

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 786 725**

51 Int. Cl.:

C07D 491/22 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/4188 (2006.01)
A61K 31/436 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.06.2016 PCT/IL2016/050639**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **22.12.2016 WO16203478**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2016 E 16811143 (3)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.01.2020 EP 3310787**

54 Título: **Fármacos heteroaromáticos que pueden marcarse y sus conjugados**

30 Prioridad:

18.06.2015 US 201562181277 P

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

13.10.2020

73 Titular/es:

**RAMOT AT TEL-AVIV UNIVERSITY LTD. (100.0%)
 P.O. Box 39296
 6139201 Tel-Aviv, IL**

72 Inventor/es:

**SHABAT, DORON;
 SATCHI-FAINARO, RONIT;
 GNAIM, SAMER y
 SCOMPARIN, ANNA**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 786 725 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

Fármacos heteroaromáticos que pueden marcarse y sus conjugados

Campo técnico

5 La presente invención proporciona derivados de fármacos basados en heteroareno que contienen un grupo cetona que puede participar en una reacción "click", así como conjugados de dichos derivados de fármacos con restos de transporte dirigido capaces de unirse a antígenos extracelulares, y composiciones farmacéuticas de estos.

10 Abreviaturas: ACN, acetonitrilo; AcOH, ácido acético; Ac₂O, anhídrido acético; CHCl₃, cloroformo; CPT, camptotecina; DBTL, dilaurato de dibutil-estaño; DCM, diclorometano; DMAP, dimetilaminopiridina; DMF, dimetilformamida; DMSO, sulfóxido de dimetilo; Et₂O, éter dietílico; EtOAc, acetato de etilo; EtOH, etanol; FBS, suero bovino fetal ("fetal bovine serum"); FR, receptor de folato; Hex, *n*-hexano; HBTU, hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio; HMPA, hexametilfosforamida [?]; HMTA, hexametilentetraamina; HPLC, cromatografía líquida de alta presión ("high pressure liquid chromatography"); LHMS, hexametildisilazida de litio; MeOH, metanol; MTX, metotrexato; PBS, disolución salina tamponada con fosfato ("phosphate buffered saline"); PEG, polietilenglicol; PTSA, ácido *p*-toluensulfónico; RPMI, Roswell Park Memorial Institute; TBHP, terc-butilhidroperóxido; TFA, ácido trifluoroacético; THF, tetrahidrofurano; TLC, cromatografía en capa fina ("thin layer chromatography"); TMZ, temozolomida; TsOH, ácido *p*-toluensulfónico.

Antecedentes de la técnica

20 La bioconjugación es una herramienta fundamental en la biología química para lograr la liberación controlada de una molécula pequeña con actividad medicinal. Generalmente, se consigue a través de una modificación quimioselectiva de grupos funcionales nativos presentes sobre la molécula diana (Zhou *et al.*, 2013a). Por ejemplo, las aminas pueden derivatizarse quimioselectivamente a través de enlaces amida, azidas o acetilenos a través de la reacción "click" (Kolb *et al.*, 2001) y los grupos carbonilo a través del acoplamiento de oximas (Ulrich *et al.*, 2014). Aunque muchos agentes medicinales contienen grupos funcionales "marcables" tradicionales, algunos compuestos constituyen un reto porque no tienen asas químicas aparentes. Para aumentar la complejidad, algunas moléculas requieren un asa ortogonal para la bioconjugación.

30 En fechas recientes, se ha introducido un método de funcionalización de C-H general para el marcaje de heteroarenos, más en concreto de fármacos basados en heteroareno, por el grupo de Baran (Gui *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2013b; Fujiwara *et al.*, 2012; Bruckl *et al.*, 2012; Ji *et al.*, 2011). Según este método, un reactivo de sulfonato que contiene azida, más específicamente (difluoroalquilazido)sulfonato de sodio, permite añadir un apéndice de cadena de azidoalquilo sobre un compuesto heteroaromático, y el fármaco unido a azida sintetizado después se une a un anticuerpo monoclonal, a través de un conector que contiene succinimida, haciéndolo reaccionar con un anticuerpo monoclonal que contiene dibenzoazocan-4-ino (denominado en la publicación dibencilazaciclooctino) en una cicloadición de azina-alquino sin cobre, para obtener un conjugado de fármaco-anticuerpo.

Sumario de la invención

35 La presente invención se refiere a una nueva estrategia de conectores químicos para la construcción de conjugados fotolábiles o sensibles a ácidos, por ejemplo, conjugados de folato, de fármacos basados en heteroareno o reactivos bioactivos, incluyendo aquellos que *a priori* no tienen opciones de marcaje o estas son limitadas, y que demuestra la eficacia y las propiedades químicas de dichos conjugados. La principal ventaja de esta metodología es la capacidad para introducir un grupo cetona que puede participar en una reacción "click" en la molécula del fármaco basado en heteroareno, al mismo tiempo que conserva su actividad biológica. Tras la hidrólisis bajo condiciones ligeramente ácidas, concretamente, condiciones fisiológicas, el conjugado de fármaco libera el fármaco funcionalizado a unas tasas de liberación amplias.

En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I:



45 en la que:

Y es un fármaco o un reactivo bioactivo, que comprende un anillo heteroaromático y está unido a través de un átomo de carbono de dicho anillo heteroaromático:

50 X es carbonilo, o cetal cíclico sustituido con 1 a 4 grupos, siendo cada uno independientemente fenilo o naftilo sustituido en orto con respecto al carbono de la unión con -NO₂, y opcionalmente sustituido además en cualquier posición distinta de la posición en orto con respecto al carbono de la unión con uno o más grupos, cada uno seleccionado independientemente de -O-(C₁-C₈), -alquilo (C₁-C₈), -N(R')₂, o halógeno, en la que cada R' es independientemente -alquilo (C₁-C₈) o H;

R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OR₃, -CO-R₃, -CO-OR₃, -OCO-OR₃, -OCO-N(R₃)₂, -CN, -NO₂, -SR₃, -N(R₃)₂, -CO-N(R₃)₂, -alquilo (C₁-C₈), -alqueno (C₂-C₈), -alquino (C₂-C₈), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-

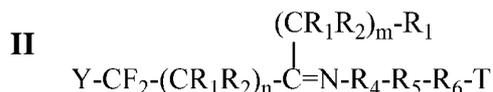
C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros;

R₃ es H, -alquilo (C₁-C₁₈), -alquenilo (C₂-C₁₈), o -alquinilo (C₂-C₁₈); y

n y m son cada uno independientemente un número entero de 1-8,

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

5 En otro aspecto, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II:



en la que:

Y es un fármaco o un reactivo bioactivo, que comprende un anillo heteroaromático y está unido a través de un átomo de carbono de dicho anillo heteroaromático:

10 R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OR₃, -CO-R₃, -CO-OR₃, -OCO-OR₃, -OCO-N(R₃)₂, -CN, -NO₂, -SR₃, -N(R₃)₂, -CO-N(R₃)₂, -alquilo (C₁-C₈), -alquenilo (C₂-C₈), -alquinilo (C₂-C₈), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros;

R₃ es H, -alquilo (C₁-C₁₈), -alquenilo (C₂-C₁₈), o -alquinilo (C₂-C₁₈);

15 R₄ está ausente, o se selecciona de -NH-(CH₂)_p-, -NH-CO-(CH₂)_p-, -NH-CO-NH-(CH₂)_p-, -NH-CO-O-(CH₂)_p-, -O-(CH₂)_p-, -O-CO-(CH₂)_p-, -O-CO-NH-(CH₂)_p-, o -O-CO-O-(CH₂)_p-;

R₅ es un resto de carbohidrato, péptido, proteína o polímero;

R₆ es H, -(CH₂)_y-OH, -(CH₂)_y-SH, -(CH₂)_y-NH₂, -(CH₂)_y-COOH, -(CH₂)_y-SO₃H, o un radical divalente seleccionado de -(CH₂)_y-O-, -(CH₂)_y-S-, -(CH₂)_y-NH-, -(CH₂)_y-COO- o -(CH₂)_y-SO₃-;

n y m son cada uno independientemente un número entero de 1-8;

20 p e y son cada uno independientemente un número entero de 0-8; y

T está ausente, o es un resto de transporte dirigido capaz de unirse a un antígeno extracelular y que está unido a través de uno de sus grupos funcionales, con la condición de que cuando T está ausente, R₆ no es un radical divalente, y cuando T es un resto de transporte dirigido, R₆ es un radical divalente,

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

25 En un caso concreto de este aspecto, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, en la que R₆ es H, -(CH₂)_y-OH, -(CH₂)_y-SH, -(CH₂)_y-NH₂, -(CH₂)_y-COOH, o -(CH₂)_y-SO₃H, en la que y es un número entero de 0-8, y T está ausente; y en otro caso concreto de este aspecto, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, en la que R₆ es un radical divalente, y T es un resto de transporte dirigido capaz de unirse a un antígeno extracelular.

30 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, según se definió anteriormente, en la que X no es carbonilo; o un conjugado de fórmula II, según se definió anteriormente, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, denominado también en la presente el agente activo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

35 El agente activo, según se denomina en la presente, puede usarse para la prevención, el tratamiento o la gestión de diversas enfermedades, trastornos o indicaciones que pueden tratarse mediante la administración del fármaco o un reactivo bioactivo Y que forma parte de dicho compuesto o conjugado.

40 En la presente también se describe un método para el tratamiento de un cáncer en un individuo que lo necesita, que comprende administrar a dicho individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado de fórmula II, según se definió anteriormente, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que Y es un fármaco anticáncer o un fármaco antineoplásico, y dicho resto de transporte dirigido es capaz de unirse a un antígeno extracelular presente sobre las células de dicho cáncer.

45 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un conjugado de fórmula II, según se definió anteriormente, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que Y es un fármaco anticáncer o un fármaco antineoplásico, y dicho resto de transporte dirigido es capaz de unirse a un antígeno extracelular presente sobre las células de dicho cáncer, para su uso en el tratamiento del cáncer.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra esquemáticamente la estrategia de bioconjugación descrita en la presente, así como la hidrólisis del bioconjugado que libera el derivado de fármaco.

5 Las figuras 2A-2C muestran ensayos de inhibición del crecimiento de células tumorales con CPT (2A), TMZ (2B), y bosutinib (2C) frente a sus análogos de cetona.

La figura 3 muestra un ensayo de viabilidad celular de CPT y CPT-cetona 2a en seis líneas celulares diferentes.

La figura 4 muestra un ensayo de viabilidad celular de bosutinib y bosutinib-centona 4a en diferentes líneas celulares.

10 Las figuras 5A-5B muestran la liberación de CPT-cetona 2a con y sin irradiación del profármaco 6 (5A); y un ensayo de inhibición del crecimiento de células de glioblastoma primario humano U-87 con CPT-cetona 2a y el profármaco 6 antes y después de la irradiación (5B).

La figura 6 muestra la tasa de hidrólisis de CPT-cetona-semicarbazona-PEG-FA 7 como una función del tiempo después de la incubación en tampón a pH 4,8, 6,0, 6,5, 7,0 y 7,4, a 37°C.

15 Las figuras 7A-7B muestran la medición de la afinidad de unión del folato-conjugado 7 a receptores FR usando células KB con alta expresión de FR (7A); y un ensayo de citotoxicidad con el conjugado de CPT-ácido fólico 7 usando células KB HiFR (7B).

Descripción detallada

20 Según el método de funcionalización de C-H desarrollado por el grupo de Baran y analizado anteriormente, un reactivo de sulfinato que contiene azida permite la adición de una cadena de azidoalquilo a un fármaco basado en heteroareno, y el fármaco unido a azida sintetizado después se une a un anticuerpo monoclonal, a través de un conector, haciéndolo reaccionar con un anticuerpo monoclonal que contiene dibenzoazocan-4-ino en una cicloadición de azina-alquino sin cobre, para obtener un conjugado de fármaco-anticuerpo. Baran no muestra la hidrólisis del conjugado de fármaco obtenido como una función del pH y el tiempo de incubación; sin embargo, puede postularse que tras la hidrólisis en condiciones fisiológicas, se libera el fármaco-difluoroalquileo-azida o el fármaco-difluoroalquileo-8,9-dihidro-1H-dibenzo[b,f][1,2,3]triazolo[4,5-d]azocina. Tal como se sabe en la actualidad, un fármaco unido a azida pierde la mayoría, concretamente hasta 99%, de su actividad biológica, comparado con el fármaco no derivatizado (nativo).

30 Ahora se ha descubierto, según la presente invención, que los fármacos basados en heteroareno, es decir, los fármacos que comprenden un anillo heteroaromático, que carecen de un grupo funcional apropiado para la química de conectores, pueden funcionalizarse usando un reactivo de sulfinato alquilante que porta un grupo funcional cetona protegido, recientemente desarrollado por los presentes inventores, más en concreto 1,1-difluoro-4-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)butan-1-sulfinato de sodio a través de una síntesis en una etapa. Tal como se ha descubierto, de forma sorprendente, un derivado de un fármaco basado en heteroareno preparado usando dicho reactivo de sulfinato alquilante conserva la actividad biológica del fármaco no derivatizado.

35 La introducción de un grupo cetona que puede participar en una reacción "click" en la molécula del fármaco basado en heteroareno permite la bioconjugación de la molécula de fármaco a través de un enlace hidrazona lábil frente a ácidos o a través de un cetil fotolábil, para aplicaciones de liberación controlada. Cuando se requiere un enlace estable, también puede usarse el acoplamiento de oximas para unir el resto marcado con cetona y un derivado de amina-oxi. En efecto, tal como se demuestra a continuación en la presente, los derivados de fármacos, según se describieron anteriormente, pueden bioconjugarse a través de un conector, tal como polietilenglicol (PEG) o un pseudoPEG, que tenga grupos funcionales adecuados, con un resto de transporte dirigido capaz de unirse a un antígeno extracelular, por ejemplo, un anticuerpo, azúcar, lectina, hormona, peptidomimético, o ácido fólico, según se ejemplifica en la presente, como se ilustra esquemáticamente en el esquema 1.

45 Tras la hidrólisis bajo condiciones ligeramente ácidas (pH 4,8-6,0) que pueden imitar los entornos endosómicos y liposómicos, el conjugado de fármaco libera el fármaco funcionalizado a unas tasas amplias de liberación. La estrategia de bioconjugación descrita en la presente, así como la hidrólisis del bioconjugado que libera el derivado de fármaco, se ilustra esquemáticamente en la figura 1.

En un aspecto, por tanto, la presente invención proporciona un compuesto, también denominado en la presente "derivado de fármaco", de fórmula I:

50 I
$$Y-CF_2-(CR_1R_2)_n-X-(CR_1R_2)_m-R_1$$

en la que:

Y es un fármaco o un reactivo bioactivo, que comprende un anillo heteroaromático y está unido a través de un átomo de carbono de dicho anillo heteroaromático:

- 5 X es carbonilo, o cetal cíclico sustituido con 1 a 4 grupos, siendo cada uno independientemente fenilo o naftilo sustituido en orto con respecto al carbono de la unión con $-\text{NO}_2$, y opcionalmente sustituido además en cualquier posición distinta de la posición en orto con respecto al carbono de la unión con uno o más grupos, cada uno seleccionado independientemente de $-\text{O}(\text{C}_1\text{-C}_8)$, $-\text{alquilo} (\text{C}_1\text{-C}_8)$, $-\text{N}(\text{R}')_2$, o halógeno, en la que cada R' es independientemente $-\text{alquilo} (\text{C}_1\text{-C}_8)$ o H;
- R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, $-\text{OR}_3$, $-\text{CO-R}_3$, $-\text{CO-OR}_3$, $-\text{OCO-OR}_3$, $-\text{OCO-N}(\text{R}_3)_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SR}_3$, $-\text{N}(\text{R}_3)_2$, $-\text{CO-N}(\text{R}_3)_2$, $-\text{alquilo} (\text{C}_1\text{-C}_8)$, $-\text{alqueno} (\text{C}_2\text{-C}_8)$, $-\text{alquino} (\text{C}_2\text{-C}_8)$, cicloalquilo ($\text{C}_3\text{-C}_{10}$), arilo ($\text{C}_6\text{-C}_{14}$), o heterociclilo de 4-12 miembros;
- R₃ es H, $-\text{alquilo} (\text{C}_1\text{-C}_{18})$, $-\text{alqueno} (\text{C}_2\text{-C}_{18})$, o $-\text{alquino} (\text{C}_2\text{-C}_{18})$; y
- 10 n y m son cada uno independientemente un número entero de 1-8,
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- El término "halógeno", tal como se emplea en la presente, se refiere a un halógeno e incluye flúor, cloro, bromo y yodo, y es preferiblemente flúor o cloro.
- 15 El término "alquilo", tal como se emplea en la presente, generalmente significa un radical hidrocarbonado saturado lineal o ramificado que tiene 1-18 átomos de carbono e incluye, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, isobutilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo, isoamilo, 2,2-dimetilpropilo, *n*-hexilo, *n*-heptilo, *n*-octilo, *n*-nonilo, *n*-decilo, *n*-undecilo, *n*-dodecilo, *n*-tridecilo, *n*-tetradecilo, *n*-pentadecilo, *n*-hexadecilo, *n*-heptadecilo, *n*-octadecilo, y similares. Se prefieren los grupos alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$), más preferiblemente los grupos alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_4$), y lo más preferiblemente metilo, etilo o propilo. Los términos "alqueno" y "alquino" generalmente significan radicales hidrocarbonados lineales y ramificados que tienen 2-18 átomos de carbono y 1 doble o triple enlace, respectivamente, e incluyen etenilo, propenilo, 3-butenilo, 2-etenilbutilo, 1- y 2-pentenilo, 1-, 2- y 3-hexenilo, 1-, 2-, 3- y 4-heptenilo, 1-, 2-, 3- y 4-octenilo, 1-, 2-, 3- y 4-nonenilo, 1-, 2-, 3-, 4- y 5-decenilo, y similares, y propinilo, 2-butinilo, 1- y 2-pentinilo, 1-, 2- y 3-hexinilo, 1-, 2-, 3- y 4-heptinilo, 1-, 2-, 3- y 4-octinilo, 1-, 2-, 3- y 4-noninilo, 1-, 2-, 3-, 4- y 5-decinilo, y similares, y se prefieren los radicales alqueno y alquino $\text{C}_2\text{-C}_6$, más preferiblemente alqueno $\text{C}_2\text{-C}_4$ y alquino $\text{C}_2\text{-C}_4$. El alquilo, alqueno y alquino definidos en la presente pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más grupos seleccionados cada uno independientemente de $-\text{OR}'$, $-\text{COR}'$, $-\text{COOR}'$, $-\text{OCOR}'$, $-\text{OCON}(\text{R}')_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SR}'$, $-\text{alquilo} (\text{C}_1\text{-C}_8)$, $-\text{N}(\text{R}')_2$, $-\text{CON}(\text{R}')_2$, $-\text{SO}_2\text{R}'$, $-\text{SO}_2\text{NHR}'$, o $-\text{S}(=\text{O})\text{R}'$, en los que R' es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$) no sustituido.
- 20 El término "alqueno", tal como se emplea en la presente, generalmente significa un radical hidrocarbonado lineal o ramificado divalente que tiene 1-8 átomos de carbono e incluye, por ejemplo, metileno, etileno, propileno, butileno, 2-metilpropileno, pentileno, 2-metilbutileno, hexileno, 2-metilpentileno, 3-metilpentileno, 2,3-dimetilbutileno, heptileno, octileno y similares. Se prefiere alqueno ($\text{C}_3\text{-C}_8$), más preferiblemente alqueno ($\text{C}_3\text{-C}_6$).
- 25 El término "cicloalquilo", tal como se emplea en la presente, significa un grupo hidrocarbilo cíclico o bicíclico que tiene 3-10 átomos de carbono, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, adamantilo, biciclo[3.2.1]octilo, biciclo[2.2.1]heptilo y similares. Se prefieren los cicloalquilos ($\text{C}_5\text{-C}_{10}$), más preferiblemente cicloalquilos ($\text{C}_5\text{-C}_7$). El cicloalquilo definido en la presente puede estar opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados cada uno independientemente de $-\text{OR}'$, $-\text{COR}'$, $-\text{COOR}'$, $-\text{OCOR}'$, $-\text{OCON}(\text{R}')_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SR}'$, $-\text{alquilo} (\text{C}_1\text{-C}_8)$, $-\text{N}(\text{R}')_2$, $-\text{CON}(\text{R}')_2$, $-\text{SO}_2\text{R}'$, $-\text{SO}_2\text{NHR}'$, o $-\text{S}(=\text{O})\text{R}'$, en los que R' es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$) no sustituido.
- 30 El término "arilo" indica un grupo carbocíclico aromático que tiene 6-14 átomos de carbono que consiste en un único anillo o múltiples anillos condensados o unidos mediante un enlace covalente, tales como, pero sin limitarse a fenilo, naftilo, fenantrilo, y bifenilo. El arilo definido en la presente puede estar sustituido opcionalmente con uno o más grupos seleccionados cada uno independientemente de $-\text{OR}'$, $-\text{COR}'$, $-\text{COOR}'$, $-\text{OCOR}'$, $-\text{OCON}(\text{R}')_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SR}'$, $-\text{alquilo} (\text{C}_1\text{-C}_8)$, $-\text{N}(\text{R}')_2$, $-\text{CON}(\text{R}')_2$, $-\text{SO}_2\text{R}'$, $-\text{SO}_2\text{NHR}'$, o $-\text{S}(=\text{O})\text{R}'$, en los que R' es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$) no sustituido.
- 35 La expresión "anillo heterocíclico" indica un anillo no aromático monocíclico o policíclico de 4-12 átomos que contiene al menos un átomo de carbono y de uno o tres heteroátomos seleccionados de azufre, oxígeno o nitrógeno, que puede estar saturado o insaturado, es decir, que contiene al menos un enlace insaturado. Se prefieren los anillos heterocíclicos de 5 o 6 miembros. El término "heterociclilo", tal como se emplea en la presente, se refiere a cualquier radical univalente derivado de un anillo heterocíclico, según se define en la presente, mediante la retirada del hidrógeno de cualquier átomo del anillo. Los ejemplos de dichos radicales incluyen, sin limitación, piperidino, 4-morfolinilo, o pirrolidinilo. El heterociclilo definido en la presente puede estar opcionalmente sustituido, en cualquier posición del anillo, con uno o más grupos seleccionados cada uno independientemente de $-\text{OR}'$, $-\text{COR}'$, $-\text{COOR}'$, $-\text{OCOR}'$, $-\text{OCON}(\text{R}')_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SR}'$, $-\text{alquilo} (\text{C}_1\text{-C}_8)$, $-\text{N}(\text{R}')_2$, $-\text{CON}(\text{R}')_2$, $-\text{SO}_2\text{R}'$, $-\text{SO}_2\text{NHR}'$, o $-\text{S}(=\text{O})\text{R}'$, en los que R' es H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$) no sustituido.
- 40 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, en la que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, $-\text{OR}_3$, $-\text{CO-R}_3$, $-\text{CO-OR}_3$, $-\text{OCO-OR}_3$, $-\text{OCO-N}(\text{R}_3)_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SR}_3$, $-\text{N}(\text{R}_3)_2$, -

CO-N(R₃)₂, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), -alquinilo (C₂-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros, en la que R₃ es H, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), o -alquinilo (C₂-C₄). De estas realizaciones, se prefieren aquellas en las que R₃ es H, metilo, etilo o propilo, más preferiblemente H.

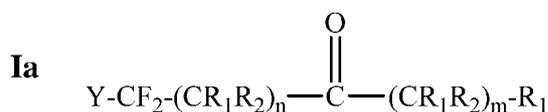
5 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, en la que n es 3, 4 o 5, preferiblemente 3; o m es 1, 2 o 3, preferiblemente 1.

10 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, en la que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OR₃, -CO-R₃, -CO-OR₃, -OCO-OR₃, -OCO-N(R₃)₂, -CN, -NO₂, -SR₃, -N(R₃)₂, -CO-N(R₃)₂, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), -alquinilo (C₂-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros, en la que R₃ es H, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), o -alquinilo (C₂-C₄), preferiblemente H, metilo, etilo o propilo; n es 3, 4 o 5, preferiblemente 3; y m es 1, 2 o 3, preferiblemente 1. En concreto, en estas realizaciones se incluyen aquellas en las que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OH, -COH, -COOH, -OCOOH, -OCO-NH₂, -CN, -NO₂, -SH, -NH₂, -CO-NH₂, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), -alquinilo (C₂-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros; n es 3; y m es 1. Más en concreto, en estas realizaciones se incluyen aquellas en las que R₁ y R₂ son H.

15 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, en la que el fármaco o reactivo bioactivo Y se selecciona de fármacos anticáncer, fármacos antineoplásicos, fármacos antifúngicos, fármacos antibacterianos, fármacos antivíricos, fármacos cardíacos, fármacos neurológicos, fármacos psicoactivos, tales como cafeína, fármacos de abuso, es decir, fármacos que se toman por razones no médicas (habitualmente por sus efectos para alterar la mente), alcaloides, antibióticos, péptidos bioactivos, esteroides, hormonas esteroideas, hormonas peptídicas (por ejemplo, polipeptídicas), interferones, interleuquinas, narcóticos, ácidos nucleicos, plaguicidas o prostaglandinas.

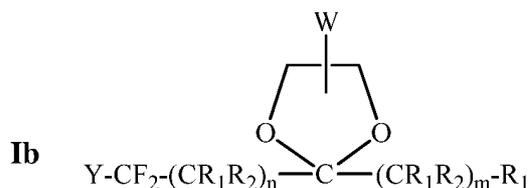
20 En concreto, en estas realizaciones, el fármaco o agente bioactivo Y es un fármaco anticáncer, tal como un fármaco quimioterapéutico, por ejemplo, camptotecina o uno de sus derivados, tales como 10-hidroxicamptotecina o cualquier otra camptotecina sustituida en la posición 7, 9 o 10 (según se describe en Basil y Moro, *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2009, 19(5), 555-574), bosutinib, o metotrexato, previamente conocido como ametopterina; o un fármaco antineoplásico, tal como un agente antineoplásico alquilante, por ejemplo, temozolomida, uramustina o bendamustina.

25 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, según se definió en una cualquiera de las anteriores realizaciones, en la que X es carbonilo, es decir, un compuesto de fórmula Ia:



Los compuestos concretos de fórmula Ia son aquellos en los que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OH, -COH, -COOH, -OCOOH, -OCO-NH₂, -CN, -NO₂, -SH, -NH₂, -CO-NH₂, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), -alquinilo (C₂-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros, preferiblemente H; n es 3; y m es 1. Dentro de estos compuestos, los compuestos específicos ejemplificados en la presente son los compuestos en los que R₁ y R₂ son H; n es 3; m es 1; y el resto de fármaco Y es CPT, TMZ, bosutinib o MTX, identificados en la presente como los compuestos 2a, 3a, 4a y 5a, respectivamente.

35 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, según se definió en una cualquiera de las anteriores realizaciones, en la que X es un cetral cíclico sustituido como se definió anteriormente, es decir, un compuesto de fórmula Ib. Tal como se demuestra en la presente, dichos compuestos son, de hecho, profármacos para los correspondientes compuestos en los que X es carbonilo, y se convierten en dichos correspondientes compuestos tras su exposición a una irradiación, por ejemplo, irradiación de UV, según se ejemplifica en la presente, o una irradiación visible o cercana al infrarrojo.



W = 1-4 grupos, siendo cada uno fenilo o naftilo sustituido como se definió anteriormente

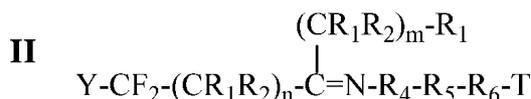
45 En concreto, en dichas realizaciones, X es un cetral cíclico sustituido con 1 o 2 grupos que son, cada uno

independientemente, fenilo sustituido en orto con respecto al carbono de la unión con -NO₂, -CN, o -COO-alquilo (C₁-C₄), preferiblemente -NO₂, y opcionalmente sustituido además en cualquier posición distinta de la posición en orto con respecto al carbono de la unión con uno o más grupos, cada uno seleccionado independientemente de -O- (C₁-C₄), preferiblemente -O-(C₁-C₂), más preferiblemente -OCH₃. Más en concreto, en dichas realizaciones, X es un cetal cíclico sustituido con un grupo 4,5-dimetoxi-2-nitrofenilo, o un cetal cíclico sustituido con dos grupos 4,5-dimetoxi-2-nitrofenilo, en los que cada uno de dichos grupos está unido a un átomo de carbono diferente del cetal.

En concreto, estos compuestos son aquellos en los que X es un cetal cíclico sustituido con un grupo 4,5-dimetoxi-2-nitrofenilo; R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OH, -COH, -COOH, -OCOOH, -OCO-NH₂, -CN, -NO₂, -SH, -NH₂, -CO-NH₂, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), -alquinilo (C₂-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros, preferiblemente H; n es 3; y m es 1. De modo específico, dichos compuestos son aquellos en los que R₁ y R₂ son H; n es 3; m es 1; y el resto de fármaco Y es CPT (identificado en la presente como el compuesto 6), TMZ, bosutinib, o MTX.

Los derivados de fármaco de fórmula I, en la que X es carbonilo, pueden sintetizarse según cualquier tecnología o procedimiento conocido en la técnica, por ejemplo, a través de una síntesis en una etapa usando el reactivo de sulfinato alquilante 1,1-difluoro-4-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)butan-1-sulfinato, tal como se describe en la sección de ejemplos a continuación, con respecto, por ejemplo, a CPT, TMZ, bosutinib y MTX. La conversión de estos derivados de fármaco en sus correspondientes profármacos, en los que X es un cetal cíclico sustituido, según se definió anteriormente, puede realizarse, por ejemplo, haciendo reaccionar dichos derivados de fármaco con etilenglicol sustituido en uno o ambos de sus átomos de carbono, por ejemplo, con un grupo 4,5-dimetoxi-2-nitrofenilo, según se describe en la sección de ejemplos con respecto a uno de estos profármacos de CPT, identificado en la presente como el compuesto 6.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II:



en la que:

Y es un fármaco o un reactivo bioactivo, que comprende un anillo heteroaromático y está unido a través de un átomo de carbono de dicho anillo heteroaromático:

R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OR₃, -CO-R₃, -CO-OR₃, -OCO-OR₃, -OCO-N(R₃)₂, -CN, -NO₂, -SR₃, -N(R₃)₂, -CO-N(R₃)₂, -alquilo (C₁-C₈), -alquenilo (C₂-C₈), -alquinilo (C₂-C₈), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros;

R₃ es H, -alquilo (C₁-C₁₈), -alquenilo (C₂-C₁₈), o -alquinilo (C₂-C₁₈);

R₄ está ausente, o se selecciona de -NH-(CH₂)_p-, -NH-CO-(CH₂)_p-, -NH-CO-NH-(CH₂)_p-, -NH-CO-O-(CH₂)_p-, -O-(CH₂)_p-, -O-CO-(CH₂)_p-, -O-CO-NH-(CH₂)_p-, o -O-CO-O-(CH₂)_p-;

R₅ es un resto de carbohidrato, péptido, proteína o polímero;

R₆ es H, -(CH₂)_y-OH, -(CH₂)_y-SH, -(CH₂)_y-NH₂, -(CH₂)_y-COOH, -(CH₂)_y-SO₃H, o un radical divalente seleccionado de -(CH₂)_y-O-, -(CH₂)_y-S-, -(CH₂)_y-NH-, -(CH₂)_y-COO- o -(CH₂)_y-SO₃-;

n y m son cada uno independientemente un número entero de 1-8;

p e y son cada uno independientemente un número entero de 0-8; y

T está ausente, o es un resto de transporte dirigido capaz de unirse a un antígeno extracelular y que está unido a través de uno de sus grupos funcionales, con la condición de que cuando T está ausente, R₆ no es un radical divalente, y cuando T es un resto de transporte dirigido, R₆ es un radical divalente,

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, en la que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OR₃, -CO-R₃, -CO-OR₃, -OCO-OR₃, -OCO-N(R₃)₂, -CN, -NO₂, -SR₃, -N(R₃)₂, -CO-N(R₃)₂, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), -alquinilo (C₂-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros, en la que R₃ es H, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), o -alquinilo (C₂-C₄). De estas realizaciones, se prefieren las que R₃ es H, metilo, etilo o propilo, más preferiblemente H.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, en la que n es 3, 4 o 5, preferiblemente 3; o m es 1, 2 o 3, preferiblemente 1.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, en la que R_4 es $-NH-CO-(CH_2)_p-$ o $-NH-CO-NH-(CH_2)_p-$, en la que p es un número entero de 0-8.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, en la que R_5 es un resto de polímero, más específicamente un resto de polímero hidrosoluble biocompatible y biodegradable. Dicho polímero puede seleccionarse de un PEG lineal o ramificado, o sus copolímeros; un pseudoPEG interrumpido por al menos un grupo, preferiblemente seleccionado cada uno independientemente de $-NH-CO-$, $-CO-NH-$, o alquileno (C_3-C_8) interrumpido por al menos dos grupos seleccionados cada uno independientemente de $-NH-CO-$ o $-CO-NH-$; poli(ácido láctico) o sus copolímeros; poliésteres seleccionados de polilactida (PLA), poliglicólido (PGA), policaprolactona (PCL) o sus copolímeros; o poliamidas basadas en polimetacrilamida o sus copolímeros.

El término "pseudoPEG", tal como se emplea en la presente, se refiere a una cadena hidrófila que tiene grandes similitudes estructurales con la cadena de PEG, que se diferencia por la presencia de uno o más, por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro o más grupos, tales como éster ($-CO-O-$, $-O-CO-$), amida ($-CO-NH-$, $-NH-CO-$), carbamato ($-O-CO-NH-$, $-NH-CO-O-$), urea ($-NH-CO-NH-$), y alquileno (C_3-C_8) interrumpido por al menos dos grupos seleccionados cada uno independientemente de éster, amida, carbamato y urea, dentro de él. Según la presente invención, el "pseudoPEG" puede consistir, de hecho, en una única cadena de PEG interrumpida como se definió anteriormente, o dos o más cadenas de PEG separadas, en la que cada pareja de estas cadenas de PEG están unidas entre sí a través de un grupo, tales como los listados anteriormente.

En concreto, en dichas realizaciones, R_5 es un resto de polímero, y dicho polímero es un PEG lineal o ramificado, o un pseudoPEG interrumpido por al menos un grupo, seleccionado cada uno independientemente de $-NH-CO-$, $-CO-NH-$, o alquileno (C_3-C_8) interrumpido por al menos dos grupos seleccionados cada uno independientemente de $-NH-CO-$ o $-CO-NH-$, preferiblemente en el que dicho PEG o pseudoPEG tiene un peso molecular de 150-20000 Da (PEG/pseudoPEG₁₅₀ a PEG/pseudoPEG_{20.000}), más preferiblemente 500-2000 Da (PEG/pseudoPEG₅₀₀-PEG/pseudoPEG₂₀₀₀) o 500-1000 Da (PEG/pseudoPEG₅₀₀-PEG/pseudoPEG₁₀₀₀), por ejemplo, un pseudoPEG que tiene la estructura $-(CH_2-CH_2-O)_3-(CH_2)_3-NH-CO-(CH_2)_2-CO-NH-(CH_2)_3-(O-CH_2-CH_2)_3$ como se ejemplifica en la presente, es decir, un pseudoPEG que consiste en dos cadenas de PEG separadas unidas a través de una cadena de alquileno (C_8) interrumpida de fórmula $-(CH_2)_3-NH-CO-(CH_2)_2-CO-NH-(CH_2)_3-$.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, en la que R_5 es un resto de proteína, y dicha proteína es albúmina, tal como albúmina de suero humana ("human serum albumin", HSA), una albúmina modificada, tal como albúmina de suero bovina cationizada ("cationized bovine serum albumin", CBSA) o una albúmina de suero humana cationizada ("cationized human serum albumin", CHSA), o una proteína que contiene dominios similares a globina que tiene una semivida larga en la circulación, tal como hemoglobina A o S.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, en la que R_5 es un resto de péptido, por ejemplo, un oligopéptido o polipéptido.

El término "péptido", tal como se emplea en la presente, se refiere a una cadena de monómeros de aminoácidos (restos) unidos por enlaces peptídicos, es decir, el enlace covalente formado cuando un grupo carboxilo de un aminoácido reacciona con un grupo amino de otro. Estos péptidos incluyen oligopéptidos y polipéptidos, así como péptidos que consisten en más de 50 monómeros de aminoácidos que son, de hecho, proteínas de peso molecular bajo o mediano.

En ciertas realizaciones, el péptido es un dipéptido, tripéptido o tetrapéptido que consiste en 2, 3 o 4 restos aminoácidos, respectivamente, o consiste en 5-50, 5-40, 5-30, 5-20, 5-15 o 5-10 restos aminoácidos y está configurado como un péptido lineal, un péptido cíclico, un péptido bicíclico o una de sus combinaciones. Más en concreto en dichas realizaciones, dicho péptido es un polipéptido que consiste en 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 restos aminoácidos. Todos estos péptidos pueden consistir en restos aminoácidos naturales y no naturales.

El término "aminoácido", tal como se emplea en la presente, se refiere a un compuesto orgánico que comprende grupos funcionales amina y ácido carboxílico, que puede ser un aminoácido natural o no natural. Los veintidós aminoácidos naturales son ácido aspártico (Asp), tirosina (Tyr), leucina (Leu), triptófano (Trp), arginina (Arg), valina (Val), ácido glutámico (Glu), metionina (Met), fenilalanina (Phe), serina (Ser), alanina (Ala), glutamina (Gln), glicina (Gly), prolina (Pro), treonina (Thr), asparagina (Asn), lisina (Lys), histidina (His), isoleucina (Ile), cisteína (Cys), selenocisteína (Sec), y pirrolisina (Pyl). Los ejemplos no limitantes de aminoácidos no naturales incluyen ácido diaminopropiónico (Dap), ácido diaminobutírico (Dab), ornitina (Orn), ácido aminoadípico, β -alanina, 1-naftilalanina, 3-(1-naftil)alanina, 3-(2-naftil)alanina, ácido γ -aminobutírico (GABA), ácido 3-(aminometil)benzoico, *p*-etilfenilalanina, *p*-propargiloxifenilalanina, *m*-etilfenilalanina, *p*-bromofenilalanina, *p*-yodofenilalanina, *p*-azidofenilalanina, *p*-acetilfenilalanina, azidonorleucina, 6-etilnriptófano, 5-etilnriptófano, 3-(6-cloroindolil)alanina, 3-(6-bromoindolil)alanina, 3-(5-bromoindolil)alanina, azidohomoalanina, *p*-clorofenilalanina, ácido α -aminocaprílico, *O*-metil-L-tirosina, N-acetilgalactosamina- α -treonina, y N-acetilgalactosamina- α -serina.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, en la que R_5 es un resto de carbohidrato.

El término "carbohidrato" se refiere a una molécula que contiene átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno. El

carbohidrato puede ser cíclico o lineal, estar saturado o insaturado y estar sustituido o no sustituido. Preferiblemente, el resto de carbohidrato comprende uno o más restos sacáridos. La expresión "resto sacárido", tal como se emplea en la presente, incluye cualquier resto de un resto azúcar, incluyendo monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Como alternativa, el sacárido puede ser un derivado de sacárido, tal como, pero sin limitarse a sacáridos de glucósidos, éteres, ésteres, ácidos y amino. Los monosacáridos consisten en una única molécula de azúcar que no puede descomponerse más mediante hidrólisis. Los ejemplos de monosacáridos incluyen, sin limitación, pentosas, tales como, pero sin limitarse a arabinosa, xilosa y ribosa. Los oligosacáridos son cadenas compuestas por unidades de sacárido. Tal como se define habitualmente en la técnica y en la presente, los oligosacáridos están compuestos de hasta nueve unidades de sacárido. Los ejemplos de oligosacáridos incluyen, sin limitación, disacáridos, tales como, pero sin limitarse a sacarosa, maltosa, lactosa y celobiosa; trisacáridos, tales como, pero si limitarse a manotriosa, rafinosa y melezitosa; y tetrasacáridos, tal como amilopectina, sialil Lewis X (SiaLex) y similares. El término "polisacárido" se refiere a un compuesto formado por al menos 10 unidades de sacárido y hasta cientos e incluso miles de unidades de monosacárido por molécula, que se mantienen juntas mediante enlaces glicosídicos y varían en su peso molecular de aproximadamente 5.000 hasta millones de daltons. Los ejemplos no limitantes de polisacáridos habituales incluyen almidón, glucógeno, celulosa, goma arábica, agar y quitina.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporcionar un conjugado de fórmula II, en la que el fármaco o reactivo bioactivo Y se selecciona de fármacos anticáncer, fármacos antineoplásicos, fármacos antifúngicos, fármacos antibacterianos, fármacos antivíricos, fármacos cardíacos, fármacos neurológicos, fármacos psicoactivos, tales como cafeína, fármacos de abuso, alcaloides, antibióticos, péptidos bioactivos, esteroides, hormonas esteroideas, hormonas peptídicas, interferones, interleuquinas, narcóticos, ácidos nucleicos, plaguicidas o prostaglandinas.

En concreto, en dichas realizaciones, el fármaco o reactivo bioactivo Y es un fármaco anticáncer, tal como un fármaco quimioterapéutico, por ejemplo, camptotecina o uno de sus derivados, tales como 10-hidroxycamptotecina o cualquier otra camptotecina sustituida en la posición 7, 9 o 10, bosutinib, o metotrexato; un fármaco antineoplásico, tal como un agente antineoplásico alquilante, por ejemplo, temozolomida, uramustina o bendamustina; o un antimetabolito, tal como metotrexato o 5-fluorouracilo.

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, en la que el resto de transporte dirigido es una proteína, péptido, polipéptido, glicoproteína, lipoproteína, lípido, fosfolípido, oligonucleótido o una imitación de este, esteroide, hormona, linfoquina, factor del crecimiento, albumina, citoquina, enzima, coenzima, vitamina, cofactor, antígeno humano, hapteno, proteína de receptor, anticuerpo o un fragmento de este, una sustancia usada o modificada de modo que actúe como un resto de transporte dirigido, o una combinación de estos. Dentro de estas realizaciones, se prefieren aquellas en las que el resto de transporte dirigido es una vitamina, tal como vitamina B9 (ácido fólico).

Según la presente invención, el resto de transporte dirigido que opcionalmente compone el conjugado de fórmula II es capaz de unirse a un antígeno extracelular. Este antígeno extracelular puede ser cualquier antígeno presentado sobre la membrana de una célula de mamífero, más preferiblemente una célula humana. En concreto, dichos antígenos extracelulares son antígenos de cáncer, concretamente, antígenos específicos de tumor ("tumor-specific antigens", TSA, que están presentes solo sobre células de tumor) o antígenos asociados a tumor ("tumor-associated antigens", TAA, que están presentes sobre algunas células de tumor y también en algunas células normales), tales como, pero sin limitarse al receptor del factor de crecimiento epidérmico ("epidermal growth factor receptor", EGFR; ErbB-1; HER1 en seres humanos), receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano ("human epidermal growth factor receptor 2", HER2), o antígeno de membrana específico de próstata ("prostate specific membrane antigen", PSMA).

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona un conjugado de fórmula II, según se define en una cualquiera de las realizaciones anteriores, en la que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OR₃, -CO-R₃, -CO-OR₃, -OCO-OR₃, -OCO-N(R₃)₂, -CN, -NO₂, -SR₃, -N(R₃)₂, -CO- N(R₃)₂, -alquilo (C₁-C₄), -alqueno (C₂-C₄), -alquinilo (C₂-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros, en la que R₃ es H, -alquilo (C₁-C₄), -alqueno (C₂-C₄), o -alquinilo (C₂-C₄), preferiblemente H, metilo, etilo o propilo; n es 3, 4 o 5, preferiblemente 3; y m es 1, 2 o 3, preferiblemente 1; R₄ es -NH-CO-(CH₂)_p o -NH-CO-NH-(CH₂)_p; y R₅ es un resto PEG o un pseudoPEG interrumpido por al menos un grupo seleccionado independientemente de -NH-CO-, -CO-NH-, o alqueno (C₃-C₈) interrumpido por al menos dos grupos seleccionados independientemente de -NH-CO- o -CO-NH-, preferiblemente en la que dicho PEG o pseudoPEG tiene un peso molecular de 150-20000, más preferiblemente 500-2000 o 500-1000. En concreto, en estas realizaciones se incluyen aquellas en las que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OH, -COH, -COOH, -OCOOH, -OCO-NH₂, -CN, -NO₂, -SH, -NH₂, -CO-NH₂, -alquilo (C₁-C₄), -alqueno (C₂-C₄), -alquinilo (C₂-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros; n es 3; y m es 1. Más en concreto, en estas realizaciones, R₁ y R₂ son H; y/o R₅ es un resto PEG o un resto pseudoPEG que tiene la estructura -(CH₂-CH₂-O)₃-(CH₂)₃-NH-CO-(CH₂)₂-CO-NH-(CH₂)₃-(O-CH₂-CH₂)₃, concretamente, un pseudoPEG que consiste en dos cadenas de PEG separadas unidas a través de una cadena de alqueno (C₈) interrumpida de fórmula -(CH₂)₃-NH-CO-(CH₂)₂-CO-NH-(CH₂)₃-.

Dentro de estas realizaciones, en ciertas realizaciones concretas, R₆ es un radical divalente, y T es un resto de transporte dirigido capaz de unirse a un antígeno extracelular. Más en concreto, en estas realizaciones se incluyen

5 aquellas en las que R_6 es $(CH_2)_y-NH-$, preferiblemente en las que y es 1 o 2; y dicho resto de transporte dirigido es ácido fólico unido a través de uno de sus grupos carboxílicos, concretamente, a través de su grupo alfa (α)- o gamma (γ)-carboxilo, pero preferiblemente a través de su grupo γ -carboxilo. De modo más específico, en estas realizaciones se incluyen aquellas en las que (i) R_4 es $-NH-CO-NH-CH_2-$; R_5 es un resto pseudoPEG que tiene la estructura $(-CH_2-CH_2-O)_3-(CH_2)_3-NH-CO-(CH_2)_2-CO-NH-(CH_2)_3-(O-CH_2-CH_2-)_3$; R_6 es $-(CH_2)-NH-$; e Y es camptotecina o uno de sus derivados, tales como 10-hidroxycamptotecina, temozolomida, bosutinib, o metotrexato; (ii) R_4 es $-NH-CO-CH_2-$; R_5 es un resto pseudoPEG que tiene la estructura $(-CH_2-CH_2-O)_3-(CH_2)_3-NH-CO-(CH_2)_2-CO-NH-(CH_2)_3-(O-CH_2-CH_2-)_3$; R_6 es $-(CH_2)-NH-$; e Y es camptotecina o uno de sus derivados, tales como 10-hidroxycamptotecina, temozolomida, bosutinib, o metotrexato; o (iii) R_4 es $-NH-CO-$; R_5 es un resto PEG que tiene la estructura $(-CH_2-CH_2-O)_3-$; R_6 es $-(CH_2)_2-NH-$; e Y es camptotecina o uno de sus derivados, tales como 10-hidroxycamptotecina, temozolomida, bosutinib, o metotrexato.

Dentro de estas realizaciones, en otras realizaciones concretas, R_6 es H, $-(CH_2)_y-OH$, $-(CH_2)_y-SH$, $-(CH_2)_y-NH_2$, $-(CH_2)_y-COOH$ o $-(CH_2)_y-SO_3H$, preferiblemente $-(CH_2)_y-SH$, $-(CH_2)_y-NH_2$, $-(CH_2)_y-COOH$, y T está ausente. Más en concreto, en estas realizaciones se incluyen aquellas en las que y es 1, 2 o 3.

15 Tal como se muestra en la sección de ejemplos en la presente, el conjugado de fórmula II puede prepararse, por ejemplo, condensando un derivado de fármaco de fórmula I con un resto de transporte dirigido unido a un conector que tiene un grupo semicarbazida terminal ($-NH-CO-NH-NH_2$), bajo condiciones ácidas, haciendo reaccionar así dicho grupo semicarbazida con el grupo cetona de dicho derivado de fármaco, y purificando el conjugado obtenido, por ejemplo, mediante HPLC. Puede prepararse un conector basado en PEG y en pseudoPEG con un grupo semicarbazida terminal según cualquier tecnología o procedimiento conocido en la técnica, por ejemplo, como se describe con respecto al conector basado en pseudoPEG ejemplificado en la presente, que tiene la estructura $(-CH_2-CH_2-O)_3-(CH_2)_3-NH-CO-(CH_2)_2-CO-NH-(CH_2)_3-(O-CH_2-CH_2-)_3$. Por tanto, el conjugado obtenido mediante este proceso puede representarse como un triconjugado de derivado de fármaco-conector-resto de transporte dirigido, en el que dicho conector, de hecho, está representado por la secuencia $-R_4-R_5-R_6-$ en la fórmula II, en la que R_4 es el $-NH-CO-NH-(CH_2)_p-$ del grupo semicarbazida que forma un enlace hidrazona lábil frente a ácidos con el derivado de fármaco de fórmula I, y R_6 comprende un grupo funcional a través del cual dicho conector se conecta al resto de transporte dirigido. Tal como se indicó anteriormente, cuando sea necesario un enlace estable entre el resto de transporte dirigido y el conector, también puede usarse en el acoplamiento de oximas para unir el grupo cetona del derivado de fármaco y un derivado de amina-oxi.

20 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un agente activo, según se indica en la presente, es decir, un compuesto de fórmula I según se definió en una cualquiera de las realizaciones anteriores, en la que X no es carbonilo, es decir, un profármaco de fórmula Ib; o un conjugado de fórmula II, según se definió en una cualquiera de las realizaciones anteriores, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

25 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden proporcionarse en una diversidad de formulaciones, por ejemplo, en una forma farmacéuticamente aceptable y/o en una forma salina, así como en una diversidad de dosificaciones.

30 En una realización, la composición farmacéutica de la presente invención comprende una sal farmacéuticamente aceptable no tóxica de un compuesto de fórmula Ib; o un conjugado de fórmula general II. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen sales de adición de ácidos, tales como, pero sin limitarse a la sal mesilato, la sal maleato, la sal fumarato, la sal tartrato, la sal clorhidrato, la sal bromhidrato, la sal esilato, la sal *p*-toluensulfonato, la sal bencensulfonato, la sal benzoato, la sal acetato, la sal fosfato, la sal sulfato, la sal citrato, la sal carbonato, y la sal succinato. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de amonio (NH_4^+) o un catión orgánico derivado de una amina de fórmula R_4N^+ , en la que cada uno de los R se selecciona independientemente de H, C_1-C_{22} , preferiblemente alquilo C_1-C_6 , tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, *n*-pentilo, 2,2-dimetilpropilo, *n*-hexilo, y similares, fenilo, o heteroarilo, tal como piridilo, imidazolilo, pirimidinilo, y similares, o dos de los R, junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, forman un anillo de 3-7 miembros que opcionalmente contiene otro heteroátomo seleccionado de N, S y O, tal como pirrolidina, piperidina y morfolina. Además, cuando los compuestos de fórmula Ib o los conjugados de fórmula II portan un resto ácido, sus sales farmacéuticamente aceptables adecuadas pueden incluir sales metálicas, tales como sales de metal alcalino, por ejemplo, sales de litio, sodio o potasio, o sales de metal alcalino-térreo, por ejemplo, sales de calcio o magnesio.

35 Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de un lípido catiónico o una mezcla de lípidos catiónicos. Los lípidos catiónicos a menudo se mezclan con lípidos neutros antes del uso como agentes de transporte. Los lípidos neutros incluyen, pero no se limitan a lecitinas; fosfatidiletanolamina; diacilfosfatidiletanolaminas, tales como dioleoilfosfatidiletanolamina, dipalmitoilfosfatidiletanolamina, palmitoiloleoilfosfatidiletanolamina y diestearoilfosfatidiletanolamina; fosfatidilcolina; diacilfosfatidilcolinas, tales como dioleoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina, palmitoiloleoilfosfatidilcolina y diestearoilfosfatidilcolina; fosfatidilglicerol; diacilfosfatidilgliceroles, tales como dioleoilfosfatidilglicerol, dipalmitoilfosfatidilglicerol y distearoilfosfatidilglicerol; fosfatidilserina; diacilfosfatidilserinas, tales como dioleoil- o dipalmitoilfosfatidilserina; y difosfatidilgliceroles; ésteres de ácido graso; ésteres de glicerol; esfingolípidos; cardiopina; cerebrósidos; ceramidas; y sus mezclas. Los lípidos

neutros también incluyen colesterol y otros 3 β -hidroxiesteroles.

Los ejemplos de compuestos lípidos catiónicos incluyen, aunque sin limitarse a Lipofectin® (Life Technologies, Burlington, Ontario) (formulación 1:1 (en p/p) del lípido catiónico cloruro de N-[1-(2,3-dioleiloxi)propil]-N,N,N-trimetilamonio y dioleoilfosfatidiletanolamina); Lipofectamine™ (Life Technologies, Burlington, Ontario) (formulación 5 3:1 (en p/p) del lípido policatiónico trifluoroacetato de 2,3-dioleiloxi-N-[2(espermina-carboxamido)etil]-N,N-dimetil-1-propanaminio y dioleoilfosfatidiletanolamina), Lipofectamine Plus (Life Technologies, Burlington, Ontario) (lipofectamina y reactivo Plus), Lipofectamine 2000 (Life Technologies, Burlington, Ontario) (lípido catiónico), Effectene (Qiagen, Mississauga, Ontario) (formulación de lípidos no liposómicos), Metafectene (Biontix, Munich, Alemania) (lípido policatiónico), Eu-fectinas (Promega Biosciences, San Luis Obispo, Calif.) (lípidos catiónicos etanólicos números 1 a 12: C₅₂H₁₀₆N₆O₄.4CF₃CO₂H, C₈₈H₁₇₈N₈O₄S₂.4CF₃CO₂H, C₄₀H₈₄NO₃P.CF₃CO₂H, C₅₀H₁₀₃N₇O₃.4CF₃CO₂H, C₅₅H₁₁₆N₈O₂.6CF₃CO₂H, C₄₉H₁₀₂N₆O₃.4CF₃CO₂H, C₄₄H₈₉N₅O₃.2CF₃CO₂H, C₁₀₀H₂₀₆N₁₂O₄S₂.8CF₃CO₂H, C₁₆₂H₃₃₀N₂₂O₉.13CF₃CO₂H, C₄₃H₈₈N₄O₂.2CF₃CO₂H, C₄₃H₈₈N₄O₃.2CF₃CO₂H, C₄₁H₇₈NO₈P); Cytofectene (Bio-Rad, Hercules, Calif.) (mezcla de un lípido catiónico y un lípido neutro), GenePORTER® (Gene Therapy Systems, San Diego, Calif.) (formulación de un lípido neutro (Dope) y un lípido 10 catiónico) y FuGENE 6 (Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis, Ind.) (reactivo no liposómico basado en lípidos de múltiples componentes).

Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden formarse por medios convencionales, por ejemplo, haciendo reaccionar una forma de base libre del agente activo con uno o más equivalentes del ácido apropiado en un disolvente o medio en el que la sal es insoluble, o en un disolvente, tal como agua que se retira al vacío o mediante liofilización, o intercambiando el anión/catión de una sal existente por otro anión/catión sobre una resina de intercambio iónico adecuado. 20

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención pueden prepararse mediante técnicas convencionales, por ejemplo, tal como se describe en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th Ed., 1995. Las composiciones pueden prepararse, por ejemplo, poniendo en asociación, de modo uniforme e íntimo, el ingrediente activo con un vehículo líquido, un vehículo sólido finamente dividido o ambos, y después, si es necesario, dar forma al producto en la formulación deseada. Las composiciones pueden estar en forma líquida, sólida o semisólida, y pueden incluir además cargas, vehículos, diluyentes o adyuvantes farmacéuticamente aceptables y otros ingredientes inertes y excipientes. En una realización, la composición farmacéutica de la presente invención se formula como nanopartículas. 25

Las composiciones pueden formularse para cualquier vía de administración adecuada, pero se formulan preferiblemente para la administración parenteral, por ejemplo, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intraperitoneal, intratecal, intrapleural, intratraqueal, subcutánea, o tópica, así como para inhalación. La dosificación dependerá del estado del paciente, es decir, el individuo tratado, y será determinada por el médico encargado según considere apropiado. 30

La composición farmacéutica de la invención puede estar en forma de una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril, que puede formularse según la técnica conocida usando agentes dispersantes, humectantes o suspensores adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico. Los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse incluyen, sin limitación, agua, disolución de Ringer, PEG, 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HPCD), Tween-80, y disolución de cloruro de sodio isotónica. 35 40

Las composiciones farmacéuticas según la presente invención, cuando se formulan para la inhalación, pueden administrarse utilizando cualquier dispositivo adecuado conocido en la técnica, tales como inhaladores dosimétricos, nebulizadores de líquidos, inhaladores de polvos secos, pulverizadores, vaporizadores térmicos, aerosolizadores electrohidrodinámicos y similares.

Las composiciones farmacéuticas según la presente invención, cuando se formulan para una vía de administración distinta de la administración parenteral, pueden estar en una forma adecuada para un uso oral, por ejemplo, como comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. 45

Las composiciones farmacéuticas previstas para la administración oral pueden formularse para que inhiban la liberación del agente activo en el estómago, es decir, retrasan la liberación del agente activo hasta que al menos una porción de la forma de dosificación haya atravesado el estómago, para evitar que la acidez de los contenidos gástricos hidrolice el agente activo. En concreto, estas composiciones incluyen aquellas en las que el agente activo está revestido con un polímero de revestimiento entérico dependiente del pH. Los ejemplos de polímero de revestimiento entérico dependiente del pH incluyen, pero no se limitan a Eudragit® S (poli(ácido metacrílico, metacrilato de metilo), 1:2), Eudragit® L 55 (poli(ácido metacrílico, acrilato de etilo), 1:1), Kollicoat® (poli(ácido metacrílico, acrilato de etilo), 1:1), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCP), alginatos, carboximetilcelulosa, y sus combinaciones. El polímero de revestimiento entérico dependiente del pH puede estar presente en la composición en una cantidad desde aproximadamente 10% a aproximadamente 95% en peso de la composición total. 50 55

Las composiciones farmacéuticas previstas para la administración oral pueden prepararse según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas, y pueden comprender además uno o más agentes seleccionados de agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes para proporcionar preparaciones de sabor agradable y farmacéuticamente atractivas. Los comprimidos contienen el ingrediente activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y disgregación, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; agentes ligantes, por ejemplo, almidón, gelatina o goma arábica; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden no estar revestidos o pueden revestirse mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y la absorción en el tracto gastrointestinal y, con ello, proporcionar una acción sostenida a lo largo de un periodo de tiempo mayor. Por ejemplo, puede emplearse un material de retraso en el tiempo, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. También pueden revestirse usando las técnicas descritas en las patentes de EE. UU. n.ºs 4.256.108, 4.166.452 y 4.265.874 para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para la liberación controlada. La composición farmacéutica de la invención también puede estar en forma de una emulsión de aceite en agua.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse para la liberación controlada, es decir, la liberación extendida o sostenida, del agente activo. Dichas composiciones pueden formularse como una matriz de liberación controlada, por ejemplo, como comprimidos de matriz de liberación controlada, en los que la liberación del agente activo soluble se controla dejando que el agente activo difunda a través de un gel formado después del hinchamiento de un polímero hidrófilo que se pone en contacto con un líquido disolvente (*in vitro*) o el fluido gastrointestinal (*in vivo*). Se han descrito muchos polímeros capaces de formar dicho gel, por ejemplo, derivados de celulosa, en particular los éteres de celulosa, tales como hidroxipropilcelulosa, hidroximetilcelulosa, metilcelulosa o metilhidroxipropilcelulosa, y entre las diferentes calidades comerciales de estos éteres, se encuentran los que muestran una viscosidad bastante alta. En otras configuraciones, las composiciones comprenden el agente activo formulado para la liberación controlada en una forma de dosificación microencapsulada, en la que pequeñas gotas del agente activo se rodean de un revestimiento o una membrana para formar partículas en el intervalo de unos pocos micrómetros a unos pocos milímetros.

Otra formulación contemplada es el sistema depot (depósito de liberación lenta), basado en polímeros biodegradables, en el que a medida que el polímero se degrada, el ingrediente activo se libera lentamente. La clase más habitual de polímeros biodegradables son los poliésteres hidrolíticamente lábiles preparados a partir de ácido láctico, ácido glicólico o combinaciones de estas dos moléculas. Los polímeros preparados a partir de estos monómeros individuales incluyen poli(D,L-lactida) (PLA), poli(glicólido) (PGA), y el copolímero poli(D,L-lactida-co-glicólido) (PLG).

El agente activo, según se indica en la presente, así como su composición farmacéutica, puede usarse para la prevención, el tratamiento o la gestión de diversas enfermedades, trastornos o indicaciones que pueden tratarse mediante la administración del fármaco o un reactivo bioactivo Y que forma parte de dicho agente activo.

En la presente también se describe un método para el tratamiento de un cáncer en un individuo que lo necesita, que comprende administrar a dicho individuo una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado de fórmula II, según se definió en una cualquiera de las realizaciones anteriores, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que Y es un fármaco anticáncer, por ejemplo, un fármaco quimioterapéutico, tal como camptotecina, o uno de sus derivados, bosutinib o metotrexato, o un fármaco antineoplásico, por ejemplo, un agente antineoplásico alquilante, tal como temozolomida, uramustina o bendamustina; y dicho resto de transporte dirigido es capaz de unirse a un antígeno extracelular presente sobre las células de dicho cáncer. En una descripción, el cáncer tratado por este método se caracteriza por células que sobreexpresan el receptor de folato, y dicho resto de transporte dirigido es ácido fólico unido a través de uno de sus grupos carboxílicos, preferiblemente a través de su grupo gamma-carboxilo. En otra descripción, dicho cáncer es un carcinoma.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un conjugado de fórmula II, según se definió en una cualquiera de las realizaciones anteriores, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que Y es un fármaco anticáncer o un fármaco antineoplásico, y dicho resto de transporte dirigido es capaz de unirse a un antígeno extracelular presente sobre las células de dicho cáncer, para su uso en el tratamiento de un cáncer. En una realización concreta, el conjugado se usa en el tratamiento de un cáncer caracterizado por células que sobreexpresan el receptor de folato, por ejemplo, un carcinoma, en el que dicho resto de transporte dirigido es ácido fólico unido a través de uno de sus grupos carboxílicos, preferiblemente a través de su grupo gamma-carboxilo.

La invención se ilustrará a continuación mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Esquemas de síntesis y procedimientos experimentales

Materiales y métodos

5 Todas las reacciones que requieren condiciones anhidras se realizaron bajo una atmósfera de argón. Todas las reacciones se realizaron a temperatura ambiente, a menos que se indica lo contrario. Los productos químicos y los disolventes fueron de calidad analítica convencional (calidad A.R.) o se purificaron mediante técnicas convencionales. TLC: placas de gel de sílice Merck 60 F₂₅₄, y los compuestos se visualizaron mediante irradiación con luz UV. Cromatografía de resolución rápida: gel de sílice Merck 60 (tamaño de partícula 0,040-0,063 mm), el eluyente se indica entre paréntesis, HPLC: C18 5 μ , 250×4,6 mm, el eluyente se indica entre paréntesis. HPLC preparativa: C18 5 μ , 250×21 mm, el eluyente se indica entre paréntesis. Los espectros de RMN de ¹H y RMN de ¹³C se midieron usando un Bruker Avance ejecutado a 400 MHz como se menciona. Todos los reactivos generales, incluyendo las sales y los disolventes, se adquirieron en Sigma-Aldrich. Los espectros de absorción y de fluorescencia se registraron en un espectrómetro fluorescente Spectramax-M2 usando un lector de cubetas de cuarzo o de placas de 96 pocillos de cuarzo.

15 *Compuesto 1c*

Se hizo reaccionar mercaptopiridina con dietilfosfonato de bromodifluorometilo bajo condiciones básicas. El producto de tiopiridina no aislado se oxidó usando peryodato de sodio para producir el derivado de sulfonilpiridina 1a.

Se preparó el pentayodoacetal 1b empezando con una reacción de sustitución de 5-cloro-2-pentanona con yoduro de sodio en acetona. El grupo carbonilo de la 5-yodo-2-pentanona se protegió con etilenglicol catalizado con PTSA.

20 Tal como se muestra en el esquema 2, a un matraz equipado con un agitador magnético se le añadió HMPA (4 ml) bajo una atmósfera de N₂ y una disolución de 2-(difluorometilsulfonyl)piridina (1,5 g, 7,8 mmol, 1,0 equiv.) en THF (50 ml). La mezcla de reacción se enfrió hasta -98°C (baño de nitrógeno líquido/CH₃OH), y después se añadió 2-metil-2-(3-yodo)propil-1,3-dioxolano (3,15 ml, 0,0194, 2,5 equiv.). Se añadió gota a gota una disolución en THF de LHMDs (2,72 ml, 3,5 equiv.) a lo largo de 35 minutos. Después de 30 minutos, la mezcla de reacción se extinguió con una disolución de NH₄Cl acuosa saturada (2 ml) a -98°C. El baño frío se retiró y se añadió agua destilada (1 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc. La disolución orgánica reunida se trató con NaCl acuoso saturado para retirar el HMPA y se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se retiró a presión reducida para obtener un producto bruto que se purificó mediante una cromatografía en columna de resolución rápida (EtOAc/Hex) para obtener un producto puro 1c (1,67 g, 67% de rendimiento) como un aceite viscoso de color amarillo claro. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,90-8,84 (m, 1H), 8,17 (dd, J = 7,9, 0,7 Hz, 1H), 8,04 (td, J = 7,8, 1,6 Hz, 1H), 7,67 (ddd, J = 7,7, 4,7, 1,0 Hz, 1H), 4,01-3,85 (m, 2H), 2,58-2,31 (m, 2H), 1,81-1,71 (m, 4H), 1,32 (s, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 152,65, 151,45, 139,21, 129,55, 128,55, 125,70 (t), 109,80, 65,10, 38,58, 30,78 (t), 24,25, 16,07. MS (ESI+) m/z: 322.

Cetal sulfonato 1

35 Tal como se muestra en el esquema 2, se disolvió etantio de sodio (1,2 g, 14,3 mmol, 3 equiv.) en THF (60 ml) a 0°C bajo una atmósfera de argón y se agitó a 0°C durante 5 minutos. Se añadió una disolución en THF (30 ml) de 1c (1,5 g, 4,7 mmol, 1,0 equiv.). El matraz se selló con un tapón y después se envolvió en parafina. La mezcla se agitó a 0°C durante 2 h, y después a temperatura ambiente durante 10 h. El disolvente se retiró al vacío, y el residuo se purificó mediante una cromatografía en columna (MeOH/DCM) para obtener un cetal sulfonato 1 (4,1 g, 93% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 3,88-3,79 (m, 2H), 1,90-1,70 (m, 2H), 1,63-1,54 (m, 2H), 1,46 (m, 2H), 1,22 (s, 3H). RMN de ¹³C (400 MHz, CDCl₃) δ 134,04, 131,23, 128,42, 112,76, 67,55, 41,75, 30,20, 29,99, 29,78, 26,03, 18,63. MS (ESI-) m/z: 243.

CPT-cetona (compuesto 2a)

45 A una disolución de CPT (2, 150 mg, 0,43 mmol, 1,0 equiv.), cetal sulfonato 1 (343 mg, 1,29 mmol, 3,0 equiv.) y ZnCl₂ (123 mg, 0,64 mmol, 1,5 equiv.) en DCM (2,5 ml) y H₂O (1 ml) se le añadió PTSA (54 mg, 0,43 mmol, 1,0 equiv.). La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo y se añadió TBHP (disolución al 70% en agua, 0,214 ml, 5,0 equiv.) gota a gota con agitación vigorosa. La agitación continuó a esta temperatura durante 5 minutos. La reacción se calentó hasta la temperatura ambiente y se controló mediante TLC hasta que se completó. Después de 24 h se realizó una segunda adición de ZnCl₂ (123 mg, 0,64 mmol, 1,5 equiv.), cetal sulfonato 1 (343 mg, 1,29 mmol, 3,0 equiv.) y TBHP (0,214 ml, 5,0 equiv.) para llevar adelante la reacción. Tras el consumo del material de partida, la reacción se repartió entre DCM y NaHCO₃ acuoso saturado (2,0 ml). La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo con DCM (3×2,0 ml). La disolución orgánica reunida se secó sobre Na₂SO₄, se concentró al vacío y se purificó mediante una cromatografía en columna para obtener el producto 2a (140 mg, 75% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,27 (dd, J = 16,1, 8,5 Hz, 2H), 7,87 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,79-7,65 (m, 2H), 5,46 (d, J = 3,1 Hz, 2H), 2,56 (td, J = 7,1, 3,6 Hz, 2H), 2,51-2,38 (m, 2H), 2,13 (s, 3H), 1,99-1,78 (m, 4H), 1,07 (t, J = 7,4 Hz, 3H). MS (TOF-ESI): m/z 483,3 [M+H]⁺, 481,4 [M-H]⁻. RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 208,01, 174,62, 158,13, 153,28, 150,80, 150,66, 146,25, 137,89, 131,68, 131,31, 129,62, 126,67, 125,41, 124,60, 119,87, 98,75, 73,45, 67,10, 52,04, 42,86, 38,69, 32,34, 30,70, 30,42, 16,91, 8,54. MS (ESI+) m/z: 483, 405 [M+Na].

10-hidroxi CPT-cetona

Usando el procedimiento sintético descrito anteriormente para CPT-cetona, puede prepararse un análogo de 10-hidroxi CPT-cetona, un compuesto que tiene similitud con el fármaco anticáncer SN-38.

TMZ-cetona (compuesto 3a)

5 A una disolución de TMZ (3, 25 mg, 0,13 mmol, 1,0 equiv.), cetal sulfinato 1 (120 mg, 0,45 mmol, 3,5 equiv.) y ZnCl₂ (31 mg, 0,22 mmol, 1,75 equiv.) en DMSO (1 ml) se le añadió TFA (0,02 ml, 0,19 mmol, 1,5 equiv.). La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo y se añadió TBHP (disolución al 70% en agua, 0,071 ml, 5,5 equiv.) gota a gota con agitación vigorosa. La agitación continuó a esta temperatura durante 5 minutos. La reacción se calentó hasta 50°C y se controló mediante HPLC. La reacción se detuvo después de 1 h y se purificó mediante una HPLC preparativa para obtener el producto 3a (7 mg, 28% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,45 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 6,28 (s, 1H), 4,07 (s, 3H), 2,68-2,52 (m, 4H), 2,16 (s, 3H), 1,98-1,84 (m, 2H). MS (ESI+) m/z: 329, 351 [M+Na].

Bosutinib-cetona (compuesto 4a)

15 A una disolución de bosutinib (4, 20 mg, 0,04 mmol, 1,0 equiv.), cetal sulfinato 1 (30 mg, 0,11 mmol, 3 equiv.) y ZnCl₂ (11 mg, 0,05 mmol, 1,5 equiv.) en DMSO:H₂O (0,2:0,2 ml) se le añadió TFA (12 µl, 0,15 mmol, 4 equiv.). La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo y se añadió TBHP (disolución al 70% en agua, 0,019 ml, 5 equiv.) gota a gota con agitación vigorosa. La agitación continuó a esta temperatura durante 5 minutos. La reacción se calentó hasta 50°C y se controló mediante HPLC. Después de 24 h, se realizó una segunda adición de ZnCl₂ (11 mg, 0,056 mmol, 1,5 equiv.), cetal sulfinato 1 (30 mg, 0,11 mmol, 3,0 equiv.) y TBHP (0,019 ml, 5,0 equiv.) para llevar adelante la reacción. La reacción se detuvo después de 24 h y se purificó mediante una HPLC preparativa para obtener el producto 4a (17 mg, 73% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO) δ 8,16 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,70 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,71 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 5,01 (s, 1H), 4,32 (s, 1H), 3,19 (s, 2H), 2,37-2,28 (m, 3H), 2,12-1,99 (m, 4H), 1,89 (s, 1H), 1,73-1,66 (m, 1H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 208,68, 154,42, 153,30, 152,64, 150,51, 150,40, 145,39, 137,50, 130,74, 121,38, 118,84, 117,81, 117,62, 115,00, 114,79, 110,21, 106,11, 102,10, 91,39, 66,17, 56,66, 55,91, 54,76, 50,78, 50,09, 49,88, 49,67, 49,45, 49,24, 48,99, 43,22, 42,82, 34,87, 29,95, 24,18, 16,42. MS (ESI+) m/z: 665, 687 [M+Na].

MTX-cetona (compuesto 5a)

30 A una disolución de MTX (5, 30 mg, 0,06 mmol, 1,0 equiv.), cetal sulfinato 1 (105 mg, 0,42 mmol, 6 equiv.) y ZnCl₂ (38 mg, 0,19 mmol, 3 equiv.) en DMSO (1 ml) se le añadió PTSA (27 mg, 0,19 mmol, 3 equiv.). La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo y se añadió TBHP (disolución al 70% en agua, 0,066 ml, 10 equiv.) gota a gota con agitación vigorosa. La agitación continuó a esta temperatura durante 5 minutos. La reacción se calentó hasta 50°C y se controló mediante HPLC. La reacción se detuvo después de 24 h y se purificó mediante una HPLC preparativa para obtener el producto 5a (13 mg, 35% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO) δ 8,16 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,70 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 6,71 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 5,01 (s, 1H), 4,32 (s, 1H), 3,19 (s, 2H), 2,37-2,28 (m, 3H), 2,12-1,99 (m, 4H), 1,89 (s, 1H), 1,73-1,66 (m, 1H). RMN de ¹³C (101 MHz, DMSO) δ 209,11, 174,97, 163,12, 152,59, 132,87, 132,71, 130,69, 129,99, 129,32, 128,06, 123,00, 122,09, 117,32, 112,18, 54,22, 52,89, 42,85, 31,58, 31,20, 30,94, 27,14, 17,36, 16,90. MS (ESI+) m/z: 589.

Compuesto 9

40 Tal como se muestra en el esquema 3, se añadió una disolución de cloroformiato de bencilo (1,3 ml 9 mmol) en DCM (20 ml) a lo largo de 1,5 h a una disolución del compuesto 8 (2 gr, 9 mmol) y trietilamina (3,8 ml, 27 mmol) en DCM (40 ml) enfriada a 0°C. La disolución se agitó durante 2 h a 0°C, y después se calentó hasta la temperatura ambiente. Después de completarse, el producto bruto se concentró mediante evaporación, y el producto se purificó mediante una cromatografía en columna (Hex:EtOAc) para obtener el producto 9 (1,3 gr, 40% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,21-7,11 (m, 5H), 4,89 (s, 2H), 3,46-3,31 (m, 12H), 3,07 (dd, J = 12,6, 6,3 Hz, 2H), 2,94 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 1,84-1,76 (m, 1H), 1,64-1,56 (m, 1H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 157,58, 137,35, 129,06, 128,58, 128,47, 70,78, 70,54, 70,40, 69,63, 66,97, 50,32, 39,36, 39,16, 30,06, 27,39. MS (ESI+) m/z: 255.

Compuesto 10

50 Tal como se muestra en el esquema 3, se disolvió el compuesto 9 (100 mg, 0,28 mmol), DMAP (70 mg, 0,6 mmol) y anhídrido succínico (28 mg, 0,28 mmol) en 4 ml de DCM. La disolución se agitó durante 2 h. Después de completarse, la mezcla se extrajo con HCl 1 M, la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para obtener el producto 10 (96 mg, 75% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,28-7,13 (m, 1H), 6,98 (s, 1H), 5,79 (s, 1H), 4,92 (s, 1H), 3,52-3,27 (m, 3H), 3,17-3,08 (m, 1H), 2,52-2,41 (m, 1H), 2,38-2,30 (m, 1H), 1,60 (dt, J = 12,6, 6,2 Hz, 1H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 175,87, 173,23, 157,42, 137,41, 129,09, 128,61, 128,38, 70,97, 70,63, 70,56, 70,03, 69,92, 67,01, 39,54, 38,29, 31,35, 30,39, 30,05, 29,44. MS (ESI-) m/z: 425. MS (ESI+) m/z: 247.

55

Compuesto 11

Tal como se muestra en el esquema 4, se disolvió en un matraz trifosgeno (288 mg, 0,5 mmol, 1,2 equiv.) en tolueno (16 ml). En otro matraz se disolvió (2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etil)carbamatato de terc-butilo (200 mg, 0,4 mmol, 1 equiv.) en tolueno (12 ml) y la disolución resultante se añadió gota a gota en 10 minutos a la mezcla en el primer matraz a reflujo. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 30 minutos. El tolueno se retiró a presión reducida para obtener el correspondiente producto intermedio de isocianato bruto, que se disolvió en una disolución de tolueno (10 ml). Se añadió DBTL (3 gotas) y carbazato de terc-butilo (104 mg, 0,4 mmol, 1 equiv.), después la mezcla se calentó hasta el reflujo durante 30 minutos y se controló mediante TLC (Hex:EtOAc). El tolueno se retiró al vacío y el producto bruto se purificó mediante una cromatografía en columna (Hex:EtOAc) para obtener el producto 11 (200 mg, 50% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,10-7,19 (m, 5H), 7,12 (s, 1H), 6,59 (s, 1H), 6,19 (s, 1H), 5,54 (s, 1H), 5,07 (s, 2H), 3,79-3,42 (m, 12H), 3,42-3,16 (m, 4H), 1,85-1,64 (m, 4H), 1,44 (s, 9H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 159,76, 157,36, 156,79, 137,50, 129,17, 128,83, 128,70, 81,97, 71,32, 71,11, 70,88, 70,73, 70,63, 70,06, 67,16, 39,74, 39,49, 30,11, 29,65, 28,95.

Compuesto 12

Tal como se muestra en el esquema 4, una mezcla del compuesto 11 (100 mg, 0,19 mmol), Pd al 5%/C (cat.), y metanol se agitó bajo un balón de hidrógeno a presión ambiental a temperatura ambiente durante la noche. Después la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho corto de Celite y el filtrado se concentró al vacío para obtener el producto 12 (68 mg, 93% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 3,53 (m, 14H), 3,22 (m, 2H), 3,04 (m, 1H), 1,92 (s, 2H), 1,61 (m, 4H), 1,36 (s, 9H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 160,20, 157,36, 81,66, 71,03, 70,55, 70,20, 70,01, 42,11, 41,72, 39,83, 38,46, 30,09, 28,96, 27,92. MS (ESI+) m/z: 379, 401 [M+Na].

Compuesto 13

Tal como se muestra en el esquema 4, se disolvió el compuesto 12 (50 mg, 0,13 mmol), DMAP (33 mg, 0,26 mmol) y anhídrido succínico (14 mg, 0,13 mmol) en 3 ml de DCM. La disolución se agitó durante 2 h. Después de completarse, la mezcla se extrajo con HCl 1 M, la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para obtener el producto 13 (46 mg, 70% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 3,55-3,37 (m, 12H), 3,15 (m, 2H), 2,63-2,41 (m, 4H), 2,32 (m, 2H), 1,72-1,61 (m, 4H), 1,33 (s, 9H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 177,12, 173,48, 160,94, 156,80, 82,01, 72,20, 71,09, 70,87, 70,04, 40,53, 37,40, 32,12, 31,20, 30,41, 30,08, 29,97, 29,12, 29,03. MS (ESI+) m/z: 451.

Compuesto 14

Tal como se muestra en el esquema 5, se disolvió DMAP (68 mg, 0,55 mmol, 3 equiv.) y el compuesto 10 (70 mg, 0,18 mmol, 1 equiv.) en DCM (2 ml). Se añadió HBTU (210 mg, 0,55 mmol, 3 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos, después se añadió el compuesto 13 (84 mg, 0,19 mmol, 1 equiv.), y la reacción se controló mediante TLC (Hex:EtOAc). Después de completarse, el producto se purificó mediante una cromatografía en columna (Hex:EtOAc) para obtener el producto 14 (97 mg, 82% de rendimiento).

Compuesto 15

Tal como se muestra en el esquema 5, una mezcla del compuesto 14 (97 mg, 0,151 mmol), Pd al 5%/C (cat.), y metanol se agitó bajo un balón de hidrógeno a presión ambiental a temperatura ambiente durante la noche. Después la mezcla de reacción se filtró a través de un lecho corto de Celite y el filtrado se concentró al vacío y se hizo reaccionar directamente.

Se disolvieron DMAP (25 mg, 0,21 mmol, 8 equiv.) y ácido fólico (50 mg, 0,105 mmol, 4 equiv.) en DMSO (4 ml). Se añadió HBTU (20 mg, 0,052 mmol, 2 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos, después se añadió el compuesto 14a (13 mg, 0,026 mmol, 1 equiv.) y se controló el avance de la reacción mediante HPLC (ACN/H₂O). Después de completarse, el producto se purificó mediante una HPLC preparativa (ACN/H₂O) para obtener el producto 15 (24 mg, 60% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO) δ 8,68 (s, 1H), 7,64 (d, J = 6,5 Hz, 2H), 6,63 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,52 (s, 2H), 4,26 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 3,61-3,17 (m, 22H), 3,06 (dd, J = 22,9, 6,1 Hz, 10H), 2,26-1,98 (m, 8H), 1,58 (dd, J = 16,1, 9,8 Hz, 8H), 1,37 (s, 9H). RMN de ¹³C (101 MHz, DMSO) δ 175,06, 175,06, 172,42, 172,42, 167,42, 159,59, 154,11, 154,11, 151,82, 149,35, 149,35, 130,17, 130,17, 129,16, 129,16, 112,40, 112,40, 80,11, 70,92, 70,92, 70,70, 70,70, 69,45, 69,22, 69,22, 53,39, 46,98, 38,03, 37,78, 36,95, 36,95, 33,18, 32,49, 32,02, 32,02, 31,16, 30,85, 30,53, 30,53, 29,25, 29,25, 27,70. MS (ESI+) m/z: 1223, 1245 [M+Na].

Compuesto 7

Tal como se muestra en el esquema 6, el compuesto 15 se disolvió en una mezcla de DCM 2 ml y TFA 2 ml y se agitó durante 1 h. Después de completarse, el producto se concentró al vacío y se hizo reaccionar directamente en la siguiente etapa.

Se disolvió CPT-cetona 2a (20 mg, 0,0414 mmol, 1 equiv.) en metanol (5 ml). Se añadieron TFA (5 gotas) y el

compuesto 15a (82 mg, 0,083 mmol, 2 equiv.) y la mezcla se agitó durante 2 horas a 40°C. El avance de la reacción se controló mediante HPLC (ACN/H₂O). Después de completarse, el producto bruto se purificó mediante una HPLC preparativa (ACN/H₂O) para obtener 7 (40 mg, 75% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO) δ 8,90 (s, 1H), 8,61 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 8,22-8,26 (m, 3H), 8,01-7,61 (m, 8H), 7,10-6,85 (m, 2H), 6,59 (m, 3H), 5,53-5,15 (m, 3H), 4,87 (s, 1H), 4,46 (d, J = 4,4 Hz, 2H), 4,31 (m, 1H), 3,50 (m, 22H), 3,16-2,93 (m, 10H), 2,51 (m, 2H), 1,57 (m, 8H), 0,88 (t, J = 7,1 Hz, 2H). RMN de ¹³C (101 MHz, DMSO) δ 173,69, 172,41, 157,77, 157,41, 153,76, 151,83, 151,19, 149,99, 149,71, 145,85, 142,15, 132,77, 131,59, 131,05, 130,23, 129,92, 129,72, 129,15, 128,86, 127,60, 125,91, 124,40, 122,96, 120,26, 113,55, 112,42, 97,90, 73,57, 70,90, 70,68, 69,70, 69,21, 66,43, 51,44, 47,09, 38,33, 37,82, 36,93, 35,67, 33,34, 32,04, 31,43, 31,19, 30,51, 25,20, 19,49, 16,82, 9,97, 8,95. MS (ESI+) m/z: 1689, 1711 [M+Na].

10 *Compuesto 7b*

Tal como se muestra en el esquema 7, el compuesto 13 se disolvió en una mezcla de DCM 2 ml y TFA 2 ml y se mezcló durante 1 h. Después de completarse, el producto 13a se concentró al vacío y se hizo reaccionar directamente en la siguiente etapa.

15 Se disolvió CPT-cetona 2a (10 mg, 0,02 mmol, 1 equiv.) en metanol (5 ml). Se añadieron TFA (5 gotas) y el compuesto 13a (21 mg, 0,06 mmol, 3 equiv.) y la mezcla se agitó durante 2 horas a 40°C. El avance de la reacción se controló mediante HPLC (ACN/H₂O). Después de completarse, el producto se purificó mediante una HPLC preparativa (ACN/H₂O) para obtener el producto 7b (8 mg, 50% de rendimiento). RMN de ¹H (400 MHz, DMSO) δ 8,89 (s, 1H), 8,24 (dd, J = 18,5, 8,4 Hz, 2H), 7,95-7,87 (m, 1H), 7,78-7,67 (m, 2H), 6,54 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 5,27 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 3,72-3,35 (m, 16H), 3,12 (d, J = 6,3 Hz, 2H), 2,57 (s, 4H), 2,23 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,10 (m, 1H), 2,02 (m, 1H), 1,89-1,53 (m, 10H), 0,85 (t, J = 7,0 Hz, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, DMSO) δ 178,93, 174,79, 171,67, 162,02, 157,40, 154,92, 150,04, 149,70, 141,95, 136,93, 131,46, 129,50, 128,52, 125,86, 124,15, 102,24, 100,54, 95,33, 84,25, 81,26, 70,90, 70,72, 69,70, 69,34, 59,27, 56,59, 52,43, 38,36, 37,81, 36,94, 36,74, 32,65, 31,19, 30,68, 30,28, 29,98, 29,16, 28,54, 19,52, 16,76, 10,26, 9,60. MS (ESI+) m/z: 943.

Compuesto 6

25 Tal como se muestra en el esquema 8, el compuesto 16 (20 mg, 0,082 moles, 2 eq.) y CPT-cetona 2a (10 mg, 0,041 moles, 1 eq.) se disolvieron en tolueno y se añadió una cantidad catalítica de PTSA. La reacción se calentó hasta 110°C y se agitó durante 5 h. El avance de la reacción se controló mediante HPLC (ACN/H₂O). Después de completarse, el producto bruto se purificó mediante una HPLC preparativa (ACN/H₂O) para obtener el producto 6 (15 mg, 75% de rendimiento).

30 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,40-8,14 (m, 2H), 7,85 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 7,69 (m, 3H), 7,38-7,29 (m, 1H), 5,73 (m, 1H), 5,58-5,20 (m, 3H), 5,03-4,87 (m, 1H), 4,71-4,53 (m, 1H), 3,95 (m, 6H), 2,61-2,45 (m, 2H), 2,31-2,15 (m, 2H), 1,96-1,78 (m, 2H), 1,71-1,57 (m, 2H), 1,41 (s, 3H), 1,10-1,01 (t, 3H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 174,60, 158,12, 154,56, 153,33, 150,68, 148,71, 146,22, 139,89, 132,92, 131,76, 131,32, 130,76, 130,47, 129,61, 125,46, 124,71, 119,92, 114,80, 111,75, 111,22, 110,29, 108,94, 108,75, 98,84, 75,92, 74,66, 73,45, 71,98, 71,06, 67,08, 65,11, 57,15, 57,02, 52,05, 42,86, 39,37, 38,41, 36,66, 35,59, 34,56, 32,65, 32,33, 32,16, 31,36, 30,90, 30,42, 30,25, 30,06, 29,96, 27,94, 26,24, 25,13, 23,66, 23,42, 19,85, 17,47, 14,86, 8,54, 1,75.

Protocolos de preparación de los tampones:

40 Preparación de los tampones acetato. Las disoluciones tampón se prepararon mediante la adición de una disolución de ácido acético (pH 4, 284,4 ml; pH 4,8, 87,2 ml; pH 5, 73,4 ml; pH 6, 52,4 ml) y una disolución de hidróxido de sodio (1 M, 50 ml) en un matraz volumétrico de 500 ml. La mezcla se diluyó con agua destilada hasta un volumen final de 500 ml.

45 Preparación de los tampones de PBS. Se preparó una disolución de NaH₂PO₄ 1 M disolviendo 13,8 g de NaH₂PO₄·H₂O en H₂O destilada hasta alcanzar un volumen final de 100 ml. Se preparó una disolución de Na₂HPO₄ 1 M disolviendo 14,2 g de Na₂HPO₄ en H₂O destilada hasta alcanzar un volumen final de 100 ml. Se mezclaron NaH₂PO₄ 1 M (pH 7,0, 42,3 ml; pH 7,4, 22,6 ml) y Na₂HPO₄ 1 M (pH 7,0, 57,7 ml; pH 7,4 ml) y se diluyó hasta 1 l con H₂O.

50 Hidrólisis del compuesto 7 en tampón: pH 4,8, pH 6,0, pH 6,5, pH 7,0 y pH 7,4. Se preparó una disolución madre de 7 (10 mM) disolviendo 17,95 mg del compuesto en 1 ml de DMSO. Se añadió una muestra de 25 µl procedente de la disolución madre a 75 µl de DMSO, y la disolución resultante se añadió lentamente con agitación a 840 µl del tampón apropiado (pH 4,8, 6,0, 6,5, 7,0 o 7,4). Se tomaron muestras en momentos diferentes y se analizaron mediante HPLC. Se calculó el porcentaje de hidrólisis del vehículo basándose en la proporción de integración de HPLC del material de partida y los correspondientes productos hidrolíticos.

Ensayo de competición de [³H]-ácido fólico

55 Se cultivaron células KB HiFR (células de carcinoma epidérmico nasofaríngeo que sobreexpresan el receptor de folato) en RPMI con merma de folato + FBS al 10% durante 15 días para que sobreexpresen el receptor de folato. Se cultivaron células KB en RPMI + FBS al 10% normal. Se sembraron células KB o KB HiFR en placas de 24

5 pocillos, a 1×10^6 células/pocillo, en 500 μ l de RPMI con merma de folato sin FBS. Las células se trataron como sigue: 3 pocillos: 10 μ l/pocillo de RMPI sin FBS; 3 pocillos: 10 μ l/pocillo de ácido fólico frío (100 μ M, concentración final en cada pocillo de 2 μ M); 3 pocillos: 10 μ l/pocillo del compuesto 7 ([FA] = 100 μ M, concentración final en cada pocillo de 2 μ M); 3 pocillos: 10 μ l/pocillo del compuesto 7b ([FA] = 100 μ M, concentración final en cada pocillo de 2 μ M); 3 pocillos: 10 μ l/pocillo de CPT ([FA] = 100 μ M, concentración final en cada pocillo de 2 μ M). Las células se incubaron durante 3 horas a 37°C, 5% de CO₂. Después de 3 h de incubación se añadieron 10 μ l de [³H]-FA (5 μ Ci/ml, 10 μ M, concentración final en cada pocillo de 0,2 μ M) a cada pocillo. Después de 3 h de incubación, el medio se recolectó (se mantuvieron 100 ml y se añadieron a 3 ml de fluido de centelleo para el recuento, como referencia), las células se recolectaron con tripsina, se añadieron al medio y la suspensión se centrifugó. El sobrenadante se rechazó y el sedimento se lavó 3 veces con 3 ml de PBS frío. Después del último lavado, cada muestra se trató durante la noche con 500 μ l de NaOH 0,5 N, seguido de una neutralización con HCl 0,5 N. Después de 30 minutos, se añadieron 600 μ l de la suspensión a 3 ml de fluido de centelleo y se determinó la cantidad de radiactividad mediante recuento de centelleo líquido.

Ensayo de proliferación

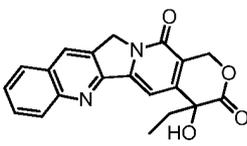
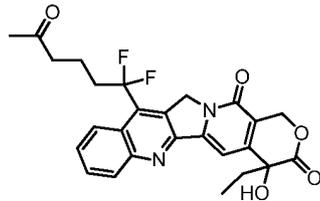
15 Se sembraron KB HiFR en placas de 96 pocillos, a 2×10^3 células/100 μ l en RPMI con merma de folato + FBS al 10%. Después de una incubación durante 24 h a 37°C, 5% de CO₂, se añadieron 100 μ l de diluciones en serie (concentraciones de equivalentes de CPT 200-0,00002 μ M) de CPT y derivados de CPT a los pocillos (concentración final de 100-0,00001 μ M). En el experimento de exposición corta (pulso y caza), los tratamientos se retiraron después de una incubación durante 10 min a 37°C, 5% de CO₂, las células se lavaron una vez con PBS y se incubaron con RPMI con merma de folato + FBS al 10% fresco durante 72 h. En el experimento de exposición larga, las células se incubaron durante 72 h con el tratamiento. Después de una incubación durante 72 h, se añadieron 30 μ l de una disolución mg/ml de MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) en PBS a cada pocillo, y se incubó durante 5 h. Después de la incubación, el medio se retiró y las células se lisaron en 200 μ l de DMSO y se mantuvieron bajo una agitación suave protegidas de la luz durante 20 min. Se midió la absorbancia a 25 560 nm y se representó gráficamente la supervivencia como porcentaje del control sin tratar.

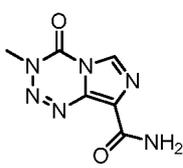
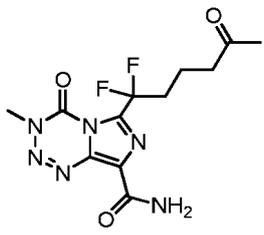
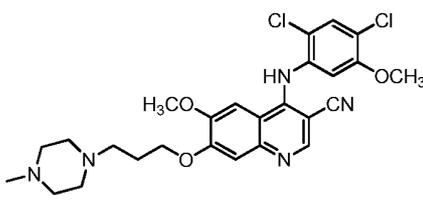
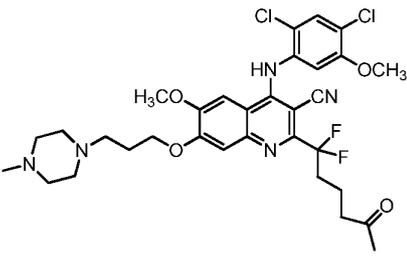
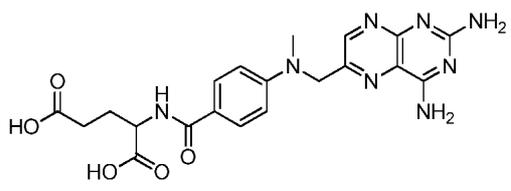
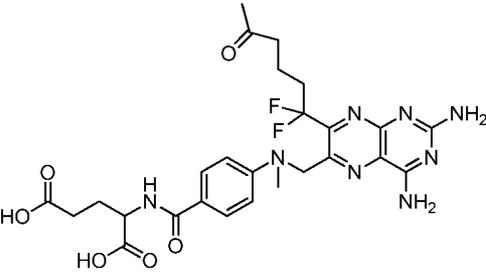
Ejemplo 1

30 El difluoroalquil cetal sulfonato de sodio 1 es un reactivo protegido en la cetona, capaz de reaccionar con un enlace C-H de heteroareno bajo condiciones ácidas oxidativas para producir el correspondiente derivado de cetona I (esquema 1). La desprotección del cetal debería producirse *in situ* bajo condiciones ácidas hidrolíticas de la reacción para obtener el grupo funcional cetona. El análogo de heteroareno-cetona pueden enmascararse con facilidad a través de un enlace hidrazona lábil frente a ácidos (Patil *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2007) (III) o un grupo protector de cetal fotolábil (Gravel *et al.*, 1983) (II).

35 La síntesis del cetal sulfonato 1 se logró de una manera análoga a la recientemente descrita para otras sales sulfonato (esquema 2). Por tanto, la alquilación del cetal 1b por un derivado de piridina 1a genera la sulfona 1c. Esta última se hizo reaccionar con mercaptoetanol sodio para obtener la sal sulfonato 1. Esta síntesis puede realizarse con facilidad a una escala de múltiples gramos para producir el sulfonato 1 con buenos rendimientos. La difluoroalquilación del heteroareno por la sal sulfonato 1 para producir el correspondiente derivado de cetona se estableció inicialmente en la cafeína como sustrato de ensayo. La cafeína reacciona de modo satisfactorio con el sulfonato 1 a través de la funcionalización directa de su enlace C-H para producir el derivado de cetona 1d con 87% de rendimiento.

Tabla 1 - Difluoroalquilación mediante la sal sulfonato 1 de CPT, TMZ, bosutinib y MTX

Fármaco de heteroareno	Derivado de heteroareno-cetona	Rendimiento aislado
 <p style="text-align: center;">2</p>	 <p style="text-align: center;">2a</p>	78%

Fármaco de heteroareno	Derivado de heteroareno-cetona	Rendimiento aislado
 <p style="text-align: center;">3</p>	 <p style="text-align: center;">3a</p>	28%
 <p style="text-align: center;">4</p>	 <p style="text-align: center;">4a</p>	67%
 <p style="text-align: center;">5</p>	 <p style="text-align: center;">5a</p>	35%

Después se buscó evaluar la capacidad de funcionalización de la sal sulfinato 1 sobre CPT (2), TMZ (3), bosutinib (4) y MTX (5), todos ellos fármacos antineoplásicos de heteroareno conocidos. CPT es un inhibidor de topoisomerasa con opciones limitadas para la bioconjugación a través de su grupo hidroxilo terciario. TMZ es un agente alquilante citotóxico, que se considera un compuesto no marcabable debido a la ausencia de un grupo funcional adecuado. De modo similar, bosutinib, un fármaco basado en un inhibidor de tirosina quinasa aprobado, no tiene ningún grupo funcional disponible para la conjugación. MTX, un fármaco quimioterapéutico basado en antifolato es otro heteroareno con opciones limitadas de bioconjugación (tabla 1). Los cuatro fármacos de heteroareno fueron funcionalizados con éxito por la sal sulfinato 1 para producir los correspondientes análogos de cetona con rendimientos de moderados a buenos. Para CPT, bosutinib y MTX, la sal sulfinato 1 fue capaz de funcionalizar selectivamente los heteroarenos en el enlace C-H más deficiente en electrones.

Para saber si los nuevos derivados conservan su potencia, se evaluó la citotoxicidad de los análogos de CPT-, TMZ- y bosutinib-cetona en comparación con la de los fármacos de origen. La figura 2 muestra diagramas representativos de inhibición del crecimiento celular para cada fármaco y su análogo de cetona, y las líneas celulares aplicadas y las Cl_{50} calculadas se presentan en la tabla 2.

Tabla 2 - Valores de Cl_{50} calculados a partir de los ensayos de inhibición del crecimiento celular para CPT, Tmz y bosutinib, y sus análogos de cetona

Fármaco	Cl_{50}	Línea celular
CPT	7 nm	U-87
CTP-cetona	10 nm	U-87
TMZ	36 μ m	U-251
TMZ-cetona	35 μ m	U-251
Bosutinib	17 μ m	SF-295

Fármaco	CI ₅₀	Línea celular
Bosutinib-cetona	17 μ m	SF-295

De modo notable, para tres de los cuatro fármacos, los ensayos de inhibición del crecimiento de células tumorales mostraron una citotoxicidad casi idéntica (valores de CI₅₀) para los derivados de cetona y sus fármacos nativos. La funcionalización de CPT, TMZ y bosutinib usando la sal sulfonato 1 produjo análogos de cetona que conservaron su actividad citotóxica. Sin embargo, el análogo de cetona de MTX perdió completamente su citotoxicidad. Los ensayos se repitieron con diversas líneas de células tumorales y los resultados obtenidos fueron similares (figuras 3-4). Estos resultado indican que es posible que ciertos heteroarenos con importancia biológica mantengan su actividad original, después de la funcionalización del C-H por la sal sulfonato 1 en una posición apropiada.

Ejemplo 2

Para determinar la utilidad de los análogos de fármaco producidos que portan una cetona para la liberación controlada y la bioconjugación, se seleccionó CPT-cetona 2a para su posterior evaluación. Tal como se presenta en el esquema 1, un grupo funcional cetona pueden enmascararse a través de un enlace hidrazona lábil frente a ácidos o con un grupo protector de cetona fotolábil. La CPT-cetona 2a se enmascaró con un grupo protector fotolábil (Gravel *et al.*, 1983; Klan *et al.*, 2013) para producir un derivado de cetona 6 (figura 5). Este derivado puede considerarse una forma de profármaco de CPT-cetona 2a. La irradiación del profármaco 6 con luz UV a lo largo de 2 horas bajo condiciones fisiológicas produjo la liberación de CPT-cetona 2a (figura 5A). No se observó liberación sin irradiación. Después se evaluó la citotoxicidad del fármaco 6 en un ensayo de inhibición del crecimiento celular convencional antes y después de la irradiación con luz UV (figura 5B). Tal como se esperaba, el derivado 6 antes de la irradiación muestra un comportamiento típico de profármaco, con un valor de CI₅₀ de 350 nM. El profármaco 6 después de la irradiación muestra una citotoxicidad significativamente más alta, con un valor de CI₅₀ de 10 nM, similar al obtenido para CPT-cetona 2a (IC₅₀ = 5 nM). Estos resultados demuestran cómo puede usarse la cetona recién instalada de los análogos de heteroareno para obtener profármacos con una vía de liberación controlada fotolábil. En este ejemplo, el profármaco se activó con luz UV; sin embargo, existen grupos protectores análogos que pueden retirarse a través de la luz visible o cercana al infrarrojo (Lu *et al.*, 2003). Por lo que saben los inventores, esta es la primera demostración de una fotoactivación de un profármaco, que se basa en el desenmascaramiento de un grupo cetona (Klan *et al.*, 2013).

Después, se buscó evaluar el enlace hidrazona lábil frente a ácidos para la liberación controlada y la bioconjugación, entre CPT-cetona 2a y un vehículo de transporte dirigido. La hidrólisis a través de un enlace lábil frente a ácidos es un mecanismo de liberación controlada útil para vehículos que penetran en células, tales como un conjugado de ácido fólico ("folic acid", FA) (Zhao *et al.*, 2008) (esquema 9). Así, la CPT-cetona 2a se hizo reaccionar con un derivado de semicarbazida del ácido fólico (7a) a través de un enlace semicarbazona para generar el conjugado de CPT-ácido fólico 7 con un mecanismo de liberación controlada lábil frente a ácidos (véanse los esquemas de síntesis y los procedimientos experimentales). Se usó un derivado de conector de PEG como espaciador para conectar el ácido fólico y la CPT-cetona 2a.

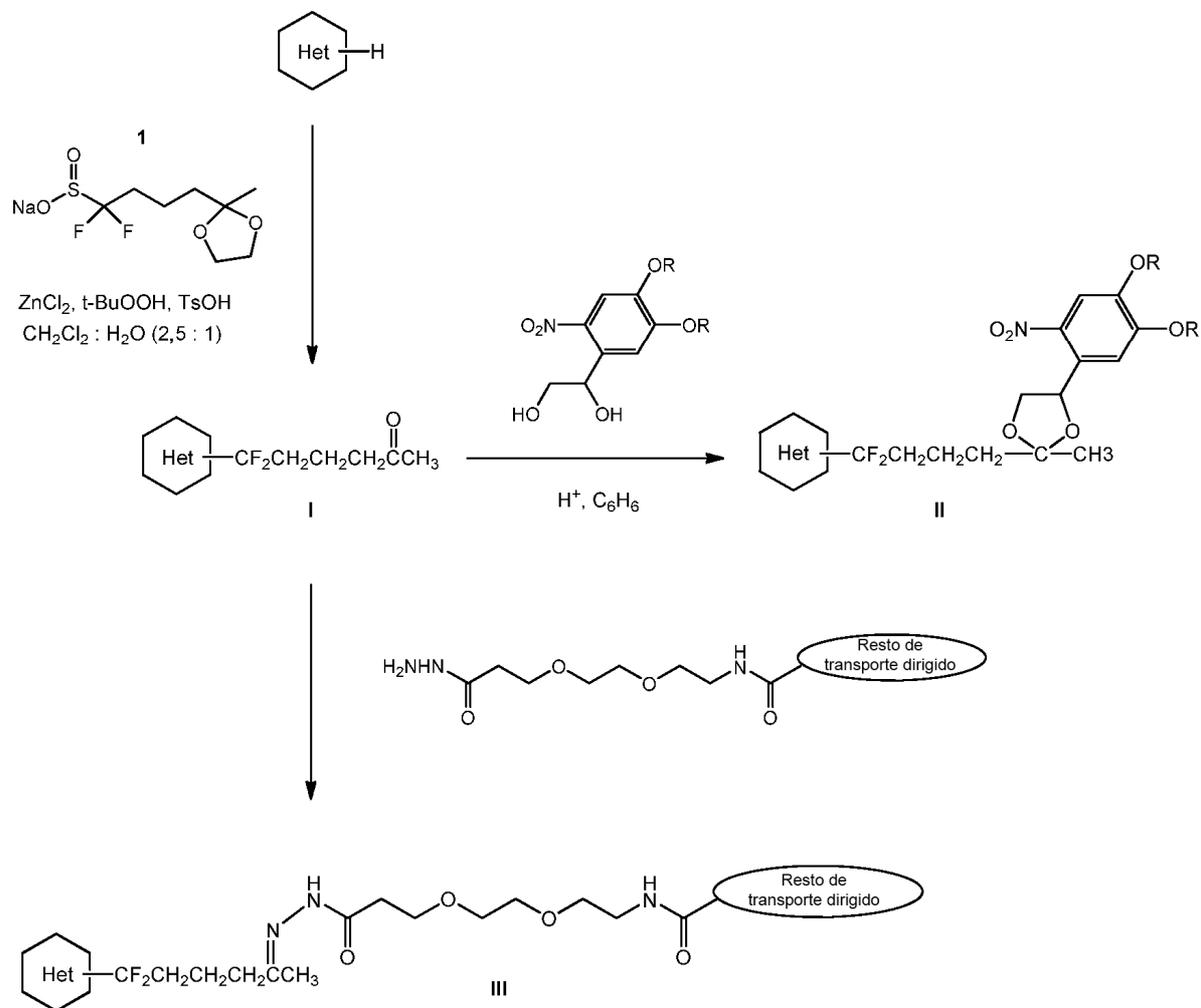
Ejemplo 3

Para validar la liberación de CPT-cetona 2a desde el conjugado de folato 7, se controló la hidrólisis del enlace semicarbazona bajo diversos pH (condiciones fisiológicas - pH 7,4; endosomas de etapa temprana - pH 6,5 y 6,0; y endosomas de etapas tardías - pH 4,8). En la figura 6 se presentan las gráficas cinéticas de la liberación de CPT-cetona 2a. El conjugado basado en semicarbazona muestra una excelente hidrólisis selectiva bajo condiciones ácidas. Se observó una cinética de liberación rápida de CPT-cetona 2a con pH ácidos, mientras que no se observó liberación a lo largo de 24 hr a pH fisiológico. De modo importante, en condiciones ácidas relativamente suaves (endosomas de etapa temprana, pH 6,5), la liberación de CPT-cetona 2a (aproximadamente 50%) seguía produciéndose de modo eficaz (Yang *et al.*, 2007).

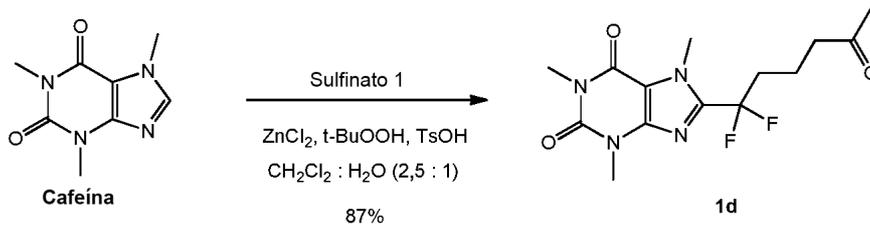
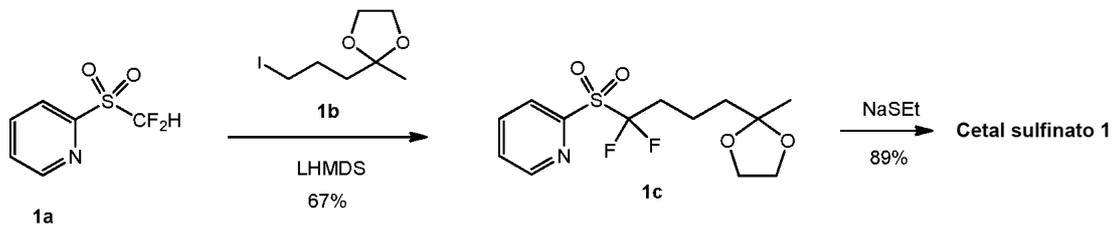
Se evaluó la afinidad de unión del folato-conjugado 7 a receptores FR con células KB con alta expresión de FR (HiFR-KB). El derivado de CPT-PEG 7b, que carece de ácido fólico, se usó como control (figura 7A). Las mediciones obtenidas mostraron 82% de unión del conjugado 7 a receptores FR, en comparación con la del ácido fólico libre. La evaluación de la citotoxicidad del conjugado de CPT-ácido fólico 7 en células HiFR KB produce unos valores de CI₅₀ relativamente similares para CPT-cetona 2a y su conjugado de ácido fólico 7 (figura 7B). El derivado de CPT-PEG 7b mostró un valor de CI₅₀ 15 veces mayor en comparación con el del conjugado 7. Estos resultados apoyan la capacidad de penetración de células del conjugado de ácido fólico-CPT y la liberación controlada de CPT-cetona *in vitro* a través del enlace semicarbazona lábil frente a ácidos.

Apéndice

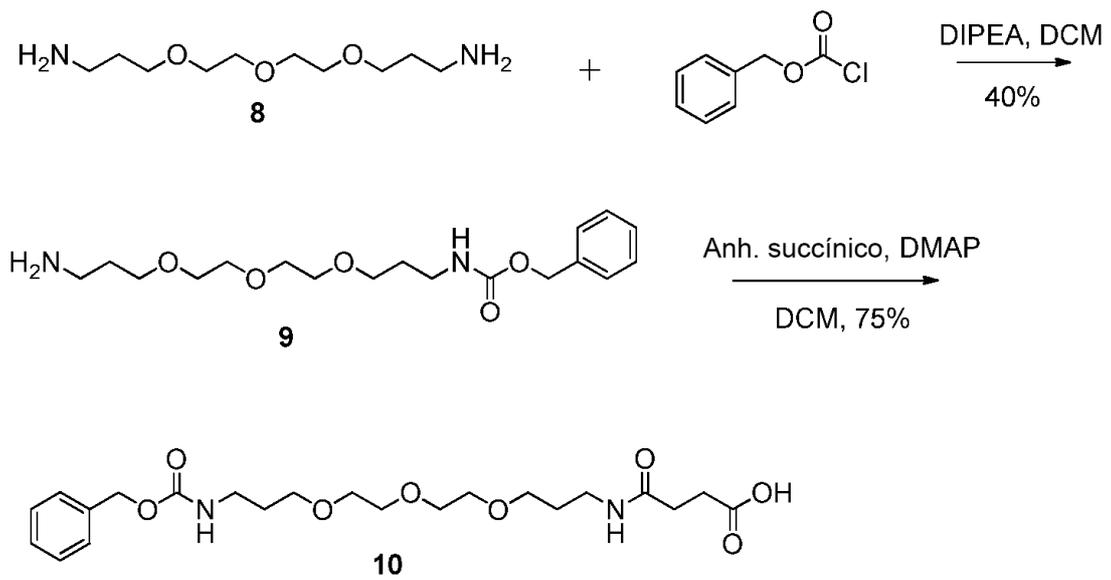
Esquema 1: Empleo del cetal sulfonato de sodio 1 para marcar un enlace inerte C-H de heteroareno con un grupo funcional cetona y su bioconjugación a través de un enlace hidrazona lábil frente a ácidos o un grupo cetal fotolábil para aplicaciones de liberación controlada



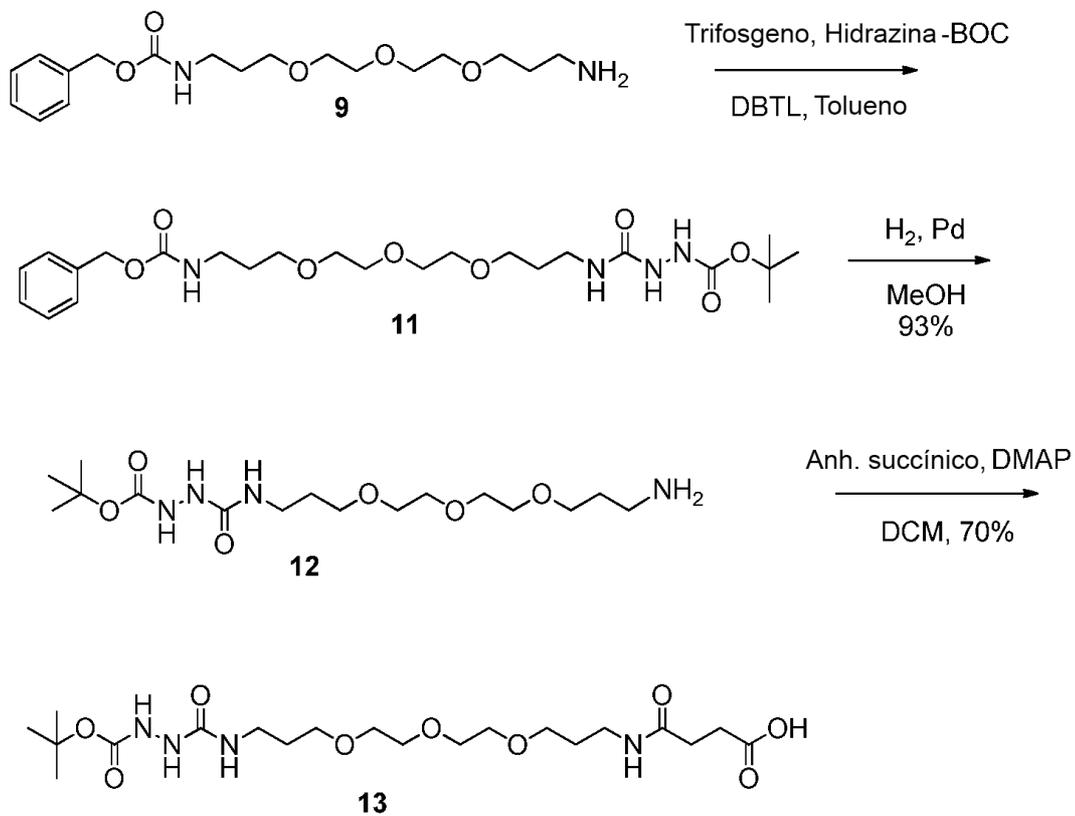
Esquema 2: Síntesis química de cetal sulfinato de sodio 1



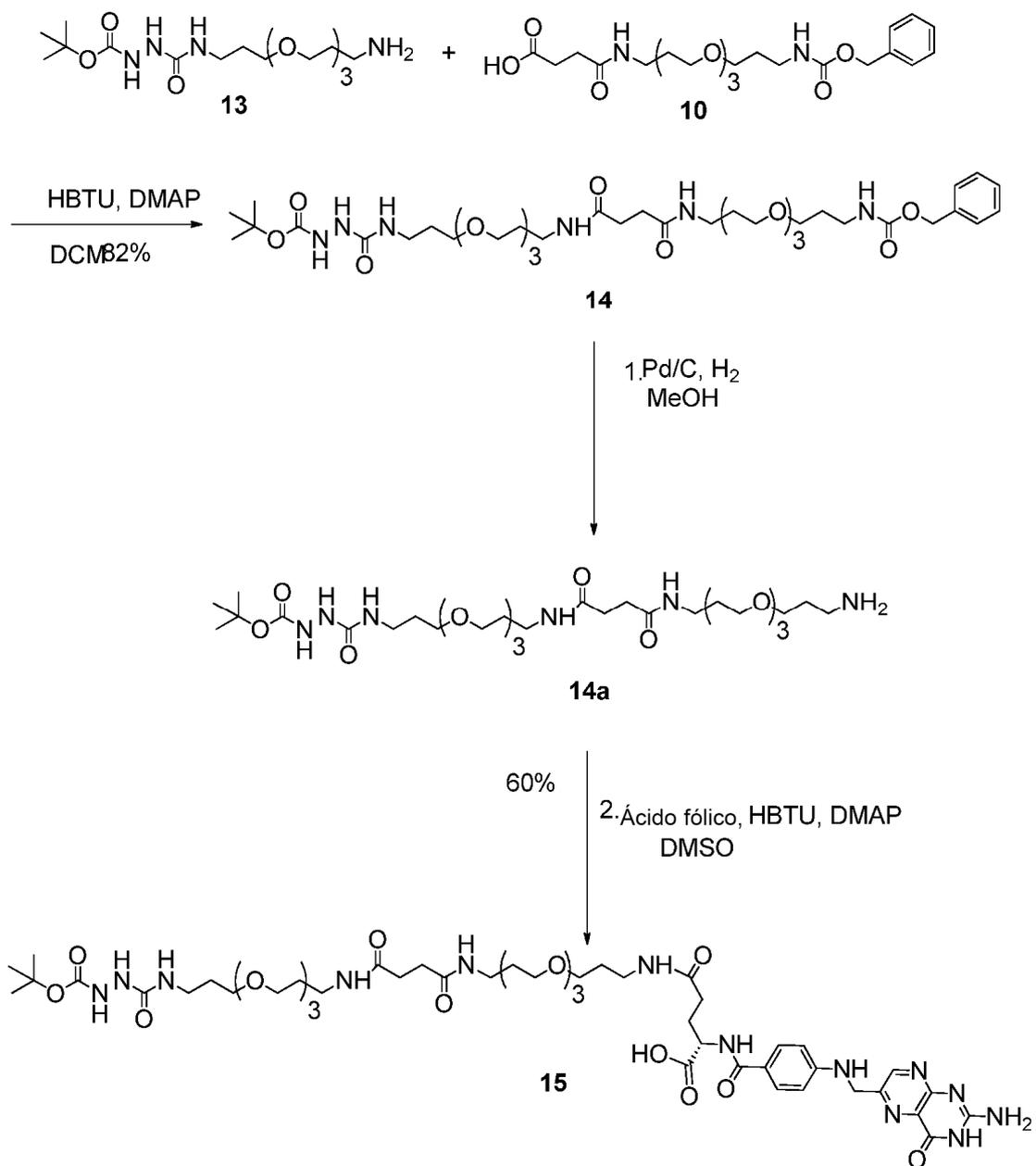
Esquema 3: Síntesis química del compuesto 10



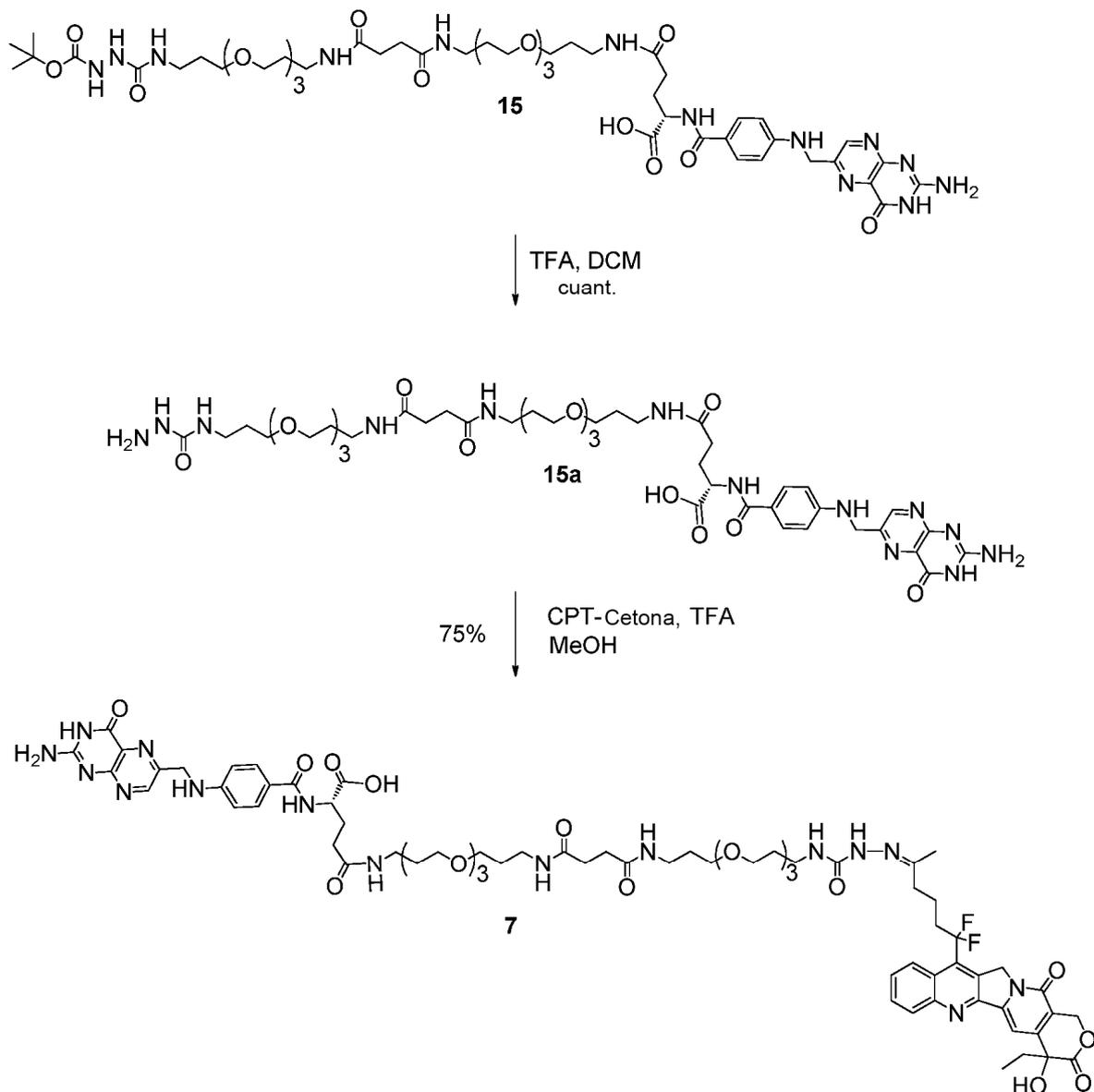
Esquema 4: Síntesis química del compuesto 13



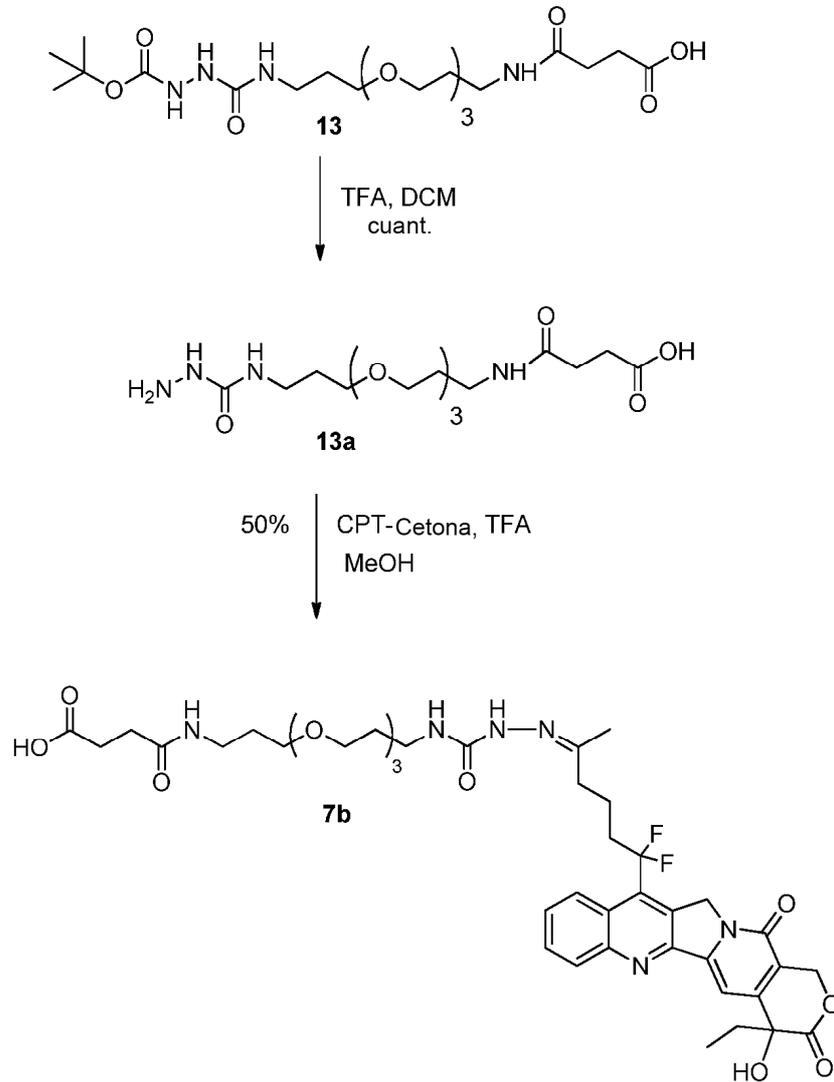
Esquema 5: Síntesis química del compuesto 15



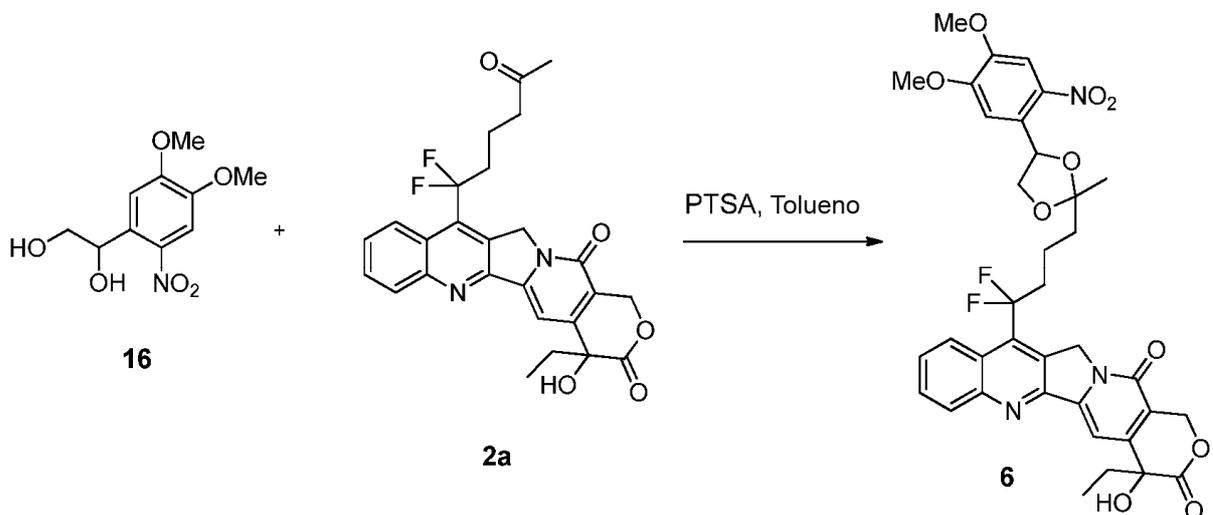
Esquema 6: Síntesis química del compuesto 7



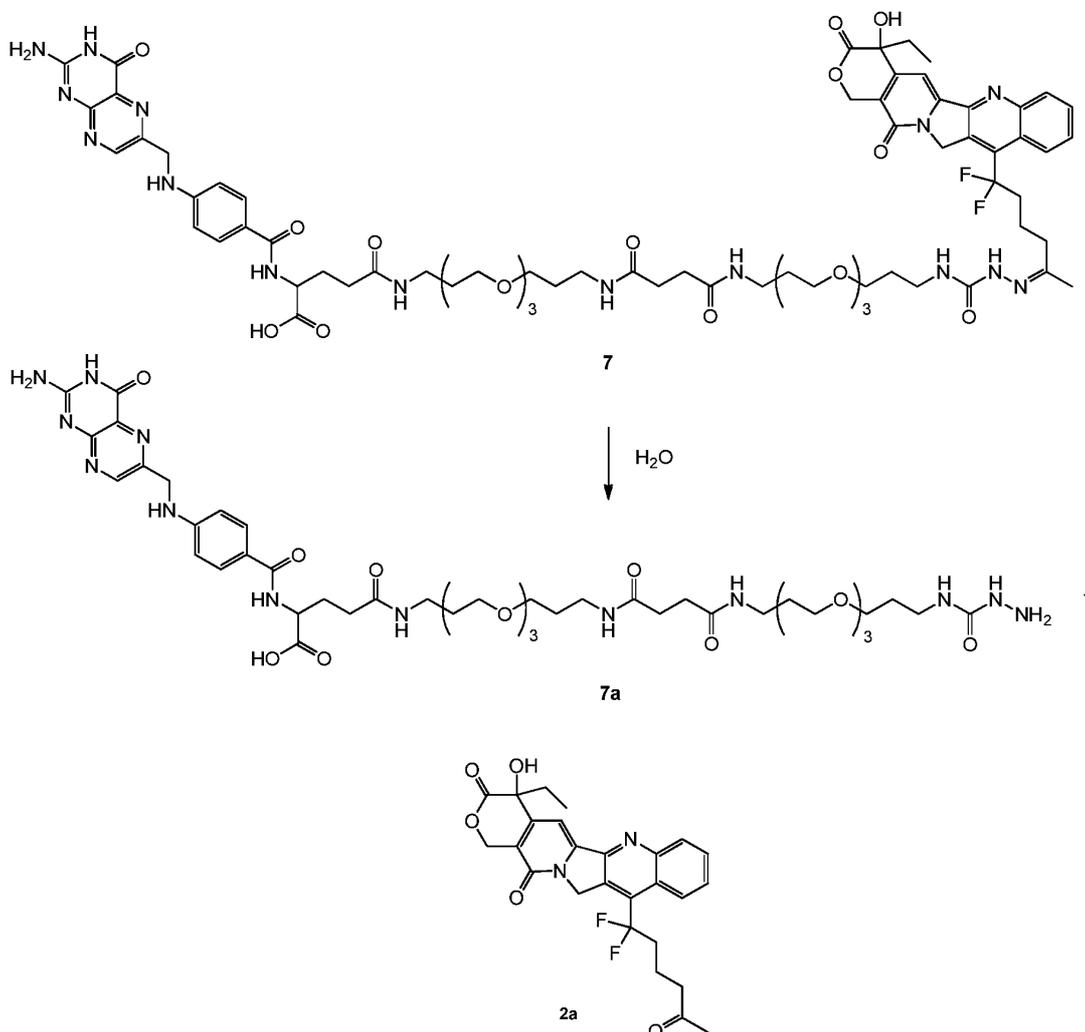
Esquema 7: Síntesis química del compuesto 7b



Esquema 8: Síntesis química del compuesto 6



Esquema 9: Liberación de CPT-cetona 2a desde un conjugado de ácido fólico a través de un mecanismo de liberación controlada lábil frente a ácidos de un enlace semicarbazona



Referencias bibliográficas

- 5 Bruckl, T., Baxter, R. D., Ishihara, Y., Baran, P. S., Innate and guided C-H functionalization logic, *Acc. Chem. Res.*, 2012, 45, 826-839.
- Fujiwara, Y., Dixon, J. A., O'Hara, F., Funder, E. D., Dixon, D. D., Rodriguez, R. A., Baxter, R. D., Herle, B., Sach, N., Collins, M. R., Ishihara, Y., Baran, P. S., Practical and innate carbon-hydrogen functionalization of heterocycles, *Nature*, 2012, 492, 95-99.
- 10 Gravel, D., Hebert, J., Thoraval, D., *Can. J. Chem.*, 1983, 61, 400-410.
- Gui, J., Zhou, Q., Pan, C. M., Yabe, Y., Burns, A. C., Collins, M. R., Ornelas, M. A., Ishihara, Y., Baran, P. S., C-H methylation of heteroarenes inspired by radical SAM methyl transferase, *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, 136, 4853-4856.
- Ji, Y., Brueckl, T., Baxter, R. D., Fujiwara, Y., Seiple, I. B., Su, S., Blackmond, D. G., Baran, P. S., Innate C-H trifluoromethylation of heterocycles, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2011, 108, 14411-14415.
- 15 Klan, P., Solomek, T., Bochet, C. G., Blane, A., Givens, R., Rubina, M., Popik, V., Kostikov, A., Wirz, J., *Chem. Rev.*, 2013, 113, 119-191.
- Kolb, H. C., Finn, M. G., Sharpless, K. B., Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2001, 40, 2004-2021.

- Lu, M., Fedoryak, O. D., Moister, B. R., Dore, T. M., *Org. Lett.*, 2003, 5, 2119-2122.
- Patil, R., Portilla-Arias, J., Ding, H., Konda, B., Rekechenetskiy, A., Inoue, S., Black, K. L., Holler, E., Ljubimova, J. Y., *International journal of molecular sciences*, 2012, 13, 11681-11693.
- 5 Ulrich, S., Boturn, D., Marra, A., Renaudet, O., Dumy, P., Oxime ligation: a chemoselective click-type reaction for accessing multifunctional biomolecular constructs, *Chemistry*, 2014, 20, 34-41.
- Yang, J., Chen, H., Vlahov, I. R., Cheng, J. X., Low, P. S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2007, 321, 462-468.
- Zhao, X., Li, H., Lee, R. J., *Expert opinion on drug delivery*, 2008, 5, 309-319.
- Zhou, Q., Gui, J., Pan, C. M., Albone, E., Cheng, X., Suh, E. M., Grasso, L., Ishihara, Y., Baran, P. S., Bioconjugation by native chemical tagging of C-H bonds, *J. Am. Chem. Soc.*, 2013a, 135, 12994-12997.
- 10 Zhou, Q., Ruffoni, A., Gianatassio, R., Fujiwara, Y., Sella, E., Shabat, D., Baran, P. S., Direct synthesis of fluorinated heteroarylether bioisosteres, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2013b, 52, 3949-3952.

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de fórmula I:



en la que:

- 5 Y es un fármaco o un reactivo bioactivo, que comprende un anillo heteroaromático y está unido a través de un átomo de carbono de dicho anillo heteroaromático:

10 X es carbonilo, o cetal cíclico sustituido con 1 a 4 grupos, siendo cada uno independientemente fenilo o naftilo sustituido en orto con respecto al carbono de la unión con $-NO_2$, y opcionalmente sustituido además en cualquier posición distinta de la posición en orto con respecto al carbono de la unión con uno o más grupos, cada uno seleccionado independientemente de $-O-(C_1-C_8)$, -alquilo (C_1-C_8), $-N(R')_2$, y halógeno, en la que cada R' es independientemente -alquilo (C_1-C_8) o H;

R_1 y R_2 son cada uno independientemente H, halógeno, $-OR_3$, $-CO-R_3$, $-CO-OR_3$, $-OCO-OR_3$, $-OCO-N(R_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-SR_3$, $-N(R_3)_2$, $-CO-N(R_3)_2$, -alquilo (C_1-C_8), -alquenilo (C_2-C_8), -alquinilo (C_2-C_8), cicloalquilo (C_3-C_{10}), arilo (C_6-C_{14}), o heterociclilo de 4-12 miembros;

- 15 R_3 es H, -alquilo (C_1-C_{18}), -alquenilo (C_2-C_{18}), o -alquinilo (C_2-C_{18}); y

n y m son cada uno independientemente un número entero de 1-8;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

2.- El compuesto de la reivindicación 1, en el que:

- 20 (i) R_1 y R_2 son cada uno independientemente H, halógeno, $-OR_3$, $-CO-R_3$, $-CO-OR_3$, $-OCO-OR_3$, $-OCO-N(R_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-SR_3$, $-N(R_3)_2$, $-CO-N(R_3)_2$, -alquilo (C_1-C_4), -alquenilo (C_2-C_4), -alquinilo (C_2-C_4), cicloalquilo (C_3-C_{10}), arilo (C_6-C_{14}), o heterociclilo de 4-12 miembros, en el que R_3 es H, metilo, etilo o propilo;

(ii) n es 3, 4 o 5; o

(iii) m es 1, 2 o 3.

- 25 3.- El compuesto de la reivindicación 1, en el que R_1 y R_2 son cada uno independientemente H, halógeno, $-OR_3$, $-CO-R_3$, $-CO-OR_3$, $-OCO-OR_3$, $-OCO-N(R_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-SR_3$, $-N(R_3)_2$, $-CO-N(R_3)_2$, -alquilo (C_1-C_4), -alquenilo (C_2-C_4), -alquinilo (C_2-C_4), cicloalquilo (C_3-C_{10}), arilo (C_6-C_{14}), o heterociclilo de 4-12 miembros, en el que R_3 es H, metilo, etilo o propilo; n es 3, 4 o 5; y m es 1, 2 o 3, preferiblemente en el que R_1 y R_2 son cada uno H.

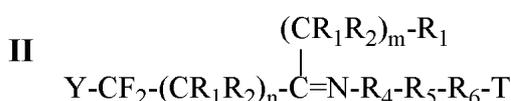
- 30 4.- El compuesto de la reivindicación 1, en el que Y es un fármaco anticáncer, un fármaco antineoplásico, un fármaco antifúngico, un fármaco antibacteriano, un fármaco antivírico, un fármaco cardíaco, un fármaco neurológico, un fármaco psicoactivo, un fármaco de abuso, un alcaloide, un antibiótico, un péptido bioactivo, un esteroide, una hormona esteroidea, una hormona peptídica, un interferón, una interleuquina, un narcótico, un ácido nucleico, un plaguicida o una prostaglandina.

- 35 5.- El compuesto de la reivindicación 4, en el que dicho fármaco anticáncer es un fármaco quimioterapéutico, tal como camptotecina o uno de sus derivados, bosutinib, o metotrexato; o dicho fármaco antineoplásico es un agente antineoplásico alquilante, tal como temozolomida, uramustina o bendamustina.

6.- El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que X es (i) carbonilo; o (ii) cetal cíclico sustituido con 1 o 2 grupos fenilo, cada uno independientemente sustituido en orto con respecto al carbono de la unión con $-NO_2$, y opcionalmente sustituido además en cualquier posición distinta de la posición en orto con respecto al carbono de la unión con uno o más grupos, cada uno seleccionado independientemente de $-O-(C_1-C_8)$.

- 40 7.- El compuesto de la reivindicación 6, en el que X es cetal cíclico sustituido con un grupo 4,5-dimetoxi-2-nitrofenilo.

8.- Un conjugado de fórmula II:



en la que:

Y es un fármaco o un reactivo bioactivo, que comprende un anillo heteroaromático y está unido a través de un átomo

de carbono de dicho anillo heteroaromático:

R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OR₃, -CO-R₃, -CO-OR₃, -OCO-OR₃, -OCO-N(R₃)₂, -CN, -NO₂, -SR₃, -N(R₃)₂, -CO-N(R₃)₂, -alquilo (C₁-C₈), -alquenilo (C₂-C₈), -alquinilo (C₂-C₈), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros;

5 R₃ es H, -alquilo (C₁-C₁₈), -alquenilo (C₂-C₁₈), o -alquinilo (C₂-C₁₈);

R₄ está ausente, o se selecciona de -NH-(CH₂)_p-, -NH-CO-(CH₂)_p-, -NH-CO-NH-(CH₂)_p-, -NH-CO-O-(CH₂)_p-, -O-(CH₂)_p-, -O-CO-(CH₂)_p-, -O-CO-NH-(CH₂)_p-, y -O-CO-O-(CH₂)_p-;

R₅ es un resto de carbohidrato, péptido, proteína o polímero;

10 R₆ es H, -(CH₂)_y-OH, -(CH₂)_y-SH, -(CH₂)_y-NH₂, -(CH₂)_y-COOH, -(CH₂)_y-SO₃H, o un radical divalente seleccionado de -(CH₂)_y-O-, -(CH₂)_y-S-, -(CH₂)_y-NH-, -(CH₂)_y-COO- o -(CH₂)_y-SO₃-;

n y m son cada uno independientemente un número entero de 1-8;

p e y son cada uno independientemente un número entero de 0-8; y

15 T está ausente, o es un resto de transporte dirigido capaz de unirse a un antígeno extracelular y que está unido a través de uno de sus grupos funcionales, con la condición de que cuando T está ausente, R₆ no es un radical divalente, y cuando T es un resto de transporte dirigido, R₆ es un radical divalente,

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

9.- El conjugado de la reivindicación 8, en el que:

20 (i) R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OR₃, -CO-R₃, -CO-OR₃, -OCO-OR₃, -OCO-N(R₃)₂, -CN, -NO₂, -SR₃, -N(R₃)₂, -CO-N(R₃)₂, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), -alquinilo (C₂-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros, en el que R₃ es H, metilo, etilo o propilo;

(ii) n es 3, 4 o 5;

(iii) m es 1, 2 o 3;

(iv) R₄ es -NH-CO-(CH₂)_p- o -NH-CO-NH-(CH₂)_p-;

25 (v) R₅ es un resto de polímero, y dicho polímero es polietilenglicol (PEG) lineal o ramificado, o sus copolímeros; un pseudoPEG interrumpido por al menos un grupo, cada uno seleccionado independientemente de -NH-CO-, -CO-NH-, y alquileo (C₃-C₈) interrumpido por al menos dos grupos seleccionados cada uno independientemente de -NH-CO- y -CO-NH-, tal como (-CH₂-CH₂-O)₃-(CH₂)₃-NH-CO-(CH₂)₂-CO-NH-(CH₂)₃-(O-CH₂-CH₂-)₃; poli(ácido láctico) o sus copolímeros; poliésteres seleccionados de polilactida (PLA), poliglicólido (PGA), policaprolactona (PCL) o sus copolímeros; o poliamidas basadas en polimetacrilamida o sus copolímeros;

30 (vi) R₅ un resto de proteína, y dicha proteína es albúmina, una albúmina modificada, o una proteína que contiene dominios similares a globina que tiene una semivida larga en la circulación;

(vii) R₅ es un resto de péptido;

(viii) R₅ es un resto de carbohidrato;

35 (ix) Y es un fármaco anticáncer, un fármaco antineoplásico, un fármaco antifúngico, un fármaco antibacteriano, un fármaco antivírico, un fármaco cardíaco, un fármaco neurológico, un fármaco psicoactivo, un fármaco de abuso, un alcaloide, un antibiótico, un péptido bioactivo, un esteroide, una hormona esteroidea, una hormona peptídica, un interferón, una interleuquina, un narcótico, un ácido nucleico, un plaguicida o una prostaglandina; o

40 (x) dicho resto de transporte dirigido es una proteína, un péptido, un polipéptido, una glicoproteína, una lipoproteína, un lípido, un fosfolípido, un oligonucleótido o una imitación de este, un esteroide, una hormona, una linfoquina, un factor del crecimiento, una albumina, una citoquina, una enzima, una coenzima, una vitamina, un cofactor, un antígeno humano, un hapteno, una proteína de receptor, un anticuerpo o un fragmento de este, una sustancia usada o modificada de modo que actúe como un resto de transporte dirigido, o una combinación de estos, preferiblemente una vitamina, tal como vitamina B9 (ácido fólico).

45 10.- El conjugado de la reivindicación 9, en el que dicho fármaco anticáncer es un fármaco quimioterapéutico, tal como camptotecina o uno de sus derivados, bosutinib, o metotrexato; o dicho fármaco antineoplásico es un agente antineoplásico alquilante, tal como temozolomida, uramustina o bendamustina.

11.- El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en el que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, halógeno, -OR₃, -CO-R₃, -CO-OR₃, -OCO-OR₃, -OCO-N(R₃)₂, -CN, -NO₂, -SR₃, -N(R₃)₂, -CO-

- 5 N(R₃)₂, -alquilo (C₁-C₄), -alquenilo (C₂-C₄), -alquinilo (C₂-C₄), cicloalquilo (C₃-C₁₀), arilo (C₆-C₁₄), o heterociclilo de 4-12 miembros, en el que R₃ es H, metilo, etilo o propilo; n es 3, 4 o 5; m es 1, 2 o 3; R₄ es -NH-CO-(CH₂)_p- o -NH-CO-NH-(CH₂)_p-; y R₅ es un resto PEG o un pseudoPEG interrumpido por al menos un grupo seleccionado independientemente de -NH-CO-, -CO-NH-, y alquileo (C₃-C₈) interrumpido por al menos dos grupos seleccionados independientemente de -NH-CO- y -CO-NH-.
- 12.- El conjugado de la reivindicación 11, en el que R₁ y R₂ son H; n es 3; m es 1; y R₅ es un resto PEG o un resto pseudoPEG que tiene la estructura -(CH₂-CH₂-O)₃-(CH₂)₃-NH-CO-(CH₂)₂-CO-NH-(CH₂)₃-(O-CH₂-CH₂)₃.
- 10 13.- El conjugado de la reivindicación 12, en el que (i) R₆ es un radical divalente; o (ii) R₆ es H, -(CH₂)_y-OH, -(CH₂)_y-SH, -(CH₂)_y-NH₂, -(CH₂)_y-COOH o -(CH₂)_y-SO₃H, preferiblemente -(CH₂)_y-SH, -(CH₂)_y-NH₂, o -(CH₂)_y-COOH, preferiblemente en el que y es 1, 2 o 3; y T está ausente.
- 14.- El conjugado de la reivindicación 13, en el que R₆ es -(CH₂)_y-NH-, preferiblemente en el que y es 1 o 2; y dicho resto de transporte dirigido es ácido fólico unido a través de uno de sus grupos carboxílicos, preferiblemente a través de su grupo gamma-carboxilo.
- 15 15.- El conjugado de la reivindicación 14, en el que (i) R₄ es -NH-CO-NH-CH₂-; R₅ es un resto pseudoPEG que tiene la estructura -(CH₂-CH₂-O)₃-(CH₂)₃-NH-CO-(CH₂)₂-CO-NH-(CH₂)₃-(O-CH₂-CH₂)₃; R₆ es -(CH₂)₂-NH-; e Y es camptotecina, 10-hidroxicamptotecina, temozolomida, bosutinib, o metotrexato; (ii) R₄ es -NH-CO-CH₂-; R₅ es un resto pseudoPEG que tiene la estructura -(CH₂-CH₂-O)₃-(CH₂)₃-NH-CO-(CH₂)₂-CO-NH-(CH₂)₃-(O-CH₂-CH₂)₃; R₆ es -(CH₂)₂-NH-; e Y es camptotecina, 10-hidroxicamptotecina, temozolomida, bosutinib, o metotrexato; o (iii) R₄ es -NH-CO-; R₅ es un resto PEG que tiene la estructura -(CH₂-CH₂-O)₃-; R₆ es -(CH₂)₂-NH-; e Y es camptotecina, 10-hidroxicamptotecina, temozolomida, bosutinib, o metotrexato.
- 20 16.- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que X no es carbonilo; o un conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 15, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 25 17.- Un conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 15, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que Y es un fármaco anticáncer o un fármaco antineoplásico, y T es un resto de transporte dirigido capaz de unirse a un antígeno extracelular presente sobre las células de dicho cáncer, para su uso en el tratamiento del cáncer.

Fig. 1

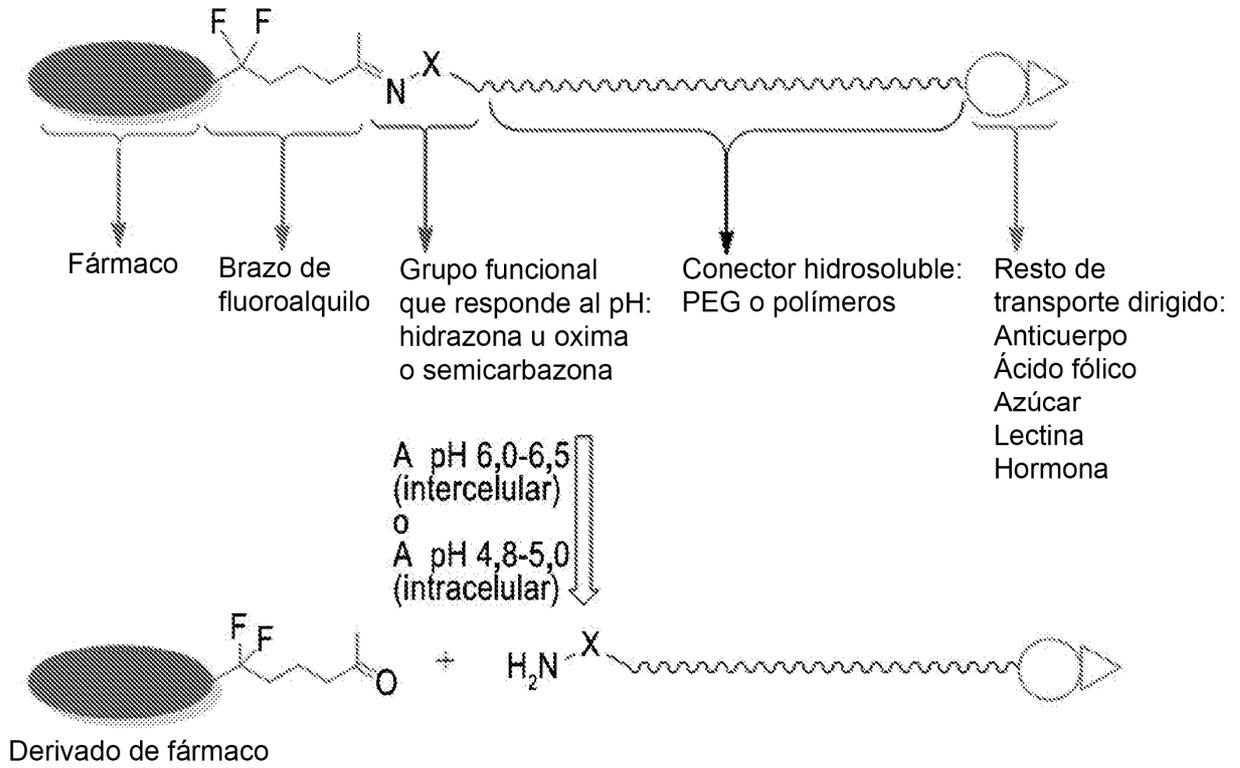


Fig. 2A

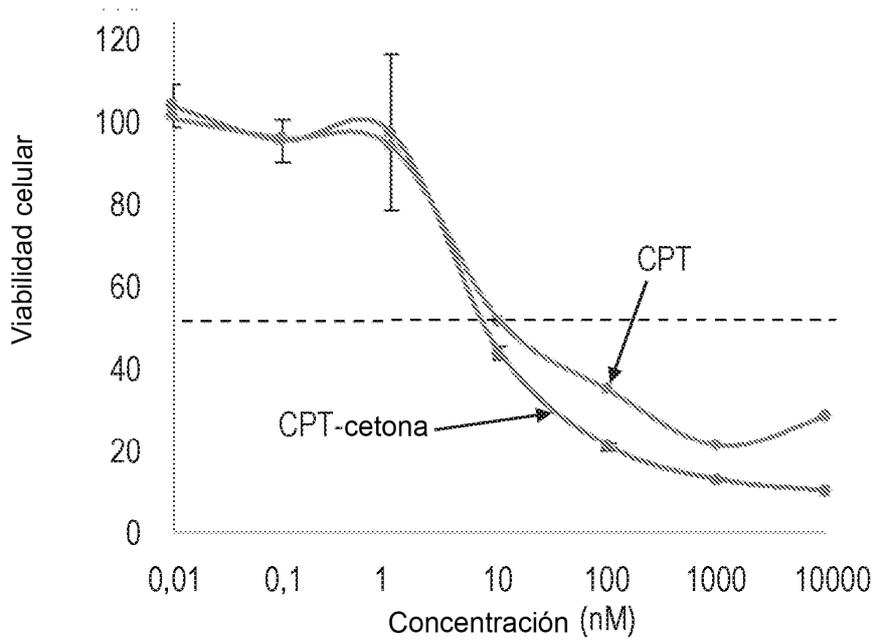


Fig. 2B

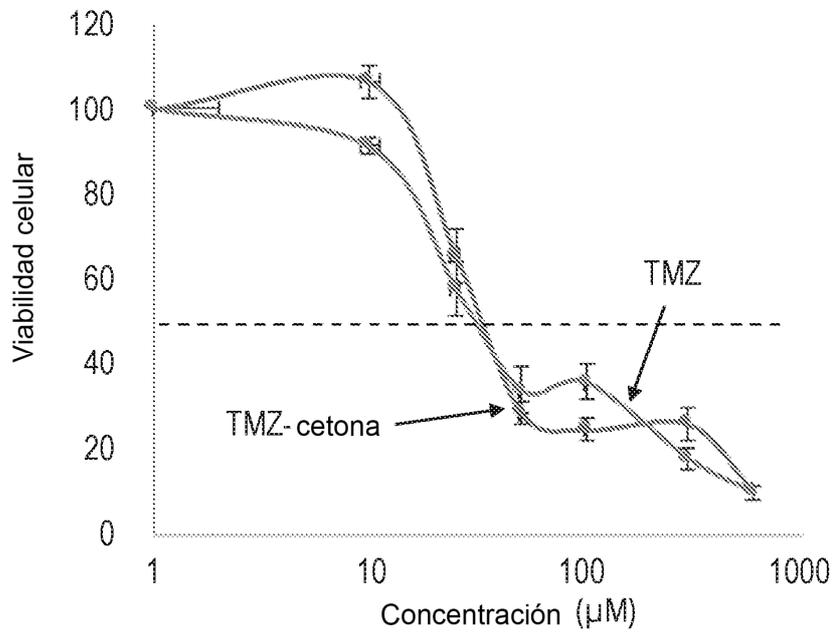


Fig. 2C

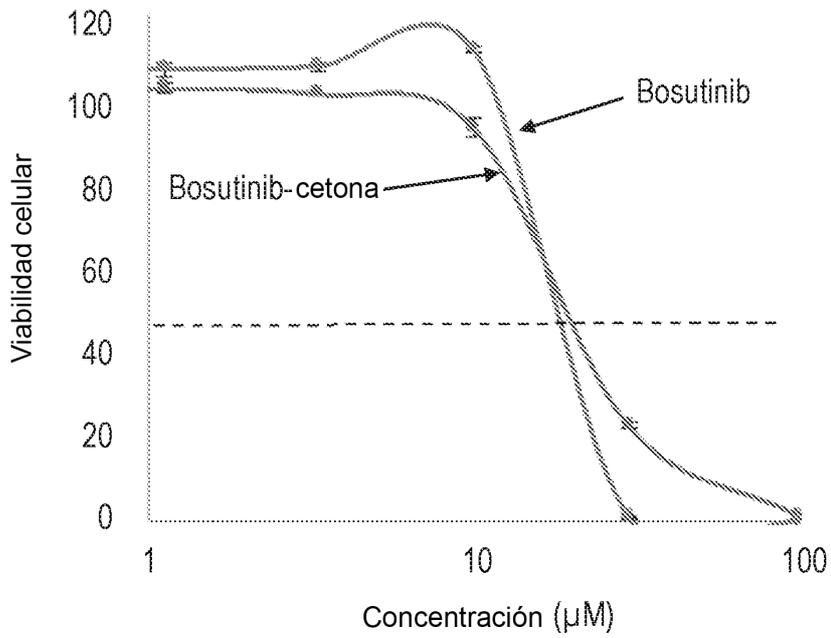


Fig. 3

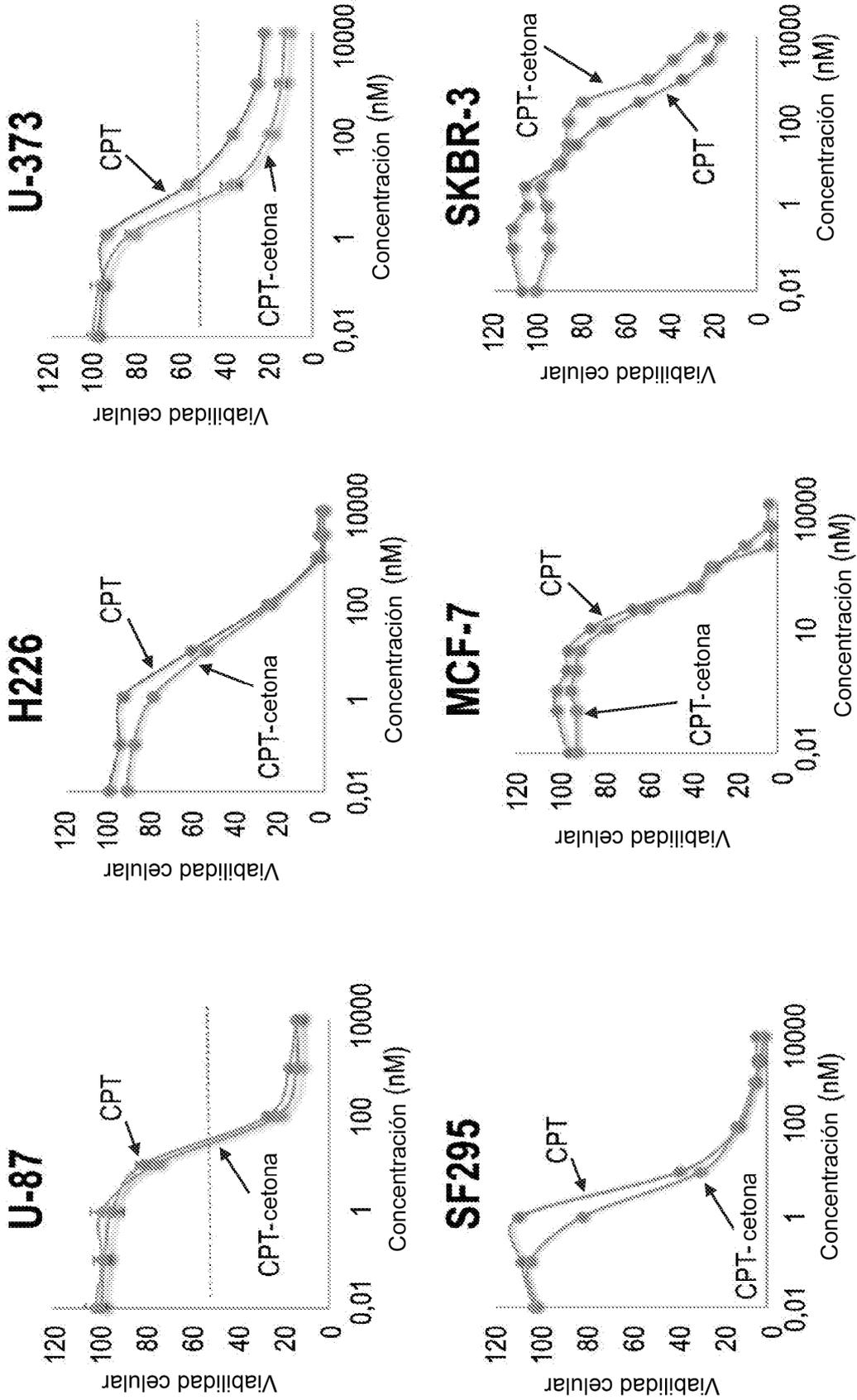


Fig. 4

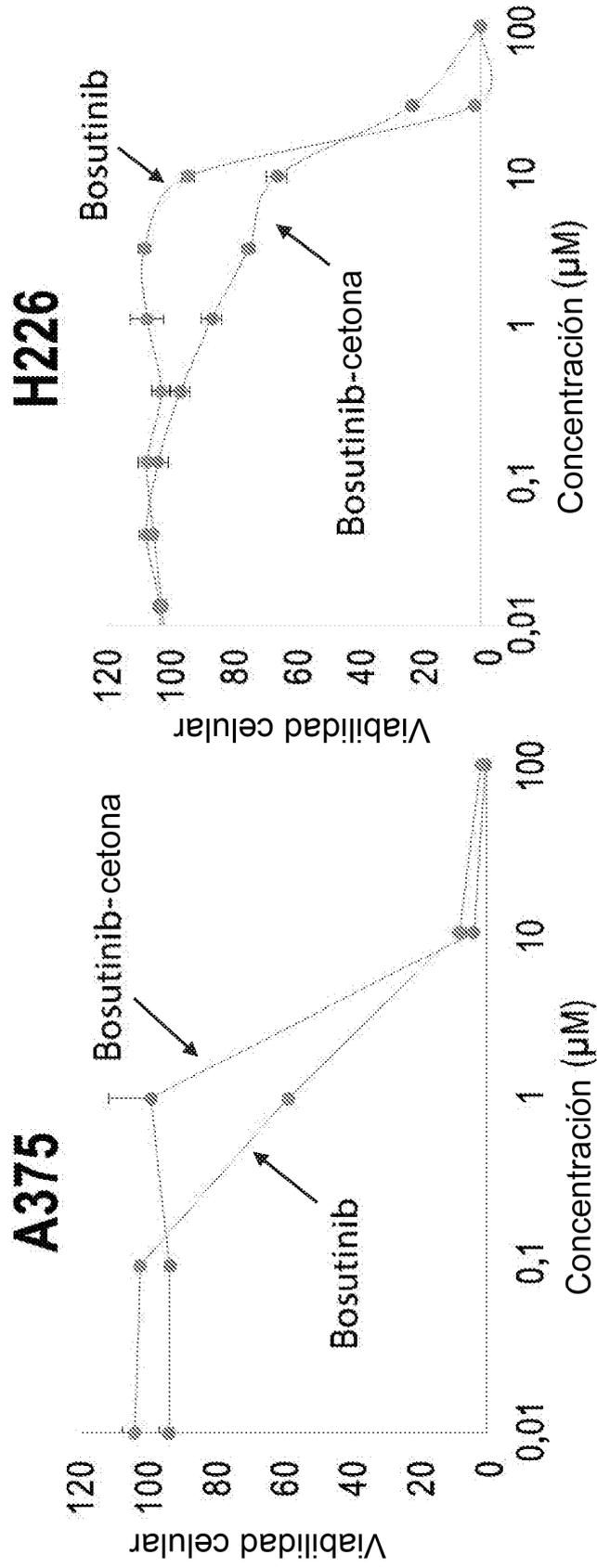


Fig. 5A

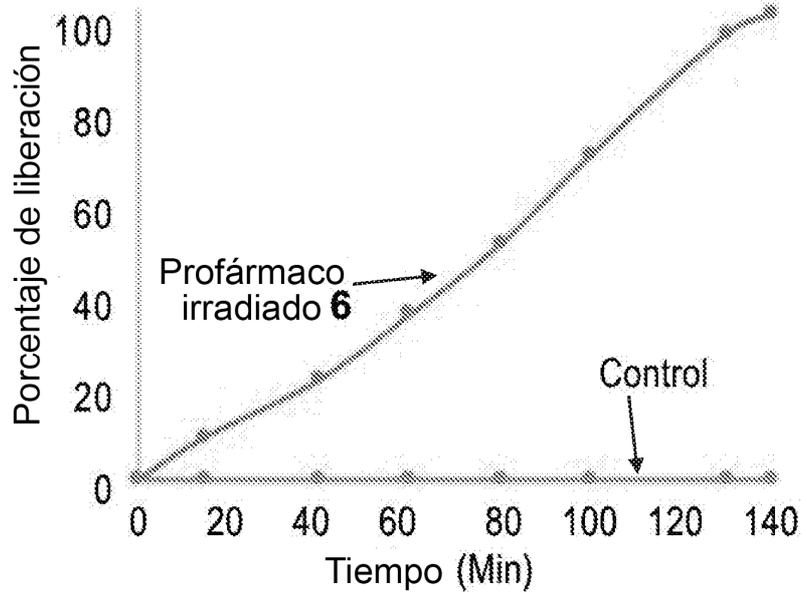


Fig. 5B

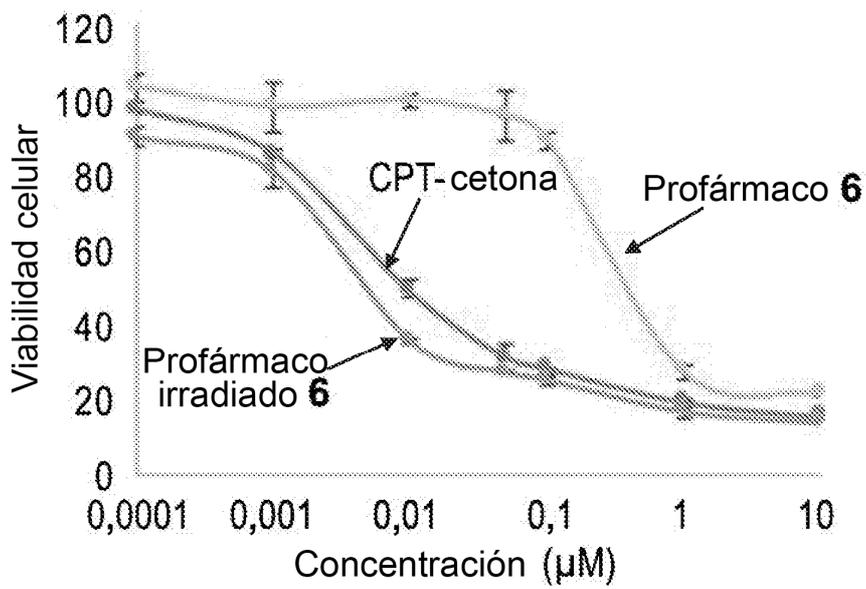


Fig. 6

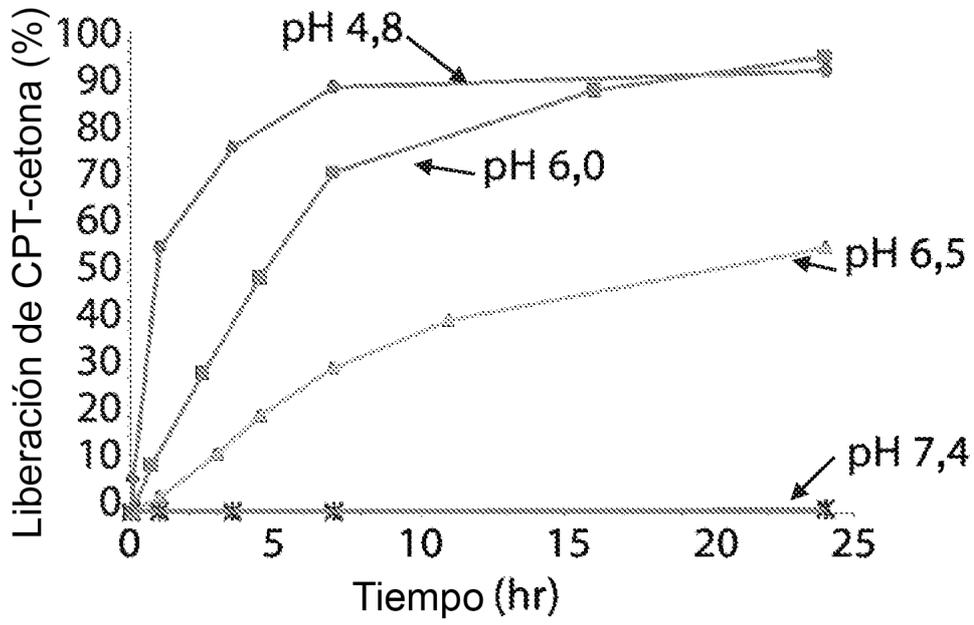


Fig. 7A

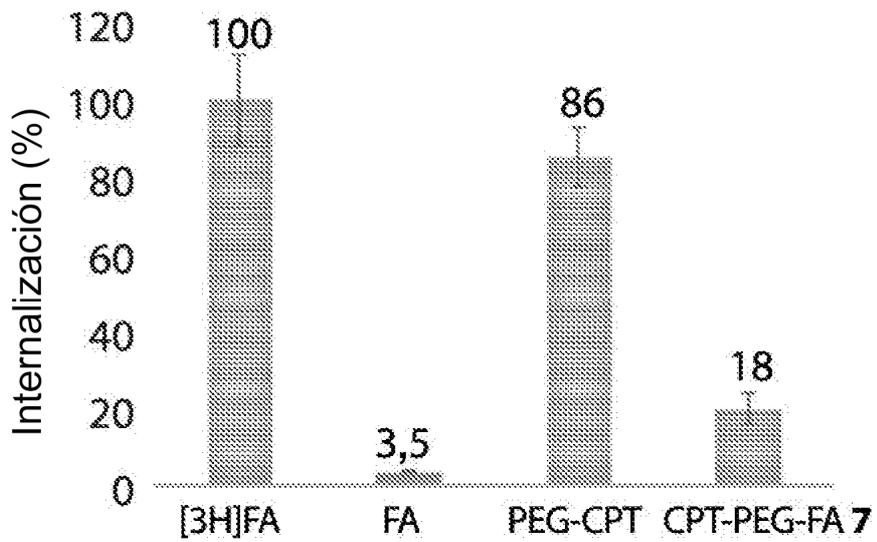


Fig. 7B

Compuesto	CI ₅₀ (nM)
CPT-cetona 2a	5
CPT-PEG-FA 7	10
CPT-PEG 7b	150

