

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 611**

51 Int. Cl.:

**C07C 319/20** (2006.01)  
**C07C 319/28** (2006.01)  
**C07H 1/06** (2006.01)  
**C07C 319/06** (2006.01)  
**C07H 15/26** (2006.01)  
**C07C 323/48** (2006.01)  
**C07C 323/60** (2006.01)  
**C07D 207/46** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2014 PCT/IB2014/065657**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2015 WO15063680**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2014 E 14802502 (6)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2019 EP 3066074**

54 Título: **Intermedios y procedimientos para sintetizar derivados de calicheamicina**

30 Prioridad:

**04.11.2013 US 201361899682 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**23.06.2020**

73 Titular/es:

**PFIZER INC. (100.0%)  
 235 East 42nd Street  
 New York, NY 10017, US**

72 Inventor/es:

**DUGGER, ROBERT WAYNE;  
 LETENDRE, LEO JOSEPH;  
 PATEL, VIMALKUMAR BABUBHAI;  
 PRASHAD, AMARNAUTH SHASTRIE y  
 ZHANG, CHUNCHUN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 768 611 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

Intermedios y procedimientos para sintetizar derivados de calicheamicina

**Campo de la invención**

5 La invención se refiere a la síntesis de derivados de calicheamicina. La invención también se refiere a intermedios y moléculas enlazadoras útiles para preparar derivados de calicheamicina y para conjugar una calicheamicina con una biomacromolécula tal como un anticuerpo monoclonal.

**Antecedentes de la invención**

10 MYLOTARG® (gemtuzumab ozogamicina) consiste en un anticuerpo monoclonal contra CD33 que está unido a la calicheamicina por medio de un enlazador hidrolizable con ácido. El producto comercial se comercializó como el primer agente quimioterapéutico dirigido a anticuerpos y se aprobó para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (LMA) en pacientes de edad avanzada. La inotuzumab ozogamicina es un anticuerpo CD22 unido a una calicheamicina actualmente en ensayos clínicos para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer.

15 La potente familia de agentes antibacterianos y antitumorales conocidos colectivamente como calicheamicinas, o el complejo LL-E33288, se desvela en la Pat. de EE.UU. N.º 4.970.198. La Pat. de EE.UU. N.º 5.053.394 también desvela agentes antibacterianos y antitumorales de trisulfuro de metilo. Estos compuestos en la Pat. de EE.UU. N.º 4.970.198 y la Pat. de EE.UU. N.º 5.053.394 contienen un grupo trisulfuro de metilo que puede hacerse reaccionar con tioles apropiados para formar disulfuros mientras que al mismo tiempo se introduce un grupo funcional, tal como una hidrazida o un nucleófilo similar. Los ejemplos de esta reacción con las calicheamicinas se dan en la Pat. de EE.UU. N.º 5.053.394. La Pat. de EE.UU. N.º 5.770.70 se dirige a un procedimiento para preparar formas dirigidas de compuestos disulfuro del complejo LL-E33288. Un enlazador, ácido 4-(4-acetil-fenoxi)butanoico, se condensa con un compuesto de N-acetil-gamma calicheamicina dimetilhidrazida para proporcionar la ácido carboxílico-hidrazona que se trata adicionalmente con N-hidroxisuccinimida para dar el éster OSu (N-succinimidiloxi) que está listo para la conjugación con una biomacromolécula elegida.

20

25 La Pat. de EE.UU. N.º 8.273.862 describe un procedimiento sintético para construir moléculas intermedias enlazadoras (denominadas "ésteres activados por trienlazador" o "intermedios enlazadores trifuncionales" en los mismos). Estos intermedios enlazadores pueden conjugarse con calicheamicinas para preparar derivados de calicheamicina que después pueden conjugarse adicionalmente con biomacromoléculas tales como anticuerpos monoclonales. En las etapas que conducen a la preparación del intermedio enlazador, el procedimiento descrito en la Pat. de EE.UU. N.º 8.273.862 usa un compuesto mercapto ("compuesto 2" en la misma), por ejemplo, hidrazida del ácido 3-metil-3-mercaptobutanoico, como intermedio.

30

35 El documento WO 2008/147765 describe un procedimiento para sintetizar los intermedios que contienen mercapto, tales como hidrazida del ácido 3-metil-3-mercaptobutanoico, que son útiles en la preparación de intermedios enlazadores y derivados de calicheamicina como se ha descrito en el párrafo anterior. Como alternativa, el documento WO 2008/147765 se refiere a la hidrazida del ácido 3-metil-3-mercaptobutanoico como el "enlazador DMH". El documento WO 2008/147765 señala que la hidrazida del ácido 3-metil-3-mercaptobutanoico es una N-acilhidrazina que contiene mercapto preferida con el fin de unir calicheamicina a anticuerpos monoclonales para producir, por ejemplo, gemtuzumab ozogamicina o inotuzumab ozogamicina.

40 En el documento WO 2008/147765, la hidrazida del ácido 3-metil-3-mercaptobutanoico se prepara eliminando el grupo protector de bencilo del compuesto p-metoxibenciltioéter-hidrazida en condiciones ácidas. Para obtener p-metoxibenciltioéter hidrazida, el documento WO 2008/137765 indica la primera reacción del ácido p-metoxibenciltioéter con cloruro de oxalilo en cloruro de metileno para formar cloruro de ácido p-metoxibenciltioéter. El cloruro de ácido p-metoxibenciltioéter se añade entonces a una mezcla de hidrazina anhidra y cloruro de metileno para obtener la p-metoxibenciltioéter hidrazida. Sin embargo, como se describe en el documento WO 2008/147765, los dos reactivos ácido p-metoxibenciltioéter y cloruro de ácido p-metoxibenciltioéter juntos generan un subproducto no deseado, bis-metoxibenciltioéter hidrazida, dando como resultado un rendimiento y calidad inferiores. Además, como se describe en el documento WO 2008/147765, debido a la naturaleza reactiva e inestable de la molécula de cloruro de ácido, cloruro de ácido p-metoxibenciltioéter, puede emplearse hidrazina anhidra y bajas temperaturas, por ejemplo, -70 °C. Otro aspecto en la preparación de derivados de calicheamicina implica conectar químicamente la calicheamicina a la molécula enlazadora. Para conjugar la calicheamicina con el intermedio enlazador en la Pat. de EE.UU. N.º 8.273.862, se realiza una reacción final entre una calicheamicina y un "éster activado por trienlazador" (o "intermedio enlazador trifuncional"). Estructuralmente, las calicheamicinas contienen un resto trisulfuro, como se ha explicado anteriormente, que se usa en su derivatización, y la química de esta reacción entre el resto trisulfuro de la calicheamicina y el éster activado por trienlazador es importante para lograr buenos rendimientos y pureza. Las reacciones de intercambio de azufre usadas previamente para los derivados de calicheamicina han dado mezclas de reacción complejas, múltiples subproductos y bajos rendimientos.

55

Finalmente, el derivado de calicheamicina se purifica después de su formación. El proceso de la Patente de EE.UU. N.º 8.273.862 implica la purificación del derivado de calicheamicina que comprende una etapa de cromatografía de fase normal. La etapa de cromatografía de fase normal en el procedimiento de purificación descrito en la Patente de

EE.UU. N.º 8.273.862 usa cloruro de metileno como disolvente y, como se ha indicado anteriormente, se considera que la exposición a cloruro de metileno por encima de varios niveles mínimos plantea riesgos potenciales para la salud. Cuando se utiliza la cromatografía de fase normal, incluido cloruro de metileno, se deben tomar precauciones para limitar la exposición a cloruro de metileno. El documento US2012/0213804A1 describe procedimientos para preparar conjugados de fármaco citotóxico monomérico/vehículo.

### Sumario de la invención

La presente invención proporciona nuevos intermedios y procedimientos para sintetizar y purificar intermedios enlazadores que son útiles para conjugar antibióticos antitumorales de calicheamicina con biomacromoléculas, tales como anticuerpos monoclonales. La presente invención proporciona además nuevos procedimientos para sintetizar un derivado de calicheamicina, cuyo derivado comprende una calicheamicina unida covalentemente a un enlazador. Un derivado de calicheamicina preparado de este modo puede conjugarse con una biomacromolécula, tal como un anticuerpo monoclonal para hacer un conjugado anticuerpo-fármaco. Los intermedios y los procedimientos sintéticos de la presente invención pueden usarse, por ejemplo, para preparar un derivado de calicheamicina para la fabricación de gemtuzumab ozogamicina (MYLOTARG®) o inotuzumab ozogamicina.

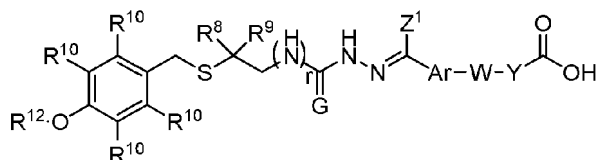
La presente invención proporciona mejoras a los procedimientos anteriores para sintetizar y purificar derivados de calicheamicina que superan algunos de los problemas asociados con estos procedimientos anteriores.

Como se ha explicado anteriormente, el documento WO 2008/137765 enseña primero la reacción de un ácido intermedio de ácido p-metoxibenciltioéter con cloruro de oxalilo en cloruro de metileno para formar un intermedio de cloruro de ácido p-metoxibenciltioéter útil para sintetizar un derivado de calicheamicina. En el documento WO 2008/137765, el intermedio de cloruro de ácido p-metoxibenciltioéter se añade después a una mezcla de hidrazina anhidra y cloruro de metileno para obtener un intermedio de p-metoxibenciltioéter hidrazida. Sin embargo, como se describe en el documento WO 2008/147765, los dos reactivos ácido p-metoxibenciltioéter y cloruro de ácido p-metoxibenciltioéter juntos generan un subproducto no deseado, bis-metoxibenciltioéter hidrazida, dando como resultado un rendimiento y calidad inferiores. La presente invención resuelve este problema del subproducto de bis-metoxibenciltioéter hidrazida evitando completamente el uso de cloruro de ácido p-metoxibenciltioéter como intermedio. Al evitar completamente el intermedio de cloruro de ácido p-metoxibenciltioéter, la presente invención permite además ahora el uso de formas hidratadas de hidrazina que no requieren los mismos procedimientos especiales de manipulación que la hidrazina anhidra y el nuevo procedimiento también evita el engorroso requisito de baja temperatura. Finalmente, dado que el cloruro de ácido p-metoxibenciltioéter se evita en la presente invención, no es necesario utilizar cloruro de metileno y las precauciones de seguridad empleadas con el mismo.

La presente invención también mejora el rendimiento de la reacción entre la calicheamicina y el intermedio enlazador en comparación con los procesos anteriores, tales como el proceso descrito en la Pat. de EE.UU. N.º 8.273.862. La presente invención mejora el rendimiento del derivado de calicheamicina resultante al incluir una carbodiimida en la reacción.

También se ha descubierto, como se describe en el presente documento, que se puede lograr un nuevo procedimiento para purificar derivados de calicheamicina, cuyo procedimiento implica el uso de cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa (RP-HPLC), a pesar de la presencia de dos grupos lábiles en agua (hidrazona y éster de N-hidroxisuccinimida) en el derivado de calicheamicina. De este modo, la presente invención supera los problemas mencionados anteriormente asociados con la purificación de derivados de calicheamicina usando cromatografía de fase normal, por ejemplo, usando cloruro de metileno, como se describe en la Patente de EE.UU. N.º 8.273.862.

La presente invención proporciona compuestos de Fórmula I



Fórmula I

en la que R<sup>12</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada; cada R<sup>10</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, R<sup>12</sup> y -OR<sup>12</sup>; R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

r es un número entero seleccionado de 0 y 1;

G es oxígeno o azufre;

Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

5 Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

10 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

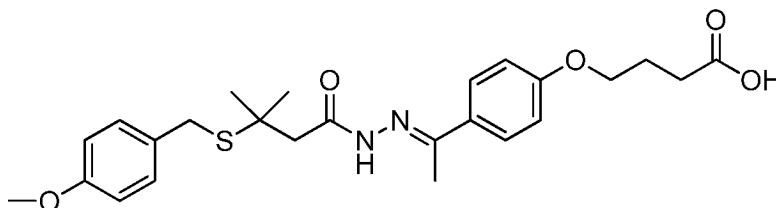
W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); y

15 Y es un grupo alquileo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquilenilo (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada.

Los compuestos de Fórmula 1 son útiles como intermedios para sintetizar intermedios enlazadores y derivados de calicheamicina que comprenden dichos intermedios enlazadores, cuyos derivados de calicheamicina pueden a su vez conjugarse con biomacromoléculas tales como anticuerpos monoclonales.

20 En una realización de la invención, cada R<sup>10</sup> en el compuesto de Fórmula I es hidrógeno. En otra realización, cada R<sup>10</sup> en el compuesto de Fórmula I es hidrógeno y R<sup>12</sup> es metilo.

En otra realización de la invención, el compuesto de Fórmula I es un compuesto que tiene la estructura

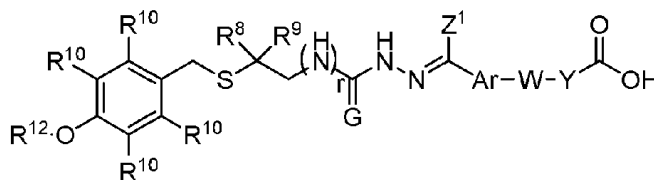


25 En otra realización de la invención, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> en el compuesto de Fórmula I son ambos metilo, r es 0, G es oxígeno, Z<sup>1</sup> es metilo, Ar es 1,4-fenileno, W es -O-, e Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

En otra realización de la invención, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> en el compuesto de Fórmula I son ambos metilo.

En otra realización de la invención, r en el compuesto de Fórmula I es 0. En otra realización de la invención, r en el compuesto de Fórmula I es 0 y G es oxígeno. En otra realización de la invención, r en el compuesto de Fórmula I es 0 y G es azufre.

30 La presente invención también proporciona procedimientos para sintetizar los compuestos de Fórmula I mencionados anteriormente, que, como se indica, son útiles como intermedios para sintetizar intermedios enlazadores y derivados de calicheamicina que comprenden dichos grupos intermedios enlazadores. En una realización, la presente invención proporciona un procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula I



Fórmula I

35 en la que R<sup>12</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada;

cada R<sup>10</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, R<sup>12</sup> y -OR<sup>12</sup>;

R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

40

r es un número entero seleccionado de 0 y 1;

G es oxígeno o azufre;

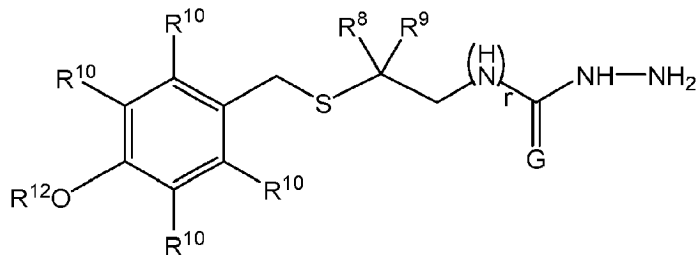
Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

5 Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

10 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

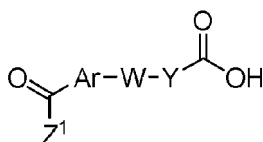
cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

15 W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); e Y es un grupo alquilenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquenileno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada; cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II



Fórmula II

en la que R<sup>10</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, r y G son como se han definido anteriormente, con un compuesto de Fórmula III



Fórmula III

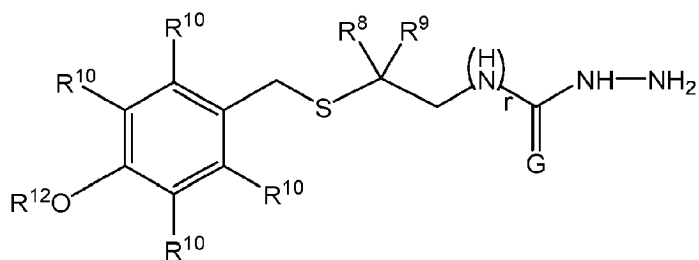
20 en la que Z<sup>1</sup>, Ar, W e Y son como se han definido anteriormente. En una realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula I, r es 0, G es oxígeno, Z<sup>1</sup> es metilo, Ar es 1,4-fenileno, W es -O-, e Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-. En otra realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula I, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son metilo. En otra realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula I, cada R<sup>10</sup> es hidrógeno. En otra realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula I, cada R<sup>10</sup> es hidrógeno y R<sup>12</sup> es metilo.

25 En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula I, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> en el compuesto de Fórmula II son ambos metilo.

En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula I, r en el compuesto de Fórmula II es 0. En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula I, r en el compuesto de Fórmula II es 0 y G es oxígeno. En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula I, r en el compuesto de Fórmula II es 0 y G es azufre.

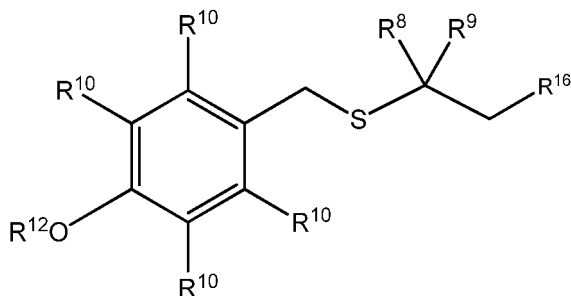
30

La presente invención también proporciona un procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula II



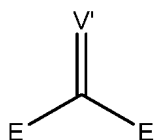
Fórmula II

en la que  $R^{12}$  se selecciona de alquilo  $C_1-C_8$  de cadena lineal y ramificada;  
 cada  $R^{10}$  se selecciona independientemente de hidrógeno,  $R^{12}$  y  $-OR^{12}$ ;  
 $R^8$  y  $R^9$  se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_1-C_8$  de cadena lineal y ramificada,  
 en la que cada uno de dicho alquilo para  $R^8$  y  $R^9$  está opcionalmente sustituido independientemente por  $-NH_2$ ,  $-NHR^{11}$ ,  $-NR^{11}R^{13}$ ,  $-OR^{11}$ ,  $-OH$ , o  $-SR^{11}$ , en las que cada  $R^{11}$  y cada  $R^{13}$  se seleccionan independientemente de alquilo  $C_1-C_5$  de cadena lineal y ramificada;  
 $r$  es un número entero seleccionado de 0 y 1; y  
 $G$  es oxígeno o azufre;  
 cuyo procedimiento comprende tratar un compuesto de Fórmula VII



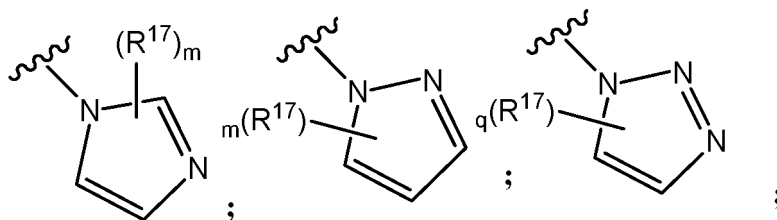
Fórmula VII

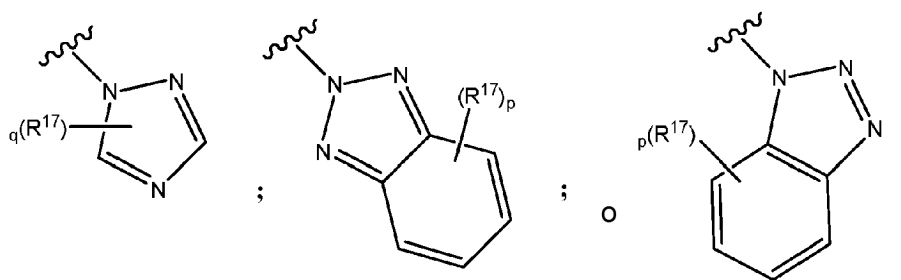
en la que  $R^{16}$  es  $-C(=O)OH$  o  $-C(=V)SH$ , en la que  $V$  es oxígeno o azufre, o  $R^{16}$  es  $-NH_2$ ;  
 con un agente activador de azol de Fórmula IX



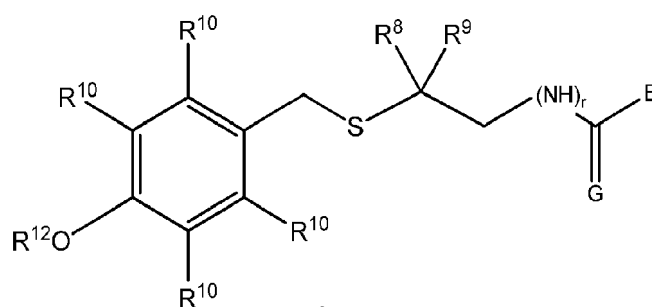
Fórmula IX:

en la que  $V'$  es oxígeno o azufre; y  
 en la que  $E$  es





en la que m es un número entero 0, 1, 2, o 3; q es un número entero 0, 1 o 2; y p es un número entero 0, 1, 2, 3, o 4; y en la que cada R<sup>17</sup> unido a E se selecciona independientemente de grupos alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal y ramificada; en un disolvente orgánico para formar compuesto de Fórmula VIII



Fórmula VIII

5

en la que, cuando R<sup>16</sup> es -C(=O)OH, r es 0 y G es oxígeno; cuando R<sup>16</sup> es -C(=V)SH, r es 0 y G es V; y cuando R<sup>16</sup> es -NH<sub>2</sub>, r es 1 y G es V';

seguido de la combinación del compuesto de Fórmula VIII con hidrazina, formando así un compuesto de Fórmula II. Los compuestos de Fórmula II son útiles como intermedios para sintetizar intermedios enlazadores y derivados de calicheamicina que comprenden dichos grupos intermedios enlazadores, cuyos derivados de calicheamicina, a su vez, pueden conjugarse con una biomacromolécula, tal como un anticuerpo monoclonal.

10

El agente activador de azol es cualquier compuesto que contiene azol de la Fórmula IX dada que, cuando se haga reaccionar con un compuesto de Fórmula VII, proporcionará un compuesto de Fórmula VIII en la que E es como se ha descrito anteriormente. Los ejemplos de agentes activadores de azol que pueden usarse en la presente invención incluyen carbonil diimidazol; tiocarbonil diimidazol; carbonil bis-pirazol, en los que cada pirazol está opcionalmente sustituido con uno a tres grupos alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); carbonil bis-1,2,3-triazol; carbonil bis-benzotriazol, y carbonil bis-1,2,4-triazol. Preferentemente, el agente activador de azol es carbonil diimidazol.

15

El compuesto de Fórmula VIII se aísla opcionalmente antes de la combinación con hidrazina. En una realización, el compuesto de Fórmula VIII no se aísla antes de la combinación con hidrazina. En otra realización, el compuesto de Fórmula VIII se aísla antes de la combinación con hidrazina.

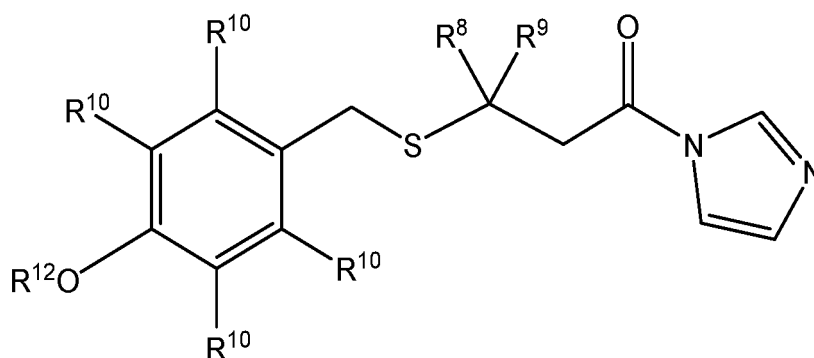
20

Preferentemente, R<sup>16</sup> es -C(=O)OH y el agente activador de azol es carbonil diimidazol.

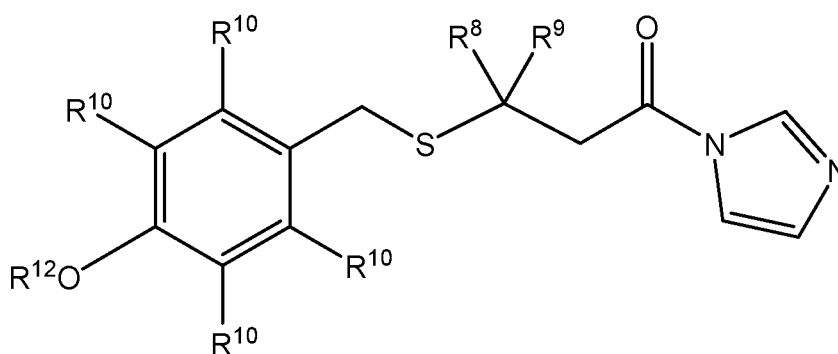
En una realización del presente procedimiento para elaborar un compuesto de Fórmula II, r es 0 y G es oxígeno en el compuesto de Fórmula II. En otra realización del presente procedimiento para elaborar un compuesto de Fórmula II, r es 0 y G es oxígeno en el compuesto de Fórmula II y R<sup>16</sup> en el compuesto de Fórmula VII es -C(=O)OH. En una realización adicional del procedimiento para elaborar un compuesto de Fórmula II, r es 0 y G es oxígeno en el compuesto de Fórmula II, R<sup>16</sup> en la Fórmula VII es -C(=O)OH, y el agente activador de azol es carbonil diimidazol.

25

En otra realización del presente procedimiento para elaborar un compuesto de Fórmula II, el compuesto de Fórmula VIII tiene la estructura:



En una realización adicional del procedimiento para elaborar el compuesto de Fórmula II, el compuesto de Fórmula VIII tiene la estructura:



5 y el agente activador de azol es carbonil diimidazol.

En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula II, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> en el compuesto de Fórmula VII son ambos metilo.

En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula II, el compuesto de Fórmula VII comprende R<sup>16</sup> que es -C(=V)SH y V que es oxígeno o azufre. Se entiende que cuando el compuesto de Fórmula VII comprende R<sup>16</sup> que es -C(=V)SH y V que es oxígeno, dicho compuesto de Fórmula VII puede existir en una forma tautomérica que es el mismo compuesto de Fórmula VII, pero en la que R<sup>16</sup> es -(C=S)OH. Cuando el compuesto de Fórmula VII comprende R<sup>16</sup> que es -C(=O)SH, y su tautómero, en la que R<sup>16</sup> es -(C=S)OH, el compuesto de Fórmula II del producto resultante comprende G que es oxígeno.

En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula II, el compuesto de Fórmula VII comprende R<sup>16</sup> que es -NH<sub>2</sub>. Cuando el compuesto de Fórmula VII en el procedimiento para sintetizar el compuesto de Fórmula II comprende R<sup>16</sup> que es -NH<sub>2</sub>, r en el compuesto de Fórmula II resultante del procedimiento es 1. En otra realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula II, el procedimiento comprende un compuesto de Fórmula VII en la que R<sup>16</sup> es -NH<sub>2</sub>, y un compuesto de Fórmula IX, en la que V' es oxígeno, el compuesto de Fórmula II resultante de dicho procedimiento comprende r que es 1 y G que es V' (es decir, oxígeno). En otra realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula II, el procedimiento comprende un compuesto de Fórmula VII en la que R<sup>16</sup> es -NH<sub>2</sub>, y un compuesto de Fórmula IX, en la que V' es azufre, el compuesto de Fórmula II resultante de dicho procedimiento comprende r que es 1 y G que es V' (es decir, azufre).

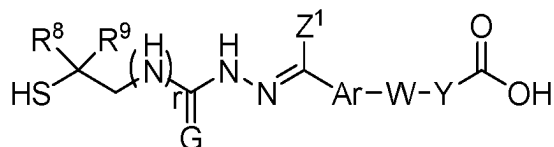
En otra realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula II, el procedimiento comprende un agente activador de azol de Fórmula IX en la que V' es oxígeno. En otra realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula II, el procedimiento comprende un agente activador de azol de Fórmula IX en la que V' es azufre.

En otra realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula II, la hidrazina es hidrazina anhidra. En otra realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula II, la hidrazina es hidrazina monohidrato. En otra realización, la hidrazina es una solución acuosa de hidrazina. En otra realización, la hidrazina es una solución de tetrahidrofurano de hidrazina.

Como se ha explicado anteriormente, los compuestos de Fórmula I son útiles como intermedios para sintetizar intermedios enlazadores y derivados de calicheamicina que comprenden dichos grupos intermedios enlazadores. Por consiguiente, la presente invención proporciona un procedimiento para sintetizar compuestos de Fórmula IV, que también son útiles como intermedios para sintetizar intermedios enlazadores y derivados de calicheamicina que comprenden dichos grupos intermedios enlazadores. En una realización, la presente invención proporciona un



procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula IV



Fórmula IV

5 en la que R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

r es un número entero seleccionado de 0 y 1;

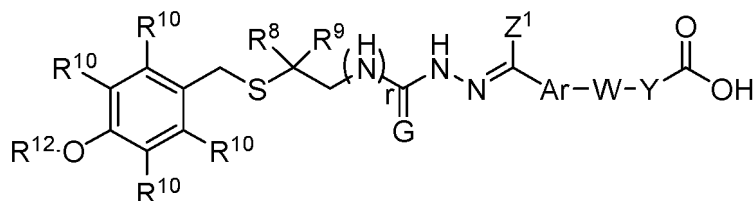
G es oxígeno o azufre;

10 Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

15 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

20 W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); e Y es un grupo alquilenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquenileno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada, cuyo procedimiento comprende tratar un compuesto de Fórmula I



Fórmula I

25 en la que R<sup>12</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada;

cada R<sup>10</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, R<sup>12</sup> y -OR<sup>12</sup>;

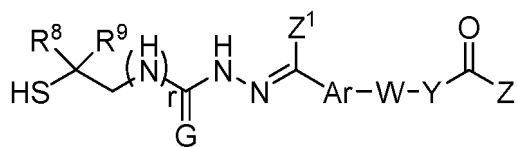
y R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, r, G, Z<sup>1</sup>, Ar, W, e Y son como se definen;

30 con un ácido fuerte para formar una mezcla que comprende el compuesto de Fórmula IV. El ácido fuerte usado en el procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula IV puede determinarse por un experto en la técnica, ya que es cualquier ácido que elimine el grupo fenil-metileno sustituido del átomo de azufre, dando como resultado el compuesto de Fórmula IV. En una realización, el ácido fuerte usado en el procedimiento de la invención para sintetizar el compuesto de Fórmula IV se selecciona de ácido trifluoroacético, ácido sulfúrico, ácido tríflico, HCl, HBr, HI. En una realización del procedimiento para sintetizar el compuesto de Fórmula IV, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son metilo, r es 0, G es oxígeno, Z<sup>1</sup> es metilo, Ar es 1,4-fenileno, W es -O-, e Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-. En otra realización del procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula IV, cada R<sup>10</sup> es hidrógeno. En otra realización del procedimiento para sintetizar el compuesto de Fórmula IV, cada R<sup>10</sup> es hidrógeno y R<sup>12</sup> es metilo.

En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula IV, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> en el compuesto de Fórmula I son ambos metilo.

40 En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula IV, r en el compuesto de Fórmula I es 0. En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula IV, r en el compuesto de Fórmula I es 0 y G es oxígeno. En otra realización de la invención para sintetizar un compuesto de Fórmula IV, r en el compuesto de Fórmula I es 0 y G es azufre.

45 La invención también proporciona un procedimiento para sintetizar un intermedio enlazador de Fórmula V usando los intermedios de Fórmula I y los intermedios de Fórmula IV. La invención en una realización proporciona un procedimiento para sintetizar un intermedio enlazador de Fórmula V



Fórmula V

5 en la que R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

r es un número entero seleccionado de 0 y 1;

G es oxígeno o azufre;

Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

10 Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

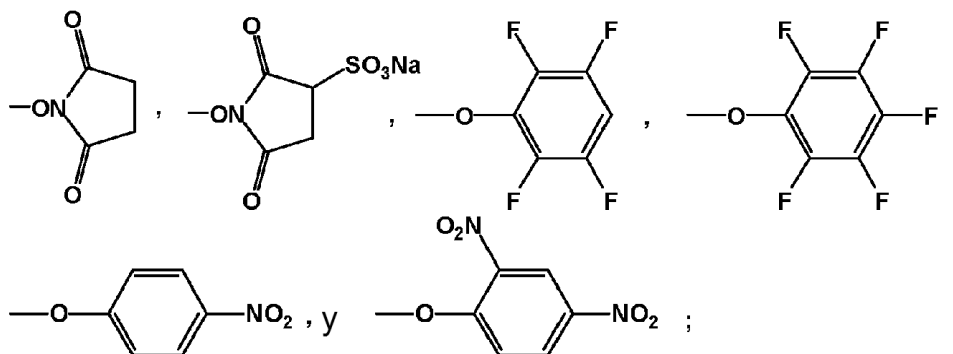
15 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

20 W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

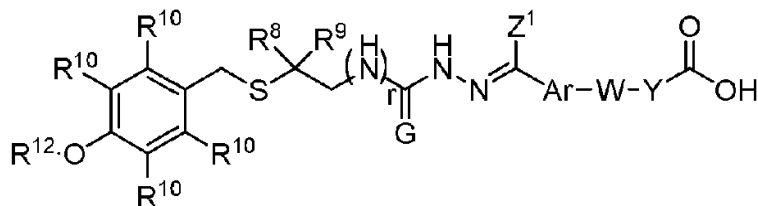
Y es un grupo alquileno (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquenileno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada; y

Z se selecciona del grupo que consiste en



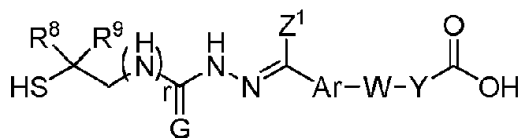
25 cuyo procedimiento comprende

a) tratar un compuesto de Fórmula I



Fórmula I

en la que R<sup>12</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, y cada R<sup>10</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, R<sup>12</sup> y -OR<sup>12</sup>; con un ácido fuerte para formar una mezcla que comprende un compuesto de Fórmula IV



Fórmula IV

5 y

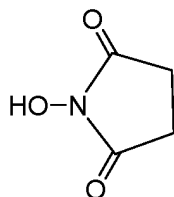
b) hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IV con un compuesto ZH;

sintetizando de este modo el intermediario enlazador de Fórmula V. En una realización del procedimiento de sintetizar los intermediarios enlazadores de Fórmula V, el ácido fuerte es ácido trifluoroacético o ácido sulfúrico.

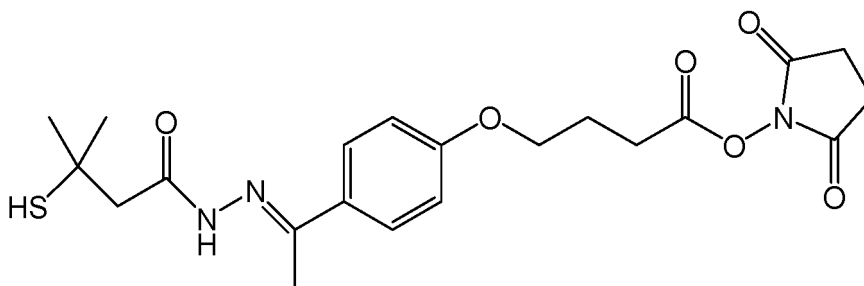
10 En otra realización de la invención para sintetizar un intermedio enlazador de Fórmula V, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> en el compuesto de Fórmula I son ambos metilo.

En otra realización de la invención para sintetizar un intermedio enlazador de Fórmula V, r en el compuesto de Fórmula I es 0. En otra realización de la invención para sintetizar un intermedio enlazador de Fórmula V, r en el compuesto de Fórmula I es 0 y G es oxígeno. En otra realización de la invención para sintetizar un intermedio enlazador de Fórmula V, r en el compuesto de Fórmula I es 0 y G es azufre.

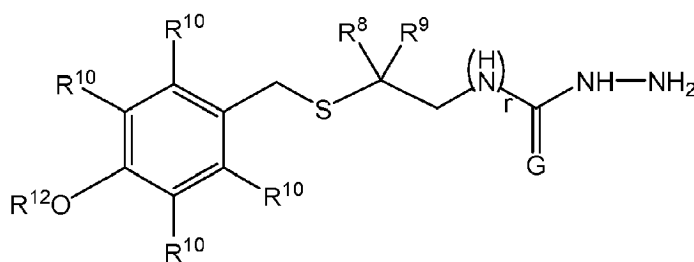
15 En otra realización del procedimiento para sintetizar los intermediarios enlazadores de Fórmula V, ZH es



En otra realización del procedimiento para sintetizar el intermedio enlazador de Fórmula V, el intermedio enlazador es un compuesto que tiene la estructura

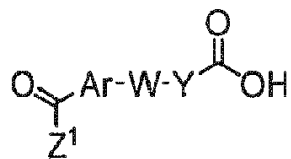


20 En otra realización del procedimiento para sintetizar los intermediarios enlazadores de Fórmula V, el compuesto de Fórmula I usado en el procedimiento se obtiene haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula II



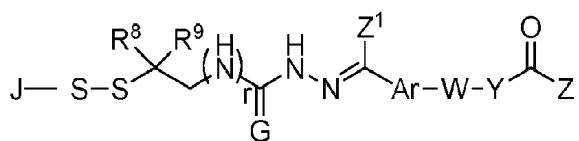
Fórmula II

con un compuesto de Fórmula III



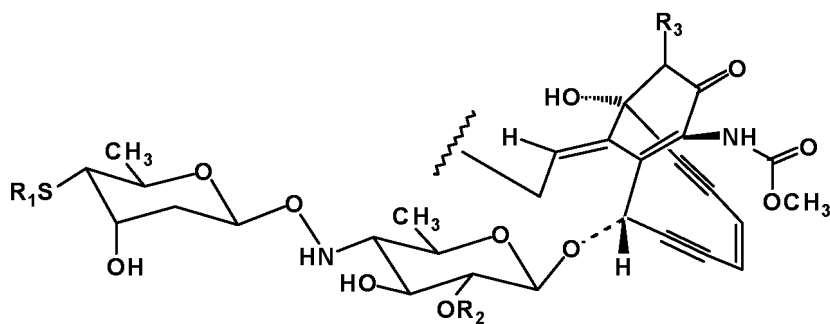
Fórmula III

5 Como se explica, los intermediarios enlazadores son útiles para preparar derivados de calicheamicina que comprenden dichos grupos intermedios enlazadores. Los derivados de calicheamicina pueden a su vez conjugarse con biomacromoléculas tales como anticuerpos monoclonales. Por consiguiente, los compuestos de Fórmula I y los procedimientos de síntesis descritos en el presente documento son útiles para preparar dichos derivados de calicheamicina. Por lo tanto, la presente invención proporciona un procedimiento para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI

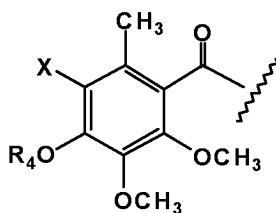


Fórmula VI

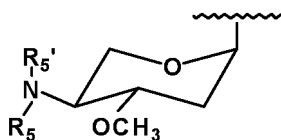
10 en la que J es



R<sub>1</sub> es



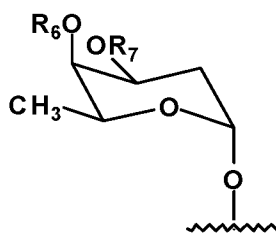
o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es



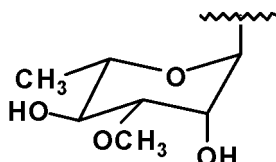
15

o H;

R<sub>3</sub> es



o H; R<sub>4</sub> es



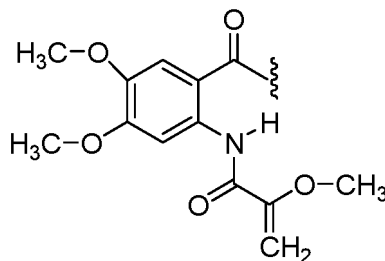
o H;

5 R<sup>5</sup> es -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, o -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

X es un átomo de yodo o bromo;

R<sup>5</sup> es un hidrógeno o el grupo RCO, en el que R es hidrógeno, alquilo ramificado o no ramificado de 1 a 10 átomos de carbono, alquileo de 2 a 10 átomos de carbono, arilo de 6 a 11 átomos de carbono, un grupo aril (C<sub>6</sub>-C<sub>11</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>), o un grupo heteroarilo o heteroaril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) en el que heteroarilo se define como 2- o 3-furilo, 2- o 3-tienilo, 2- o 3-(N-metilpirrolilo), 2-, 3-, o 4-piridinilo, 2-, 4-, o 5-(N-metilimidazolilo), 2-, 4- o 5-oxazolilo, 2-, 3-, 5-, o 6-pirimidinilo, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-quinolilo, o 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-isoquinolilo, todos los grupos arilo y heteroarilo opcionalmente sustituidos con uno o más hidroxilo, amino, carboxi, halo, nitro, alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), o tioalcoxi de 1 a 5 átomos de carbono;

R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> se seleccionan cada uno independientemente de H y



15 R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

20 r es un número entero 0 o 1;

G es oxígeno o azufre;

Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

25 Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

30 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

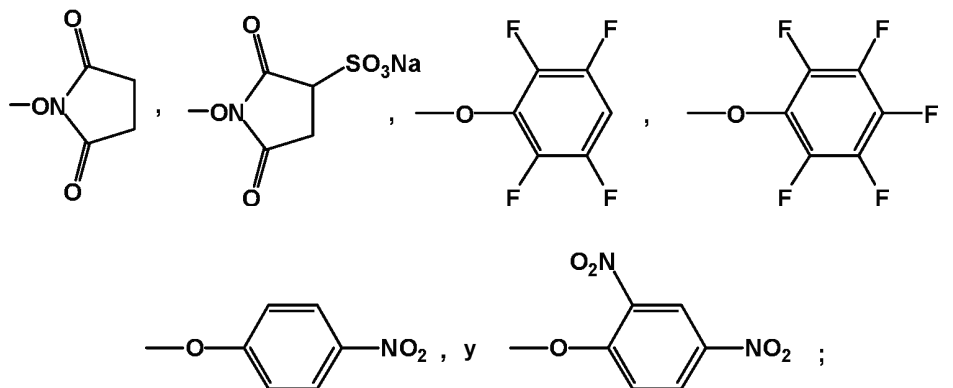
cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está

sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

Y es un grupo alquilenno (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquenileno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada; y

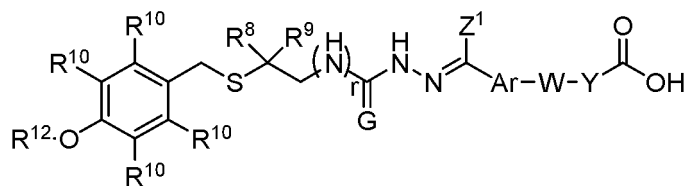
Z se selecciona del grupo que consiste en



5

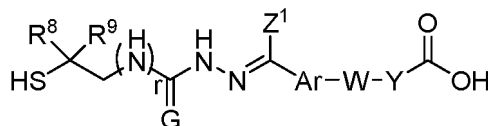
cuyo procedimiento comprende

a) tratar un compuesto de Fórmula I



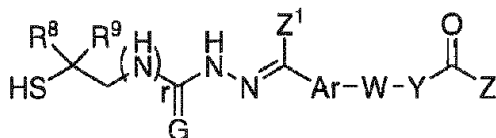
Fórmula I

10 en la que R<sup>12</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal o ramificada, y cada R<sup>10</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, R<sup>12</sup> y -OR<sup>12</sup>; con un ácido fuerte para formar una mezcla que comprende un compuesto de Fórmula IV



Fórmula IV

15 b) hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IV con un compuesto ZH; para formar un intermedio enlazador de Fórmula V



Fórmula V ;

y

20 c) hacer reaccionar el intermedio enlazador de Fórmula V resultante de la etapa (b) con un compuesto de trisulfuro de metilo CH<sub>3</sub>-S-S-S-J;

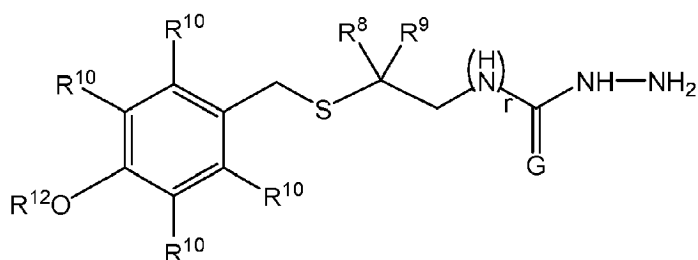
sintetizando así un derivado de calicheamicina de Fórmula VI. En una realización del procedimiento para sintetizar el derivado de calicheamicina de Fórmula VI, el ácido fuerte es ácido sulfúrico o ácido trifluoroacético. En otra realización del procedimiento para sintetizar el derivado de calicheamicina de Fórmula VI, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son metilo, r es 0, G es oxígeno, Z<sup>1</sup> es metilo, Ar es 1,4-fenileno, W es -O-, e Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>. En otra realización del procedimiento para

sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI, cada R<sup>10</sup> es hidrógeno. En otra realización del procedimiento para sintetizar el derivado de calicheamicina de Fórmula VI, cada R<sup>10</sup> es hidrógeno y R<sup>12</sup> es metilo.

En otra realización de la invención para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI, R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> en el compuesto de Fórmula I son ambos metilo.

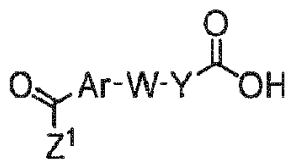
- 5 En otra realización de la invención para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI, r en el compuesto de Fórmula I es 0. En otra realización de la invención para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI, r en el compuesto de Fórmula I es 0 y G es oxígeno. En otra realización de la invención para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI, r en el compuesto de Fórmula I es 0 y G es azufre.

- 10 En otra realización del procedimiento para sintetizar el derivado de calicheamicina de Fórmula VI, el compuesto de Fórmula I se obtiene haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula II



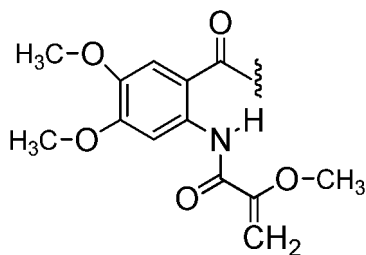
Fórmula II

con un compuesto de Fórmula III



Fórmula III

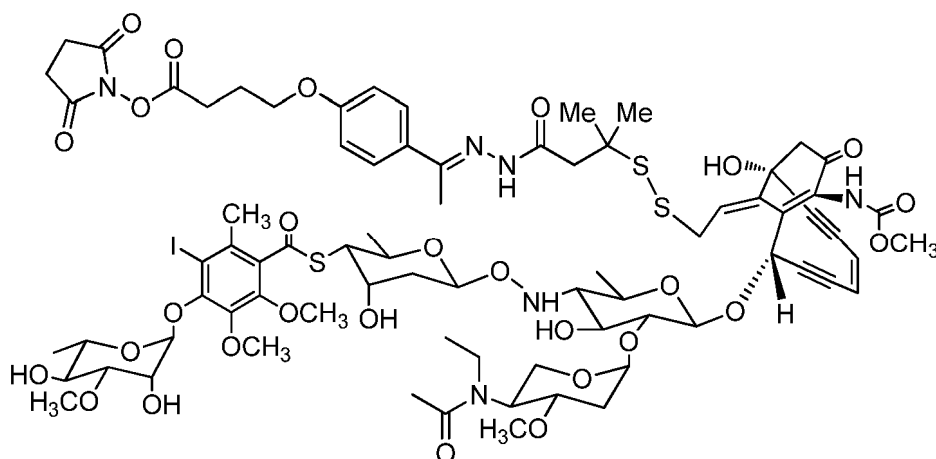
- 15 En otra realización del procedimiento para sintetizar el derivado de calicheamicina de Fórmula VI, uno de R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> es hidrógeno y el otro de R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> es



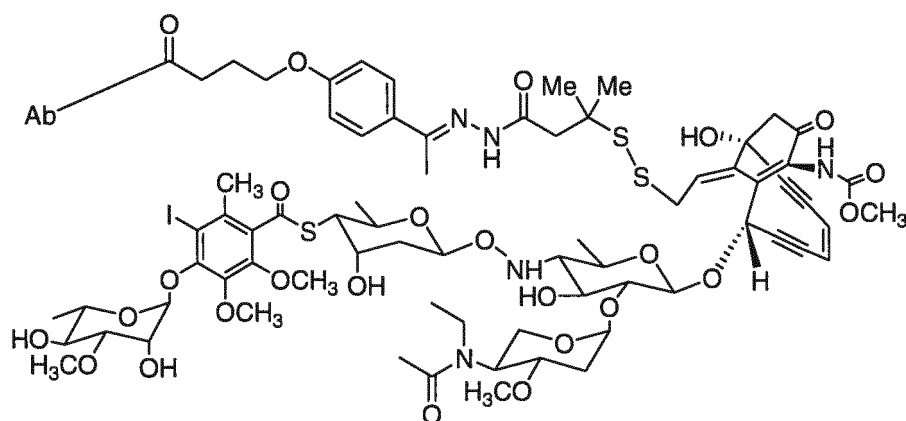
- 20 En una realización de los intermedios de Fórmula I y los procedimientos de síntesis de la presente invención, Z<sup>1</sup> es metilo. En otra realización de los intermedios y los procedimientos de síntesis de la presente invención, r es 0 y G es oxígeno. En otra realización de los intermedios y los procedimientos de síntesis de la presente invención, Z<sup>1</sup> es metilo, r es 0 y G es oxígeno.

En otra realización de los procedimientos de síntesis de la presente invención, J es un resto de ozogamicina.

En otra realización de los procedimientos de síntesis de la presente invención, el derivado de calicheamicina de Fórmula VI tiene la estructura



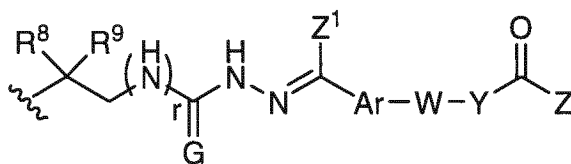
Los derivados de calicheamicina de Fórmula VI sintetizados a partir de los procedimientos de la presente invención pueden conjugarse con una biomacromolécula, por ejemplo, con un anticuerpo monoclonal. Los derivados de calicheamicina de Fórmula VI sintetizados a partir de los procedimientos de la presente invención pueden conjugarse, por ejemplo, con el anticuerpo monoclonal anti-CD22 inotuzumab (un anticuerpo que se une específicamente al antígeno CD22 expresado sobre la superficie de ciertas células cancerosas) o con el anticuerpo anti-CD33 gemtuzumab (un anticuerpo que se dirige específicamente al antígeno anti-CD33 expresado sobre la superficie de ciertas células cancerosas). Los derivados de calicheamicina de Fórmula VI sintetizados a partir de los procedimientos de la presente invención, cuando se conjugan con un anticuerpo monoclonal, en una realización tienen la estructura:



en la que Ab es un anticuerpo monoclonal. Los ejemplos del anticuerpo monoclonal Ab incluyen, pero sin limitación, gemtuzumab e inotuzumab.

Los términos usados en esta memoria descriptiva generalmente tienen sus significados ordinarios en la técnica, dentro del contexto de la invención, y en el contexto específico en el que se usa cada término.

El término "derivado de calicheamicina", como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere a un derivado de un compuesto de fórmula  $\text{CH}_3\text{-S-S-S-J}$ , en la que J es como se define en el presente documento, cuyo derivado comprende un resto de calicheamicina  $\text{-S-S-J}$  unido a un grupo intermedio enlazador:



en la que  $\text{R}^8$ ,  $\text{R}^9$ , r, G,  $\text{Z}^1$ , Ar, W, Y y Z son como se definen en el presente documento. El derivado de calicheamicina se puede conjugar adicionalmente (es decir, unirse covalentemente), en el extremo que contiene el resto  $\text{-C(=O)Z}$ , con una biomacromolécula, tal como un anticuerpo monoclonal. Los ejemplos de compuestos de fórmula  $\text{CH}_3\text{-S-S-S-J}$  se describen, por ejemplo, en la Pat. de EE.UU. N.º 4.970.198 y la Pat. de EE.UU. N. 5.053.394.

Un ejemplo de un compuesto  $\text{CH}_3\text{-S-S-S-J}$  en la calicheamicina ozogamicina.



El término "intermedio enlazador", como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, se refiere a aquellas moléculas aisladas de Fórmula V descritas en el presente documento, que pueden unirse covalentemente en un extremo de las mismas a una molécula de fórmula CH<sub>3</sub>-S-S-J, y que tienen un grupo funcional en el otro extremo (el extremo -C(=O)Z) al que se puede unir covalentemente una biomacromolécula, tal como un anticuerpo monoclonal. Los intermedios enlazadores aislados son útiles como componentes para elaborar derivados de calicheamicina y calicheamicina unida a una biomacromolécula, tal como un anticuerpo monoclonal.

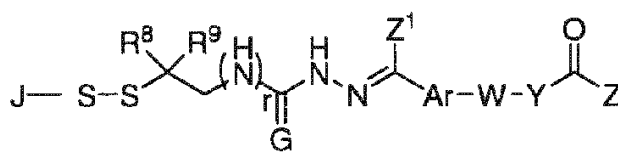
A menos que se indique lo contrario, el término "alquilo" por sí mismo, o como parte de otro término, se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene el número indicado de átomos de carbono (por ejemplo, alquilo "C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>" se refiere a un alquilo grupo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono). Cuando la cantidad de átomos de carbono no está indicada, el grupo alquilo tiene de 1 a 8 átomos de carbono. Los alquilos C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal representativos incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, *n*-propilo, *n*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, *n*-heptilo y *n*-octilo; mientras que los alquilos C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> ramificados incluyen, pero sin limitación, -isopropilo, -sec-butilo, -isobutilo, -*terc*-butilo, -isopentilo, y -2-metilbutilo.

A menos que se indique lo contrario, "alquilenilo", por sí mismo o como parte de otro término, se refiere a un radical hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada del número indicado de átomos de carbono, que tiene dos centros de radicales monovalentes derivados de la eliminación de dos átomos de hidrógeno de los mismos o diferentes átomos de carbono de un alcano original. En una realización, "alquilenilo" se refiere a un radical alquilenilo saturado de cadena ramificada o lineal del número indicado de átomos de carbono que tiene dos centros radicales monovalentes. Los radicales alquilenilo típicos incluyen, pero sin limitación: metileno (-CH<sub>2</sub>-), 1,2-etileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 1,3-propileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-), 1,4-butileno (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-) y similares. El término "alquenileno" se refiere a un radical hidrocarburo de cadena ramificada o lineal del número indicado de átomos de carbono, pero que tiene al menos dos átomos de carbono conectados por un doble enlace, en el que el radical tiene dos centros de radicales monovalentes derivados de la eliminación de dos átomos de hidrógeno de dos átomos de carbono diferentes de un alcano original. En una realización, "alquenileno" se refiere a un radical de cadena ramificada o lineal del número indicado de átomos de carbono, pero que tiene al menos dos átomos de carbono conectados por un doble enlace, en los que el radical tiene dos centros de radicales monovalentes. Los ejemplos de radicales alquenileno incluyen, pero sin limitación, -CH=CH-, -CH<sub>2</sub>CH=CH-, y -CH(CH<sub>3</sub>)CH=CH.

A menos que se indique lo contrario, "arilo", por sí mismo o como parte de otro término, significa un radical hidrocarburo aromático carbocíclico de 6-20, preferentemente 6-14, átomos de carbono derivados de la eliminación de un átomo de hidrógeno de cada uno de uno o más átomos de carbono de un sistema anular aromático original. Los grupos arilo típicos incluyen, pero sin limitación, radicales derivados de benceno, naftaleno, antraceno, bifenilo y similares. Si se indica, un grupo arilo en el presente documento puede estar opcionalmente sustituido. El término "arileno" se refiere a un radical divalente derivado de un grupo arilo como se define en el presente documento.

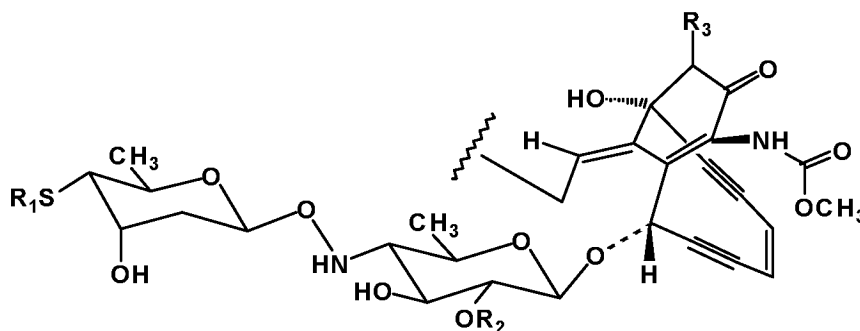
"Halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

La presente invención también proporciona un procedimiento para sintetizar un derivado de calicheamicina de

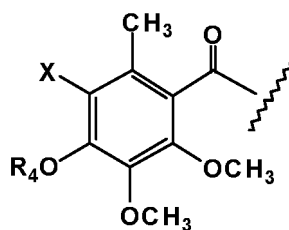


Fórmula VI

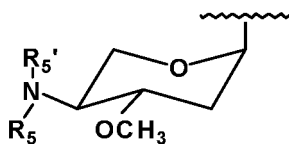
en la que J es



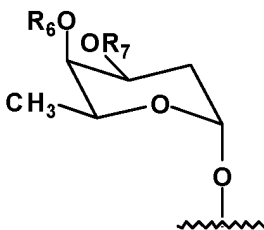
40 R<sub>1</sub> es



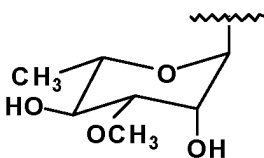
o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es



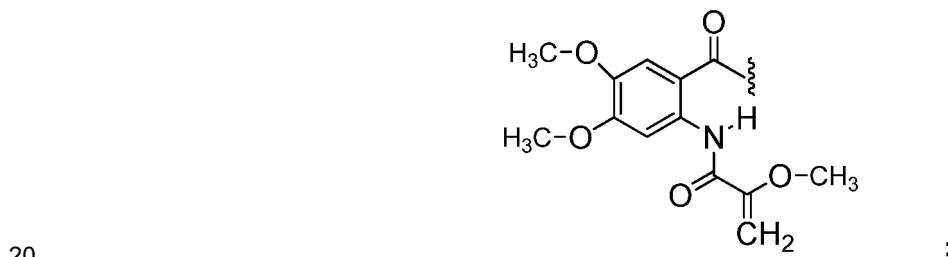
5 o H;  
R<sub>3</sub> es



o H; R<sub>4</sub> es

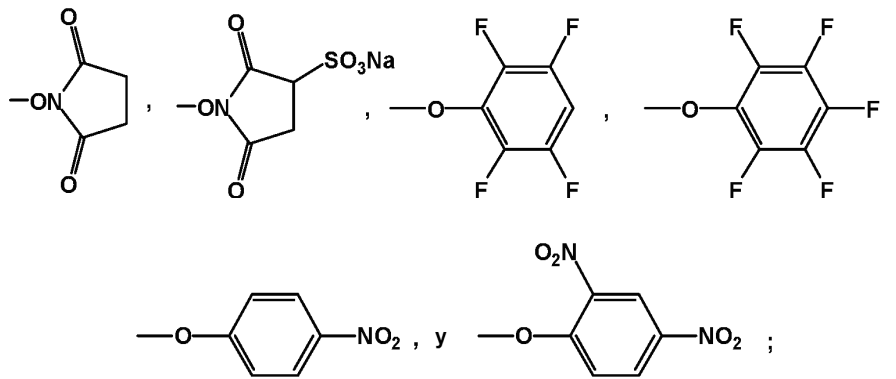


10 o H;  
R<sup>5</sup> es -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, o -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;  
X es un átomo de yodo o bromo;  
R<sup>5'</sup> es un hidrógeno o el grupo RCO, en el que R es hidrógeno, alquilo ramificado o no ramificado de 1 a 10 átomos de carbono, alquilenos de 2 a 10 átomos de carbono, arilo de 6 a 11 átomos de carbono, un grupo aril (C<sub>6</sub>-C<sub>11</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>), o un grupo heteroarilo o heteroaril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) en el que heteroarilo se define como 2- o 3-furilo, 2- o 3-tienilo, 2- o 3-(N-metilpirrolilo), 2-, 3-, o 4-piridinilo, 2-, 4-, o 5-(N-metilimidazolilo), 2-, 4- o 5-oxazolilo, 2-, 3-, 5-, o 6-pirimidinilo, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-quinolilo, o 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-isoquinolilo, todos los grupos arilo y heteroarilo opcionalmente sustituidos con uno o más hidroxilo, amino, carboxi, halo, nitro, alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), o tioalcoxi de 1 a 5 átomos de carbono;  
R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> se seleccionan cada uno independientemente de H y

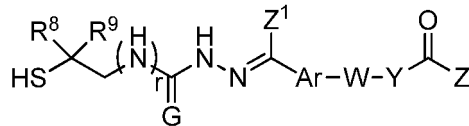


25 R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;  
r es un número entero 0 o 1;  
G es oxígeno o azufre;  
Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;  
Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados

independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>; en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5; W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); Y es un grupo alquilenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquenileno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada; y Z se selecciona del grupo que consiste en



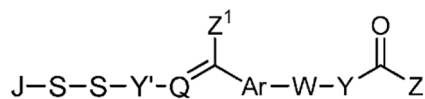
15 cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar un intermedio enlazador de Fórmula V



Fórmula V

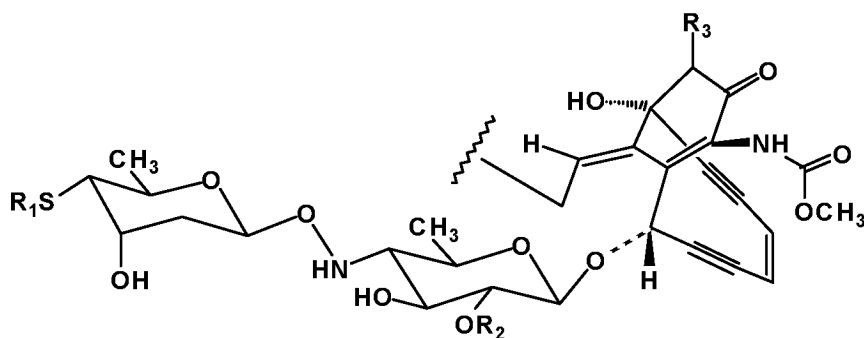
con un compuesto de trisulfuro de metilo CH<sub>3</sub>-S-S-S-J, en presencia de una carbodiimida; sintetizando así un derivado de calicheamicina de Fórmula VI.

20 La presente invención también proporciona un procedimiento para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula X

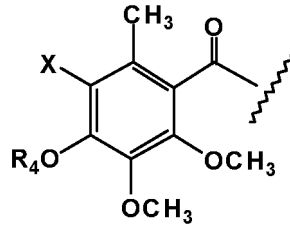


Fórmula X

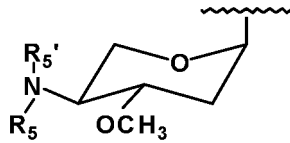
en la que J es



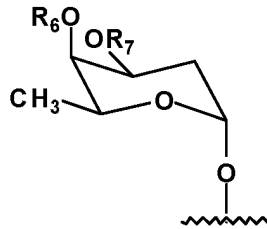
R<sub>1</sub> es



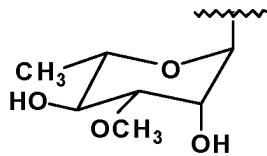
o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es



5 o H;  
R<sub>3</sub> es



o H; R<sub>4</sub> es



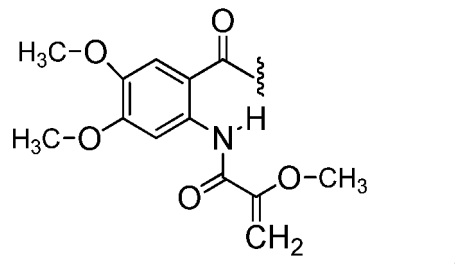
10 o H;

R<sup>5</sup> es -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, o -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

X es un átomo de yodo o bromo;

R<sup>5'</sup> es un hidrógeno o el grupo RCO, en el que R es hidrógeno, alquilo ramificado o no ramificado de 1 a 10 átomos de carbono, alquileo de 2 a 10 átomos de carbono, arilo de 6 a 11 átomos de carbono, un grupo aril (C<sub>6</sub>-C<sub>11</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>), o un grupo heteroarilo o heteroaril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) en el que heteroarilo se define como 2- o 3-furilo, 2- o 3-tienilo, 2- o 3-(N-metilpirrolilo), 2-, 3-, o 4-piridinilo, 2-, 4-, o 5-(N-metilimidazolilo), 2-, 4- o 5-oxazolilo, 2-, 3-, 5-, o 6-pirimidinilo, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-quinolilo, o 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-isoquinolilo, todos los grupos arilo y heteroarilo opcionalmente sustituidos con uno o más hidroxilo, amino, carboxilo, halo, nitro, alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), o tioalcoxi de 1 a 5 átomos de carbono;

20 R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> se seleccionan cada uno independientemente de H y



25 Y' es un grupo alquileo (C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>) de cadena lineal o ramificada, un grupo alquenileno (C<sub>2</sub>-C<sub>18</sub>) de cadena lineal o ramificada, un grupo arileno, o un grupo heteroarileno, un grupo arileno alquileo (C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>), un grupo arileno alquenileno (C<sub>2</sub>-C<sub>18</sub>), un grupo heteroarileno alquileo (C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>), o un grupo heteroarileno alquenileno (C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>), en el que dicho grupo heteroarileno es un radical divalente derivado de furilo, tienilo, N-metilpirrolilo, piridinilo, N-metilimidazolilo, oxazolilo, pirimidinilo, quinolilo, isoquinolilo, N-metilcarbazolilo, aminocoumarinilo, o fenazinilo, y en el que dicho Y' puede estar opcionalmente sustituido por dialquilamino de 1 a 5 átomos de carbono, alcoxi de

1 a 5 átomos de carbono, hidroxilo, -SH, o alquilo de 1 a 5 átomos de carbono;

Q se selecciona de -C(=O)NHN=, -C(=S)NHN=, -NHC(=O)NHN=, -NHC(=S)NHN=, y -O-N=;

Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

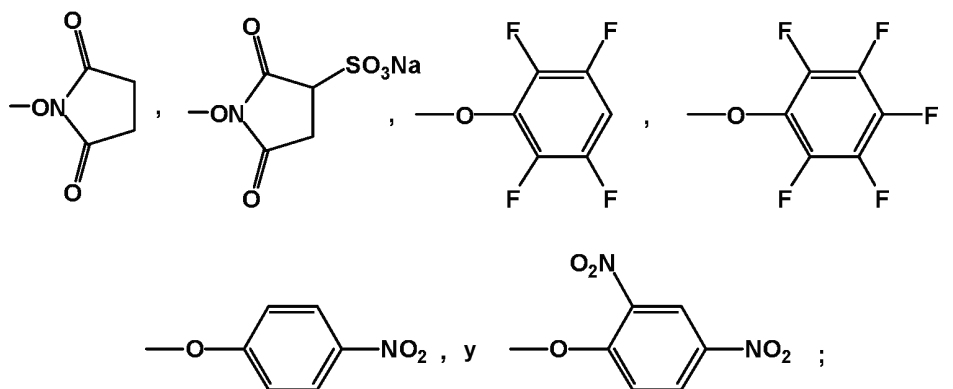
5 Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

10 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

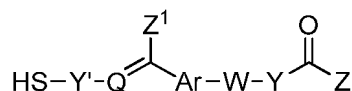
W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

15 Y es un grupo alquilenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquilenilo (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada; y

Z se selecciona del grupo que consiste en



cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar un intermedio enlazador de Fórmula XI

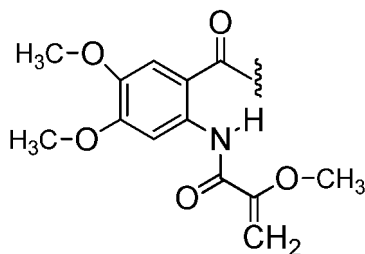


20

Fórmula XI

con un compuesto de trisulfuro de metilo CH<sub>3</sub>-S-S-S-J, en presencia de una carbodiimida; sintetizando así un derivado de calicheamicina de Fórmula X.

25 En una realización de este procedimiento para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X en presencia de una carbodiimida, uno de R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> es hidrógeno y el otro de R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> es



30

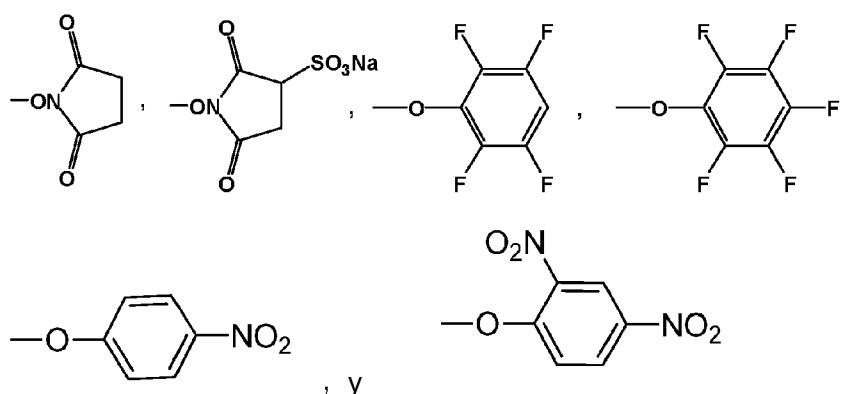
En otra realización del procedimiento de la presente invención para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X, el trisulfuro de metilo tiene una concentración inicial en dicha reacción con el intermedio enlazador de Fórmula V (o de Fórmula XI como puede ser el caso) mayor de aproximadamente 3 g/l de la mezcla de reacción. En otra realización, el compuesto de trisulfuro de metilo tiene una concentración inicial en dicha reacción con el intermedio enlazador de Fórmula V (o de Fórmula XI según sea el caso) de entre aproximadamente 10 g/L y 110 g/l de la mezcla de reacción.

En otra realización de este procedimiento para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X, la carbodiimida es 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida. La carbodiimida en este procedimiento de la

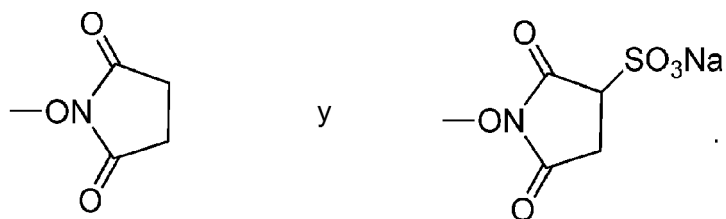
invención para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X puede ser cualquier molécula que contenga un resto carbodiimida, y dichas moléculas se conocen en la técnica. Ejemplos de carbodiimidas que se pueden usar en la presente invención incluyen, pero sin limitación, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC); N,N'-diciclohexil carbodiimida (DCC); N,N'-diisopropil carbodiimida (DIC); N-ciclohexil-N'-(2-morfolinoetil)carbodiimida; tosilato de N-ciclohexil-N'-[2-(4-metilmorfolin-4-ilo-4-il)etil]carbodiimida; tosilato de N-ciclohexil-N'-[4-(diethylmetilamonio)ciclohexil] carbodiimida; N,N'-bis(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metil]carbodiimida; y N-bencil-N'-isopropilcarbodiimida. Los expertos en la técnica pueden determinar otras carbodiimidas adecuadas para emplear en los procedimientos de la presente invención.

La presente invención también proporciona un procedimiento para purificar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o un derivado de calicheamicina de Fórmula X, en el que la Fórmula VI y la Fórmula X son como se han definido anteriormente en el presente documento, que comprende someter un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o un derivado de calicheamicina de Fórmula X a un protocolo de purificación por cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa (RP-HPLC). Es sorprendente que se pueda usar un protocolo de purificación de fase inversa para purificar las moléculas derivadas de calicheamicina de Fórmula VI o Fórmula X, considerando que estos compuestos tienen dos grupos lábiles al agua, concretamente, un grupo hidrazona y un grupo éster de N-hidroxisuccinimida (NHS), teniendo cada grupo una dependencia de pH diferente para su hidrólisis. Sin embargo, el uso de la purificación de fase inversa es ventajoso en relación con la purificación por cromatografía en fase normal descrita en la técnica anterior (véase la Pat. de EE.UU. N.º 8.273.862), porque la cromatografía en fase normal usa un disolvente tóxico y no respetuoso con el medio ambiente, tal como cloruro de metileno y metanol. El protocolo de cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa (RP-HPLC) implica el uso de una fase estacionaria C-18 que une los componentes de la mezcla de reacción. Estos componentes se eluyen y se separan usando un gradiente que consiste en fases móviles acuosas y orgánicas que varían en un pH de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 para una estabilidad óptima de los dos grupos hidrolizables presentes. En una realización, el gradiente comprende al menos dos fases. En otra realización, el gradiente comprende 1, 2, 3, 4 o 5 fases. En otra realización, el gradiente comprende 2 o 3 fases. En otra realización, el gradiente comprende 2 fases. Cada fase puede ser orgánica, acuosa, o una combinación de los mismos. El gradiente se mueve a través del tiempo desde la calidad acuosa hasta el aumento de la calidad orgánica. Las fases acuosas conocidas en la técnica pueden usarse en la presente invención. Los ejemplos de fases acuosas que pueden usarse en la presente invención incluyen, pero sin limitación, acetato sódico (NaOAc), succinato sódico, N-metilmorfolina, citrato sódico, y ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico. Las fases orgánicas conocidas en la técnica pueden usarse en la presente invención. Los ejemplos de fases orgánicas que se pueden usar en la presente invención incluyen, pero sin limitación, acetonitrilo, isopropanol, acetona, dimetoxietano, y N-metil-2-pirrolidona. Como se indica, cualquiera de las fases puede comprender una mezcla de calidad acuosa y orgánica, por ejemplo, una mezcla de NaOAc y acetonitrilo. Por ejemplo, una fase móvil que consiste en el 55 % de acetato de sodio 20 mM, a pH 5 y el 45 % de acetonitrilo es una fase móvil acuosa/orgánica que puede usarse para la purificación por RP-HPLC para la invención. Como ejemplo adicional, un ejemplo de un gradiente útil en la presente invención es un gradiente que comprende una primera fase móvil que consiste en el 55 % de acetato de sodio 20 mM, a pH 5, y el 45 % de acetonitrilo, seguido de una segunda fase móvil que consiste en acetonitrilo.

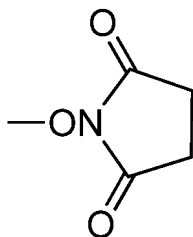
En una realización del procedimiento para purificar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X que comprende un protocolo de RP-HPLC, el derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X comprende Z que se selecciona de:



En otra realización del procedimiento para purificar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X que comprende un protocolo de RP-HPLC, el derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X comprende Z que se selecciona de:



En otra realización del procedimiento para purificar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X que comprende un protocolo de RP-HPLC, el derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X comprende Z que es:



5

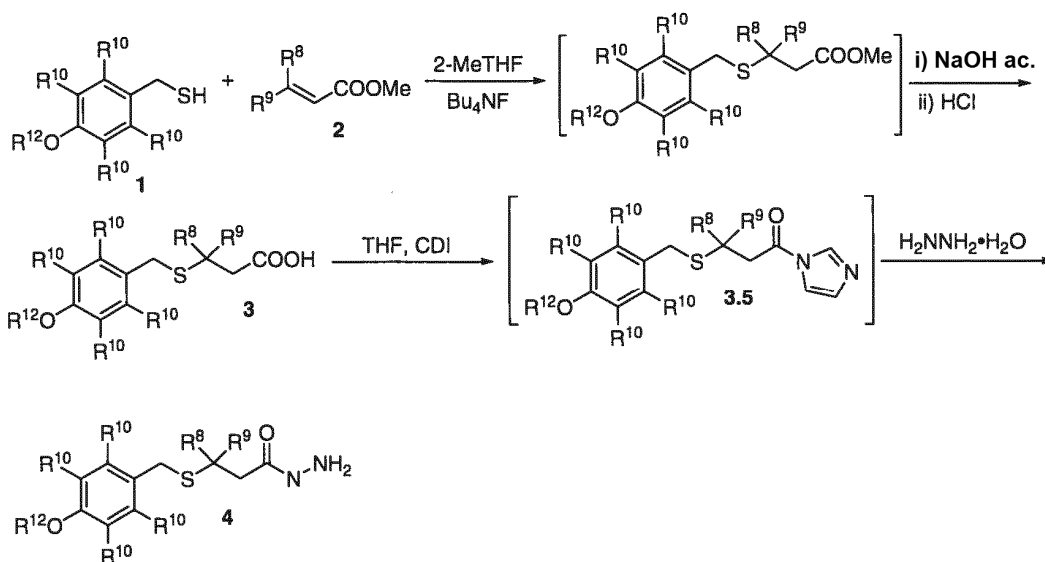
Después de la purificación de fase inversa, el derivado de calicheamicina purificado resultante puede aislarse como se describe en la técnica, por ejemplo, mediante concentración y reparto, o el derivado de calicheamicina purificada puede aislarse usando un protocolo de extracción en fase sólida (SPE). Se identificó un protocolo de extracción en fase sólida como un reemplazo eficiente para el reparto de diclorometano para el aislamiento del producto a partir de fracciones RP-HPLC. En una extracción en fase sólida, el producto se une a una resina en fase inversa mediante la carga en un disolvente débil, se lava para eliminar las sales de tampón (que quedan de la purificación por RP-HPLC), y después se eluye con disolventes orgánicos, tal como acetonitrilo, proporcionando una solución de producto concentrado libre o sustancialmente libre de sales.

Por lo tanto, realizaciones adicionales de cualquiera de los procedimientos de la invención descritos en el presente documento para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o de Fórmula X, comprenden además purificar el derivado de calicheamicina sintetizado de Fórmula VI o Fórmula X por sometimiento a un protocolo de purificación de fase inversa. En realizaciones adicionales de la invención, un derivado de calicheamicina de Fórmula VI o Fórmula X resultante de un protocolo de purificación de fase inversa se somete posteriormente a un protocolo de extracción en fase sólida.

20 **Descripción detallada de la invención**

El procedimiento de la presente invención para sintetizar un intermedio enlazador de Fórmula V se describe en los siguientes Esquemas de reacción I-IV. En las fórmulas químicas en los Esquemas I-IV, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>12</sup>, Q, Ar, W, Y, Z<sup>1</sup>, y Z son como se han definido anteriormente en el presente documento.

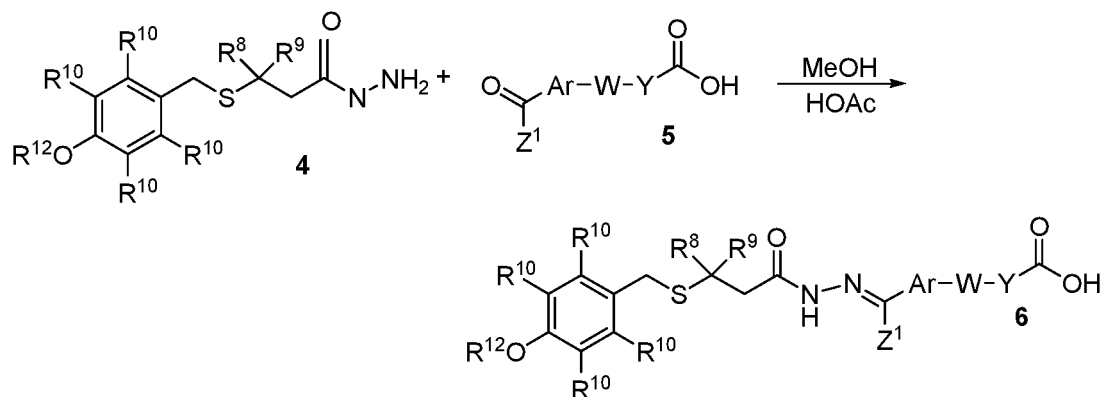
Esquema I



25

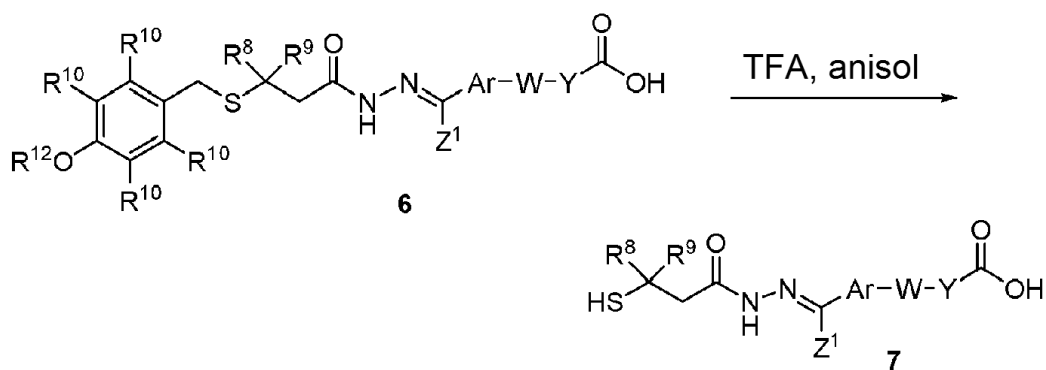
Haciendo referencia al Esquema I, un (4-alcóxifenil)metanotiol 1 en el que R<sup>12</sup> es como se describe en el presente documento, se hace reaccionar con senecioato de metilo 2 para producir el compuesto intermedio de ácido carboxílico 3. Después, el intermedio 3 se carga con un disolvente orgánico adecuado tal como tetrahidrofurano y un agente activador de azol de Fórmula IX como se describe en el presente documento, tal como carbonil diimidazol (CDI). Se obtiene el intermedio 3.5. A esta reacción le sigue combinar 3.5 con una hidrazina. La fuente de hidrazina puede ser hidrazina anhidra como se describe en el documento WO 2008/147765; sin embargo, preferentemente, la fuente de hidrazina es hidrazina acuosa, tal como hidrazina monohidrato. Esta reacción produce el compuesto intermedio 4. El compuesto *p*-metoxibenciltioéter hidrazida, que es un compuesto intermedio 4 en el que R<sup>12</sup> es metilo y cada R<sup>10</sup> es hidrógeno, se describe en el documento WO 2008/147765.

10

Esquema II

15

En el Esquema II, el intermedio 4 se hace reaccionar con el compuesto 5 en el que Z<sup>1</sup> es como se describe en el presente documento, por ejemplo, ácido 4-(4-acil-fenoxi)butanoico, en un disolvente inerte (en otras palabras, no reactivo), opcionalmente con un catalizador ácido, para proporcionar el intermedio 6. Los ejemplos de disolventes inertes que pueden usarse en esta reacción incluyen, pero sin limitación, alcoholes (por ejemplo, metanol), éteres y ésteres tales como acetato de etilo. Un experto en la técnica puede determinar un disolvente inerte adecuado para esta reacción. Los catalizadores ácidos también pueden determinarse por un experto en la técnica; los ejemplos de catalizadores ácidos incluyen, pero sin limitación, ácido acético.

Esquema III

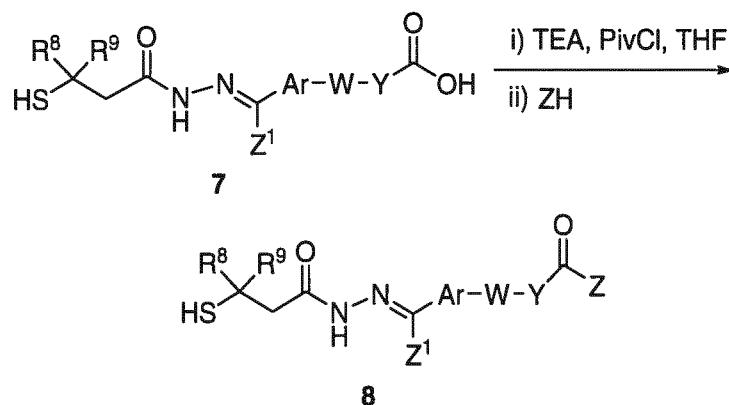
20

En el Esquema III, el compuesto intermedio 6 se desprotege para formar el compuesto 7. En esta reacción, el compuesto 6 se carga con metoxibenceno y un ácido fuerte opcionalmente bajo calor, por ejemplo ácido trifluoroacético bajo calor, produciendo el compuesto intermedio 7. Pueden usarse otros ácidos fuertes en lugar de ácido trifluoroacético, por ejemplo, ácido sulfúrico.

25

Esquema IV





En el Esquema IV, el intermedio 7 se convierte en un compuesto 8, que es una realización del intermedio enlazador de Fórmula V descrito en el presente documento. El intermedio 7 puede convertirse en un intermedio enlazador tal como 8 como se describe en la técnica, tal como en la Patente de EE.UU. 8.273.862. Preferentemente, sin embargo, como se representa en el Esquema IV, el intermedio 7 se hace reaccionar con una base de amina terciaria tal como trietilamina (TEA) y con cloruro de trimetilacetilo (PivCl) en presencia de un disolvente inerte tal como tetrahidrofurano. Posteriormente, se introduce un compuesto de Fórmula ZH, por ejemplo, N-hidroxisuccinimida, para proporcionar el intermedio enlazador 8.

Después de la síntesis del intermedio enlazador intermedio de Fórmula V (tal como un compuesto 8), se sintetiza entonces un derivado de calicheamicina de Fórmula VI usando el intermedio enlazador de la reacción del Esquema IV y los procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, como se describe en la Patente de EE.UU. N.º 8.273.862. Por ejemplo, el intermediario enlazador de Fórmula V se puede hacer reaccionar primero con un carbonato de metal alcalino, que incluye, pero sin limitación, carbonato sódico, formando la sal de sodio del intermediario enlazador en acetonitrilo por calentamiento a reflujo suave. La reacción adicional de la sal sódica del intermedio enlazador con el trisulfuro de metilo CH<sub>3</sub>-S-S-S-J a aproximadamente -15 °C, en un disolvente orgánico inerte, preferentemente acetonitrilo, da el derivado de calicheamicina de Fórmula VI. Se prefiere la reacción en acetonitrilo a aproximadamente 0 °C. Opcionalmente, una base orgánica puede reemplazar el carbonato de metal alcalino que preferentemente incluye trietilamina, en acetonitrilo a aproximadamente 0 °C.

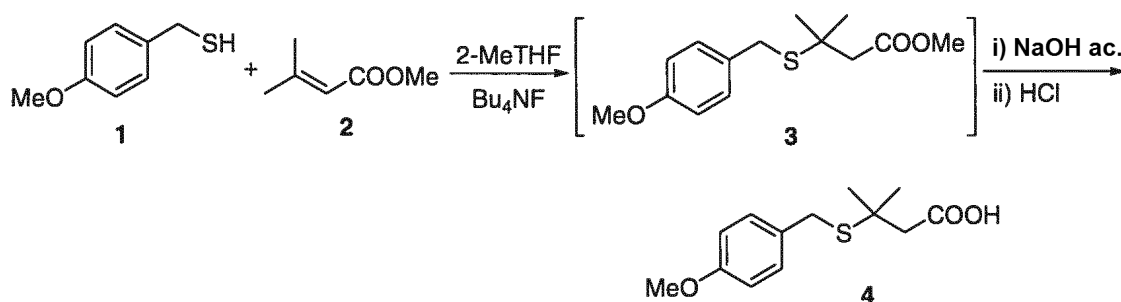
Como alternativa, un derivado de calicheamicina de Fórmula VI puede sintetizarse a partir del intermedio enlazador de Fórmula V por reacción con una molécula de fórmula CH<sub>3</sub>-S-S-S-J usando el procedimiento descrito en el presente documento que comprende una carbodiimida.

El derivado de calicheamicina de Fórmula VI se puede conjugar adicionalmente con una biomacromolécula, tal como un anticuerpo monoclonal, para formar un conjugado anticuerpo-fármaco, usando técnicas descritas en la técnica, por ejemplo, los procedimientos descritos en la Patente de EE.UU. N.º 5.053.394, y en la Patente de EE.UU. N.º 5.770.701.

Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar ciertas realizaciones de la presente invención, pero no deben interpretarse como limitantes del ámbito de la presente invención. Los expertos en la materia comprenderán fácilmente que pueden usarse variaciones conocidas de las condiciones específicas de los siguientes ejemplos.

### Ejemplo 1

#### Ácido 3-(4-metoxibenciltio)-3-metilbutanoico



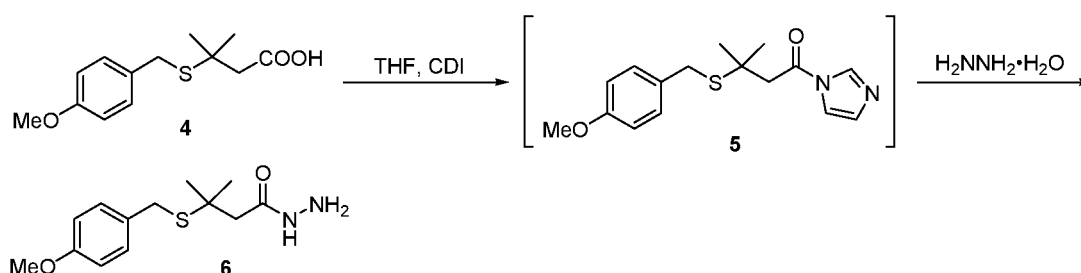
Se añadieron 85 g de **1** y 255 ml de 2-metiltetrahidrofurano a un reactor a 20-25 °C. Se añadieron 125,05 g de **2** al reactor y el reactor se desgasificó mediante burbujeo de una corriente de nitrógeno en la solución agitada durante 15-20 min. Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (1 M en THF, 0,05 equiv., 36,1 ml) al reactor y la reacción se mantuvo a 20-30 °C durante 2 horas.

Se añadió una solución de cloruro de calcio dihidrato (0,35 equiv., 28,060 g) en 255 ml de agua. Después de agitar durante 20 minutos, la fase acuosa inferior se eliminó. A la fase orgánica superior se le añadieron 252 ml de metanol y 3 equiv. de NaOH en 252 ml de agua. La mezcla de reacción se agitó hasta que se observó el consumo completo del intermedio éster (**3**).

- 5 La reacción se enfrió a 15 °C y se añadió 2-metiltetrahidrofurano (252 ml) seguido de 252 ml de agua. Se añadió lentamente HCl concentrado (3,1 equiv., 184 ml), manteniendo la reacción en el intervalo 15-30 °C. La fase acuosa inferior se eliminó. La capa orgánica se lavó con HCl 1 M (252 ml) y se añadieron heptanos (1940 ml). La solución se destiló para eliminar 2-metiltetrahidrofurano. La suspensión resultante se agitó durante una hora, después se filtró y se secó. Las aguas madre se concentraron, dando un segundo extracto de sólidos.
- 10 El rendimiento total del ácido **4** del compuesto del título fue de 162,59 g (88,5 %). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm) 1,5 (s, 6H), 2,3 (s, 2H), 3,6 (m, 5H), 6,7 (d, 2H), 7,6 (d, 2H).

### Ejemplo 2

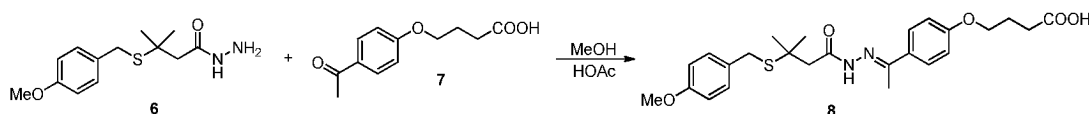
#### 3-(4-metoxibenciltio)-3-metilbutanohidrazida



- 15 Se añadió el ácido **4** (81,67 g, 321 mmol) a 375 ml de THF (tetrahidrofurano). Se cargó en tres porciones CDI (1,05 equiv., 54,7 g) y la reacción se agitó a 20 °C durante 2,5 horas. En un reactor separado se preparó una solución de hidrazina monohidrato (2,5 equiv., 40,19 g) en 200 ml de THF. La solución del intermedio **5** se añadió a la solución de hidrazina hidratada, manteniendo la temperatura interna a 20 °C. Después de que se completase la adición, la reacción se agitó durante 18 horas, después se concentró hasta 100 ml. Se añadieron 850 ml de EtOAc (acetato de etilo), y la solución se lavó 3 veces con 500 ml de agua, y después con 200 ml de salmuera. La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró a través de tierra de diatomeas y se concentró en un evaporador rotatorio, dando una suspensión de color blanco. Se añadieron 300 ml de heptano y se eliminaron 200 ml en un evaporador rotatorio. Se añadieron 200 ml más de heptano y se separaron, dando una suspensión espesa de color blanco. La mezcla se filtró, se lavó con heptanos y se secó. Se obtuvieron 83,15 g (96,5 %) del compuesto del título **6** a partir de **4**. EM 269 (M+1), 121, 120.
- 20
- 25

### Ejemplo 3

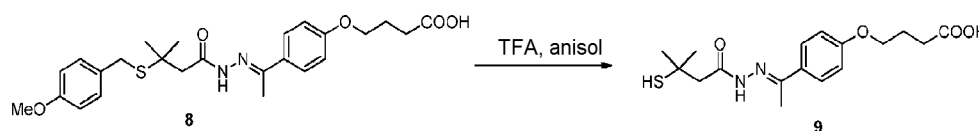
#### Ácido 4-(4-(1-(2-(3-(4-metoxibenciltio)-3-metilbutanoil)hidrazono)etil)fenoxi)butanoico



- 30 Se añadieron 68 g de **6** y 57,43 g de **7**, dando 680 ml de metanol (MeOH). Se añadieron 68 ml de ácido acético (HOAc) y la mezcla se calentó a 45 °C durante 3 horas, se enfrió a 20 °C y se mantuvo durante 16 horas. La suspensión se filtró, se lavó con metanol y se secó. Se obtuvieron 112,60 g del compuesto del título **8** en forma de una mezcla de isómeros E y Z. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ (ppm) 1,5 (m, 6H), 2,0 (m, 2H), 2,2 (m, 3H), 2,4 (m, 2H), 2,7 (s, 1,1H), 3,0 (s, 0,9H), 3,7 (m, 3H), 3,8 (m, 2H), 4,0 (m, 2H), 6,8 (m 2H), 6,9 (m, 2H), 7,3 (m, 2H), 7,7 (m, 2H), 10,2 y 10,3 (s, 1H), 12,1 (s, 1H). CL-EM m/z 473 [M+H]<sup>+</sup>.
- 35

### Ejemplo 4

#### Ácido 4-(4-(1-(2-(3-mercapto-3-metilbutanoil)hidrazono)etil)-fenoxi)butanoico

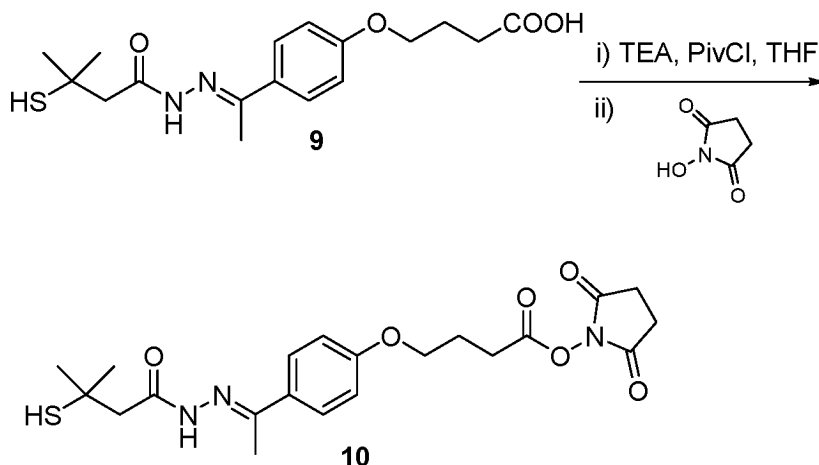


Se cargaron 290,5 g, (614,7 mmol) de **8** y 1162 ml de anisol en un reactor a 20 - 25 °C. Se añadió ácido

trifluoroacético (1162 ml) durante 2 minutos, y la reacción se calentó a 65-70 °C durante 2,5 horas. La reacción se enfrió a 40 °C. El TFA (ácido trifluoroacético) se destiló al vacío y se reemplazó por 2-metiltetrahidrofurano (2905 ml). La destilación continuó hasta que se observó una suspensión espesa (el volumen final de la suspensión fue de aproximadamente 2 l). La suspensión se enfrió a 15 °C y se filtró. El producto en bruto se suspendió de nuevo en metanol (1836,6 ml), se calentó a 55 °C y después se enfrió a 20 °C durante una noche. La suspensión se filtró, se lavó con metanol y se secó. Se obtuvieron 171,80 g (93,54 %) del compuesto del título **9** en forma de una mezcla de isómeros E y Z a partir de **8**. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ (ppm) 1,5 (m, 6H), 2,0 (m, 2H), 2,2 (m, 3H), 2,4 (m, 2H), 2,7 (s, 1,1H), 3,0 (s, 0,9H), 3,3 (s 1H), 4,0 (m, 2H), 6,9 (m, 2H), 7,7 (m, 2H), 10,2 y 10,3 (s, 1H), 12,1 (s, 1H).

### Ejemplo 5

#### 10 **4-(4-(1-(2-(3-Mercapto-3-metilbutanoil)-hidrazono)etil)fenoxi)butanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo**



Configuración del reactor: Reactor con camisa de 2 l, sonda Tr, entrada de nitrógeno.

Se añadieron 60 g (170,3 mmol) a 2400 ml de THF y se enfriaron a 10 °C. Se añadió trietilamina (2 equiv., 34,46 g), después se añadió lentamente cloruro de trimetilacetilo (1,1 equiv., 22,81 g) durante 10 minutos, manteniendo la temperatura en el intervalo 10-20 °C. La mezcla se agitó a 10-20 °C durante 30 minutos. Se añadió N-hidroxisuccinimida (1,1 equiv., 21,99 g) al reactor y se agitó a 20-25 °C durante 30 minutos.

La suspensión se filtró para eliminar las sales de TEA-HCl y se concentró al vacío hasta un volumen de aproximadamente 800 ml. Se añadió lentamente hexano (780 ml) para cristalizar el producto. La suspensión se agitó durante 1,5 horas, después se filtró, se lavó con heptanos y se secó. Se obtuvieron 70,4 g (92 % de rendimiento) del intermedio enlazador del compuesto del título **10** a partir de **9**.

El producto en bruto se recrystalizó añadiendo 144 g de **10** a 2100 ml de THF y se calentó a 60 °C. La mezcla se filtró a través de tierra de diatomeas, y se añadieron lentamente 2100 ml de hexano y se enfriaron a 20 °C durante 1,5 horas. La suspensión se filtró, se lavó con THF/hexano frío (1:1), después con hexano y se secó. Se obtuvieron 126 g (87,5 % de recuperación) del intermedio enlazador del compuesto del título **10** a partir de **9**. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): δ (ppm) 1,5 (m, 6H), 2,1 (m, 2H), 2,2 (m, 3H), 2,7 (s, 1,1H), 2,9 (M, 5H) 3,0 (s, 1,9H), 3,3 (s 1H), 4,3 (m, 2H), 7,0 (m, 2H), 7,5 (m, 2H), 10,2 y 10,3 (s, 1H).

### Ejemplo 6

**Preparación de ácido butanoico, 3-[[[(2E)-2-5(1R,4Z,8S)-8-[[2-O-[4-(acetiletilamino)-2,4-didesoxi-3-O-metil-a-L-treo-pentopiranosil]-4,6-didesoxi-4-[[[2,6-didesoxi-4-S-[4-[(6-desoxi-3-O-metil-a-L-manopiranosil)oxi]-3-yodo-5,6-dimetoxi-2-metilbenzoil]-4-tio-β-D-ribo-hexopiranosil]oxi]amino]-β-D-glucopiranosil]oxi]-1-hidroxi-10-[(metoxicarbonil)amino]-11-oxobicyclo[7.3.1]trideca-4,9-dieno-2,6-diin-13-iliden]etil]ditio]-3-metil-, 2-[[[(1E)-1-[4-[4-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxi]-4-oxobutoxi]fenil]etiliden]hidrazida**

A una solución de N-acetil-calicheamicina (50 mg, 0,035 mmol) en acetonitrilo (1,0 ml) a temperatura ambiente se le añadió en una porción el intermedio enlazador ácido butanoico, 3-mercapto-3-metil-, 2-[[[(E)-1-[4-[4-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)-oxi]-4-oxobutoxi]fenil]etiliden]hidrazida (31,9 mg, 0,07 mmol) seguido de 1,(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (6,7 mg, 0,035 mmol) y después trietilamina (5,3 mg, 7,3 μl, 0,053 mmol). La mezcla de reacción (una suspensión) se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente, momento en el que se convirtió en una solución de color amarillo. El rendimiento se determinó por porcentaje de área con respecto a un estándar derivado (60 % de rendimiento).

40 Espec. de masas:  
(M+Na) = 1801,4578  
RMN <sup>1</sup>H:

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub> + 5 % de CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): 8,69 (s, 1H, 18C-NH-N=), 7,75 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, 22), 6,95 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, 23), 6,38 (t a, *J* = 7 Hz, 1H, 14), 6,23 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, 8), 5,90 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H, 4), 5,80 (dd, *J* = 9,5, 1,5 Hz, 1H, 5), 5,72 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, 1D), 5,63 (d a, *J* = 2,2 Hz, 1H, 1E), 5,03 (dd, *J* = 11,5, 1,6 Hz, 1H, 1B), 4,70 (m, 1H, 5E), 4,61 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, 1A), 4,6 (m, 1H, 3E), 4,49 (m, 1H, 2D), 4,31 (m, 1H, 3B), 4,20 (m, 1H, 5D), 4,10 (m, 2H, 25), 4,07 (m, 1H, 5 B), 4,03 (m, 1H, 3A), 3,91 (m, 1H, 15), 3,89 (s, 3H, 2C-OCH<sub>3</sub>), 3,84 (s, 3H, 3C-OCH<sub>3</sub>), 3,8 (m, 1H, 3D), 3,76 (m, 1H, 15), 3,75 (m, 1H, 4 B), 3,65 (m, 1H, 5 A), 3,63 (s a, 3H, 10-NHCOOCH<sub>3</sub>), 3,62 (m, 1H, 2 A), 3,6 (m, 1H, 4D), 3,57 (s, 3H, 3D-OCH<sub>3</sub>), 3,4 (m, 1H, 5E), 3,37 (s, 3H, 3E-OCH<sub>3</sub>), 3,30 (m, 2H, 4E-N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,12 (d, *J* = 17,6 Hz, 1H, 12), 3,0 (m, 1H, 4E), 2,85 (m, 2H, 27), 2,85 (s a, 4, 30), 2,72 (d, *J* = 17,6 Hz, 1H, 12), 2,5 (m, 2H, 17), 2,4 (m, 1H, 2E ecuatorial), 2,33 (m, 1H, 4 A), 2,25 (m, 2H, 26), 2,18 (s, 3H, 19), 2,08 (s, 3H, 4E-N-COCH<sub>3</sub>), 2,0 (m, 1H, 2 B), 1,8 (m, 1H, 2 B), 1,50 (s, 3H, 16a), 1,44 (s, 3H, 16b), 1,42 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H, 6 B), 1,4 (m, 1H, 2E axial), 1,31 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H, 6 A), 1,31 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H, 6D), 1,19 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, 4E-N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

### Ejemplo 7

**Preparación de ácido butanoico. 3-[[2(E)-2-[(1R,4Z,8S)-8-[[2-O-[4-(acetiletilamino)-2,4-didesoxi-3-O-metil-a-L-treo-pentopiranosil]-4,6-didesoxi-4-[[[2,6-didesoxi-4-S-[4-[(6-desoxi-3-O-metil-a-L-manopiranosil)oxi]-3-yodo-5,6-dimetoxi-2-metilbenzoil]-4-tio-β-D-ribo-hexopiranosil]oxi]amino]-β-D-glucopiranosil]oxi]-1-hidroxi-10-[(metoxicarbonil)amino]-11-oxobiciclo[7.3.1]trideca-4,9-dieno-2,6-diin-13-iliden]etil]ditio]-3-metil-, 2-[(1E)-1-[4-[4-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxi]-4-oxobutoxi]fenil]etiliden]hidrazida, Sin usar EDC**

Como comparación con el procedimiento de la presente invención ilustrado en el Ejemplo 6, se realizó la siguiente reacción: A una solución de N-acetil-calicheamicina (50 mg, 0,035 mmol) en acetonitrilo (1,0 ml) a temperatura ambiente se le añadió en una porción el intermedio enlazador ácido butanoico, 3-mercapto-3-metil-2-[(E)-1-[4-[4-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxi]-4-oxobutoxi]fenil]-etiliden]-hidrazida (31,9 mg, 0,07 mmol) seguido de trietilamina (5,3 mg, 7,3 ul, 0,053 mmol). La mezcla de reacción (una suspensión) se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente, momento en el que se convirtió en una solución de color amarillo. El rendimiento se determinó por porcentaje de área con respecto a un estándar derivado (35 % de rendimiento).

Espec. de masas:

(M+Na) = 1801,4578

RMN <sup>1</sup>H:

RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub> + 5 % de CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): 8,69 (s, 1H, 18C-NH-N=), 7,75 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, 22), 6,95 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, 23), 6,38 (t a, *J* = 7 Hz, 1H, 14), 6,23 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, 8), 5,90 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H, 4), 5,80 (dd, *J* = 9,5, 1,5 Hz, 1H, 5), 5,72 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, 1D), 5,63 (d a, *J* = 2,2 Hz, 1H, 1E), 5,03 (dd, *J* = 11,5, 1,6 Hz, 1H, 1B), 4,70 (m, 1H, 5E), 4,61 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, 1A), 4,6 (m, 1H, 3E), 4,49 (m, 1H, 2D), 4,31 (m, 1H, 3B), 4,20 (m, 1H, 5D), 4,10 (m, 2H, 25), 4,07 (m, 1H, 5 B), 4,03 (m, 1H, 3A), 3,91 (m, 1H, 15), 3,89 (s, 3H, 2C-OCH<sub>3</sub>), 3,84 (s, 3H, 3C-OCH<sub>3</sub>), 3,8 (m, 1H, 3D), 3,76 (m, 1H, 15), 3,75 (m, 1H, 4 B), 3,65 (m, 1H, 5 A), 3,63 (s a, 3H, 10-NHCOOCH<sub>3</sub>), 3,62 (m, 1H, 2 A), 3,6 (m, 1H, 4D), 3,57 (s, 3H, 3D-OCH<sub>3</sub>), 3,4 (m, 1H, 5E), 3,37 (s, 3H, 3E-OCH<sub>3</sub>), 3,30 (m, 2H, 4E-N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,12 (d, *J* = 17,6 Hz, 1H, 12), 3,0 (m, 1H, 4E), 2,85 (m, 2H, 27), 2,85 (s a, 4, 30), 2,72 (d, *J* = 17,6 Hz, 1H, 12), 2,5 (m, 2H, 17), 2,4 (m, 1H, 2E ecuatorial), 2,33 (m, 1H, 4 A), 2,25 (m, 2H, 26), 2,18 (s, 3H, 19), 2,08 (s, 3H, 4E-N-COCH<sub>3</sub>), 2,0 (m, 1H, 2 B), 1,8 (m, 1H, 2 B), 1,50 (s, 3H, 16a), 1,44 (s, 3H, 16b), 1,42 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H, 6 B), 1,4 (m, 1H, 2E axial), 1,31 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H, 6 A), 1,31 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H, 6D), 1,19 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, 4E-N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

### Ejemplo 8

**Preparación a gran escala de ácido butanoico. 3-[[2(E)-2-[(1R,4Z,8S)-8-[[2-O-[4-(acetiletilamino)-2,4-didesoxi-3-O-metil-a-L-treo-pentopiranosil]-4,6-didesoxi-4-[[[2,6-didesoxi-4-S-[4-[(6-desoxi-3-O-metil-a-L-manopiranosil)oxi]-3-yodo-5,6-dimetoxi-2-metilbenzoil]-4-tio-β-D-ribo-hexopiranosil]oxi]amino]-β-D-glucopiranosil]oxi]-1-hidroxi-10-[(metoxicarbonil)amino]-11-oxobiciclo[7.3.1]trideca-4,9-dieno-2,6-diin-13-iliden]etil]ditio]-3-metil-, 2-[(1E)-1-[4-[4-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxi]-4-oxobutoxi]fenil]etiliden]hidrazida, Seguimiento de purificación.**

A una solución de N-acetil-calicheamicina (60,2 g, 42,7 mmol) en acetonitrilo (900 ml) a 4 °C se le añadió en una porción el intermedio enlazador ácido butanoico, 3-mercapto-3-metil-2-[(E)-1-[4-[4-[(2,5-dioxo-1-pirrolidinil)oxi]-4-oxobutoxi]-fenil]etiliden]hidrazida (38,4 g, 85,4 mmol) seguido de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (8,2 g, 42,7 mmol). La botellas que contenían el enlazador y 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida se aclararon con acetonitrilo (300 ml) y se añadieron a la mezcla de reacción. Después, se añadió trietilamina (6,5 g, 8,9 ml, 64,1 mmol) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción (una suspensión) se agitó durante 1 hora a 4 °C, momento en el que se convierte en una solución de color amarillo. La mezcla de reacción se diluyó adicionalmente con acetonitrilo (600 ml) y tampón de acetato sódico 20 mM, pH 5,0 (1200 ml) y se purificó por columna de HPLC de fase inversa usando un gradiente de fases móviles A y B. (Fase móvil A: 55:45 (v/v) tampón NaOAc 20 mM a pH 5,0 (pH 4,5-5,5): acetonitrilo: Fase móvil B: acetonitrilo). Las fracciones de pureza deseada se agruparon y después se sometieron a extracción en fase sólida (SPE). En la SPE, las fracciones purificadas se cargaron en la columna y después se lavaron con una mezcla de agua/acetonitrilo y a continuación se eluyeron con acetonitrilo para producir fracciones concentradas que contenían el producto. Las fracciones resultantes se concentraron al vacío, se recogieron en acetato de etilo y se precipitaron añadiendo hexano. Los sólidos se filtraron y se secaron, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco del 96,9 % de pureza por HPLC. (45,2 g, rendimiento del 60 %).

# ES 2 768 611 T3

Espec. de masas: (M+Na) = 1801,4578

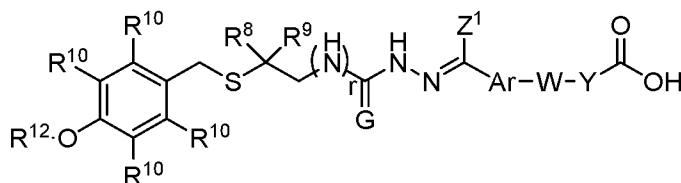
RMN <sup>1</sup>H:

5 RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub> + 5 % de CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): 8,69 (s, 1H, 18C-NH-N=), 7,75 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, 22), 6,95 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, 23), 6,38 (t a, *J* = 7 Hz, 1H, 14), 6,23 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, 8), 5,90 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H, 4), 5,80 (dd, *J* = 9,5, 1,5 Hz, 1H, 5), 5,72 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, 1D), 5,63 (d a, *J* = 2,2 Hz, 1H, 1E), 5,03 (dd, *J* = 11,5, 1,6 Hz, 1H, 1B), 4,70 (m, 1H, 5E), 4,61 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, 1A), 4,6 (m, 1H, 3E), 4,49 (m, 1H, 2D), 4,31 (m, 1H, 3B), 4,20 (m, 1H, 5D), 4,10 (m, 2H, 25), 4,07 (m, 1H, 5 B), 4,03 (m, 1H, 3A), 3,91 (m, 1H, 15), 3,89 (s, 3H, 2C-OCH<sub>3</sub>), 3,84 (s, 3H, 3C-OCH<sub>3</sub>), 3,8 (m, 1H, 3D), 3,76 (m, 1H, 15), 3,75 (m, 1H, 4 B), 3,65 (m, 1H, 5 A), 3,63 (s a, 3H, 10-NHCOOCH<sub>3</sub>), 3,62 (m, 1H, 2 A), 3,6 (m, 1H, 4D), 3,57 (s, 3H, 3D-OCH<sub>3</sub>), 3,4 (m, 1H, 5E), 3,37 (s, 3H, 3E-OCH<sub>3</sub>), 3,30 (m, 2H, 4E-N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,12 (d, *J* = 17,6 Hz, 1H, 12), 3,0 (m, 1H, 4E), 2,85 (m, 2H, 27), 2,85 (s a, 4, 30), 2,72 (d, *J* = 17,6 Hz, 1H, 12), 2,5 (m, 2H, 17), 2,4 (m, 1H, 2E ecuatorial), 2,33 (m, 1H, 4 A), 2,25 (m, 2H, 26), 2,18 (s, 3H, 19), 2,08 (s, 3H, 4E-N-COCH<sub>3</sub>), 2,0 (m, 1H, 2 B), 1,8 (m, 1H, 2 B), 1,50 (s, 3H, 16a), 1,44 (s, 3H, 16b), 1,42 (d, *J* = 6,2 Hz, 3H, 6 B), 1,4 (m, 1H, 2E axial), 1,31 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H, 6 A), 1,31 (d, *J* = 6,1 Hz, 3H, 6D), 1,19 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, 4E-N-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

10

## REIVINDICACIONES

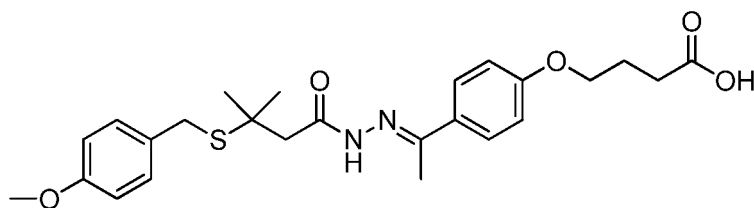
1. Un compuesto de Fórmula I



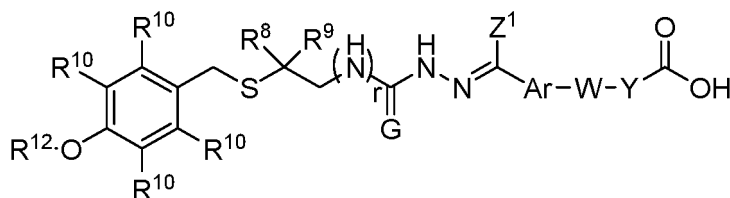
Fórmula I

- 5 en la que R<sup>12</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada;  
 cada R<sup>10</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, R<sup>12</sup> y -OR<sup>12</sup>;  
 R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada,  
 en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -  
 10 NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de  
 alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;  
 r es un número entero 0 o 1;  
 G es oxígeno o azufre;  
 Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;  
 Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados  
 15 independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -  
 O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-,  
 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos  
 20 seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro,  
 -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;  
 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente  
 sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);  
 cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;  
 W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está  
 25 sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); y  
 Y es un grupo alquilenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquenileno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o  
 ramificada.

2. Un compuesto de la reivindicación 1 que tiene la estructura



3. Un procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula I



Fórmula I

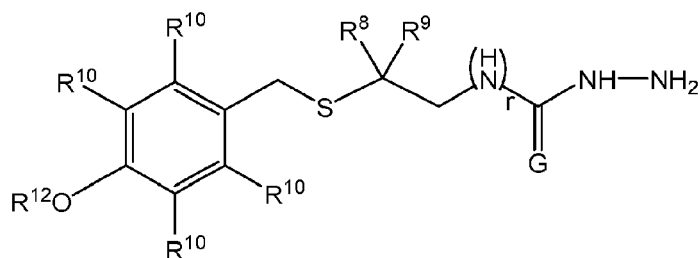
- 30 en la que R<sup>12</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada;  
 cada R<sup>10</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, R<sup>12</sup> y -OR<sup>12</sup>;  
 R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada,  
 35 en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -  
 NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de  
 alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;  
 r es un número entero 0 o 1;  
 G es oxígeno o azufre;

Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

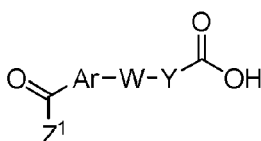
en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); e Y es un grupo alquilenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquenileno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada; cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula II



Fórmula II

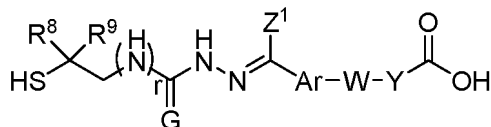
con un compuesto de Fórmula III



Fórmula III

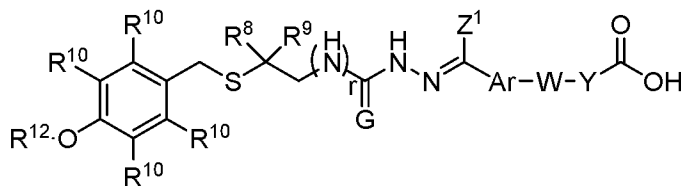
4. Un procedimiento según la reivindicación 3, en el que r es 0, G es oxígeno, Z<sup>1</sup> es metilo, Ar es 1,4-fenileno, W es -O-, e Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

5. Un procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula IV



Fórmula IV

cuyo procedimiento comprende tratar un compuesto de Fórmula I



Fórmula I

en la que R<sup>12</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada; cada R<sup>10</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, R<sup>12</sup> y -OR<sup>12</sup>;

R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -

NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

r es un número entero 0 o 1;

G es oxígeno o azufre;

5 Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

10 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

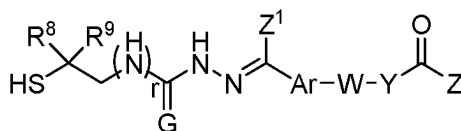
cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

15 W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); y

Y es un grupo alquilenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquenileno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada, con un ácido fuerte para formar una mezcla que comprende el compuesto de Fórmula IV.

20 6. Un procedimiento según la reivindicación 5, en el que R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son metilo, r es 0, G es oxígeno, Z<sup>1</sup> es metilo, Ar es 1,4-fenileno, W es -O-, e Y es -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-.

7. Un procedimiento para sintetizar un intermedio enlazador de Fórmula V



Fórmula V

25 en la que R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

r es un número entero seleccionado de 0 y 1;

G es oxígeno o azufre;

30 Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

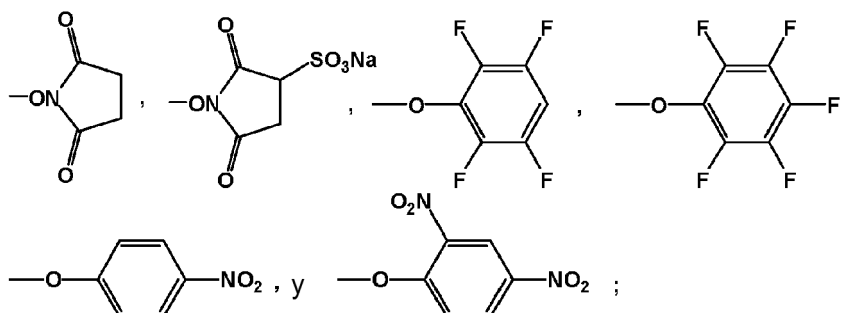
35 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

40 W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

Y es un grupo alquilenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquilenilo (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada; y

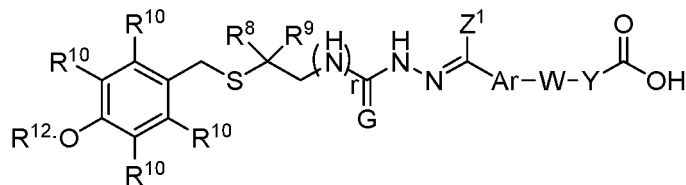
Z se selecciona del grupo que consiste en



45 cuyo procedimiento comprende



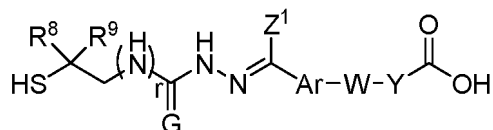
a) tratar un compuesto de Fórmula I



Fórmula I

5 en la que R<sup>12</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, y cada R<sup>10</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, R<sup>12</sup> y -OR<sup>12</sup>;

con un ácido fuerte para formar una mezcla que comprende un compuesto de Fórmula IV

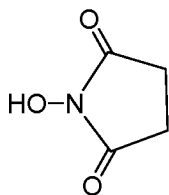


Fórmula IV

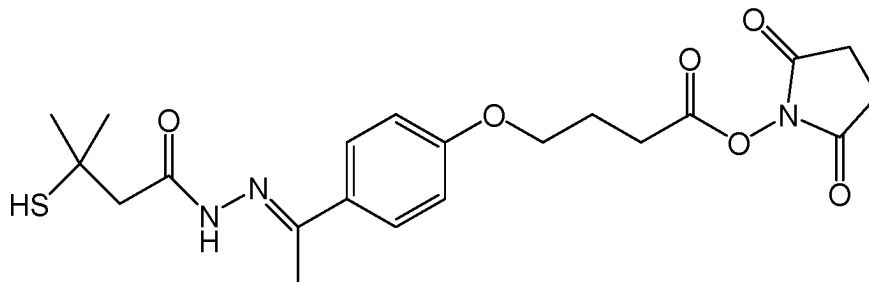
b) hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IV con un compuesto ZH;

10 sintetizando así el intermedio enlazador de Fórmula V.

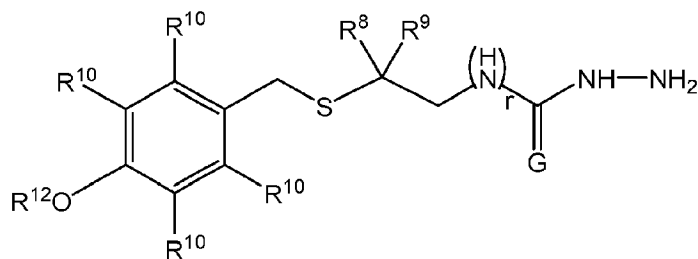
8. Un procedimiento según la reivindicación 7, en el que ZH es



9. Un procedimiento según la reivindicación 7, en el que el intermedio enlazador es de la estructura

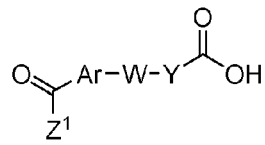


15 10. Un procedimiento según la reivindicación 7, en el que el compuesto de Fórmula I se obtiene haciendo reaccionar a compuesto de Fórmula II



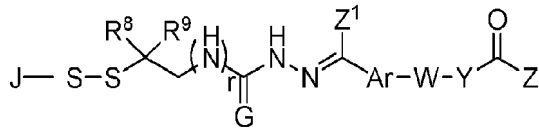
Fórmula II

con un compuesto de Fórmula III



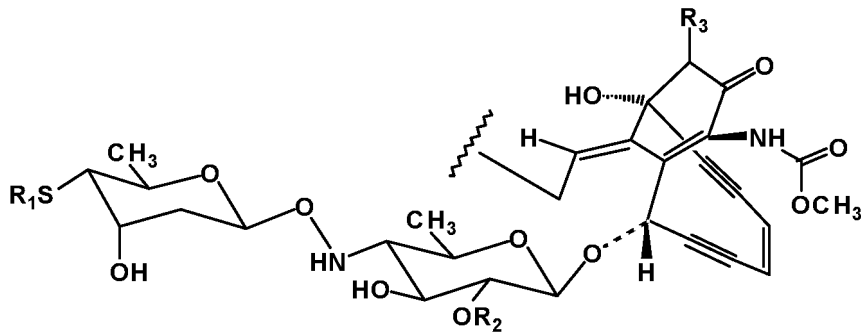
Fórmula III

11. Un procedimiento para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI



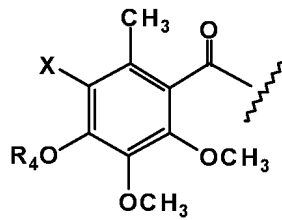
Fórmula VI

en la que J es

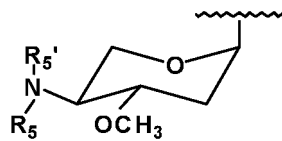


5

R<sub>1</sub> es

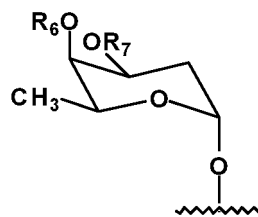


o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es

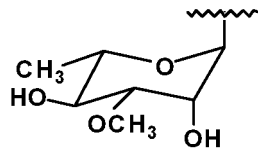


10

o H;  
R<sub>3</sub> es



o H; R<sub>4</sub> es



o H;

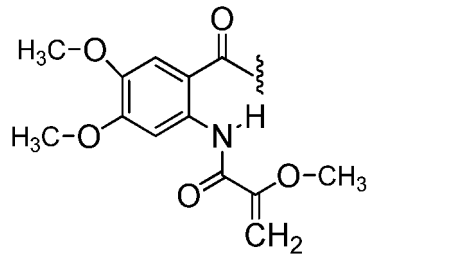
R<sup>5</sup> es -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, o -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

X es un átomo de yodo o bromo;

5 R<sup>5'</sup> es un hidrógeno o el grupo RCO, en el que R es hidrógeno, alquilo ramificado o no ramificado de 1 a 10 átomos de carbono, alquileo de 2 a 10 átomos de carbono, arilo de 6 a 11 átomos de carbono, un grupo aril (C<sub>6</sub>-C<sub>11</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>), o un grupo heteroarilo o heteroaril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) en el que heteroarilo se define como 2- o 3-furilo, 2- o 3-tienilo, 2- o 3-(N-metilpirrolilo), 2-, 3-, o 4-piridinilo, 2-, 4-, o 5-(N-metilimidazolilo), 2-, 4- o 5-oxazolilo, 2-, 3-, 5-, o 6-pirimidinilo, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-quinolilo, o 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-isoquinolilo, todos los grupos arilo y heteroarilo opcionalmente sustituidos con uno o más hidroxilo, amino, carboxi, halo, nitro, alcoxi

10 (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), o tioalcoxi de 1 a 5 átomos de carbono;

R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> se seleccionan cada uno independientemente de H y



;

15 R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

r es un número entero 0 o 1;

G es oxígeno o azufre;

20 Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

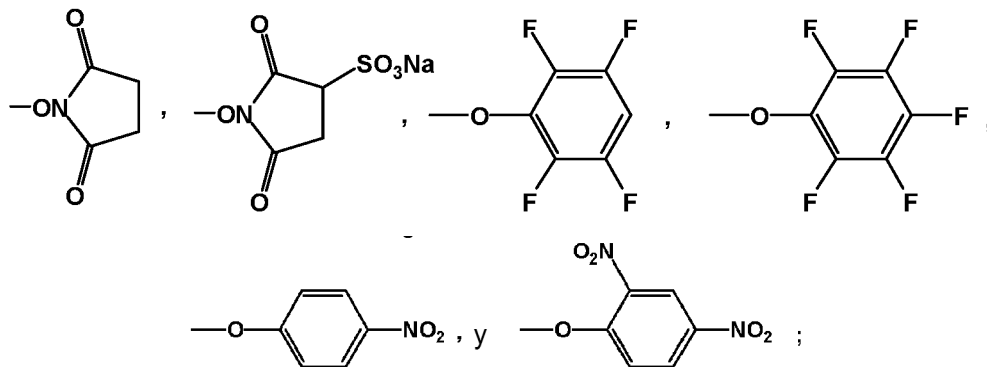
Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

25 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

30 W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

Y es un grupo alquileo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquilenilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada; y

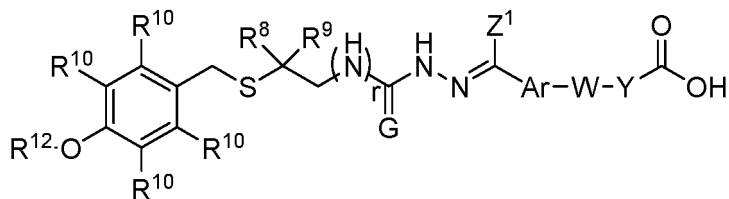
Z se selecciona del grupo que consiste en



35

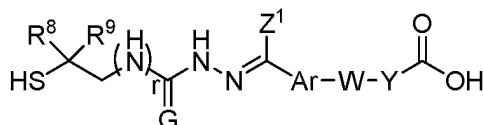
cuyo procedimiento comprende

a) tratar un compuesto de Fórmula I



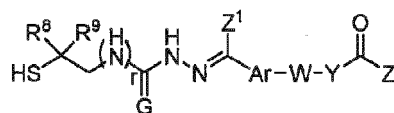
Fórmula I

5 en la que R<sup>12</sup> se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> de cadena lineal o ramificada, y cada R<sup>10</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno, R<sup>12</sup> y -OR<sup>12</sup>; con un ácido fuerte para formar una mezcla que comprende un compuesto de Fórmula IV



Fórmula IV

10 b) hacer reaccionar el compuesto de Fórmula IV con un compuesto ZH; para formar un intermedio enlazador de Fórmula V

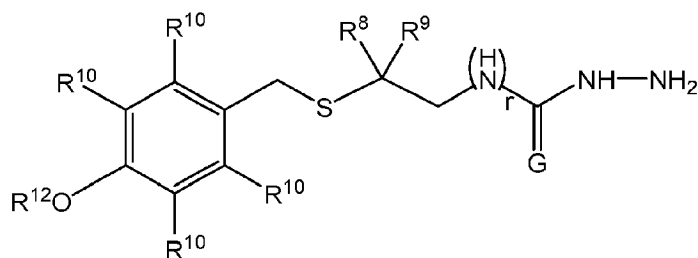


Fórmula V

y  
c) hacer reaccionar el intermedio enlazador de Fórmula V resultante de la etapa (b) con un compuesto de trisulfuro de metilo CH<sub>3</sub>-S-S-S-J;

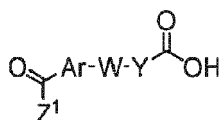
15 sintetizando así un derivado de calicheamicina de Fórmula VI.

12. Un procedimiento según la reivindicación 11, en el que el compuesto de Fórmula I se obtiene haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula II



Fórmula II

con un compuesto de Fórmula III



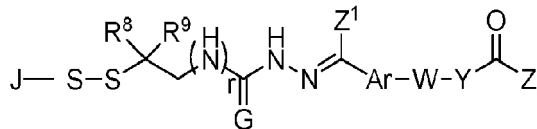
Fórmula III

20 13. Un procedimiento según la reivindicación 11, en el que el compuesto de trisulfuro de metilo CH<sub>3</sub>-S-S-S-J es ozogamicina.

14. Un procedimiento según la reivindicación 13, que comprende además

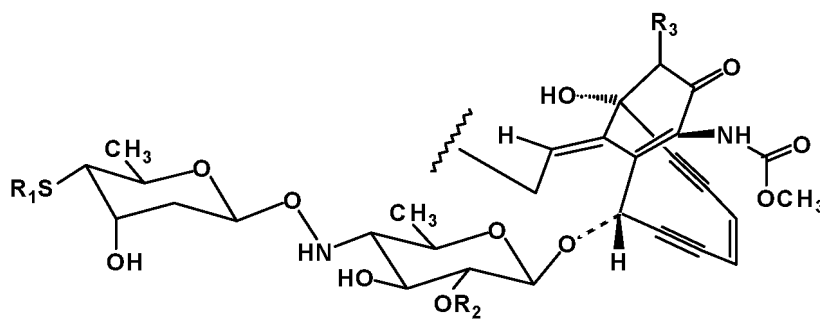
d) conjugar el derivado de calicheamicina de Fórmula VI resultante de la etapa (c) con un anticuerpo monoclonal seleccionado de inotuzumab y gemtuzumab.

15. Un procedimiento para sintetizar un derivado de calicheamicina de Fórmula VI

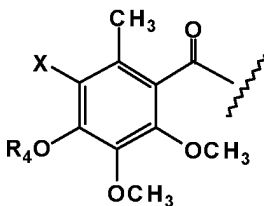


Fórmula VI

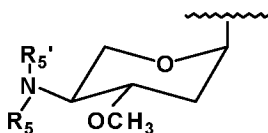
5 en la que J es



R<sub>1</sub> es

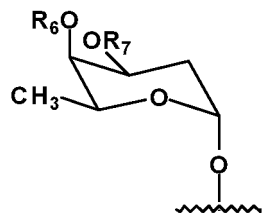


o CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> es

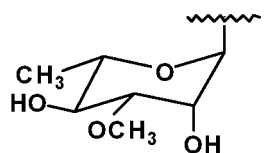


10

o H;  
R<sub>3</sub> es



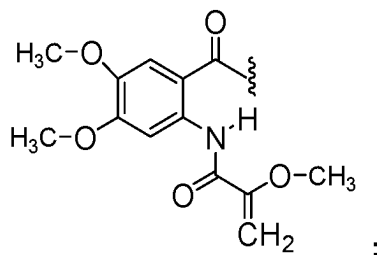
o H; R<sub>4</sub> es



15

o H;  
R<sup>5</sup> es -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, o -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;  
X es un átomo de yodo o bromo;

5  $R^{5'}$  es un hidrógeno o el grupo RCO, en el que R es hidrógeno, alquilo ramificado o no ramificado de 1 a 10 átomos de carbono, alquileo de 2 a 10 átomos de carbono, arilo de 6 a 11 átomos de carbono, un grupo aril ( $C_6-C_{11}$ )-alquilo ( $C_1-C_5$ ), o un grupo heteroarilo o heteroaril-alquilo ( $C_1-C_5$ ) en el que heteroarilo se define como 2- o 3-furilo, 2- o 3-tienilo, 2- o 3-(N-metilpirrolilo), 2-, 3-, o 4-piridinilo, 2-, 4-, o 5-(N-metilimidazolilo), 2-, 4- o 5-oxazolilo, 2-, 3-, 5-, o 6-pirimidinilo, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-quinolilo, o 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-isoquinolilo, todos los grupos arilo y heteroarilo opcionalmente sustituidos con uno o más hidroxilo, amino, carboxi, halo, nitro, alcoxi ( $C_1-C_3$ ), o tioalcoxi de 1 a 5 átomos de carbono;  $R_6$  y  $R_7$  se seleccionan cada uno independientemente de H y

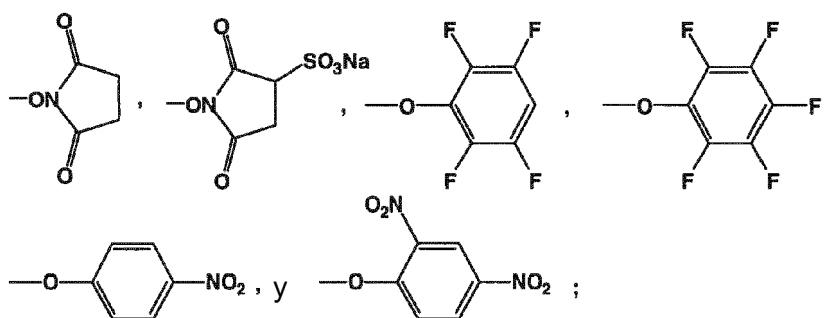


10  $R^8$  y  $R^9$  se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_1-C_8$  de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para  $R^8$  y  $R^9$  está opcionalmente sustituido independientemente por  $-NH_2$ ,  $-NHR^{11}$ ,  $-NR^{11}R^{13}$ ,  $-OR^{11}$ ,  $-OH$ , o  $-SR^{11}$ , en las que cada  $R^{11}$  y cada  $R^{13}$  se seleccionan independientemente de alquilo  $C_1-C_5$  de cadena lineal y ramificada; r es un número entero 0 o 1;

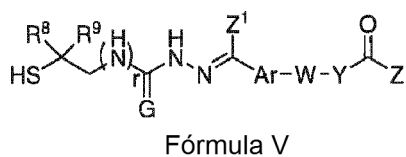
15 G es oxígeno o azufre;  $Z^1$  es H o alquilo  $C_1-C_5$  de cadena lineal y ramificada; Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo  $C_1-C_6$  lineal o ramificado,  $-OR^{14}$ ,  $-SR^{14}$ , halógeno, nitro,  $-COOR^{14}$ ,  $-C(=O)NHR^{14}$ ,  $-O(CH_2)_nCOOR^{14}$ ,  $-S(CH_2)_nCOOR^{14}$ ,  $-O(CH_2)_nC(=O)NHR^{14}$ , y  $-S(CH_2)_nC(=O)NHR^{14}$ , o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo  $C_1-C_6$  de cadena lineal o ramificada,  $-OR^{14}$ ,  $-SR^{14}$ , halógeno, nitro,  $-COOR^{14}$ ,  $-C(=O)NHR^{14}$ ,  $-O(CH_2)_nCOOR^{14}$ ,  $-S(CH_2)_nCOOR^{14}$ ,  $-O(CH_2)_nC(=O)NHR^{14}$ , y  $-S(CH_2)_nC(=O)NHR^{14}$ ; en las que cada  $R^{14}$  se selecciona independientemente de alquilo ( $C_1-C_5$ ) y cada  $R^{14}$  está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de  $-OH$ ,  $-alquilo (C_1-C_4)$ , y  $-Salquilo (C_1-C_4)$ ; cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

25 W se selecciona de  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-C(=O)NH-$ ,  $-NHC(=O)-$ , y  $-NR^{15}-$ , en la que  $R^{15}$  es un alquilo ( $C_1-C_5$ ) y  $R^{15}$  está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de  $-OH$ ,  $-alquilo (C_1-C_4)$ , y  $-Salquilo (C_1-C_4)$ ; Y es un grupo alquileo ( $C_1-C_6$ ) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquilenilo ( $C_2-C_6$ ) de cadena lineal o ramificada; y

30 Z se selecciona del grupo que consiste en



cuyo procedimiento comprende hacer reaccionar un intermedio enlazador de Fórmula V

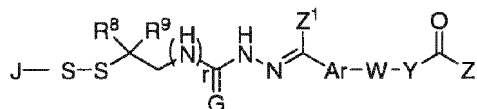


35 con un compuesto de trisulfuro de metilo  $CH_3-S-S-S-J$ , en presencia de una carbodiimida; sintetizando así un derivado de calicheamicina de Fórmula VI.

16. Un procedimiento según la reivindicación 15, en el que el compuesto de trisulfuro de metilo  $\text{CH}_3\text{-S-S-S-J}$  es ozogamicina.

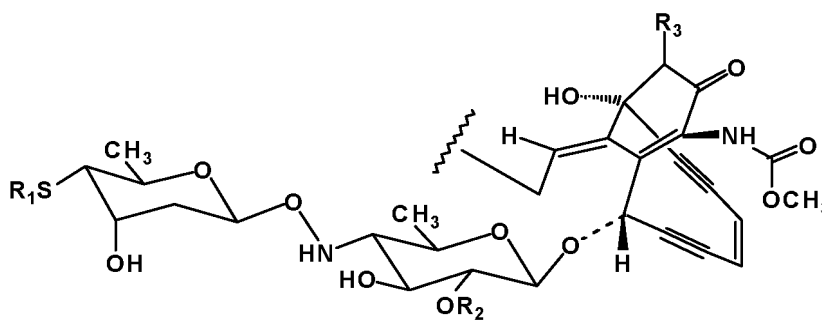
17. Un procedimiento según la reivindicación 16, que comprende además conjugar el derivado de calicheamicina resultante de Fórmula VI con un anticuerpo monoclonal seleccionado de inotuzumab y gemtuzumab.

5 18. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17, en el que el derivado de calicheamicina de Fórmula VI,

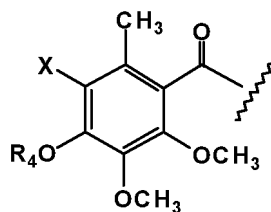


Fórmula VI

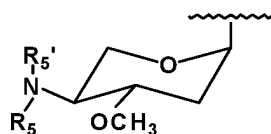
en la que J es



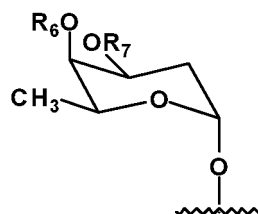
10  $R_1$  es



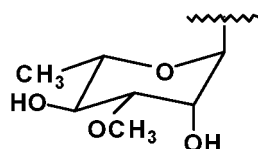
o  $\text{CH}_3$ ;  $R_2$  es



15 o H;  
 $R_3$  es



o H;  $R_4$  es



o H;

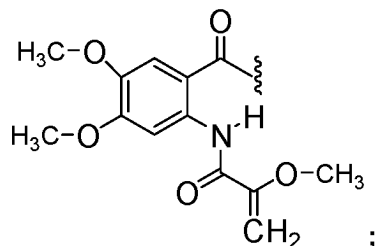
R<sup>5</sup> es -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, o -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

X es un átomo de yodo o bromo;

5 R<sup>5</sup> es un hidrógeno o el grupo RCO, en el que R es hidrógeno, alquilo ramificado o no ramificado de 1 a 10 átomos de carbono, alquileo de 2 a 10 átomos de carbono, arilo de 6 a 11 átomos de carbono, un grupo aril (C<sub>6</sub>-C<sub>11</sub>)-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>), o un grupo heteroarilo o heteroaril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) en el que heteroarilo se define como 2- o 3-furilo, 2- o 3-tienilo, 2- o 3-(N-metilpirrolilo), 2-, 3-, o 4-piridinilo, 2-, 4-, o 5-(N-metilimidazolilo), 2-, 4- o 5-oxazolilo, 2-, 3-, 5-, o 6-pirimidinilo, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-quinolilo, o 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, u 8-isoquinolilo, todos los grupos arilo y heteroarilo opcionalmente sustituidos con uno o más hidroxilo, amino, carboxilo, halo, nitro, alcoxi

10 (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>), o tioalcoxi de 1 a 5 átomos de carbono;

R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> se seleccionan cada uno independientemente de H y



15 R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> está opcionalmente sustituido independientemente por -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>11</sup>, -NR<sup>11</sup>R<sup>13</sup>, -OR<sup>11</sup>, -OH, o -SR<sup>11</sup>, en las que cada R<sup>11</sup> y cada R<sup>13</sup> se seleccionan independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

r es un número entero 0 o 1;

G es oxígeno o azufre;

20 Z<sup>1</sup> es H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> de cadena lineal y ramificada;

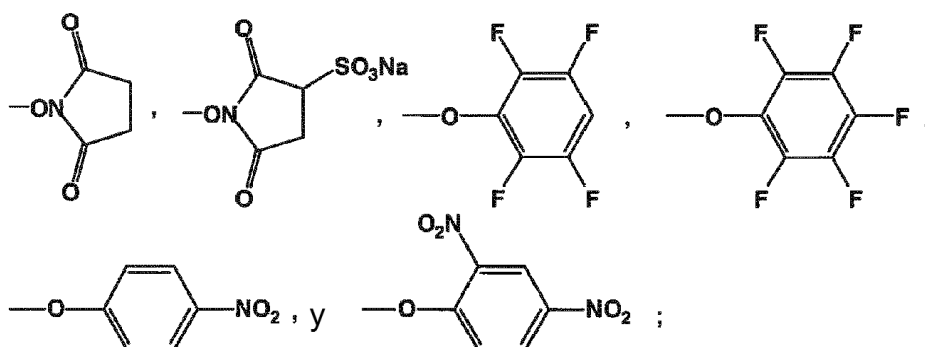
Ar es 1,2-, 1,3-, o 1,4-fenileno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, o Ar es un 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5-, 1,6-, 1,7-, 1,8-, 2,3-, 2,6-, o 2,7-naftilideno opcionalmente sustituido con uno, dos, tres o cuatro grupos seleccionados independientemente de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de cadena lineal o ramificada, -OR<sup>14</sup>, -SR<sup>14</sup>, halógeno, nitro, -COOR<sup>14</sup>, -C(=O)NHR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>COOR<sup>14</sup>, -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>, y -S(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>C(=O)NHR<sup>14</sup>;

25 en las que cada R<sup>14</sup> se selecciona independientemente de alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y cada R<sup>14</sup> está opcionalmente sustituido independientemente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>); cada n es un número entero seleccionado independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, y 5;

30 W se selecciona de -O-, -S-, -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, y -NR<sup>15</sup>-, en la que R<sup>15</sup> es un alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>) y R<sup>15</sup> está sustituido opcionalmente con uno o dos grupos seleccionados de -OH, -alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), y -Salquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>);

Y es un grupo alquileo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada o un grupo alquilenilo (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal o ramificada; y

Z se selecciona del grupo que consiste en



35 se purifica por un protocolo de purificación por cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa.

19. Un procedimiento según la reivindicación 18, en el que el protocolo de purificación por cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa comprende la elución con fases que comprenden mezclas acuosas y orgánicas, cuyas fases varían en pH de 4 a 6.

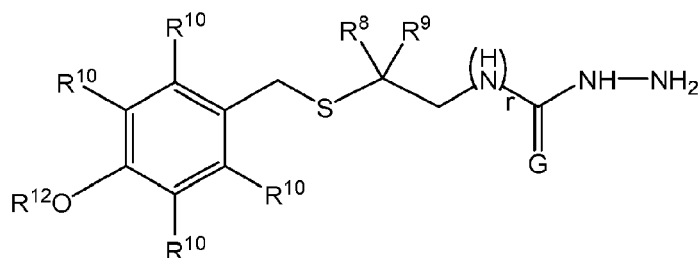
40 20. El procedimiento de la reivindicación 19, en el que el derivado de calicheamicina de Fórmula VI resultante del protocolo de purificación de fase inversa se somete posteriormente a un protocolo de extracción de fase sólida.



21. Un procedimiento según la reivindicación 19 o 20, en el que J es un resto de ozogamicina.

22. Un procedimiento según la reivindicación 21, que comprende además conjugar el derivado de calicheamicina de Fórmula VI purificado de este modo con un anticuerpo monoclonal seleccionado de inotuzumab y gemtuzumab.

23. Un procedimiento para sintetizar un compuesto de Fórmula II



Fórmula II

5

en la que  $R^{12}$  se selecciona de alquilo  $C_1-C_8$  de cadena lineal y ramificada; cada  $R^{10}$  se selecciona independientemente de hidrógeno,  $R^{12}$  y  $-OR^{12}$ ;

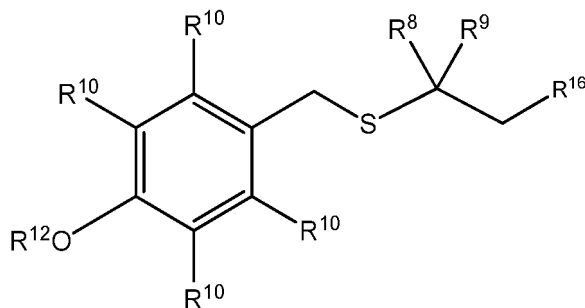
10

$R^8$  y  $R^9$  se selecciona cada uno independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_1-C_8$  de cadena lineal y ramificada, en la que cada uno de dicho alquilo para  $R^8$  y  $R^9$  está opcionalmente sustituido independientemente por  $-NH_2$ ,  $-NHR^{11}$ ,  $-NR^{11}R^{13}$ ,  $-OR^{11}$ ,  $-OH$ , o  $-SR^{11}$ , en las que cada  $R^{11}$  y cada  $R^{13}$  se seleccionan independientemente de alquilo  $C_1-C_5$  de cadena lineal y ramificada;

$r$  es un número entero seleccionado de 0 y 1; y

G es oxígeno o azufre;

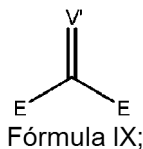
cuyo procedimiento comprende tratar un compuesto de Fórmula VII



15

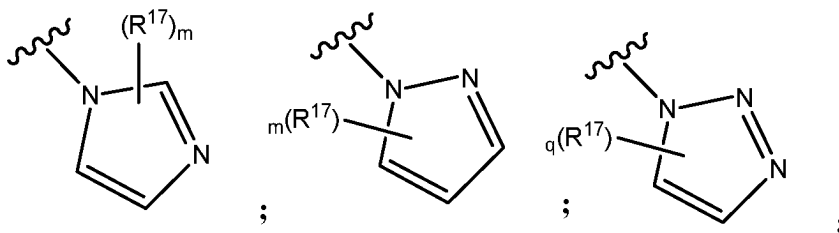
Fórmula VII

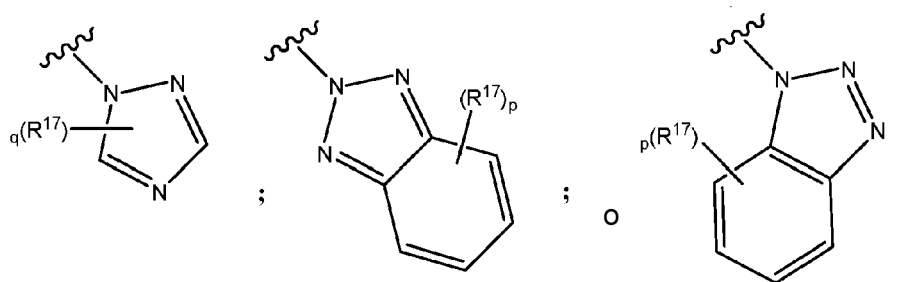
en la que  $R^{16}$  es  $-C(=O)OH$  o  $-C(=V)SH$ , en la que V es oxígeno o azufre, o  $R^{16}$  es  $-NH_2$ ; con un agente activador de azol de Fórmula IX



20

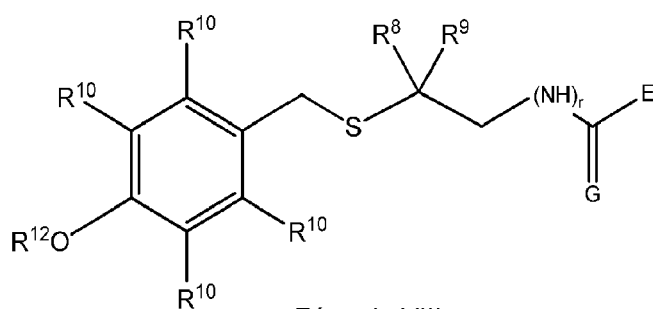
en la que V' es oxígeno o azufre; y en la que E es





en la que m es un número entero 0, 1, 2, o 3; q es un número entero 0, 1 o 2; y p es un número entero 0, 1, 2, 3, o 4; y en la que cada R<sup>17</sup> unido a E se selecciona independientemente de grupos alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) de cadena lineal y ramificada;

5 en un disolvente orgánico para formar compuesto de Fórmula VIII



Fórmula VIII

en la que, cuando R<sup>16</sup> es -C(=O)OH, r es 0 y G es oxígeno; cuando R<sup>16</sup> es -C(=V)SH, r es 0 y G es V; y cuando R<sup>16</sup> es -NH<sub>2</sub>, r es 1 y G es V';

10 seguido de la combinación del compuesto de Fórmula VIII con hidrazina, formando así un compuesto de Fórmula II.

24. El procedimiento de la reivindicación 23, en el que el agente activador de azol se selecciona de carbonil diimidazol; tiocarbonil diimidazol; carbonil bis-pirazol, en el que cada pirazol está opcionalmente sustituido con uno a tres grupos alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); carbonil bis-1,2,3-triazol; carbonil bis-benzotriazol, y carbonil bis-1,2,4-triazol.

25. El procedimiento de la reivindicación 23 o 24, en el que r es 0 y G es oxígeno.

15 26. El procedimiento de la reivindicación 23 o 24, en el que R<sup>16</sup> en el compuesto de Fórmula VII es -C(=O)OH.

27. El procedimiento de la reivindicación 23 o 24, en el que la hidrazina es hidrazina anhidra, hidrazina monohidrato, una solución acuosa de hidrazina, o una solución en tetrahidrofurano de hidrazina.

20 28. Un procedimiento según la reivindicación 7 o la reivindicación 8, en el que, en la etapa (b), cuando R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> son ambos metilo, r es 0 y G es O para un compuesto de fórmula (IV), el compuesto de fórmula (IV) se hace reaccionar con una base de amina terciaria y cloruro de trimetilacetilo en presencia de un disolvente inerte, antes de la introducción de un compuesto de fórmula ZH.