

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 762 231**

51 Int. Cl.:

C07D 403/00 (2006.01)

A61K 47/68 (2007.01)

A61K 47/54 (2007.01)

A61K 47/64 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.11.2013 PCT/US2013/070142**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.05.2014 WO14078566**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.11.2013 E 13855289 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.10.2019 EP 2920167**

54 Título: **Compuestos y conjugados de hidrazinil-indol**

30 Prioridad:

16.11.2012 US 201261727603 P

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

22.05.2020

73 Titular/es:

**REDWOOD BIOSCIENCE, INC. (100.0%)
5703 Hollis Street
Emeryville, California 94608, US**

72 Inventor/es:

**KUDIRKA, ROMAS, ALVYDAS;
ALBERS, AARON, EDWARD;
BARFIELD, ROBYN, M. y
RABUKA, DAVID**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 762 231 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

Compuestos y conjugados de hidrazinil-indol

5 **Introducción**

El campo de los conjugados terapéuticos de proteína-molécula pequeña ha avanzado enormemente, proporcionando una serie de fármacos clínicamente beneficiosos con la promesa de proporcionar más en los años venideros. La terapéutica de proteína-conjugado puede proporcionar varias ventajas, debido a, por ejemplo, la especificidad, la multiplicidad de funciones y la actividad colateral relativamente baja, dando como resultado menos efectos secundarios. La modificación química de las proteínas puede ampliar estas ventajas al hacerlas más potentes, estables o multimodales.

Se usa habitualmente una serie de transformaciones químicas convencionales para crear y manipular modificaciones postraduccionales en proteínas. Existen varios métodos en los que se pueden modificar las cadenas laterales de determinados aminoácidos selectivamente. Por ejemplo, las cadenas laterales de ácido carboxílico (aspartato y glutamato) pueden modificarse mediante la activación inicial con un reactivo de carbodiimida hidrosoluble y la reacción posterior con una amina. Análogamente, la lisina puede modificarse mediante el uso de ésteres o isotiocianatos activados y los tioles de cisteína pueden modificarse con maleimidas y α -halo-carbonilos.

Un obstáculo importante para la creación de un producto terapéutico o reactivo proteico alterado químicamente es la producción de la proteína en una forma biológicamente activa y homogénea. La conjugación de un fármaco o marcador detectable con un polipéptido puede ser difícil de controlar, dando como resultado una mezcla heterogénea de conjugados que difieren en el número de moléculas de fármaco unidas y en la posición de la conjugación química. En algunos casos, puede ser deseable controlar el sitio de conjugación y/o el fármaco o marcador detectable conjugado con el polipéptido usando las herramientas de la química orgánica de síntesis para dirigir la formación precisa y selectiva de enlaces químicos en un polipéptido.

Antecedentes de la técnica

El documento WO 2008/019303 A2 (Enanta Pharmaceuticals, Inc.; 14 de febrero de 2008) describe determinados compuestos macrocíclicos de piridazinonilo que supuestamente inhiben la actividad serina proteasa, en particular la actividad de la proteasa NS3-NS4A del virus de la hepatitis C (VHC).

Mahmoud et al., 2007, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, Vol. 182, págs. 2507-2521, describe determinados métodos para la síntesis química de pirido[2,3-d]pirimidinas, tiazolo[3,2-a]piridinas, pirano[2,3-b]benzopirroles y pirido[2,3-d]benzopirroles usando los 3-aril-2-cianoacrilonitrilos correspondientes.

Agarwal et al., 28 de mayo de 2013, *Bioconjugate Chem.*, Vol. 24, págs. 846-851, describe una determinada reacción denominada la ligadura de hidrazino-Pictet-Spengler (HIPS) (en la que un grupo aldehído o cetona se hace reaccionar con un grupo hidrazina), que supuestamente tiene ventajas sobre los métodos de ligadura de hidrazona y oxima anteriores.

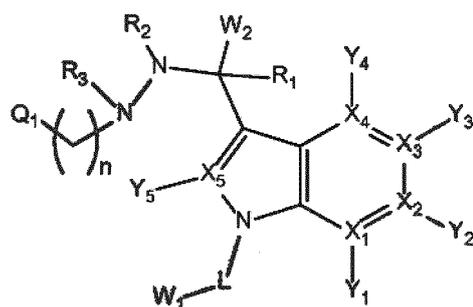
El documento WO 2010/117939 A1 (Schering Corporation; 14 de octubre de 2010) describe un determinado producto de combinación para tratar la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) que comprende un inhibidor del VHC y uno o más agentes terapéuticos seleccionados entre un inhibidor de la proteasa del VHC y/o uno o más agentes terapéuticos diferentes.

El documento US 2008/0031823 A1 (Bornhop et al.; 7 de febrero de 2008) describe determinados compuestos y métodos relacionados con la formación de imágenes moleculares del infrarrojo cercano (IRC), la formación de imágenes funcionales *in vitro* e *in vivo*, el seguimiento de la terapia/eficacia y la formación de imágenes de la actividad cancerosa y neoplásica.

Sumario

La presente divulgación proporciona estructuras conjugadas y compuestos de hidrazinil-indol utilizados para producir estos conjugados. En el presente documento también se describen métodos de producción de dichos conjugados, así como métodos de uso de los mismos.

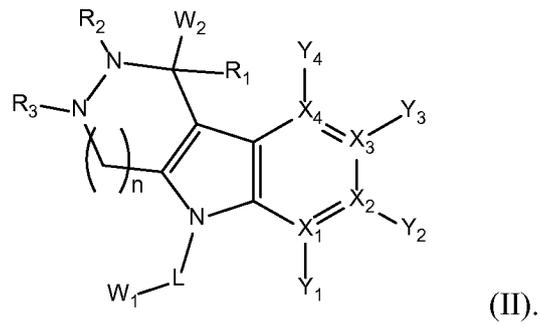
Las realizaciones de la presente divulgación incluyen un conjugado que incluye al menos un resto de aminoácido modificado de fórmula (I):



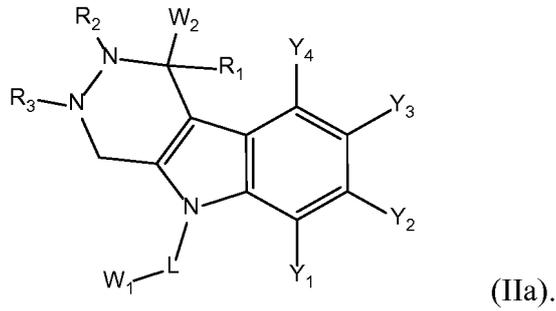
(I)

en la que

- 5 n es 0 o 1;
 R₁ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 10 X₂, X₃ y X₄ son cada uno C; X₁ es independientemente C o N; en la que si X₁ es N, entonces Y₁ está ausente; X₅ es C;
 Y₁, Y₂, Y₃, Y₄ e Y₅ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 20 Q₁ es un enlace con X₄ o X₅, en la que si Q₁ es un enlace con X₄, entonces Y₄ está ausente o si Q₁ es un enlace con X₅, entonces Y₅ está ausente; y
 L es un enlazador opcional,
 en la que uno de entre W₁ y W₂ es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable.
 25 En algunas realizaciones, Q₁ es un enlace con X₄ e Y₄ está ausente.
 En algunas realizaciones, Q₁ es un enlace con X₅ e Y₅ está ausente.
 30 En algunas realizaciones, n es 1.
 En algunas realizaciones, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido.
 En algunas realizaciones, R₂ y R₃ son cada uno metilo.
 35 En algunas realizaciones, X₁, X₂, X₃ y X₄ son cada uno C.
 En algunas realizaciones, Y₁, Y₂ e Y₃ son cada uno H, y uno de Y₄ o Y₅ es H.
 40 En algunas realizaciones, L está presente e incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido.
 45 En algunas realizaciones, L está presente e incluye un polímero. En algunas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.
 En algunas realizaciones, el marcador detectable incluye un fluoróforo.
 50 En algunas realizaciones, W₁ es el fármaco o el marcador detectable y W₂ es el polipéptido.
 En algunas realizaciones, W₁ es el polipéptido y W₂ es el fármaco o el marcador detectable.
 En algunas realizaciones, el conjugado incluye al menos un resto de aminoácido modificado de fórmula (II):
 55

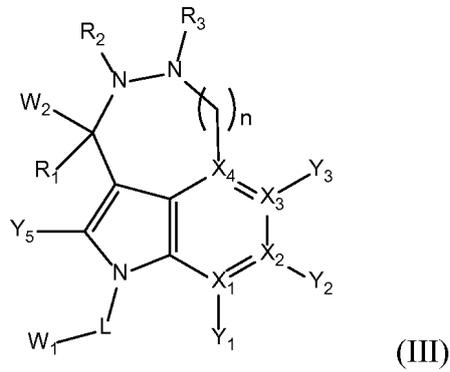


En algunas realizaciones, el conjugado incluye al menos un resto de aminoácido modificado de fórmula (IIa):



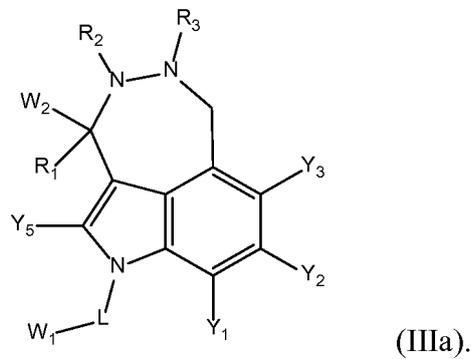
5

En algunas realizaciones, el conjugado incluye al menos uno resto de aminoácido modificado de fórmula (III):

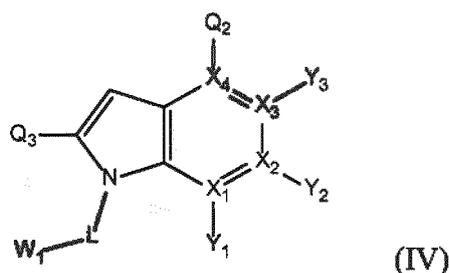


10

En algunas realizaciones, el conjugado incluye al menos uno resto de aminoácido modificado de fórmula (IIIa):

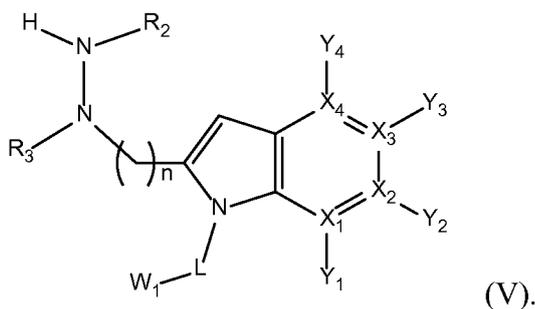


15 Las realizaciones de la presente divulgación incluyen un compuesto de fórmula (IV):

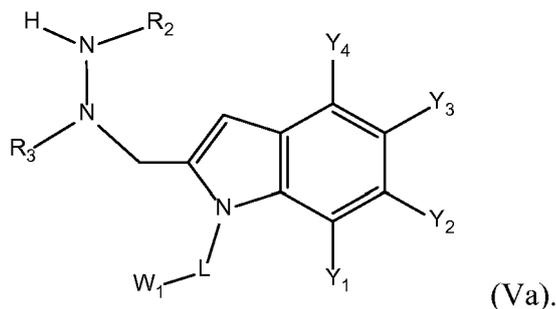


en la que

- 5 uno de entre Q_2 y Q_3 es $-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ y el otro es Y_4 ;
 n es 0 o 1;
 R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 X_2 , X_3 y X_4 son cada uno C; X_1 es independientemente C o N; en la que si X_1 es N, entonces Y_1 está ausente;
 Y_1 , Y_2 , Y_3 e Y_4 se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 L es un enlazador opcional; y
 W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido.
- 20 En algunas realizaciones, $Q_2-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ y Q_3 es Y_4 .
- En algunas realizaciones, $Q_3-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ y Q_2 es Y_4 .
- 25 En algunas realizaciones, n es 1.
- En algunas realizaciones, R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido.
- En algunas realizaciones, R_2 y R_3 son cada uno metilo.
- 30 En algunas realizaciones, X_1 , X_2 , X_3 y X_4 son cada uno C.
- En algunas realizaciones, Y_1 , Y_2 , Y_3 e Y_4 son cada uno H.
- 35 En algunas realizaciones, L está presente e incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido.
- 40 En algunas realizaciones, L está presente e incluye un polímero. En algunas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.
- En algunas realizaciones, el marcador detectable incluye un fluoróforo.
- 45 En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula (V):

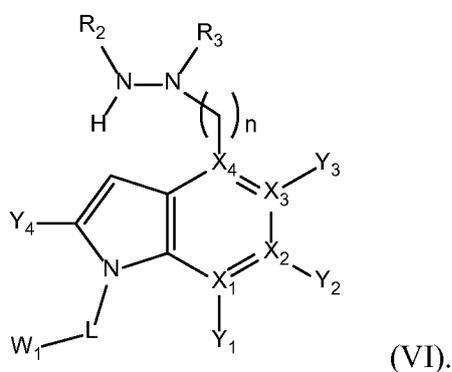


En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula (Va):

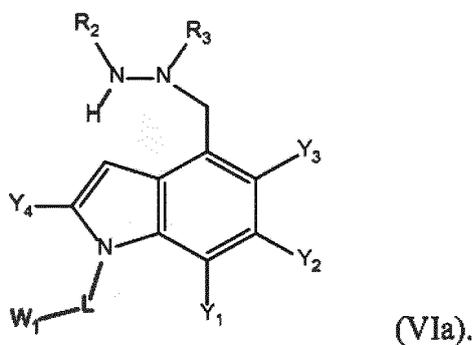


5

En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula (VI):



10 En algunas realizaciones, el compuesto es un compuesto de fórmula (VIa):



15 Las realizaciones de la presente divulgación incluyen un método de producción de un conjugado. El método incluye combinar en una mezcla de reacción un compuesto de fórmula (IV) y un segundo compuesto que incluye un grupo reactivo, donde la combinación es en condiciones de reacción adecuadas para promover la reacción entre el compuesto y el grupo reactivo del segundo compuesto para formar un conjugado. El método también incluye aislar el conjugado de la mezcla de reacción.

20 En algunas realizaciones, W_1 es el fármaco o el marcador detectable y el segundo compuesto es el polipéptido.

En algunas realizaciones, W_1 es el polipéptido y el segundo compuesto es el fármaco o el marcador detectable.

En algunas realizaciones, el grupo reactivo incluye un grupo aldehído reactivo o un grupo cetona reactivo.

25

En algunas realizaciones, la mezcla de reacción incluye agua.

En algunas realizaciones, la mezcla de reacción tiene un pH de 7.

30 En algunas realizaciones, las condiciones de reacción son a una temperatura de 37 °C.

Las realizaciones de la presente divulgación incluyen una composición farmacéutica que incluye un conjugado de

fórmula (I) y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento también se describe un método de entrega de un conjugado a un sujeto. El método incluye administrar al sujeto una cantidad eficaz de un conjugado de fórmula (I).

En el presente documento también se describe un método de tratamiento de una afección en un sujeto. El método incluye administrar al sujeto que tiene la afección una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que incluye un conjugado de fórmula (I), donde la administración es eficaz para tratar la afección en el sujeto.

Breve descripción de los dibujos

Las FIG. 1A y 1B muestran esquemas de reacción para la producción de un conjugado polipeptídico que incluye un resto de acoplamiento de hidrazinil-indol, de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación.

La FIG. 2A muestra un esquema de reacción para la síntesis de un marcador detectable funcionalizado, de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación. La FIG. 2B muestra un esquema de una reacción de conjugación del marcador detectable funcionalizado con un anticuerpo, de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación. La FIG. 2C muestra imágenes de geles SDS-PAGE que muestran los resultados de la reacción, de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación.

La FIG. 3 muestra imágenes de geles SDS-PAGE que muestran la estabilidad de un conjugado anticuerpo-marcador detectable durante un período de tiempo de 6 días, de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación.

La FIG. 4 muestra un trazo de columna de interacción hidrófoba (CIH) de anticuerpo marcado con aldehído conjugado con HIPS-6PEG-Maytansina, de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación.

La FIG. 5 muestra la cinética de reacciones de condensación de compuestos de amina modelo con benciloxiacetaldehído, de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación. La FIG. 5A muestra las estructuras químicas de un panel de aminas utilizado en el experimento. La FIG. 5B muestra un gráfico de porcentaje de conversión en producto en tampones de citrato de sodio (pH 4,0-5,5) o fosfato de sodio (pH 6,0-7,5). Las reacciones contenían benciloxiacetaldehído y amina 50 μ M y transcurrieron a temperatura ambiente durante 2 h antes del análisis mediante HPLC.

La FIG. 6 muestra trazos de HPLC para experimentos de cinética de moléculas pequeñas, que muestran la reacción del Compuesto 4 (FIG. 6A), el Compuesto 6 (FIG. 6B), el Compuesto 7 (FIG. 6C) y el Compuesto 8 (FIG. 6D) con benciloxiacetaldehído después de 2 h a pH 6,0, de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación. El benciloxiacetaldehído () y el verde de bromocresol (*), que se añadió como patrón interno, están marcados en cada cromatograma.

La FIG. 7 muestra el marcado fluorescente de proteínas que llevan aldehído con la ligadura HIPS y otras químicas comunes de bioconjugación de aldehído, de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación. La FIG. 7A muestra estructuras del reactivo de ligadura HIPS (Compuesto 9), el reactivo de hidrazida (Compuesto 10), el reactivo de ligadura Pictet-Spengler (Compuesto 11) y el reactivo aminooxi (Compuesto 12). Las exploraciones en gel muestran el marcado relativo de FGly-MBP (FIG. 7B), FGly- α -HER2 (FIG. 7C) y Mb transaminado en el extremo N con los reactivos 9-12 (FIG. 7D). En todos los casos, las soluciones de proteínas tamponadas a pH 6,0 se trataron con fluoróforo 400 μ M durante 2 h a 37 °C antes del análisis mediante SDS-PAGE.

La FIG. 8 muestra un gráfico de la hidrólisis del conjugado MBP-AF488 durante 5 días, de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación. Se incubó plasma humano que contenía conjugado MBP-AF488 10 μ g/ml, unido por una azacarbolina o una oxima, a 37 °C. Se analizaron mediante ELISA alícuotas tomadas con aproximadamente 12 h de separación. Las barras de error representan la desviación típica de seis muestras duplicadas.

DEFINICIONES

Los siguientes términos tienen los siguientes significados a menos que se indique otra cosa. Cualquier término sin definir tiene su significado reconocido en la técnica.

"Alquilo" se refiere a grupos hidrocarbilo alifáticos saturados monovalentes que tienen de 1 a 10 átomos de carbono y preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono. Este término incluye, a modo de ejemplo, grupos hidrocarbilo lineales y ramificados tales como metilo (CH₃-), etilo (CH₃CH₂-), n-propilo (CH₃CH₂CH₂-), isopropilo ((CH₃)₂CH-), n-butilo (CH₃CH₂CH₂CH₂-), isobutilo ((CH₃)₂CHCH₂-), sec-butilo ((CH₃)(CH₃CH₂)CH-), t-butilo ((CH₃)₃C-), n-pentilo (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂-) y neopentilo ((CH₃)₃CCH₂-).

La expresión "alquilo sustituido" se refiere a un grupo alquilo como se define en el presente documento en el que uno o más átomos de carbono en la cadena de alquilo se han reemplazado opcionalmente por un heteroátomo tal como -O-, -N-, -S-, -S(O)_n- (donde n es de 0 a 2), -NR- (donde R es hidrógeno o alquilo) y que tiene de 1 a 5 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alcoxi, alcoxi sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, acilo, acilamino, aciloxi, amino, aminoacilo, aminoaciloxi, oxiaminoacilo, azido, ciano, halógeno, hidroxilo, oxo, tioceto, carboxilo, carboxialquilo, tioariloxi, tioheteroariloxi,

tioheterociclooxi, tiol, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, ariloxi, heteroarilo, heteroariloxi, heterociclilo, heterociclooxi, hidroxiamino, alcoxi-amino, nitro, -SO-alquilo, -SO-arilo, -SO-heteroarilo, -SO₂-alquilo, -SO₂-arilo, -SO₂-heteroarilo y -NR^aR^b, en el que R' y R" pueden ser iguales o diferentes y se eligen entre hidrógeno, alquilo opcionalmente sustituido, cicloalquilo, alqueno, cicloalqueno, alquino, arilo, heteroarilo y heterocíclico.

5 "Alqueno" se refiere a grupos hidrocarbilo alifáticos divalentes que tienen preferentemente de 1 a 6 y más preferentemente de 1 a 3 átomos de carbono que son de cadena lineal o ramificada, y que están opcionalmente interrumpidos con uno o más grupos seleccionados entre -O-, -NR¹⁰-, -NR¹⁰C(O)-, -C(O)NR¹⁰- y similares. Este término incluye, a modo de ejemplo, metileno (-CH₂-), etileno (-CH₂CH₂-), n-propileno (-CH₂CH₂CH₂-), iso-propileno (-CH₂CH(CH₃)-), (-C(CH₃)₂CH₂CH₂-), (-C(CH₃)₂CH₂C(O)-), (-C(CH₃)₂CH₂C(O)NH-), (-CH(CH₃)CH₂-) y similares.

"Alqueno sustituido" se refiere a un grupo alqueno que tiene de 1 a 3 hidrógenos reemplazados por sustituyentes como se describen para los carbonos en la definición de "sustituido" a continuación.

15 El término "alcano" se refiere a grupo alquilo y grupo alqueno, como se define en el presente documento.

Los términos "alquilaminoalquilo", "alquilaminoalqueno" y "alquilaminoalquino" se refieren a los grupos R'NHR"- donde R' es un grupo alquilo como se define en el presente documento y R" es un grupo alqueno, alqueno o alquino como se define en el presente documento.

20 El término "alcarilo" o "aralquilo" se refiere a los grupos -alqueno-arilo y -alqueno sustituido-arilo donde alqueno, alqueno sustituido y arilo se definen en el presente documento.

25 "Alcoxi" se refiere al grupo -O-alquilo, en el que alquilo es como se define en el presente documento. Alcoxi incluye, a modo de ejemplo, metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, t-butoxi, sec-butoxi, n-pentoxi y similares. El término "alcoxi" también se refiere a los grupos alqueno-O-, cicloalqueno-O-, cicloalqueno-O- y alquino-O-, donde alqueno, cicloalquilo, cicloalqueno y alquino son como se definen en el presente documento.

30 La expresión "alcoxi sustituido" se refiere a los grupos alqueno-O- sustituido, alqueno-O- sustituido, cicloalqueno-O- sustituido, cicloalqueno-O- sustituido y alquino-O- sustituido donde alquilo sustituido, alqueno sustituido, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno sustituido y alquino sustituido son como se definen en el presente documento.

El término "alcoxi-amino" se refiere al grupo -NH-alcoxi, en el que alcoxi se define en el presente documento.

35 El término "haloalcoxi" se refiere a los grupos alqueno-O- en los que uno o más átomos de hidrógeno en el grupo alquilo se han sustituido con un grupo halo e incluyen, a modo de ejemplos, grupos tales como trifluorometoxi y similares.

40 El término "haloalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido como se ha descrito anteriormente, en el que uno o más átomos de hidrógeno en el grupo alquilo se han sustituido con un grupo halo. Los ejemplos de dichos grupos incluyen, sin limitación, grupos fluoroalquilo, tales como trifluorometilo, difluorometilo, trifluoroetilo y similares.

45 El término "alquilalcoxi" se refiere a los grupos -alqueno-O-alquilo, alqueno-O-alquilo sustituido, alqueno sustituido-O-alquilo y alqueno sustituido-O-alquilo sustituido en los que alquilo, alquilo sustituido, alqueno y alqueno sustituido son como se definen en el presente documento.

50 El término "alquiloalcoxi" se refiere al grupo -alqueno-S-alquilo, alqueno-S-alquilo sustituido, alqueno sustituido-S-alquilo y alqueno sustituido-S-alquilo sustituido en los que alquilo, alquilo sustituido, alqueno y alqueno sustituido son como se definen en el presente documento.

55 "Alqueno" se refiere a grupos hidrocarbilo de cadena lineal o ramificada que tienen de 2 a 6 átomos de carbono y preferentemente de 2 a 4 átomos de carbono y que tienen al menos 1 y preferentemente de 1 a 2 sitios de insaturación de doble enlace. Este término incluye, a modo de ejemplo, bi-vinilo, alilo y but-3-en-1-ilo. Se incluyen dentro de este término los isómeros cis y trans o mezclas de estos isómeros.

60 La expresión "alqueno sustituido" se refiere a un grupo alqueno como se define en el presente documento que tiene de 1 a 5 sustituyentes o de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre alcoxi, alcoxi sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, acilo, acilamino, aciloxi, amino, amino sustituido, aminoacilo, aminoaciloxi, oxiaminoacilo, azido, ciano, halógeno, hidroxilo, oxo, tioceto, carboxilo, carboxialquilo, tioariloxi, tioheteroariloxi, tioheterociclooxi, tiol, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, ariloxi, heteroarilo, heteroariloxi, heterociclilo, heterociclooxi, hidroxiamino, alcoxi-amino, nitro, -SO-alquilo, -SO-alquilo sustituido, -SO-arilo, -SO-heteroarilo, -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-arilo y -SO₂-heteroarilo.

65 "Alquino" se refiere a grupos hidrocarbilo monovalentes lineales o ramificados que tienen de 2 a 6 átomos de carbono y preferentemente de 2 a 3 átomos de carbono y que tienen al menos 1 y preferentemente de 1 a 2 sitios de insaturación de triple enlace. Los ejemplos de dichos grupos alquino incluyen acetileno (-C≡CH) y propargilo (-

$\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$).

La expresión "alquinilo sustituido" se refiere a un grupo alquinilo como se define en el presente documento que tiene de 1 a 5 sustituyentes o de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre alcoxi, alcoxi sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, acilo, acilamino, aciloxi, amino, amino sustituido, aminoacilo, aminoaciloxi, oxiaminoacilo, azido, ciano, halógeno, hidroxilo, oxo, tioceto, carboxilo, carboxialquilo, tioariloxi, tioheteroariloxi, tioheterociclooxi, tiol, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, ariloxi, heteroarilo, heteroariloxi, heterociclilo, heterociclooxi, hidroxiamino, alcoxi-amino, nitro, -SO-alquilo, -SO-alquilo sustituido, -SO-arilo, -SO-heteroarilo, -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-arilo y -SO₂-heteroarilo.

"Alquiniloxi" se refiere al grupo -O-alquinilo, en el que alquinilo es como se define en el presente documento. Alquiniloxi incluye, a modo de ejemplo, etiniloxi, propiniloxi y similares.

"Acilo" se refiere a los grupos H-C(O)-, alquil-C(O)-, alquil sustituido-C(O)-, alqueni-C(O)-, alqueni sustituido-C(O)-, alquil-C(O)-, alquil sustituido-C(O)-, cicloalquil-C(O)-, cicloalquil sustituido-C(O)-, cicloalqueni-C(O)-, cicloalqueni sustituido-C(O)-, aril-C(O)-, aril sustituido-C(O)-, heteroaril-C(O)-, heteroaril sustituido-C(O)-, heterocicli-C(O)- y heterocicli sustituido-C(O)-, en los que alquilo, alquilo sustituido, alqueni, alqueni sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en el presente documento. Por ejemplo, acilo incluye el grupo "acetilo" $\text{CH}_3\text{C(O)-}$

"Acilamino" se refiere a los grupos -NR²⁰C(O)alquilo, -NR²⁰C(O)alquilo sustituido, N R²⁰C(O)cicloalquilo, -NR²⁰C(O)cicloalquilo sustituido, -NR²⁰C(O)cicloalqueno, -NR²⁰C(O)cicloalqueno sustituido, -NR²⁰C(O)alqueni, -NR²⁰C(O)alqueni sustituido, -NR²⁰C(O)alquinilo, -NR²⁰C(O)alquinilo sustituido, -NR²⁰C(O)arilo, -NR²⁰C(O)arilo sustituido, -NR²⁰C(O)heteroarilo, -NR²⁰C(O)heteroarilo sustituido, -NR²⁰C(O)heterociclilo y -NR²⁰C(O)heterociclilo sustituido, en los que R²⁰ es hidrógeno o alquilo y en los que alquilo, alquilo sustituido, alqueni, alqueni sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en el presente documento.

"Aminocarbonilo" o el término "aminoacilo" se refieren al grupo -C(O)NR²¹R²², en el que R²¹ y R²² se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueni, alqueni sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido y donde R²¹ y R²² están opcionalmente unidos junto con el nitrógeno unido a los mismos para formar un grupo heterocíclico o heterocíclico sustituido y en el que alquilo, alquilo sustituido, alqueni, alqueni sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en el presente documento.

"Aminocarbonilamino" se refiere al grupo -NR²¹C(O)NR²²R²³ donde R²¹, R²² y R²³ se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo, o donde dos grupos R se unen para formar un grupo heterociclilo.

La expresión "alcoxicarbonilamino" se refiere al grupo -NRC(O)OR donde cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, heteroarilo o heterociclilo en el que alquilo, alquilo sustituido, arilo, heteroarilo y heterociclilo son como se definen en el presente documento.

El término "aciloxi" se refiere a los grupos alquil-C(O)O-, alquil sustituido-C(O)O-, cicloalquil-C(O)O-, cicloalquil sustituido-C(O)O-, aril-C(O)O-, heteroaril-C(O)O- y heterocicli-C(O)O- en los que alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, arilo, heteroarilo y heterociclilo son como se definen en el presente documento.

"Aminosulfonilo" se refiere al grupo -SO₂NR²¹R²², en el que R²¹ y R²² se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueni, alqueni sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterocíclico, heterociclilo sustituido y donde R²¹ y R²² se unen opcionalmente junto con el nitrógeno unido a los mismos para formar un grupo heterocíclico o heterocíclico sustituido y alquilo, alquilo sustituido, alqueni, alqueni sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en el presente documento.

"Sulfonilamino" se refiere al grupo -NR²¹SO₂R²², en el que R²¹ y R²² se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueni, alqueni sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido, y donde R²¹ y R²² se unen opcionalmente junto con los átomos unidos a los mismos para formar un grupo heterocíclico o heterocíclico sustituido y en el que

alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en el presente documento.

5 "Arilo" o "Ar" se refiere a un grupo carbocíclico aromático monovalente de 6 a 18 átomos de carbono que tiene un solo anillo (tal como el que está presente en un grupo fenilo) o un sistema de anillos que tiene múltiples anillos condensados (los ejemplos de dichos sistemas de anillos aromáticos incluyen naftilo, antrilo e indanilo) cuyos anillos condensados pueden o no ser aromáticos, a condición de que el punto de unión sea a través de un átomo de un anillo aromático. Este término incluye, a modo de ejemplo, fenilo y naftilo. A menos que queden limitados de otro modo por la definición para el sustituyente arilo, dichos grupos arilo pueden estar opcionalmente sustituidos con de 1 a 5 sustituyentes o de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre aciloxi, hidroxilo, tiol, acilo, alquilo, alcoxi, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, alquilo sustituido, alcoxi sustituido, alquenilo sustituido, alquinilo sustituido, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo sustituido, amino, amino sustituido, aminoacilo, acilamino, alcarilo, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, carboxialquilo, ciano, halógeno, nitro, heteroarilo, heteroariloxi, heterociclilo, heterociclooxi, aminoaciloxi, oxiamino, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioheteroariloxi, -SO-alquilo, -SO-alquilo sustituido, -SO-arilo, -SO-heteroarilo, -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-arilo, -SO₂-heteroarilo y trihalometilo.

"Arioxi" se refiere al grupo -O-arilo, en el que arilo es como se define en el presente documento, incluyendo, a modo de ejemplo, fenoxi, naftoxi y similares, incluyendo grupos arilo opcionalmente sustituidos como también se define en el presente documento.

"Amino" se refiere al grupo -NH₂.

La expresión "amino sustituido" se refiere al grupo -NRR donde cada R se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, heteroarilo y heterociclilo, a condición de que al menos un R no sea hidrógeno.

El término "azido" se refiere al grupo -N₃.

"Carboxilo", "carboxi" o "carboxilato" se refiere a -CO₂H o sales del mismo.

"Éster de carboxilo" o "carboxi éster" o los términos "carboxialquilo" o "carboxialquilo" se refieren a los grupos -C(O)O-alquilo, -C(O)O-alquilo sustituido, -C(O)O-alquenilo, -C(O)O-alquenilo sustituido, -C(O)O-alquinilo, -C(O)O-alquinilo sustituido, -C(O)O-arilo, -C(O)O-arilo sustituido, -C(O)O-cicloalquilo, -C(O)O-cicloalquilo sustituido, -C(O)O-cicloalquenilo, -C(O)O-cicloalquenilo sustituido, -C(O)O-heteroarilo, -C(O)O-heteroarilo sustituido, -C(O)O-heterociclilo y -C(O)O-heterociclilo sustituido, en los que alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en el presente documento.

"(Carboxil éster) oxo" o "carbonato" se refiere a los grupos -O-C(O)O-alquilo, -O-C(O)O-alquilo sustituido, -O-C(O)O-alquenilo, -O-C(O)O-alquenilo sustituido, -O-C(O)O-alquinilo, -O-C(O)O-alquinilo sustituido, -O-C(O)O-arilo, -O-C(O)O-arilo sustituido, -O-C(O)O-cicloalquilo, -O-C(O)O-cicloalquilo sustituido, -O-C(O)O-cicloalquenilo, -O-C(O)O-cicloalquenilo sustituido, -O-C(O)O-heteroarilo, -O-C(O)O-heteroarilo sustituido, -O-C(O)O-heterociclilo y -O-C(O)O-heterociclilo sustituido, en los que alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en el presente documento.

"Ciano" o "nitrilo" se refiere al grupo -CN.

"Cicloalquilo" se refiere a grupos alquilo cíclicos de 3 a 10 átomos de carbono que tienen anillos cíclicos únicos o múltiples que incluyen sistemas de anillos condensados, unidos y espiro. Los ejemplos de grupos cicloalquilo adecuados incluyen, por ejemplo, adamantilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclooctilo y similares. Dichos grupos cicloalquilo incluyen, a modo de ejemplo, estructuras de anillo único, tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclooctilo y similares, o estructuras de anillos múltiples tales como adamantanilo y similares.

La expresión "cicloalquilo sustituido" se refiere a grupos cicloalquilo que tienen de 1 a 5 sustituyentes o de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre alquilo, alquilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, acilo, acilamino, aciloxi, amino, amino sustituido, aminoacilo, aminoaciloxi, oxiaminoacilo, azido, ciano, halógeno, hidroxilo, oxo, tioceto, carboxilo, carboxialquilo, tioariloxi, tioheteroariloxi, tioheterociclooxi, tiol, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, ariloxi, heteroarilo, heteroariloxi, heterociclilo, heterociclooxi, hidroxiamino, alcoxiamino, nitro, -SO-alquilo, -SO-alquilo sustituido, -SO-arilo, -SO-heteroarilo, -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-arilo y -SO₂-heteroarilo.

"Cicloalqueno" se refiere a grupos alquilo cíclicos no aromáticos de 3 a 10 átomos de carbono que tienen anillos simples o múltiples y que tienen al menos un doble enlace y preferentemente de 1 a 2 dobles enlaces.

5 La expresión "cicloalqueno sustituido" se refiere a grupos cicloalqueno que tienen de 1 a 5 sustituyentes o de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre alcoxi, alcoxi sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, acilo, acilamino, aciloxi, amino, amino sustituido, aminoacilo, aminoaciloxi, oxiaminoacilo, azido, ciano, halógeno, hidroxilo, ceto, tioceto, carboxilo, carboxialquilo, tioariloxi, tioheteroariloxi, tioheterociclooxi, tiol, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, ariloxi, heteroarilo, heteroariloxi, heterociclilo, heterociclooxi, hidroxiamino, alcoxiamino, nitro, -SO-alquilo, -SO-alquilo sustituido, -SO-arilo, -SO-heteroarilo, -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-arilo y -SO₂-heteroarilo.

"Cicloalquino" se refiere a grupos cicloalquilo no aromáticos de 5 a 10 átomos de carbono que tienen anillos simples o múltiples y que tienen al menos un triple enlace.

15 "Cicloalcoxi" se refiere a -O-cicloalquilo.

"Cicloalquenoiloxi" se refiere a -O-cicloalqueno.

20 "Halo" o "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.

"Hidroxi" o "hidroxilo" se refiere al grupo -OH.

25 "Heteroarilo" se refiere a un grupo aromático de 1 a 15 átomos de carbono, tal como de 1 a 10 átomos de carbono y de 1 a 10 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en oxígeno, nitrógeno y azufre dentro del anillo. Dichos grupos heteroarilo pueden tener un único anillo (tal como, piridinilo, imidazolilo o furilo) o múltiples anillos condensados en un sistema de anillos (por ejemplo, como en grupos tales como, indolizino, quinolino, benzofurano, bencimidazolilo o benzotienilo), en los que al menos un anillo dentro del sistema de anillos es aromático y al menos un anillo dentro del sistema de anillos es aromático, a condición de que el punto de unión sea a través de un átomo de un anillo aromático. En determinadas realizaciones, el átomo o los átomos de anillo de nitrógeno y/o azufre del grupo heteroarilo se oxidan opcionalmente para proporcionar los restos N-óxido (N→O), sulfino o sulfonilo. Este término incluye, a modo de ejemplo, piridinilo, pirrolilo, indolilo, tiofenilo y furanilo. A menos que queden limitados de otro modo por la definición para el sustituyente heteroarilo, dichos grupos heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con 1 a 5 sustituyentes o de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre aciloxi, hidroxilo, tiol, acilo, alquilo, alcoxi, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, alquilo sustituido, alcoxi sustituido, alqueno sustituido, alquino sustituido, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno sustituido, amino, amino sustituido, aminoacilo, acilamino, alcarilo, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, carboxialquilo, ciano, halógeno, nitro, heteroarilo, heteroariloxi, heterociclilo, heterociclooxi, aminoaciloxi, oxiacilamino, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioheteroariloxi, -SO-alquilo, -SO-alquilo sustituido, -SO-arilo, -SO-heteroarilo, -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-arilo y -SO₂-heteroarilo y trihalometilo.

40 El término "heteroalquilo" se refiere a los grupos -alquilo-heteroarilo donde alquilo y heteroarilo se definen en el presente documento. Este término incluye, a modo de ejemplo, piridilmetilo, piridiletilo, indolilmetilo y similares.

45 "Heteroariloxi" se refiere a -O-heteroarilo.

50 "Heterociclo", "heterocíclico", "heterocicloalquilo" y "heterociclilo" se refieren a un grupo saturado o insaturado que tiene un único anillo o múltiples anillos condensados, incluyendo sistemas de anillos condensados y espiro, y que tienen de 3 a 20 átomos en el anillo, incluyendo de 1 a 10 heteroátomos. Estos átomos de anillo se seleccionan entre el grupo que consiste en nitrógeno, azufre u oxígeno, en los que, en los sistemas de anillos condensados, uno o más de los anillos pueden ser cicloalquilo, arilo o heteroarilo, a condición de que el punto de unión sea a través del anillo no aromático. En determinadas realizaciones, el átomo o los átomos de nitrógeno y/o azufre del grupo heterocíclico se oxidan opcionalmente para proporcionar los restos N-óxido, -S(O)- o -SO₂-.

55 Los ejemplos de heterociclos y heteroarilos incluyen, pero sin limitación, azetidina, pirrol, imidazol, pirazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, indolizina, isoindol, indol, dihidroindol, indazol, purina, quinolizina, isoquinolina, quinolina, ftalazina, naftilpiridina, quinoxalina, quinazolina, cinolina, pteridina, carbazol, carbolina, fenantridina, acridina, fenantrolina, isotiazol, fenazina, isoxazol, fenoxazina, fenotiazina, imidazolidina, imidazolina, piperidina, piperazina, indolina, ftalimida, 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina, 4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofeno, tiazol, tiazolidina, tiofeno, benzo[b]tiofeno, morfolinilo, tiomorfolinilo (también denominado tiamorfolinilo), 1,1-dioxotiomorfolinilo, piperidinilo, pirrolidina, tetrahidrofuranilo y similares.

65 A menos que queden limitados de otro modo por la definición para el sustituyente heterocíclico, dichos grupos heterocíclicos pueden estar opcionalmente sustituidos con de 1 a 5 o de 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre alcoxi, alcoxi sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, acilo, acilamino, aciloxi, amino, amino sustituido, aminoacilo, aminoaciloxi, oxiaminoacilo, azido, ciano, halógeno, hidroxilo, oxo, tioceto, carboxilo, carboxialquilo, tioariloxi, tioheteroariloxi, tioheterociclooxi, tiol, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo,

ariloxi, heteroarilo, heteroariloxi, heterociclilo, heterociclooxi, hidroxiamino, alcoxi, nitro, -SO-alquilo, -SO-alquilo sustituido, -SO-arilo, -SO-heteroarilo, -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-arilo, -SO₂-heteroarilo y heterociclo condensado.

5 "Heterocicliloxi" se refiere al grupo -O-heterociclilo.

El término "heterociclilio" se refiere al grupo heterocíclico-S-

10 El término "heterociclo" se refiere al grupo dirradical formado a partir de un heterociclo, como se define en el presente documento.

El término "hidroxiamino" se refiere al grupo -NHOH.

15 "Nitro" se refiere al grupo -NO₂.

"Oxo" se refiere al átomo (=O).

20 "Sulfonilo" se refiere al grupo SO₂-alquilo, SO₂-alquilo sustituido, SO₂-alqueno, SO₂-alqueno sustituido, SO₂-cicloalquilo, SO₂-cicloalquilo sustituido, SO₂-cicloalqueno, SO₂-cicloalqueno sustituido, SO₂-arilo, SO₂-arilo sustituido, SO₂-heteroarilo, SO₂-heteroarilo sustituido, SO₂-heterociclilo y SO₂-heterociclilo sustituido, en los que alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en el presente documento. El sulfonilo incluye, a modo de

25 ejemplo, metil-SO₂-, fenil-SO₂- y 4-metilfenil-SO₂-.

30 "Sulfoniloxi" se refiere al grupo -OSO₂-alquilo, OSO₂-alquilo sustituido, OSO₂-alqueno, OSO₂-alqueno sustituido, OSO₂-cicloalquilo, OSO₂-cicloalquilo sustituido, OSO₂-cicloalqueno, OSO₂-cicloalqueno sustituido, OSO₂-arilo, OSO₂-arilo sustituido, OSO₂-heteroarilo, OSO₂-heteroarilo sustituido, OSO₂-heterociclilo y OSO₂ heterociclilo sustituido, en los que alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en el presente documento.

35 El término "aminocarboniloxi" se refiere al grupo -OC(O)NRR donde cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, heteroarilo o heterociclilo en el que alquilo, alquilo sustituido, arilo, heteroarilo y heterociclilo son como se definen en el presente documento.

"Tiol" se refiere al grupo -SH.

40 "Tioxo" o el término "tocio" se refieren al átomo (=S).

"Alquilio" o el término "tioalcoxi" se refieren al grupo -S-alquilo, en el que alquilo es como se define en el presente documento. En determinadas realizaciones, el azufre puede oxidarse a -S(O)-. El sulfóxido puede existir como uno o más estereoisómeros.

45 La expresión "tioalcoxi sustituido" se refiere al grupo -S-alquilo sustituido.

El término "tioariloxi" se refiere al grupo aril-S- en el que el grupo arilo es como se define en el presente documento incluyendo grupos arilo opcionalmente sustituidos también definidos en el presente documento.

50 El término "tioheteroariloxi" se refiere al grupo heteroaril-S- en el que el grupo heteroarilo es como se define en el presente documento incluyendo grupos arilo opcionalmente sustituidos como también se definen en el presente documento.

55 El término "tioheterociclooxi" se refiere al grupo heterociclil-S- en el que el grupo heterociclilo es como se define en el presente documento incluyendo grupos heterociclilo opcionalmente sustituidos como también se definen en el presente documento.

60 Además de la divulgación del presente documento, el término "sustituido", cuando se usa para modificar un grupo o radical especificado, también puede significar que uno o más átomos de hidrógeno del grupo o radical especificado son reemplazados cada uno, independientemente entre sí, por el mismo o diferentes grupos sustituyentes como se definen a continuación.

65 Además de los grupos desvelados con respecto a los términos individuales en el presente documento, son grupos sustituyentes para sustituir uno o más hidrógenos (cualquiera de los dos hidrógenos en un carbono simple puede reemplazarse por =O, =NR⁷⁰, =N-OR⁷⁰, =N₂ o = S) en átomos de carbono saturados en el grupo o radical especificado, a menos que se especifique de otro modo, -R⁶⁰, halo, =O, -OR⁷⁰, -SR⁷⁰, -NR⁸⁰R⁸⁰, trihalometilo, -CN, -

OCN, -SCN, -NO, -NO₂, =N₂, -N₃, -SO₂R⁷⁰, -SO₂O⁻M⁺, -SO₂OR⁷⁰, -OSO₂R⁷⁰, -OSO₂O⁻M⁺, -OSO₂OR⁷⁰, -P(O)(O)₂(M⁺)₂, -P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺, -P(O)(OR⁷⁰)₂, -C(O)R⁷⁰, -C(S)R⁷⁰, -C(NR⁷⁰)R⁷⁰, -C(O)O⁻M⁺, -C(O)OR⁷⁰, -C(S)OR⁷⁰, -C(O)NR⁸⁰R⁸⁰, -C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰, -OC(O)R⁷⁰, -OC(S)R⁷⁰, -OC(O)O⁻M⁺, -OC(O)OR⁷⁰, -OC(S)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)R⁷⁰, -NR⁷⁰C(S)R⁷⁰, -NR⁷⁰CO₂M⁺, -NR⁷⁰CO₂R⁷⁰, -NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰, -NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰ y -NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰, donde R⁶⁰ se selecciona entre el grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, heterocicloalquilalquilo, cicloalquilalquilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo y heteroarilalquilo opcionalmente sustituidos, cada R⁷⁰ es independientemente hidrógeno o R⁶⁰; cada R⁸⁰ es independientemente R⁷⁰ o, como alternativa, dos R⁸⁰, tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un heterocicloalquilo de 5, 6 o 7 miembros que puede incluir opcionalmente de 1 a 4 heteroátomos adicionales iguales o diferentes seleccionados entre el grupo que consiste en O, N y S, de los cuales N puede tener -H o sustitución con alquilo C₁-C₃; y cada M⁺ es un contraión con una carga positiva neta única. Cada M⁺ puede ser independientemente, por ejemplo, un ion alcalino, tal como K⁺, Na⁺, Li⁺; un ion amonio, tal como ⁺N(R⁶⁰)₄; o un ion alcalinotérreo, tal como [Ca²⁺]_{0,5}, [Mg²⁺]_{0,5} o [Ba²⁺]_{0,5} ("el subíndice 0,5 significa que uno de los contraiones para dichos iones alcalinotérreos divalentes puede ser una forma ionizada de un compuesto de la invención y el otro un contraión típico tal como cloruro, o dos compuestos ionizados que se desvelan en el presente documento pueden servir como contraiones para dichos iones alcalinos divalentes, o un compuesto doblemente ionizado de la invención puede servir como el contraión para dichos iones alcalinotérreos divalentes). Como ejemplos específicos, -NR⁸⁰R⁸⁰ pretende incluir -NH₂, -NH-alquilo, *N*-pirrolidinilo, *N*-piperazinilo, 4*N*-metil-piperazin-1-ilo y *N*-morfolinilo.

Además de la divulgación del presente documento, son grupos sustituyente para hidrógenos en átomos de carbono insaturados en grupos alqueno, alquino, arilo y heteroarilo "sustituidos", a menos que se especifique de otro modo, -R⁶⁰, halo, -O⁻M⁺, -OR⁷⁰, -SR⁷⁰, -S⁻M⁺, -NR⁸⁰R⁸⁰, trihalometilo, -CF₃, -CN, -OCN, -SCN, -NO, -NO₂, -N₃, -SO₂R⁷⁰, -SO₃M⁺, -SO₃R⁷⁰, -OSO₂R⁷⁰, -OSO₃⁻M⁺, -OSO₃R⁷⁰, -PO₃⁻²(M⁺)₂, -P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺, -P(O)(OR⁷⁰)₂, -C(O)R⁷⁰, -C(S)R⁷⁰, -C(NR⁷⁰)R⁷⁰, -CO₂M⁺, -CO₂R⁷⁰, -C(S)OR⁷⁰, -C(O)NR⁸⁰R⁸⁰, -C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰, -OC(O)R⁷⁰, -OC(S)R⁷⁰, -OCO₂M⁺, -OCO₂R⁷⁰, -OC(S)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)R⁷⁰, -NR⁷⁰C(S)R⁷⁰, -NR⁷⁰CO₂M⁺, -NR⁷⁰CO₂R⁷⁰, -NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰, -NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰ y -NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰, donde R⁶⁰, R⁷⁰, R⁸⁰ y M⁺ son como se han definido anteriormente, a condición de que en el caso del alqueno o alquino sustituidos, los sustituyentes no sean -O⁻M⁺, -OR⁷⁰, -SR⁷⁰, or -S⁻M⁺.

Además de los grupos desvelados con respecto a los términos individuales en el presente documento, son grupos sustituyentes para hidrógenos en átomos de nitrógeno en grupos heteroalquilo y cicloheteroalquilo "sustituidos", a menos que se especifique de otro modo, -R⁶⁰, -O⁻M⁺, -OR⁷⁰, -SR⁷⁰, -S⁻M⁺, -NR⁸⁰R⁸⁰, trihalometilo, -CF₃, -CN, -NO, -NO₂, -S(O)₂R⁷⁰, -S(O)₂O⁻M⁺, -S(O)₂OR⁷⁰, -OS(O)₂R⁷⁰, -OS(O)₂O⁻M⁺, -OS(O)₂OR⁷⁰, -P(O)(O)₂(M⁺)₂, -P(O)(OR⁷⁰)O⁻M⁺, -P(O)(OR⁷⁰)(OR⁷⁰), -C(O)R⁷⁰, -C(S)R⁷⁰, -C(NR⁷⁰)R⁷⁰, -C(O)OR⁷⁰, -C(S)OR⁷⁰, -C(O)NR⁸⁰R⁸⁰, -C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰, -OC(O)R⁷⁰, -OC(S)R⁷⁰, -OC(O)OR⁷⁰, -OC(S)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)R⁷⁰, -NR⁷⁰C(S)R⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(S)OR⁷⁰, -NR⁷⁰C(O)NR⁸⁰R⁸⁰, -NR⁷⁰C(NR⁷⁰)R⁷⁰ y -NR⁷⁰C(NR⁷⁰)NR⁸⁰R⁸⁰, donde R⁶⁰, R⁷⁰, R⁸⁰ y M⁺ son como se han definido anteriormente.

Además de la divulgación del presente documento, en una determinada realización, un grupo que está sustituido tiene 1, 2, 3 o 4 sustituyentes, 1,2, o 3 sustituyentes, 1 o 2 sustituyentes o 1 sustituyente.

Se entiende que en todos los grupos sustituidos definidos anteriormente, los polímeros a los que se llegó definiendo sustituyentes con sustituyentes adicionales para ellos mismos (por ejemplo, arilo sustituido que tiene un grupo arilo sustituido como sustituyente que está sustituido a su vez con un grupo arilo sustituido, que además está sustituido con un grupo arilo sustituido, etc.) no están destinados a su inclusión en el presente documento. En dichos casos, el número máximo de dichas sustituciones es tres. Por ejemplo, las sustituciones en serie de grupos arilo sustituidos contemplados específicamente en el presente documento se limitan a arilo sustituido-(arilo sustituido)-arilo sustituido.

A menos que se indique otra cosa, se llega a la nomenclatura de los sustituyentes que no se definen explícitamente en el presente documento nombrando la porción terminal de la funcionalidad seguida de la funcionalidad adyacente hacia el punto de unión. Por ejemplo, el sustituyente "arilalquilocarbonilo" se refiere al grupo (aril)-(alquil)-O-C(O)-.

En cuanto a cualquiera de los grupos que se desvelan en el presente documento que contienen uno o más sustituyentes, se entiende, por supuesto, que dichos grupos no contienen ninguna sustitución o patrón de sustitución que sea poco práctica estéricamente y/o no factible sintéticamente. Además, los compuestos en cuestión incluyen todos los isómeros estereoquímicos que surgen de la sustitución de estos compuestos.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" significa una sal que es aceptable para la administración a un paciente, tal como un mamífero (sales con contraiones que tienen una seguridad aceptable en mamíferos para una pauta de dosificación dada). Dichas sales pueden derivar de bases inorgánicas u orgánicas farmacéuticamente aceptables y de ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables. "Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto, sales que derivan de diversos contraiones orgánicos e inorgánicos bien conocidos en la materia e incluyen, a modo de ejemplo solamente, sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, tetraalquilamonio y similares; y cuando la molécula contiene una funcionalidad básica, las sales de ácidos orgánicos o inorgánicos, tales como clorhidrato, bromhidrato, formiato, tartrato, besilato, mesilato,

acetato, maleato, oxalato y similares.

- La expresión "sal del mismo" significa un compuesto formado cuando un protón de un ácido se reemplaza por un catión, tal como un catión metálico o un catión orgánico y similares. Cuando sea aplicable, la sal es una sal farmacéuticamente aceptable, aunque esto no es necesario para sales de compuestos intermedios que no están destinadas a la administración al paciente. A modo de ejemplo, las sales de los presentes compuestos incluyen aquellas en las que el compuesto está protonado por un ácido inorgánico u orgánico para formar un catión, con la base conjugada del ácido inorgánico u orgánico como el componente aniónico de la sal.
- "Solvato" se refiere a un complejo formado por la combinación de moléculas de disolvente con moléculas o iones del soluto. El disolvente puede ser un compuesto orgánico, un compuesto inorgánico o una mezcla de ambos. Algunos ejemplos de disolventes incluyen, pero sin limitación, metanol, *N,N*-dimetilformamida, tetrahidrofurano, dimetilsulfóxido y agua. Cuando el disolvente es agua, el solvato formado es un hidrato.
- "Estereoisómero" y "estereoisómeros" se refieren a compuestos que tienen la misma conectividad atómica pero diferente disposición atómica en el espacio. Los estereoisómeros incluyen isómeros *cis-trans*, isómeros *E* y *Z*, enantiómeros y diastereómeros.
- "Tautómero" se refiere a formas alternativas de una molécula que difieren solo en el enlace electrónico de átomos y/o en la posición de un protón, tales como los tautómeros enol-ceto e imina-enamina o las formas tautoméricas de grupos heteroarilo que contienen una disposición del átomo de anillo -N=C(H)-NH-, tales como pirazoles, imidazoles, bencimidazoles, triazoles y tetrazoles. Un experto habitual en la materia reconocería que son posibles otras disposiciones de átomos de anillo tautoméricas.
- Se apreciará que la expresión "o una sal o solvato o estereoisómero del mismo" pretende incluir todas las permutaciones de sales, solvatos y estereoisómeros, tales como un solvato de una sal farmacéuticamente aceptable de un estereoisómero del compuesto en cuestión.
- "Cantidad farmacéuticamente eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz" se refieren a una cantidad de un compuesto suficiente para tratar un trastorno o enfermedad específicos o uno o más de sus síntomas y/o para prevenir la aparición de la enfermedad o trastorno. En referencia a trastornos proliferativos oncogénicos, una cantidad farmacéuticamente o terapéuticamente eficaz comprende una cantidad suficiente para, entre otras cosas, hacer que el tumor se reduzca o disminuya la velocidad de crecimiento del tumor.
- "Paciente" se refiere a sujetos humanos y no humanos, especialmente a mamíferos.
- El término "tratar" o "tratamiento" como se usa en el presente documento significa tratar o el tratamiento de una enfermedad o afección médica en un paciente, tal como un mamífero (en particular un ser humano) que incluye: (a) evitar que aparezca la enfermedad o afección médica, tal como, tratamiento profiláctico de un sujeto; (b) mejorar la enfermedad o afección médica, tal como, eliminar o provocar la regresión de la enfermedad o afección médica en un paciente; (c) suprimir la enfermedad o afección médica, por ejemplo mediante, ralentización o detención del desarrollo de la enfermedad o afección médica en un paciente; o (d) aliviar un síntoma de la enfermedad o afección médica en un paciente.
- Los términos "polipéptido", "péptido", y "proteína" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a una forma polimérica de aminoácidos de cualquier longitud. A menos que se indique específicamente de otra manera, "polipéptido", "péptido", y "proteína" pueden incluir aminoácidos genéticamente codificados y no codificados, aminoácidos modificados o derivatizados químicamente o bioquímicamente y polipéptidos que tienen cadenas principales peptídicas modificadas. El término incluye proteínas de fusión, incluyendo, pero sin limitación, proteínas de fusión con una secuencia de aminoácidos heteróloga, fusiones con secuencias líder heterólogas y homólogas, proteínas que contienen al menos un resto de metionina N-terminal (por ejemplo, para facilitar la producción en una célula hospedadora bacteriana recombinante); proteínas marcadas inmunológicamente; y similares.
- "Secuencia de aminoácidos nativa" o "secuencia de aminoácidos parental" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a la secuencia de aminoácidos de un polipéptido antes de la modificación para incluir un resto de aminoácido modificado.
- Las expresiones "análogo de aminoácido", "aminoácido no natural" y similares pueden usarse indistintamente e incluyen compuestos similares a aminoácidos que son similares en estructura y/o forma general a uno o más aminoácidos que se encuentran habitualmente en proteínas de origen natural (por ejemplo, Ala o A, Cys o C, Asp o D, Glu o E, Phe o F, Gly o G, His o H, Ile o I, Lys o K, Leu o L, Met o M, Asn o N, Pro o P, Gln o Q, Arg o R, Ser o S, Thr o T, Val o V, Trp o W, Tyr o Y). Los análogos de aminoácidos también incluyen aminoácidos naturales con cadenas laterales o cadenas principales modificadas. Los aminoácidos también incluyen aminoácidos de origen natural en forma D, en lugar de en forma L. En algunos casos, los análogos de aminoácidos comparten cadenas principales y/o las estructuras de la cadena lateral de uno o más aminoácidos naturales, siendo la diferencia o

diferencias uno o más grupos modificados en la molécula. Dicha modificación puede incluir, pero sin limitación, la sustitución de un átomo (tal como S) por un átomo relacionado (tal como N), la adición de un grupo (tal como metilo o hidroxilo, etc.) o un átomo (tal como Cl o Br, etc.), la supresión de un grupo, la sustitución de un enlace covalente (enlace simple por enlace doble, etc.) o combinaciones de las mismas. Por ejemplo, los análogos de aminoácidos pueden incluir α -hidroxiácidos y α -aminoácidos y similares.

El término "anticuerpo" se usa en el sentido más amplio e incluye anticuerpos monoclonales (incluyendo anticuerpos monoclonales de longitud completa), anticuerpos policlonales y anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanizados, anticuerpos monocatenarios, anticuerpos quiméricos, fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, fragmentos Fab) y similares. Un anticuerpo es capaz de unirse a un antígeno diana. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5ª ed., Garland Publishing, Nueva York). Un antígeno diana puede tener uno o más sitios de unión, también denominados epítopos, reconocidos por regiones determinantes de complementariedad (CDR, por sus siglas en inglés) formadas por una o más regiones variables de un anticuerpo.

La expresión "anticuerpo natural" se refiere a un anticuerpo en el que el sistema inmunitario de un organismo multicelular ha fabricado y apareado las cadenas pesada y ligera del anticuerpo. El bazo, los ganglios linfáticos, la médula ósea y el suero son ejemplos de tejidos que producen anticuerpos naturales. Por ejemplo, los anticuerpos producidos por las células productoras de anticuerpos aisladas de un primer animal inmunizado con un antígeno son anticuerpos naturales.

La expresión "anticuerpo humanizado" o "inmunoglobulina humanizada" se refiere a un anticuerpo no humano (por ejemplo, de ratón o conejo) que contiene uno o más aminoácidos (en una región marco conservada, una región constante o una CDR, por ejemplo) que se han sustituido con un aminoácido posicionado correspondientemente de un anticuerpo humano. En general, los anticuerpos humanizados producen una respuesta inmunitaria reducida en un hospedador humano, en comparación con una versión no humanizada del mismo anticuerpo. Los anticuerpos pueden humanizarse usando diversas técnicas conocidas en la técnica, incluyendo, por ejemplo, injerto con CDR (documento EP 239.400; publicación PCT WO 91/09967; Patentes de los EE.UU. N.º 5.225.539; 5.530.101; y 5.585.089), remodelación o acondicionamiento de superficie (documento EP 592.106; documento EP 519.596; Padlan, *Molecular Immunology* 28 (4/5): 489-498 (1991); Studnicka et al., *Protein Engineering* 7 (6): 805-814 (1994); Roguska. et al., *PNAS* 91: 969-973 (1994)) y transposición de cadenas (Patente de los EE.UU. N.º 5.565.332). En determinadas realizaciones, las sustituciones de región marco conservada se identifican mediante el modelado de las interacciones de la CDR y los restos de región marco conservada para identificar los restos de región marco conservada importantes para la unión del antígeno y la comparación de secuencias para identificar restos de región marco conservada inusuales en posiciones particulares (véase, por ejemplo, la Patente de los EE.UU. N.º 5.585.089; Riechmann et al., *Nature* 332: 323 (1988)). Se describen métodos adicionales para humanizar anticuerpos contemplados para su uso en la presente invención en las Patentes de los EE.UU. N.º 5.750.078; 5.502.167; 5.705.154; 5.770.403; 5.698.417; 5.693.493; 5.558.864; 4.935.496; y 4.816.567 y las publicaciones PCT WO 98/45331 y WO 98/45332. En realizaciones particulares, un anticuerpo de conejo en cuestión puede humanizarse de acuerdo con los métodos establecidos en los documentos US20040086979 y US20050033031. En consecuencia, los anticuerpos descritos anteriormente pueden humanizarse usando métodos que son bien conocidos en la técnica.

La expresión "anticuerpos quiméricos" se refiere a anticuerpos cuyos genes de cadena ligera y pesada se han construido, normalmente mediante ingeniería genética, a partir de genes de región variable y constante de anticuerpos que pertenecen a diferentes especies. Por ejemplo, los segmentos variables de los genes de un anticuerpo monoclonal de ratón pueden unirse a segmentos constantes humanos, tales como gamma 1 y gamma 3. Un ejemplo de un anticuerpo quimérico terapéutico es una proteína híbrida compuesta por el dominio variable o de unión a antígeno de un anticuerpo de ratón y el dominio constante o efector de un anticuerpo humano, aunque pueden usarse dominios de otras especies de mamíferos.

"Genéticamente codificable" como se usa en referencia a una secuencia de aminoácidos de polipéptido, péptido o proteína significa que la secuencia de aminoácidos está compuesta de restos de aminoácidos que son capaces de producir por transcripción y traducción de un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos, donde la transcripción y/o traducción puede producirse en una célula o en un sistema de transcripción/traducción *in vitro* sin células.

La expresión "secuencias de control" se refiere a secuencias de ADN que facilitan la expresión de una secuencia codificante unida operativamente en un sistema de expresión particular, por ejemplo, célula de mamífero, célula bacteriana, síntesis sin células, etc. Las secuencias de control que son adecuadas para sistemas procariontes, por ejemplo, incluyen un promotor, opcionalmente una secuencia de operador, y un sitio de unión al ribosoma. Los sistemas de células eucariotas pueden utilizar promotores, señales de poliadenilación y potenciadores.

Un ácido nucleico está "unido operativamente" cuando se ubica 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 operablemente unido a una secuencia codificante si altera la transcripción de la secuencia; o un

sitio de unión al ribosoma está operativamente unido a una secuencia codificante si está posicionado de manera que facilite el inicio de la traducción. En general, "unido operativamente" significa que las secuencias de ADN que se unen son contiguas, y, en el caso de un líder secretor, contiguo y en fase de lectura. La unión se logra mediante ligadura o a través de reacciones de amplificación. Pueden usarse adaptadores o enlazadores de oligonucleótidos sintéticos para unir secuencias de acuerdo con la práctica convencional.

La expresión "casete de expresión", como se usa en el presente documento, se refiere a un segmento de ácido nucleico, generalmente ADN, que puede insertarse en un ácido nucleico (por ejemplo, mediante el uso de sitios de restricción compatibles con la ligadura en una construcción de interés o mediante recombinación homóloga en una construcción de interés o en un genoma de la célula hospedadora). En general, el segmento de ácido nucleico comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido de interés, y el casete y los sitios de restricción se diseñan para facilitar la inserción del casete en el marco de lectura adecuado para la transcripción y la traducción. Los casetes de expresión también pueden comprender elementos que faciliten la expresión de un polinucleótido que codifique un polipéptido de interés en una célula hospedadora. Estos elementos pueden incluir, pero sin limitación: un promotor, un promotor mínimo, un potenciador, un elemento de respuesta, una secuencia de terminador, una secuencia de poliadenilación y similares.

Como se usa en el presente documento, el término "aislado" pretende describir un compuesto de interés que se encuentra en un entorno diferente de aquel en el que el compuesto se produce de forma natural. "Aislado" pretende incluir compuestos que están dentro de muestras que están sustancialmente enriquecidas para el compuesto de interés y/o en las que el compuesto de interés está purificado parcial o sustancialmente.

Como se usa en el presente documento, la expresión "sustancialmente purificado" se refiere a un compuesto que se retira de su entorno natural y está al menos un 60 % libre, al menos un 75 % libre, al menos un 80 % libre, al menos un 85 % libre, al menos un 90 % libre, al menos un 95 % libre, al menos un 98 % libre o más de un 98 % libre, de otros componentes con los que está asociado naturalmente.

La expresión "condiciones fisiológicas" pretende abarcar aquellas condiciones compatibles con células vivas, por ejemplo, predominantemente condiciones acuosas de una temperatura, pH, salinidad, etc. que son compatibles con células vivas.

Por "compañero reactivo" se entiende una molécula o resto molecular que reacciona específicamente con otro compañero reactivo para producir un producto de reacción. Los ejemplos de compañeros reactivos incluyen un motivo de cisteína o serina de sulfatasa y enzima generadora de formilglicina (FGE), que reaccionan para formar un producto de reacción de un marcador de aldehído convertido que contiene una formilglicina (fGly) en lugar de cisteína o serina en el motivo. Otros compañeros reactivos de ejemplo incluyen un aldehído de un resto fGly de un marcador de aldehído convertido y un "compañero reactivo con aldehído", que comprende un grupo reactivo con aldehído y un resto de interés, y que reacciona para formar un producto de reacción de un polipéptido marcado con aldehído modificado que tiene el resto de interés conjugado con el polipéptido modificado a través de un resto de fGly modificado.

"N-terminal" se refiere al resto de aminoácido terminal de un polipéptido que tiene un grupo amina libre, cuyo grupo amina en restos de aminoácido no N-terminales normalmente forma parte de la cadena principal covalente del polipéptido.

"C-terminal" se refiere al resto de aminoácido terminal de un polipéptido que tiene un grupo carboxilo libre, cuyo grupo carboxilo en restos de aminoácidos no C-terminales normalmente forma parte de la cadena principal covalente del polipéptido.

Por "sitio interno" como se usa en referencia a un polipéptido o una secuencia de aminoácidos de un polipéptido significa una región del polipéptido que no está en el extremo N o en el extremo C.

Antes de describir adicionalmente la presente invención, ha de comprenderse que la presente invención no se limita a las realizaciones particulares descritas, ya que pueden, por supuesto, variar.

Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, al décimo de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor declarado o intermedio en el intervalo indicado, está comprendido dentro de la invención. Pueden incluirse independientemente los límites superiores e inferiores de estos intervalos más pequeños y también se incluyen en la presente invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, también se incluyen en la invención los intervalos que excluyen uno cualquiera o ambos límites incluidos.

Se apreciará que determinadas características de la invención, que, para mayor claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización. A la inversa, diversas características de la invención, que, para mayor brevedad, se describen en el contexto de una única

realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada. Todas las combinaciones de las realizaciones que pertenecen a la invención están abarcadas específicamente por la presente invención y se desvelan en el presente documento como si se hubiesen desvelado de manera individual y explícita todas y cada una de las combinaciones, en la medida en que dichas combinaciones abarquen temas que, por ejemplo, sean compuestos que sean compuestos estables (es decir, compuestos que pueden fabricarse, aislarse, caracterizarse y analizarse para determinar su actividad biológica). Además, todas las subcombinaciones de las diversas realizaciones y elementos de las mismas (por ejemplo, elementos de los grupos químicos enumerados en las realizaciones que describen dichas variables) también se incluyen específicamente en la presente invención y se desvelan en el presente documento como si cada una de dichas subcombinaciones se desvelase individual y explícitamente en el presente documento.

A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Aunque también pueden usarse en la puesta en práctica o el ensayo de la presente invención cualesquier métodos y materiales similares o equivalentes a los que se describen en el presente documento, ahora se describen los métodos y materiales preferidos.

Cabe destacar que, como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno", "una", y "el" o "la" incluyen referencias en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Se observa además que las reivindicaciones pueden redactarse para excluir cualquier elemento opcional. Como tal, esta afirmación pretende servir como fundamento para el uso de dicha terminología excluyente tal como "solamente", "solo" y similares en relación con la cita de los elementos de las reivindicaciones o para el uso de una limitación "negativa".

Se apreciará que determinadas características de la invención, que, para mayor claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización. A la inversa, diversas características de la invención, que, para mayor brevedad, se describen en el contexto de una única realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada.

Las publicaciones analizadas en el presente documento se proporcionan únicamente para su divulgación antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. No ha de interpretarse que nada en el presente documento constituya una admisión de que la presente invención no tenga derecho a anteponer dicha publicación por virtud de una invención anterior. Adicionalmente, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación reales, lo que podría necesitar ser confirmado de manera independiente.

Descripción detallada

La presente divulgación proporciona conjugados (por ejemplo, conjugados polipeptídicos), compuestos de hidrazinil-indol para producir los conjugados y métodos para fabricar y usar los mismos. Se describen realizaciones de cada uno con más detalle en las secciones a continuación.

CONJUGADOS

La presente divulgación proporciona conjugados. Por "conjugado" se entiende un primer resto que está asociado de manera estable con un segundo resto. Por "asociado establemente" se entiende que un resto está unido a otro resto o estructura en condiciones convencionales. En determinadas realizaciones, el primer y el segundo resto están unidos entre sí a través de uno o más enlaces covalentes.

En determinadas realizaciones, el conjugado es un conjugado polipeptídico, que incluye un polipéptido conjugado con un segundo resto. Como se describe con mayor detalle a continuación, el resto conjugado con el polipéptido puede ser cualquiera de diversos restos tales como, pero sin limitación, un marcador detectable, un fármaco, un polímero hidrosoluble o un resto para la inmovilización del polipéptido en una membrana o una superficie. El resto de interés puede conjugarse con el polipéptido en cualquier sitio deseado del polipéptido. Por tanto, la presente divulgación proporciona, por ejemplo, un polipéptido modificado que tiene un resto conjugado en un sitio en o cerca del extremo C del polipéptido. Otros ejemplos incluyen un polipéptido modificado que tiene un resto conjugado en una posición en o cerca del extremo N del polipéptido. Los ejemplos también incluyen un polipéptido modificado que tiene un resto conjugado en una posición entre el extremo C y el extremo N del polipéptido (por ejemplo, en un sitio interno del polipéptido). También son posibles combinaciones de lo anterior cuando el polipéptido modificado se conjuga con dos o más restos.

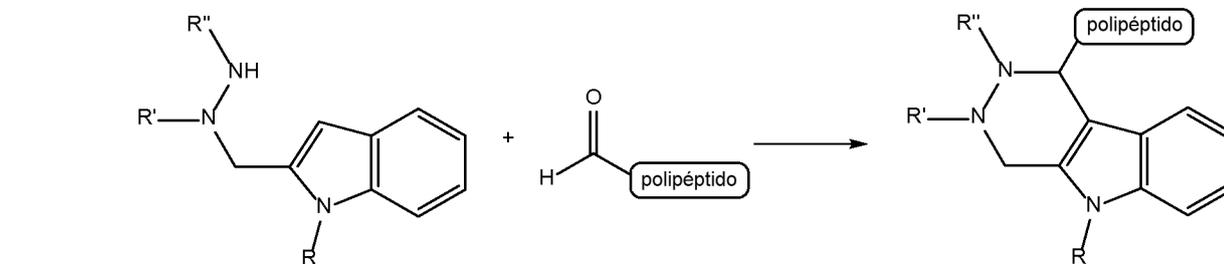
Las realizaciones de la presente divulgación incluyen conjugados donde un polipéptido se conjuga con uno o más restos, tales como 2 restos, 3 restos, 4 restos, 5 restos, 6 restos, 7 restos, 8 restos, 9 restos o 10 o más restos. Los restos pueden conjugarse con el polipéptido en uno o más sitios en el polipéptido. Por ejemplo, un polipéptido puede conjugarse con un resto, por ejemplo, un resto puede conjugarse con un único resto de aminoácido del polipéptido. En algunos casos, un primer resto se conjuga con un primer resto de aminoácido del polipéptido y un segundo resto se conjuga con un segundo resto de aminoácido del polipéptido. Pueden conjugarse restos adicionales con otros

restos de aminoácidos del polipéptido.

El uno o más restos de aminoácidos que se conjugan con uno o más restos pueden ser aminoácidos de origen natural, aminoácidos de origen no natural o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, el conjugado puede incluir un resto conjugado con un resto de aminoácido de origen natural del polipéptido. En otros casos, el conjugado puede incluir un resto conjugado con un resto de aminoácido de origen no natural del polipéptido. Uno o más restos de aminoácidos naturales o no naturales en el polipéptido pueden conjugarse con el resto o restos como se describe en el presente documento. Por ejemplo, dos (o más) restos de aminoácidos (por ejemplo, restos de aminoácidos de origen natural o no natural) en el polipéptido pueden conjugarse cada uno con un resto, de manera que se modifiquen múltiples sitios en el polipéptido.

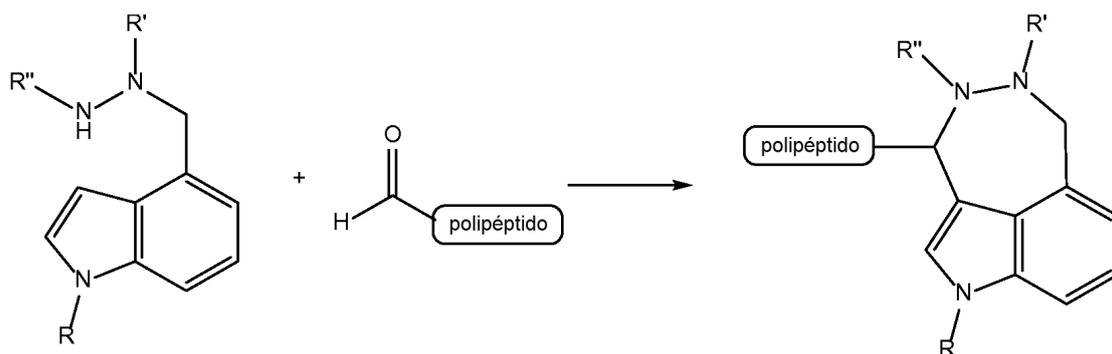
Aunque se describe en el presente documento en términos de un polipéptido conjugado con uno o más restos (por ejemplo, un fármaco, un marcador detectable, un polipéptido, etc.), las realizaciones de la presente divulgación también incluyen conjugados donde un resto (por ejemplo, un fármaco, un marcador detectable, un polipéptido, etc.) se conjuga con uno o más restos (por ejemplo, un fármaco, un marcador detectable, un polipéptido, etc.). Por ejemplo, un fármaco puede conjugarse con uno o más restos (por ejemplo, un fármaco, un marcador detectable, un polipéptido, etc.) o, en otras realizaciones, un marcador detectable puede conjugarse con uno o más restos (por ejemplo, un fármaco, un marcador detectable, un polipéptido, etc.). Por tanto, por ejemplo, las realizaciones de la presente divulgación incluyen, pero sin limitación, lo siguiente: un conjugado de un polipéptido y un fármaco; un conjugado de un polipéptido y un marcador detectable; un conjugado de dos o más polipéptidos; un conjugado de dos o más fármacos; un conjugado de dos o más marcadores detectables; un conjugado de un fármaco y un marcador detectable; un conjugado de un polipéptido, un fármaco y un marcador detectable; un conjugado de un polipéptido y dos o más fármacos; un conjugado de un polipéptido y dos o más marcadores detectables; un conjugado de un fármaco y dos o más polipéptidos; un conjugado de un marcador detectable y dos o más polipéptidos; y similares.

En determinadas realizaciones, el polipéptido y el resto de interés se conjugan a través de un resto de acoplamiento. Por ejemplo, el polipéptido y el resto de interés pueden unirse cada uno (por ejemplo, pueden unirse covalentemente) al resto de acoplamiento, uniéndose indirectamente de este modo el polipéptido y el resto de interés juntos a través del resto de acoplamiento. En algunos casos, el resto de acoplamiento incluye un compuesto de hidrazinil-indol o un derivado de un compuesto de hidrazinil-indol. Por ejemplo, en el esquema de reacción general a continuación se muestra un esquema general para acoplar un resto de interés con un polipéptido a través de un resto de acoplamiento de hidrazinil-indol.



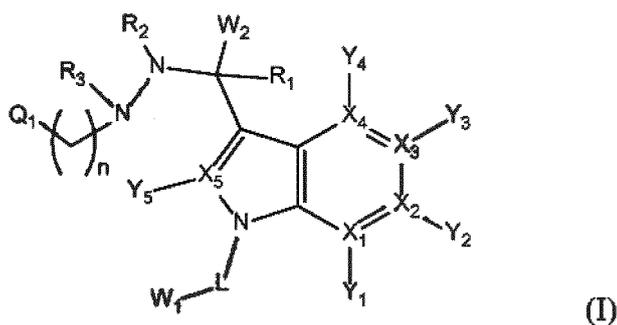
En el esquema de reacción anterior, R puede ser el resto de interés conjugado con el polipéptido. Como se describe en el presente documento, el resto puede ser cualquiera de diversos restos tales como, pero sin limitación, un marcador detectable, un fármaco, un polímero hidrosoluble o un resto para la inmovilización del polipéptido en una membrana o una superficie de un sustrato. R' y R'' pueden ser cada uno independientemente cualquier sustituyente deseado, tal como, pero sin limitación, hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido.

También son posibles otros restos de acoplamiento de hidrazinil-indol. Por ejemplo, en el esquema de reacción general a continuación se muestra otro esquema general para acoplar un resto de interés con un polipéptido a través de un resto de acoplamiento de hidrazinil-indol.



En el esquema de reacción anterior, R puede ser el resto de interés conjugado con el polipéptido. Como se ha descrito anteriormente, el resto puede ser cualquiera de diversos restos tales como, pero sin limitación, un marcador detectable, un fármaco, un polímero hidrosoluble o un resto para la inmovilización del polipéptido en una membrana o una superficie de un sustrato. R' y R'' pueden ser cada uno independientemente cualquier sustituyente deseado, tal como, pero sin limitación, hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. También son posibles otros restos de acoplamiento, como se muestra en los conjugados y compuestos que se describen con más detalle a continuación.

En determinadas realizaciones, el conjugado incluye al menos un resto de aminoácido modificado de fórmula (I):



en la que

- 20 n es 0 o 1;
- R₁ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
- 25 R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
- 30 X₂, X₃ y X₄ son cada uno C; X₁ es independientemente C o N; en la que si X₁ es N, entonces Y₁ está ausente; X₅ es C;
- Y₁, Y₂, Y₃, Y₄ e Y₅ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
- 35 Q₁ es un enlace con X₄ o X₅, en la que si Q₁ es un enlace con X₄, entonces Y₄ está ausente o si Q₁ es un enlace con X₅, entonces Y₅ está ausente; y
- L es un enlazador opcional,
- 40 en la que uno de entre W₁ y W₂ es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable.

En determinadas realizaciones, n es 0 o 1. En determinadas realizaciones, n es 0. En determinadas realizaciones, n es 1.

- En determinadas realizaciones, R_1 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_1 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.
- 10 En determinadas realizaciones, R_2 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R_2 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R_2 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R_2 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R_2 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.
- 25 En determinadas realizaciones, R_2 es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R_2 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1-C_{10} o alquilo sustituido C_1-C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1-C_6 o alquilo sustituido C_1-C_6). En algunos casos, R_2 es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R_2 es metilo.
- 30 En determinadas realizaciones, R_3 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_3 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R_3 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R_3 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R_3 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R_3 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R_3 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.
- 45 En determinadas realizaciones, R_3 es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R_3 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1-C_{10} o alquilo sustituido C_1-C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1-C_6 o alquilo sustituido C_1-C_6). En algunos casos, R_3 es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R_3 es metilo.
- 50 En determinadas realizaciones, R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido. Por ejemplo, R_2 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1-C_{10} o alquilo sustituido C_1-C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1-C_6 o alquilo sustituido C_1-C_6) y R_3 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1-C_{10} o alquilo sustituido C_1-C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1-C_6 o alquilo sustituido C_1-C_6). En algunos casos, R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente entre metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R_2 y R_3 son cada uno metilo.
- En determinadas realizaciones, X_1 es C. En determinadas realizaciones, X_1 es N.
- 60 En todas las realizaciones, X_2 es C.
- En todas las realizaciones, X_3 es C.
- En todas las realizaciones, X_4 es C.
- 65 Diversas combinaciones de X_1 , X_2 , X_3 y X_4 son posibles. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, cada uno de X_1 , X_2 , X_3 y X_4 es C.

alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₄ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

5 En determinadas realizaciones, Y₅ (si está presente) se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₅ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₅ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₅ es F. En determinadas realizaciones, Y₅ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₅ es Br. En determinadas realizaciones, Y₅ es I. En determinadas realizaciones, Y₅ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₅ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₅ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₅ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₅ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₅ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₅ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₅ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₅ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₅ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₅ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₅ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₅ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₅ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₅ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, Q₁ es un enlace con X₄ o X₅. En determinadas realizaciones, Q₁ es un enlace con X₄. En determinadas realizaciones, si Q₁ es un enlace con X₄, entonces Y₄ está ausente. En determinadas realizaciones, Q₁ es un enlace con X₅. En determinadas realizaciones, si Q₁ es un enlace con X₅, entonces Y₅ está ausente.

En determinadas realizaciones, L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W₁. En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W₁ a través del enlazador L.

En determinadas realizaciones, L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

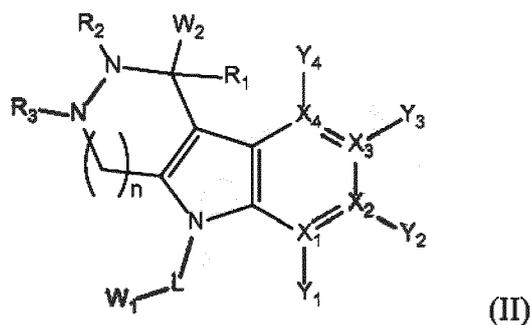
En determinadas realizaciones, L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

En determinadas realizaciones, W₁ se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W₁ es un fármaco. En determinadas realizaciones, W₁ es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W₁ es un polipéptido.

En determinadas realizaciones, W₂ se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W₂ es un fármaco. En determinadas realizaciones, W₂ es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W₂ es un polipéptido.

En determinadas realizaciones, uno de entre W₁ y W₂ es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W₁ es el fármaco o el marcador detectable y W₂ es el polipéptido. En determinadas realizaciones, W₁ es el polipéptido y W₂ es el fármaco o el marcador detectable.

En determinadas realizaciones, el conjugado incluye al menos un resto de aminoácido modificado de fórmula (II):



en la que

- 5 n es 0 o 1;
 R₁ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 10 R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 15 X₂, X₃ y X₄ son cada uno C; X₁ es independientemente C o N; en la que si X₁ es N, entonces Y₁ está ausente;
 Y₁, Y₂, Y₃ e Y₄ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 20 L es un enlazador opcional; y
 en la que uno de entre W₁ y W₂ es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable.

25 En determinadas realizaciones, los sustituyentes para la fórmula (II) son iguales que para la fórmula (I) descrita anteriormente. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, n es 0 o 1. En determinadas realizaciones, n es 0. En determinadas realizaciones, n es 1.

30 En determinadas realizaciones, R₁ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₁ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

35 En determinadas realizaciones, R₂ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R₂ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R₂ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R₂ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R₂ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

40 En determinadas realizaciones, R₂ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₂ es metilo.

55

En determinadas realizaciones, R₃ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alqueno o alqueno sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alquino o alquino sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, R₃ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₃ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₃ es metilo.

En determinadas realizaciones, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆) y R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₂ y R₃ son cada uno metilo.

En determinadas realizaciones, X₁ es C. En determinadas realizaciones, X₁ es N.

En todas las realizaciones, X₂ es C.

En todas las realizaciones, X₃ es C.

En todas las realizaciones, X₄ es C.

Diversas combinaciones de X₁, X₂, X₃ y X₄ son posibles. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, cada uno de X₁, X₂, X₃ y X₄ es C.

En determinadas realizaciones, Y₁ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₁ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₁ es F. En determinadas realizaciones, Y₁ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₁ es Br. En determinadas realizaciones, Y₁ es I. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alqueno o alqueno sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquino o alquino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₁ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₁ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, Y₂ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₂ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₂ es F. En determinadas realizaciones, Y₂ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₂ es Br. En determinadas realizaciones, Y₂ es I. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alqueno o alqueno sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquino o alquino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₂ es acil amino o

amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₂ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, Y₃ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₃ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₃ es F. En determinadas realizaciones, Y₃ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₃ es Br. En determinadas realizaciones, Y₃ es I. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, Y₄ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₄ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₄ es F. En determinadas realizaciones, Y₄ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₄ es Br. En determinadas realizaciones, Y₄ es I. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₄ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₄ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W₁. En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W₁ a través del enlazador L.

En determinadas realizaciones, L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

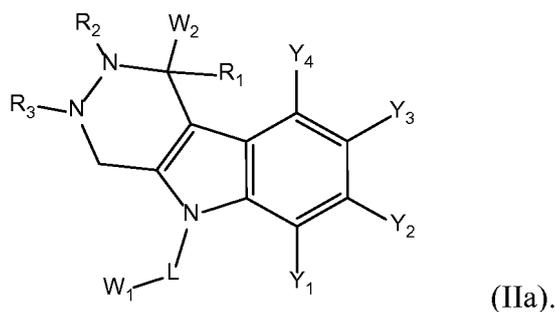
En determinadas realizaciones, W₁ se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En

determinadas realizaciones, W_1 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_1 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es un polipéptido.

5 En determinadas realizaciones, W_2 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_2 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_2 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_2 es un polipéptido.

10 En determinadas realizaciones, uno de entre W_1 y W_2 es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es el fármaco o el marcador detectable y W_2 es el polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es el polipéptido y W_2 es el fármaco o el marcador detectable.

En determinadas realizaciones, el conjugado incluye al menos un resto de aminoácido modificado de fórmula (IIa):



15 En determinadas realizaciones, los sustituyentes de la fórmula (IIa) son como se han descrito anteriormente para la fórmula (II). Por ejemplo, en determinadas realizaciones, R_1 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_1 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

20 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), R_2 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R_2 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R_2 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R_2 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R_2 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

30 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), R_2 es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R_2 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1-C_{10} o alquilo sustituido C_1-C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1-C_6 o alquilo sustituido C_1-C_6). En algunos casos, R_2 es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R_2 es metilo.

40 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), R_3 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_3 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R_3 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R_3 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R_3 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R_3 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R_3 es tioalcoxi o tioalcoxi

sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

- 5 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), R₃ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₃ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R₃ es metilo.
- 10 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆) y R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R₂ y R₃ son cada uno metilo.

- 15 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), Y₁ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₁ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₁ es F. En determinadas realizaciones, Y₁ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₁ es Br. En determinadas realizaciones, Y₁ es I. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₁ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₁ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

- 20 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), Y₂ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₂ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₂ es F. En determinadas realizaciones, Y₂ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₂ es Br. En determinadas realizaciones, Y₂ es I. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₂ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₂ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

- 25 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), Y₃ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₃ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₃ es F. En determinadas realizaciones, Y₃ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₃ es Br. En determinadas realizaciones, Y₃ es I. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), Y_4 se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_4 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y_4 es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y_4 es F. En determinadas realizaciones, Y_4 es Cl. En determinadas realizaciones, Y_4 es Br. En determinadas realizaciones, Y_4 es I. En determinadas realizaciones, Y_4 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_4 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_4 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_4 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y_4 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y_4 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y_4 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y_4 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y_4 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y_4 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y_4 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y_4 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_4 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_4 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_4 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W_1 . En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W_1 a través del enlazador L.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

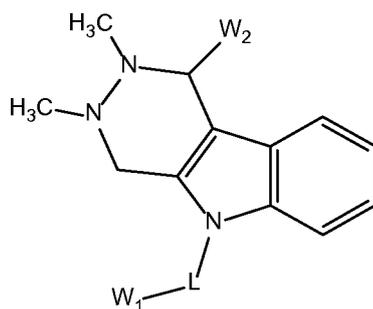
En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En realizaciones adicionales, el polímero es un polietilenglicol.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_1 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es un polipéptido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), W_2 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_2 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_2 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_2 es un polipéptido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIa), uno de entre W_1 y W_2 es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es el fármaco o el marcador detectable y W_2 es el polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es el polipéptido y W_2 es el fármaco o el marcador detectable.

En determinadas realizaciones, el conjugado incluye al menos un resto de aminoácido modificado de fórmula (IIb):



(IIb)

5 En determinadas realizaciones, los sustituyentes de la fórmula (IIb) son como se han descrito anteriormente para la fórmula (II). Por ejemplo, en determinadas realizaciones, L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W_1 . En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W_1 a través del enlazador L.

10 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIb), L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

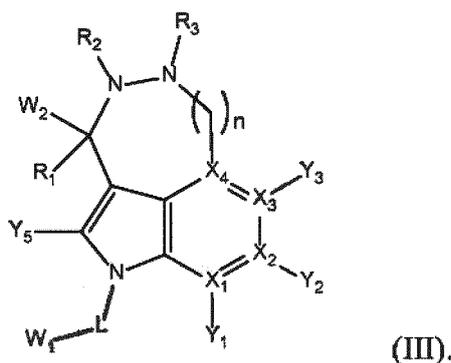
25 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIb), L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En realizaciones adicionales, el polímero es un polietilenglicol.

30 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIb), W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_1 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es un polipéptido.

35 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIb), W_2 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_2 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_2 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_2 es un polipéptido.

40 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIb), uno de entre W_1 y W_2 es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es el fármaco o el marcador detectable y W_2 es el polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es el polipéptido y W_2 es el fármaco o el marcador detectable.

En determinadas realizaciones, el conjugado incluye al menos uno resto de aminoácido modificado de fórmula (III):



en la que

5 n es 0 o 1;

R₁ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;

10 R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;

15 X₂, X₃ y X₄ son cada uno C; X₁ es independientemente C o N; en la que si X₁ es N, entonces Y₁ está ausente;

Y₁, Y₂, Y₃ e Y₅ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;

20 L es un enlazador opcional; y

en la que uno de entre W₁ y W₂ es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable.

En determinadas realizaciones, n es 0 o 1. En determinadas realizaciones, n es 0. En determinadas realizaciones, n es 1.

25 En determinadas realizaciones, R₁ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₁ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₁ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

35 En determinadas realizaciones, R₂ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R₂ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R₂ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R₂ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R₂ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

50 En determinadas realizaciones, R₂ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₂ es metilo.

En determinadas realizaciones, R₃ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alqueno o alqueno sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alquino o alquino sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, R₃ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₃ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₃ es metilo.

En determinadas realizaciones, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆) y R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₂ y R₃ son cada uno metilo.

En determinadas realizaciones, X₁ es C. En determinadas realizaciones, X₁ es N.

En todas las realizaciones, X₂ es C.

En todas las realizaciones, X₃ es C.

En todas las realizaciones, X₄ es C.

Diversas combinaciones de X₁, X₂, X₃ y X₄ son posibles. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, cada uno de X₁, X₂, X₃ y X₄ es C.

En determinadas realizaciones, Y₁ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₁ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₁ es F. En determinadas realizaciones, Y₁ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₁ es Br. En determinadas realizaciones, Y₁ es I. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alqueno o alqueno sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquino o alquino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₁ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₁ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, Y₂ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₂ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₂ es F. En determinadas realizaciones, Y₂ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₂ es Br. En determinadas realizaciones, Y₂ es I. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alqueno o alqueno sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquino o alquino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₂ es acil amino o

amino acilo. En determinadas realizaciones, Y_2 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y_2 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y_2 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y_2 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_2 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_2 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_2 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, Y_3 se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y_3 es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y_3 es F. En determinadas realizaciones, Y_3 es Cl. En determinadas realizaciones, Y_3 es Br. En determinadas realizaciones, Y_3 es I. En determinadas realizaciones, Y_3 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y_3 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y_3 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y_3 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y_3 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y_3 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, Y_5 se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y_5 es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y_5 es F. En determinadas realizaciones, Y_5 es Cl. En determinadas realizaciones, Y_5 es Br. En determinadas realizaciones, Y_5 es I. En determinadas realizaciones, Y_5 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y_5 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y_5 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y_5 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y_5 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y_5 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W_1 . En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W_1 a través del enlazador L.

En determinadas realizaciones, L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En realizaciones adicionales, el polímero es un polietilenglicol.

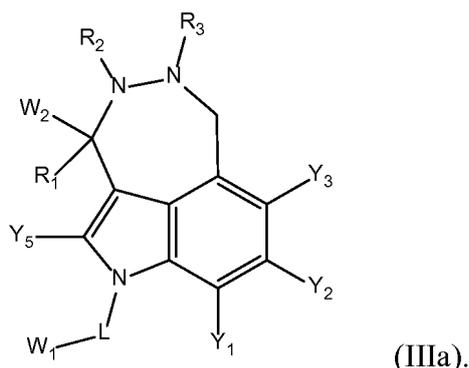
En determinadas realizaciones, W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En

determinadas realizaciones, W_1 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_1 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es un polipéptido.

5 En determinadas realizaciones, W_2 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_2 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_2 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_2 es un polipéptido.

10 En determinadas realizaciones, uno de entre W_1 y W_2 es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es el fármaco o el marcador detectable y W_2 es el polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es el polipéptido y W_2 es el fármaco o el marcador detectable.

En determinadas realizaciones, el conjugado incluye al menos uno resto de aminoácido modificado de fórmula (IIIa):



15 En determinadas realizaciones, los sustituyentes de la fórmula (IIIa) son como se han descrito anteriormente para la fórmula (III). Por ejemplo, en determinadas realizaciones, R_1 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_1 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_1 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

20 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), R_2 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R_2 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R_2 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R_2 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R_2 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

30 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), R_2 es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R_2 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1 - C_{10} o alquilo sustituido C_1 - C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1 - C_6 o alquilo sustituido C_1 - C_6). En algunos casos, R_2 es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R_2 es metilo.

35 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), R_3 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_3 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_3

es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), R₃ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₃ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₃ es metilo.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆) y R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₂ y R₃ son cada uno metilo.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), Y₁ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₁ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₁ es F. En determinadas realizaciones, Y₁ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₁ es Br. En determinadas realizaciones, Y₁ es I. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₁ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₁ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), Y₂ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₂ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₂ es F. En determinadas realizaciones, Y₂ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₂ es Br. En determinadas realizaciones, Y₂ es I. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₂ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₂ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), Y₃ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₃ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₃ es F. En determinadas realizaciones, Y₃ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₃ es Br. En determinadas realizaciones, Y₃ es I. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones,

Y_3 es tialcoxi o tialcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_3 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

- 5 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), Y_5 se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tialcoxi, tialcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y_5 es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y_5 es F. En determinadas realizaciones, Y_5 es Cl. En determinadas realizaciones, Y_5 es Br. En determinadas realizaciones, Y_5 es I. En determinadas realizaciones, Y_5 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y_5 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y_5 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y_5 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y_5 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y_5 es tialcoxi o tialcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_5 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W_1 . En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W_1 a través del enlazador L.

- 25 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

- 40 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

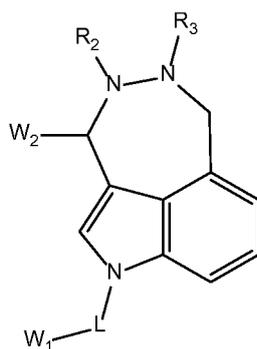
En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_1 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es un polipéptido.

- 50 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), W_2 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_2 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_2 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_2 es un polipéptido.

- 55 En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIa), uno de entre W_1 y W_2 es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es el fármaco o el marcador detectable y W_2 es el polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es el polipéptido y W_2 es el fármaco o el marcador detectable.

En determinadas realizaciones, el conjugado incluye al menos un resto de aminoácido modificado de fórmula (IIIb):

60



(IIIb).

En determinadas realizaciones, los sustituyentes de la fórmula (IIIb) son como se han descrito anteriormente para la fórmula (III). Por ejemplo, en determinadas realizaciones, L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W₁. En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W₁ a través del enlazador L.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIb), L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIb), L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIb), W₁ se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W₁ es un fármaco. En determinadas realizaciones, W₁ es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W₁ es un polipéptido.

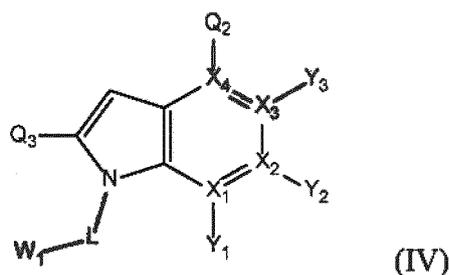
En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIb), W₂ se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W₂ es un fármaco. En determinadas realizaciones, W₂ es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W₂ es un polipéptido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (IIIb), uno de entre W₁ y W₂ es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W₁ es el fármaco o el marcador detectable y W₂ es el polipéptido. En determinadas realizaciones, W₁ es el polipéptido y W₂ es el fármaco o el marcador detectable.

COMPUESTOS DE HIDRAZINIL-INDOL ÚTILES PARA PRODUCIR CONJUGADOS

La presente divulgación proporciona compuestos (por ejemplo, compuestos de hidrazinil-indol) útiles para producir los conjugados que se describen en el presente documento. En determinadas realizaciones, el compuesto puede ser un resto de acoplamiento útil para la conjugación de un polipéptido y un segundo resto. Por ejemplo, el compuesto puede estar unido al polipéptido y también unido al segundo resto, uniéndose de este modo indirectamente el polipéptido y el segundo resto juntos.

En determinados casos, el compuesto puede ser un derivado de hidrazinil-indol. Las realizaciones del compuesto incluyen un compuesto de fórmula (IV):



en la que

5 uno de entre Q_2 y Q_3 es $-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ y el otro es Y_4 ;
n es 0 o 1;

R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;

10 X_2 , X_3 y X_4 son cada uno C; X_1 es independientemente C o N; en la que si X_1 es N, entonces Y_1 está ausente;
 Y_1 , Y_2 , Y_3 e Y_4 se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;

15 L es un enlazador opcional; y

W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido.

20 En determinadas realizaciones, uno de Q_2 y Q_3 es $-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ y el otro es Y_4 . En determinadas realizaciones, Q_2 es $-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ y Q_3 es Y_4 . En determinadas realizaciones, Q_3 es $-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ y Q_2 es Y_4 .

25 En determinadas realizaciones, n es 0 o 1. En determinadas realizaciones, n es 0. En determinadas realizaciones, n es 1.

30 En determinadas realizaciones, R_2 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R_2 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R_2 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R_2 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R_2 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

40 En determinadas realizaciones, R_2 es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R_2 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1 - C_{10} o alquilo sustituido C_1 - C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1 - C_6 o alquilo sustituido C_1 - C_6). En algunos casos, R_2 es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R_2 es metilo.

45 En determinadas realizaciones, R_3 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_3 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R_3 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R_3 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R_3 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R_3 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R_3 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas

realizaciones, R₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

- 5 En determinadas realizaciones, R₃ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₃ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R₃ es metilo.
- 10 En determinadas realizaciones, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆) y R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R₂ y R₃ son cada uno metilo.
- 15

En determinadas realizaciones, X₁ es C. En determinadas realizaciones, X₁ es N.

20 En todas las realizaciones, X₂ es C.

En todas las realizaciones, X₃ es C.

En todas las realizaciones, X₄ es C.

- 25 Diversas combinaciones de X₁, X₂, X₃ y X₄ son posibles. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, cada uno de X₁, X₂, X₃ y X₄ es C.

30 En determinadas realizaciones, Y₁ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₁ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₁ es F. En determinadas realizaciones, Y₁ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₁ es Br. En determinadas realizaciones, Y₁ es I. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₁ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₁ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

45 En determinadas realizaciones, Y₂ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₂ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₂ es F. En determinadas realizaciones, Y₂ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₂ es Br. En determinadas realizaciones, Y₂ es I. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₂ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₂ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

50

55

60

65 En determinadas realizaciones, Y₃ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₃ es

halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₃ es F. En determinadas realizaciones, Y₃ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₃ es Br. En determinadas realizaciones, Y₃ es I. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido.

En determinadas realizaciones, Y₄ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₄ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₄ es F. En determinadas realizaciones, Y₄ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₄ es Br. En determinadas realizaciones, Y₄ es I. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₄ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₄ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W₁. En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W₁ a través del enlazador L.

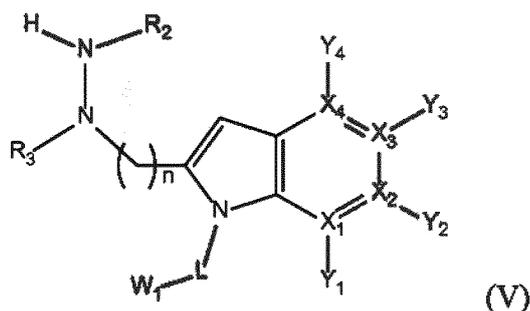
En determinadas realizaciones, L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

En determinadas realizaciones, W₁ se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W₁ es un fármaco. En determinadas realizaciones, W₁ es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W₁ es un polipéptido.

Las realizaciones del compuesto incluyen un compuesto de fórmula (V):

60



en la que

- 5 n es 0 o 1;
 R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
- 10 X₂, X₃ y X₄ son cada uno C; X₁ es independientemente C o N; en la que si X₁ es N, entonces Y₁ está ausente; Y₁, Y₂, Y₃ e Y₄ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
- 15 L es un enlazador opcional; y
 W₁ se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido.
- 20 En determinadas realizaciones, los sustituyentes para la fórmula (V) son los mismos que para la fórmula (IV) descritos anteriormente. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, n es 0 o 1. En determinadas realizaciones, n es 0. En determinadas realizaciones, n es 1.
- 25 En determinadas realizaciones, R₂ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R₂ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R₂ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R₂ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R₂ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.
- 30 En determinadas realizaciones, R₂ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₂ es metilo.
- 35 En determinadas realizaciones, R₃ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es
- 40
- 45
- 50
- 55

heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, R₃ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆).

5 En algunos casos, R₃ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R₃ es metilo.

En determinadas realizaciones, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆) y R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R₂ y R₃ son cada uno metilo.

15 En determinadas realizaciones, X₁ es C. En determinadas realizaciones, X₁ es N.

En todas las realizaciones, X₂ es C.

En todas las realizaciones, X₃ es C.

20

En todas las realizaciones, X₄ es C.

Diversas combinaciones de X₁, X₂, X₃ y X₄ son posibles. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, cada uno de X₁, X₂, X₃ y X₄ es C.

25

En determinadas realizaciones, Y₁ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₁ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₁ es F. En determinadas realizaciones, Y₁ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₁ es Br. En determinadas realizaciones, Y₁ es I. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₁ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₁ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heteroarilo o heteroarilo sustituido.

30

En determinadas realizaciones, Y₁ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

35

En determinadas realizaciones, Y₂ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₂ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₂ es F. En determinadas realizaciones, Y₂ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₂ es Br. En determinadas realizaciones, Y₂ es I. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₂ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₂ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

40

45

50

55

60

En determinadas realizaciones, Y₃ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₃ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₃ es F. En determinadas realizaciones, Y₃ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₃ es Br. En determinadas realizaciones, Y₃ es I. En determinadas realizaciones, Y₃

es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alqueno o alqueno sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquino o alquino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, Y₄ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₄ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₄ es F. En determinadas realizaciones, Y₄ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₄ es Br. En determinadas realizaciones, Y₄ es I. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alqueno o alqueno sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquino o alquino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₄ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₄ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

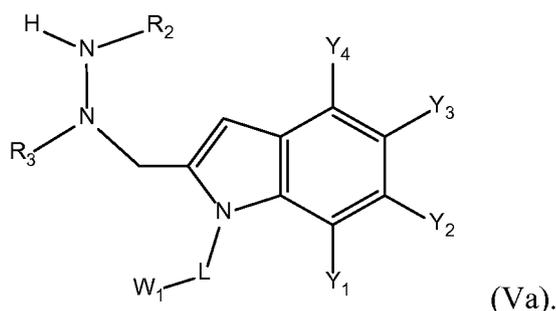
En determinadas realizaciones, L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W₁. En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W₁ a través del enlazador L.

En determinadas realizaciones, L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alqueno o alqueno sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquino o alquino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

En determinadas realizaciones, W₁ se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W₁ es un fármaco. En determinadas realizaciones, W₁ es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W₁ es un polipéptido.

Las realizaciones del compuesto incluyen un compuesto de fórmula (Va):



En determinadas realizaciones, los sustituyentes de la fórmula (Va) son como se han descrito anteriormente para la fórmula (V). Por ejemplo, en determinadas realizaciones, R_2 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R_2 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R_2 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R_2 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R_2 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (Va), R_2 es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R_2 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1-C_{10} o alquilo sustituido C_1-C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1-C_6 o alquilo sustituido C_1-C_6). En algunos casos, R_2 es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R_2 es metilo.

En determinadas realizaciones de la fórmula (Va), R_3 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_3 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R_3 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R_3 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R_3 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R_3 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R_3 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_3 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (Va), R_3 es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R_3 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1-C_{10} o alquilo sustituido C_1-C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1-C_6 o alquilo sustituido C_1-C_6). En algunos casos, R_3 es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R_3 es metilo.

En determinadas realizaciones de la fórmula (Va), R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido. Por ejemplo, R_2 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1-C_{10} o alquilo sustituido C_1-C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1-C_6 o alquilo sustituido C_1-C_6) y R_3 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1-C_{10} o alquilo sustituido C_1-C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1-C_6 o alquilo sustituido C_1-C_6). En algunos casos, R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente entre metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R_2 y R_3 son cada uno metilo.

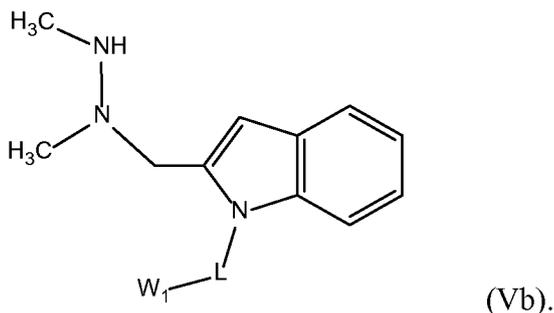
En determinadas realizaciones de la fórmula (Va), Y_1 se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y_1 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y_1 es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y_1 es F. En determinadas

En determinadas realizaciones de la fórmula (Va), L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (Va), L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

En determinadas realizaciones de la fórmula (Va), W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_1 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es un polipéptido.

Las realizaciones del compuesto incluyen un compuesto de fórmula (Vb):



En determinadas realizaciones, los sustituyentes de la fórmula (Vb) son como se han descrito anteriormente para la fórmula (V). Por ejemplo, en determinadas realizaciones, L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W_1 . En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W_1 a través del enlazador L.

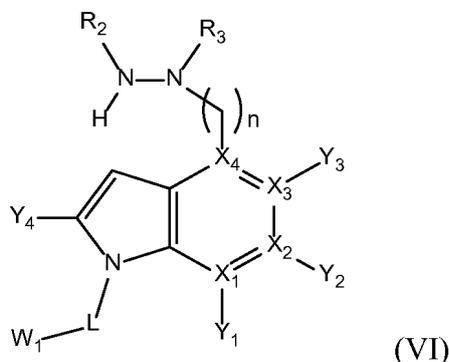
En determinadas realizaciones de la fórmula (Vb), L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (Vb), L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

En determinadas realizaciones de la fórmula (Vb), W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_1 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es un polipéptido.

5

En determinadas realizaciones, el compuesto puede ser un derivado de hidrazinil-indol de fórmula (VI):



10 en la que

n es 0 o 1;

R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;

X_2 , X_3 y X_4 son cada uno C; X_1 es independientemente C o N; en la que si X_1 es N, entonces Y_1 está ausente; Y_1 , Y_2 , Y_3 e Y_4 se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;

L es un enlazador opcional; y

W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido.

En determinadas realizaciones, los sustituyentes de la fórmula (VI) son como se han descrito anteriormente para la fórmula (IV). Por ejemplo, en determinadas realizaciones, n es 0 o 1. En determinadas realizaciones, n es 0. En determinadas realizaciones, n es 1.

30

En determinadas realizaciones, R_2 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alqueno o alqueno sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alquino o alquino sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R_2 es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R_2 es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R_2 es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R_2 es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R_2 es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R_2 es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

45

En determinadas realizaciones, R_2 es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R_2 puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C_1-C_{10} o alquilo sustituido C_1-C_{10} (por ejemplo, alquilo C_1-C_6 o alquilo sustituido C_1-C_6). En algunos casos, R_2 es metilo, etilo, *n*-propilo, iso-propilo, *n*-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R_2 es metilo.

50

En determinadas realizaciones, R_3 se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido.

heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, R₃ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₃ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R₃ es metilo.

En determinadas realizaciones, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆) y R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, *t*-butilo o similares. En determinados casos, R₂ y R₃ son cada uno metilo.

En determinadas realizaciones, X₁ es C. En determinadas realizaciones, X₁ es N.

En todas las realizaciones, X₂ es C.

En todas las realizaciones, X₃ es C.

En todas las realizaciones, X₄ es C.

Diversas combinaciones de X₁, X₂, X₃ y X₄ son posibles. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, cada uno de X₁, X₂, X₃ y X₄ es C.

En determinadas realizaciones, Y₁ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₁ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₁ es F. En determinadas realizaciones, Y₁ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₁ es Br. En determinadas realizaciones, Y₁ es I. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₁ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₁ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₁ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₁ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones, Y₂ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₂ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₂ es F. En determinadas realizaciones, Y₂ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₂ es Br. En determinadas realizaciones, Y₂ es I. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₂ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₂ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₂ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₂ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

heterociclilo o heterociclilo sustituido.

5 En determinadas realizaciones, Y₃ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₃ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₃ es F. En determinadas realizaciones, Y₃ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₃ es Br. En determinadas realizaciones, Y₃ es I. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

20 En determinadas realizaciones, Y₄ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, Y₄ es halógeno, tal como F, Cl, Br o I. En determinadas realizaciones, Y₄ es F. En determinadas realizaciones, Y₄ es Cl. En determinadas realizaciones, Y₄ es Br. En determinadas realizaciones, Y₄ es I. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, Y₄ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, Y₄ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, Y₄ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, Y₄ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.

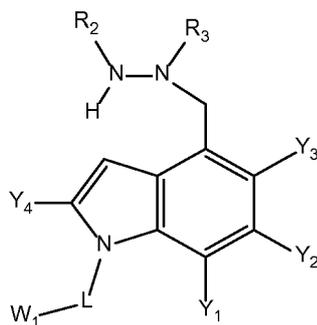
40 En determinadas realizaciones, L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W₁. En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W₁ a través del enlazador L.

45 En determinadas realizaciones, L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

55 En determinadas realizaciones, L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

65 En determinadas realizaciones, W₁ se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W₁ es un fármaco. En determinadas realizaciones, W₁ es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W₁ es un polipéptido.

Las realizaciones del compuesto incluyen un compuesto de fórmula (VIa):



(VIa).

- 5 En determinadas realizaciones, los sustituyentes de la fórmula (VIa) son como se han descrito anteriormente para la fórmula (VI). Por ejemplo, en determinadas realizaciones, R₂ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₂ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R₂ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R₂ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R₂ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R₂ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R₂ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₂ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.
- 10
- 15
- 20 En determinadas realizaciones de la fórmula (VIa), R₂ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₂ es metilo.
- 25
- 30 En determinadas realizaciones de la fórmula (VIa), R₃ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, R₃ es acilo o aciloxi. En determinadas realizaciones, R₃ es acil amino o amino acilo. En determinadas realizaciones, R₃ es alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, R₃ es sulfonilo. En determinadas realizaciones, R₃ es tioalcoxi o tioalcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, R₃ es heterociclilo o heterociclilo sustituido.
- 35
- 40 En determinadas realizaciones de la fórmula (VIa), R₃ es alquilo o alquilo sustituido. Por ejemplo, R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₃ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₃ es metilo.
- 45
- 50 En determinadas realizaciones de la fórmula (VIa), R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆) y R₃ puede ser alquilo o alquilo sustituido, tal como, alquilo C₁-C₁₀ o alquilo sustituido C₁-C₁₀ (por ejemplo, alquilo C₁-C₆ o alquilo sustituido C₁-C₆). En algunos casos, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, t-butilo o similares. En determinados casos, R₂ y R₃ son cada uno metilo.
- 55
- En determinadas realizaciones de la fórmula (VIa), Y₁ se selecciona entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo

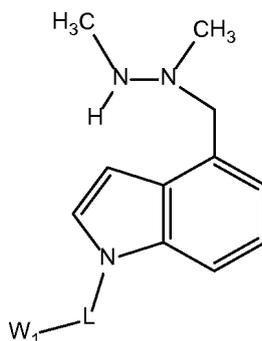
L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W_1 a través del enlazador L.

En determinadas realizaciones de la fórmula (VIa), L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (VIa), L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo, donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil etil éteres, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

En determinadas realizaciones de la fórmula (VIa), W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_1 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es un polipéptido.

Las realizaciones del compuesto incluyen un compuesto de fórmula (VIb):



(VIb).

En determinadas realizaciones, los sustituyentes de la fórmula (VIb) son como se han descrito anteriormente para la fórmula (VI). Por ejemplo, en determinadas realizaciones, L es un enlazador opcional. En determinadas realizaciones, L no está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une directamente a W_1 . En determinadas realizaciones, L está presente y, por tanto, el nitrógeno del anillo de indol se une indirectamente a W_1 a través del enlazador L.

En determinadas realizaciones de la fórmula (VIb), L incluye un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilo o alquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquenilo o alquenilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquinilo o alquinilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alcoxi o alcoxi sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo amino o amino sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo carboxilo o éster de carboxilo. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo acil amino. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo alquilamida o alquilamida sustituida. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo arilo o arilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heteroarilo o heteroarilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo cicloalquilo o cicloalquilo sustituido. En determinadas realizaciones, L incluye un grupo heterociclilo o heterociclilo sustituido.

En determinadas realizaciones de la fórmula (VIb), L incluye un polímero. Por ejemplo, el polímero puede incluir un polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol (por ejemplo,

donde los homopolímeros y copolímeros están sin sustituir o sustituidos en un extremo con un grupo alquilo), alcohol polivinílico, polivinil éter, polivinilpirrolidona, combinaciones de los mismos y similares. En determinadas realizaciones, el polímero es un polialquilenglicol. En determinadas realizaciones, el polímero es un polietilenglicol.

- 5 En determinadas realizaciones de la fórmula (VIb), W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido. En determinadas realizaciones, W_1 es un fármaco. En determinadas realizaciones, W_1 es un marcador detectable. En determinadas realizaciones, W_1 es un polipéptido.

POLIPÉPTIDOS DIANA

- 10 Puede modificarse cualquiera de una amplia diversidad de polipéptidos para conjugarla con un segundo resto como se ha descrito anteriormente. Los polipéptidos adecuados para la modificación incluyen proteínas que tienen una secuencia de aminoácidos de origen natural, fragmentos de polipéptidos de origen natural y polipéptidos de origen no natural y fragmentos de los mismos.

- 15 Los siguientes son ejemplos de clases y tipos de polipéptidos que son de interés para la modificación usando los compuestos y métodos que se describen en el presente documento para producir los conjugados polipeptídicos que se describen en el presente documento.

20 Polipéptidos terapéuticos

- En determinadas realizaciones, los métodos de producción de un conjugado se aplican para la modificación de polipéptidos que pueden proporcionar un beneficio terapéutico, tales como aquellos polipéptidos para los cuales la unión a un resto puede proporcionar uno o más de entre, por ejemplo, un aumento de la semivida sérica, una disminución de una respuesta inmunitaria adversa, una actividad o funcionalidad biológica adicional o alternativa y similares, u otro beneficio o reducción de un efecto secundario adverso. Cuando el polipéptido terapéutico es un antígeno para una vacuna, la modificación puede proporcionar una inmunogenia potenciada del polipéptido.

- Los ejemplos de clases de proteínas terapéuticas incluyen aquellas que son citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, hormonas, anticuerpos y antígenos. Otros ejemplos incluyen, pero sin limitación, lo siguiente: eritropoyetina (EPO, por ejemplo, EPO nativa o EPO sintética (véase, por ejemplo, el documento US 2003/0191291), tal como, pero sin limitación, por ejemplo, PROCRI[®], EPREX[®] o EPOGEN[®] (epoetina- α), ARANESP[®] (darbepoyetina- α), NEORECORMON[®], EPOGIN[®] (epoetina- β) y similares); una hormona de crecimiento (por ejemplo, una somatotropina, por ejemplo, GENOTROPIN[®], NUTROPIN[®], NORDITROPIN[®], SAIZEN[®], SEROSTIM[®], HUMATROPE[®], etc.); hormona de crecimiento humana (hGH); hormona de crecimiento bovina (bGH); hormona foliculo estimulante (FSH); interferón (por ejemplo, IFN- γ , IFN- α , IFN- β , IFN- ω ; IFN- τ , interferón de consenso y similares); insulina (por ejemplo, Novolin, Humulin, Humalog, Lantus, Ultralente, etc.), factor de crecimiento similar a insulina (por ejemplo, IGF-I, IGF-II); factores sanguíneos (por ejemplo, Factor X, activador de plasminógeno tisular (TPA) y similares, tal como, pero sin limitación, por ejemplo, activador de plasminógeno tisular ACTIVASE[®] (alteplasa), NOVOSEVEN[®] (factor VIIa humano recombinante), Factor VIIa, Factor VIII (por ejemplo, KOGENATE[®]), Factor IX, β -globina, hemoglobina y similares); factores estimulantes de colonias (por ejemplo, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF, por ejemplo, NEUPOGEN[®] (filgrastim)), factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), Neulasta (pegfilgrastim), factor estimulante de colonias de granulocitos-monocitos, factor estimulante de colonias de megacariocitos y similares), factores de crecimiento transformantes (por ejemplo, TGF-beta, TGF-alfa); interleucinas (por ejemplo, IL-1, IL-2 (por ejemplo, Proleukin[®]), IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-12 y similares); un factor de crecimiento (por ejemplo, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF, por ejemplo, REGRANEX[®] (beclaperrmina)), factores de crecimiento de fibroblastos (FGF, por ejemplo, aFGF, bFGF, tales como FIBLAST[®] (trafermina)), factor de crecimiento derivado de estirpe de células gliales (GDNF), factor de crecimiento nervioso (NGF), factor de células madre (por ejemplo, STEMGEN[®] (ancestim)), factor de crecimiento de queratinocitos, factor de crecimiento de hepatocitos y similares); un receptor soluble (por ejemplo, un receptor soluble de unión a TNF- α tal como ENBREL[®] (etanercept), un receptor de VEGF soluble, un receptor de interleucina soluble, un receptor de linfocitos T γ/δ soluble y similares); una enzima (por ejemplo, α -glucosidasa, CERAZYME[®] (imiglucarasa, β -glucocerebrosidasa, CEREDASE[®] (alglucerasa)); un activador enzimático (por ejemplo, activador del plasminógeno tisular); una quimiocina (por ejemplo, IP-10, Mig, Groa/IL-8, expresadas y secretadas por linfocitos T normales y reguladas (RANTES), MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, PF-4 y similares); un agente angiogénico (por ejemplo, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF); un agente antiangiogénico (por ejemplo, un receptor de VEGF soluble); una vacuna proteínica; un péptido neuroactivo tal como bradisinina, colecistocinina, gastina, secretina, oxitocina, hormona liberadora de gonadotropina, beta-endorfina, encefalina, sustancia P, somatostatina, galanina, hormona liberadora de hormona de crecimiento, bombesina, warfarina, dinorfina, neurotensina, motilina, tirotropina, neuropéptido Y, hormona luteinizante, calcitonina, insulina, glucagón, vasopresina, angiotensina II, hormona liberadora de tirotropina, péptido intestinal vasoactivo, un péptido del sueño, etc.; otras proteínas tales como un agente trombolítico, un péptido natriurético auricular, proteína morfogénica ósea, trombopoyetina, relaxina, proteína ácida fibrilar glial, hormona foliculo estimulante, una alfa-1 antitripsina humana, un factor inhibidor de la leucemia, un factor de crecimiento transformante, un factor tisular, un factor de crecimiento similar a insulina, una hormona luteinizante, una hormona foliculo estimulante, un factor activador de macrófagos,

factor de necrosis tumoral, un factor quimiotáctico de neutrófilos, un factor de crecimiento nervioso, un inhibidor tisular de metaloproteinasas; un péptido intestinal vasoactivo, angiogenina, angiotropina, fibrina; hirudina; un factor inhibidor de la leucemia; un antagonista del receptor de IL-1 (por ejemplo, Kineret® (anakinra)); y similares. Se apreciará fácilmente que las formas nativas de las proteínas terapéuticas anteriores también son de interés como polipéptidos diana en la presente divulgación.

Otros ejemplos incluyen anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, anticuerpos humanizados, fragmentos de unión a antígeno (por ejemplo, F(ab)', Fab, Fv), anticuerpos monocatenarios y similares (por ejemplo, RITUXAN® (rituximab); REMICADE® (infliximab); HERCEPTIN® (trastuzumab); HUMIRA™ (adalimumab); XOLAIR® (omalizumab); BEXXAR® (tosutumomab); RAPTIVA™ (efalizumab); ERBITUX™ (cetuximab); y similares). En algunos casos, los anticuerpos incluyen anticuerpos que se unen específicamente a un antígeno tumoral, un antígeno de células inmunitarias (por ejemplo, CD4, CD8 y similares), un antígeno de un microorganismo, en particular un microorganismo patógeno (por ejemplo, un antígeno bacteriano, vírico, fúngico o parasitario) y similares.

En algunos casos, los métodos, conjugados y los compuestos que se describen en el presente documento pueden aplicarse para proporcionar un resto (por ejemplo, un polímero hidrosoluble) en un sitio de glucosilación nativo o modificado por ingeniería genética, tal como se encuentra en formas hiperglucosiladas de una proteína terapéutica.

La actividad biológica de un polipéptido diana modificado puede analizarse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Son de interés polipéptidos modificados que conservan al menos una actividad farmacológica deseada de la proteína parental correspondiente.

Composiciones inmunógenas

Los métodos, conjugados y compuestos que se desvelan en el presente documento también encuentran aplicación en la producción de componentes de composiciones inmunógenas (por ejemplo, vacunas terapéuticas). Por ejemplo, los compuestos pueden usarse para facilitar la unión de restos que aumentan la semivida sérica de un antígeno polipeptídico, que aumentan la inmunogenia del polipéptido o que unen un antígeno no aminoacídico a un vehículo polipeptídico. En este sentido, los compuestos pueden usarse para facilitar la modificación de antígenos microbianos (por ejemplo, un antígeno bacteriano, vírico, fúngico o parasitario), antígenos tumorales y otros antígenos que son de interés para la administración a un sujeto para desencadenar una respuesta inmunitaria en el sujeto. También es de interés la modificación de antígenos que son útiles en el desencadenamiento de anticuerpos que pueden ser útiles como herramientas de investigación.

Ejemplos adicionales de polipéptidos de interés para la modificación usando los compuestos que se desvelan en el presente documento incluyen aquellos que son de interés para la detección o el seguimiento funcional en un ensayo (por ejemplo, como herramienta de investigación, en un ensayo de cribado de fármacos y similares). Los ejemplos de polipéptidos de este tipo incluyen receptores (por ejemplo, receptores acoplados a proteína G (GPCR, incluyendo GPCR huérfanos)), ligandos de receptores (incluyendo los de origen natural y sintético), canales proteicos (por ejemplo, canales iónicos (por ejemplo, canales de potasio, canales de calcio, canales de sodio y similares) y otros polipéptidos. En algunas realizaciones, es de interés la modificación de polipéptidos asociados a la superficie celular, (tales como polipéptidos transmembrana), por ejemplo, cuando dicha modificación se realiza mientras el polipéptido está presente en una membrana. Se describen métodos para la modificación de un polipéptido en condiciones fisiológicas más adelante.

MÉTODOS DE PRODUCCIÓN DE POLIPÉPTIDOS

En general, los polipéptidos que se describen en el presente documento pueden expresarse en procariontas o eucariotas de acuerdo con formas convencionales, dependiendo del propósito de la expresión. Por tanto, también se describe en el presente documento una célula hospedadora, por ejemplo, una célula hospedadora genéticamente modificada que comprende un ácido nucleico que codifica un polipéptido.

Pueden seleccionarse células hospedadoras para la producción (incluyendo la producción a gran escala) de un polipéptido sin conjugar o modificado adecuado para formar un conjugado como se describe en el presente documento entre cualquiera de diversas células hospedadoras disponibles. Los ejemplos de células hospedadoras incluyen aquellas de un organismo unicelular procarionta o eucariota, tal como bacterias (por ejemplo, cepas de *Escherichia coli*, *Bacillus* spp. (por ejemplo, *B. subtilis*) y similares) levaduras u hongos (por ejemplo, *S. cerevisiae*, *Pichia* spp. y similares) y pueden usarse otras células hospedadoras de este tipo. Pueden usarse ejemplos de células hospedadoras originariamente derivadas de un organismo superior, tal como insectos, vertebrados, incluyendo mamíferos, (por ejemplo, CHO, HEK, y similares), como las células hospedadoras de expresión.

Las estirpes celulares de mamífero adecuadas incluyen, pero sin limitación, células HeLa (por ejemplo, American Type Culture Collection (ATCC) N.º CCL-2), células CHO (por ejemplo, ATCC N.º CRL9618 y CRL9096), células CHO DG44 (Urlaub (1983) *Cell* 33: 405), células CHO-K1 (ATCC CCL-61), células 293 (por ejemplo, ATCC N.º CRL-1573), células Vero, células NIH 3T3 (por ejemplo, ATCC N.º CRL-1658), células Huh-7, células BHK (por ejemplo,

ATCC N.º CCL10), células PC12 (ATCC N.º CRL1721), células COS, células COS-7 (ATCC N.º CRL1651), células RAT1, células L de ratón (ATCC N.º CCLI.3), células de riñón embrionario humano (HEK) (ATCC N.º CRL1573), células HLHepG2 y similares.

- 5 Los sistemas de expresión específicos de interés incluyen sistemas de expresión derivados de células bacterianas, de levaduras, de insectos y de mamíferos.

El polipéptido expresado puede recuperarse por cualquier medio adecuado conocido en la técnica. Adicionalmente, puede emplearse cualquier procedimiento de purificación de proteínas conveniente, donde las metodologías adecuadas de purificación de proteínas se describen en *Guide to Protein Purification*, (Deuthser ed.) (Academic Press, 1990). Por ejemplo, puede prepararse un lisado a partir de una célula que comprenda el vector de expresión que expresa el polipéptido deseado y purificarse usando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía de exclusión, electroforesis en gel, cromatografía de afinidad y similares.

15 MÉTODOS PARA LA MODIFICACIÓN DE UN POLIPÉPTIDO

En determinadas realizaciones, el polipéptido puede conjugarse con un resto de interés sin modificar en primer lugar el polipéptido. Por ejemplo, el polipéptido puede incluir uno o más grupos reactivos adecuados para la conjugación con el resto de interés (por ejemplo, un resto que comprende un resto de acoplamiento, tal como un compuesto de hidrazinil-indol o un derivado de hidrazinil-indol como se describe en el presente documento). En otras realizaciones, el polipéptido puede modificarse antes de la conjugación con el resto de interés. La modificación del polipéptido puede producir un polipéptido modificado que contenga uno o más grupos reactivos adecuados para la conjugación con el resto de interés.

25 En algunos casos, el polipéptido puede modificarse en uno o más restos de aminoácidos para proporcionar uno o más grupos reactivos adecuados para la conjugación con el resto de interés (por ejemplo, un resto que comprende un resto de acoplamiento, tal como un compuesto de hidrazinil-indol o un derivado de hidrazinil-indol como se describe en el presente documento). Por ejemplo, los carbonilos introducidos en un polipéptido pueden hacerse reaccionar selectivamente con α -nucleófilos, tales como compuestos que contienen aminoóxi e hidrazida. Las químicas selectivas para grupos funcionales carbonilo en una proteína con cinética potenciada, selectividad de sitio y estabilidad del conjugado pueden dar como resultado bioconjugados mejorados y proporcionar acceso a nuevos productos y dianas terapéuticas como se desvelan en el presente documento.

En determinadas realizaciones, el polipéptido puede modificarse para incluir un marcador de aldehído. Por "marcador de aldehído" o "marcador auxiliar" se entiende una secuencia de aminoácidos que contiene una secuencia de aminoácidos derivada de un motivo de sulfatasa que es capaz de convertirse o que se ha convertido, por acción de una enzima generadora de formilglicina (FGE, por sus siglas en inglés) para contener un resto 2-formilglicina (denominado en el presente documento "fGly"). El resto fGly generado por una FGE con frecuencia se denomina en la bibliografía "formilglicina". Dicho de otro modo, la expresión "marcador de aldehído" se usa en el presente documento para referirse a una secuencia de aminoácidos que comprende un motivo de sulfatasa "no convertido" (es decir, un motivo de sulfatasa en el que los restos cisteína o serina no se han convertido en fGly por una FGE, pero que es susceptible de convertirse, tal como un motivo de sulfatasa con la secuencia: L(C/S)TPSR), así como a una secuencia de aminoácidos que comprende un motivo de sulfatasa "convertido" (es decir, un motivo de sulfatasa en el que el resto de cisteína o serina se ha convertido en fGly por acción de una FGE, por ejemplo, L(fGly)TPSR). "Conversión" como se usa en el contexto de acción de una enzima generadora de formilglicina (FGE) en un motivo de sulfatasa se refiere a la modificación bioquímica de un resto de cisteína o serina en un motivo de sulfatasa a un resto de formilglicina (fGly) (por ejemplo, Cys a fGly o Ser a fGly). Se describen aspectos adicionales de los marcadores de aldehído y usos de los mismos en la modificación de proteínas específica del sitio en el documento US 7.985.783.

La conversión de un polipéptido para incluir fGly puede lograrse mediante métodos basados en células (*in vivo*) o sin células (*in vitro*). Análogamente, la modificación de un polipéptido para producir un polipéptido adecuado para la conjugación (por ejemplo, la modificación para producir un polipéptido que contiene un grupo reactivo adecuado para la conjugación) puede realizarse mediante métodos basados en células (*in vivo*) o sin células (*in vitro*).

Como alternativa, pueden aislarse polipéptidos aislados y sin modificar después de la producción recombinante en una célula hospedadora que carezca de una enzima adecuada o mediante producción sintética. Después, el polipéptido aislado puede ponerse en contacto con una enzima adecuada en condiciones para proporcionar la modificación deseada del polipéptido para incluir fGly. El polipéptido puede desplegarse mediante métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, usando calor, ajuste de pH, agentes caótopos, (por ejemplo, urea y similares), disolventes orgánicos (por ejemplo, hidrocarburos: octano, benceno, cloroformo), etc.) y la proteína desnaturalizada en contacto con una enzima adecuada. Después, el polipéptido modificado puede replegarse en condiciones adecuadas.

65 En algunos casos, el polipéptido modificado que contiene el resto fGly puede conjugarse con el resto de interés mediante reacción del fGly con un compuesto como se describe en el presente documento (por ejemplo, un

compuesto que contiene un resto de acoplamiento, tal como un hidrazinil-indol o derivado de hidrazinil-indol como se describe en el presente documento). Por ejemplo, puede aislarse un polipéptido que contenga fGly de una fuente de producción (por ejemplo, producción de células hospedadoras recombinantes, producción sintética) y ponerse en contacto con un fármaco reactivo que contenga compañero reactivo u otro resto (por ejemplo, marcador detectable) en condiciones adecuadas para proporcionar la conjugación del fármaco u otro resto con el polipéptido. Por ejemplo, el fármaco que contiene el compañero reactivo u otro resto puede incluir un resto reactivo (por ejemplo, un compuesto de hidrazinil-indol o derivado de hidrazinil-indol como se describe en el presente documento). El fármaco que contiene hidrazinil-indol u otro resto puede hacerse reaccionar con el polipéptido para producir un conjugado polipeptídico como se describe en el presente documento. Por ejemplo, la FIG. 1 muestra dibujos esquemáticos de conjugados polipeptídicos de acuerdo con realizaciones de la presente divulgación. La FIG. 1A muestra un esquema de reacción para la producción de un conjugado polipeptídico que incluye un resto de acoplamiento de hidrazinil-indol. En la FIG. 1A, un polipéptido (indicado por la esfera sombreada en la figura) que incluye un fGly se hace reaccionar con un resto de acoplamiento de hidrazinil-indol (por ejemplo, un compuesto de hidrazinil-indol o derivado de hidrazinil-indol) para producir un conjugado polipeptídico que incluya el resto de acoplamiento. Como se muestra en la FIG. 1A, la hidrazina del resto de acoplamiento de hidrazinil-indol se somete a una ciclación intramolecular para formar un anillo de pirazol o piridazina parcialmente insaturado dependiendo de si n es 0 o 1, respectivamente. En la FIG. 1A, la esfera sombreada puede representar un polipéptido y R_4 puede ser un fármaco o un marcador detectable, sin embargo, en otras realizaciones, la esfera sombreada puede representar un fármaco o un marcador detectable y R_4 puede ser un polipéptido. La FIG. 1B muestra un esquema de reacción para la producción de un conjugado polipeptídico que incluye un resto de acoplamiento de hidrazinil-indol diferente. En la Fig. 1B, un polipéptido que incluye un fGly se hace reaccionar con el resto de acoplamiento de hidrazinil-indol para producir un conjugado polipeptídico que incluya el resto de acoplamiento. Como se muestra en la FIG. 1B, la hidrazina del resto de acoplamiento de hidrazinil-indol se somete a una ciclación intramolecular para formar un anillo de piridazina o 1,2-diazepina parcialmente insaturado dependiendo de si n es 0 o 1, respectivamente. En la Fig. 1B, la esfera sombreada puede representar un polipéptido y R_4 puede ser un fármaco o un marcador detectable, sin embargo, en otras realizaciones, la esfera sombreada puede representar un fármaco o un marcador detectable y R_4 puede ser un polipéptido.

CONJUGADOS POLIPEPTÍDICOS

Los polipéptidos pueden someterse a conjugación para proporcionar la unión de una amplia diversidad de restos. Los ejemplos de restos de interés incluyen, pero sin limitación, un fármaco, un marcador detectable, una molécula pequeña, un polímero hidrosoluble, un péptido y similares. Por tanto, la presente divulgación proporciona un conjugado polipeptídico como se ha descrito anteriormente.

El resto de interés se proporciona como un componente de un compañero reactivo para la reacción con un resto de un polipéptido. En determinadas realizaciones, los métodos de conjugación de polipéptidos son compatibles con las condiciones de reacción adecuadas para el polipéptido. Por ejemplo, las condiciones de reacción pueden incluir una mezcla de reacción que incluya agua. En algunos casos, la mezcla de reacción puede tener un pH compatible con el polipéptido, tal como, pero sin limitación, un pH de 4 a 11, o un pH de 5 a 10, o un pH de 6 a 9, o un pH de 6 a 8. En determinados casos, la mezcla de reacción tiene un pH de 7. En algunas realizaciones, las condiciones de reacción se realizan a una temperatura compatible con el polipéptido. Por ejemplo, las condiciones de reacción pueden ser a una temperatura de 20 °C a 45 °C, tal como de 25 °C a 40 °C, o de 30 °C a 40 °C, o de 35 °C a 40 °C. En algunos casos, las condiciones de reacción son a temperatura ambiente (por ejemplo, 25 °C). En algunos casos, las condiciones de reacción son a una temperatura de 37 °C.

Con la presente divulgación, el experto en la materia puede adaptar fácilmente cualquiera de diversos restos para proporcionar un compañero reactivo para la conjugación con un polipéptido como se contempla en el presente documento. El experto en la materia apreciará que factores tales como el pH y el impedimento estérico (es decir, la accesibilidad del resto de aminoácido modificado a la reacción con un compañero reactivo de interés) son importantes. La modificación de las condiciones de reacción para proporcionar condiciones de conjugación óptimas está dentro de la habilidad del artesano habitual y es una rutina en la técnica. Cuando la conjugación se realiza con un polipéptido presente en o sobre una célula viva, las condiciones se seleccionan para que sean fisiológicamente compatibles. Por ejemplo, el pH puede reducirse temporalmente durante un tiempo suficiente para permitir que ocurra la reacción, pero dentro de un período tolerado por la célula (por ejemplo, de aproximadamente 30 minutos a 1 hora). Las condiciones fisiológicas para realizar la modificación de polipéptidos en una superficie celular pueden ser similares a aquellas utilizadas en una reacción de cetona-azida en la modificación de células que llevan azidas en la superficie celular (véase, por ejemplo, el documento U.S. 6.570.040).

En determinadas realizaciones, la presente divulgación proporciona un conjugado polipeptídico, donde el polipéptido es un anticuerpo. Como tales, las realizaciones incluyen un anticuerpo conjugado con un resto de interés, donde un anticuerpo conjugado con un resto de interés se denomina un "conjugado de anticuerpo". Un polipéptido de Ig generalmente incluye al menos una región constante de la cadena pesada de Ig o una región constante de la cadena ligera de Ig y puede incluir adicionalmente una región variable de Ig (por ejemplo, una región V_L y/o una región V_H). Las regiones constantes de cadena pesada de Ig incluyen regiones constantes de Ig de cualquier isotipo de cadena pesada, regiones constantes de cadena pesada de Ig de origen no natural (incluyendo regiones constantes de

cadena pesada de Ig de consenso). Una región constante de Ig puede modificarse para conjugarse con un resto de interés, donde el resto de interés está presente en o adyacente a una región de bucle accesible al disolvente de la región constante de Ig.

- 5 En algunos casos, un conjugado de anticuerpo de la presente divulgación puede incluir: 1) región constante de la cadena pesada de Ig conjugada con uno o más restos de interés y una región constante de la cadena ligera de Ig conjugada con uno o más restos de interés; 2) una región constante de la cadena pesada de Ig conjugada con uno o más restos de interés y una región constante de la cadena ligera de Ig que no está conjugada con un resto de interés; o 3) una región constante de la cadena pesada de Ig que no está conjugada con un resto de interés y una
10 región constante de la cadena ligera de Ig conjugada con uno o más restos de interés. Un conjugado de anticuerpo en cuestión también puede incluir dominios VH y/o VL variables. Como se ha descrito anteriormente, el uno o más restos de interés pueden conjugarse con la región constante de la cadena pesada de Ig o la región constante de la cadena ligera de Ig en un único resto de aminoácido (por ejemplo, uno o dos restos de interés conjugados con un solo resto de aminoácido), o pueden conjugarse con la región constante de la cadena pesada de Ig y/o la región
15 constante de la cadena ligera de Ig en dos o más restos de aminoácidos diferentes.

Un conjugado de anticuerpo de la presente divulgación puede incluir, como el resto conjugado, cualquiera de diversos compuestos, como se describe en el presente documento, por ejemplo, un fármaco (por ejemplo, un fármaco peptídico, un fármaco de molécula pequeña y similares), un polímero hidrosoluble, un marcador detectable,
20 un péptido sintético, etc.

Un conjugado de anticuerpo puede tener cualquiera de diversas especificidades de unión a antígeno, como se ha descrito anteriormente, incluyendo, por ejemplo, un antígeno presente en una célula cancerosa; un antígeno presente en una célula autoinmunitaria; un antígeno presente en un microorganismo patógeno; un antígeno presente
25 en una célula infectada con virus (por ejemplo, una célula infectada con virus de la inmunodeficiencia humana), por ejemplo, CD4 o gp120; un antígeno presente en una célula enferma; y similares. Por ejemplo, un anticuerpo conjugado puede unirse a un antígeno, como se ha señalado anteriormente, donde el antígeno está presente en la superficie de la célula. Un conjugado de anticuerpo de la presente divulgación puede unirse al antígeno con una afinidad de unión adecuada, por ejemplo, de 5×10^{-6} M a 10^{-7} M, de 10^{-7} M a 5×10^{-7} M, de 5×10^{-7} M a 10^{-8} M, de
30 10^{-8} M a 5×10^{-8} M, de 5×10^{-8} M a 10^{-9} M o una afinidad de unión superior a 10^{-9} M.

A modo de ejemplos no limitantes, un conjugado de anticuerpo en cuestión puede unirse a un antígeno presente en una célula cancerosa (por ejemplo, un antígeno específico de tumor; un antígeno que se sobreexpresa en una célula cancerosa; etc.) y el resto conjugado puede ser un fármaco (por ejemplo, un fármaco de molécula pequeña, un fármaco peptídico, etc.). Por ejemplo, un conjugado de anticuerpo en cuestión puede ser específico para CD19,
35 donde el resto conjugado es un fármaco (por ejemplo, un fármaco de molécula pequeña, un fármaco peptídico, etc.). Como otro ejemplo, un conjugado de anticuerpo en cuestión puede ser específico para CD22, donde el resto conjugado puede ser un fármaco (por ejemplo, un fármaco de molécula pequeña, un fármaco peptídico, etc.).

40 Como ejemplos no limitantes adicionales, un conjugado de anticuerpo en cuestión puede unirse a un antígeno presente en una célula infectada con un virus (por ejemplo, donde el antígeno está codificado por el virus; donde el antígeno se expresa en un tipo celular que está infectado por un virus; etc.) y el resto conjugado puede ser un inhibidor de la fusión vírica. Por ejemplo, un conjugado de anticuerpo en cuestión puede unirse a CD4 y el resto conjugado puede ser un inhibidor de la fusión vírica. Como otro ejemplo, un conjugado de anticuerpo en cuestión
45 puede unirse a gp120 y el resto conjugado puede ser un inhibidor de la fusión vírica.

Las realizaciones de la presente divulgación también incluyen conjugados polipeptídicos donde el polipéptido es una proteína transportadora. Por ejemplo, las proteínas transportadoras pueden unirse de manera covalente y específica de sitio para proporcionar un armazón que contenga fármaco. Una proteína transportadora puede conjugarse de
50 forma específica de sitio con una molécula de interés unida covalentemente, tal como un fármaco (por ejemplo, un péptido, un fármaco de molécula pequeña y similares), marcador detectable, etc. En determinadas realizaciones, los conjugados fármaco-armazón pueden proporcionar una semivida sérica potenciada del fármaco.

En general, una "proteína transportadora" es una proteína que es biológicamente inerte, es susceptible de modificación como se desvela en el presente documento y que puede proporcionar una presentación accesible al disolvente del resto de interés conjugado con la proteína transportadora a través de un resto de aminoácido modificado en la proteína transportadora (por ejemplo, a través de un enlace de oxima o hidrazona dentro del motivo de sulfatasa convertido de una proteína transportadora marcada con aldehído) en un entorno fisiológico. "Biológicamente inerte" significa que la proteína transportadora presenta actividad biológica clínicamente
60 insignificante o no detectable cuando se administra al sujeto adecuado, tal como cuando se administra a un sujeto humano. Por tanto, las proteínas transportadoras son biológicamente inertes en el sentido de que, por ejemplo, son de baja inmunogenia, no presentan propiedades de direccionamiento significativas o detectables (por ejemplo, no presentan actividad significativa o detectable en la unión a un receptor específico) y presentan poca o ninguna actividad biológica detectable que pueda interferir con la actividad del resto (por ejemplo, fármaco o marcador detectable) conjugado con la proteína transportadora marcada con aldehído. Por "baja inmunogenia" se entiende que la proteína transportadora provoca poca o ninguna respuesta inmunitaria detectable tras la administración a un
65

sujeto, tal como un sujeto mamífero, por ejemplo, un sujeto humano. Las proteínas transportadoras pueden proporcionarse en formas monoméricas o multiméricas (por ejemplo, diméricas).

5 Son de interés proteínas transportadoras que tienen una estructura tridimensional cuando están plegadas que proporcionan múltiples sitios diferentes accesibles al disolvente que son susceptibles de modificación (y, por tanto, conjugación con un resto de interés). En general, son proteínas transportadoras de interés aquellas que tienen un tamaño y una estructura plegada tridimensional de manera de proporcionar la presentación del resto conjugado de interés en superficies accesibles al disolvente de una manera que está suficientemente separada espacialmente para proporcionar actividad y biodisponibilidad del resto o restos conjugados de interés. La proteína transportadora
10 puede seleccionarse de acuerdo con diversos factores incluyendo, pero sin limitación, el resto (por ejemplo, fármaco o marcador detectable) que se ha de conjugar con la proteína transportadora.

En consecuencia, cualquiera de una amplia diversidad de polipéptidos puede ser adecuado para su uso como proteínas transportadoras para su uso en los conjugados de proteína transportadora de la presente divulgación.
15 Dichas proteínas transportadoras pueden incluir aquellas que tienen una secuencia de aminoácidos, fragmentos de polipéptidos de origen natural y polipéptidos de origen no natural y fragmentos de los mismos.

Los ejemplos de proteínas transportadoras incluyen, pero sin limitación, albúmina y fragmentos de la misma (por ejemplo, albúmina sérica humana, albúmina sérica bovina y similares), transferrina y fragmentos de la misma (por ejemplo, transferrina humana) y fragmentos de Fc que tienen una unión reducida a un receptor de Fc de mamífero, en particular un receptor de Fc humano (por ejemplo, un fragmento de Fc modificado de un anticuerpo (por ejemplo, IgG), tal como un anticuerpo de mamífero, por ejemplo, un anticuerpo humano). Se ejemplifican ejemplos de fragmentos de Fc modificados que tienen una unión reducida al receptor de Fc por los fragmentos de Fc de Herceptin (trastuzumab) y Rituxan (Rituximab), que contienen mutaciones puntuales que proporcionan una unión
20 reducida al receptor de Fc (véase, por ejemplo, Clynes et al., *Nature Medicine* (2000), 6, 443-446). Como alternativa o además, el isotipo del fragmento de Fc puede seleccionarse de acuerdo con un nivel deseado de unión del receptor de Fc (por ejemplo, uso de un fragmento de Fc de una región constante de la cadena pesada humana de isotipo de IgG4 más que de IgG1 o IgG3. (véase, por ejemplo, Fridman *FASEB J* Septiembre de 1991; 5 (12): 2684-90). En general, las proteínas transportadoras pueden tener al menos aproximadamente 4 kDa (por ejemplo, aproximadamente 50 restos de aminoácidos de longitud), por lo general al menos aproximadamente 25 kDa y puede ser de mayor tamaño (por ejemplo, la transferrina tiene un peso molecular de 90 kDa mientras que los fragmentos de Fc pueden tener pesos moleculares de 30 kDa a 50 kDa).

Los conjugados que se describen en el presente documento pueden usarse para diversas aplicaciones incluyendo, pero sin limitación, visualización usando fluorescencia o marcado de epítopos (por ejemplo, microscopía electrónica usando partículas de oro equipadas con grupos reactivos para la conjugación con los compuestos y conjugados que se describen en el presente documento); inmovilización de proteínas (por ejemplo, producción de micromatrices de proteínas); estudios y aplicaciones de dinámica y localización de proteínas; y conjugación de proteínas con un resto de interés (por ejemplo, restos que mejoran la semivida de una proteína parental (por ejemplo, poli(etilenglicol)),
35 restos de direccionamiento (por ejemplo, para potenciar la entrega a un sitio de acción) y restos biológicamente activos (por ejemplo, un resto terapéutico).

El conjugado polipeptídico puede incluir un polipéptido conjugado con un resto o restos que proporcionen una o más de una amplia diversidad de funciones o características. En general, los ejemplos de restos incluyen, pero sin limitación, los siguientes: marcadores detectables (por ejemplo, marcadores fluorescentes o fluoróforos); restos dinámicos activados por luz (por ejemplo, cierre de poros mediado por azobenceno, cambios estructurales mediados por azobenceno, motivos de reconocimiento de fotoextracción de una estructura de jaula); polímeros hidrosolubles (por ejemplo, PEGilación); marcadores de purificación (por ejemplo, para facilitar el aislamiento mediante cromatografía de afinidad (por ejemplo, unión de un epítopo FLAG); dominios de localización de membrana (por ejemplo, lípidos o anclajes de tipo glucosfatidilinositol (GPI)); marcadores de inmovilización (por ejemplo, para facilitar la unión del polipéptido una superficie, incluyendo la unión selectiva); fármacos (por ejemplo, para facilitar el direccionamiento del fármaco, por ejemplo, a través de la unión del fármaco a un anticuerpo); restos de entrega dirigida, (por ejemplo, ligandos para la unión a un receptor diana (por ejemplo, para facilitar la unión vírica, unión de una proteína de direccionamiento presente en un liposoma, etc.) y similares.
50

55 A continuación se proporcionan ejemplos específicos y no limitantes.

Fármacos para la conjugación con un polipéptido

60 Cualquiera de varios fármacos es adecuado para su uso, o puede modificarse para volverse adecuado para su uso, como un compañero reactivo para conjugar con un polipéptido. Los ejemplos de fármacos incluyen fármacos de molécula pequeña y fármacos peptídicos. Por tanto, la presente divulgación proporciona conjugados fármaco-polipéptido.

65 "Fármaco de molécula pequeña" como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto, por ejemplo, un compuesto orgánico, que presenta una actividad farmacéutica de interés y que generalmente tiene un peso

molecular de 800 Da o menos, o 2000 Da o menos, pero puede abarcar moléculas de hasta 5 kDa y puede ser tan grande como de 10 kDa. Una molécula inorgánica pequeña se refiere a una molécula que no contiene átomos de carbono, mientras que una molécula orgánica pequeña se refiere a un compuesto que contiene al menos un átomo de carbono.

5 "Fármaco peptídico" como se usa en el presente documento se refiere a compuestos poliméricos que contienen aminoácidos y pretende abarcar péptidos, oligopéptidos, péptidos cíclicos, polipéptidos y proteínas de origen natural y de origen no natural, así como peptidomiméticos. Los fármacos peptídicos pueden obtenerse mediante síntesis química o pueden producirse a partir de una fuente codificada genéticamente (por ejemplo, fuente recombinante).
10 Los fármacos peptídicos pueden variar en peso molecular y pueden tener un peso molecular de 200 Da a 10 kDa o más.

15 En algunos casos, el fármaco es un agente quimioterápico contra el cáncer. Por ejemplo, cuando el polipéptido es un anticuerpo (o fragmento del mismo) que tiene especificidad por una célula tumoral, el anticuerpo puede modificarse como se describe en el presente documento para incluir un aminoácido modificado, que posteriormente puede conjugarse con un agente quimioterápico contra el cáncer. Los agentes quimioterápicos contra el cáncer incluyen compuestos no peptídicos (es decir, no proteínicos) que reducen la proliferación de células cancerosas y abarcan agentes citotóxicos y agentes citostáticos. Los ejemplos no limitantes de agentes quimioterápicos incluyen agentes alquilantes, nitrosoureas, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, alcaloides vegetales (vinca) y hormonas esteroideas. También pueden usarse compuestos peptídicos.

20 Los agentes quimioterápicos contra el cáncer adecuados incluyen dolastatina y análogos activos y derivados de la misma; y auristatina y análogos activos y derivados de la misma. Véase, por ejemplo, el documento WO 96/33212, el documento WO 96/14856 y el documento U.S. 6.323.315. Por ejemplo, pueden incluirse la dolastatina 10 o la auristatina PE en un conjugado anticuerpo-fármaco de la presente divulgación. Los agentes quimioterápicos contra el cáncer adecuados también incluyen maytansinoides y análogos activos y derivados de los mismos (véase, por ejemplo, el documento EP 1391213; y Liu et al (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 8618-8623); y duocarmicinas y análogos activos y derivados de las mismas (por ejemplo, incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1).

30 Se conocen y se usan ampliamente en la técnica agentes que actúan reduciendo la proliferación celular. Dichos agentes incluyen agentes alquilantes, tales como mostazas nitrogenadas, nitrosoureas, derivados de etilenimina, sulfonatos de alquilo y triazenos, incluyendo, pero sin limitación, mecloretamina, ciclofosfamida (Cytosan™), melfalano (L-sarcolisina), carmustina (BCNU), lomustina (CCNU), semustina (metil-CCNU), estrepto-zocina, clorozotocina, mostaza de uracilo, clormetina, ifosfamida, clorambucilo, pipobromano, trietilenmelamina, trietilenotiofosforamina, busulfán, dacarbazina y temozolomida.

40 Los agentes antimetabolitos incluyen análogos del ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de adenosina desaminasa, incluyendo, pero sin limitación, citarabina (CYTOSAR-U), arabinósido de citosina, fluorouracilo (5-FU), floxuridina (FudR), 6-tioguanina, 6-mercaptopurina (6-MP), pentostatina, 5-fluorouracilo (5-FU), metotrexato, 10-propargil-5,8-didesazafolato (PDDF, CB3717), ácido 5,8-didesazatetrahidrofólico (DDATHF), leucovorina, fosfato de fludarabina, pentostatina y gemcitabina.

45 Los productos naturales adecuados y sus derivados, (por ejemplo, alcaloides de la vinca, antibióticos antitumorales, enzimas, lincocinas y epipodofilotoxinas), incluyen, pero sin limitación, Ara-C, paclitaxel (Taxol®), docetaxel (Taxotere®), desoxicoformicina, mitomicina-C, L-asparaginasa, azatioprina; brequinar; alcaloides, por ejemplo, vincristina, vinblastina, vinorelbina, vindesina, etc.; podofilotoxinas, por ejemplo, etopósido, tenipósido, etc.; antibióticos, por ejemplo, antraciclina, clorhidrato de daunorrubicina (daunomicina, rubidomicina, cerubidina), idarrubicina, doxorubicina, epirubicina y derivados de morfolino, etc.; bisciclopéptidos de fenoxizona, por ejemplo, dactinomicina; glucopéptidos básicos, por ejemplo, bleomicina; glucósidos de antraquinona, por ejemplo, plicamicina (mitramicina); antracenodionas, por ejemplo, mitoxantrona; azirinopirrol indoldionas, por ejemplo, mitomicina; inmunosupresores macrocíclicos, por ejemplo, ciclosporina, FK-506 (tacrolimus, prograf), rapamicina, etc.; y similares.

50 Otros agentes citotóxicos antiproliferativos son navelbena, CPT-11, anastrozol, letrozol, capecitabina, reloxafina, ciclofosfamida, ifosamida y droloxafina.

60 También es adecuado el uso de agentes que afectan a los microtúbulos, que tienen actividad antiproliferativa e incluyen, pero sin limitación, alocolchicina (NSC 406042), Halicondrina B (NSC 609395), colchicina (NSC 757), derivados de colchicina (por ejemplo, NSC 33410), dolastatina 10 (NSC 376128), maitansina (NSC 153858), rizoxina (NSC 332598), paclitaxel (Taxol®), derivados de Taxol®, docetaxel (Taxotere®), tiocolchicina (NSC 361792), tritil cisteína, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, epotilonas naturales y sintéticas, incluyendo, pero sin limitación, epotilona A, epotilona B, discodermolida; estramustina, nocodazol y similares.

65 Los moduladores de hormonas y los esteroides (incluyendo análogos sintéticos) que son adecuados para su uso incluyen, pero sin limitación, adrenocorticoesteroides, por ejemplo, prednisona, dexametasona, etc.; estrógenos y progestinas, por ejemplo, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol,

estradiol, clomifeno, tamoxifeno; etc.; y supresores adrenocorticales, por ejemplo, aminoglutetimida; 17 α -etinilestradiol; dietilestilbestrol, testosterona, fluoximasterona, propionato de dromostanolona, testolactona, metilprednisolona, metil-testosterona, prednisolona, triamcinolona, clorotrianiseno, hidroxiprogesterona, aminoglutetimida, estramustina, acetato de medroxiprogesterona, leuprolida, Flutamida (Drogenil), Toremifeno (Fareston) y Zoladex®. Los estrógenos estimulan la proliferación y diferenciación; por tanto, los compuestos que se unen al receptor de estrógenos se usan para bloquear esta actividad. Los corticosteroides pueden inhibir la proliferación de los linfocitos T.

Otros agentes quimioterápicos adecuados incluyen complejos metálicos, por ejemplo, cisplatino (cis-DDP), carboplatino, etc.; ureas, por ejemplo, hidroxiourea; e hidrazinas, por ejemplo, N-metilhidrazina; epidofilotoxina; un inhibidor de topoisomerasa; procarbazona; mitoxantrona; leucovorina; tegafur; etc. Otros agentes antiproliferativos de interés incluyen inmunosupresores, por ejemplo, ácido micofenólico, talidomida, desoxiespergualina, azasporina, leflunomida, mizoribina, azaespirano (SKF 105685); Iressa® (ZD 1839, 4-(3-cloro-4-fluorofenilamino)-7-metoxi-6-(3-(4-morfolinil)propoxi)quinazolina); etc.

Los taxanos son adecuados para su uso. Los "taxanos" incluyen paclitaxel, así como cualquier derivado o profármaco activo de taxanos. El "paclitaxel" (que debe entenderse que en el presente documento incluye análogos, formulaciones y derivados tales como, por ejemplo, docetaxel, TAXOL™, TAXOTERE™ (una formulación de docetaxel), análogos de 10-desacetilo de paclitaxel y los análogos de 3'-N-desbenzoil-3'-N-t-butoxicarbonilo de paclitaxel) puede prepararse fácilmente utilizando técnicas conocidas por los expertos en la materia (véase también el documento WO 94/07882, el documento WO 94/07881, el documento WO 94/07880, el documento WO 94/07876, el documento WO 93/23555, el documento WO 93/10076; las Patentes de los EE.UU. N.º 5.294.637; 5.283.253; 5.279.949; 5.274.137; 5.202.448; 5.200.534; 5.229.529; y el documento EP 590.267) o puede obtenerse de diversas fuentes comerciales, incluyendo, por ejemplo, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. (T7402 de *Taxus brevifolia*; o T-1912 de *Taxus yunnanensis*).

Debe entenderse que paclitaxel se refiere no solo a la forma común químicamente disponible del paclitaxel, sino a análogos y derivados (por ejemplo, docetaxel Taxotere™, como se ha indicado anteriormente) y conjugados de paclitaxel (por ejemplo, paclitaxel-PEG, paclitaxel-dextrano o paclitaxel-xilosa).

También se incluye dentro del término "taxano" diversos derivados conocidos, incluyendo tanto derivados hidrófilos como derivados hidrófobos. Los derivados del taxano incluyen, pero sin limitación, los derivados de galactosa y manosa que se describen en la Solicitud Internacional de Patente N.º WO 99/18113; los derivados de piperazino y otros que se describen en el documento WO 99/14209; los derivados de taxano que se describen en los documentos WO 99/09021, WO 98/22451 y la Patente de los EE.UU. N.º 5.869.680; los 6-tio derivados que se describen en el documento WO 98/28288; los derivados de sulfenamida que se describen en la Patente de los EE.UU. N.º 5.821.263; y los derivados de taxol que se describen en la Patente de los EE.UU. N.º 5.415.869. Adicionalmente, incluye profármacos del paclitaxel incluyendo, pero sin limitación, los que se describen en el documento WO 98/58927; el documento WO 98/13059; y la Patente de los EE.UU. N.º 5.824.701.

Los modificadores de la respuesta biológica adecuados para su uso incluyen (1) inhibidores de la actividad tirosina cinasa (RTK); (2) inhibidores de la actividad serina/treonina cinasa; (3) antagonistas de antígenos asociados a tumores, tales como anticuerpos que se unen específicamente a un antígeno tumoral; (4) agonistas de receptores de apoptosis; (5) interleucina-2; (6) IFN- α ; (7) IFN- γ ; (8) factores estimulantes de colonias; e (9) inhibidores de la angiogénesis.

Métodos para la modificación de fármacos para que contengan un compañero reactivo

Los fármacos que se conjugan con un polipéptido pueden modificarse para incorporar un compañero reactivo para la reacción con el polipéptido. Cuando el fármaco es un fármaco peptídico, el resto reactivo (por ejemplo, aminooxi o hidrazida puede posicionarse en una región N-terminal, el extremo N, una región C-terminal, el extremo C o en una posición interna al péptido. Por ejemplo, el ejemplo de un método implica sintetizar un fármaco peptídico que tiene un grupo aminooxi. En este ejemplo, el péptido se sintetiza a partir de un precursor protegido con Boc. Un grupo amino de un péptido puede reaccionar con un compuesto que comprenda un grupo ácido carboxílico y un grupo oxi-N-Boc. Como ejemplo, el grupo amino del péptido reacciona con el ácido 3-(2,5-dioxopirrolidin-1-iloxi)propanoico. Otras variaciones en el compuesto que comprende un grupo ácido carboxílico y un grupo protector de oxi-N pueden incluir un número diferente de carbonos en el enlazador alquileo y sustituyentes en el enlazador alquileo. La reacción entre el grupo amino del péptido y el compuesto que comprende un grupo ácido carboxílico y un grupo protector de oxi-N ocurre a través de la química convencional de acoplamiento de péptidos. Los ejemplos de reactivos de acoplamiento de péptidos que pueden usarse incluyen, pero sin limitación, DCC (diciclohexilcarbodiimida), DIC (diisopropilcarbodiimida), di-p-toluoilcarbodiimida, BDP (1-dietilfosfato de benzotriazol-1-ciclohexil-3-(2-morfoliniletil)carbodiimida), EDC (clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil-3-etil-carbodiimida), fluoruro cianúrico, cloruro cianúrico, TFFH (hexafluorofosfato de tetrametil fluorofosforamidinio), DPPA (difenilfosforazidato), BOP (hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio), HBTU (hexafluorofosfato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio), TBTU (tetrafluoroborato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio), TSTU (tetrafluoroborato de O-(N-succinimidil)-N,N,N',N'-tetrametiluronio), HATU (N-óxido de hexafluorofosfato de N-

5 [(dimetilamino)-1-H-1,2,3-triazolo[4,5,6]-piridin-1-il-metileno]-N-metilmetanaminio), BOP-Cl (cloruro de bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfínico), PyBOP (tetrafluorofosfato de (1-H-1,2,3-benzotriazol-1-ilo)-tris(pirrolidino)fosfonio), BrOP (hexafluorofosfato de bromo-tris(dimetilamino)fosfonio), DEPBT (3-(dietoxifosforilo)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ona) PyBrOP (hexafluorofosfato de bromotris(pirrolidino)fosfonio). Como ejemplo no limitante, pueden usarse HOBt y DIC como reactivos de acoplamiento peptídico.

10 La desprotección para exponer la funcionalidad amino-oxi se realiza en el péptido que comprende un grupo N-protector. La desprotección del grupo N-oxisuccinimida, por ejemplo, ocurre de acuerdo con las condiciones de desprotección convencionales para un grupo amida cíclico. Pueden encontrarse condiciones de desprotección en Greene y Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 3ª ed., 1999, John Wiley & Son, NY y Harrison et al. Determinadas condiciones de desprotección incluyen un reactivo de hidrazina, reactivo de amino o borohidruro de sodio. La desprotección de un grupo protector Boc puede ocurrir con TFA. Otros reactivos para la desprotección incluyen, pero sin limitación, hidrazina, metilhidrazina, fenilhidrazina, borohidruro de sodio y trietilamina. El producto y los intermedios pueden purificarse por medios convencionales, tales como la purificación por HPLC.

15 El experto en la materia apreciará que factores tales como el pH y el impedimento estérico (es decir, la accesibilidad del resto de aminoácido a la reacción con un compañero reactivo de interés) son importantes. La modificación de las condiciones de reacción para proporcionar condiciones de conjugación óptimas está dentro de la habilidad del artesano habitual y es una rutina en la técnica. Cuando la conjugación se realiza con un polipéptido presente en o sobre una célula viva, las condiciones se seleccionan para que sean fisiológicamente compatibles. Por ejemplo, el pH puede reducirse temporalmente durante un tiempo suficiente para permitir que ocurra la reacción, pero dentro de un período tolerado por la célula (por ejemplo, de aproximadamente 30 minutos a 1 hora). Las condiciones fisiológicas para realizar la modificación de polipéptidos en una superficie celular pueden ser similares a aquellas utilizadas en una reacción de cetona-azida en la modificación de células que llevan azidas en la superficie celular (véase, por ejemplo, el documento U.S. 6.570.040).

20 También se contemplan compuestos de molécula pequeña que contengan, o se modifiquen para contener, un grupo α -nucleofílico que sirva como compañero reactivo con un compuesto o conjugado que se desvela en el presente documento para su uso como fármacos en los conjugados polipéptido-fármaco de la presente divulgación. En la técnica se conocen métodos generales para esquemas y condiciones de síntesis química útiles para sintetizar un compuesto de interés (véase, por ejemplo, Smith y March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Quinta edición, Wiley-Interscience, 2001; o Vogel, *A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis*, Cuarta edición, Nueva York: Longman, 1978).

35 **Fármacos peptídicos**

40 En algunos casos, un conjugado comprende un péptido unido covalentemente. Los péptidos adecuados incluyen, pero sin limitación, péptidos citotóxicos; péptidos angiogénicos; péptidos antiangiogénicos; péptidos que activan las células B; péptidos que activan los linfocitos T; péptidos antivíricos; péptidos que inhiben la fusión vírica; péptidos que aumentan la producción de una o más poblaciones de linfocitos; péptidos antimicrobianos; factores de crecimiento; factores liberadores de la hormona de crecimiento; péptidos vasoactivos; péptidos antiinflamatorios; péptidos que regulan el metabolismo de la glucosa; un péptido antitrombótico; un péptido antinociceptivo; un péptido vasodilatador; un inhibidor de la agregación plaquetaria; un analgésico; y similares.

45 En algunas realizaciones, el péptido puede sintetizarse químicamente para incluir un grupo reactivo con un resto de aminoácido o un resto de aminoácido modificado del polipéptido. Un péptido sintético adecuado tiene una longitud de 5 aminoácidos a 100 aminoácidos, o más de 100 aminoácidos; por ejemplo, un péptido adecuado tiene una longitud de 5 aminoácidos (aa) a 10 aa, de 10 aa a 15 aa, de 15 aa a 20 aa, de 20 aa a 25 aa, de 25 aa a 30 aa, de 30 aa a 40 aa, de 40 aa a 50 aa, de 50 aa a 60 aa, de 60 aa a 70 aa, de 70 aa a 80 aa, de 80 aa a 90 aa o de 90 aa a 100 aa.

50 En determinadas realizaciones, un péptido puede modificarse para que contenga un resto que contenga un nucleófilo α (por ejemplo, un resto aminooxi o hidrazida), por ejemplo, puede hacerse reaccionar con un polipéptido que contenga fGly para producir un conjugado en el que el polipéptido y el péptido estén unidos por un enlace de hidrazona u oxima, respectivamente. Se describen a continuación ejemplos de métodos para sintetizar un péptido, tal como el péptido sintético que comprende un grupo reactivo con un resto de aminoácido o un resto de aminoácido modificado del polipéptido.

60 Los péptidos adecuados incluyen, pero sin limitación, hLF-11 (un fragmento N-terminal de 11 aminoácidos de lactoferrina), un péptido antimicrobiano; granulicina, un péptido antimicrobiano; Plectasin (NZ2114; SAR 215500), un péptido antimicrobiano; inhibidores de la fusión vírica tales como Fuzeon (enfuvirtida), TRI-1249 (T-1249; véase, por ejemplo, Matos et al. (2010) *PLoS One* 5: e9830), TRI-2635 (T-2635; véase, por ejemplo, Eggink et al. (2009) *J. Biol. Chem.* 284: 26941), T651 y TRI-1144; inhibidores del receptor C5a tales como PMX-53, JPE-1375 y JSM-7717; POT-4, un inhibidor del factor C3 del complemento humano; Pancreat (una secuencia derivada de INGAP, una proteína proisleta HIP-humana); somatostatina; un análogo de somatostatina tal como DEBIO 8609 (Sanvar), octreótido, octreótido (C2L), octreótido QLT, octreótido LAR, Sandostatín LAR, SomaLAR, Somatuline (lanreótido),

véase, por ejemplo, Deghenghi et al. (2001) *Endocrine* 14: 29; TH9507 (Tesamorelina, un factor de liberación de la hormona de crecimiento); POL7080 (un análogo de protegrina, un péptido antimicrobiano); relaxina; un agonista del factor liberador de corticotropina tal como urotensina, sauvagina y similares; un derivado de proteína de choque térmico tal como DiaPep277; un inhibidor de entrada del virus de la inmunodeficiencia humana; un mimético de proteína de choque térmico 20 tal como AZX100; un péptido activador del receptor de trombina tal como TP508 (Chrysalin); un mimético de urocortina 2 (por ejemplo, un agonista de CRF2) tal como urocortina-2; un activador inmunitario tal como Zadaxin (timmalfasina; timosina-al), véase, por ejemplo, Sjogren (2004) *J. Gastroenterol. Hepatol.* 19: S69; un péptido inhibidor de la entrada del virus de la hepatitis C (VHC) E2 tal como VHC3; un péptido natriurético auricular tal como HANP (Sun 4936; carperitida); un péptido anexina; una defensina (péptido antimicrobiano) tal como hBD2-4; una defensina (péptido antimicrobiano) tal como hBD-3; una defensina (péptido antimicrobiano) tal como PMX-30063; una histatina (péptido antimicrobiano) tal como histatina-3, histatina-5, histatina-6 e histatina-9; una histatina (péptido antimicrobiano) tal como PAC-113; una indolicidina (péptido antimicrobiano) tal como MX-594AN (Omniganin; CLS001); una indolicidina (péptido antimicrobiano) tal como Omnigard (MBI-226; CPI-226); un péptido antimicrobiano tal como una cecropina de insecto; un péptido antimicrobiano tal como una lactoferrina (talactoferrina); un derivado de LL-37/catellicidina (un péptido antimicrobiano) tal como P60.4 (OP-145); una magainina (un péptido antimicrobiano) tal como Pexiganan (MSI-78; Suponex); una protegrina (un péptido antimicrobiano) tal como IB-367 (Iseganan); un péptido agan; un péptido beta-natriurético tal como Natrecor o Noratak (Nesiritide) o ularitida; bivalarudina (Angiomax), un inhibidor de trombina; un derivado de péptido C; una calcitonina tal como Miacalcin (Fortical); un derivado de encefalina; un péptido estimulante de la eritropoyesis tal como Hematide; un modulador de unión comunicante tal como Danegaptide (ZP1609); un péptido liberador de gastrina; una grelina; un péptido similar al glucagón; un análogo de péptido-2 similar al glucagón tal como ZP1846 o ZP1848; un dipéptido de glucosaminil muramilo tal como GMDP; un antibiótico glucopeptídico tal como Oritavancin; un derivado de teicoplanina tal como Dalbavancin; una hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) tal como Zoladex (Lupon) o Triptorelin; un depsipéptido inhibidor de histona desacetilasa (HDAC) tal como PM02734 (Irvalec); una integrina tal como eptifibatida; un análogo de insulina tal como Humulog; un depsipéptido de kahalalido tal como PM02734; un inhibidor de calcitreína tal como Kalbitor (ecallantida); un antibiótico tal como telavancina; un lipopéptido tal como Cubicin o MX-2401; una hormona liberadora de hormona lutenizante (LHRH) tal como goserelina; un análogo agonista de decapéptido sintético LHRH tal como Treistar (pamoato de triptorelina); una LHRH tal como Eligard; un inhibidor de péptido del canal de proteína M2; metrelleptina; un péptido agonista del receptor de melanocortina tal como bremalanotida/PT-141; una melanocortina; un muramil tripéptido tal como Mepact (mifamurtida); un péptido proteínico básico de mielina tal como MBP 8298 (dirucótido); un bloqueante de canales de calcio dependientes de voltaje de tipo N tal como Ziconotide (Prialt); un péptido de hormona paratiroidea; un análogo paratiroideo tal como 768974; un análogo de hormona peptídica tal como UGP281; un inhibidor del receptor de prostaglandina F₂-α tal como PDC31; un inhibidor de proteasa tal como PPL-100; surfaxina; un mimético de trombospondina-1 (TSP-1) tal como CVX-045 o ABT 510; un péptido intestinal vasoactivo; vasopresina; un péptido agonista de Y2R tal como RG7089; obinepéptido; y TM30339.

Marcadores detectables

Los conjugados, compuestos y métodos de la presente divulgación pueden usarse para conjugar un marcador detectable con un polipéptido. Los ejemplos de marcadores detectables incluyen, pero sin limitación, moléculas fluorescentes (por ejemplo, moléculas autofluorescentes, moléculas que fluorescen tras el contacto con un reactivo, etc.), marcadores radiactivos (por ejemplo, ¹¹¹In, ¹²⁵I, ¹³¹I, ²¹²B, ⁹⁰Y, ¹⁸⁶Rh y similares), biotina (por ejemplo, que se ha detectar a través de la reacción de biotina y avidina), marcadores fluorescentes, reactivos formadores de imagen y similares. Los marcadores detectables también incluyen péptidos o polipéptidos que pueden detectarse mediante unión a anticuerpos, por ejemplo, mediante unión de un anticuerpo marcado de forma detectable o mediante detección de anticuerpo unido a través de un ensayo de tipo sándwich. Los ejemplos adicionales de marcadores detectables incluyen, pero sin limitación, marcadores colorantes (por ejemplo, cromóforos, fluoróforos, tales como, pero sin limitación, colorantes fluorescentes Alexa Fluor® (por ejemplo, Alexa Fluor® 350, 405, 430, 488, 532, 546, 555, 568, 594, 595, 610, 633, 635, 647, 660, 680, 700, 750, 750, 790 y similares), sondas biofísicas (marcadores de espín, sondas de resonancia magnética nuclear (RMN)), marcadores de tipo transferencia energía de resonancia Forster (FRET, por sus siglas en inglés) (por ejemplo, al menos un miembro de un par FRET, incluyendo al menos un miembro de un par fluoróforo/inactivador), marcadores de tipo transferencia de energía de resonancia de bioluminiscencia (BRET, por sus siglas en inglés) (por ejemplo, al menos un miembro de un par BRET), marcadores inmunodetectables (por ejemplo, FLAG, His(6) y similares), marcadores de localización (por ejemplo, para identificar la asociación de un polipéptido marcado a nivel de tejido o a nivel molecular de células (por ejemplo, asociación con un tipo de tejido o membrana celular particular) y similares.

Unión de restos para la entrega a un sitio diana

Las realizaciones de la presente divulgación también incluyen un polipéptido conjugado con uno o más restos, tales como, pero sin limitación, un fármaco (por ejemplo, un fármaco de molécula pequeña), toxina u otra molécula para la entrega a un sitio diana (por ejemplo, una célula) y que puede proporcionar una actividad farmacológica o puede servir como diana para la entrega de otras moléculas.

También se contemplan conjugados que incluyan uno de un par de compañeros de unión (por ejemplo, un ligando,

una porción de unión a ligando de un receptor, una porción de unión a receptor de un ligando, etc.). Por ejemplo, el conjugado puede incluir un polipéptido que sirve como receptor vírico y, tras unirse con una proteína de envoltura vírica o proteína de cápside vírica, facilita la unión del virus a la superficie celular en la que se expresa el polipéptido modificado. Como alternativa, el conjugado puede incluir un antígeno que se une específicamente a un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo monoclonal), para facilitar la detección y/o separación de las células hospedadoras que expresan el polipéptido modificado.

Unión de moléculas diana a un soporte

Los métodos pueden proporcionar la conjugación de un polipéptido a un resto para facilitar la unión del polipéptido a un sustrato sólido (por ejemplo, para facilitar los ensayos) o a un resto para facilitar la separación fácil (por ejemplo, un hapteno reconocido por un anticuerpo unido a una perla magnética). En algunas realizaciones, los métodos se usan para proporcionar la unión de una proteína a una matriz (por ejemplo, chip) en una orientación definida. Por ejemplo, puede generarse un polipéptido modificado en un sitio seleccionado (por ejemplo, en o cerca del extremo N), y los métodos, conjugados y compuestos utilizados para entregar un resto al polipéptido modificado. Después, el resto puede usarse como el sitio de unión para fijar el polipéptido a un soporte (por ejemplo, soporte sólido o semisólido, tal como un soporte adecuado para su uso como un microchip en ensayos de alto rendimiento).

Polímeros hidrosolubles

En algunos casos, un conjugado incluye un polímero hidrosoluble unido covalentemente. Un resto de interés particular es un polímero hidrosoluble. Un "polímero hidrosoluble" se refiere a un polímero que es hidrosoluble y por lo general es sustancialmente no inmunogénico, y por lo general tiene un peso molecular atómico superior a 1.000 Dalton. Los métodos, conjugados y compuestos que se describen en el presente documento pueden usarse para unir uno o más polímeros hidrosolubles a un polipéptido. La unión de un polímero hidrosoluble (por ejemplo, PEG) a un polipéptido, tal como un polipéptido farmacéuticamente activo (por ejemplo, terapéutico) puede ser deseable, ya que dicha modificación puede aumentar el índice terapéutico aumentando la semivida sérica como resultado de un aumento de la estabilidad proteolítica y/o una disminución del aclaramiento renal. Adicionalmente, la unión de uno o más polímeros (por ejemplo, PEGilación) puede reducir la inmunogenia de las proteínas farmacéuticas.

En algunas realizaciones, el polímero hidrosoluble tiene un peso molecular hidrodinámico eficaz de más de 5.000 Da, más de 10.000 Da, más de 20.000 a 500.000 Da, más de 40.000 Da a 300.000 Da, más de 50.000 Da a 70.000 Da, tal como más de 60.000 Da. En algunas realizaciones, el polímero hidrosoluble tiene un peso molecular hidrodinámico eficaz de 10 kDa a 20 kDa, de 20 kDa a 25 kDa, de 25 kDa a 30 kDa, de 30 kDa a 50 kDa o de 50 kDa a 100 kDa. Por "peso molecular hidrodinámico eficaz" se entiende el tamaño eficaz solvatado con agua de una cadena polimérica como se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño (CET) basada en agua. Cuando el polímero hidrosoluble contiene cadenas poliméricas que tienen unidades de repetición de óxido de polialquileno, tales como unidades de repetición de óxido de etileno, cada cadena puede tener un peso molecular atómico de 200 Da a 80.000 Da o de 1.500 Da a 42.000 Da, incluyendo de 2.000 a 20.000 Da. A menos que se mencione específicamente, el peso molecular pretende referirse al peso molecular atómico. Pueden usarse polímeros hidrosolubles lineales, ramificados y con carga terminal (por ejemplo, PEG).

Los polímeros útiles como restos que se han de unir a un polipéptido pueden tener un amplio intervalo de pesos moleculares y subunidades de polímero. Estas subunidades pueden incluir un polímero biológico, un polímero sintético o una combinación de los mismos. Los ejemplos de dichos polímeros hidrosolubles incluyen: dextrano y derivados de dextrano, incluyendo sulfato de dextrano, dextrina P-amino reticulada y carboximetil dextrina, celulosa y derivados de celulosa, incluyendo metilcelulosa y carboximetilcelulosa, almidón y dextrinas, y derivados e hidroilactos de almidón, polialquilenglicol y derivados del mismo, incluyendo polietilenglicol, metoxipolietilenglicol, homopolímeros de polietilenglicol, homopolímeros de polipropilenglicol, copolímeros de etilenglicol con propilenglicol, en los que dichos homopolímeros y copolímeros están sin sustituir y sustituidos en un extremo con un grupo alquilo, heparina y fragmentos de heparina, alcohol polivinílico y polivinil étil éteres, polivinilpirrolidona, aspartamida y polioles polioxiethylados, con el dextrano y derivados de dextrano, dextrina y derivados de dextrina. Se apreciará que también se contemplan diversos derivados de los polímeros hidrosolubles citados específicamente.

Los polímeros hidrosolubles tales como los descritos anteriormente incluyen polímeros basados en óxido de polialquileno, tales como polietilenglicol "PEG" (véase, por ejemplo, "*Poly(ethylene glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications*", J. M. Harris, Ed., Plenum Press, Nueva York, N. Y. (1992); y "*Poly(ethylene glycol) Chemistry and Biological Applications*", J. M. Harris y S. Zalipsky, Eds., ACS (1997); y las solicitudes de Patentes internacionales: WO 90/13540, WO 92/00748, WO 92/16555, WO 94/04193, WO 94/14758, WO 94/17039, WO 94/18247, WO 94/28937, WO 95/11924, WO 96/00080, WO 96/23794, WO 98/07713, WO 98/41562, WO 98/48837, WO 99/30727, WO 99/32134, WO 99/33483, WO 99/53951, WO 01/26692, WO 95/13312, WO 96/21469, WO 97/03106, WO 99/45964 y las Patentes de los EE.UU. N.º 4.179.337; 5.075.046; 5.089.261; 5.100.992; 5.134.192; 5.166.309; 5.171.264; 5.213.891; 5.219.564; 5.275.838; 5.281.698; 5.298.643; 5.312.808; 5.321.095; 5.324.844; 5.349.001; 5.352.756; 5.405.877; 5.455.027; 5.446.090; 5.470.829; 5.478.805; 5.567.422; 5.605.976; 5.612.460; 5.614.549; 5.618.528; 5.672.662; 5.637.749; 5.643.575; 5.650.388; 5.681.567; 5.686.110; 5.730.990; 5.739.208;

5.756.593; 5.808.096; 5.824.778; 5.824.784; 5.840.900; 5.874.500; 5.880.131; 5.900.461; 5.902.588; 5.919.442; 5.919.455; 5.932.462; 5.965.119; 5.965.566; 5.985.263; 5.990.237; 6.011.042; 6.013.283; 6.077.939; 6.113.906; 6.127.355; 6.177.087; 6.180.095; 6.194.580; 6.214.966).

5 Los ejemplos de polímeros de interés incluyen aquellos que contienen un óxido de polialquileno, óxido de alquileno de poliamida, o derivados de los mismos, incluyendo óxido de polialquileno y óxido de alquileno de poliamida que comprenden una unidad de repetición de óxido de etileno de fórmula $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})-$. Los ejemplos adicionales de polímeros de interés incluyen una poliamida que tiene un peso molecular superior a 1.000 Dalton de fórmula $-\text{[C(O)-X-C(O)-NH-Y-NH]}_n-$ o $-\text{[NH-Y-NH-C(O)-X-C(O)]}_n-$, donde X e Y son radicales divalentes que pueden ser iguales o diferentes y pueden ser ramificados o lineales, y n es un número entero discreto de 2-100, tal como de 2 a 50, y donde uno o los dos X e Y comprenden una unidad de repetición hidrosoluble biocompatible, sustancialmente no antigénica que puede ser lineal o ramificada. Ejemplos adicionales de unidades de repetición hidrosolubles comprenden un óxido de etileno de fórmula $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})-$ o $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})-$. El número de dichas unidades de repetición hidrosolubles puede variar significativamente, siendo el número de dichas unidades de 2 a 500, de 2 a 400, de 2 a 300, de 2 a 200, de 2 a 100, por ejemplo, de 2 a 50. Un ejemplo de una realización es una en la que uno o los dos X e Y se seleccionan entre: $-\text{((CH}_2)_{n1}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_{n2}-\text{CH}_2-$ o $-\text{((CH}_2)_{n1}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_{n2}-\text{CH}_2-$, donde n1 es de 1 a 6, de 1 a 5, de 1 a 4 o de 1 a 3 y donde n2 es de 2 a 50, de 2 a 25, de 2 a 15, de 2 a 10, de 2 a 8 o de 2 a 5. Un ejemplo adicional de una realización es una en la que X es $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2)-$ y donde Y es $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ o $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2-$.

20 El polímero puede incluir uno o más espaciadores o enlazadores. Los ejemplos de espaciadores o enlazadores incluyen restos lineales o ramificados que comprenden una o más unidades de repetición empleadas en un polímero hidrosoluble, unidades de diamino y/o diácido, aminoácidos naturales o no naturales o derivados de los mismos, así como restos alifáticos, incluyendo alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, alcoxi y similares, que pueden contener, por ejemplo, hasta 18 átomos de carbono o incluso una cadena polimérica adicional.

El resto polimérico, o uno o más de los espaciadores o enlazadores del resto polimérico cuando está presente, puede incluir cadenas o unidades poliméricas que sean bioestables o biodegradables. Por ejemplo, los polímeros con enlaces repetidos tienen grados variables de estabilidad en condiciones fisiológicas dependiendo de la labilidad del enlace. Los polímeros con dichos enlaces pueden clasificarse por sus velocidades relativas de hidrólisis en condiciones fisiológicas basándose en velocidades de hidrólisis conocidas de análogos de bajo peso molecular, por ejemplo, de menos estables a más estables, por ejemplo, poliuretanos $(-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-)$ > polioésteres $(-\text{O}-\text{C}(\text{OR})(\text{R}'))-\text{O}-)$ > poliamidas $(-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-)$. Análogamente, los sistemas de enlace que unen un polímero hidrosoluble a una molécula diana pueden ser bioestables o biodegradables, por ejemplo, de menos estables a más estables: carbonato $(-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-)$ > éster $(-\text{C}(\text{O})-\text{O}-)$ > uretano $(-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-)$ > ortoéster $(-\text{O}-\text{C}(\text{OR})(\text{R}'))-\text{O}-)$ > amida $(-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-)$. En general, puede ser deseable evitar el uso de un polisacárido sulfatado, dependiendo de la labilidad del grupo sulfato. Además, puede ser menos deseable usar policarbonatos y poliésteres. Estos enlaces se proporcionan a modo de ejemplo y no pretenden limitar los tipos de enlaces que pueden emplearse en las cadenas poliméricas o sistemas de enlace de los polímeros hidrosolubles útiles en los polipéptidos marcados con aldehído modificados que se desvelan en el presente documento.

FORMULACIONES

45 Los conjugados (incluyendo los conjugados de anticuerpos) de la presente divulgación pueden formularse de diversas maneras diferentes. En general, cuando el conjugado es un conjugado polipéptido-fármaco, el conjugado se formula de manera compatible con el fármaco conjugado con el polipéptido, la afección que se ha de tratar y la vía de administración que se ha de usar.

50 El conjugado (por ejemplo, conjugado polipéptido-fármaco) puede proporcionarse en cualquier forma adecuada, por ejemplo, en forma de una sal farmacéuticamente aceptable y puede formularse para cualquier vía de administración adecuada, por ejemplo, administración oral, tópica o parenteral. Cuando el conjugado se proporciona en forma de un líquido inyectable (tal como en aquellas realizaciones donde se administran por vía intravenosa o directamente en un tejido), el conjugado puede proporcionarse como una forma de dosificación lista para usar o como un polvo o líquido reconstituible estable en el almacenamiento compuesto por vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables.

55 Los métodos para formular conjugados pueden adaptarse de los disponibles en la técnica. Por ejemplo, pueden proporcionarse conjugados en una composición farmacéutica que comprenda una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado y un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, solución salina). La composición farmacéutica puede incluir opcionalmente otros aditivos (por ejemplo, tampones, estabilizantes, conservantes y similares). En algunas realizaciones, las formulaciones son adecuadas para la administración a un mamífero, tal como las que son adecuadas para la administración a un ser humano.

MÉTODOS DE TRATAMIENTO

65 Los conjugados polipéptido-fármaco de la presente divulgación encuentran uso en el tratamiento de una afección o enfermedad en un sujeto que sea susceptible de tratamiento mediante la administración del fármaco parental (es

decir, el fármaco antes de la conjugación con el polipéptido). Por "tratamiento" se entiende que se consigue al menos una mejoría de los síntomas asociados a la afección que afecta al hospedador, donde mejoría se usa en un sentido amplio para hacer referencia a al menos una reducción en la magnitud de un parámetro, por ejemplo, síntoma, asociado a la afección que se está tratando. Como tal, el tratamiento también incluye situaciones en las que la afección patológica, o al menos los síntomas asociados a la misma, se inhiben completamente, por ejemplo, se evita que se produzcan, o se detienen, por ejemplo, se terminan, de manera que el hospedador ya no padezca la afección, o al menos los síntomas que caracterizan la afección. Por tanto, el tratamiento incluye: (i) prevención, es decir, reducir el riesgo de desarrollo de síntomas clínicos, incluyendo provocar que los síntomas clínicos no se desarrollen, por ejemplo, prevenir la progresión de la enfermedad a un estado perjudicial; (ii) inhibición, es decir, detener el desarrollo o desarrollo adicional de síntomas clínicos, por ejemplo, mitigar o inhibir por completo una enfermedad activa; y/o (iii) alivio, es decir, provocar la regresión de los síntomas clínicos.

En el contexto del cáncer, el término "tratamiento" incluye cualquiera o todos de entre: reducir el crecimiento de un tumor sólido, inhibir la replicación de células cancerosas, reducir la carga tumoral global y mejorar uno o más síntomas asociados a un cáncer.

El sujeto que se ha de tratar puede ser uno que necesite terapia, donde el hospedador que se ha de tratar es uno susceptible de tratamiento usando el fármaco parental. En consecuencia, diversos sujetos puede ser susceptible de tratamiento usando los conjugados polipéptido-fármaco que se desvelan en el presente documento. En general, dichos sujetos son "mamíferos", siendo los seres humanos de interés. Otros sujetos pueden incluir mascotas domésticas (por ejemplo, perros y gatos), ganado (por ejemplo, vacas, cerdos, cabras, caballos y similares), roedores (por ejemplo, ratones, cobayas y ratas, por ejemplo, como en modelos animales de enfermedad), así como primates no humanos (por ejemplo, chimpancés y monos).

La cantidad de conjugado polipéptido-fármaco administrado puede determinarse inicialmente basándose en la directriz de una pauta de dosis y/o dosificación del fármaco parental. En general, los conjugados polipéptido-fármaco pueden proporcionar una entrega dirigida y/o una semivida sérica potenciada del fármaco unido, proporcionando de este modo al menos uno de entre dosis reducida o administraciones reducidas en una pauta de dosificación. Por tanto, los conjugados polipéptido-fármaco pueden proporcionar una dosis reducida y/o administración reducida en una pauta de dosificación con respecto al fármaco parental antes de conjugarse en un conjugado polipéptido-fármaco de la presente divulgación.

Además, como se ha señalado anteriormente, debido a que los conjugados polipéptido-fármaco pueden proporcionar una estequiometría controlada de entrega de fármaco, las dosificaciones de conjugados polipéptido-fármaco pueden calcularse basándose en el número de moléculas de fármaco proporcionadas por conjugado polipéptido-fármaco.

En algunas realizaciones, se administran múltiples dosis de un conjugado polipéptido-fármaco. La frecuencia de administración de un conjugado polipéptido-fármaco puede variar dependiendo de cualquiera de diversos factores, por ejemplo, gravedad de los síntomas, estado del sujeto, etc. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un conjugado polipéptido-fármaco se administra una vez al mes, dos veces al mes, tres veces al mes, cada dos semanas (qow), una vez por semana (qw), dos veces por semana (biw), tres veces por semana (tiw), cuatro veces por semana, cinco veces por semana, seis veces por semana, cada dos días (qod), a diario (qd), dos veces al día (qid) o tres veces al día (tid).

45 **Métodos de tratamiento del cáncer**

En el presente documento también se describen métodos para entregar un agente quimioterápico contra el cáncer a un individuo que tiene un cáncer. Los métodos son útiles para tratar una amplia diversidad de cánceres, incluidos carcinomas, sarcomas, leucemias y linfomas.

Los carcinomas que pueden tratarse usando un método en cuestión incluyen, pero sin limitación, carcinoma esofágico, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células basales (una forma de cáncer de piel), carcinoma de células escamosas (diversos tejidos), carcinoma de vejiga, carcinoma de células de transición (una neoplasia maligna de la vejiga), carcinoma broncogénico, carcinoma de colon, carcinoma colorrectal, carcinoma gástrico, carcinoma de pulmón, incluyendo carcinoma microcítico de pulmón y carcinoma no microcítico de pulmón, carcinoma adrenocortical, carcinoma de tiroides, carcinoma de páncreas, carcinoma de mama, carcinoma de ovario, carcinoma de próstata, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinoma papilar, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma de células renales, carcinoma ductal *in situ* o carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilm, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de útero, carcinoma de testículo, carcinoma osteogénico, carcinoma epitelial y carcinoma nasofaríngeo, etc.

Los sarcomas que pueden tratarse usando un método en cuestión incluyen, pero sin limitación, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, cordoma, sarcoma osteogénico, osteosarcoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, sarcoma de Ewing,

leiomioma, rhabdomioma y otros sarcomas de tejidos blandos.

Otros tumores sólidos que pueden detectarse usando un método en cuestión incluyen, pero sin limitación, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma y retinoblastoma.

Las leucemias que pueden tratarse usando un método en cuestión incluyen, pero sin limitación, a) síndromes mieloproliferativos crónicos (trastornos neoplásicos de células madre hematopoyéticas multipotentes); b) leucemias mielógenas agudas (transformación neoplásica de una célula hematopoyética multipotente o de una célula hematopoyética de potencial de linaje restringido); c) leucemias linfocíticas crónicas (LLC; proliferación clonal de linfocitos pequeños inmunológicamente inmaduros y funcionalmente incompetentes), incluyendo LLC de linfocitos B, leucemia prolinfocítica LLC de linfocitos T y tricoleucemia; y d) leucemias linfoblásticas agudas (caracterizadas por la acumulación de linfoblastos). Los linfomas que pueden tratarse usando un método en cuestión incluyen, pero sin limitación, linfomas de linfocitos B (por ejemplo, linfoma de Burkitt); linfoma de Hodgkin; linfoma de células B no Hodgkin; y similares.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación y descripción completas de cómo preparar y usar la presente invención y no pretenden representar que los experimentos a continuación son todos o los únicos experimentos realizados. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperaturas, etc.) pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique otra cosa, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio en peso, la temperatura es en grados Celsius y la presión es la atmosférica o está próxima a esta. Pueden usarse abreviaturas convencionales, por ejemplo, pb, par o pares de bases; kb, kilobase o kilobases; pl, picolitro o picolitros; s, segundo o segundos; min, minuto o minutos; h, hora u horas; aa, aminoácido o aminoácidos; kb, kilobase o kilobases; pb, par o pares de bases; nt, nucleótido o nucleótidos; i.m., (por vía) intramuscular; i.p., (por vía) intraperitoneal; s.c., (por vía) subcutánea; y similares.

30 Procedimientos de síntesis generales

Hay disponibles muchas referencias generales que proporcionan esquemas de síntesis química comúnmente conocidos y condiciones útiles para sintetizar los compuestos desvelados (véase, por ejemplo, Smith y March, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, Quinta edición, Wiley-Interscience, 2001; o Vogel, *A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis*, Cuarta edición, Nueva York: Longman, 1978).

Los compuestos como se describen en el presente documento pueden purificarse mediante cualquier protocolo de purificación conocido en la técnica, incluyendo cromatografía, tal como HPLC, cromatografía preparativa en capa fina, cromatografía en columna ultrarrápida y cromatografía de intercambio iónico. Puede usarse cualquier fase estacionaria adecuada, incluyendo fases normales e inversas, así como resinas iónicas. En determinadas realizaciones, los compuestos desvelados se purifican a través de cromatografía en gel de sílice y/o alúmina. Véase, por ejemplo, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 2.ª edición, ed. L. R. Snyder y J. J. Kirkland, John Wiley and Sons, 1979; y *Thin Layer Chromatography*, ed E. Stahl, Springer-Verlag, Nueva York, 1969.

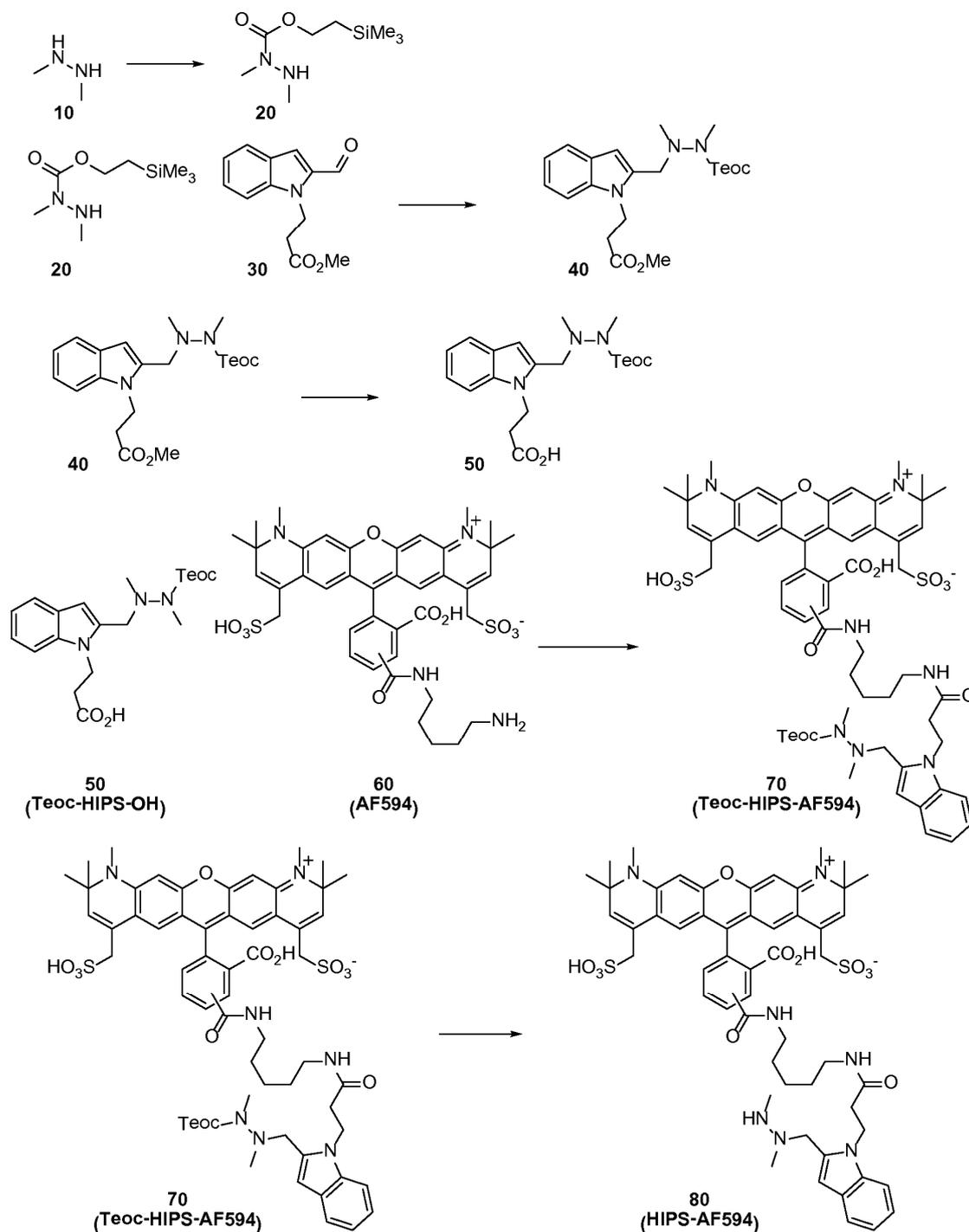
Durante cualquiera de los procesos para la preparación de los compuestos en cuestión, puede ser necesario y/o deseable proteger grupos sensibles o reactivos en cualquiera de las moléculas implicadas. Esto puede conseguirse por medio de grupos protectores convencionales como se describe en trabajos convencionales, tales como J. F. W. McOmie, "*Protective Groups in Organic Chemistry*", Plenum Press, Londres y Nueva York 1973, en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "*Protective Groups in Organic Synthesis*", Tercera edición, Wiley, Nueva York 1999, en "*The Peptides*"; Volumen 3 (editores: E. Gross y J. Meienhofer), Academic Press, Londres y Nueva York 1981, en "*Methoden der organischen Chemie*", Houben-Weyl, 4ª edición, Vol. 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, en H.-D. Jakubke y H. Jescheit, "*Aminosäuren, Peptide, Proteine*", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach y Basel 1982, y/o en Jochen Lehmann, "*Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide and Derivate*", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Los grupos protectores pueden retirarse en una etapa posterior conveniente usando métodos conocidos en la técnica.

Los compuestos en cuestión pueden sintetizarse a través de diversas vías de síntesis diferentes usando materiales de partida disponibles en el mercado y/o materiales de partida preparados mediante métodos de síntesis convencionales. Diversos ejemplos de vías de síntesis que pueden usarse para sintetizar los compuestos que se desvelan en el presente documento se describen en los esquemas a continuación.

Síntesis de HIPS-AF594

65 Se sintetizó un conjugado de marcador detectable de hidrazinil-indol (HIPS-AF594) como se ilustra en el Esquema 1, a continuación:

Esquema 1



Se sintetizó Compuesto **20** (1,2-dimetilhidrazinacarboxilato de 2-(trimetilsilil)etilo) a partir de Compuesto **10** como se indica a continuación. A una suspensión agitada vigorosamente de diclorhidrato de dimetilhidrazina (7,5 mmol) en 15 ml de MeCN se le añadió trietilamina (18,8 mmol). La suspensión de color blanco resultante se filtró y se enfrió a 0°C. Mientras se agitaba, se añadieron *N*-[2-(trimetilsilil)etoxicarbonilo]succinimida (3,7 mmol) en 2 ml de MeCN gota a gota durante 10 minutos. La reacción se dejó calentar a TA durante 16 h con agitación. La reacción en bruto se concentró al vacío, después se repartió entre 100 ml de EtOAc y 30 ml de agua. La fase orgánica se lavó con 30 ml de salmuera, 3 veces, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el producto con un rendimiento del 64 %. El producto no requirió purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 4,5 (s a, 1H), 4,20 (dd, *J* = 8,8; 8,4 Hz, 2H), 3,03 (s, 3H), 2,57 (s, 3H), 1,02 (dd, *J* = 8,8, 8,4 Hz, 2H), 0,04 (s, 9H).

Se sintetizó Compuesto **40** (2-((1-(3-metoxi-3-oxopropil)-1H-indol-2-il)metil)-1,2-dimetilhidrazinacarboxilato de 2-(trimetilsilil)etilo) a partir de Compuesto **20** y Compuesto **30** como se indica a continuación. Se cargó un vial de 4 ml secado en horno con Compuesto **30** (3-(2-formil-1H-indol-1-il)propanoato de metilo; 0,0606 mmol), Compuesto **20** (1,2-dimetilhidrazinacarboxilato de 2-(trimetilsilil)etilo; 0,0828 mmol), ácido acético (0,0727 mmol) en 150 µl de metanol anhidro. Se añadió cianoborohidruro de sodio (0,0727 mmol) en 100 µl de metanol anhidro y la mezcla se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción en bruto se purificó mediante CCF preparativa (500 µm de espesor, gel de sílice) usando una fase móvil de EtOAc al 15 %:hexanos para proporcionar el producto con un rendimiento del 45 %. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,57 (d, J= 7,6 Hz, 1H), 7,35 (d, J= 8,4 Hz, 1H), 7,22 (ddd, J = 8,0, 7,2, 1,2 Hz, 1H), 7,10 (ddd, J = 8,0, 7,2, 1,2 Hz, 1H), 6,40 (s, 1H), 4,65 (s a, 2H), 4,26-4,11 (m, 4H), 3,70 (s, 3H), 2,90 (m, 5H), 2,66 (s, 3H), 0,99 (t, J = 8,4, 2H), 0,05 (s, 9H).

Se sintetizó Compuesto **50** (ácido 3-(2-((1,2-dimetil-2-((2-(trimetilsilil)etoxi)carbonil)hidrazinil)metil)-1H-indol-1-il)propanoico; también denominado Teoc-HIPS-OH) a partir de Compuesto **40** como se indica a continuación. Se cargó un vial de 4 ml con Compuesto **40** (2-((1-(3-metoxi-3-oxopropil)-1H-indol-2-il)metil)-1,2-dimetilhidrazinacarboxilato de 2-(trimetilsilil)etilo; 0,027 mmol), hidróxido de litio (0,054 mmol) y 250 µl de metanol y se agitó durante 24 h. La solución se concentró al vacío, después se sometió a cromatografía en AcOH al 1 %:EtOAc para producir el producto deseado con un rendimiento del 89 %. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,57 (d, J= 7,6 Hz, 1H), 7,38 (d, J= 8,0 Hz, 1H), 7,24 (ddd, J= 8,0, 7,6, 0,8 Hz, 1H), 7,12 (ddd, J = 7,6, 7,6, 0,8 Hz, 1H), 6,40 (s, 1H), 4,63 (s a, 2H), 4,20 (t, J = 8,4, 2H), 4,13 (s, 2H), 3,11-2,97 (m, 5H), 2,58 (s, 3H), 2,66 (s, 3H), 0,99 (t, J = 8,4, 2H), 0,05 (s, 9H). EMBR (IEN) calculada para C₂₀H₃₁N₃O₄Si [M+H]⁺: 406,22; encontrada 405,9.

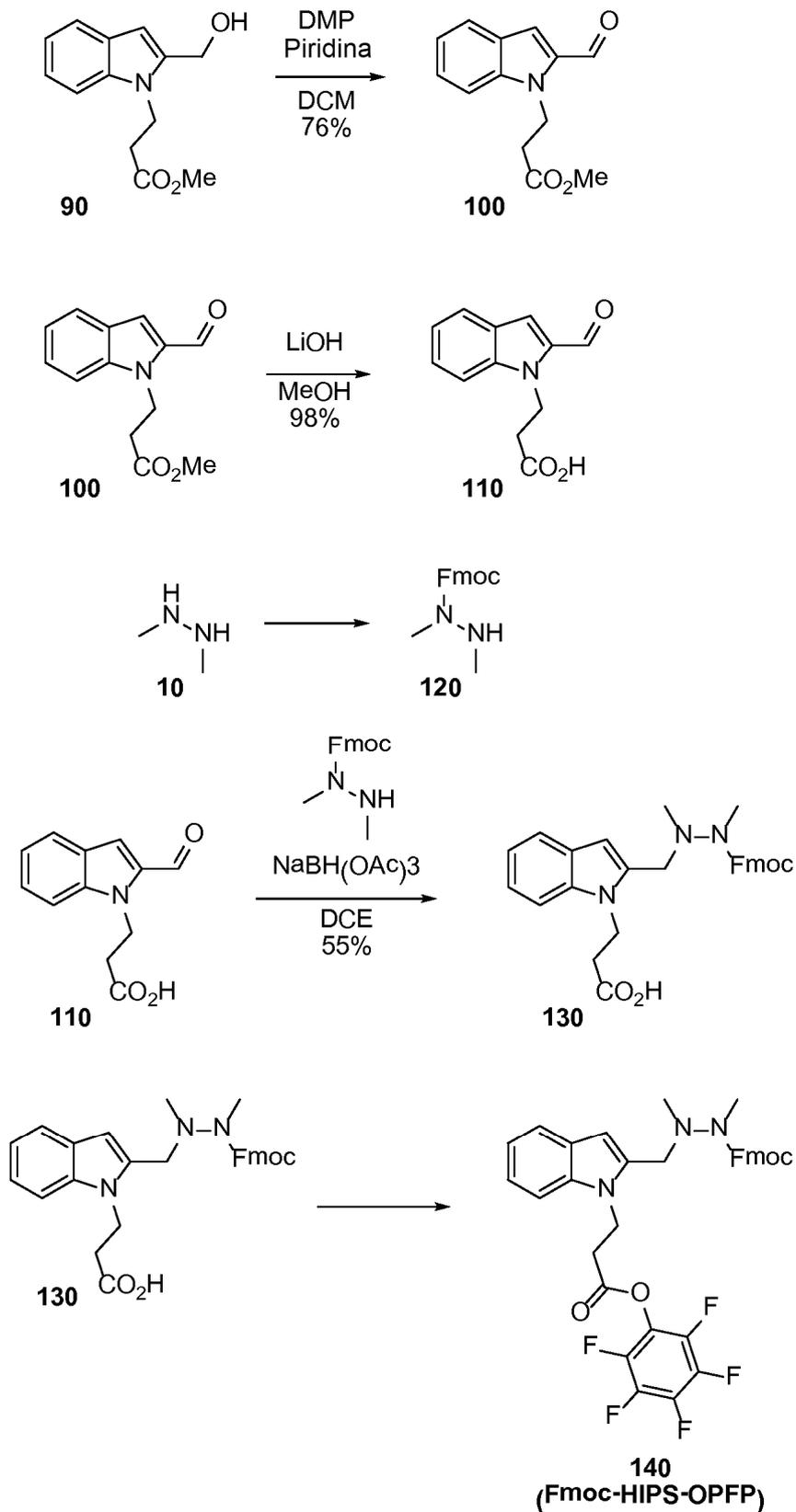
Se sintetizó Compuesto **70** (Teoc-HIPS-AF594) a partir de Compuesto **50** (Teoc-HIPS-OH) y Compuesto **60** (AF594) como se indica a continuación. A una solución de Compuesto **60** (AF594; 0,00124 mmol), Compuesto **50** (Teoc-HIPS-OH; 0,0059 mmol), trietilamina (0,0059 mmol) en 200 µl de DCM:DMF 1:1 se le añadió HATU (hexafluorofosfato de (dimetilamino)-N,N-dimetil(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-iloxi)metaniminio; 0,0031). La reacción se agitó durante 4 h. La reacción en bruto fue una mezcla que se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (C18) usando un gradiente de MeCN al 0-33 %:agua. EMBR (IEN) calculada para C₆₁H₇₇N₇O₁₂S₂Si [M+H]⁺: 1192,49; encontrada 1194,1.

Se sintetizó Compuesto **80** (HIPS-AF594) a partir de Compuesto **70** (Teoc-HIPS-AF594) como se indica a continuación. A una solución de Compuesto **70** (Teoc-HIPS-AF594; 0,67 µmol) en 100 µl de DMF se le añadió 1 mg de CsF (6,6 µmol) y la mezcla se calentó a 60 °C durante 2 h. La reacción se enfrió después a temperatura ambiente y se sometió a cromatografía (C18) con un gradiente de MeCN al 0-50 %:agua para producir 0,4 mg de una mezcla del producto deseado y el producto deseado+CH₂ (adición de formaldehído). EMBR (IEN) calculado para C₅₄H₆₃N₇O₁₁S₂ [M+H]⁺: 1050,41; encontrada 1151,4.

Síntesis de Fmoc-HIPS-OPFP

Se sintetizó Fmoc-HIPS-OPFP (1,2-dimetil-2-((1-(3-oxo-3-(perfluorofenoxi)propil)-1H-indol-2-il)metil)hidrazinacarboxilato de (9H-fluoren-9-il)metilo) como se ilustra en el Esquema 2, a continuación:

Esquema 2



5 Se sintetizó Compuesto **100** (3-(2-formil-1H-indol-1-il)propanoato de metilo) a partir de Compuesto **90** como se indica a continuación. A una solución de Peryodiano de Dess-Martin (1,2 mmol) en 5 ml de DCM se le añadieron 3 mmol de piridina y la mezcla se sometió a ultrasonidos hasta que se disolvió, tras lo cual se añadió 1 mmol de Compuesto

90 (3-(2-(hidroximetil)-1H-indol-1-il)propanoato de metilo) y la solución se agitó durante 2,5 h. La mezcla de reacción se concentró y se sometió a cromatografía en DCM para proporcionar 0,76 mmol de producto. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,90 (s, 1H), 7,75 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,53 (dd, *J* = 8,4, 0,8 Hz, 1H), 7,45 (ddd, *J* = 8,0, 6,8, 0,8 Hz, 1H), 7,32 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H), 7,19 (ddd, *J* = 8,0, 6,8, 0,8 Hz, 1H), 4,86 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 3,64 (s, 3H), 2,86 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H).

5

Se sintetizó compuesto **110** (ácido 3-(2-formil-1H-indol-1-il)propanoico) a partir de Compuesto 100 como se indica a continuación. A una solución de 1,03 mmol del Compuesto 100 (3-(2-formil-1H-indol-1-il)propanoato de metilo) en 5 ml de metanol se le añadieron 3,09 mmol de hidróxido de litio y la mezcla se agitó durante 5 h, tras lo cual la solución se acidificó a pH 2 y se repartió entre 5 ml de agua y 15 ml de acetato de etilo. La fase acuosa se lavó 2 veces con 10 ml de acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron 1 vez con 10 ml de salmuera, después se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron por evaporación rotativa para producir 1,01 mmol de producto. El material en bruto estaba puro mediante RMN y se llevó a la reacción posterior. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,89 (s, 1H), 7,76 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,45 (ddd, *J* = 8,4, 6,8, 1,2 Hz, 1H), 7,33 (s), 7,22 (dd, *J* = 6,8, 0,8 Hz, 1H), 4,86 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,91 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H).

10

15

Se sintetizó Compuesto **120** (1,2-dimetilhidrazinacarboxilato de (9H-fluoren-9-il)metilo) a partir de Compuesto **10** de acuerdo con el procedimiento de la bibliografía como se describe en Nicolas, I. et al. *Synlett*. 2011, 3, 327-330.

20

Se sintetizó Compuesto **130** (ácido 3-(2-((2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-1,2-dimetilhidrazinil)metil)-1H-indol-1-il)propanoico) a partir de Compuesto **110** y Compuesto **120** como se indica a continuación. Un matraz de fondo redondo secado al fuego de 50 ml se cargó con Compuesto **110** (ácido 3-(2-formil-1H-indol-1-il)propanoico; 3,22 mmol), Compuesto **120** (1,2-dimetilhidrazinacarboxilato de (9H-fluoren-9-il)metilo; 5,0 mmol) y la mezcla se disolvió en 26 ml de dicloroetano (DCE). A este matraz, se le añadió en porciones triacetoxiborohidruro de sodio (3,54 mmol) y la mezcla se agitó durante tres horas, después se inactivó con 5 ml de NaOH 1 M (acuoso) y se agitó durante 5 minutos. La reacción se acidificó a pH 2 y se repartió con 50 ml de DCM. La fase orgánica se extrajo tres veces con 10 ml de ácido cítrico al 5 % (ac.), después se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el 55 % del producto deseado.

25

30

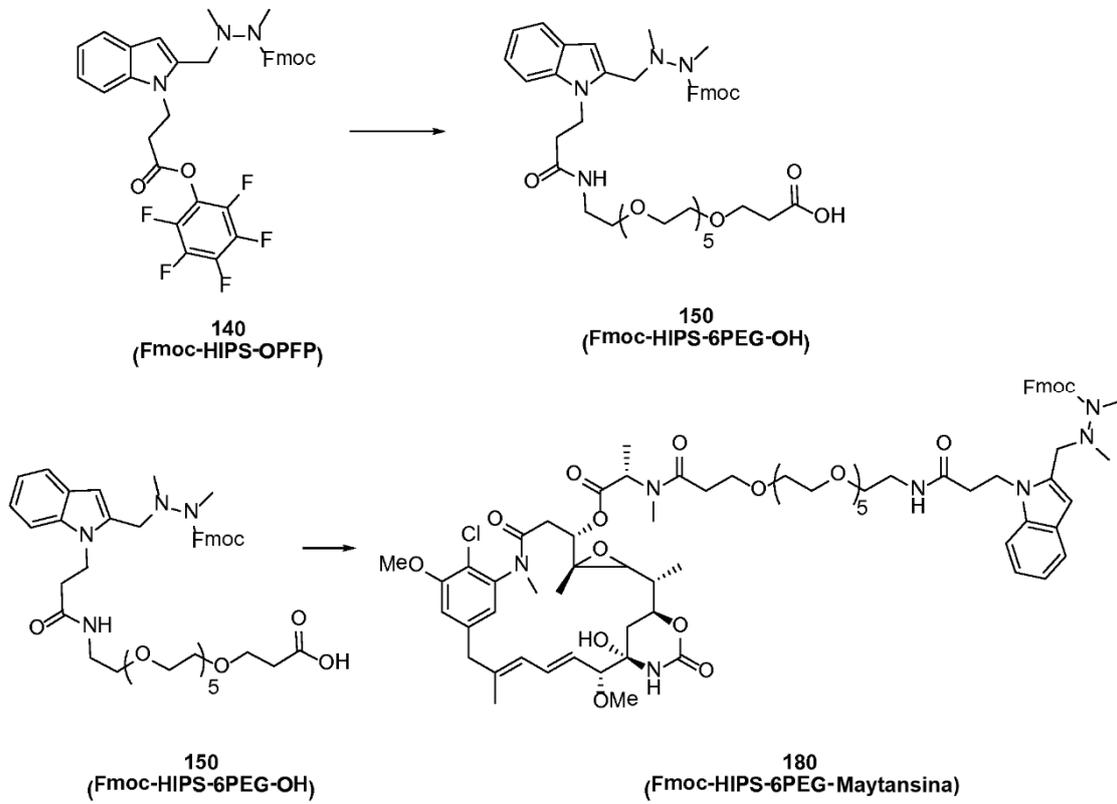
Se sintetizó Compuesto **140** (1,2-dimetil-2-((1-(3-oxo-3-(perfluorofenoxi)propil)-1H-indol-2-il)metil)hidrazinacarboxilato de (9H-fluoren-9-il)metilo; también denominado Fmoc-HIPS-OPFP) a partir de Compuesto **130** como se indica a continuación. Un matraz de fondo redondo secado al fuego se cargó con Compuesto **130** (ácido 3-(2-((2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-1,2-dimetilhidrazinil)metil)-1H-indol-1-il)propanoico; 0,574 mmol), pentafluorofenol (PFP; 0,631 mmol), 5 ml de acetato de etilo (seco) y después se enfrió a 0 °C. A esta solución se le añadió *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (0,631 mmol) en 0,5 ml de EtOAc y se dejó calentar a 20 °C con agitación. Tras el consumo del material de partida por TLC (~2 h), la reacción en bruto se *diluyó* en 60 ml de EtOAc, se lavó 2 veces con 20 ml de agua, 2 veces con 20 ml de salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró al vacío. Este material se usó en reacciones posteriores sin purificación adicional.

35

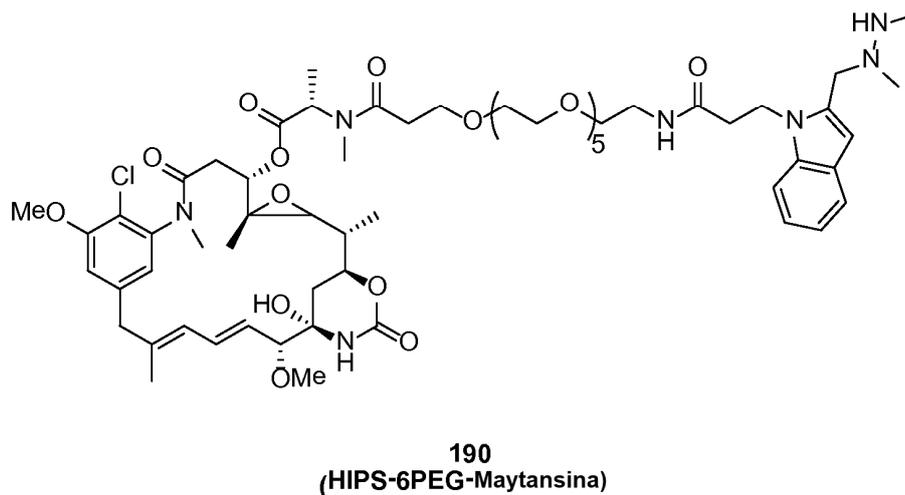
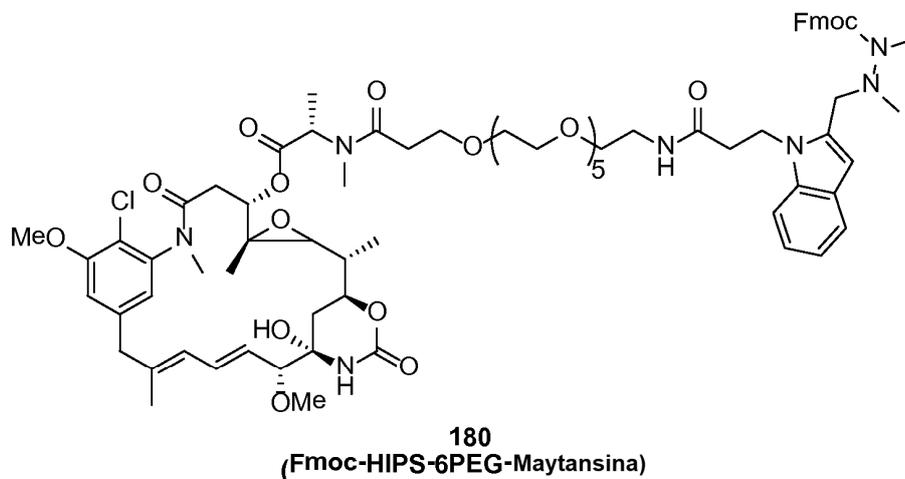
40 **Síntesis de HIPS-6PEG-Maytansina**

Se sintetizó HIPS-6PEG-Maytansina como se ilustra en el Esquema 3, a continuación:

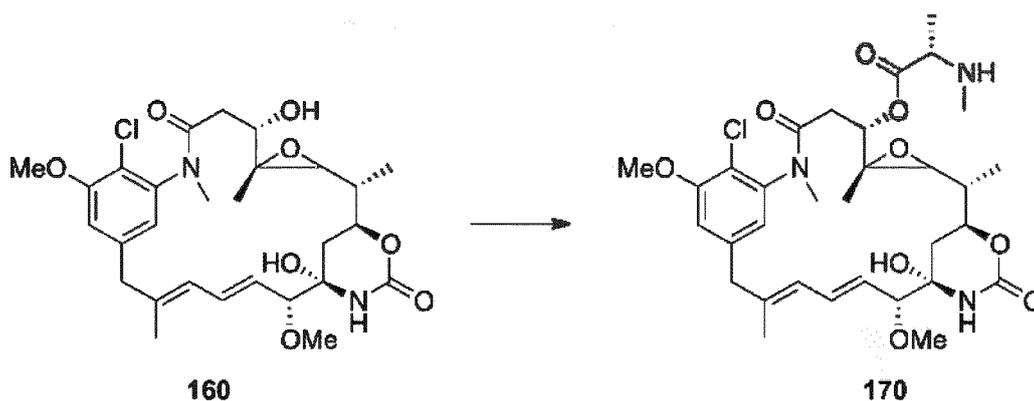
Esquema 3



Esquema 3, continuación



- Se sintetizó Compuesto **150** (Fmoc-HIPS-6PEG-OH) a partir de Compuesto **140** (Fmoc-HIPS-OPFP) como se indica a continuación. Se cargó un vial de 1,6 ml con Compuesto **140** (Fmoc-HIPS-OPFP; 66,6 mg, 0,1 mmol), ácido 1-amino-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-oico (74,9 mg, 0,2 mmol), DIPEA (79,5 mg, 107,1 μ l, 0,6 mmol) y 1 ml de DMF anhidra. La reacción se agitó durante 2 h y después se sometió a cromatografía (C18) con un gradiente de MeCN al 0-100 %:agua para proporcionar el producto en forma de una película de color blanco (48,6 mg, rendimiento del 58 %).
- 10 Se sintetizó Compuesto **170** a partir de Compuesto **160**, como se muestra en el esquema a continuación, de acuerdo con el procedimiento de bibliografía que se describe en el documento PCT/US2006/030857 (publicado como documento WO 2007/021674).



Se sintetizó Compuesto **180** (Fmoc-HIPS-6PEG-deacil-maytansina) a partir de Compuesto **150** (Fmoc-HIPS-6PEG-OH) y Compuesto **170** como se indica a continuación. Se cargó un vial de 1,6 ml con Compuesto **150** (Fmoc-HIPS-6PEG-OH; 18,5 mg, 0,023 mmol), HATU (8,8 mg, 0,023 mmol), DIPEA (8,8 mg, 11,9 μ l, 0,068 mmol), 0,1 ml de DMF anhidra y se dejó agitar durante 15 min a temperatura ambiente. A esto se le añadió Compuesto **170** (N-metilalanina maytansina; 14,5 mg, 0,022 mmol) en 0,1 ml de DMF anhidra. La reacción se agitó durante 2 h, se añadió a 2 ml de agua y se extrajo con 1 ml de EtOAc, 5 veces. La fase orgánica se lavó con 1 ml de H₂O, 1 vez, 1 ml de HCl 1 M, 1 vez, 1 ml de NaHCO₃ 1,2 M, 1 vez, 1 ml de H₂O, 1 vez, 1 ml de NaCl 5 M, 1 vez, y se secó sobre Na₂SO₄. El producto se sometió a cromatografía (sílice) usando un gradiente de MeOH al 0-10 %:CH₂Cl₂ para proporcionar el compuesto deseado en forma de una película de color amarillo pálido (19,9 mg, rendimiento del 62 %).

Se sintetizó Compuesto **190** (HIPS-6PEG-Maytansina) a partir de Compuesto **180** (Fmoc-HIPS-6PEG-deacilmaytansina) como se indica a continuación. Se cargó un vial de 1,6 ml con Compuesto **180** (Fmoc-HIPS-6PEG-deacil-maytansina; 19,9 mg, 0,014 mmol), piperidina (116,8 mg, 135,5 μ l, 1,37 mmol) y 0,68 ml de DMA. Tras el consumo del material de partida, como se indicó por HPLC, aproximadamente 20 min, la reacción en bruto se sometió a cromatografía inmediatamente (C18) usando un gradiente de MeCN al 0-100 %:agua para proporcionar el producto deseado en forma de una película de color blanco (10,2 mg, rendimiento del 61 %).

20 Ejemplo 1:

Conjugación de HIPS-A594 con un anticuerpo IgG marcado con aldehído

Se conjugó HIPS-AF594 (Compuesto **80**, anterior) con un anticuerpo marcado con aldehído en un intervalo de tiempo y condiciones de pH. Se hizo reaccionar HIPS-AF594 (92,6 equivalentes de fármaco:aldehído) con anticuerpo IgG marcado con aldehído 5,4 μ M durante 1, 2, 3, 4 o 24 horas a 37 °C en PBS pH 7,4, PBS con acetato de potasio 100 mM pH 4,6, PBS con citrato de sodio 50 mM, pH 6,0 o PBS con Tris 100 mM, pH 8.

Los resultados de la reacción de conjugación se muestran en la FIG. 2, que muestra la conjugación de HIPS-AF594 con anticuerpo marcado con aldehído conjugado en un intervalo de condiciones de pH. La FIG. 2A muestra un esquema de reacción para la síntesis del marcador detectable funcionalizado. La FIG. 2B muestra un esquema de la reacción de conjugación del marcador detectable funcionalizado con el anticuerpo. La FIG. 2C muestra imágenes de geles de SDS-PAGE, que se usaron para analizar el conjugado. La presencia de conjugado se determinó mediante imágenes de fluorescencia.

35 Ejemplo 2:

Estabilidad del conjugado anticuerpo-marcador detectable

Se hizo reaccionar HIPS-AF594 (Compuesto **80**, anterior) (42,4 equivalentes de fármaco:aldehído) con anticuerpo IgG marcado con aldehído 5,9 μ M durante 16 horas a 37 °C en cloruro de sodio 128 mM y citrato de sodio 50 mM, pH 6. El HIPS-AF594 sin reaccionar se retiró de la mezcla de reacción mediante cromatografía de exclusión por tamaño. El conjugado anticuerpo-fluoróforo resultante se incubó a 4 °C o 37 °C en plasma o suero (tanto humano como de ratón) durante 1, 3 o 6 días. Se usó SDS-PAGE para analizar el conjugado. La presencia de conjugado se determinó mediante imágenes de fluorescencia. Como se muestra en la Figura 3, no se observó colorante libre en ninguno de los casos y el conjugado no se había descompuesto.

Los resultados de la reacción de conjugación se muestran en la FIG. 3, que muestra imágenes de geles de SDS-PAGE que muestran la estabilidad de un conjugado anticuerpo-marcador detectable durante un período de tiempo de 6 días.

Ejemplo 3:

Conjugación de HIPS-6PEG-Maytansina con un anticuerpo marcado con aldehído

Se hizo reaccionar HIPS-6PEG-Maytansina (Compuesto **190**, anterior; 231,5 equivalentes de fármaco:aldehído) con anticuerpo marcado con aldehído 5,4 μ M (A) en PBS con citrato de sodio 50 mM pH 6 y DMA al 10 % a 37 °C. La mezcla de reacción se analizó después de 48 horas.

Los resultados se muestran en la FIG. 4, que muestra un trazo de columna de interacción hidrófoba (CIH) del anticuerpo marcado con aldehído conjugado con HIPS-6PEG-Maytansina. Se observaron el conjugado de proteína no conjugada (A), mono-conjugada (B) y di-conjugada (C).

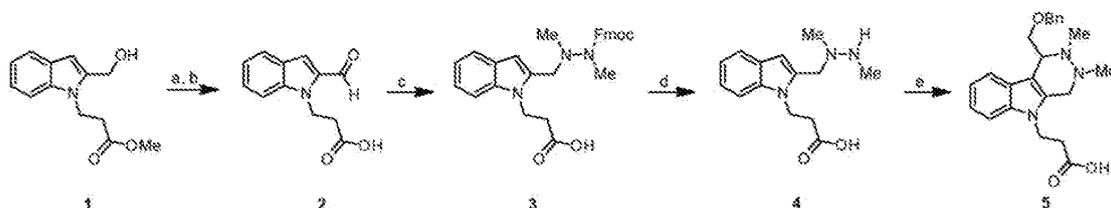
Se sintetizaron compuestos adicionales como se describe a continuación.

Métodos de síntesis generales

Todos los reactivos se obtuvieron en Sigma-Aldrich, Acros o TCI y se usaron sin purificación adicional, excepto la piperidina, que se secó sobre CaH₂ y se destiló. Se obtuvieron disolventes anhidros de fuentes comerciales en botellas selladas. La cromatografía en columna se realizó con un cromatógrafo Biotage Isolera Prime. La cromatografía líquida de alta presión se realizó en un cromatógrafo Agilent 1100 equipado con una columna Agilent Poroshell 120 (4,6 x 150 mm), con absorción UV controlada a 205 nm.

Los espectros de RMN se obtuvieron en un espectrómetro Bruker 400 MHz por Emeryville Pharmaceutical Services. Los espectros de RMN ¹H se referenciaron a CHCl₃ residual (7,26 ppm), CD₂HCN (1,94 ppm) o CD₂HOD (3,31 ppm). Los espectros de RMN ¹³C se referenciaron a CDCl₃ (77,16 ppm), CD₃CN (1,32 ppm) o CD₃OD (49,00 ppm). Los espectros de RMN se procesaron usando MestReNova (Mestrelab Research SL). Los espectros de masas IEN de alta resolución de moléculas pequeñas se obtuvieron en la instalación de espectrometría de masas de UC Berkeley en un espectrómetro de masas Thermo LTQ Orbitrap.

Se sintetizó reactivo de ligadura HIPS (Compuesto **4**) como se ilustra en el Esquema 4, a continuación:

Esquema 4**Síntesis de 3-(2-formil-1H-indol-1-il)propanoato de metilo (1)**

Se sintetizó Compuesto **1** como se indica a continuación. Se suspendió peryodinano de Dess-Martin (5,195 g, 12,25 mmol, 1,09 equiv.) en una mezcla de diclorometano (20 ml) y piridina (2,70 ml, 33,5 mmol, 3,0 equiv.). Después de 5 min, la suspensión de color blanco resultante se transfirió a una solución de 3-(2-(hidroximetil)-1H-indol-1-il)propanoato de metilo (2,611 g, 11,19 mmol) en diclorometano (10 ml), dando como resultado una suspensión de color marrón rojizo. Después de 1 h, la reacción se interrumpió con tiosulfato de sodio (solución acuosa al 10 %, 5 ml) y bicarbonato de sodio (solución acuosa saturada, 5 ml). La capa acuosa se extrajo con diclorometano (20 ml, 3 veces), después se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró hasta un aceite de color marrón. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo al 5-50 % en hexanos) produjo el producto en forma de un aceite incoloro (2,165 g, 9,363 mmol, 84 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,87 (s, 1H), 7,73 (dt, J = 8,1, 1,0 Hz, 1H), 7,51 (dd, J = 8,6, 0,9 Hz, 1H), 7,45-7,40 (m, 1H), 7,29 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 7,18 (ddd, J = 8,0, 6,9, 1,0 Hz, 1H), 4,84 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,62 (s, 3H), 2,83 (t, J = 7,2 Hz, 2H). RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 182,52, 171,75, 140,12, 135,10, 127,20, 126,39, 123,46, 121,18, 118,55, 110,62, 51,83, 40,56, 34,97. EMAR (IEN) calculada para C₁₃H₁₃NO₃Na [M+Na]⁺: 254,0793; descubierta: 254,0786.

Síntesis de ácido 3-(2-formil-1H-indol-1-il)propanoico (2)

Se sintetizó Compuesto **2** a partir de Compuesto **1** como se indica a continuación. A una solución de Compuesto **1** (306 mg, 1,32 mmol) disuelto en dioxano (18 ml) se le añadió LiOH (solución acuosa 2 M, 992 μ l, 1,98 mmol, 1,5 equiv.). Después de 1 h, se añadió gota a gota ácido clorhídrico (solución acuosa 1 M) para proporcionar una solución con pH = 5. La solución se concentró y el aceite de color marrón pálido resultante se disolvió en acetato de etilo (20 ml) y se lavó con ácido acético (solución acuosa al 5 %, 10 ml), agua (10 ml) y salmuera (10 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró hasta un aceite de color marrón pálido. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (acetato de etilo al 5-50 % en hexanos con ácido acético al 0,1 %) produjo el producto en forma de un sólido de color amarillo pálido (290 mg, 1,34 mmol, cuantitativo). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,89 (s, 1H), 7,76 (dt, J = 8,1, 0,9 Hz, 1H), 7,53 (dd, J = 8,6; 0,9 Hz, 1H), 7,48-7,43 (m, 1H), 7,33

(d, $J = 0,8$ Hz, 1H), 7,21 (ddd, $J = 8,0, 6,9, 1,0$ Hz, 1H), 4,85 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,91 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H). RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 182,65, 176,96, 140,12, 135,02, 127,33, 126,42, 123,53, 121,27, 118,76, 110,55, 40,19, 34,82. EMAR (IEN) calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{NO}_3$ [M-H] $^-$: 216,0666; descubierta: 216,0665.

5 **Síntesis de ácido 3-(2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-1,2-dimetilhidrazinil)metil)-1H-indol-1-il)propanoico (3)**

Se sintetizó Compuesto **3** a partir de Compuesto **2** como se indica a continuación. A una solución de Compuesto **2** (1,193 g, 5,492 mmol) y FmocN(Me)NHMe (2,147 g, 7,604 mmol, 1,38 equiv) en 1,2-dicloroetano (anhidro, 25 ml) se le añadió triacetoxiborohidruro de sodio (1,273 g, 6,006 mmol, 1,09 equiv). La suspensión de color amarillo resultante se agitó durante 2 h y después se inactivó con bicarbonato de sodio (solución acuosa saturada, 10 ml), seguido de la adición de cloruro de hidrógeno (solución acuosa 1 M) a pH 4. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (10 ml, 5 veces). Los extractos orgánicos agrupados se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron hasta un aceite de color naranja. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice C18 (acetonitrilo al 20-90 % en agua) produjo **3** en forma de un sólido de color rosa ceroso (1,656 g, 3,425 mmol, 62 %). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,76 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H), 7,70 - 7,47 (m a, 3H), 7,42 - 7,16 (m a, 6H), 7,12 - 7,05 (m, 1H), 6,37 (s, 0.6H), 6,05 (s, 0.4H), 4,75 - 4,30 (m a, 4H), 4,23 (m, 1H), 4,10 (s a, 1H), 3,55 (d a, 1H), 3,11 - 2,69 (m, 5H), 2,57 (s a, 2H), 2,09 (s a, 1H). RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 174,90, 155,65, 143,81, 141,42, 136,98, 134,64, 127,75, 127,48, 127,12, 124,92, 122,00, 120,73, 120,01, 119,75, 109,19, 103,74, 67,33, 66,80, 51,39, 47,30, 39,58, 39,32, 35,23, 32,10. EMAR (IEN) calculada para $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_4$ [M+H] $^+$: 484,2236; descubierta: 484,2222.

Síntesis de 3-(2-((1,2-dimetilhidrazinil)metil)-1H-indol-1-il)propanoato de piperidinio (4)

25 Se sintetizó Compuesto **4** a partir de Compuesto **3** como se indica a continuación. Se disolvió indol **3** (64,2 mg, 133 μmol) en una solución de piperidina en *N,N*-dimetilacetamida (20 % v/v, 1,31 ml, 2,65 mmol, 20,0 equiv.). Después de 20 min, la solución se purificó mediante cromatografía en gel de sílice C18 (acetonitrilo al 0-100 % en agua). El producto se aisló en forma de un aceite incoloro (28,4 mg, 82,0 μmol , 62 %). RMN ^1H (400 MHz, $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$ 7:5) δ 7,84 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,76 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,49 (m, 1H), 7,36 (m, 1H), 6,73 (s, 1H), 4,73 - 4,69 (m, 2H), 4,25 (s, 2H), 3,36 - 3,29 (m, 4H), 2,86 - 2,80 (m, 2H), 2,78 (s, 3H), 2,67 (s, 3H), 1,99 - 1,95 (m, 4H), 1,88 - 1,83 (m, 2H). RMN ^{13}C (151 MHz, $\text{D}_2\text{O}:\text{CD}_3\text{CN}$ 7:5) δ 179,80, 137,61, 135,78, 128,40, 122,59, 121,29, 120,50, 110,94, 103,70, 53,86, 45,32, 42,79, 41,43, 38,64, 33,95, 23,07, 22,41, 1,32. EMAR (IEN) calculada para $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_2$ [M - piperidina +H] $^+$: 262,1556; descubierta: 262,1547.

35 **Síntesis de ácido 3-(1-((benciloxi)metil)-2,3-dimetil-3,4-dihidro-1H-piridazino[4,5-b]indol-5(2H)-il)propanoico (5)**

Se hizo reaccionar Compuesto **4** con benciloxiacetaldehído, que se eligió como aldehído de molécula pequeña modelo por sus propiedades de absorción UV y solubilidad acuosa, para producir el producto de azacarbolina (Compuesto **5**). A una solución de Compuesto **4** (16,2 mg, 46,8 μmol) en acetonitrilo acuoso (agua:acetonitrilo 1:3, 800 μl) se le añadió benciloxiacetaldehído (7,23 μl , 51,5 μmol , 1,10 equiv.). Después de 1 h, la solución se purificó mediante cromatografía en gel de sílice C18 (acetonitrilo al 0-100 % en agua con ácido acético al 0,1 %). Se añadió tolueno al eluyente para ayudar en la retirada del ácido acético residual y el producto se aisló en forma de un aceite de color marrón pálido (16,2 mg, 41,2 μmoles , 88 %). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,41 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,38 - 7,34 (m, 2H), 7,34 - 7,30 (m, 3H), 7,18 - 7,15 (m, 2H), 7,08 - 7,05 (m, 1H), 4,65 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 4,58 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 4,28 - 4,18 (m, 2H), 4,10 (m, 1H), 3,91 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H), 3,81 (s, 1H), 3,76 - 3,64 (m, 2H), 2,69 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 2,63 (s, 3H), 2,39 (s, 3H). RMN ^{13}C (151 MHz, CDCl_3) δ 175,08, 138,74, 136,27, 131,75, 128,42, 127,92, 127,60, 126,61, 121,43, 119,61, 118,74, 109,33, 105,41, 73,46, 71,94, 61,61, 44,16, 41,33, 39,19, 34,98, 31,17. EMAR (IEN) calculada para $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3$ [M+H] $^+$: 394,2131; descubierta: 394,2120.

Síntesis de Fmoc-HIPS-PFP

Se sintetizó Fmoc-HIPS-PFP como se indica a continuación. A una solución de ácido Fmoc-HIPS (Compuesto **4**) (1,4673 g, 3,0344 mmol) y pentafluorofenol (608,1 mg, 3,304 mmol, 1,09 equiv) en acetato de etilo (anhidro, 10 ml) a 0 °C se le añadió una solución de *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (684,0 mg, 3,315 mmol, 1,09 equiv) en acetato de etilo (anhidro, 15 ml). Comenzó a formarse un precipitado de color blanco y después de 5 minutos la solución se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 90 min, la suspensión se enfrió a 0 °C y se filtró a través de Celite; la torta del filtro se lavó con acetato de etilo frío (5 ml). El filtrado se lavó con agua (10 ml, 4 veces) y salmuera (10 ml), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró hasta un sólido de color amarillo pálido (1,979 g, 3,046 mmol, 100 %). Este material se usó en reacciones posteriores sin purificación adicional.

Síntesis de Fmoc-HIPS-AF488

Se sintetizó Fmoc-HIPS-AF488 como se indica a continuación. A una solución de Fmoc-HIPS-PFP (3,0 mg) y cadaverina Alexa Fluor 488 (AF488) (1 mg, 1,6 μmol) en *N,N*-dimetilformamida (0,2 ml) se le añadió carbonato de sodio (solución acuosa 100 mM, 31,2 μl , 3,12 hmol). Después de 2 h, la mezcla de reacción se concentró hasta un

aceite de color rojo anaranjado que se purificó mediante cromatografía en gel de sílice C18 (H₂O/MeCN). El producto se aisló en forma de un sólido de color rojo (1,7 mg, 1,54 μ mol, 99 %). EMAR (IEN) calculada para C₅₅H₅₂N₇O₁₃S₂ [M-Na]⁺: 1082,3070; descubierta: 1082,3064.

5 **Síntesis del reactivo de ligadura HIPS-AF488 (Compuesto 9)**

Se sintetizó reactivo de ligadura HIPS-AF488 (Compuesto 9) como se indica a continuación. Se disolvió Fmoc-HIPS-AF488 (1,7 mg, 1,54 μ mol) en una solución de dioxano: MeOH: NaOH acuoso 2 M (30:9:1,94 μ l, NaOH 4,7 μ mol, 3,1 equiv. de NaOH). Después de 30 min, la mezcla de reacción de color azul pálido se inactivó con ácido acético (solución acuosa al 5 %, 50 μ l), dando como resultado una solución de color verde fluorescente que se concentró hasta un sólido de color rojo. El producto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice C18 y se purificó adicionalmente mediante HPLC en una columna Agilent Zorbax 300SB-C18 (9,4 x 250 mm). El producto se aisló en forma de un sólido de color rojo (1,0 mg, 1,16 μ mol, 75 %). EMAR (IEN) calculada para C₄₀H₄₂N₇O₁₁S₂ [M-Na]⁺: 860,2389; descubierta: 860,2387.

15 **Ejemplo 4:**

Reactividad del reactivo de ligadura HIPS (Compuesto 4)

20 Se realizaron experimentos para estudiar la reactividad del reactivo de HIPS (Compuesto 4) con respecto a aminooxi modelo, hidrazida y reactivos de ligadura de Pictet-Spengler con benciloxiacetaldehído (FIG. 5 y 6).

25 *Protocolo experimental para el ensayo de cinética por HPLC:* Las mezclas de reacción contenían amina **4**, **6**, **7** u **8** (50 μ M), benciloxiacetaldehído (50 μ M), verde de bromocresol (10 μ M) y tampón (10 mM) en 120 μ l de una solución acuosa que contenía MeCN al 6,7 %, que estaba presente para solubilizar la solución madre (1 mM) de benciloxiacetaldehído. Después de 2 h a temperatura ambiente, se analizó una alícuota de 100 μ l mediante HPLC, empleando un gradiente de acetonitrilo del 10 al 100 % en agua durante 18 min.

30 Como se ha descrito anteriormente, se incubaron soluciones tamponadas que contenían amina 50 μ M y aldehído a temperatura ambiente durante 2 h antes del análisis mediante HPLC. Dentro de un intervalo de pH que abarcaba las condiciones habitualmente utilizadas para reacciones de bioconjugación de aldehídos y cetonas, el aminooxi indol **6** (un reactivo de ligadura de Pictet-Spengler modelo) y el compuesto aminooxi modelo **7** reaccionaron más rápidamente en condiciones ácidas. La reacción de la hidrazida **8** no se realizó de manera apreciable en ninguna condición, lo que puede deberse a la constante de equilibrio baja para la formación de hidrazona. Por encima de pH 6, el indol **4** tuvo un mayor porcentaje de conversión en producto que los otros nucleófilos de amina, lo que indicó que la ligadura de HIPS puede ser útil para marcar proteínas cerca del pH neutro. Se observó una curva de pH-velocidad en forma de campana para la reacción con el Compuesto **4**; la velocidad de reacción disminuida a un pH más bajo puede deberse a la adición de carbonilo limitante de la velocidad debido a la protonación del resto de hidrazina del Compuesto **4**, puesto que las trialkilhidrazinas tales como la del Compuesto **4** (pKa ~ 6,56) son más básicas que los restos O-alkilaminooxi tales como el del Compuesto **6** (pKa ~ 4,60).

40 **Ejemplo 5:**

Conjugación del Compuesto 4 con FGly-MBP

45 Se realizaron experimentos para marcar selectivamente una proteína que contenía aldehído (FGly-MBP) con Compuesto **4** a pH casi neutro.

50 *Protocolo experimental para la conjugación de 4 con FGly-MBP:* Se combinaron Indol **4** (1 mM) y FGly-MBP (1,41 mg/ml) en tampón de citrato de sodio (50 mM, pH 5,0) y se incubaron a 37 °C durante 24 h. El exceso de Compuesto **4** se retiró mediante intercambio de tampón en PBS en un concentrador centrífugo (Amicon, VCPM 10 kDa) y la muestra se trató con tripsina (1,1 μ g, al 2 % en peso) y se incubó a 37 °C durante 24 h. Los péptidos se desalaron usando una columna C18 (The Nest Group), eluyendo con acetonitrilo al 70 % y ácido fórmico al 1 % en agua. El eluyente se concentró por evaporación centrífuga y después se analizó mediante nano-CL/EM en la instalación de espectrometría de masas QB3/Química de la U.C. Berkeley en un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo de ionización por electronebulización Waters Q-ToF premier conectado a una UPLC Waters nanoAcquity.

60 Se usó como sustrato una proteína de unión a maltosa marcada con aldehído (FGly-MBP), que es una variante de MBP que lleva un resto de C α -formilglicina (FGly) cerca de su extremo C. Como se ha descrito anteriormente, el resto de formilglicina se instaló mediante la inclusión de la secuencia peptídica corta LCTPSR en el extremo C de la proteína. La coexpresión de MBP con la enzima generadora de formilglicina de *Mycobacterium tuberculosis* dio como resultado la oxidación cotraduccional del resto de cisteína de la secuencia consenso a formilglicina, que fue reactiva selectivamente con el reactivo que contenía hidrazina **4**. Se hizo reaccionar FGly-MBP con indol **4** durante la noche y después el conjugado resultante se tripsinó. El análisis del producto de digestión triptico mediante IEN-EM 65 mostró que el Compuesto **4** reaccionó con el resto de FGly.

Ejemplo 6:*Experimentos de marcado de proteínas*

- 5 Se realizaron experimentos para determinar la velocidad de la ligadura de HIPS en condiciones de reacción suaves mediante la evaluación de la cinética de marcado en proteínas a pH 6,0.

10 *Protocolo experimental para experimentos de marcado de proteínas:* Las mezclas de reacción contenían fluoróforo **9, 10, 11** o **12** (400 μ M) y proteínas (MBP, 0,67 mg/ml; α -HER2, 0,37 mg/ml; o Mb, 0,51 mg/ml) en tampón de fosfato de sodio (100 mM, pH 6,0). Después de 2 h a 37 °C, la reacción se detuvo añadiendo Tris-Cl a pH 8,5-9 y se analizó inmediatamente mediante SDS-PAGE. Puesto que los fluoróforos libres se coeluyeron con y oscurecieron Mb, la proteína se transfirió en húmedo a una membrana de nitrocelulosa para retirar el fluoróforo libre antes de la formación de imágenes de fluorescencia y se evaluó la carga de proteínas usando Ponceau S.

15 Para facilitar el análisis de los experimentos de conjugación de proteínas mediante SDS-PAGE, se preparó un indol de HIPS funcionalizado con fluoróforo (Compuesto **9**) acoplado el Compuesto **3** con cadaverina Alexa Fluor 488 seguido de desprotección de Fmoc con piperidina. En estos experimentos, las eficiencias de conjugación relativas del reactivo de HIPS **9** se compararon tanto con la hidrazida AF488 disponible en el mercado (Compuesto **10**) como con el reactivo de aminooxi (Compuesto **11**). Este diseño experimental permitió una comparación de la ligadura de HIPS con la ligadura de Pictet-Spengler publicada anteriormente así como con aminooxi AF488 disponible en el mercado (Compuesto **12**, FIG. 7A). El marcado relativo de dos proteínas que llevaban formilglicina se evaluó a pH 6,0: FGly-MBP y FGly- α -HER2, una variante del anticuerpo terapéutico monoclonal Herceptin que contiene un resto de formilglicina en el extremo C de cada una de sus cadenas pesadas. Para mostrar la generalidad del método con un aldehído distinto de la formilglicina, también se evaluó el marcado de mioglobina modificada químicamente (Mb) que contenía una glioxamida N-terminal instalada por transaminación mediada por fosfato de piridoxal. En los tres casos, el tratamiento de la proteína funcionalizada con aldehído con 400 μ M de los reactivos fluoróforos 9-12 a pH 6,0 durante 2 h mostró que el marcado con el reactivo de HIPS **9** fue más rápido que el marcado con el panel de aminooxi e hidrazido-fluoróforo (FIG. 7B-7D). Los experimentos de control con el mutante FGly-MBP C390A (que carecía del resto de cisteína requerido para la conversión en formilglicina), α -HER2 sin la secuencia marcadora de aldehído y Mb de tipo silvestre, todos los cuales carecían de funcionalidad aldehído, mostraron un marcado insignificante con Compuesto **9**. El experimento usando FGly- α -HER2 demostró un método para la conjugación específica de sitio de un anticuerpo monoclonal con una molécula pequeña en condiciones suaves.

Ejemplo 7:*Experimentos de estabilidad hidrolítica*

35 Se realizaron experimentos para determinar la estabilidad hidrolítica del enlace en FGly-MBP con respecto a las oximas, que normalmente son enlaces hidrolíticamente estables para aldehídos y cetonas en la química de bioconjugación.

Protocolo experimental para ELISA de hidrólisis de conjugados MBP-AF488

45 *Preparación de conjugados MBP-AF488:* Se combinaron fluoróforo **9** o **12** (545 μ M) y FGly-MBP (1,61 mg/ml, 40 μ g) en tampón de citrato de sodio (45 mM, pH 4,5). Después de 18 h a 37 °C, las proteínas se purificaron del fluoróforo libre mediante cromatografía de intercambio iónico (GE HiTrap SPXL, NaCl 5 mM a 1 M en citrato de sodio 5 mM, pH 5,5). La conjugación del colorante AF488 se verificó mediante espectroscopía UV-vis.

50 *Incubación de conjugados en plasma humano:* Se incubó una solución de conjugado MBP-AF488 (10 μ g/ml) en plasma humano (0,98x) a 37 °C durante 5 días. Se extrajeron alícuotas a intervalos de 10-14 h y se diluyeron con BSA al 1 % en PBS a 10 ng/ml; Las soluciones resultantes se congelaron inmediatamente a -80 °C hasta el análisis mediante ELISA.

55 *ELISA:* Una placa de microtitulación de 96 pocillos (Nunc Maxisorp) se recubrió con α -MBP (2,5 μ g/ml en PBS, Abcam) a 4 °C durante la noche. Los pocillos se lavaron dos veces con PBST, después se incubaron con BSA (al 1 % en PBS) durante 2 h. Los pocillos se lavaron dos veces con PBST, después se incubaron con soluciones de conjugado MBP-AF488 (10 ng/ml). Después de 1 h, los pocillos se lavaron cuatro veces con PBST, después se incubaron con IgG α -AF488 de conejo (Invitrogen, 1:5000) durante 1 h. Los pocillos se lavaron cuatro veces con PBST, después se incubaron con α -IgG de conejo de burro conjugada con HRP (Jackson ImmunoResearch, 1:10000) durante 1 h. Después de lavar los pocillos cuatro veces con PBST, se añadieron tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno (kit Pierce TMB) y la reacción se interrumpió mediante la adición de 1 volumen de H₂SO₄ (2 M) después de 15 min. La absorción se leyó a 450 nm en un lector de placas (SpectraMax M5).

65 Como se ha descrito anteriormente, se incubaron conjugados purificados de AF488 ligado a azacarbolina y oxima, de FGly-MBP, a 10 μ g/ml en plasma humano a 37 °C durante cinco días. Durante este tiempo, el MBP controló la pérdida de AF488 mediante ELISA (FIG. 8). El procedimiento ELISA sándwich incluyó la captura de MBP-AF488 en

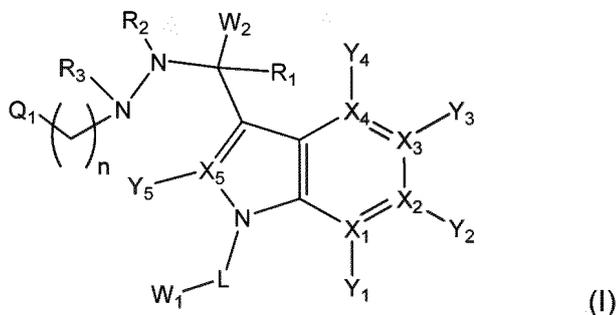
una placa de microtitulación recubierta con α -MBP seguida de la detección de AF488 unido covalentemente usando un anticuerpo α -AF488 y un anticuerpo secundario conjugado con HRP. En el transcurso de cinco días, no se observó hidrólisis apreciable del conjugado de azacarbolina. Por el contrario, el conjugado de oxima de AF488 se descompuso en un solo día.

5

REIVINDICACIONES

1. Un conjugado que comprende:

5 al menos un resto de aminoácido modificado de fórmula (I):



en la que:

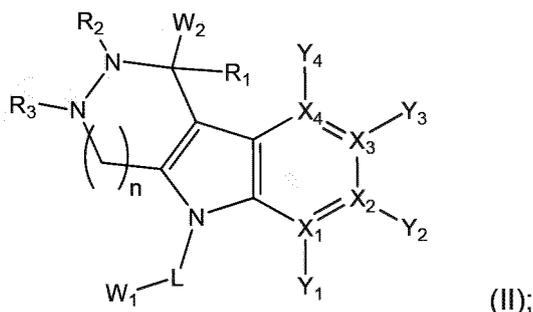
- 10 n es 0 o 1;
 R₁ se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 15 R₂ y R₃ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 20 X₂, X₃ y X₄ son cada uno C;
 X₁ es independientemente C o N;
 en donde si X₁ es N, entonces Y₁ está ausente;
 X₅ es C;
 25 Y₁, Y₂, Y₃, Y₄ e Y₅ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 30 Q₁ es un enlace con X₄ o X₅, en donde si Q₁ es un enlace con X₄, entonces Y₄ está ausente o si Q₁ es un enlace con X₅, entonces Y₅ está ausente; y
 L es un enlazador opcional;

en donde uno de entre W₁ y W₂ es un polipéptido y el otro es un fármaco o un marcador detectable.

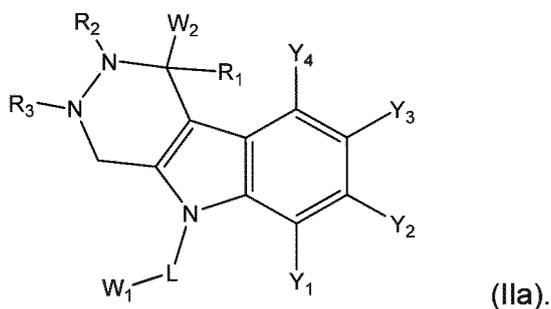
35 2. Un conjugado de acuerdo con la reivindicación 1, en el que Q₁ es un enlace con X₅ e Y₅ está ausente.

3. Un conjugado de acuerdo con la reivindicación 1, en el que W₁ es el fármaco o el marcador detectable y W₂ es el polipéptido.

40 4. Un conjugado de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el conjugado comprende al menos un resto de aminoácido modificado de fórmula (II):

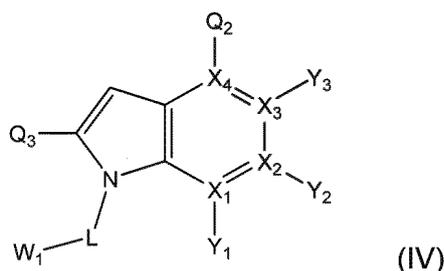


45 o de fórmula (IIa):



5. Un compuesto de fórmula (IV):

5

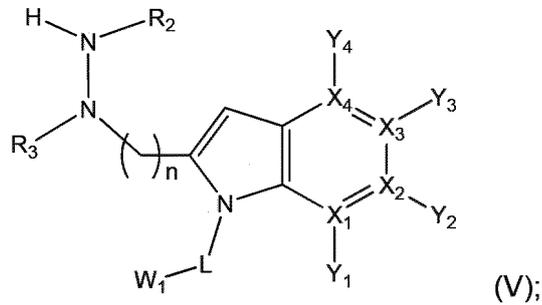


en la que:

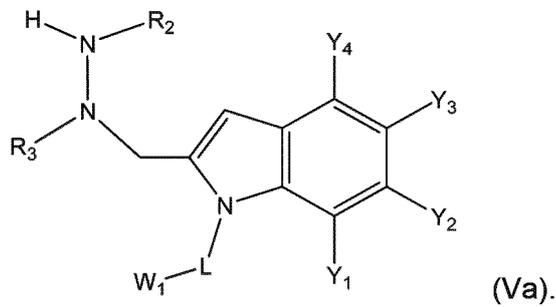
- 10 uno de entre Q_2 y Q_3 es $-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ y el otro es Y_4 ;
 n es 0 o 1;
 R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
 X_2 , X_3 y X_4 son cada uno C;
 X_1 es independientemente C o N;
 en donde si X_1 es N, entonces Y_1 está ausente;
- 20 Y_1 , Y_2 , Y_3 e Y_4 se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, halógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acilo, aciloxi, acil amino, amino acilo, alquilamida, alquilamida sustituida, sulfonilo, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido;
- 25 L es un enlazador opcional; y
 W_1 se selecciona entre un fármaco, un marcador detectable y un polipéptido.
6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en el que Q_3 es $-(CH_2)_nNR_3NHR_2$ y Q_2 es Y_4 .
- 30 7. Un conjugado de acuerdo con la reivindicación 1 o un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en los que:
 n es 1;
 R_2 y R_3 se seleccionan cada uno independientemente entre alquilo y alquilo sustituido;
 X_1 , X_2 , X_3 y X_4 son cada uno C; y
 Y_1 , Y_2 , Y_3 e Y_4 son cada uno H.
8. Un conjugado o un compuesto de acuerdo con la reivindicación 7, en los que R_2 y R_3 son cada uno metilo.
9. Un conjugado de acuerdo con la reivindicación 1 o un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en el que L está presente y comprende un grupo seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, amino, amino sustituido, carboxilo, éster de carboxilo, acil amino, alquilamida, alquilamida sustituida, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido.
- 40 10. Un conjugado de acuerdo con la reivindicación 1 o un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en los que L está presente y comprende un polímero.

11. Un conjugado o un compuesto de acuerdo con la reivindicación 10, en los que el polímero es un polietilenglicol.

12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el compuesto es un compuesto de fórmula (V):



o de fórmula (Va):



13. Una composición farmacéutica que comprende:

un conjugado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 7 a 11; y
un excipiente farmacéuticamente aceptable.

14. Un conjugado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 7 a 11 para su uso en terapia.

15. Un método de producción de un conjugado, comprendiendo el método:

combinar en una mezcla de reacción:

un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 y
un segundo compuesto que comprende un grupo reactivo,

en donde la combinación es en condiciones de reacción adecuadas para promover la reacción entre el compuesto y el grupo reactivo del segundo compuesto para formar un conjugado; y aislar el conjugado de la mezcla de reacción.

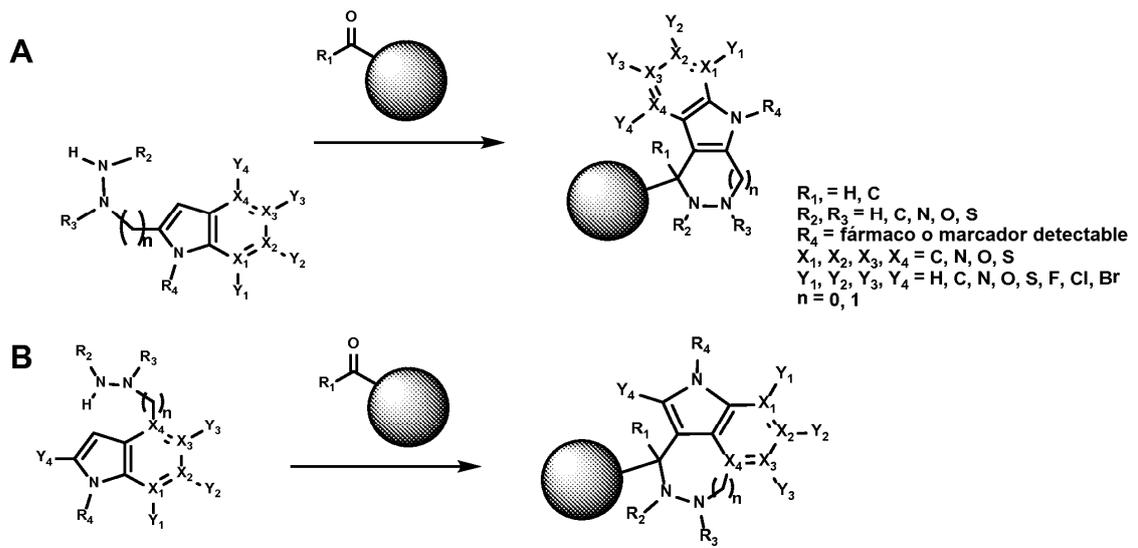


FIG. 1

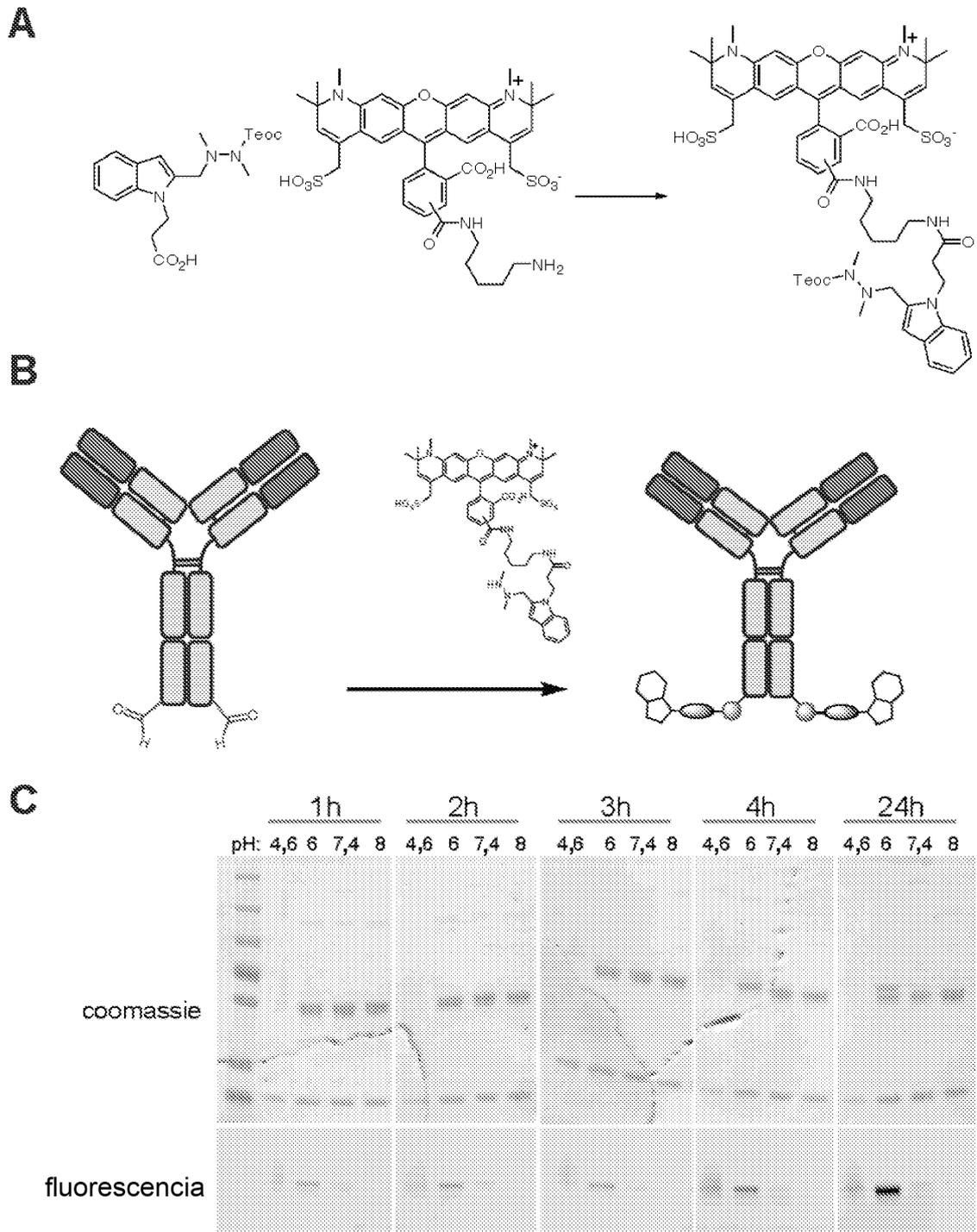


FIG. 2

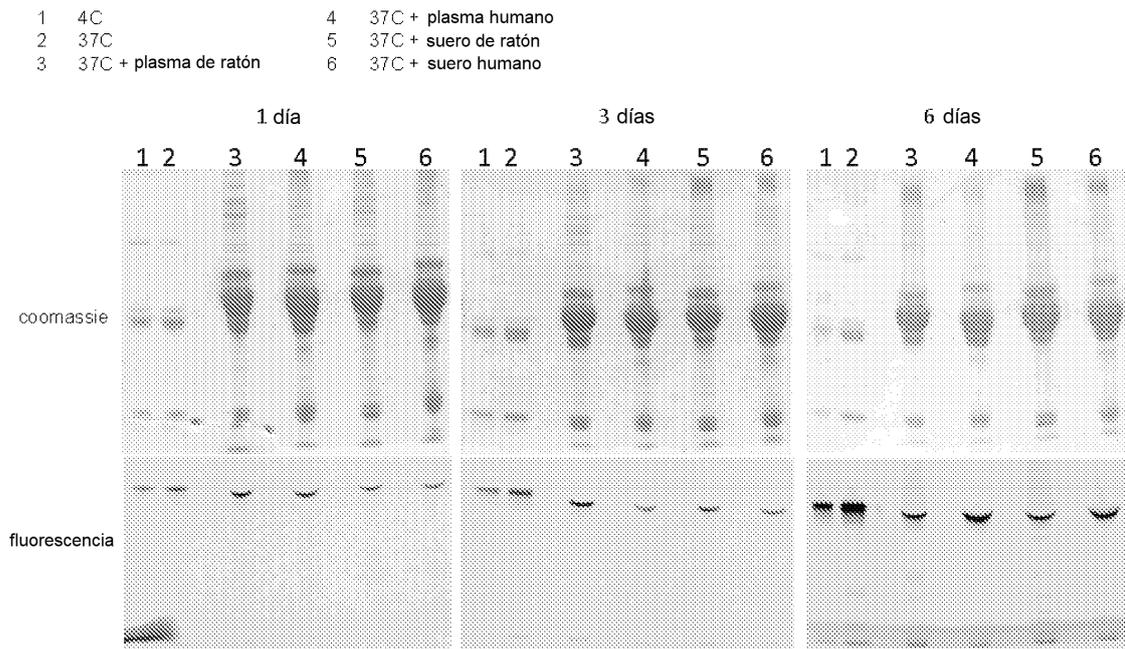


FIG. 3

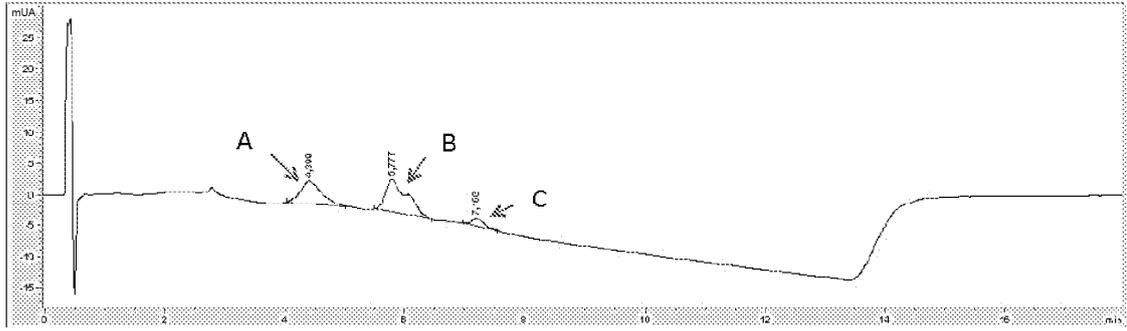
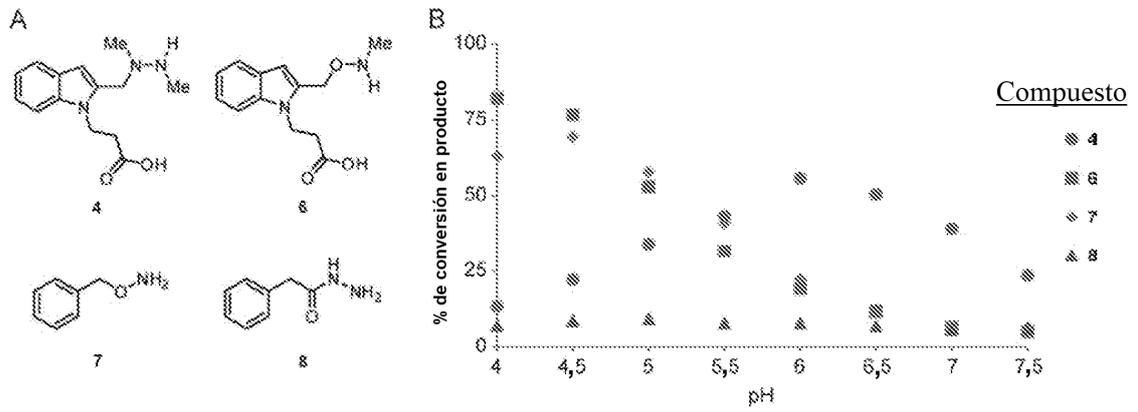


FIG. 4



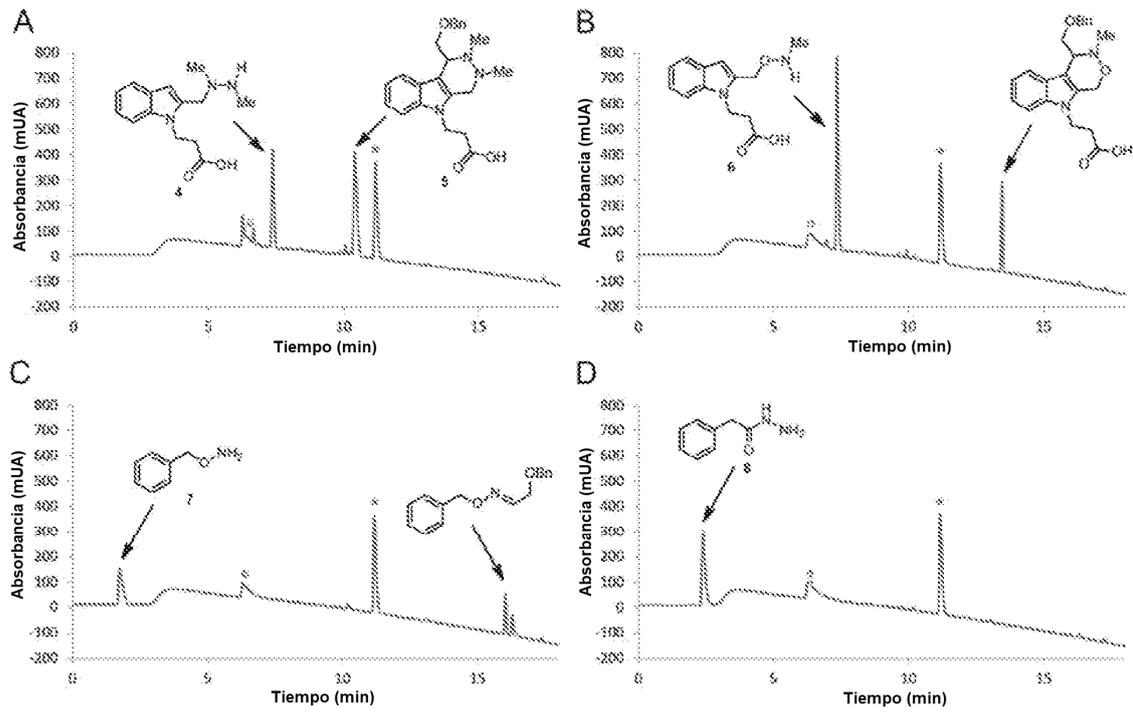


FIG. 6

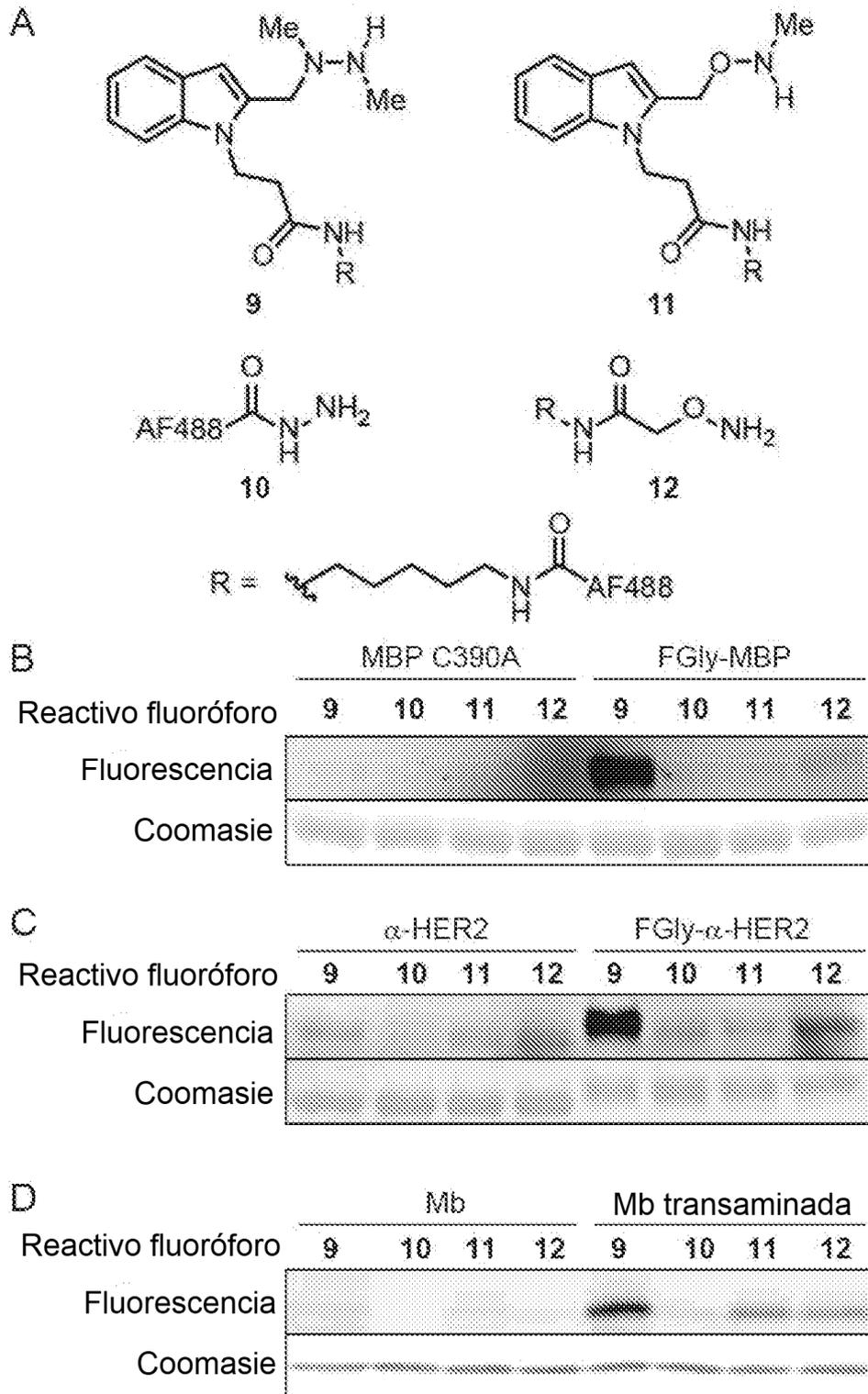


FIG. 7

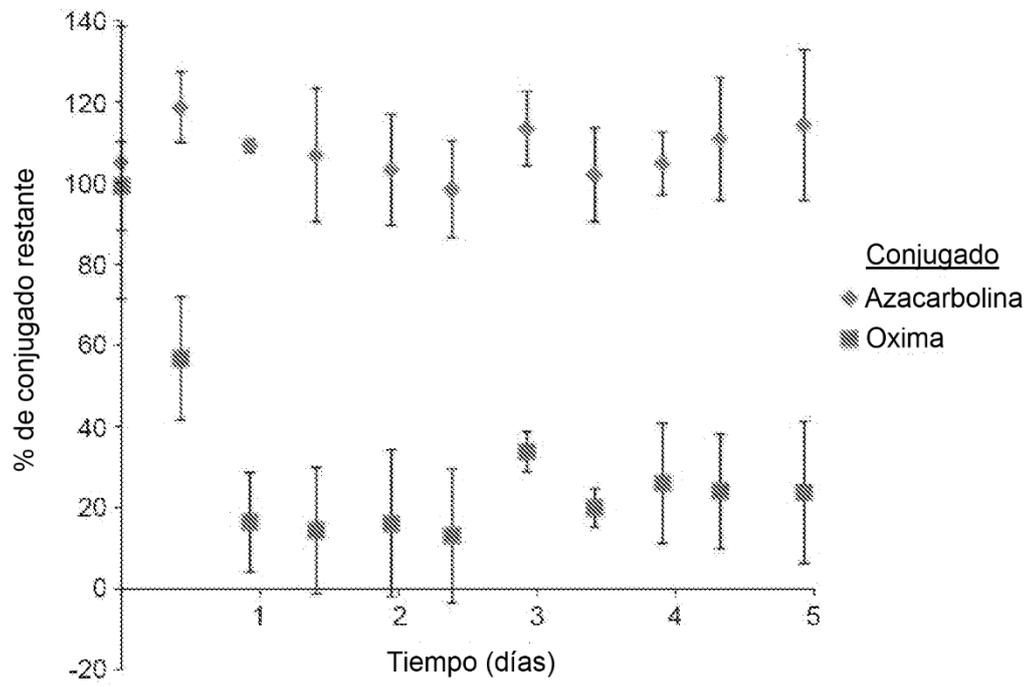


FIG. 8