, y -(CH₂CH₂O)_r-CH₂-; y r es un número entero que varía entre 1-100.

- 20 Los Ensanchadores de aminooxi de la fórmula que se muestra a continuación se pueden preparar tratando haluros de alquilo con N-Boc-hidroxilamina de acuerdo con los procedimientos descritos en Jones et al., 2000, *Tetrahedron Letters* 41 (10):1531-1533; y Gilon et al., 1967, *Tetrahedron* 23(11):4441-4447.



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

- 30 Las Unidades ensanchadoras de isotiocianato de la fórmula que se muestra a continuación se pueden preparar a partir de cloruros del ácido isotiocianatocarboxílico como se describe en *Angew. Chem.*, 1975, 87(14):517.



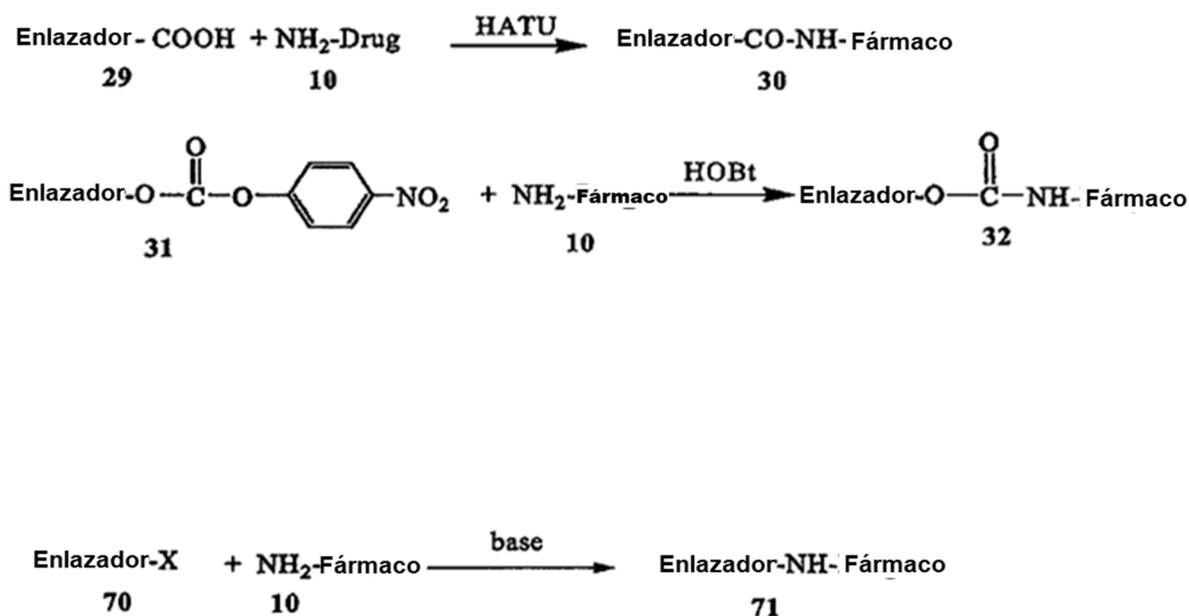
- 35 donde -R¹⁷- es como se describe en el presente documento.

- 40 Como se muestra en el Esquema 5, un Enlazador se puede hacer reaccionar con un grupo amino de un Compuesto de fármaco 10 para formar un Compuesto de fármaco-enlazador que contiene un grupo amida o carbamato, uniendo el Fármaco a la Unidad enlazadora. Cuando el Sitio reactivo n.º 1 es un grupo ácido carboxílico, como en el Enlazador 29, la reacción de acoplamiento se puede llevar a cabo usando HATU, DEPC o PyBrop y una base de amina adecuada, dando como resultado un Compuesto enlazador-fármaco 30, que contiene un enlace amida entre el Fármaco y la Unidad enlazadora. Cuando el Sitio reactivo n.º 1 es un carbonato, como en el Enlazador 31, el

Enlazador se puede acoplar al Fármaco usando HOBt en una mezcla de DMF/piridina para proporcionar un Compuesto de fármaco-enlazador 32, que contiene un enlace carbamato entre la Unidad de fármaco y la Unidad enlazadora.

- 5 Como alternativa cuando el Sitio reactivo n.º 1 es un buen grupo saliente, tal como en el Enlazador 70, el Enlazador se puede acoplar con un grupo amina de un Fármaco mediante un proceso de sustitución nucleófila para proporcionar un a Compuesto de fármaco-enlazador que tiene un enlace amina (71) entre la Unidad de fármaco y la Unidad enlazadora.
- 10 Para preparar un Fármaco-Enlazador donde el Fármaco es ácido libre, el enlace éster del Compuesto enlazador-fármaco 30, 31 o 71 se escinde. Los ésteres útiles, que se pueden escindir en condiciones ácidas incluyen *terc*-butil éster. El Fármaco 10a o un Fármaco-Enlazador cuando el Fármaco es un ácido libre se puede preparar a partir de los correspondientes ésteres de *terc*-butilo de acuerdo con el Procedimiento General I.
- 15 Los métodos ilustrativos útiles para unir un Fármaco a un Ligando para formar un Compuesto de fármaco-enlazador se representan gráficamente en el Esquema 5 y se detallan en los Procedimientos generales G-H.

Esquema 5



- 20 **Procedimiento General G: Formación de la amida usando HATU.** Un Fármaco 10 (1,0 equiv.) y un Enlazador protegido con N que contiene un Sitio reactivo de ácido carboxílico (1,0 equiv.) se diluyen con un disolvente orgánico adecuado, tal como diclorometano, y la solución resultante se trató con HATU (1,5 equiv.) y una base orgánica, preferentemente piridina (1,5 equiv.). La mezcla de reacción se dejó en agitación bajo atmósfera inerte, preferentemente argón, durante 6 h, tiempo durante el cual la mezcla de reacción se controló mediante HPLC. La mezcla de reacción se concentró y el residuo resultante se purificó mediante HPLC para proporcionar la amida 30.

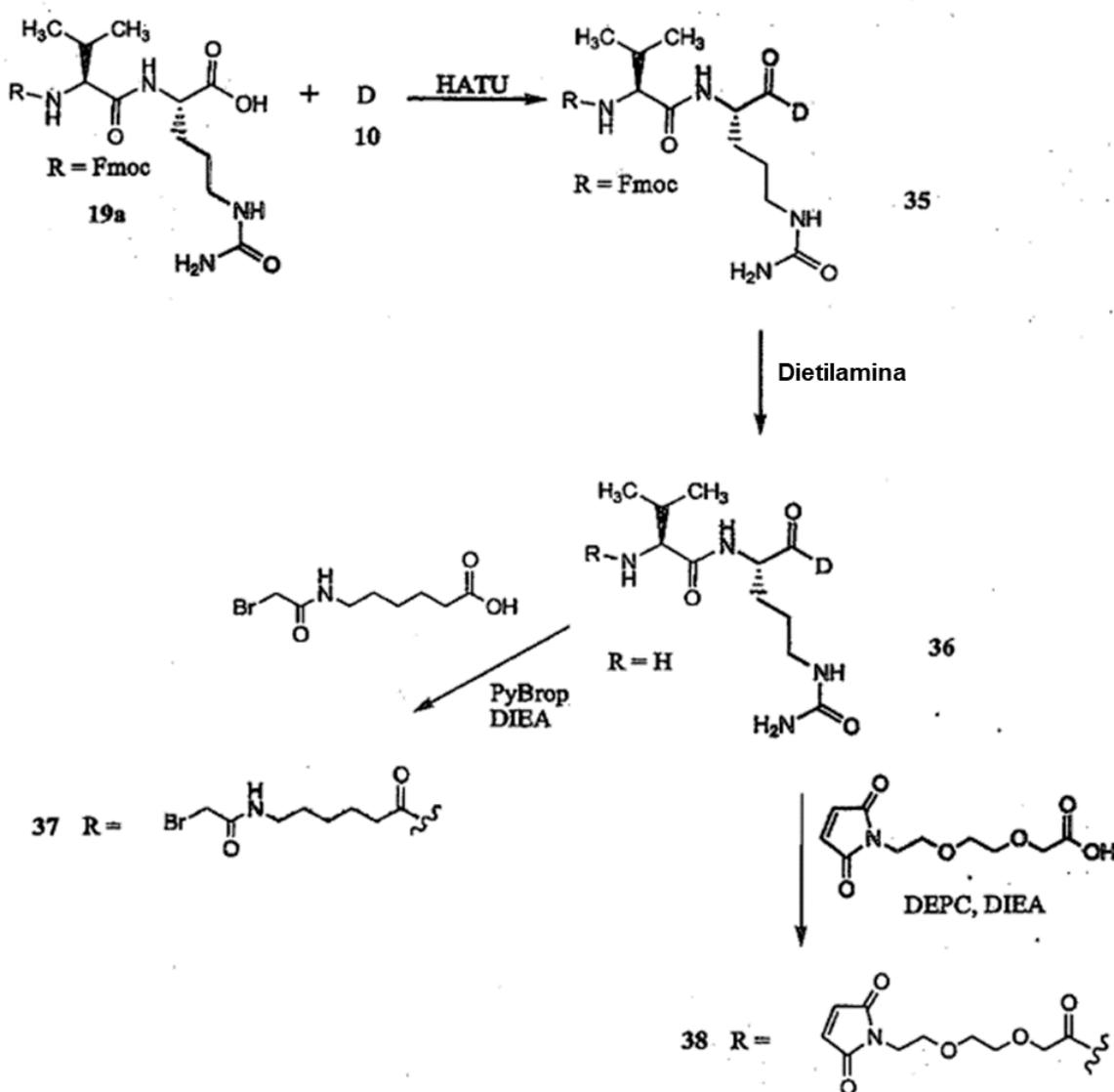
- 25 **Procedimiento H: Formación de carbamato usando HOBt.** Una mezcla de un Enlazador 31 que tiene un Sitio reactivo de carbonato de p-nitrofenilo (1,1 equiv.) y Fármaco 10 (1,0 equiv.) se diluyeron con un disolvente orgánico aprótico, tal como DMF, para proporcionar una solución que tiene una concentración de 50-100 mM, y la solución resultante se trató con HOBt (2,0 eq.) y se puso bajo atmósfera inerte, preferentemente argón. La mezcla de reacción se dejó agitando durante 15 min, a continuación una base orgánica, tal como piridinina (1/4 v/v), se añadió a lo anterior y el progreso de la reacción se controló mediante HPLC. El Enlazador se consumió normalmente en unas 16 h. A continuación, la mezcla de reacción se concentró al vacío, y el residuo resultante se purificó usando, por ejemplo, HPLC para producir el carbamato 32.

- 35 **Procedimiento General I: Escisión ácida del *terc*-butil éster.** Un Fármaco 10 o Enlazador-Fármaco-10 (100 mg) se suspendió en CH₂Cl₂ (4 ml), TFA (2 ml). La mezcla de reacción se dejó en agitación bajo atmósfera inerte, preferentemente argón, durante 2-4 h, tiempo durante el cual la mezcla de reacción se controló mediante HPLC. La reacción se completó de forma normalmente en 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con tolueno (20 ml), se

concentró al vacío. El residuo se evaporó simultáneamente con tolueno (2x10 ml) y se secó al vacío. El producto se purificó mediante RP-HPLC preparativa en caso necesario para producir el Fármaco **10a** o Enlazador-Fármaco **10a**.

- Un método alternativo para preparar el Compuesto de fármaco-enlazador se detalla en el Esquema 6. Usando el método del Esquema 6, el Fármaco se une a una Unidad enlazadora parcial (**19a**, por ejemplo), que no tiene una Unidad ensanchadora unida. Esto proporciona el intermedio **35**, que tiene una Unidad de aminoácido que tiene un extremo N protegido con Fmoc. A continuación, el grupo Fmoc se elimina y el intermedio de amina resultante **36** se une a continuación a una Unidad ensanchadora mediante una reacción de acoplamiento catalizada usando PyBrop o DEPC. La construcción de Compuestos de fármaco-enlazador que contienen bien una Unidad ensanchadora de bromoacetato **37** o una Unidad ensanchadora de PEG maleimida **38** se ilustra en el Esquema 6.

Esquema 6



- En los Compuestos conjugados, la carga del fármaco está representada por p, el número promedio de fármaco por Unidad de ligando (por ejemplo, un anticuerpo) en una molécula de Fórmula Ia. Para un anticuerpo, la carga del fármaco puede estar comprendida de 1 a 20 fármacos (D) por anticuerpo (por ejemplo Ab o mAb). Las composiciones de Fórmula I incluyen colecciones de anticuerpos conjugados con una gama de fármacos, de 1 a 20. El número promedio de fármacos por Unidad de ligando derivado de las reacciones de conjugación se puede caracterizar por medios convencionales tales como espectroscopía de UV/visible, espectrometría de masas, ensayo

ELISA y HPLC. También se puede determinar la distribución cuantitativa de los Compuestos conjugados en función de p. En algunos casos, la separación, purificación y caracterización de Compuestos conjugados homogéneos, donde p tiene un valor determinado, a partir de Compuestos conjugados con otras cargas de fármaco se puede conseguir por medios tales como HPLC de fase inversa o electroforesis.

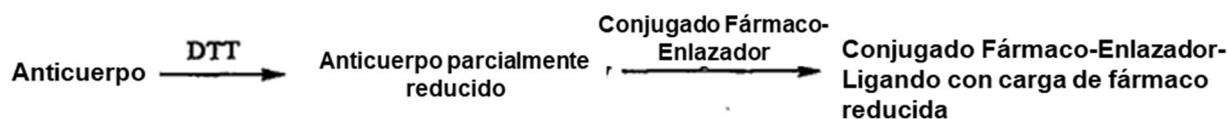
Para algunos Compuesto conjugados, p puede estar limitado por el número de sitios de unión en el Ligando. Por ejemplo, cuando la unión se realiza en un tiol de la cisteína, un anticuerpo puede tener solo uno o algunos grupos tiol de la cisteína, o puede tener solo uno o varios grupos tiol suficientemente reactivos a través de los cuales se puede unir un enlazador.

Por lo general, se conjugan menos que el máximo teórico de restos de fármaco con un Ligando durante una reacción de conjugación. Un anticuerpo puede contener, por ejemplo, muchos restos lisina que no reaccionan con el intermedio fármaco-enlazador o el reactivo enlazador. Solo los grupos lisina más reactivos pueden reaccionar con un reactivo enlazador que reacciona con aminas. En general, los anticuerpos no contienen muchos, en su caso, grupos tioles de cisteína libres y reactivos que se puedan unir al resto de fármaco. La mayoría de restos tiol de la cisteína en los anticuerpos se encuentran como puentes disulfuro y deben reducirse con un agente reductor tal como ditioneitol (DTT). Además, el anticuerpo debe someterse a condiciones de desnaturalización para revelar grupos nucleófilos reactivos tales como lisina o cisteína. La carga (relación fármaco/anticuerpo) de un conjugado de anticuerpo y fármaco puede controlarse de varias maneras diferentes, incluyendo: (i) limitar el exceso molar del intermedio fármaco-enlazador o reactivo enlazador con respecto al anticuerpo, (ii) limitar el tiempo de la reacción de conjugación o la temperatura, y (iii) limitar de forma parcial o limitar las condiciones reductoras para la modificación del tiol de la cisteína.

Se deberá entender que cuando más de un grupo nucleófilo reacciona con un intermedio de fármaco-enlazador, o reactivo enlazador seguido por el reactivo del resto de fármaco, a continuación el producto resultante es una mezcla de compuestos con una distribución de uno o más restos de fármaco unidos a un anticuerpo. El número promedio de fármacos por anticuerpo se puede calcular a partir de la mezcla mediante un ensayo de anticuerpos ELISA doble, específico para anticuerpos y específico para el fármaco. Las moléculas individuales pueden identificarse en la mezcla mediante espectroscopía de masas, y separarse mediante HPLC, por ejemplo, cromatografía de interacción hidrófoba ("Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate", Hamblett, K.J., et al, Resumen N.º 624, American Association for Cancer Research; Reunión Anual de 2004, 27-31 de marzo de 2004, Proceedings of the AACR, Volumen 45, marzo de 2004; "Controlling the Location of Drug Attachment en Antibody-Drug Conjugates", Alley, S.C., et al, Resumen N.º 627, American Association for Cancer Research; Reunión Anual de 2004, 27-31 de marzo de 2004, Proceedings of the AACR, Volumen 45, marzo de 2004; Hamblett et al., 2004, Clin Cancer Res. 10(20):7063-70). Por lo tanto, se puede aislar un ADC homogéneo con un único valor de carga de la mezcla de conjugación mediante electroforesis o cromatografía.

El Esquema 7 ilustra metodología útil para preparar Compuestos conjugados que tienen de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 fármacos por Ligando, donde el Ligando incluye un Anticuerpo.

Esquema 7



Reducción y conjugación de un Fármaco-Enlazador con un anticuerpo parcialmente reducido se describe en PCT/US03/24209 y PCT/US05/07239. Otros métodos para sintetizar Compuestos conjugados y elementos de los mismos se divulga en la publicación estadounidense n.º 2005-0238649.

Ensayos de actividad para los Compuestos conjugados y los Compuestos de fármacos

Los animales transgénicos y las líneas de células son particularmente útiles en el cribado de Compuestos conjugados que tienen potencial como tratamientos profilácticos o terapéuticos de enfermedades o trastornos que implican la expresión en exceso de proteínas. El cribado de Compuestos conjugados útiles puede implicar la administración de uno o varios Compuestos conjugados candidatos para una gama de dosis al animal transgénico en varios puntos temporales para evaluar uno o varios efectos de los Compuestos conjugados sobre la enfermedad o trastorno a evaluar. De forma adicional o alternativa, el fármaco se puede administrar antes de o de manera simultánea con exposición a un inductor de la enfermedad, cuando proceda. Los Compuestos conjugados candidatos pueden cribarse en serie e individualmente, o en paralelo en medio o formato de cribado de alto rendimiento. La velocidad a la cual se pueden cribar los Compuestos conjugados para determinar la utilidad de los tratamientos profilácticos o terapéuticos de enfermedades o trastornos está limitada solo por la velocidad de síntesis o la metodología de cribado, incluyendo la detección/medida/análisis de los datos.

Una realización es un método de cribado que comprende (a) trasplantar células de una línea celular estable de cáncer (por ejemplo, una línea celular de cáncer de células renales) en un animal no humano, (b) administrar un Compuesto conjugado candidato al animal no humano y (c) determinar la capacidad del candidato de inhibir la formación de tumores procedentes de la línea de células trasplantadas.

5 Otra realización es un método de cribado que comprende (a) poner en contacto células de una línea de células de enfermedad de Hodgkin con un Compuesto conjugado candidato y (b) evaluar la capacidad del candidato de bloquear la actividad del ligando de CD40.

10 Otra realización es un método de cribado que comprende (a) poner en contacto células de una línea celular de enfermedad de Hodgkin estable con un Compuesto conjugado candidato y (b) evaluar la capacidad del candidato de inducir la muerte celular. En una realización, se evalúa la capacidad del candidato para inducir la apoptosis.

15 - Una realización es un método de cribado que comprende (a) trasplantar células de una línea celular estable de cáncer en un animal no humano, (b) administrar un Compuesto conjugado candidato al animal no humano, y (c) determinar la capacidad del candidato de inhibir la formación de tumores procedentes de la línea de células trasplantadas.

20 Otra realización es un método de cribado que comprende (a) poner en contacto células de una línea de células de cáncer con un Compuesto conjugado candidato y (b) evaluar la capacidad del candidato de bloquear la actividad de una molécula diana.

25 Otra realización es un método de cribado que comprende (a) poner en contacto células de una línea celular de cáncer estable con un Compuesto conjugado candidato y (b) evaluar la capacidad del candidato de inducir la muerte celular. En una realización, se evalúa la capacidad del candidato para inducir la apoptosis.

30 En una realización, se cribaron los os Compuestos conjugados candidatos administrándose al animal transgénico en un intervalo de dosis, y se evaluó la respuesta fisiológica del animal a los compuestos en el tiempo. La administración puede ser oral, o mediante inyección adecuada, Dependiendo de la naturaleza química del compuesto que se está evaluando. En algunos casos, puede ser adecuado administrar el compuesto junto con cofactores que potenciarían la eficacia del compuesto. Si se usan las líneas de células derivadas de los animales transgénicos sujeto para cribar los compuestos útiles para tratar diversos trastornos, se añaden los compuestos de ensayo al medio de cultivo celular en un momento adecuado, y se evalúa la respuesta celular al compuesto en el tiempo utilizando los ensayos bioquímicos y/o histológicos adecuados. En algunos casos, puede ser adecuado aplicar el compuesto de interés al medio de cultivo junto con cofactores que potenciarían la eficacia del compuesto.

40 Por lo tanto, se proporcionan en el presente documento ensayos para identificar os Compuestos conjugados que se dirige específicamente y se une a una proteína diana, cuya presencia está correlacionada con función celular anómala, y en la patogénesis de la proliferación y/o la diferenciación celular que está causalmente relacionada con el desarrollo de tumores.

45 Para identificar los compuestos inhibidores del crecimiento que se dirigen específicamente a un antígeno de interés, se pueden cribar compuestos que inhiben el crecimiento de células cancerosas que expresan en exceso el antígeno de interés derivado de animales transgénicos. En algunas realizaciones, se puede llevar a cabo el ensayo descrito en la patente de Estados Unidos n.º 5.677.171. De acuerdo con este ensayo, las células cancerosas que expresan en exceso el antígeno de interés se hacen crecer en una mezcla 1:1 de F12 y medio DMEM suplementado con suero de feto de bovino al 10 %, glutamina y penicilina estreptomycin. Las células se siembran en placas a 20.000 células en una placa de cultivo celular de 35 mm (placa de 2 ml/35 mm) y se añade el compuesto de ensayo a diversas concentraciones. Después de seis días, se cuenta el número de células, en comparación con las células no tratadas usando un contador de células COULTER® electrónico. Se pueden seleccionar aquellos compuestos que inhiben el crecimiento celular en aproximadamente 20 -100 % o aproximadamente 50-100 % como compuestos inhibidores del crecimiento.

55 Para seleccionar los compuestos que inducen la muerte celular, se puede evaluar la pérdida de la integridad de membrana como se indica mediante, por ejemplo, PI, azul tripán o 7AAD con respecto al control. El ensayo de captación de PI utiliza células aisladas del tejido tumoral de interés de un animal transgénico. De acuerdo con este ensayo, las células se cultivan en medio Eagle modificado por Dulbecco (D-MEM):F-12 de Ham (50:50) suplementado con FBS inactivado térmicamente al 10 % (Hyclone) y L-glutamina 2 mM, Por lo tanto, el ensayo se lleva a cabo en ausencia de complemento y células inmunoefectoras. Se sembraron las células a una densidad de 3 x 10⁶ por placa en placas de 100 x 20 mm y se dejó que se unieran durante la noche. A continuación se retiró el medio y se sustituyó con medio reciente solo o medio que contenía diversas concentraciones del compuesto. Se incubaron las células durante un periodo de tiempo de 3 días. Tras cada tratamiento, las monocapas se lavan con PBS y se separan mediante tripsinización. A continuación las células se centrifugaron a 1200 RPM durante 5 minutos a 4 °C, el aglomerado se resuspendió en 3 ml de tampón de unión a Ca²⁺ frío (Hepes 10 mM, pH 7,4, NaCl 140 mM, CaCl₂ 2,5 mM) y se distribuyeron en alícuotas en tubos de 12 x 75 mm con un tapón de filtro de 35 mm (1 ml por tubo, 3 tubos por grupo de tratamiento) para la eliminación de los grupos de células. A continuación los

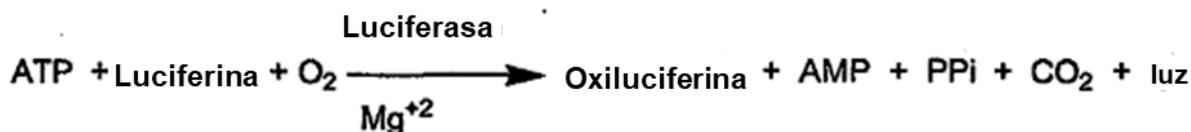
tubos reciben IP (10 µg/ml). Las muestras se pueden analizar usando un citómetro de flujo FACSCAN® y el programa informático FACSCONVERT® CellQuest (Becton Dickinson). Aquellos compuestos que inducen niveles estadísticamente significativos de muerte celular, como se determina por la captación de IP pueden seleccionarse como anticuerpos inductores de muerte celular.

5 Para seleccionar los compuestos que inducen la apoptosis, se llevó a cabo un ensayo de unión a anexina utilizando células establecidas procedentes del tejido tumoral de interés del animal transgénico. Las células se cultivaron y sembraron en placas como se ha analizado en el párrafo anterior. El medio se retira después y se reemplaza con medio nuevo solo o medio que contiene 10 µg/ml del Compuesto conjugado. Tras un periodo de incubación de tres días, las monocapas se lavan con PBS y se separan mediante tripsinización. Las células se centrifugan a continuación, se resuspenden en tampón de unión con Ca²⁺ y se distribuyen en alícuotas en tubos como se ha analizado anteriormente para el ensayo de muerte celular. Los tubos reciben después anexina marcada (por ejemplo anexina V-FTIC) (1 µg/ml). Las muestras se pueden analizar usando el citómetro de flujo FACSCAN® y el programa informático FACSCONVERT® CellQuest (Becton Dickinson). Los compuestos que inducen niveles estadísticamente significativos de unión a anexina en relación con el control se seleccionan como anticuerpos inductores de la apoptosis.

20 En general, la actividad citotóxica o citostática de un Compuesto conjugado se mide: exponiendo las células de mamífero que tenían proteínas receptoras al Ligando (por ejemplo, un anticuerpo) del Compuesto conjugado en un medio de cultivo celular; cultivando las células durante un periodo de aproximadamente 6 horas a aproximadamente 5 días; y midiendo la viabilidad celular. Se usaron los ensayos *in vitro* basados en células para medir la viabilidad (proliferación), citotoxicidad, e inducción de la apoptosis (activación de la caspasa) mediante uno o varios Compuestos conjugados.

25 La potencia de los Compuestos conjugados se puede medir *in vitro* mediante un ensayo de proliferación celular. El ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® es un método de ensayo homogéneo comercialmente disponible (Promega Corp., Madison, WI), basado en la expresión recombinante de la luciferasa en Coleoptera (patente de Estados Unidos con números 5.583.024; 5.674.713 y 5.700.670). Este ensayo de proliferación celular determina el número de células viables en un cultivo basándose en la cuantificación del ATP presente, un indicador de las células metabólicamente activas (véanse, por ejemplo, Crouch et al., 1993, J. Immunol. Meth. 160:81-88; patente de Estados Unidos n.º 6,602,677). Se puede realizar el ensayo CellTiter-Glo® en un formato de 96 pocillos, convirtiéndolo en adecuado para un cribado automatizado de alto rendimiento (HTS) (véase, por ejemplo, Cree et al., 1995, AntiCancer Drugs 6:398-404). El procedimiento de ensayo homogéneo implica añadir el reactivo individual (CellTiter-Glo® Reagent) directamente a células cultivadas en medio suplementado con suero. No se requiere el lavado de las células, la retirada del medio y múltiples etapas de pipeteado. El sistema detecta tan poco como 15 células/pocillo en un formato de 384 pocillos en 10 minutos después de añadir el reactivo y mezclar. Las células se pueden tratar de manera continua con el Compuesto conjugado, o se pueden tratar y separar del Compuesto conjugado. En general, las células tratadas de forma breve, es decir, 3 horas, mostraron los mismos efectos de potencia que las células tratadas de forma continua.

40 El formato de "adición-mezcla-medida" da como resultado la lisis celular y la generación de una señal luminiscente proporcional a la cantidad de ATP presente. La cantidad de ATP es directamente proporcional al número de células presentes en el cultivo. El ensayo CellTiter-Glo® genera una señal luminiscente de "tipo brillo", producida por la reacción de la luciferasa, que tiene una vida media generalmente mayor de cinco horas, dependiendo del tipo de célula y del medio utilizados. Las células viables se reflejan en unidades de luminiscencia relativas (ULR). El sustrato, luciferina de escarabajo, se decarboxila oxidativamente por la luciferasa de luciérnaga recombinante con conversión simultánea de ATP a AMP y generación de fotones. La vida media extendida elimina la necesidad de usar inyectores de reactivos y proporciona flexibilidad para el procesamiento en modo continuo o discontinuo de múltiples placas. Se puede usar este ensayo de proliferación celular con diversos formatos multipocillo, por ejemplo, un formato de 96 o 384 pocillos; Se pueden registrar los datos mediante un luminómetro o un dispositivo de formación de imágenes de una cámara CCD. La salida de la luminiscencia se presenta como unidades de luz relativa (ULR), medida en el tiempo.



55 *Composiciones farmacéuticas*

60 Se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco y un soporte o un vehículo farmacéuticamente aceptables. Las composiciones son adecuadas para su administración veterinaria o humana. También se proporciona el uso de un Compuesto conjugado o Compuesto de

fármaco en la preparación de un medicamento.

5 Las actuales composiciones farmacéuticas pueden estar en cualquier forma que permita que la composición se administre a un paciente. Por ejemplo, la composición puede estar en la forma de un sólido, líquido o gas (aerosol), tal como una solución, suspensión, emulsión, comprimido, píldora, aglomerados, cápsula, cápsula que contiene líquidos, polvo, formulaciones de liberación continua, supositorio, pulverizaciones, o cualquier otra forma adecuada para su uso. Otros ejemplos de portadores farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E.W. Martin.

10 Las rutas de administración típicas incluyen, aunque no de forma limitativa, parenteral, oral, tópica, sublingual, rectal, vaginal, ocular, intratumoral, e intranasal. La administración parenteral incluye inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, inyección intraesternal o técnicas de infusión. En un aspecto, las composiciones se administran por vía parenteral. En otro aspecto adicional, las composiciones se administran por vía intravenosa.

15 Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de tal manera que permitan a un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco estar biodisponible tras la administración de la composición a un paciente. Los materiales utilizados en la preparación de las composiciones farmacéuticas pueden no ser tóxicos en las cantidades usadas. Será evidente para una persona normalmente experta en la materia que la dosificación óptima del principio o principios activos en la composición farmacéutica dependerá de varios factores. Los factores relevantes incluyen, aunque no de forma limitativa, el tipo de animal (por ejemplo, ser humano), la forma concreta del Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco, la manera de administración, y la composición empleada.

20 En algunas realizaciones, la composición está en la forma de un líquido, por ejemplo, una emulsión, solución, solución, elixir y jarabe. En una composición para su administración mediante inyección se puede incluir, uno o más de un tensioactivo, conservante, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión, un tampón, estabilizante y agente isotónico. El líquido puede ser útil para la administración oral o para la administración mediante inyección.

30 Las composiciones líquidas, ya sean soluciones, suspensiones u otra forma similar, pueden incluir también uno o más de los siguientes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferentemente suero salino fisiológico, solución de Ringer, cloruro de sodio isotónico, aceites fijos tales como monoglicéridos o diglicéridos sintéticos que pueden servir como medio disolvente o de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, ciclodextrina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabeno; antioxidantes, tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminatetraacético; tampones, tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa. La composición parenteral se puede introducir en una ampolla, una jeringa desechable o un vial multidosis hecho de vidrio; plástico u otro material. El suero salino fisiológico es un adyuvante ilustrativo. Una composición inyectable es, preferentemente, estéril.

40 Cuando se pretende para la administración oral, la composición está preferentemente en forma sólida o líquida, donde las formas semisólidas, semilíquidas, en suspensión y en gel se incluyen en las formas consideradas en el presente documento ya sea como sólido o como líquido. Cuando se pretende para la administración oral, una composición puede comprender uno o más de un agente edulcorante, conservantes, tinte/colorante y un potenciador del aroma.

45 Como composición sólida, la composición puede formularse en un polvo, gránulos, comprimido formado por compresión, píldora, cápsula, gomas de mascar, forma de oblea. Dicha composición sólida contiene normalmente uno o más diluyentes inertes. Además, pueden estar presentes uno o más de los siguientes: aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina, o gelatina; excipientes tales como almidón, lactosa o dextrinas, agentes disgregantes tales como ácido alginico, alginato de sodio, Primogel, almidón de maíz, lubricantes tales como estearato de magnesio o Sterotex; agente deslizantes tales como dióxido de silicio coloidal; agente edulcorantes tales como sacarosa o sacarina, un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja, y un agente colorante.

50 Cuando la composición está en la forma de una cápsula, por ejemplo, una cápsula de gelatina, esta puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un vehículo líquido tal como polietilenglicol, ciclodextrina o un aceite graso.

60 La cantidad de Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco que es eficaz en el tratamiento de un trastorno o dolencia concreto dependerá de la naturaleza del trastorno o dolencia, y se puede determinar mediante técnicas clínicas normalizadas. Además, se pueden utilizar de manera opcional ensayos *in vitro* o *in vivo* para ayudar a identificar los intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa que se empleará en las composiciones dependerá también de la ruta de administración, y la gravedad de la enfermedad o trastorno, y deberá decidirse de acuerdo con el criterio del especialista a cargo del tratamiento y de las circunstancias del paciente.

65 Las composiciones comprenden una cantidad eficaz de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco de tal manera que se obtenga una dosificación adecuada. Por lo general, esta cantidad es al menos aproximadamente un

0,01 % de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco en peso de la composición. Cuando se pretende para la administración oral, esta cantidad puede variarse para comprender de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 80 % en peso de la composición. En un aspecto, las composiciones orales pueden comprender de aproximadamente 4 % a aproximadamente 50 % de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco en peso de la composición. En otro aspecto adicional, las presentes composiciones se preparan de tal manera que una unidad de dosificación parenteral contenga de al menos aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 2 % en peso del compuesto.

Para administración intravenosa, la composición puede comprender de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco por kg de peso corporal del animal. En un aspecto, la composición puede incluir de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco por kg de peso corporal del animal. En otro aspecto, la cantidad administrada puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal del Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco.

En general, la dosificación de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 2000 mg/kg de peso corporal del animal. En un aspecto, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal del animal. En otro aspecto, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 250 mg/kg del peso corporal del animal. En otro aspecto adicional, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 20 mg/kg del peso corporal del animal. En otro aspecto adicional, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 15 mg/kg del peso corporal del animal, En otro aspecto adicional, la dosificación administrada está entre aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg del peso corporal del animal; y en otro aspecto adicional, la dosificación administrada está entre aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del animal.

El Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco o las composiciones pueden administrarse mediante cualquier ruta conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en embolada, por absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.). La administración puede ser sistémica o local. Se conocen varios sistemas de administración, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, cápsulas, etc., y se puede usar para administrar un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco.

En determinadas realizaciones, se administra más de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco a un paciente.

En realizaciones específicas, puede ser deseable administrar uno o más Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco localmente en el área en necesidad de tratamiento. Esto puede lograrse, por ejemplo, y no a modo de limitación, por infusión local durante una cirugía; aplicación tópica, por ejemplo, junto con un apósito para heridas después de la cirugía; mediante inyección; mediante un catéter; mediante un supositorio; o mediante un implante, siendo el implante un material poroso, no poroso, o gelatinoso, incluyendo membranas, tales como membranas sialásticas, o fibras. En una realización, la administración puede ser mediante inyección directa en el sitio (o sitio anterior) de un cáncer, tumor o tejido neoplásico o preneoplásico. En otra realización, la administración puede ser mediante inyección directa en el sitio (o sitio anterior) de una manifestación de una enfermedad autoinmunitaria.

En determinadas realizaciones, puede ser deseable introducir uno o más Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco en el sistema nervioso central mediante cualquier ruta adecuada, incluyendo inyección intraventricular e intratecal. La inyección intraventricular puede facilitarse mediante un catéter intraventricular, por ejemplo, unido a un depósito, tal como un depósito Ommaya.

Se puede emplear también la administración pulmonar, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y formulación con un agente aerosolizante, o mediante perfusión en un tensioactivo pulmonar de fluorocarbono o sintético.

En otra realización más, el Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco pueden administrarse en un sistema de liberación controlada, tal como una bomba o bien se pueden utilizar diferentes materiales poliméricos. En otra realización más, se puede colocar un sistema de liberación controlada próximo a la diana del Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco, por ejemplo, el cerebro, requiriendo por tanto solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, en *Medical Applications of Controlled Release*, citado anteriormente, vol. 2, págs. 115-138 (1984)). Se pueden utilizar otros sistemas de liberación controlada descritos en la revisión de Langer (*Science* 249:1527-1533 (1990)).

El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante o excipiente, con el que se administra un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco. Dichos vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos, tales como agua y aceites, incluidos aquellos de origen en el petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete,

aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo. Los vehículos pueden ser suero salino, goma de acacia, gelatina, pasta de almidón, talco, queratina, sílice coloidal, urea. Además, se pueden usar agentes auxiliares, estabilizantes, espesantes, lubricantes y colorantes. En una realización, cuando se administran a un paciente, el Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco y los vehículos farmacéuticamente aceptables son estériles. El agua es un vehículo ilustrativo cuando el Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco se administra por vía intravenosa. Se pueden emplear también soluciones salinas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Los vehículos farmacéuticos adecuados también incluyen excipientes, tales como almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, creta, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol. Las presentes composiciones, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes tamponadores del pH.

En una realización, el Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco se formulan de acuerdo con los procedimientos rutinarios como una composición farmacéutica adaptada para la administración intravenosa a animales, especialmente seres humanos. Por lo general, los soportes o los vehículos para administración intravenosa son soluciones acuosas estériles tamponadas. Si es necesario, las composiciones también pueden incluir un agente solubilizante. Las composiciones para administración intravenosa pueden comprender opcionalmente un anestésico local tal como lignocaina para disminuir el dolor en el sitio de la inyección. En general, los ingredientes se suministran tanto por separado o se mezclan conjuntamente en forma de dosis unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o concentrado exento de agua en un recipiente herméticamente cerrado tal como una ampolla o sobrecillo que indica la cantidad de principio activo.

Cuando un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco se va a administrar mediante infusión, se puede dispensar, por ejemplo, con un frasco para infusión que contiene agua estéril de calidad farmacéutica o suero salino. Cuando el Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco se va a administrar mediante inyección, se puede proporcionar una ampolla de agua estéril o suero salino para que los componentes se mezclen antes de la administración.

Las composiciones para la administración oral pueden estar en la forma de comprimidos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, gránulos, polvos, emulsiones, cápsulas, jarabes o elixires, por ejemplo. Las composiciones administradas por vía oral pueden contener opcionalmente uno o más agentes, por ejemplo, agentes edulcorantes tales como fructosa, aspartame o sacarina; agentes aromatizantes tales como menta piperita, aceite de gaulteria o cereza; agentes colorantes; y agentes conservantes, para proporcionar una preparación farmacéutica agradable al paladar. Por otra parte, cuando están en forma de comprimido o píldora, las composiciones pueden revestirse para retrasar la disgregación y la absorción en el tracto gastrointestinal proporcionando por tanto una acción sostenida durante un periodo prolongado de tiempo.

Las membranas selectivamente permeables que rodean un compuesto impulsor osmóticamente activo también son adecuadas para compuestos de la invención administrados por vía oral. En estas últimas plataformas, el fluido del entorno que rodea la cápsula se absorbe por el compuesto impulsor, que se hincha para desplazar el agente o composición de agente a través de una apertura. Estas plataformas de suministro pueden proporcionar un perfil de liberación de orden prácticamente cero en oposición a los perfiles enriquecidos de las formulaciones de liberación inmediata. Se puede usar también un material de retraso en el tiempo tal como monoestearato de glicerol o estearato de glicerol.

Se pueden pretender las composiciones para la administración tópica, en cuyo caso, el vehículo puede estar en la forma de una solución, emulsión, pomada o base de gel. Si se pretenden para administración transdérmica, la composición puede estar en la forma de un parche transdérmico o un dispositivo de iontoforesis. Las formulaciones tópicas pueden comprender una concentración de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 50 % p/v (peso por unidad de volumen de la composición), en otro aspecto, de 0,1 % a 10 % p/v.

Se puede pretender la composición para la administración rectal, en la forma, por ejemplo, de un supositorio que se funde en el recto y libera ilustrativo el Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco.

La composición puede incluir varios materiales que modifican la forma fisiológica de una forma farmacéutica sólida o líquida; Por ejemplo, la composición puede incluir materiales que constituyen una envoltura de revestimiento alrededor de los principios activos. Los materiales forman la envoltura de revestimiento son normalmente inertes, y se pueden seleccionar entre, por ejemplo, azúcar, laca, y otros agentes de revestimiento entéricos. Como alternativa, los principios activos se pueden incluir en una cápsula de gelatina.

Las composiciones pueden consistir en dosis unitarias gaseosas, por ejemplo, pueden estar en la forma de un aerosol. El término aerosol se utiliza para indicar diversos sistemas que varían desde aquellos de naturaleza coloidal a sistemas que consisten en envases presurizados. La administración puede ser mediante un gas licuado o comprimido o mediante un sistema de bomba adecuado que dispense los principios activos.

El Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco son útiles para tratar el cáncer, una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad infecciosa u otra enfermedad o trastorno en un paciente.

5 En algunas realizaciones, los Compuestos conjugados y los Compuestos de fármacos son útiles para inhibir la multiplicación de una célula tumoral o de una célula cancerosa, produciendo la apoptosis en una célula tumoral o cancerosa, o para tratar el cáncer en un paciente. Los Compuestos conjugados y/o Compuestos de fármacos se pueden usar de acuerdo con ello en varios escenarios para el tratamiento de cánceres animales. Los Compuestos conjugados se pueden utilizar para suministrar un fármaco o unidad de fármaco a una célula tumoral o célula cancerosa. Sin pretender quedar vinculado por teoría alguna, en una realización, la Unidad de ligando de un
10 Compuesto conjugado se une a o se asocia con una célula cancerosa o un antígeno asociado a una célula tumoral, y el Compuesto conjugado se puede capturar (internalizar) en el interior de una célula tumoral o una célula cancerosa mediante endocitosis mediada por receptor. El antígeno puede unirse a una célula tumoral o célula cancerosa o puede ser una proteína de la matriz extracelular asociada con la célula tumoral o célula cancerosa. Una vez dentro de la célula, una o más secuencias específicas de péptido dentro de la Unidad enlazadora se escinden hidrolíticamente mediante una o más proteasas asociadas a una célula tumoral o célula cancerosa, dando como resultado la liberación de un Fármaco, un Compuesto enlazador-fármaco o un Fragmento fármaco-enlazador (que pueden incluir una porción de la Unidad de ligando). El Fármaco, Fármaco-enlazador o Fragmento fármaco-enlazador queda libre a continuación para migrar al interior de la célula e inducir actividades citotóxicas o citostáticas. En una realización alternativa, el Fármaco o Unidad de fármaco se escinde del Compuesto conjugado
20 fuera de la célula tumoral o célula cancerosa, y el Fármaco o Compuesto de fármaco-enlazador, Compuesto enlazador-fármaco o Fragmento fármaco-enlazador posteriormente penetra en la célula.

En una realización, la unidad de ligando se une a la célula tumoral o célula cancerosa.

25 En otra realización, la unidad de ligando se une a un antígeno de una célula tumoral o célula cancerosa que se encuentra en la superficie de la célula tumoral o célula cancerosa.

En otra realización, la unidad de ligando se une a un antígeno de una célula tumoral o célula cancerosa que es una proteína de la matriz extracelular asociada con la célula tumoral o célula cancerosa.

30 La especificidad de la unidad de ligando por una célula tumoral o célula cancerosa concreta puede ser importante para determinar los tumores o cánceres que se tratan de la manera más eficaz. Por ejemplo, los Compuestos conjugados que tienen una Unidad de ligando BR96 pueden ser útiles para tratar carcinomas positivos para antígenos entre los que se incluyen los de hígado, pulmón, mama, colon, ovarios, recto, y páncreas. Los
35 Compuestos conjugados que tienen una Unidad de ligando contra CD30, CD33, CD19, o CD40 pueden ser útiles para tratar neoplasias hematológicas malignas.

Otros tipos particulares de cánceres que se pueden tratar con el uno o varios Compuestos conjugados o Compuestos de fármaco incluyen los divulgados en la Tabla 1.

40

TABLA 1

45 Tumores sólidos, incluyendo:
sarcoma
fibrosarcoma
mixosarcoma
liposarcoma
condrosarcoma
50 sarcoma osteogénico
cordoma
angiosarcoma
endoteliosarcoma
linfangiosarcoma
linfangioendoteliosarcoma
55 sinovioma
mesotelioma
tumor de Ewing
leiomioma
rabdomioma
60 cáncer de colon
cáncer colorrectal
cáncer de riñón
cáncer de páncreas
cáncer de hueso
65 cáncer de mama
cáncer de ovario

	cáncer de próstata
	cáncer de esófago
	cáncer de estómago (por ejemplo, cáncer gastrointestinal)
5	cáncer oral
	cáncer nasal
	cáncer de garganta
	carcinoma de células escamosas (por ejemplo, del pulmón)
10	carcinoma de células basales
	adenocarcinoma (por ejemplo, del pulmón)
	carcinoma de las glándulas sudoríparas
	carcinoma de las glándulas sebáceas
	carcinoma papilar
	adenocarcinomas papilares
15	cistadenocarcinoma
	carcinoma medular
	carcinoma broncogénico
	carcinoma de células renales
	hepatoma
20	carcinoma del conducto biliar
	coriocarcinoma
	seminoma
	carcinoma embrionario
	tumor de Wilms
25	cáncer de cuello de útero
	cáncer de útero
	cáncer de testículos
	carcinoma de pulmón microcítico
	carcinoma de vejiga
30	cáncer de pulmón
	cáncer de pulmón no microcítico
	carcinoma epitelial
	glioma
	glioblastoma multiforme
35	astrocitoma
	meduloblastoma
	craneofaringioma
	ependimoma
	pinealoma
40	hemangioblastoma
	neuroma acústico
	oligodendroglioma
	meningioma
	cáncer de piel
45	melanoma
	neuroblastoma
	retinoblastoma
	cánceres transmitidos por la sangre, incluyendo:
50	leucemia linfoblástica aguda "LLA"
	leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B
	leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T
	leucemia mielógena aguda. "LMA"
	leucemia promielocítica aguda "LPA"
	leucemia monoblástica aguda
55	leucemia eritroleucémica aguda
	leucemia megacarioblástica aguda
	leucemia mielomonocítica aguda
	leucemia no linfocítica aguda
	leucemia aguda no diferenciada
60	leucemia mielocítica crónica "LMC"
	leucemia linfocítica crónica "CLL"
	leucemia de células pilosas
	mieloma múltiple
	leucemias aguda y crónica:
65	leucemias linfoblástica
	mielógena
	linfocítica

- mielocítica
- Linfomas:
- enfermedad de Hodgkin
- linfoma no de Hodgkin
- 5 mieloma múltiple
- macroglobulinemia de Waldenstrom
- enfermedad de la cadena pesada
- policitemia vera
- Otros cánceres:
- 10 Cáncer peritoneal
- Cáncer hepatocelular
- Hepatoma
- Cáncer de las glándulas salivales
- Cáncer de vulva
- 15 Tiroides
- Cáncer de pene
- Cáncer de ano
- Cáncer de cabeza y cuello
- Carcinoma de células renales
- 20 Carcinoma anaplásico de células grandes
- Carcinoma anaplásico de células grandes cutáneo

25 Los cánceres; que incluyen un tumor, metástasis, u otra enfermedad o trastorno caracterizado por un crecimiento celular incontrolado, se pueden tratar o prevenir mediante la administración de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco.

30 En otras realizaciones, se proporcionan métodos para tratar o prevenir el cáncer, incluyendo administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco y un agente quimioterapéutico. En una realización, el agente quimioterapéutico es uno para el que se ha descubierto que, como tratamiento contra el cáncer, no genera resistencia. En otra realización, el agente quimioterapéutico es uno para el que se ha descubierto que, como tratamiento contra el cáncer, genera resistencia. El Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco se puede administrar a un paciente que ha experimentado también cirugía como tratamiento para el cáncer.

35 En una realización, el método de tratamiento adicional es la radioterapia.

40 En una realización específica, el Compuesto conjugado se administra concurrentemente con el agente quimioterapéutico o con radioterapia. En otra realización específica, el agente quimioterapéutico o la radioterapia se administra antes o posteriormente a la administración de un Compuesto conjugado, en un aspecto al menos una hora, cinco horas, 12 horas, un día, una semana, un mes, en otros aspectos varios meses (por ejemplo; hasta tres meses), antes o posteriormente a la administración de un Compuesto conjugado.

45 Se puede administrar un agente quimioterapéutico durante una serie de sesiones. Se puede administrar uno cualquiera o una combinación de agentes quimioterapéuticos relacionados en la Tabla 2. Con respecto a la radiación, se puede usar cualquier protocolo de radioterapia dependiendo del cáncer que se va a tratar. Por ejemplo, aunque no de forma limitativa, se puede administrar radiación de rayos x; en particular, se pueden usar megatensiones de alta energía (radiación de más de 1 MeV de energía) para los tumores profundos, y se pueden usar haces de electrones y ortotensiones de radiación de rayos X para los cánceres de piel. También se pueden administrar radioisótopos emisores de radiación gamma, tales como isótopos radioactivos de radio, cobalto, y otros elementos.

55 Además, los métodos para el tratamiento del cáncer con un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco se proporcionan como alternativa a la quimioterapia o radioterapia, donde la quimioterapia o la radioterapia se ha demostrado que es, o que puede ser, tóxica, por ejemplo, da como resultado efectos secundarios inaceptables o insostenibles, para el sujeto que se está tratando. El animal que se está tratando puede, opcionalmente, tratarse con otro tratamiento contra el cáncer como la cirugía, radioterapia o quimioterapia, dependiendo de qué tratamiento se considera aceptable o soportable.

60 El Compuesto conjugado o Compuesto de fármacos también se puede usar de forma *in vitro* o *ex vivo*, tal como en el tratamiento de determinados cánceres, entre los que se incluyen y linfomas, implicando dicho tratamiento trasplantes de citoblastos autólogos. Esto puede implicar un procedimiento multietapa en el que citoblastos hematopoyéticos autólogos del animal se recogen y limpian de todas las células cancerosas, a continuación se erradica la población de células de médula ósea restante del animal mediante la administración de una dosis elevada de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco con o sin radioterapia de dosis elevadas

65 acompañante y el injerto de citoblastos se infunde posteriormente en el animal. A continuación, se proporciona tratamiento de soporte mientras se restaura la función de la médula ósea y se recupera el animal.

- Se divulgan métodos para tratar el cáncer que incluyen además administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de un Compuesto conjugado y otro agente terapéutico que es un agente anticanceroso. Los agentes antineoplásicos adecuados incluyen metotrexato, taxol, L-asparaginasa, mercaptopurina, tioguanina, hidroxiurea, citarabina, ciclofosfamida, ifosfamida, nitrosoureas, cisplatino, carboplatino, mitomicina, dacarbazina, procarbazona, topotecán, mostazas nitrogenadas, citoxano, etopósido, 5-fluorouracilo, BCNU, irinotecán, camptotecinas, bleomicina, doxorubicina, idarubicina, daunorubicina, actinomicina D, dactinomicina, plicamicina, mitoxantrona, asparaginasa, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, paclitaxel y docetaxel.
- Otros ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y CYTOXAN® ciclofosfamida; alquilsulfonatos tales como busulfán, treosulfano, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocadona, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilmelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolmelamina; TLK 286 (TELCYTA™); acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); delta-9-tetrahidrocannabinol (dronabinol, MARINOL®); beta-lapachona; lapachol; colchicinas; ácido betulínico; una camptotecina incluyendo el análogo sintético de topotecan (HYCAMTIN®), CPT-11 (irinotecan, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, escopolectina y 9-aminocamptotecina; briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); podofilotoxina; ácido podofilínico; tenipósido; criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiostatina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, y mostaza de uracilo; triazinas tales como decarbazina; nitrosoureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; epipodofilinas, tales como etopósido, tenipósido, topotecán, 9-aminocamptotequina, camptotecina orcrisnatol; bisfosfonatos, tal como clodronato; antibióticos tales como los antibióticos de enediina (por ejemplo, caliqueamicina, especialmente caliqueamicina gammal1 y caliqueamicina omegal1 (véase, por ejemplo, Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)) y antraciclinas tales como annamicina, AD 32, alcarrubicina, daunorubicina, dexrazoxano, DX-52-1, epirubicina, GPX-100, idarubicina, KRN5500, menogaril, dinemicina, incluyendo dinemicina A, una esperamicina, cromóforos de neocarzinostatina y cromóforos del antibiótico enediina de la cromoproteína relacionada, aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas (por ejemplo, A2 y B2), cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofiltr, hromomicina, dactinomicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, ADRIAMYC1N @ doxorubicina (incluyendo morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina, doxorubicina liposómica y desoxidoxorrubicina), esorrubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puomicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina y zorrubicina; terapias fotodinámicas, tales como vertoporfina (BPD-MA), ftalcianina, fotosensibilizador Pc4, y demetoxihipocreilina A (2BA-2-DMHA); análogos del ácido fólico tales como denopterina, pteropterina, y trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, y tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, arabinósido de citosina, didesoxiuridina, doxifluridina, encitabina y floxuridina; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, y testolactona; antiadrenérgicos tales como aminoglucetimidina, mitotano, y trilostano; relleno de ácido fólico tal como ácido folínico (leucovorina); aceglatona; agentes antineoplásicos dirigidos contra folato tales como ALIMTA®, LY231514 pemetrexed, inhibidores de la dihidrofolato reductasa tales como metotrexato y trimetrexato; antimetabolitos tales como 5-fluorouracilo (5-FU) y sus profármacos tales como UFT, S-1 y capecitabina, floxuridina, doxifluridina y ratitrexed; e inhibidores de la timidilato sintasa e inhibidores de la glicinamida ribonucleótido formiltransferasa tales como raltitrexed (TOMUDEXRM, TDX); inhibidores de la dihidropirimidina deshidrogenasa tal como eniluracilo; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfomitina; acetato de eliptinio; una eptilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinan; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; losoxantrona; 2-etilhidrazida; procarbazona; complejo de polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxana; rizoxina; sizofiran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclortrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®); dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides y taxanos, por ejemplo, TAXOL® paclitaxel (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE™ exento de Cremofor, formulación de nanopartículas de paclitaxel diseñadas por ingeniería con albúmina (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois), y TAXOTERE® doxetaxel (Rhône-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucilo; gemcitabina (GEMZAR®); 6-tioguanina; mercaptopurina; platino; análogos de platino o análogos basados en platino tales como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina (VELBAN®); etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina (ONCOVIN®); alcaloide de la vinca; vinorelbina (NAVELBINE®); Velcade; revlimid; talidomida; IMiD3; lovastatina; verapamilo; taspigargina; 1-metil-4-fenilpiridinio; inhibidores del ciclo celular tales como estaurosporina; novantrona; edatraxato; daunomicina; mitoxantrona; aminopterina; xeloda; ibandronato; inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); análogos de la vitamina D3, tales como EB 1089, CB 1093 y KH 1060; retinoides tales como ácido retinoico; sales farmacéuticamente aceptables, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores; así como combinaciones de dos o más de los anteriores tales como CHOP, una abreviatura de una terapia combinada de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, y prednisolona, y FOLFOX, una abreviatura para un régimen de

tratamiento con oxiplatino (ELOXATIN™) combinado con 5-FU y leucovorina, Agentes antihormonales que actúan regulando o inhibiendo la acción de hormonas en tumores, tales como antiestrógenos y moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERM), que incluyen, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo tamoxifeno NOLVADEX®), raloxifeno, megastrol, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona, y FARESTON®
 5 toremifeno; inhibidores de la aromatasas que inhiben la enzima aromatasas, que regula la producción de estrógeno en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, MEGASE® megestrol acetato, AROMASIN® exemestano, formestano, fadrozol, RIVISOR® vorozol, FEMARA® letrozol, y ARIMIDEX® anastrozol; y antiandrógenos tales como flutamida, bicalutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, y goserelina; así como troxacitabina (un análogo nucleosídico de 1,3-dioxolano citosina; oligonucleótidos antisentido,
 10 particularmente aquellos que inhiben la expresión de genes en las rutas de señalización de la proliferación celular anómala, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf, H-Ras, y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R); vacunas tales como vacunas para terapia génica, por ejemplo, vacuna ALLOVECTIN®, vacuna LEUVECTIN® y vacuna VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; el inhibidor de la topoisomerasa 1 LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; y sales farmacéuticamente aceptables, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores.

Los ejemplos de anticuerpos disponibles para el tratamiento del cáncer incluyen anticuerpo monoclonal dirigido contra HER2 humanizado, HERCEPTIN® (trastuzumab; Genentech); RITUXAN® (rituximab; Genentech) que es un anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra CD20 para el tratamiento de pacientes con linfoma no de Hodgkin; OvaRex (AltaRex Corporation, MA) que es un anticuerpo de murino para el tratamiento del cáncer de ovario; Panorex (Glaxo Wellcome, NC) que es un anticuerpo IgG2a de murino para el tratamiento del cáncer colorrectal; Cetuximab Erbitux (Imclone Systems Inc., NY) que es un anticuerpo quimérico dirigido contra EGFR IgG para el tratamiento de cánceres positivos para el factor de crecimiento epidérmico, tales como cáncer de cabeza y cuello; Vitaxin (MedImmune, Inc., MD) que es un anticuerpo humanizado para el tratamiento del sarcoma; Campath I/H (Leukosite, MA) que es un anticuerpo de IgG1 humanizado para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (LLC); SMART MI95 (Protein Design Labs, Inc., CA) que es un anticuerpo IgG humanizado dirigido contra CD33 para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (LMA); LymphoCide (Immunomedics, Inc., NJ) que es un anticuerpo de tipo IgG humanizado dirigido contra CD22 para el tratamiento del linfoma no de Hodgkin; SMART ID10 (Protein Design Labs, Inc., CA) que es un anticuerpo humanizado dirigido contra HLA-DR para el tratamiento del linfoma no de Hodgkin; Oncolym (Techniclone, Inc., CA) que es un anticuerpo de murino radiomarcado dirigido contra HLA-Dr10 para el tratamiento del linfoma no de Hodgkin; Allomune (BioTransplant, CA) que es un mAb humanizado dirigido contra CD2 para el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin o del linfoma no de Hodgkin; Avastina (Genentech, Inc., CA) que es un anticuerpo humanizado anti-MHCII para el tratamiento de los cánceres de pulmón y colorrectal; Epratuzamab (Immunomedics, Inc., NJ y Amgen, CA) que es un anticuerpo dirigido contra CD22 para el tratamiento del linfoma no de Hodgkin; y CEAcide (Immunomedics, NJ) que es un anticuerpo humanizado dirigido contra CEA para el tratamiento del cáncer colorrectal.
 35

Otros anticuerpos útiles para el tratamiento de cáncer incluyen anticuerpos contra los siguientes antígenos (los cánceres ilustrativos se indican entre paréntesis): CA125 (ovario), CA15-3 (carcinomas), CA19-9 (carcinomas), L6 (carcinomas), Lewis V (carcinomas), Lewis X (carcinomas), alfa feto proteína (carcinomas), CA 242 (colorrectal), fosfatasa alcalina placentaria (carcinomas), antígeno de membrana específico de próstata (próstata), fosfatasa ácida prostática (próstata), factor de crecimiento epidérmico (carcinomas), MAGE-1 (carcinomas), MAGE-2 (carcinomas), MAGE-3 (carcinomas), MAGE-4 (carcinomas), receptor antitransferrina (carcinomas), p97 (melanoma), MUC1-KLH (cáncer de mama), CEA (colorrectal), gp100 (melanoma), MART1 (melanoma), antígeno específico de próstata (AEP) (próstata), receptor de IL-2 (leucemia de linfocitos T y linfomas), CD20 (linfoma no de Hodgkin), CD52 (leucemia), CD33 (leucemia), CD22 (linfoma), gonadotropina coriónica humana (carcinoma), CD38 (mieloma múltiple), CD40 (linfoma), mucina (carcinomas), P21 (carcinomas), MPG (melanoma), y el producto del oncogén Neu (carcinomas).
 45

Algunos anticuerpos específicos útiles incluyen el mAb BR96 (Trail et al., 1993, Science 261:212-215), BR64 (Trail et al., 1997, Cancer Research 57:100-105), mAb contra el antígeno CD40, tales como el mAb S2C6 (Francisco et al., 2000, Cancer Res. 60:3225-3231) y variantes quiméricas y humanizadas de los mismos, los mAb contra el antígeno cD33; los mAb contra el antígeno EphA2; los mAb contra el antígeno CD70, tales como el mAb 1F6 y el mAb 2F2 y variantes quiméricas y humanizadas de los mismos, y los mAb contra el antígeno CD30, tal como AC10 (Bowen et al., 1993, J. Immunol. 151:5896-5906; Wahl et al., 2002, Cancer Res. 62(13):3736-42) y variantes quiméricas y humanizadas de los mismos. Se pueden usar otros muchos anticuerpos internalizadores que se unen a antígenos asociados a tumores y se han revisado (véanse, por ejemplo, Franke et al., 2000, Cancer Biother. Radiopharm. 15:459 76; Murray, 2000, Semin. Oncol. 27:64 70; Breitling et al., Recombinant Antibodies, John Wiley, and Sons, Nueva York, 1998).
 55

Los Compuestos conjugados o Compuestos de fármaco son útiles para destruir o inhibir la replicación de una célula que produce una enfermedad autoinmunitaria o para tratar una enfermedad autoinmunitaria. Los Compuestos conjugados o Compuestos de fármaco se pueden usar de acuerdo con ello en varios escenarios para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria en un paciente. Los Compuestos conjugados se pueden utilizar para administrar un fármaco a una célula diana. Sin pretender quedar vinculado por teoría alguna, en una realización, el Compuesto conjugado se pueden asociar con el antígeno en la superficie de una célula diana, y el Compuesto conjugado se captura posteriormente al interior de la célula diana mediante endocitosis mediada por receptor. Una vez dentro de la
 65

5 célula, una o más secuencias específicas de péptido de la Unidad enlazadora se escinden hidrolítica o enzimáticamente, dando como resultado la liberación de un metabolito intracelular, tal como un Fármaco, un Compuesto enlazador-fármaco o un Fragmento fármaco-enlazador. El metabolito intracelular liberado queda libre a continuación para migrar al citosol e inducir actividades citotóxicas o citostáticas. En una realización alternativa, el Fármaco o se escinde del Compuesto conjugado fuera de la célula diana, y el Fármaco posteriormente penetra en la célula.

10 En una realización, la Unidad de ligando se une a un antígeno autoinmunitario. En un aspecto, el antígeno se encuentra en la superficie de una célula implicada en una dolencia autoinmunitaria.

En otra realización, la unidad de ligando se une a un antígeno autoinmune que se encuentra en la superficie de una célula.

15 En una realización, el Ligando se une a linfocitos activados que están asociados con la patología autoinmune.

En una realización adicional, los Compuestos conjugados o Compuestos de fármaco destruyen o inhiben la multiplicación de células que producen un anticuerpo autoinmunitario asociado con una enfermedad autoinmunitaria concreta.

20 Los tipos particulares de enfermedades autoinmunitarias que se pueden tratar con los Compuestos conjugados incluyen trastornos relacionados con linfocitos Th2 (por ejemplo, dermatitis atópica, asma atópica, rinoconjuntivitis, rinitis alérgica, síndrome de Omenn, esclerosis sistémica, y enfermedad de injerto frente a hospedador); trastornos relacionados con linfocitos Th1 (por ejemplo, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, psoriasis, síndrome de Sjogren, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Grave, cirrosis biliar primaria, granulomatosis de Wegener, y tuberculosis);
 25 trastornos relacionados con linfocitos B activados (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Goodpasture, artritis reumatoide, y diabetes de tipo I); y los descritos en la Tabla 2.

TABLA 2

30	Hepatitis crónica activa Enfermedad de Addison Alveolitis alérgica Reacción alérgica
35	Rinitis alérgica Síndrome de Alport Anafilaxia Espondilitis anquilosante Síndrome antifosfolípidos
40	Artritis Ascariasis Aspergilosis Alergia atópica Dermatitis atópica Rinitis atópica
45	Enfermedad de Behcet Pulmón de Bird-Fancier Asma bronquial Síndrome de Caplan Cardiomiopatía
50	Enfermedad celíaca Enfermedad de Chagas Glomerulonefritis crónica Síndrome de Cogan Enfermedad por crioaglutininas
55	Infección por rubeola congénita Síndrome CREST Enfermedad de Crohn Crioglobulinemia Síndrome de Cushing
60	Dermatomiositis Lupus discoide Síndrome de Dressler Síndrome de Eaton-Lambert Infección por Ecovirus
65	Encefalomiелitis Oftalmopatía endocrina

ES 2 715 776 T3

	Infeción por el virus Epstein-Barr
	Náuseas equinas
	Eritematosi
5	Síndrome de Evan
	Síndrome de Felty
	Fibromialgia
	Ciclitis de Fuch
	Atrofia gástrica
10	Alergia gastrointestinal
	Arteritis de células gigantes
	Glomerulonefritis
	Síndrome de Goodpasture
	Enfermedad de injerto frente a hospedador
15	Enfermedad de Graves
	Enfermedad de Guillain-Barre
	Tiroiditis de Hashimoto
	Anemia hemolítica
	Púrpura de Henoch-Schonlein
20	Atrofia idiopática de las glándulas suprarrenales
	Fibrosis pulmonar idiopática
	Nefropatía de IgA
	Enfermedad inflamatoria del intestino
	Diabetes insulino-dependiente
25	Artritis mellitus juvenil
	Diabetes mellitus juvenil
	Síndrome de Lambert-Eaton
	Laminitis
	Liquen plano
30	Hepatitis lupoide
	Lupus
	Linfopenia
	Enfermedad de Meniere
	Enfermedad del tejido conectivo mixto
35	Esclerosis múltiple
	Miastenia grave
	Anemia perniciosa
	Síndromes poliglandulares
	Demencia presenil
40	Agammaglobulinemia primaria
	Cirrosis biliar primaria
	Psoriasis
	Artritis psoriática
	Fenómeno de Raynaud
45	Aborto recurrente
	Síndrome de Reiter
	Fiebre reumática
	Artritis reumatoide
	Síndrome de Sampter
50	Esquistosomiasis
	Síndrome de Schmidt
	Escleroderma
	Síndrome de Shulman
	Síndrome de Sjorgen
55	Síndrome de Stiff-Man
	Oftalmia del simpático
	Lupus sistémico eritematoso
	Arteritis de Takayasu
	Arteritis temporal
60	Tiroiditis
	Trombocitopenia
	Tirotoxicosis
	Necrolisis epidérmica tóxica
	Resistencia a la insulina de tipo B
65	Diabetes mellitus Tipo 1
	Colitis ulcerosa
	Uveitis

vítligo
Macroglobulinemia de Waldenstrom
Granulomatosis de Wegener

5 También se divulgan métodos para tratar una enfermedad autoinmunitaria que incluyen la administración a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz de un Compuesto conjugado o Compuesto de fármaco y otro agente terapéutico conocido para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria. En una realización, el agente contra la enfermedad autoinmunitaria incluye los agentes relacionados en la Tabla 3.

10 Tabla 3

15 ciclosporina
ciclosporina A
micofenolato de mofetilo
sirolimus
tacrolimus
enanercept
prednisona
azatioprina
20 metotrexato
ciclofosfamida
prednisona
ácido aminocaproico
cloroquina
25 hidroxiclороquina
hidrocortisona
dexametasona
clorambucilo
DHEA
30 danazol
bromocriptina
meloxicam
infliximab

35 Los Compuestos conjugados son útiles para destruir o inhibir la multiplicación de una célula que produce una enfermedad infecciosa o para tratar una enfermedad infecciosa. Los Compuestos conjugados se pueden usar de acuerdo con ello en varios escenarios para el tratamiento de una enfermedad infecciosa en un paciente. Los Compuestos conjugados se pueden utilizar para administrar un fármaco a una célula diana. En una realización, la Unidad de ligando se une a la célula de la enfermedad infecciosa.

40 En una realización, los Conjugados ilustrativos destruyen o inhiben la multiplicación de células que producen una enfermedad infecciosa concreta.

45 Los tipos particulares de enfermedades infecciosas que se pueden tratar con los Compuestos conjugados y Compuestos de fármaco incluyen los divulgados en la Tabla 4.

TABLA 4

50 Enfermedades bacterianas:
Difteria
Tosferina
Bacteremia oculta
Infección del tracto urinario
55 Gastroenteritis
Celulitis
Epiglotitis
Traqueítis
Hipertrofia de adenoides
Absceso retrofaringeo
60 Impétigo
Ectima
Neumonía
Endocarditis
Artritis séptica
65 Pneumocócica
Peritonitis

	Bacteremia
	Meningitis
	Meningitis purulenta aguda
5	Uretritis
	Cervicitis
	Proctitis
	Faringitis
	Salpingitis
10	Epididimitis
	Gonorrea
	Sífilis
	Listeriosis
	Ántrax
15	Nocardiosis
	Salmonella
	Fiebre tifoidea
	Disentería
	Conjuntivitis
20	Sinusitis
	Brucelosis
	Tularemia
	Cólera
	Peste bubónica
25	Tétanos
	Enteritis necrosante
	Actinomicosis
	Infecciones anaerobias mixtas
	Sífilis
30	Fiebre recurrente
	Leptospirosis
	Enfermedad de Lyme
	Fiebre por mordedura de rata
	Tuberculosis
35	Linfoadenitis
	Lepra
	Clamidia
	Neumonía por clamidia
	Tracoma
40	Conjuntivitis por inclusión
	Enfermedades fúngicas sistémicas:
	Histoplasmosis
	Coccidioidomicosis
45	Blastomicosis
	Esporotricosis
	Criptococosis
	Candidiasis sistémica
	Aspergilosis
	Mucormicosis
50	Micetoma
	Cromomicosis
	Enfermedades por rickettsia:
	Tifus
	Fiebre con manchas de las Montañas Rocosas
55	Erliquiosis
	Rickettsiosis transmitida por la pulga oriental de la rata
	Viruela por Rickettsia
	Fiebre Q
	Bartonelosis
60	Enfermedades parasíticas:
	Malaria
	Babesiosis
	Enfermedad del sueño africana
	Enfermedad de Chagas
	Leishmaniasis
65	Fiebre Dum-Dum
	Toxoplasmosis

	Meningoencefalitis
	Queratitis
	Entamebiasis
5	Giardiasis
	Criptosporidiasis
	Isosporiasis
	Ciclosporiasis
	Microsporidiosis
10	Ascariasis
	Tricuriasis
	Anquilostomiasis
	Estrongiloidiasis
	Larva Migrans ocular
15	Triquinosis
	Dracunculiasis
	Filariasis linfática
	Loiasis
	Oncocercosis
20	Dirofilariasis
	Esquistosomiasis
	Picadura de notonéctido
	paragonimiasis
	Clonorquiasis
25	Fascioliasis
	Fasciolopsiasis
	Opistorquiasis
	Infección por cestodos
	Hidatiasis
	Enfermedad hidatídica alveolar
30	Enfermedades víricas:
	Sarampión
	Panencefalitis esclerosante subaguda
	Resfriado común
35	Paperas
	Rubeola
	Roseola
	Eritema infeccioso
	Viruela aviar
40	Infección por virus sincitial respiratorio
	Laringotraqueobronquitis
	Bronquiolitis
	Mononucleosis infecciosa
	Poliomelitis
45	Herpangina
	Fiebre aftosa humana
	Enfermedad de Bomholm
	Herpes genital
	Verrugas genitales
50	Meningitis aséptica
	Miocarditis
	Pericarditis
	Gastroenteritis
	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)
55	Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)
	Síndrome de Reye
	Síndrome de Kawasaki
	Gripe
	Bronquitis
60	Neumonía atípica
	Síndrome paragripal
	Fiebre faringoconjuntival aguda
	Queratoconjuntivitis epidémica
	Virus del herpes simple 1 (VHS-1)
	Virus del herpes simple 2 (VHS-2)
65	Herpes zóster
	Infección por citomegalovirus

	Rabia
	Leucoencefalopatía multifocal progresiva
	Kuru
5	Insomnio familiar fatal
	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob
	Enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker
	Paraparesis espástica tropical
	Encefalitis equina occidental
10	Encefalitis de California
	Encefalitis de San Luis
	Fiebre amarilla, Dengue
	Coriomeningitis linfocítica
	Fiebre de Lassa
15	Fiebre hemorrágica
	Síndrome pulmonar por hantavirus
	Infecciones por el virus Marburg
	Infecciones por el virus del Ébola
	Viruela
20	Se divulgan métodos para tratar una enfermedad infecciosa que incluyen la administración a un paciente que lo necesita un Compuesto conjugado y otro agente terapéutico que es un agente dirigido contra enfermedades infecciosas. En una realización, el agente contra la enfermedad infecciosa es un agente relacionado en la Tabla 5.

TABLA 5

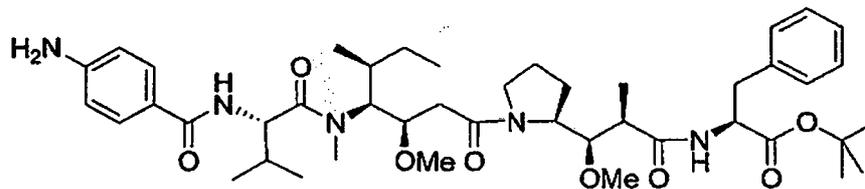
25	Antibióticos de β -lactamas:
	Penicilina G
	Penicilina V
30	Cloxacilina
	Dicloxacilina
	Meticilina
	Nafcilina
	Oxacilina
35	Ampicilina
	Amoxicilina
	Bacampicilina
	Azlocilina
	Carbenicilina
40	Mezlocilina
	Piperacilina
	Ticarcilina
	Aminoglicósidos:
	Amikacina
45	Geritamicina
	Kanamicina
	Neomicina
	Netilmicina
	Estreptomicina
50	Tobramicina
	Macrólidos:
	Azitromicina
	Claritromicina
	Eritromicina
55	Lincomicina
	Clindamicina
	Tetraciclinas:
	Demeclociclina
	Doxiciclina
60	Minociclina
	Oxitetraciclina
	Tetraciclina
	Quinolonas:
	Cinoxacina
	Ácido nalidíxico
65	Fluoroquinolonas:
	Ciprofloxacina

5	Enoxacina Grepafloxacin Levofloxacin Lomefloxacin Norfloxacin Ofloxacin Esfarfoxacin Trovafoxicin
10	Polipéptidos: Bacitracina Colistina Polimixina B
15	Sulfonamidas: Sulfisoxazol Sulfametoxazol Sulfadiazina Sulfametizol Sulfacetamida
20	Agentes antibacterianos diversos: Trimetoprim Sulfametazol Cloranfenicol Vancomicina Metronidazol
25	Quinupristina Dalfopristina Rifampina Espectinomicina Nitrofurantoina
30	Agentes antivíricos: Agentes antivíricos generales: Idoxuradina Vidarabina Trifluridina
35	Aciclovir Famciclovir Penciclovir Valaciclovir Ganciclovir
40	Foscarnet Ribavirina Amantadina Rimantadina Cidofovir
45	Oligonucleótidos de sentido contrario Inmunoglobulinas Interferones
50	Fármacos para la infección por VIH: Tenofovir Emtricitabina Zidovudina Didanosina Zalcitabina
55	Estavudina Lamivudina Nevirapina Delavirdina Saquinavir Ritonavir
60	Indinavir Nelfinavir

La divulgación se describe con más detalle en los ejemplos siguientes:

65 **Ejemplo 1**

Preparación de 4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OtBu (compuesto 100)



5 A una suspensión a temperatura ambiente de Val-Dil-OtBu (1,17 g, 2,7 mmol) y Fmoc-4-Abz-OH en DMF anhidra (5 ml) se añadió DEPC (0,82 ml, 5,4 mmol) y DIEA (1,88 ml, 10,8 mmol). El análisis mediante HPLC indicó reacción completa después de 1 h. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (350 ml) y se extrajo secuencialmente con HCl 0,1 M (450 ml x 2) y H₂O (450 ml). La fase orgánica se concentró al vacío y se filtró a través de un pequeño lecho de gel de sílice. Fmoc-4-Abz-Val-Dil-OtBu se aisló mediante RP-HPLC preparativa, utilizando una columna Phenomenex C₁₂ Synergi Max-RP 80Å (250 x 50,00 mm). Eluyente: gradiente lineal 10 % a 90 % de MeCN/0,05 % de TFA (ac) durante 20 minutos, a continuación isocrático 90 % de MeCN/0,05 % de TFA (ac) durante 30 minutos más. Se obtuvo un total de 1,39 g de Fmoc-4-Abz-Val-Dil-OtBu puro (1,99 mmmol, 74% de rendimiento).

15 A una suspensión a temperatura ambiente de Fmoc-4-Abz-Val-Dil-OtBu (1,39 g, 1,99 mmmol) en CH₂Cl₂ anhidro (40 ml) se añadió TFA (10 ml). El análisis mediante HPLC indicó reacción completa después de 3,5 h. Los compuestos volátiles se evaporaron al vacío. El Fmoc-4-Abz-Val-Dil así preparado se usó en la siguiente etapa sin purificación.

20 Fenilalanina *t*-butil éster, sal de HCl (868 mg, 3 mmol), *N*-Boc-Dolaproína (668 mg, 1 eq.), DEPC (820 µl, 1,5 eq.), y DIEA (1,2 ml) se diluyeron con diclorometano (3 ml). Después de 2 h a temperatura ambiente (aproximadamente 28 grados Celsius), la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (20 ml), y se lavó sucesivamente con una solución acuosa (ac.) saturada de NaHCO₃ (2x10 ml), solución ac. saturada de NaCl (2 x10 ml). La capa orgánica se separó y se concentró. El residuo resultante se resuspendió en acetato de etilo y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en acetato de etilo. Las fracciones relevantes se combinaron y se concentraron para proporcionar el dipéptido en forma de un sólido de color blanco: 684 mg (46% de rendimiento). ES-MS *m/z* 491,3 [M+H]⁺.

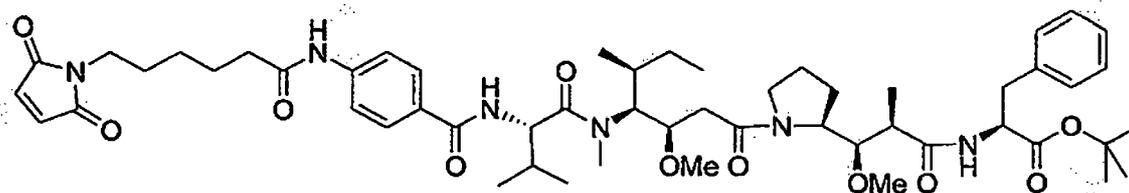
30 Para la escisión selectiva de Boc en presencia del *t*-butil éster, el dipéptido anterior (500 mg, 1,28 mmol) se diluyó con dioxano (2 ml). se añadió HCl 4 M en dioxano (960 µl, 3 eq.), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Una desprotección de Boc casi completa se observó mediante RP-HPLC con una cantidad mínima de escisión del *t*-butil éster. La mezcla se enfrió en un baño de hielo, y se añadió trietilamina (500 µl). Después de 10 min, la mezcla se retiró del baño de refrigeración, se diluyó con diclorometano (20 ml), se lavó sucesivamente con solución acuosa saturada de NaHCO₃ (2 x 10 ml), solución acuosa saturada de NaCl (2 x 10 ml). La capa orgánica se concentró para dar una espuma de color amarillo: 287 mg (57%). El intermedio se usó sin purificación adicional.

35 A una suspensión a temperatura ambiente de Fmoc-4-Abz-Val-Dil (0,96 g, 1,49 mmmol) y Dap-Phe-OtBu (0,58 g, 1,49 mmmol) en CH₂Cl₂ anhidro (20 ml) se añadió DEPC (0,34 ml, 2,98 mmol) y DIEA (1,04 ml, 5,96 mmmol). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 84 h, a continuación, los compuestos volátiles se evaporaron al vacío, y el residuo en bruto se diluyó con acetato de etilo (200 ml), y se extrajo con HCl 0,1 M (300 ml x 2). La fase orgánica se concentró al vacío y el residuo en bruto se purificó por TLC centrifuga usando un gradiente escalonado de a 0-1-2% MeOH/CH₂Cl₂, dando como resultado 0,73 g (0,72 mmmol, 48% de rendimiento) de Fmoc-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OtBu. ES-MS *m/z* 1016,39 [M+H]⁺.

45 Fmoc-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OtBu (700 mg, 0,689 mmol) se suspendió en CH₂Cl₂ anhidro (10 ml), y a este se añadió dietil amina (DEA, 5 ml). Esta mezcla se agitó durante ~16 h. Los compuestos orgánicos volátiles se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó parcialmente mediante TLC centrifuga (gradiente 0-5% gradient: MeOH/CH₂Cl₂) para retirar los compuestos relacionados con fmoc. El producto se purificó mediante RP-HPLC preparativa, utilizando una columna Phenomenex C₁₂ Synergi Max-RP 80Å (250 x 50,00 mm). Eluyente: gradiente lineal 10 % a 90 % de MeCN/0,1 % de ácido fórmico (ac) durante 20 minutos, a continuación isocrático 90 % de MeCN/0,1 % de ácido fórmico (ac) durante 30 minutos más. Se obtuvo un total de 0,35 g de 4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OtBu puro (compuesto **100**, 0,44 mmmol, 64% de rendimiento). ES-MS *m/z* 794,38 [M+H]⁺; 816,73 [M+Na]⁺.

Ejemplo 2

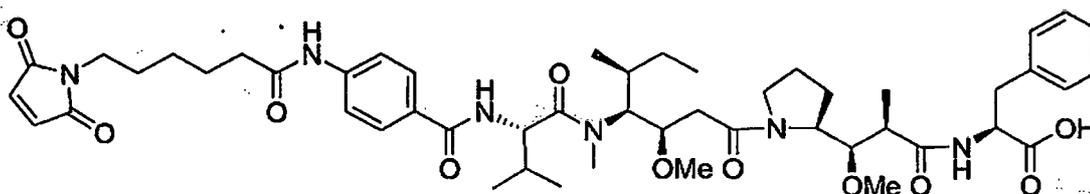
55 Preparación de MC-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OtBu (compuesto 101)



5 A una suspensión a temperatura ambiente del compuesto **100** (150 mg, 0,189 mmol) y ácido maleimidocaproico (MC-OH, 44 mg, 0,208 mmol, Molecular Biosciences, Inc., Boulder CO) en CH_2Cl_2 anhidro (10 ml) se añadió HATU (101 mg, 0,265 mmol, 1,4 equiv.) y DIEA (0,13 ml, 0,756 mmol). Después de 16 h, la reacción no estaba completa, de forma que se añadieron reactivos adicionales (0,567 mmol de MC-OH; 1,7 mmol de HATU; y 2,84 mmol de DIEA) durante las siguientes 72 h. El producto se aisló mediante RP-HPLC preparativa, utilizando una columna Phenomenex C_{12} Synergi Max-RP 80Å (250 x 21,20 mm). Eluyente: gradiente lineal 10 % a 90 % de MeCN/0,05 % de TFA (ac) durante 20 minutos, a continuación isocrático 90 % de MeCN/0,05 % de TFA (ac) durante 30 minutos más. Se obtuvo MC-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OtBu con 42% de rendimiento (78 mg, 0,079 mmol). ES-MS m/z 987,19 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 985,26 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Ejemplo 3

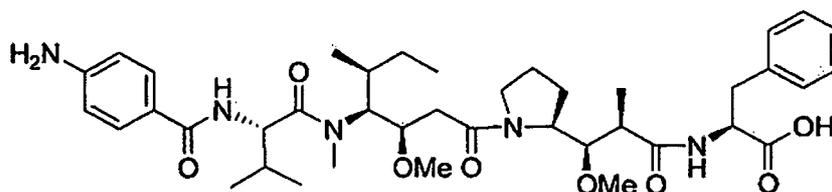
15 **Preparación de MC-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe (compuesto 102)**



20 A una suspensión a temperatura ambiente del compuesto **101** (70 mg, 0,071 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (4 ml) se añadió TFA (2 ml). Después de 2 h, los compuestos volátiles se evaporaron al vacío, dando como resultado un sólido de color blanco puro (66 mg, 0,071 mmol) que se usó sin purificación. ES-MS m/z 931,26 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 929,33 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Ejemplo 4

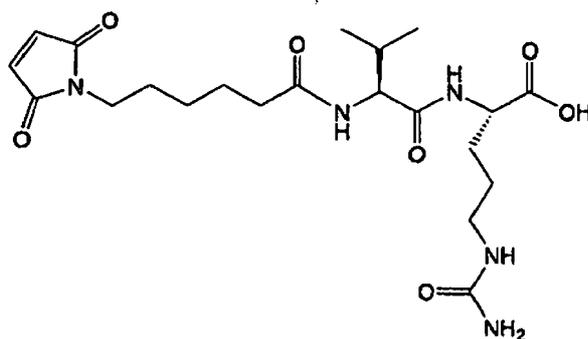
25 **Preparación de 4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe (compuesto 103)**



30 A una suspensión a temperatura ambiente del compuesto **100** (50 mg, 0,063 mmol) en acetonitrilo (20 ml) se añadió HCl (4 M en dioxano, 5 ml). La reacción se agitó 72 h, y al continuación los compuestos volátiles se evaporaron al vacío. El producto se obtuvo en forma de la sal HCl (48 mg, 0,063 mmol). ES-MS m/z 738,37 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 736,50 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Ejemplo 5

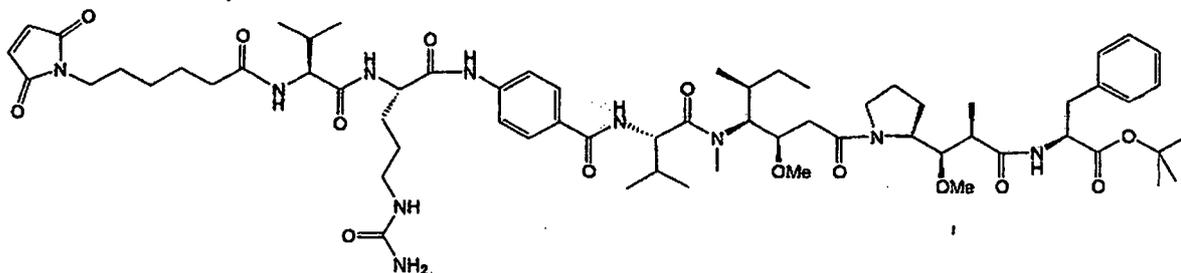
35 **Preparación de MC-Val-Cit (compuesto 104)**



5 A una solución a temperatura ambiente de Fmoc-Val-Cit (2,18 g, 4,4 mmol, patente de Estados Unidos n.º 6.214.345 de Firestone et al.) en DMF anhidra (10 ml) se añadió DEA (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. La mezcla de reacción se concentró al vacío para dar un aceite espeso, y después se añadió gota a gota a un matraz que contenía éter dietílico (~500 ml) para precipitar el producto en bruto. El precipitado de color blanco se recogió por filtración y se lavó con acetato de etilo (2 x 250 ml). Después de secar material al vacío, se disolvió en DMSO (30 ml), y se añadió éster de N-hidroxisuccinimida del ácido maleimidocaproico (1,42 g, T,05 equiv., Molecular Biosciences, Inc., Boulder CO), seguido de la adición de DIEA (0,843 ml, 1,1 eq). La mezcla de reacción se agitó ~6 h, la solución de DMSO se concentró al vacío hasta un volumen de ~2 ml. El producto se purificó en un sistema de HPLC semipreparativo (fase estacionaria: C₁₂, fase móvil: TFA al 0,1%/H₂O/MeCN) para dar 1,19 g (2,55 mmol, 58% de rendimiento). ES-MS *m/z* 468,23 [M+H]⁺. RMN ¹H (d₆-DMSO) δ : 8,15 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,75 (d, *J* = 9,2 Hz, 1 H), 7,00 (s, 1 H), 5,93 (s a, 1 H), 5,38 (s a, 1 H), 4,21 (dd, *J*₁ = 6,8 Hz, *J*₂ = 2,148, 1 H), 4,1 (m, 1 H), 2,94 (s a, 2 H), 2,22-2,05 (m, 2 H), 1,93 (c, *J* = 6,8, 1 H), 1,68 (m, 1 H), 1,6-1,2 (m, 7 H), 1,17 (t, *J* = 7,6, 2 H), 0,86-0,80 (dd, *J*₁ = 6,8 Hz, *J*₂ = 9,0, 6 H).

Ejemplo 6

Preparación de MC-Val-Cit-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OtBu (compuesto 105)

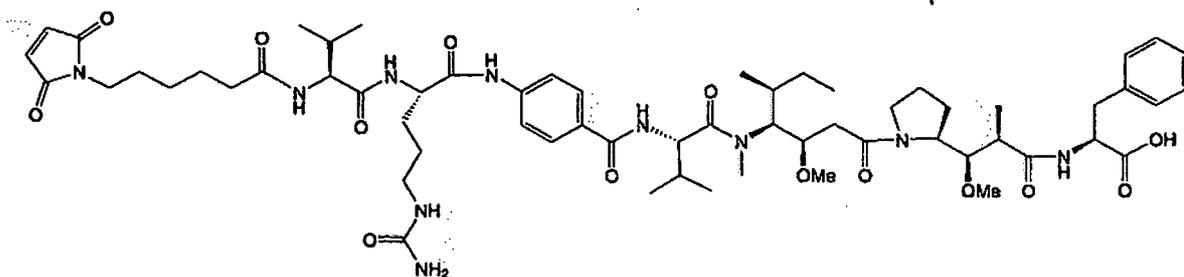


25 4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OtBu (compuesto 100, 97 mg, 0,122 mmol) y MC-Val-Cit-OH (compuesto 104, 69 mg, 0,146 mmol) se suspendieron en DMF anhidra (3 ml). Se añadió HATU (70. mg, 0,183 mmol, 1,5 equiv.) seguido de piridina (0,04 ml, 0,488 mmol). Después de 16 h a temperatura ambiente, la reacción no estaba completa, de forma que se añadieron reactivos adicionales (0,024 mmol de MC-Val-Cit-OH; y 0,024 mmol de HATU) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 h más. La solución se diluyó con CH₂Cl₂ (60 ml) y se lavó con HCl 0,1 M (ac.) (2 x 100 ml). La capa orgánica se concentró al vacío, y el residuo en bruto se purificó por cromatografía radial (Chromatotron) usando un gradiente escalonado de 0-5-10% MeOH/CH₂Cl₂, dando como resultado 80 mg (0,064 mmol, 53% de rendimiento) de compuesto 105. ES-MS *m/z* 1243,26 [M+H]⁺; 1265,13 [M+Na]⁺; 1241,35 [M-H]⁻.

Ejemplo 7

Preparación de MC-Val-Cit-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe (compuesto 106)

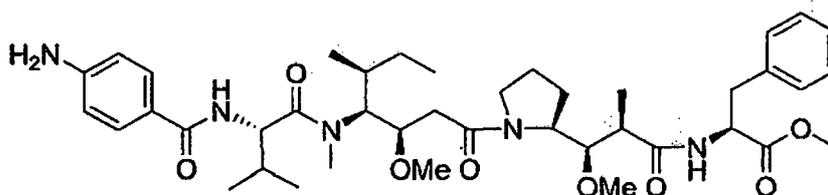
35



El compuesto **105** (80 mg, 0.064 mmol) se suspendió en CH₂Cl₂ anhidro (5 ml) y TFA (5 ml). Esta mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Los compuestos orgánicos volátiles se evaporaron al vacío, y el producto se aisló mediante RP-HPLC preparativa, utilizando una columna Phenomenex C₁₂ Synergi Max-RP 80Å (250 x 21,20 mm). Eluyente: gradiente lineal 10 % a 90 % de MeCN/0,05 % de TFA (ac) durante 8 minutos, a continuación isocrático 90 % de MeCN/0,05 % de TFA (ac) durante 12 minutos más. El producto se obtuvo en forma de un sólido de color blanco (69 mg, 0,058 mmol, 91% de rendimiento). ES-MS *m/z* 1187,41 [M+H]⁺; 1185,63 [M-H]⁻.

10 Ejemplo 8

Preparación de 4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OMe (compuesto 107)



A una suspensión a temperatura ambiente de Boc-Dap-OH (6,31 g, 22 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (100 ml) se añadió HCl x Phe-OMe (5,2 g, 24,2 mmol), DEPC (6,7 ml, 44 mmol) y DIEA (11,5 ml, 65,9 mmol). Esta mezcla de reacción se agitó durante 16 h, se diluyó con acetato de etilo (500 ml) y se lavó secuencialmente con HCl 0,1 M (2 x 300 ml), H₂O (300 ml), NaHCO₃ saturado (2 x 300 ml) y H₂O (300 ml). La capa orgánica se secó con MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. Este aceite bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo 20-100%/hexanos. Boc-Dap-Phe-OMe se obtuvo en forma de una espuma de color blanco (8,85 g, 19,7 mmol, 90% de rendimiento).

A una suspensión de Cbz-Val-Dil-OH (3,35 g, 7,68 mmol) y Boc-Dap-Phe-OMe (3,44 g, 7,68 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (10 ml) se añadió TFA (10 ml). Esta mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con tolueno y xilenos (1:1, 50 ml) y todos los compuestos orgánicos volátiles se evaporaron al vacío. El residuo en bruto se diluyó en CH₂Cl₂ anhidro, seguido de la adición de DIEA (5,35 ml, 30,7 mmol) y DEPC (1,75 ml, 11,5 mmol). Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, los compuestos orgánicos volátiles se retiraron al vacío, y el residuo en bruto se diluyó con acetato de etilo (250 ml). Esta solución en bruto se lavó secuencialmente con HCl ac. 0,1 M (2 x 30,0 ml), H₂O (300 ml), solución ac. saturada de NaHCO₃ (2 x 300 ml) y H₂O (300 ml). La capa orgánica se secó con MgSO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. Este aceite bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo 20-100%/hexanos. Cbz-Val-Dil-Dap-Phe-OMe se obtuvo en forma de una espuma de color amarillo claro (3,5 g, 4,56 mmol, 59% de rendimiento) y se usó directamente en la siguiente etapa.

Cbz-Val-Dil-Dap-Phe-OMe (3,50 g, 4,56 mmol) se disolvió en etanol anhidro (100 ml) y a esto se añadió paladio al 10 %/carbono (~1 g). El aire en el matraz se sustituyó por hidrógeno gaseoso, y esta mezcla a temperatura ambiente mixture se agitó durante 16 h. Después, la mezcla se filtró a través de celite (prelavado con metanol), y se concentró dando como resultado una espuma de color blanco (2,81 g, 4,44 mmol, 97% de rendimiento). ES-MS *m/z* 633,47 [M+H]⁺.

A una suspensión de Val-Dil-Dap-Phe-OMe (59 mg, 0.093 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) anhidro se añadió Boc-4-Abz-OH (24 mg, 0,103 mmol), DEPC (0,028 ml, 0,186 mmol) y DIEA (0,057 ml, 0,326 mmol). La reacción se dejó en agitación durante 16 h a temperatura ambiente. El producto se purificó por radial cromatografía (Chromatotron, gradiente 0-5%: MeOH/CH₂Cl₂). ES-MS *m/z* 852,56 [M+H]⁺; 874,54 [M+Na]⁺; 850,66 [M-H]⁻.

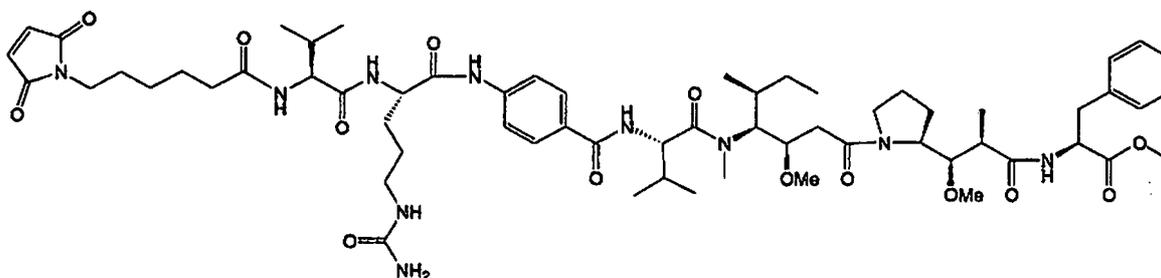
Boc-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OMe se diluyó en CH₂Cl₂ anhidro (2 ml). Se añadió HCl 4 M en dioxano (1 ml) y la

reacción se agitó durante 3 h. Los compuestos orgánicos volátiles se evaporaron al vacío, y el residuo se purificó por radial cromatografía (Chromatotron, gradiente 0-5%: MeOH/CH₂Cl₂). 4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-PMe (compuesto **107**) se aisló en forma de un sólido de color blanco (31 mg, 0,0393 mmol, 42% de rendimiento). ES-MS *m/z* 752,52 [M+H]⁺; 774,49 [M+Na]⁺; 750,63 [M-H]⁻.

5

Ejemplo 9

Preparación de MC-Val-Cit-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OMe (compuesto **108**)



10

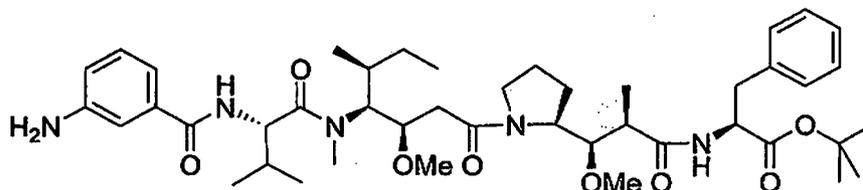
4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OMe (compuesto **107**, 31 mg, 0,039 mmol) y MC-Val-Cit-OH (18 mg, 0,039 mmol) se suspendieron en DMF anhidra (0,5 ml). HATU (18 mg, 0,047 mmol, 1,2 equiv.) se añadió seguido de piridina (0,01 ml, 0,12 mmol) y DIEA (0,007 ml, 0,039 mmol). Después de 16 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío, y el residuo se purificó primero por cromatografía radial (Chromatotron, gradiente escalonado 0-5-10% MeOH/CH₂Cl₂), a continuación mediante RP-HPLC preparativa, utilizando una columna Phenomenex C₁₂ Synergi Max-RP 80Å (250 x 21,20 mm). Eluyente: gradiente lineal 10 % a 90 % de MeCN/0,05 % de TFA (ac) durante 8 minutos, a continuación isocrático 90 % de MeCN/0,05 % de TFA (ac) durante 12 minutos más. MC-Val-Cit-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OMe (compuesto **108**) se obtuvo en forma de un sólido vítreo (1,34 mg, 0,001 mmol, 2,8% de rendimiento). ES-MS *m/z* 1201,46 [M+H]⁺; 1223,43 [M+Na]⁺; 1199,55 [M-H]⁻.

20

Ejemplo 10

Preparación de 3-Abz-Val-Dil-Dap-Phe-OtBu (compuesto **109**)

25

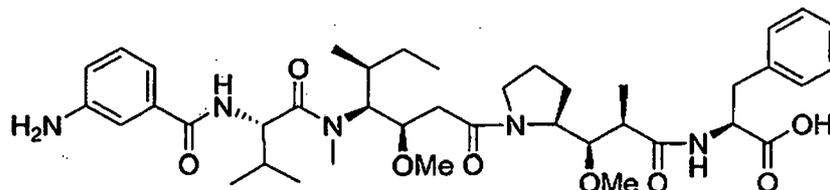


El compuesto **109** se preparó como se describe en el Ejemplo 1 usando Fmoc-3-Abz-OH. ES-MS, *m/z* 794,38 [M+H]⁺.

30

Ejemplo 11

Preparación de 3-Abz-Val-Dil-Dap-Phe (compuesto **110**)



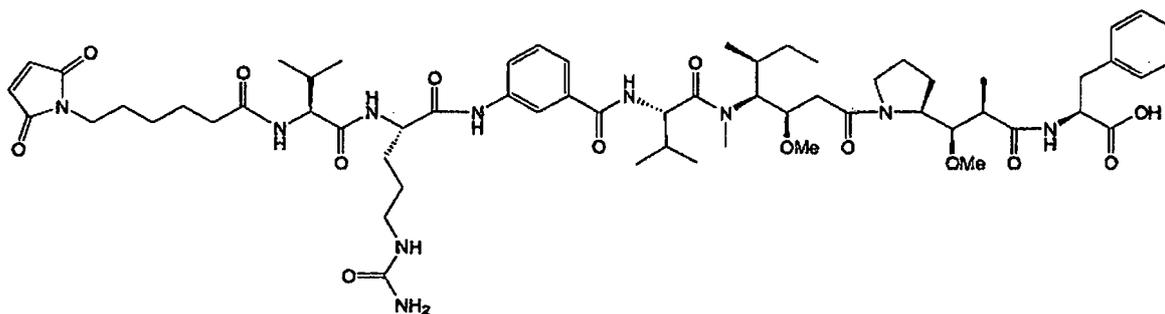
35

El compuesto **110** se preparó a partir del Compuesto **109** se describe en el Ejemplo 4. ES-MS *m/z* 738,37 [M+H]⁺.

40

Ejemplo 12

Preparación de MC-Val-Cit-4-Abz-Val-Dil-Dap-Phe (compuesto **111**)



El compuesto 111 se preparó a partir del Compuesto 109 de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos 6 y 7. ES-MS m/z 1187,41 $[M+H]^+$.

5

Ejemplo 13

Datos citotóxicos *in vitro* para los fármacos

La Tabla 6 resume la actividad citotóxica de MMAF, **100**, **103**, **107** sobre líneas de células de carcinoma de mama humano H3396 y de linfoma anaplásico de células grandes Karpas-299 que se sometieron a ensayo. Para evaluar la citotoxicidad de los compuestos **100**, **103**, y **107**, las células se sembraron a aproximadamente 10.000 por pocillo en 150 μ l de medio de cultivo que contenía dosis escalonadas de los Compuestos **100**, **103**, y **107** por cuadruplicado al inicio del ensayo. Los ensayos de citotoxicidad se llevaron a cabo durante 96 horas. Cincuenta μ l de colorante alamarBlue™ se pueden añadir a cada pocillo en las últimas 4 a 6 horas de la incubación para evaluar las células viables al final del cultivo.

Se determinó la reducción del colorante mediante espectrometría de fluorescencia utilizando longitudes de onda de excitación y emisión de 535 nm y 590 nm, respectivamente. Para el análisis, se comparó la extensión de la reducción de alamarBlue™ por las células tratadas con la de las células del control sin tratar.

20

Los datos muestran que los fármacos tienen una potencia similar a la de los correspondientes derivados de MMAF.

Tabla 6

Fármacos	Valores de CI_{50} (nM)	
	H3396	Karpas 299
MMAE	0,8	0,13
MMAF	104	130
Compuesto 100	17,8	1,8
Compuesto 103	>100	43
Compuesto 107	0,003	0,12

25

Ejemplo 14

Datos citotóxicos *in vitro* para los conjugados

La Tabla 7 muestra el efecto citotóxico de los Conjugados cAC10 que tienen un promedio 4 fármacos por anticuerpo, evaluada como se ha descrito anteriormente en una línea de células CD30+ Karpas 299.

30

Tabla 7.

Conjugados (los 4 fármacos/Ab)	IC_{50} (ng/ ml)
cAC10-vc-MMAF	0,75
cAC10- 102	1,0
cAC10- 106	1,3
cAC10- 108	2,5

Ejemplo 15

Datos de toxicidad en ratón para el conjugado cAC10-108

La Figura 1 muestra la toxicidad del conjugada cAC10-108 en ratones. Grupos de ratones (3/grupo) se trataron con 100 mg/kg de componente de anticuerpo de cAC10-Val-Cit-PABC-MMAF y cAC10-108 que tienen un promedio de 4

40

fármacos por anticuerpo. Como se muestra en la Figura, cAC10-108 presenta poca toxicidad en ratones.

Ejemplo 16

5 Datos de eficacia *in vitro* para el conjugado cAC10-108

La Figura 2 muestra la eficacia de los conjugados cAC10 que tienen un promedio 4 fármacos por anticuerpo en ratones SCID. Grupos de ratones (4/grupo) con tumores ALCL subcutáneos Karpas 299 humanos (cAC10 Ag⁺) de aproximadamente 100 mm³ de tamaño promedio se trataron con cAC10-Val-Cit-PABC-MMAE o cAC10-108 a 10 1 mg/kg de componente de anticuerpo. Como se muestra en la Figura, el tratamiento con cAC10-108 reduce el tamaño del tumor, en comparación con los controles no tratados.

REIVINDICACIONES

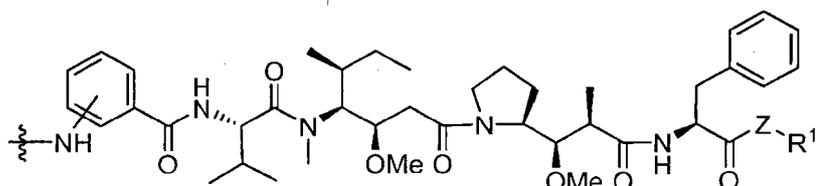
1. Un Compuesto de fármaco que tiene la Fórmula:

5 H-D

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;

en la que -D es una Unidad de fármaco de la siguiente fórmula:

10



10

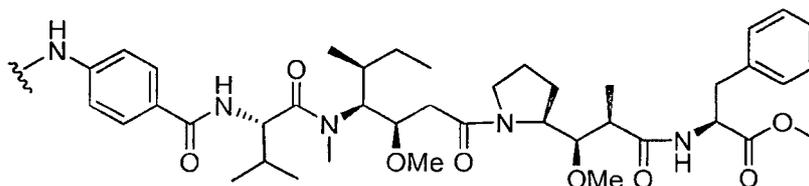
la línea ondulada representa la unión con H, en donde el aminobenzoilo del extremo N es p-aminobenzoilo o m-aminobenzoilo;

15 Z es -O-; y

R¹¹ se selecciona entre el grupo que consiste en -H y -alquilo C₁-C₈.

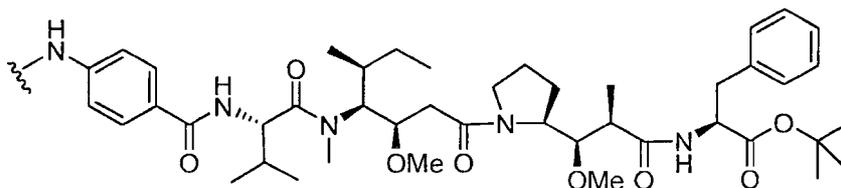
2. El Compuesto de fármaco de la reivindicación 1 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que -D es una Unidad de fármaco que tiene la siguiente fórmula:

20



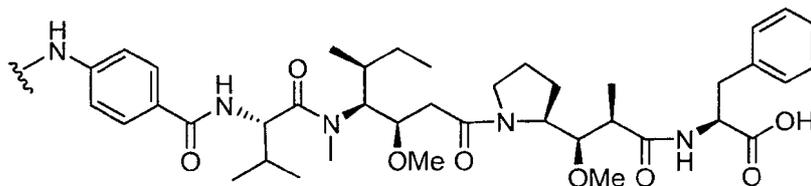
3. El Compuesto de fármaco de la reivindicación 1 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que -D es una Unidad de fármaco que tiene la siguiente fórmula:

25



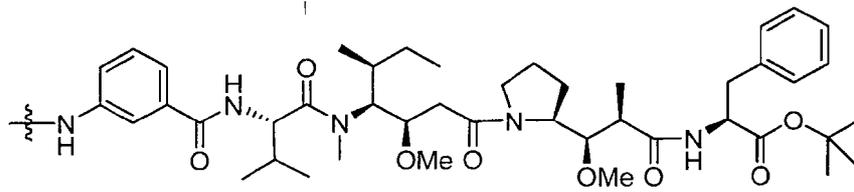
4. El Compuesto de fármaco de la reivindicación 1 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que -D es una Unidad de fármaco que tiene la siguiente fórmula:

30



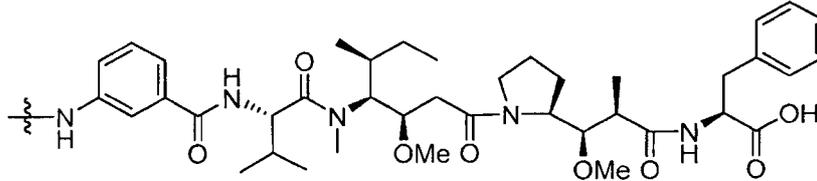
5. El Compuesto de fármaco de la reivindicación 1 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que -D es una Unidad de fármaco que tiene la siguiente fórmula:

35

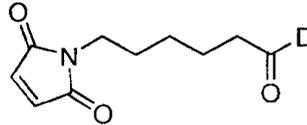


6. El Compuesto de fármaco de la reivindicación 1 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que -D es una Unidad de fármaco que tiene la siguiente fórmula:

5



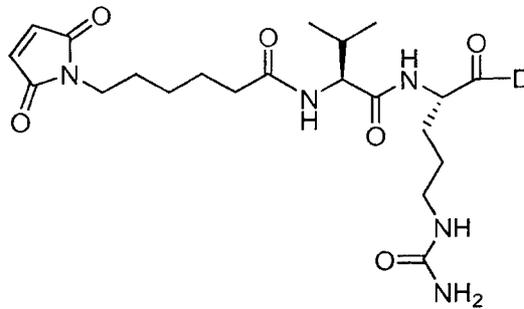
7. Un Conjugado de Fármaco-Enlazador que tiene la siguiente fórmula:



10

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que D es la Unidad de fármaco de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6.

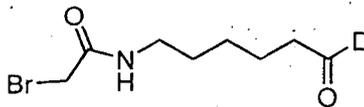
15 8. Un Conjugado de Fármaco-Enlazador que tiene la siguiente fórmula:



20

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que D es la Unidad de fármaco de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6.

9. Un Conjugado de Fármaco-Enlazador que tiene la siguiente fórmula:

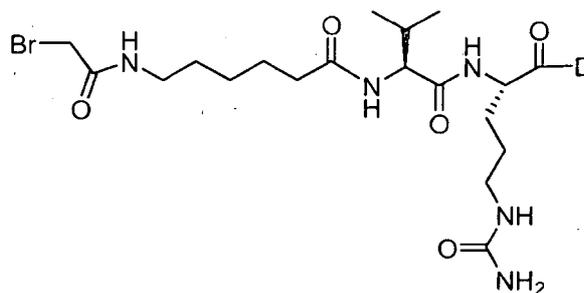


25

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que D es la Unidad de fármaco de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6.

10. Un Conjugado de Fármaco-Enlazador que tiene la siguiente fórmula:

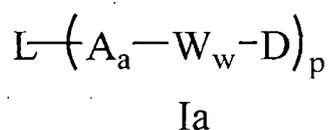
30



o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que D es la Unidad de fármaco de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6.

5

11. Un Compuesto conjugado que tiene la Fórmula:

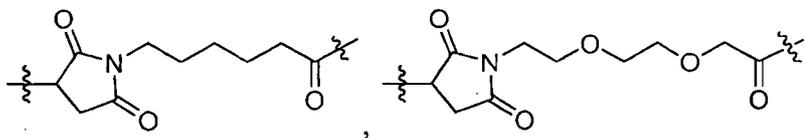


10 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo;
en la que:

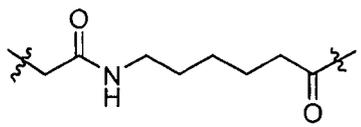
L- es una Unidad de ligando;

-A_a-W_w- es una Unidad de enlazador (LU), en la que:

15 -A- es una Unidad ensanchadora, en donde la Unidad ensanchadora se selecciona entre el grupo que consiste en:



20 y



25 a es 0 o 1,
cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido,
w es un número entero que varía entre 0 y 12;

p es un número entero que varía de 1 a aproximadamente 20; y

-D es una Unidad de fármaco tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-6
en donde la línea ondulada representa un enlace con una Unidad de ligando o una Unidad de enlazador.

30

12. El Compuesto conjugado de la reivindicación 11 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que la Unidad de ligando es un anticuerpo.

35 13. El Compuesto conjugado de la reivindicación 12 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que el anticuerpo se selecciona entre un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, un anticuerpo biespecifico y un fragmento funcionalmente activo de los mismos.

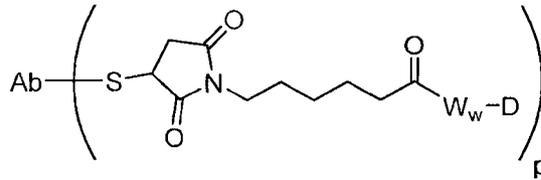
40 14. El Compuesto conjugado de la reivindicación 12 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que el anticuerpo se une inmunespecíficamente a CD70, CD30, CD33 o Lewis Y.

15. El Compuesto conjugado de la reivindicación 12 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que el anticuerpo está unido a la Unidad de enlazador a través de un resto cisteína del anticuerpo.

16. El Compuesto conjugado de la reivindicación 12 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en el que p es de 2 a 8.

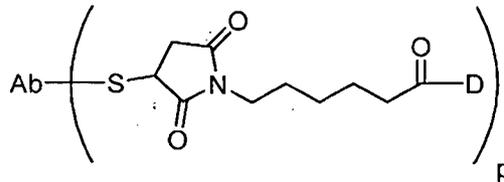
5 17. El Compuesto conjugado de la reivindicación 16 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde p es 4.

18. El Compuesto conjugado de la reivindicación 12, que tiene la fórmula:



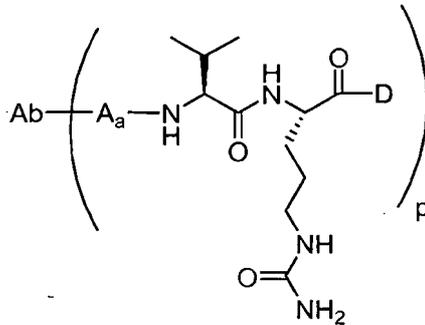
10 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que Ab es un anticuerpo y S es un átomo de azufre del anticuerpo.

15 19. El Compuesto conjugado de la reivindicación 12, que tiene la fórmula:



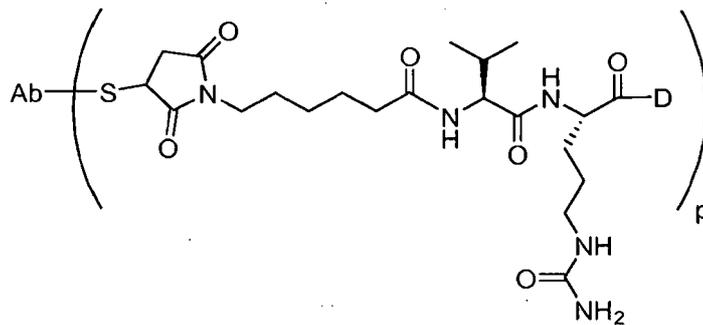
20 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que Ab es un anticuerpo y S es un átomo de azufre del anticuerpo.

20. El Compuesto conjugado de la reivindicación 12, que tiene la fórmula:



25 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que Ab es un anticuerpo.

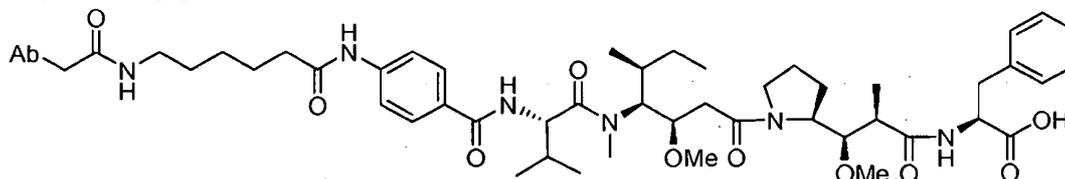
21. El Compuesto conjugado de la reivindicación 20, que tiene la fórmula:



30 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que Ab es un anticuerpo y S es un átomo de

azufre del anticuerpo.

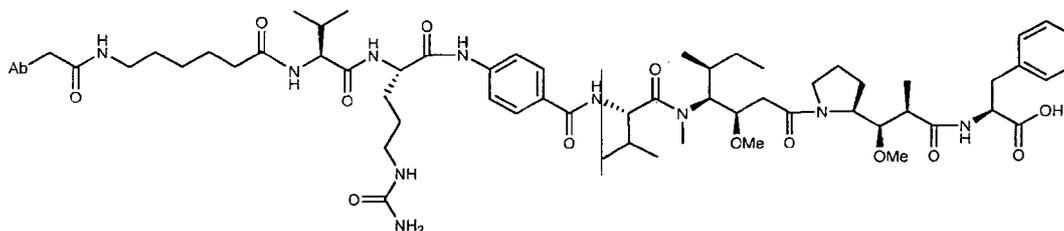
22. El Compuesto conjugado de la reivindicación 12, que tiene la fórmula:



5

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que Ab es un anticuerpo.

23. El Compuesto conjugado de la reivindicación 12, que tiene la fórmula:



10

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que Ab es un anticuerpo.

24. Un Compuesto conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 11-23, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo para su uso en un método para destruir o inhibir la proliferación de células tumorales o de células cancerosas.

25. Un Compuesto conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 11-23, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo para su uso en un método para tratar el cáncer.

20

26. El Compuesto conjugado para su uso de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el Compuesto conjugado o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo se usan con una cantidad eficaz de un agente antineoplásico adicional, un agente inmunosupresor o un agente antiinfeccioso.

27. El Compuesto conjugado para su uso de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el Compuesto conjugado o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo están formulados como una composición farmacéutica que comprende el Compuesto conjugado y un diluyente, un vehículo o un excipiente farmacéuticamente aceptables del mismo.

28. El Compuesto conjugado para su uso de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el Compuesto conjugado o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo están formulados para su administración en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 15 mg/kg de peso del paciente.

29. El Compuesto conjugado para su uso de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el Compuesto conjugado o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo están formulados para su administración parenteral o intravenosa.

30. El Compuesto conjugado para su uso de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el Compuesto conjugado o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo están formulados con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable.

31. Un Compuesto conjugado o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 11-23 para su uso en un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria.

32. Una composición farmacéutica, que comprende un Compuesto conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 11-23, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo; un recipiente; y un prospecto o una etiqueta que indican que el compuesto se puede usar para tratar el cáncer.

50

33. La composición farmacéutica de la reivindicación 32, en la que el Compuesto conjugado o la sal o el solvato farmacéuticamente aceptables del mismo están formulados como una forma en dosis unitaria inyectable.

Figura 1

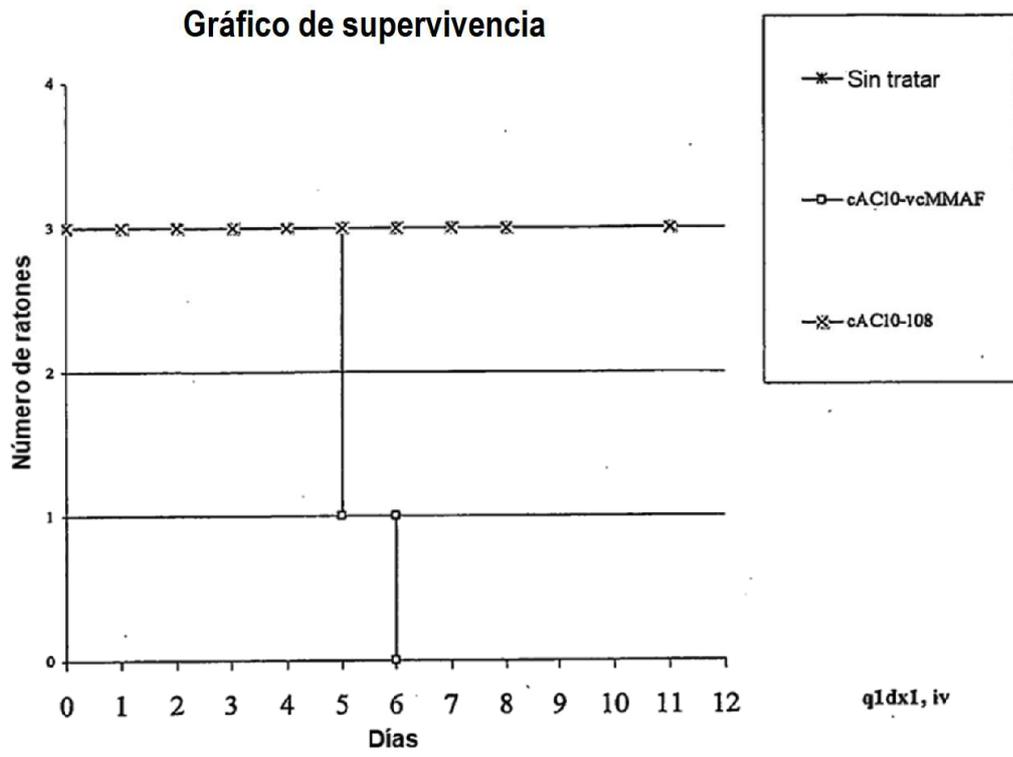


Figura 2

Eficacia de una sola dosis de ADC a 1 mg/kg en ratones SCID hembra con tumores Karpas

