C4-2

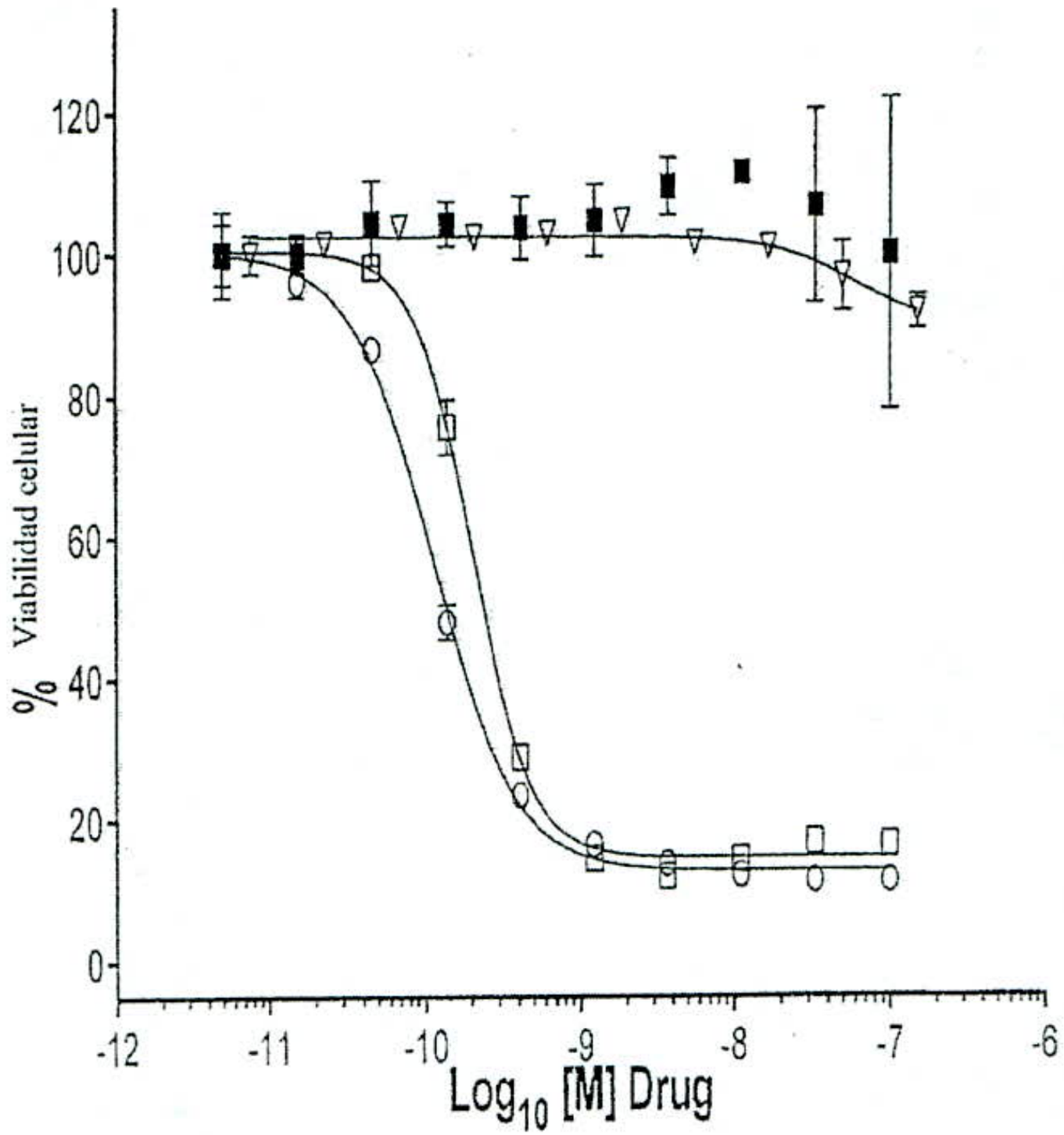

120
100
80
60
40
20
0
% Viabilidad celular
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Drug
Control-10
PSMA-10
PSMA
27

FIG. 2

C4-2

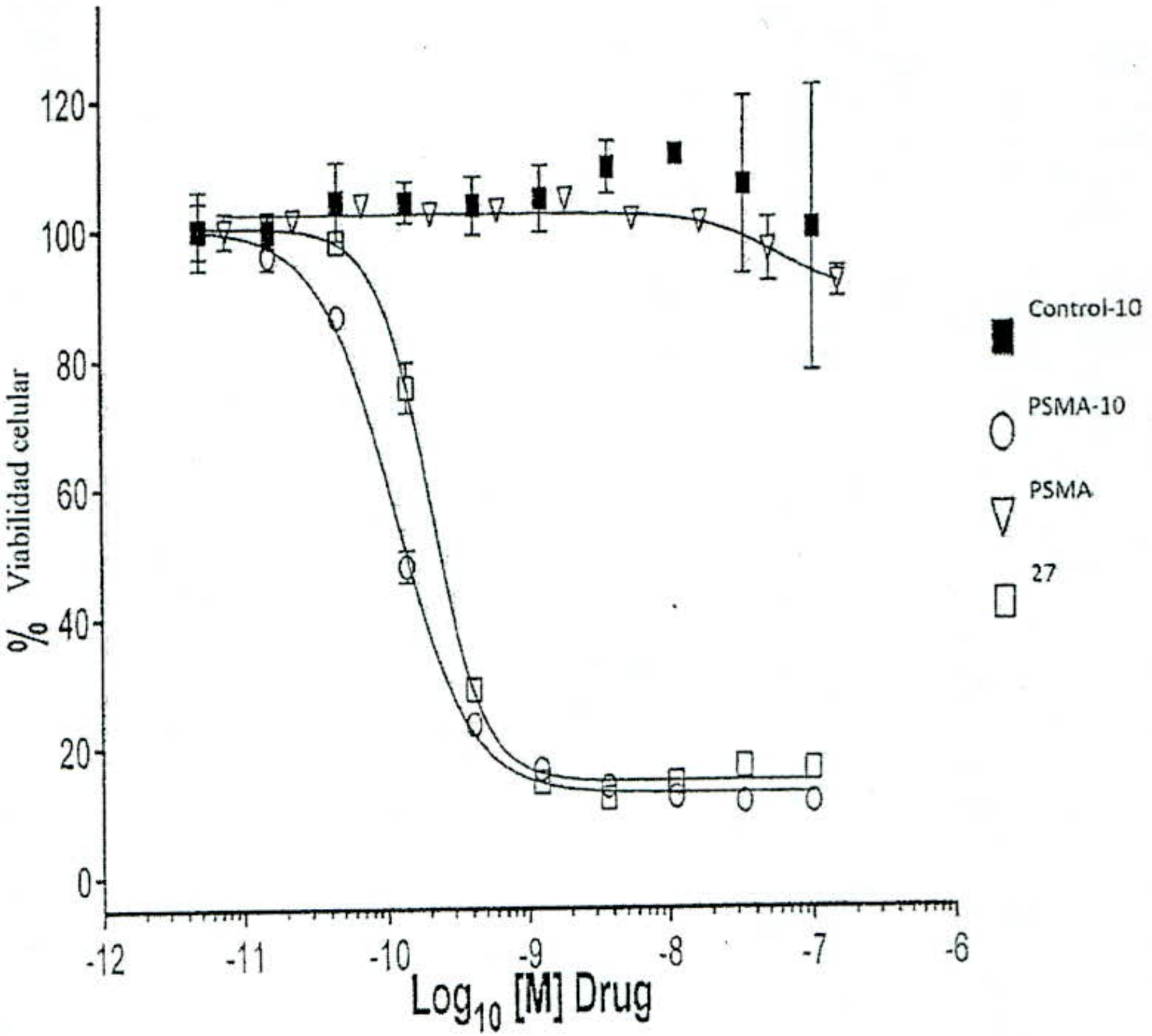

120
100
80
60
40
20
0
% Viabilidad celular
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Drug
Control-10
PSMA-10
PSMA
27

FIG. 2

C4-2

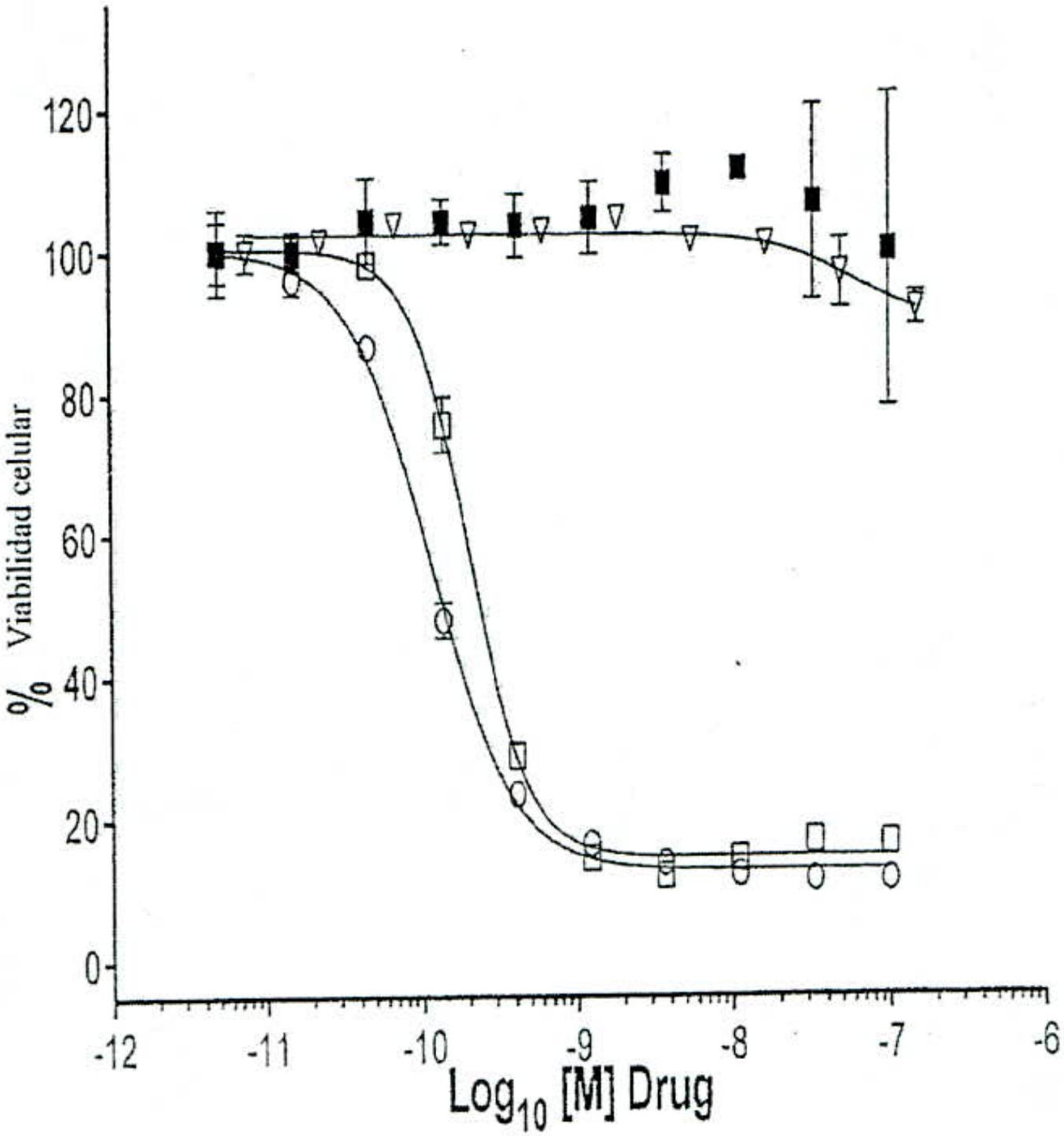

120
100
80
60
40
20
0
% Viabilidad celular
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Drug
Control-10
PSMA-10
PSMA
27

FIG. 2

C4-2

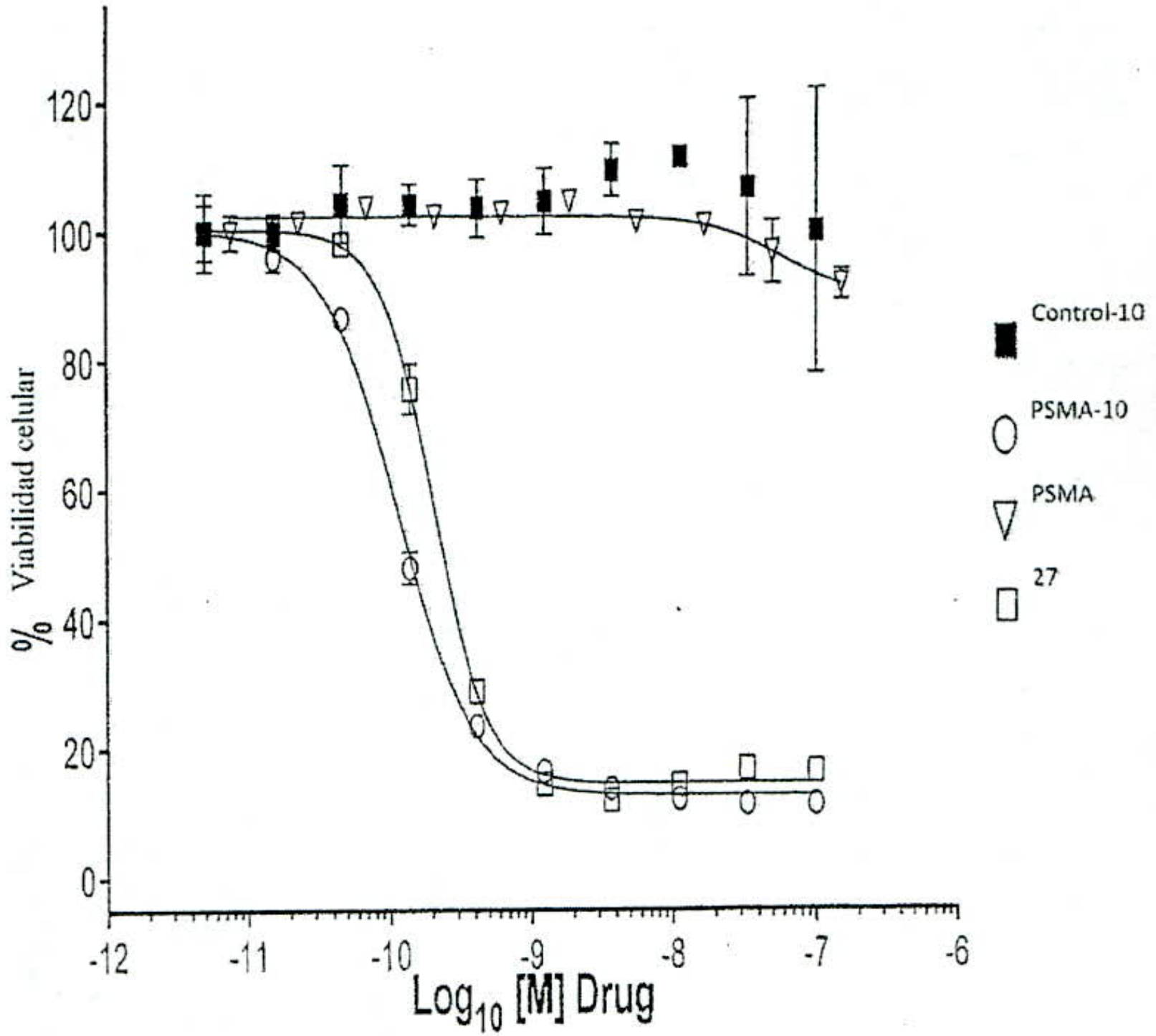

120
100
80
60
40
20
0
% Viabilidad celular
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Drug
Control-10
PSMA-10
PSMA
27

FIG. 2

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	**TESTIGO DOCUMENTAL**	Folio: 9.

Dependencia Jerárquica: Delegatura para la Propiedad Industrial		Código:	2000
Dependencia Productora: Dir, Nuevas Creaciones		Código:	2020
Tipo de Radicación: Entrada: **X**	Salida: □	Traslado: □	Convenio: □
Radicador:			

DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA

Nombre de la Serie / Subserie:	Código:
Expediente: NE2017/0010890	Solicitante / ***Quejoso / Demandante / otros.***
Prueba excluida: CD	
N°. de Pruebas excluidas: 1	
Fecha de emisión de la Prueba:	

UBICACIÓN DE LA PRUEBA EN LA SECCIÓN DE MATERIAL GRÁFICO

N°. de bloque:		Otras especificaciones:
Nº. de rodante:		
Nº. de estante:		
N°. de archivador:		
Nº. de entrepaño:		
Nº. de gaveta:		
N°. de caja:		

IMPORTANTE:

- El material gráfico ***o especial*** que se encuentra ***dentro o anexo a*** las unidades documentales o expedientes, debe extraerse y llevarse a aquella sección del archivo que se haya dispuesto para conservar documentos en distintos formatos.
- Entiéndase por material gráfico todos aquellos dibujos, croquis, mapas, planos, fotografías, ilustraciones, pictografías, códices, prensa, objetos tridimensionales, entre otros.

Observaciones:

EL CD CONTIENE 2 archivos .pdf procesados y cargados al sistema

Unidad de Conservación

- ○ Bolsa
- ○ Caja
- ○ Libro
- ○ Sobre
- ○ Tomo
- ○ Otro

Soporte Documental

- X CD
- ○ Disquete
- ○ DVD
- ○ Folleto
- ○ Periódico
- ○ Plano
- ○ Publicación Periódica
- ○ USB
- ○ Otro

GL

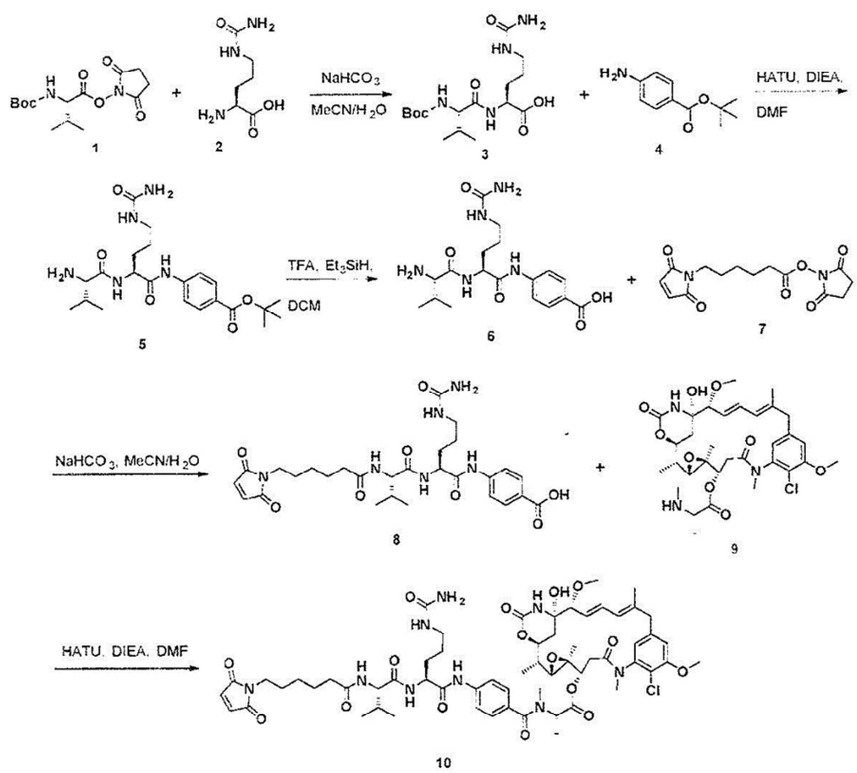

NaHCO3
MeCN/H2O
HATU, DIEA,
DMF
TFA, Et3SiH,
DCM
NaHCO3, MeCN/H2O
HATU, DIEA, DMF
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

FIG. 1

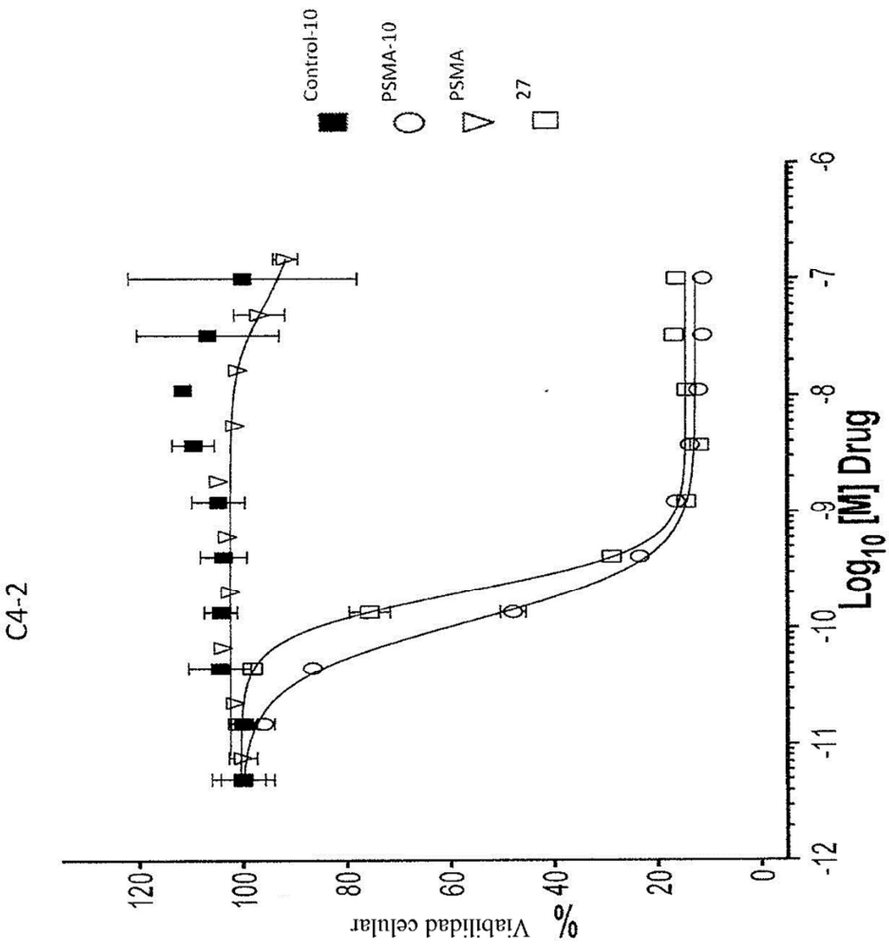

C4-2
Control-10
PSMA-10
PSMA
27
Viabilidad celular %
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Drug

FIG. 2

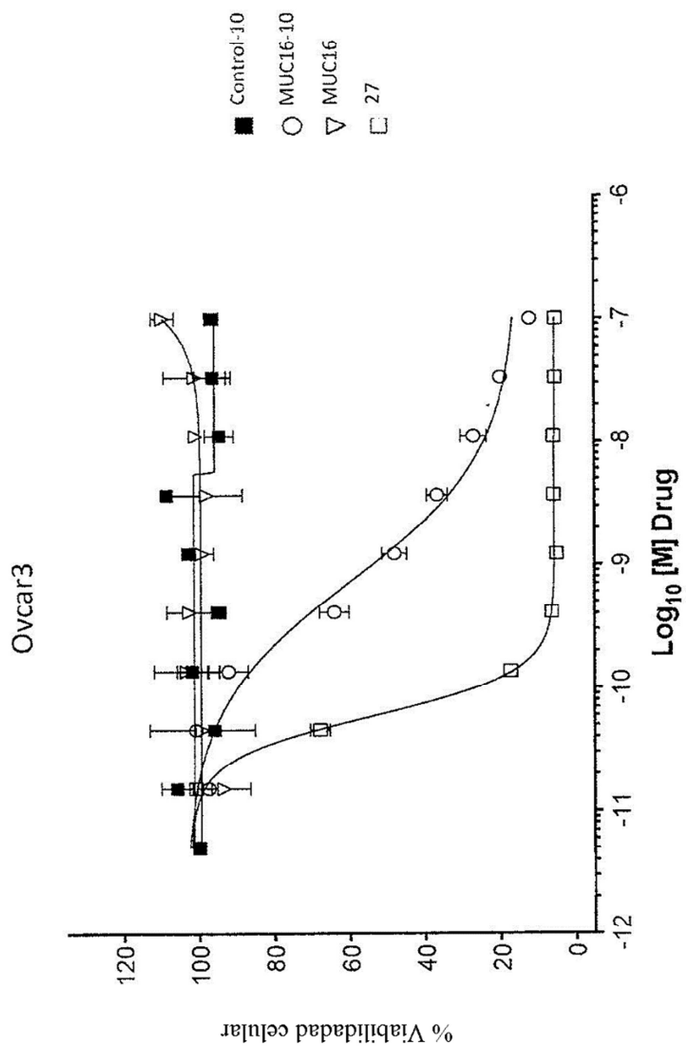

Control-10
MUC16-10
MUC16
27
Ovcar3
% Viabilidad celular
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Drug

FIG. 3

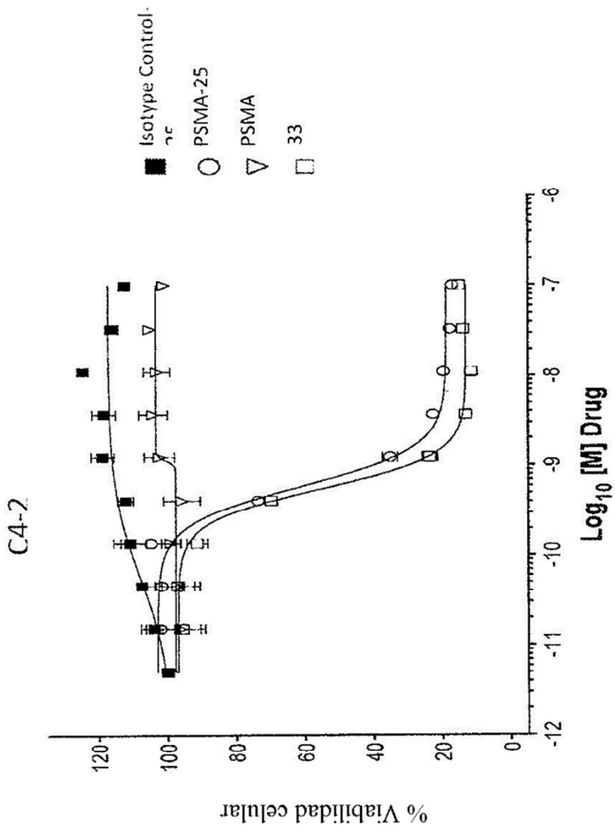

C4-2
% Viabilidad celular
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Drug
Isotype Control-
PSMA-25
PSMA
33

FIG. 4

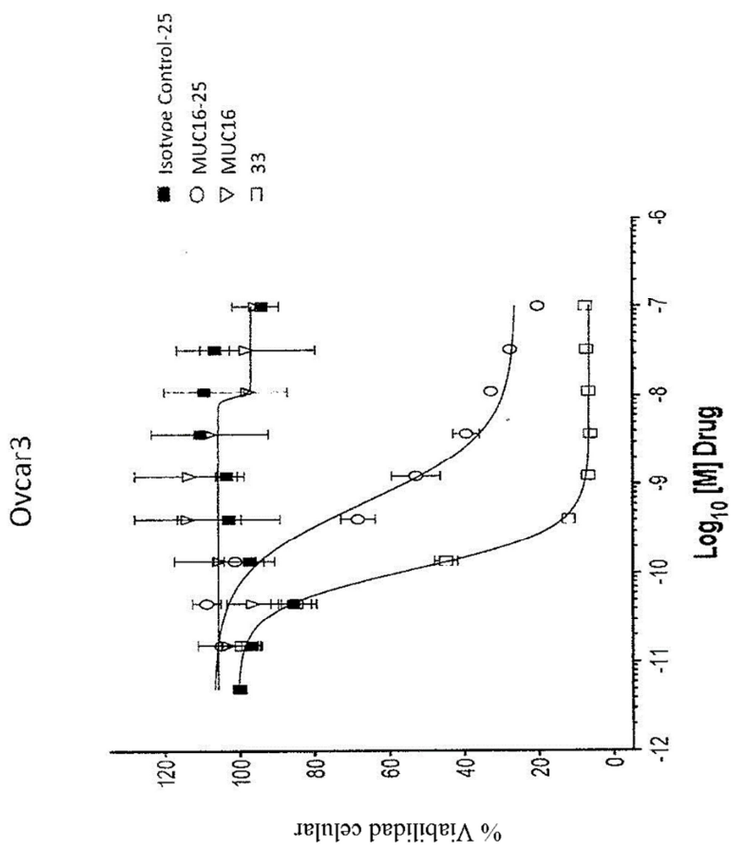

Ovcar3
Isotype Control-25
MUC16-25
MUC16
33
% Viabilidad celular
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Drug

FIG. 5

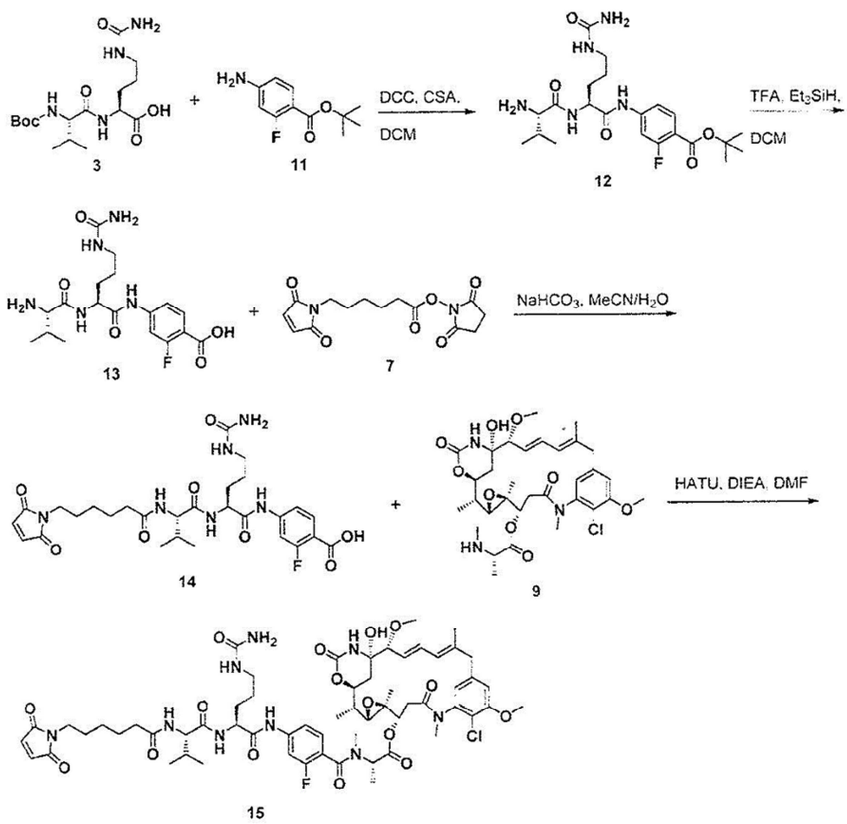

DCC, CSA,
DCM
TFA, Et3SiH,
DCM
NaHCO3, MeCN/H2O
HATU, DIEA, DMF
3
11
12
13
7
14
9
15

FIG. 6

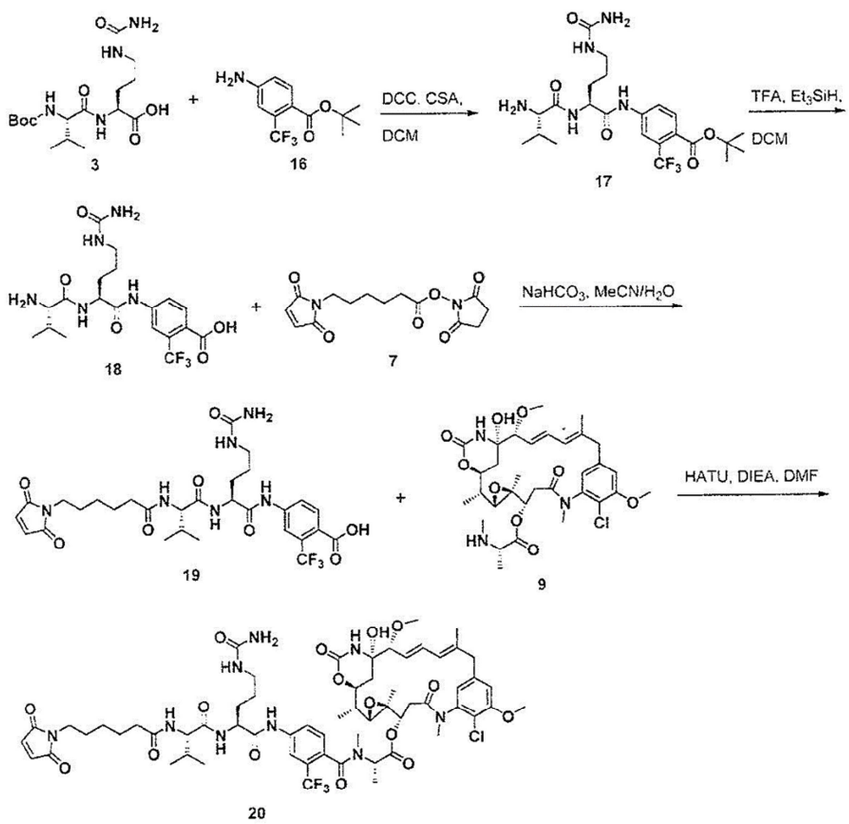


FIG. 7

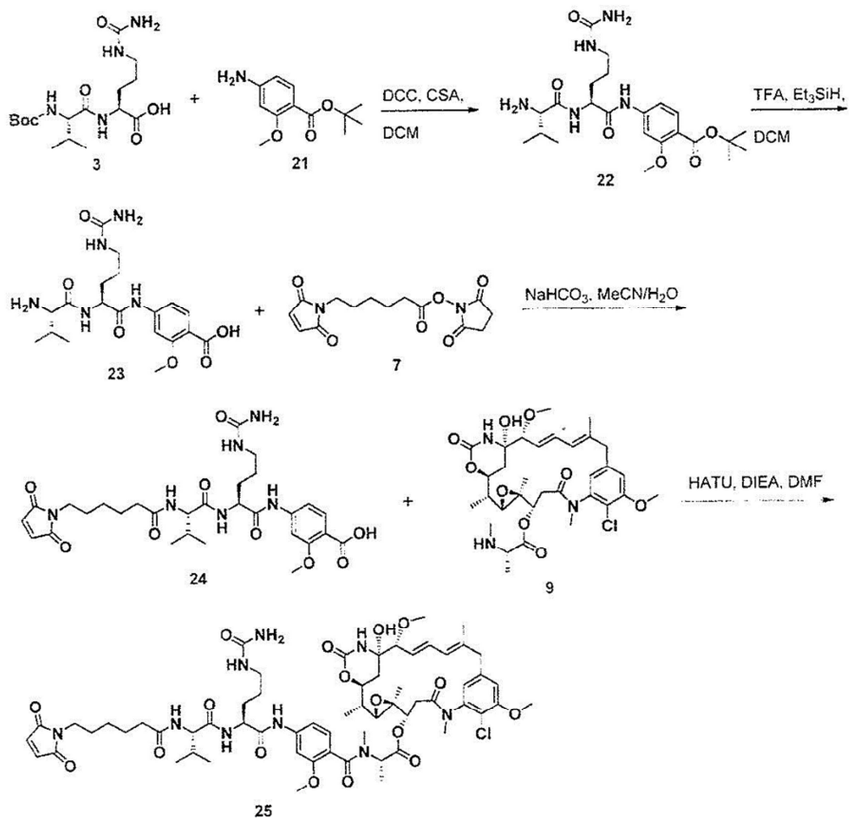

DCC, CSA,
DCM
TFA, Et3SiH,
DCM
NaHCO3, MeCN/H2O
HATU, DIEA, DMF
3
21
22
23
7
24
9
25

FIG. 8

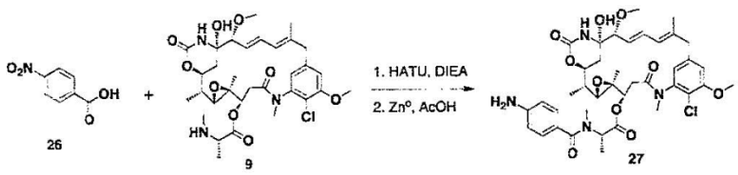


FIG. 9

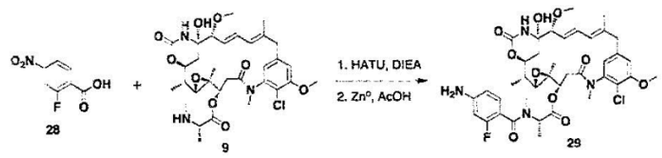


FIG. 10

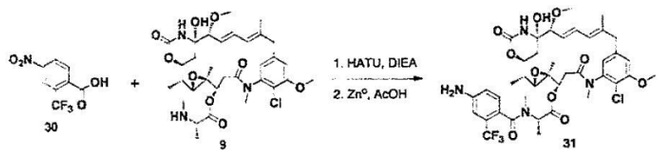


FIG. 11

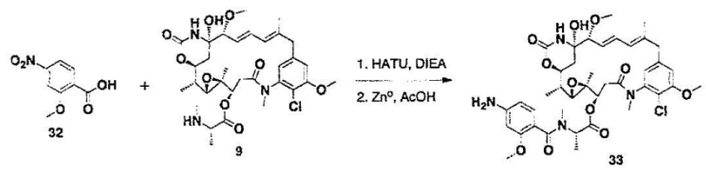


FIG. 12

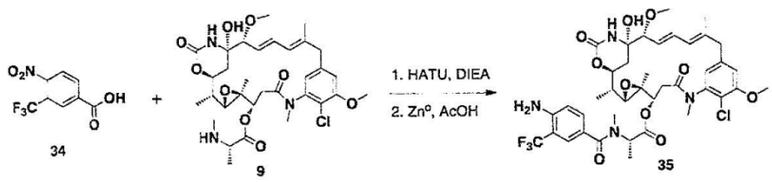


FIG. 13

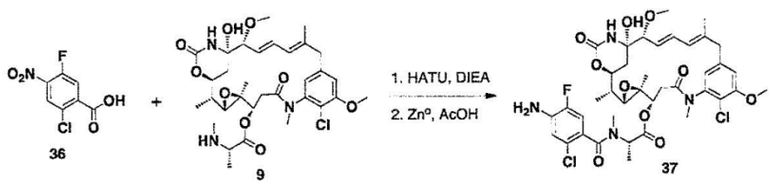


FIG. 14

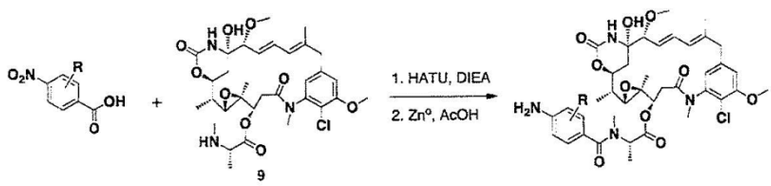


FIG. 15

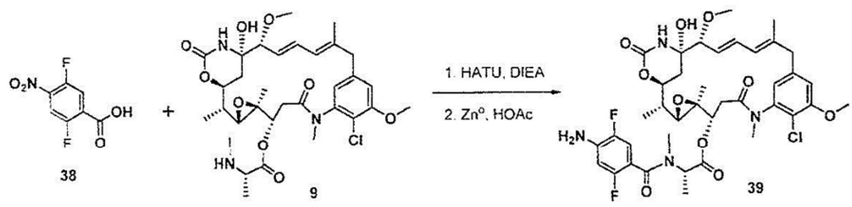


FIG. 16

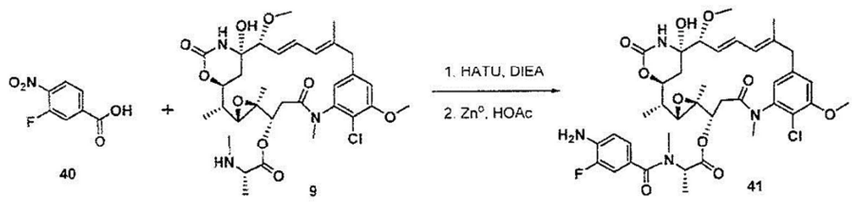


FIG. 17

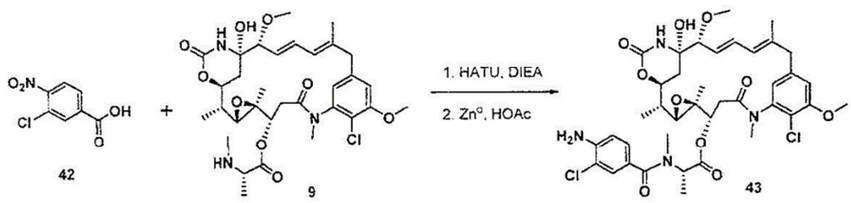


FIG. 18

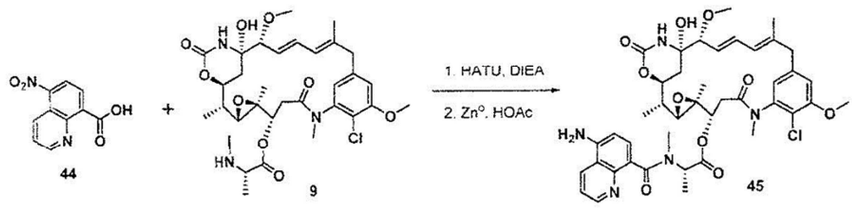


FIG. 19

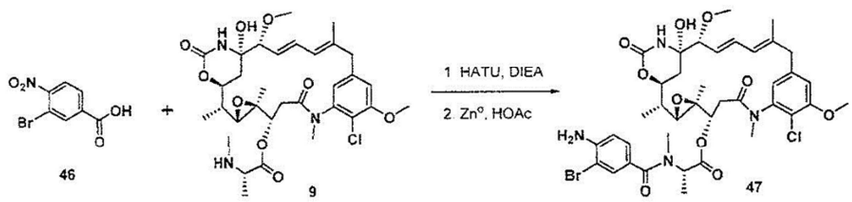


FIG. 20

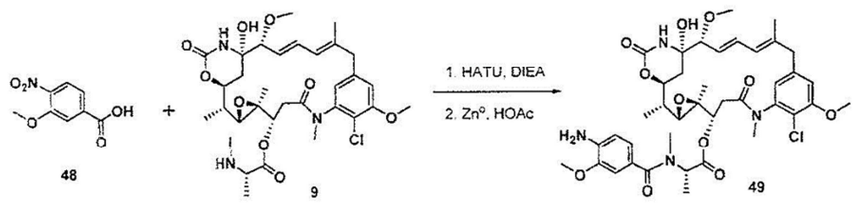


FIG. 21

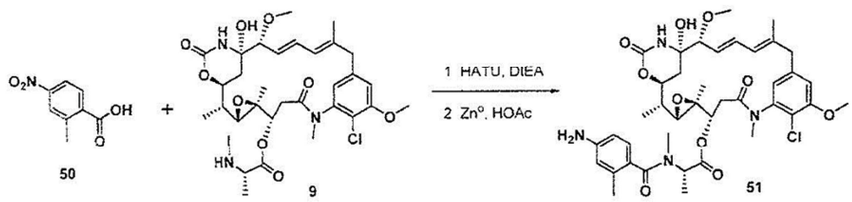


FIG. 22

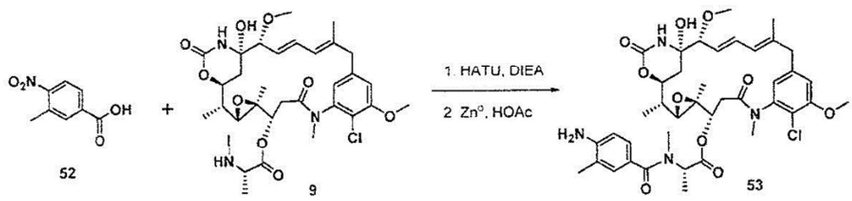


FIG. 23

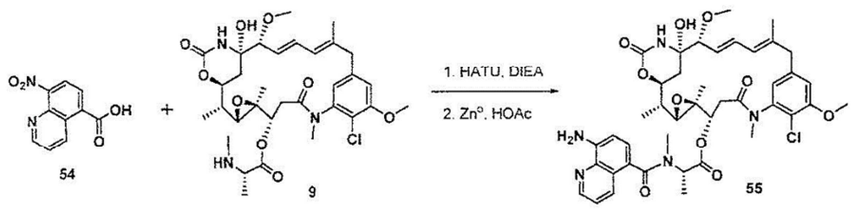


FIG. 24

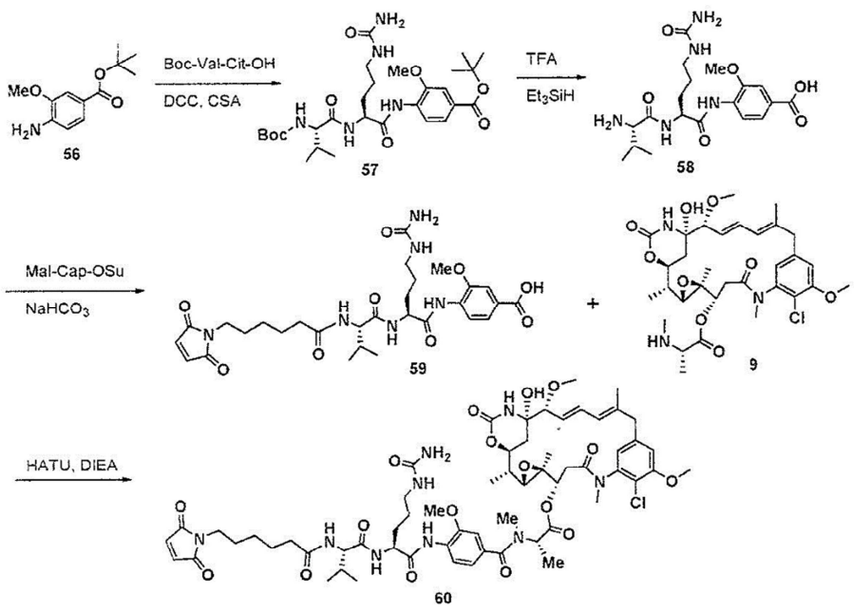

Boc-Val-Cit-OH
DCC, CSA
TFA
Et3SiH
Mal-Cap-OSu
NaHCO3
HATU, DIEA
56
57
58
59
9
60

FIG. 25

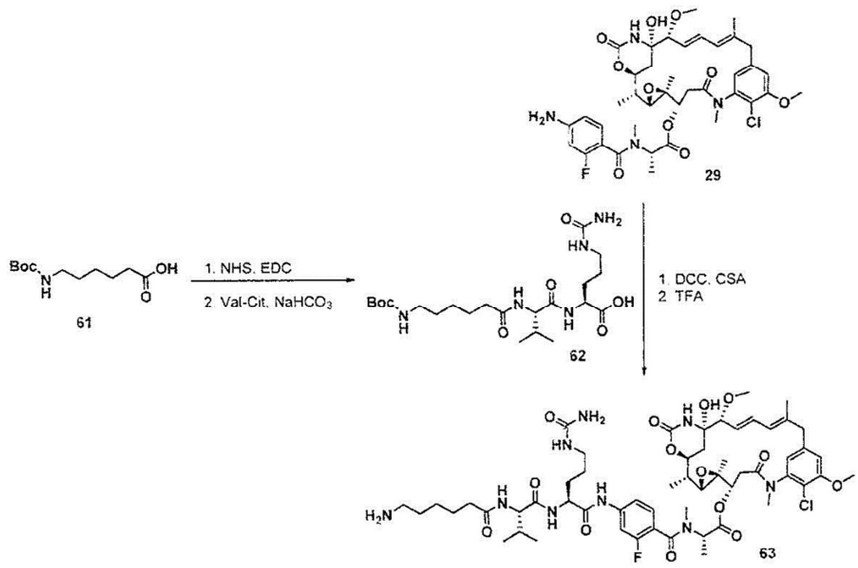


FIG. 26

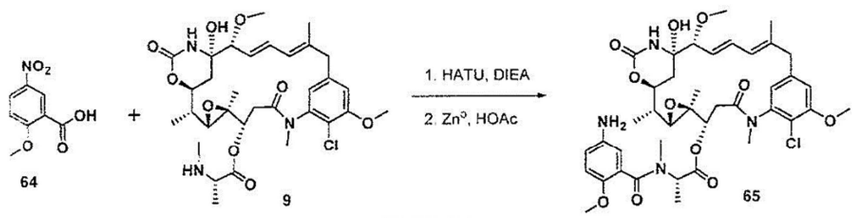


FIG. 27

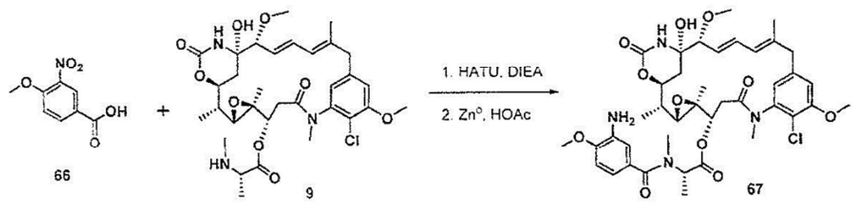


FIG. 28

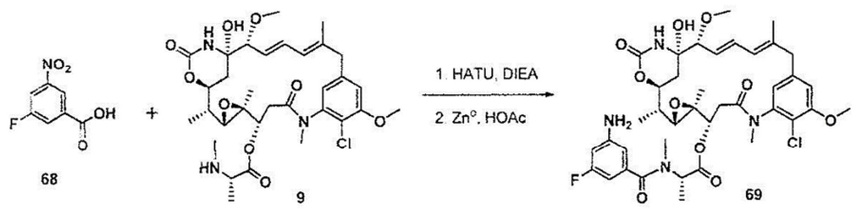


FIG. 29

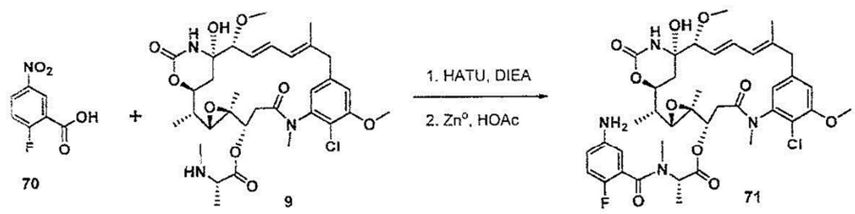


FIG. 30

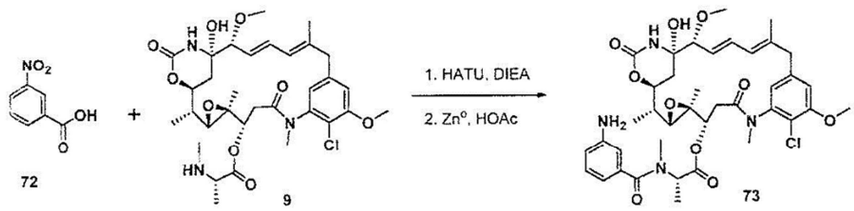


FIG. 31

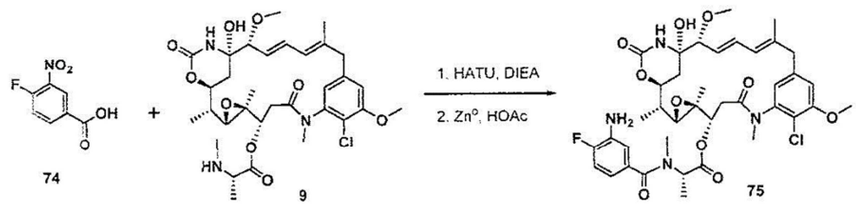


FIG. 32

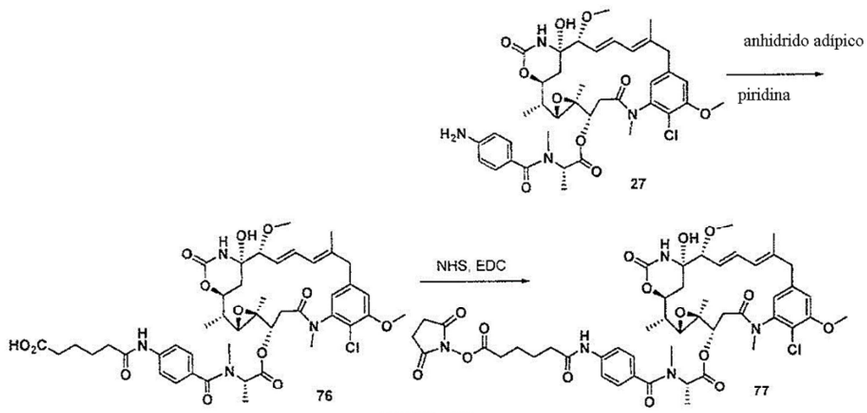


FIG. 33

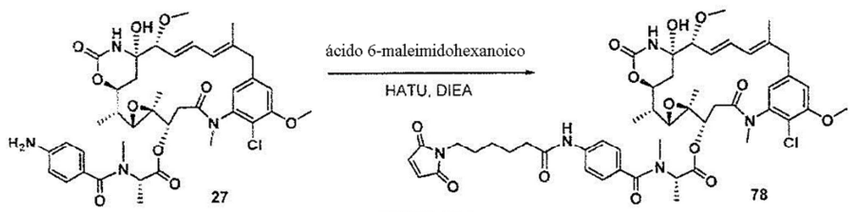


FIG. 34

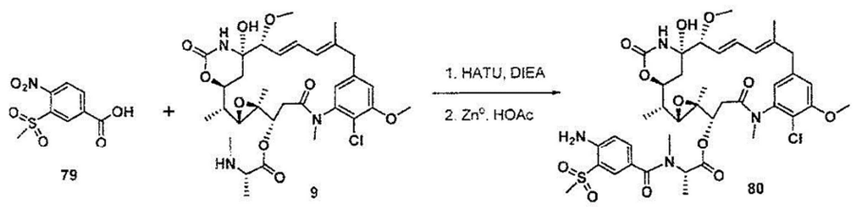


FIG. 35

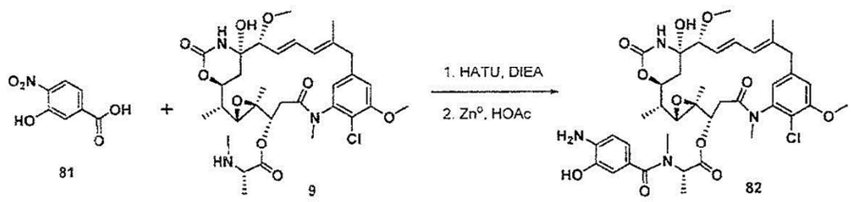


FIG. 36

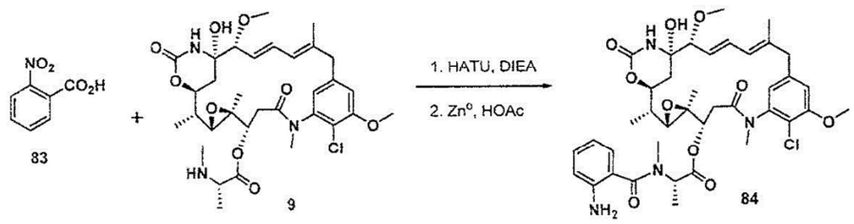


FIG. 37

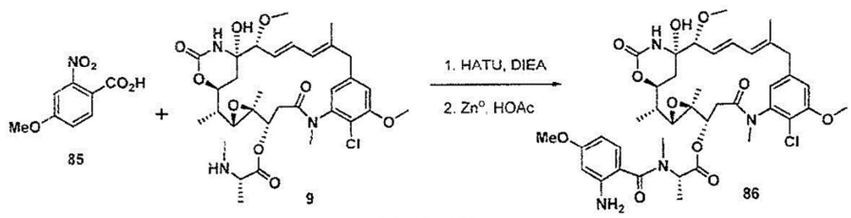


FIG. 38

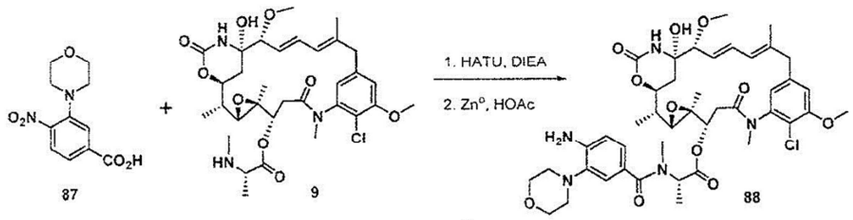


FIG. 39

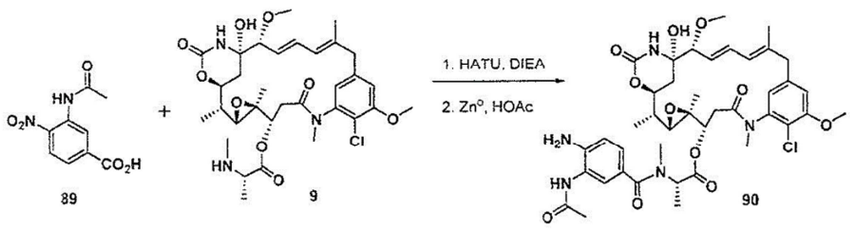


FIG. 40

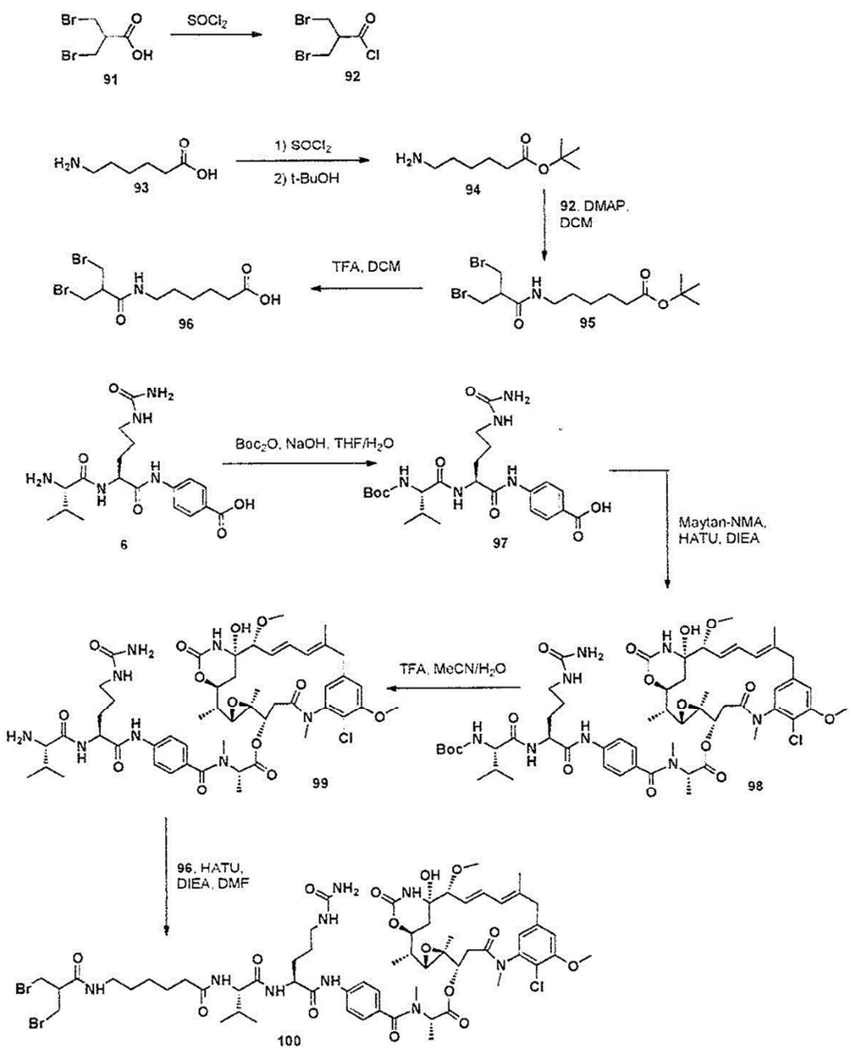

SOCl2
91
92
1) SOCl2
2) t-BuOH
93
94
92, DMAP, DCM
TFA, DCM
96
95
Boc2O, NaOH, THF/H2O
6
97
Maytan-NMA, HATU, DIEA
TFA, MeCN/H2O
99
98
96, HATU, DIEA, DMF
100

FIG. 41

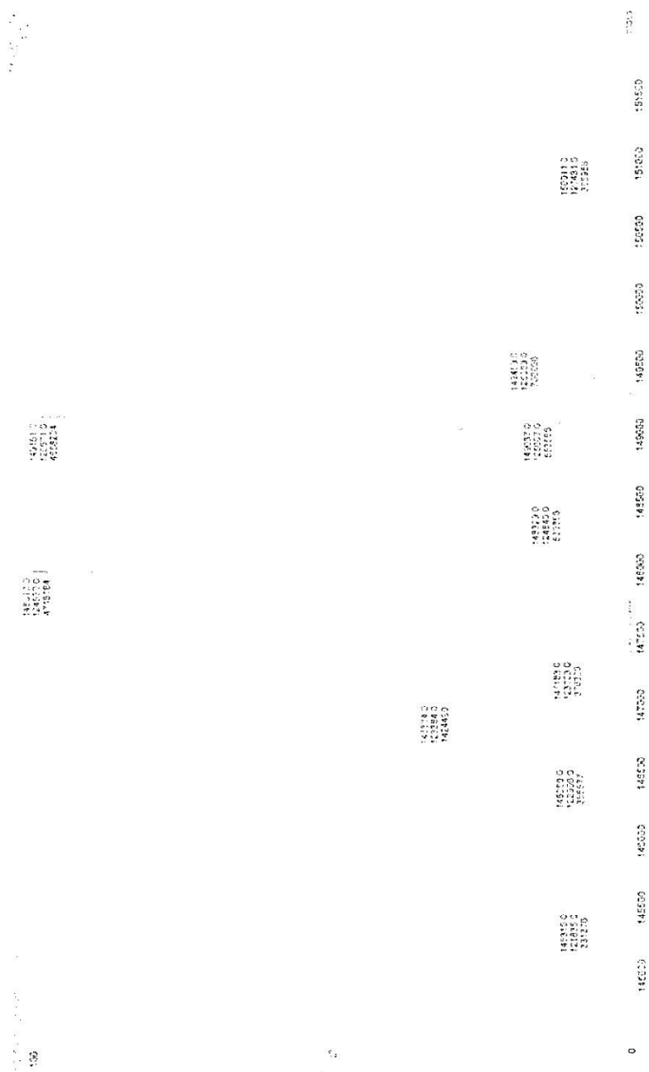


FIG. 42

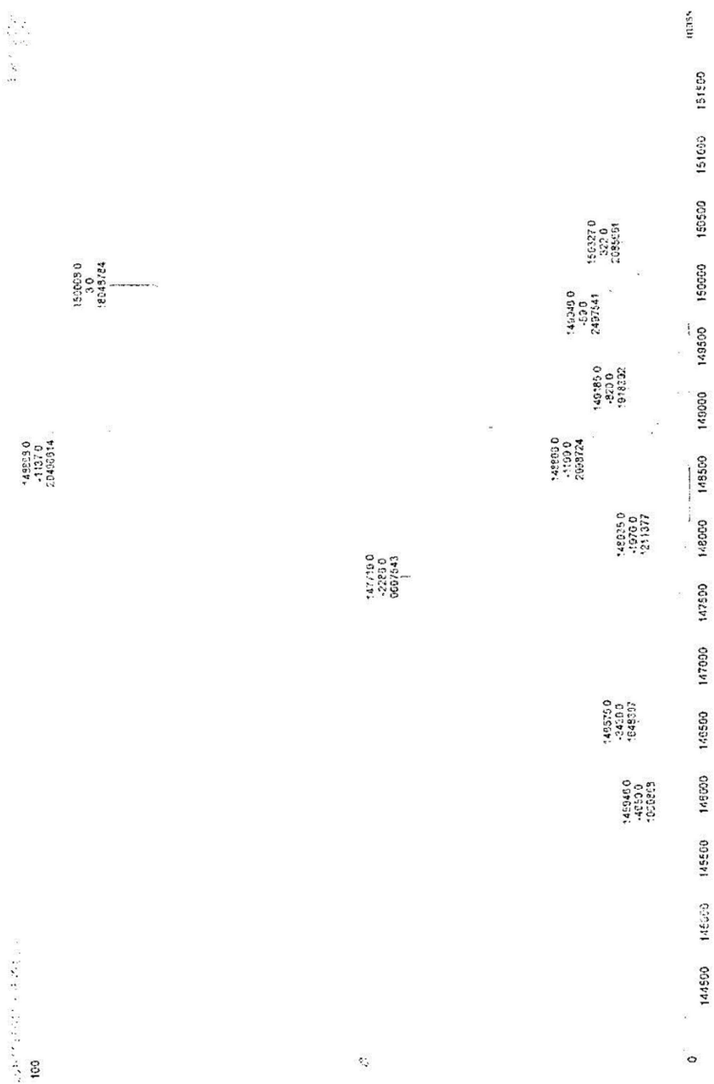


FIG. 43

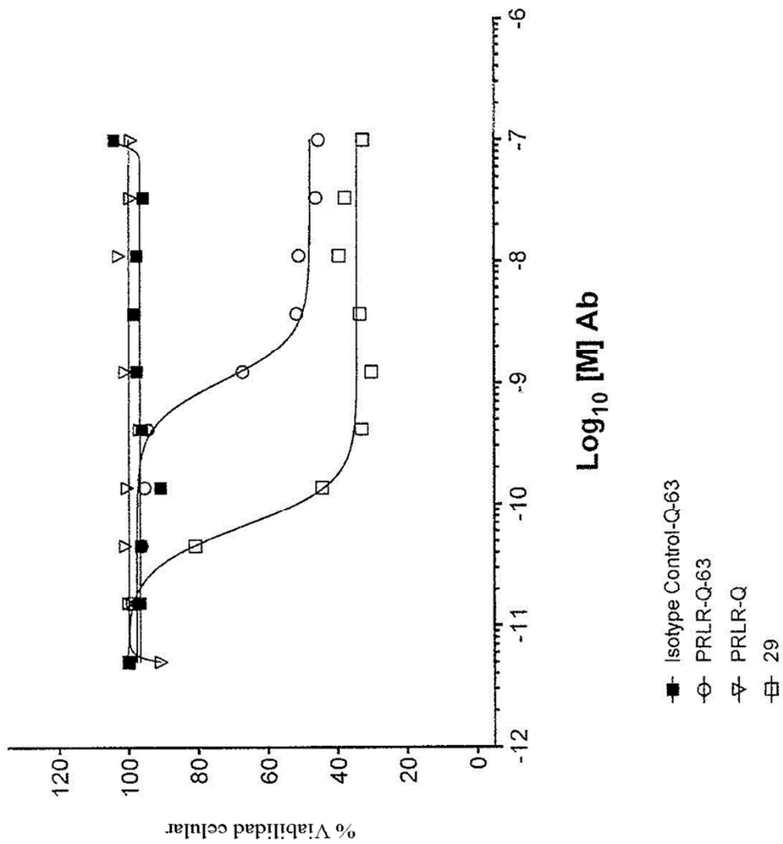

% Viabilidad celular
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Ab
Isotype Control-Q-63
PRLR-Q-63
PRLR-Q
29

FIG. 44

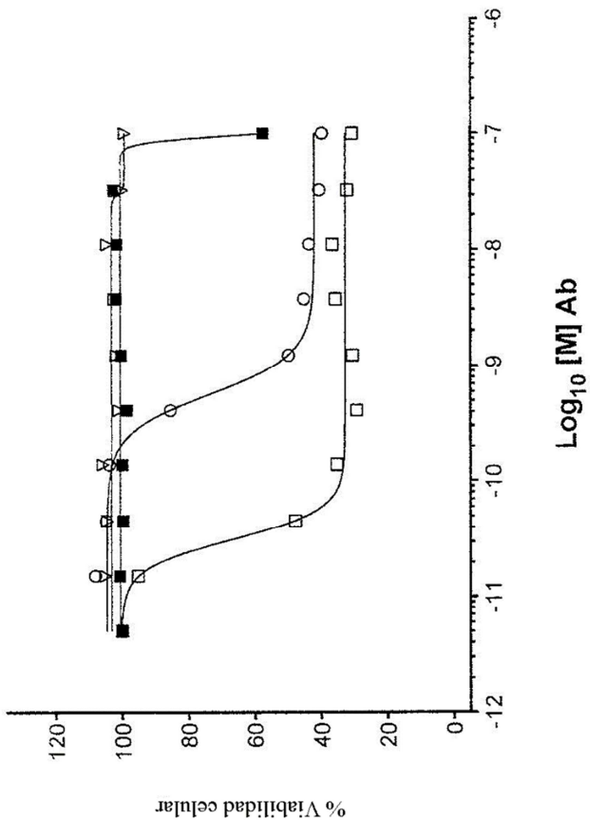

% Viabilidad celular
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Ab
Isotype Control-60
PRLR-60
PRLR
49

FIG. 45

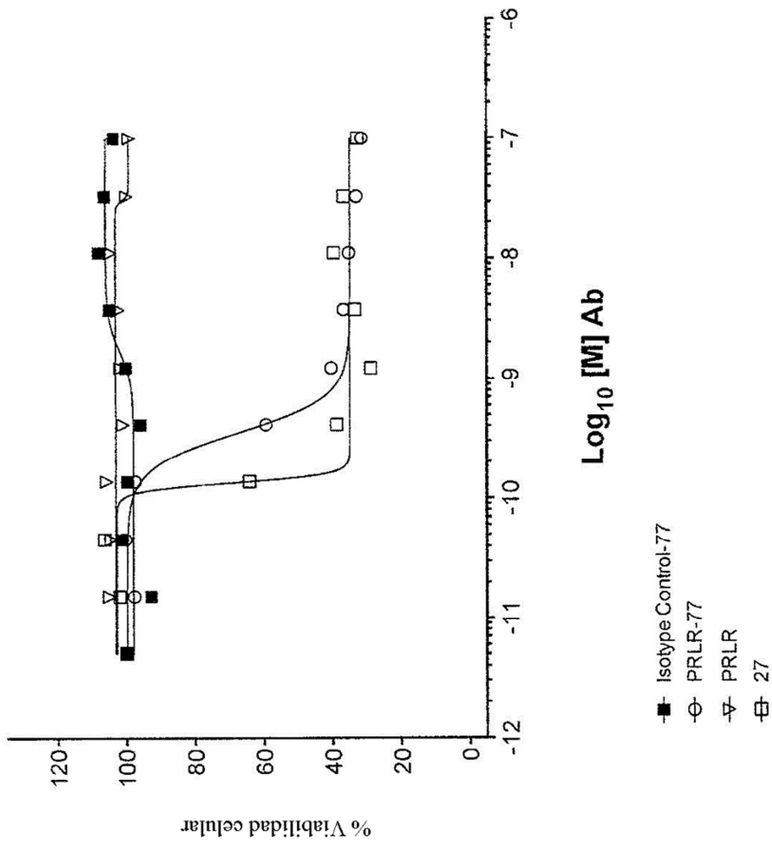

% Viabilidad celular
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Ab
Isotype Control-77
PRLR-77
PRLR
27

FIG. 46

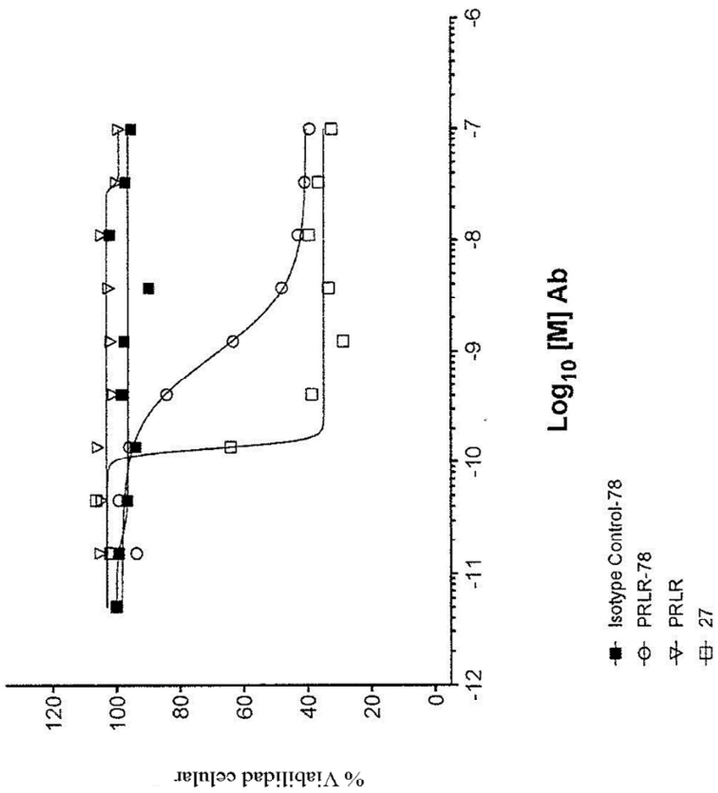

% Viabilidad celular
120
100
80
60
40
20
0
-12
-11
-10
-9
-8
-7
-6
Log10 [M] Ab
Isotype Control-78
PRLR-78
PRLR
27

FIG. 47

DERIVADOS DE MAITANSINOIDE, CONJUGADOS DEL MISMO, Y METODOS DE USO

CAMPO

Esta solicitud reivindica la prioridad a, y el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional U.S. N° 62/139.044, titulada DERIVADOS DE MAITANSINOIDE, CONJUGADOS DEL MISMO, Y METODOS PARA TRATAR ENFERMEDADES PROLIFERATIVAS USANDO EL MISMO, la cual fue presentada el 27 de Marzo, 2015, y también reivindica la prioridad a, y el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de US N° 62/252.239, titulada DERIVADOS DE MAITANSINOIDE, CONJUGADOS DEL MISMO Y METODOS PARA TRATAR ENFERMEDADES PROLIFERATIVAS USANDO EL MISMO, la cual fue presentada el 6 de Noviembre, 2015. Los contenidos de cada una de estas solicitudes de patente provisional se incorporan por referencia en su totalidad para todos los fines.

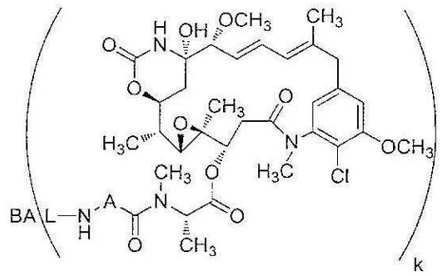
La presente revelación tiene relación con derivados de maitansinoide, conjugados de los mismos y métodos para tratar o prevenir enfermedades proliferativas con el mismo.

ANTECEDENTES

Las enfermedades proliferativas, por ejemplo cáncer, se caracterizan por el crecimiento no controlado de células anormales. Los tratamientos actuales de enfermedades proliferativas incluyen cirugía, radiación, quimioterapia, terapia en base a hormonas y/o inmunoterapia. Un número de estos tratamientos, particularmente quimioterapia, utilizan fármacos anti-proliferativos que limitan la propagación de las células anormales. Sin embargo, estos fármacos son normalmente indiscriminados en su capacidad para matar las células, afectando tanto las células normales y anormales. Para abordar este problema, varios enfoques para la administración dirigida de fármacos han sido explorados, incluyendo el uso de conjugados de sondas dirigidas a tumores (tales como anticuerpos o factores de crecimiento) con toxinas, para atacar selectivamente las células anormales. Los conjugados de fármacos de anticuerpos (ADCs) son compuestos que se componen de un anticuerpo que está vinculado, mediante un enlazador químico, a un agente citotóxico. Tales compuestos aprovechan la especificidad de unión del anticuerpo para su objetivo de administrar un agente citotóxico a una célula anormal. Por lo tanto, hay una necesidad de compuestos anti-proliferativos y sus conjugados.

RESUMEN

En este documento se proporcionan compuestos de Fórmula (I):



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

donde:

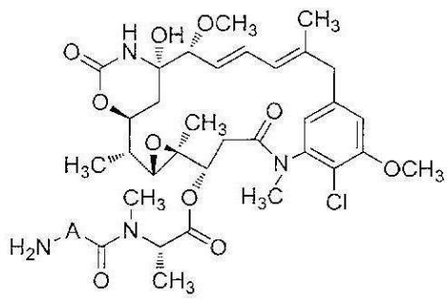
A es arileno o heteroarileno;

L es un enlazador;

BA es un agente aglutinante; y

k es un entero desde 1 a 30. También se proporciona en este documento los estereoisómeros de compuestos de Fórmula (I).

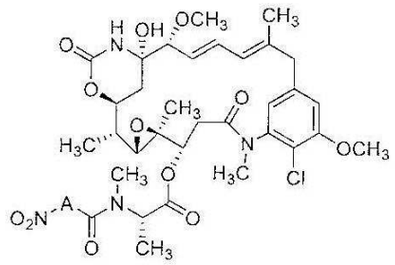
En este documento también se proporcionan compuestos de Fórmula (II):



(II)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde A es arileno o heteroarileno. También se proporcionan estereoisómeros de compuestos de Fórmula (II).

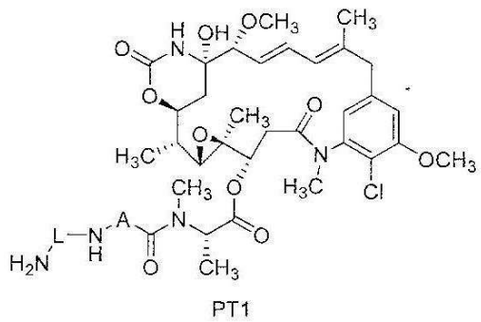
También se proporcionan en este documento compuestos de Fórmula PP5:



PP5

o una sal de los mismos, donde A es arileno o heteroarileno. También se proporcionan estereoisómeros de compuestos de Fórmula PP5.

En este documento también se proporcionan compuestos de Fórmula PT1:



PT1

PT1

o una sal de los mismos, donde A es arileno o heteroarileno y L en un enlazador. También se proporcionan estereoisómeros de compuestos de Fórmula PT1.

Además, se proporcionan métodos para tratar enfermedades proliferativas que comprende administrar los compuestos descritos en este documento.

Además, se proporcionan métodos para tratar enfermedades proliferativas que comprende administrar los conjugados descritos en este documento.

Además, se proporcionan métodos para preparar compuestos de Fórmula (I) que comprende reaccionar un anticuerpo desglicosilado o anticuerpo aglicosilado con un compuesto de Fórmula (PT1) en la presencia de transglutaminasa.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

Figura 1 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-4-aminobenzamido-citrulina-valina-caprolil-6-maleimidil.

Figura 2 representa la gráfica del % de Viabilidad Celular vs Log_{10}[M] de ciertos compuestos probados en EJEMPLO 41.

Figura 3 representa la gráfica del % de Viabilidad Celular vs Log_{10}[M] de ciertos compuestos probados en EJEMPLO 41.

Figura 4 representa la gráfica del % de Viabilidad Celular vs Log_{10}[M] de ciertos compuestos probados en EJEMPLO 41.

Figura 5 representa la gráfica del % de Viabilidad Celular vs Log_{10}[M] de ciertos compuestos probados en EJEMPLO 41.

Figura 6 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(4-amino-2-flúor)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal.

Figura 7 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(4-amino-2-triflúormetil)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal.

Figura 8 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(4-amino-2-metoxi)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal.

Figura 9 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-4-aminobenzamido.

Figura 10 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(2-flúor-4-amino)benzamido.

Figura 11 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(2-trifluormetil-4-amino)benzamido.

Figura 12 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(2-metoxi-4-amino)benzamido.

Figura 13 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(3-trifluormetil-4-amino)benzamido.

Figura 14 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(2-cloro-4-amino-5-flúor)benzamido.

Figura 15 representa una secuencia sintética general para preparar compuestos de Fórmula (II) donde el sustituyente R es definido en este documento y a continuación.

Figura 16 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(2,5-difluor-4-amino)benzamido.

Figura 17 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(3-flúor-4-amino)benzamido.

Figura 18 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(3-cloro-4-amino)benzamido.

Figura 19 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(5-amino-8-carboxiquinolina)carboxamida

Figura 20 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(3-bromo-4-amino)benzamido.

Figura 21 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(3-metoxi-4-amino)benzamido.

Figura 22 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(2-metil-4-amino)benzamido.

Figura 23 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(3-metil-4-amino)benzamido.

Figura 24 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(8-amino-5-carboxiquinolina)carboxamide.

Figura 25 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(3-metoxi-4-amino)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal.

Figura 26 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-(2-flúor-4-amino)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal-6-amina.

Figura 27 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(2-metoxi-5-amino)benzamido.

Figura 28 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(3-amino-4-metoxi)benzamido.

Figura 29 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(3-amino-5-flúor)benzamido.

Figura 30 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(2-flúor-5-amino)benzamido.

Figura 31 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(3-amino)benzamido.

Figura 32 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(3-amino-4-flúor)benzamido.

Figura 33 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-4-aminobenzamido-adípico-NHS.

Figura 34 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-4-aminobenzamido-Cap-Mal.

Figura 35 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(3-metilsulfonil-4-amino)benzamido.

Figura 36 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(3-hidroxi-4-amino)benzamido.

Figura 37 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(2- amino)benzamido.

Figura 38 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(4-metoxi-2-amino)benzamido.

Figura 39 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(3-morfolino-4-amino)benzamido.

Figura 40 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-(3-acetamido-4-amino)benzamido.

Figura 41 representa una secuencia sintética para preparar maitansina-N-metil-L-alanina-N-4-aminobenzamido-Cit-Val-cap-diBromometilacril.

Figura 42 representa el espectro de espectroscopía de masa (MS) deconvolucionado del anticuerpo conjugado del fármaco, PRLR-Q-**63** conjugado del EJEMPLO 43.

Figura 43 representa el espectro MS deconvolucionado del conjugado del Isotipo de Control-Q-**63** del EJEMPLO 43.

Figura 44 representa la gráfica del % de Viabilidad Celular vs Log_{10}[M] de ciertos compuestos probados en EJEMPLO 45.

Figura 45 representa la gráfica del % de Viabilidad Celular vs Log_{10}[M] de ciertos compuestos probados en EJEMPLO 45.

Figura 46 representa la gráfica del % de Viabilidad Celular vs Log_{10}[M] de ciertos compuestos probados en EJEMPLO 45.

Figura 47 representa la gráfica del % de Viabilidad Celular vs Log_{10}[M] de ciertos compuestos probados en EJEMPLO 45.

DESCRIPCION DETALLADA

A. DEFINICIONES

Como se usa en este documento, “alquilo” se refiere a un resto radical de hidrocarburo monovalente y saturado. Alquilo es opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado, o cíclico, es decir, cicloalquilo. Alquilo incluye, pero no está limitado a, aquellos que tienen 1-20 átomos de carbono, es decir, alquilo C_{1-20}, 1-12 átomos de carbono, es decir, alquilo C_{1-12}; 1-8 átomos de carbono, es decir, alquilo C_{1-8}; 1-6 átomos de carbono, es decir alquilo C_{1-6}; y 1-3 átomos de carbono, es decir, alquilo C_{1-3}. Ejemplos de restos de alquilo incluyen, pero no está limitado a metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *s*-butilo, *t*-butilo, *i*-butilo, un resto de pentilo, un resto de hexilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, y ciclohexilo.

Como se usa en este documento, “haloalquilo” se refiere a alquilo, como se define anteriormente, donde el alquilo incluye al menos un sustituyente seleccionado de un halógeno, por ejemplo, F, Cl, Br o I.

Como se usa en este documento, “alquenilo” se refiere a un resto radical de hidrocarburo monovalente conteniendo al menos dos átomos de carbono y uno o más de enlaces doble carbono-carbono no aromático. Alquenilo es opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado, o cíclico. Alquenilo incluye, pero no está limitado a, aquellos que tienen 2-20 átomos de carbono, es decir, alquenilo C_{2-20}, 2-12 átomos de carbono, es decir alquenilo C_{2-12}; 2-8 átomos de carbono, es decir alquenilo C_{2-8}; 2-6 átomos de carbono, es decir alquenilo C_{2-6}; y 2-4 átomos de carbono, es decir, alquenilo C_{2-4}. Ejemplos de restos de alquenilo incluyen, pero no está limitado a vinilo, propenilo, butenilo, y ciclohexenilo.

Como se usa en este documento, “alquinilo” se refiere a un resto radical de hidrocarburo monovalente que contiene al menos dos átomos de carbono y uno o más enlaces triples carbono-carbono. Alquinilo es opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado o cíclico. Alquinilo incluye, pero no está limitado a aquellos que tienen 2-20 átomos de carbono, es decir, alquinilo C_{2-20}; 2-12 átomos de carbono, es decir, alquinilo C_{2-12}; 2-8 átomos de carbono, es decir, alquinilo C_{2-8}; 2-6 átomos de carbono, es decir alquinilo C_{2-6}; y 2-4 átomos de carbono, es decir alquinilo C_{2-4}. Ejemplos de restos de alquinilo incluyen, pero no está limitado a etinilo, propinilo y butinilo.

Como se usa en este documento, “alcoxi” se refiere a un resto radical de hidrocarburo monovalente y saturado donde el hidrocarburo incluye un enlace único a un átomo de oxígeno y donde el radical está localizado en el átomo de oxígeno, por ejemplo, CH_3CH_2-O· para etoxi. Los sustituyentes de alcoxi se unen al compuesto que sustituyen a través de este átomo de oxígeno del sustituyente de alcoxi. Alcoxi es opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado o cíclico, es decir, cicloalcoxi. Alcoxi incluye, pero no está limitado a, aquellos que tienen 1-20 átomos de carbono, es decir, alcoxi C_{1-20}; 1-12 átomos de carbono, es decir, alcoxi C_{1-12}; 1-8 átomos de carbono, es decir, alcoxi C_{1-8}, 1-6 átomos de carbono, es decir, alcoxi C_{1-6}; y 1-3 átomos de carbono, es decir alcoxi C_{1-3}. Ejemplos de restos de alcoxi incluyen, pero no está limitado a metoxi, etoxi, *n*-propoxi, *i*-propoxi, *n*-butoxi, *s*-butoxi, *t*-butoxi, *i*-butoxi, un resto de pentoxi, un resto de hexoxi, ciclopropoxi, ciclobutoxi, ciclopentoxi y ciclohexoxi.

Como se usa en este documento, “haloalcoxi” se refiere a alcoxi, como se define anteriormente, donde el alcoxi incluye al menos un sustituyente seleccionado de un halógeno, por ejemplo, F, Cl, Br o I.

Como se usa en este documento, “arilo” se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto aromático donde los átomos del anillo son átomos de carbono. Arilo es opcionalmente sustituido y puede ser monocíclico o policíclico, por ejemplo, bicíclico o tricíclico. Ejemplos de restos de arilo incluyen, pero no está limitado a aquellos que tienen 6 a 20 átomos de carbono en el anillo, es decir, arilo C_{6-20}; 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, es decir arilo C_{6-15}; y 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, es decir, arilo C_{6-10}. Ejemplos de restos de arilo incluyen, pero están limitados a fenilo, naftilo, fluorenilo, azulenilo, antrilo, fenantrilo y pirenilo.

Como se usa en este documento, “arileno” se refiere a un resto divalente de un compuesto aromático donde los átomos del anillo son sólo átomos de carbono. Arileno es opcionalmente sustituido y puede ser monocíclico o policíclico, por ejemplo, bicíclico o tricíclico. Ejemplos de restos de arilo incluyen, pero no está limitado a aquellos que tienen 6 a 20 átomos de carbono en el anillo, es decir, arileno C_{6-20}; 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, es decir, arileno C_{6-15}; y 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, es decir, arileno C_{6-10}.

Como se usa en este documento, “alcarilo” se refiere a un arilo que es sustituido con al menos un alquilo. Alcarilo es opcionalmente sustituido.

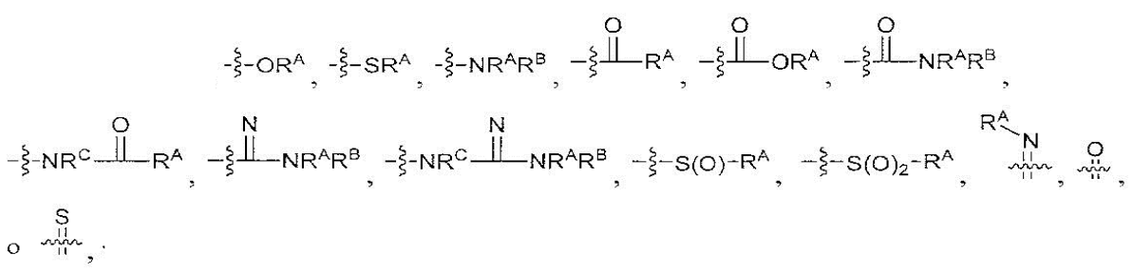
Como se usa en este documento, “heteroalquilo” se refiere a un alquilo en el cual uno o más átomos de carbono son reemplazados por heteroátomos. Como se usa en este documento, “heteroalquenilo” se refiere a un alquenilo en el cual uno o más átomos de carbono son reemplazados por heteroátomos. Como se usa en este documento, “heteroalquinilo” se refiere a un alquenilo en el cual uno o más átomos de carbono son reemplazados por heteroátomos. Heteroátomos adecuados incluyen, pero no están limitados a nitrógeno, oxígeno y átomos de azufre. Heteroalquilo es opcionalmente sustituido. Ejemplos de restos de heteroalquilo incluyen, pero no están limitados a aminoalquilo, sulfonilalquilo, sulfinilalquilo. Ejemplos de restos de heteroalquilo también incluyen, pero no están limitados a metilamino, metilsulfonilo y metilsulfinilo.

Como se usa en este documento, “heteroarilo” se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto aromático donde los átomos del anillo contienen átomos de carbono y al menos un átomo de oxígeno, azufre, nitrógeno o fósforo. Ejemplos de restos de heteroarilo incluyen pero no está limitado a aquellos que tienen 5 a 20 átomos en el anillo; 5 a 15 átomos en el anillo; y 5 a 10 átomos en el anillo. Heteroarilo es opcionalmente sustituido.

Como se usa en este documento, “heteroarileno” se refiere a un arileno en el cual uno o más átomos en el anillo del anillo aromático son reemplazados con un átomo de oxígeno, azufre nitrógeno o fósforo. Heteroarileno es opcionalmente sustituido.

Como se usa en este documento, “heterocicloalquilo” se refiere a un cicloalquilo en el cual uno o más átomos de carbono son reemplazados por heteroátomos. Heteroátomos adecuados incluyen, pero no están limitados a átomos de nitrógeno, oxígeno, y azufre. Heterocicloalquilo es opcionalmente sustituido. Ejemplos de restos de heterocicloalquilo incluyen, pero no están limitados a morfolinilo, piperidinilo, tetrahidropiranilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, dioxolanilo, ditiolanilo, oxanilo o tianilo.

Como se usa en este documento, “opcionalmente sustituido”, cuando es usado para describir un resto radical, por ejemplo, alquilo opcionalmente sustituido, significa que dicho resto es opcionalmente unido a uno o más sustituyentes. Ejemplos de dichos sustituyentes incluyen, pero no están limitados a halo, ciano, nitro, haloalquilo, azido, epoxi, heteroarilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo,



donde R^A, R^B y R^C son, independientemente en cada ocurrencia, un átomo de hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, alcarilo, aralquilo, heteroalquilo, heteroarilo o heterocicloalquilo, o R^A y R^B, juntos con los átomos a los cuales están unidos, forman un anillo carbocíclico saturado o insaturado, donde el anillo es opcionalmente sustituido y donde uno o más átomos del anillo es opcionalmente reemplazado con un heteroátomo. En algunas realizaciones, R^A, R^B y R^C no son átomos de hidrógeno. En algunos ejemplos, R^A es metilo. En algunos ejemplos, R^A es metilamino, metilsulfonilo, y metilsulfinilo. En algunos ejemplos, R^A es metilamino. En ciertas realizaciones, cuando un resto radical es opcionalmente sustituido con un heteroarilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, o un anillo carbocíclico saturado o insaturado sustituido, los sustituyentes en el heteroarilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o anillo carbocíclico saturado o insaturado opcionalmente sustituido, si son sustituidos, no son sustituidos con sustituyentes que son además opcionalmente sustituidos con sustituyentes adicionales. En algunas realizaciones, cuando un grupo descrito es opcionalmente sustituido, el sustituyente unido al grupo es no sustituido a menos que se especifique lo contrario.

Como se usa en este documento, “agente aglutinante” se refiere a cualquier molécula capaz de unir con especificidad a un socio vinculante determinado.

Como se usa en este documento, “enlazador” se refiere a un resto divalente que enlaza de manera covalente el agente aglutinante a los derivados de maitansinoide descritos en este documento.

Como se usa en este documento, “condiciones de síntesis de amida” se refiere a las condiciones de reacción adecuadas para efectuar la formación de una amida, por ejemplo, mediante la reacción de un ácido carboxílico, ácido carboxílico activado, o haluro de acilo con una amina. En algunos ejemplos, las condiciones de síntesis de amida se refieren a las condiciones de reacción adecuadas para efectuar la formación de un enlace de amida entre un ácido carboxílico y una amina. En algunos de estos ejemplos, el ácido carboxílico se convierte primero a un ácido carboxílico activado antes que el ácido carboxílico activado reaccione con una amina para formar una amida. Condiciones adecuadas para efectuar la formación de una amida incluye, pero está limitado a, aquellos que utilizan reactivos para efectuar la reacción entre un ácido carboxílico y una amina, incluyendo pero no limitado a diciclohexilcarbodiimida (CDD), diisopropilcarbodiimida (DIC), (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio hexafluorfosfato (BOP), (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio hexafluorfosfato (PyBOP), (7-azabenzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio hexafluorfosfato (PyAOP), bromotripirrolidinofosfonio hexafluorfosfato (PyBrOP), O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N’,N’-tetrametiluronio hexaflurofosfato (HBTU), O-(benzotriazol-1-il)- N,N,N’,N’-tetrametiluronio tetrafluorborato (TBTU), 1-[Bis(dimetilamino)metileno]-1*H*-1,2,3-triazol[4,5-*b*]piridinio 3-óxido hexafluorfosfato (HATU), 2-Etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), 1-Etilo-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), 2-Cloro-1,3-dimetilimidazolidinio hexafluorfosfato (CIP), 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (CDMT) y carbonildiimidazole (CDI). En algunos ejemplos,

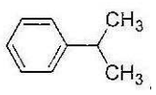
un ácido carboxílico se convierte primero a un éster carboxílico activado antes de reaccionar con una amina para formar un enlace de amida. En ciertas realizaciones, el ácido carboxílico es reaccionado con un reactivo. El reactivo activa el ácido carboxílico desprotonando el ácido carboxílico y luego formando un complejo de producto con el ácido carboxílico desprotonado como un resultado del ataque nucleofílico por el ácido carboxílico desprotonado sobre el reactivo protonado. Para ciertos ácidos carboxílicos, este éster activado es más susceptible posteriormente al ataque nucleofílico por una amina que lo es el ácido carboxílico antes de ser convertido. Esto resulta en la formación de enlace de amida. Como tal, el ácido carboxílico se describe como activado. Reactivos ejemplares incluyen DCC y DIC.

Como se usa en este documento, “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a una cantidad (de un compuesto) que es suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico a un paciente en tratamiento o manejo de una enfermedad o trastorno, o para retardar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o trastorno.

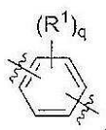
Ciertos grupos, restos, sustituyentes y átomos son representados con una línea ondulada que intersecta un enlace o enlaces para indicar el átomo a través del cual los grupos, restos, sustituyentes, átomos son enlazados. Por ejemplo, un grupo fenilo que es sustituido con un grupo propilo es representado como:



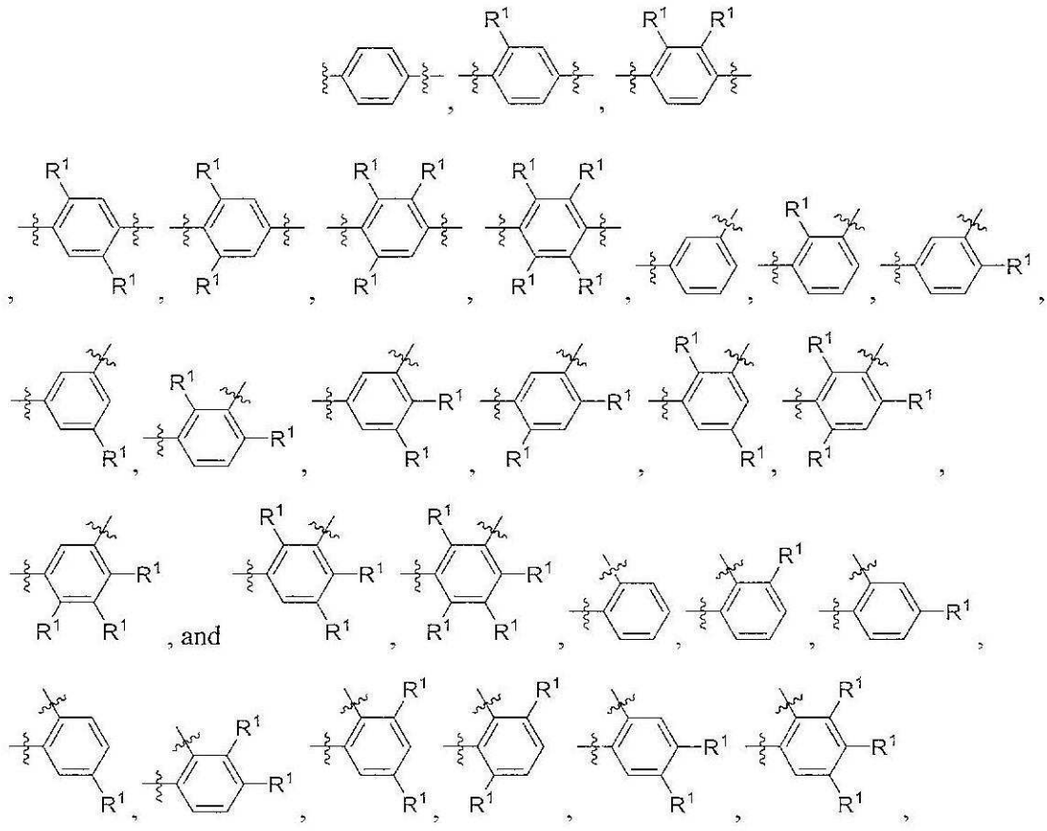
tiene la siguiente estructura:

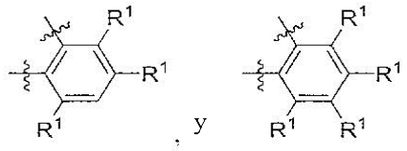


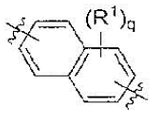
Como se usa en este documento, las ilustraciones que muestran sustituyentes unidos a un grupo cíclico (por ejemplo, aromático, heteroaromático, anillo fusionado, y cicloalquilo o heterocicloalquilo saturado o insaturado) a través de un enlace entre los átomos del anillo están destinados a indicar, a menos que se especifique lo contrario, que el grupo cíclico puede ser sustituido con ese sustituyente en cualquier posición del anillo en el grupo cíclico o en cualquier anillo en el grupo de anillo fusionado, de acuerdo a técnicas establecidas en este documento o las cuales son conocidas en el campo al cual pertenece esta revelación. Por ejemplo, el grupo

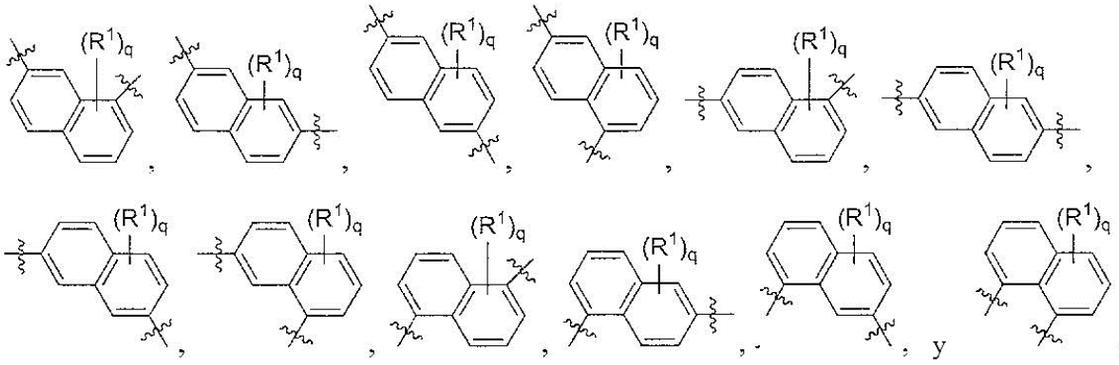


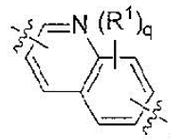
donde el subíndice q es un entero desde 0 a 4 y en el cual las posiciones del sustituyente R^1 son descritas genéricamente, incluyen los siguientes grupos en los cuales las posiciones del sustituyente R^1 son descritas específicamente:



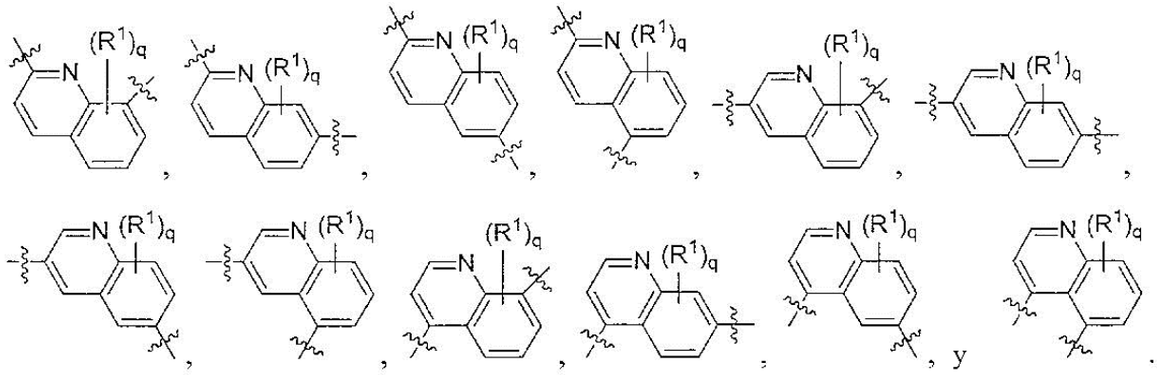


Además, y por ejemplo, el grupo  en el cual las posiciones de sustituyentes distintos de R^1 que están unidas al grupo cíclico a través del enlace entre los átomos del anillo se describen genéricamente, incluye los siguientes grupos en los cuales las posiciones de estos sustituyentes distintos de R^1 se describen específicamente:

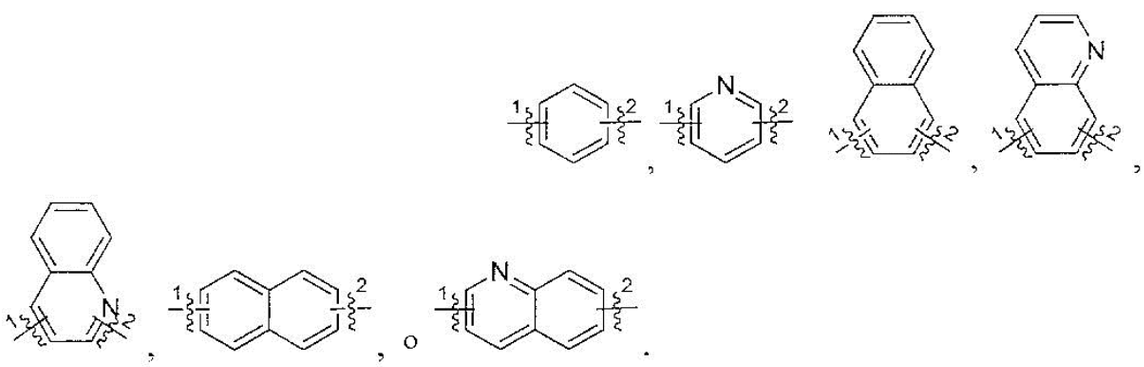


También, por el ejemplo el grupo  , en el cual las posiciones de sustituyentes distintos de R^1 que están unidos al grupo cíclico a través de un enlace entre los átomos del anillo

se describen genéricamente, incluye los siguientes grupos en los cuales las posiciones de estos sustituyentes distintos de R^1 se describen específicamente:

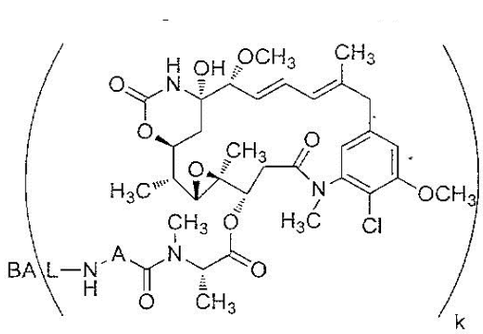


En cada una de estas estructuras en las cuales las posiciones de los sustituyentes distintos de R^1 son descritos específicamente, el sustituyente R^1 puede ser unido a cualquier posición del anillo en el grupo cíclico o en cualquier anillo en el grupo de anillo fusionado el cual no está ocupado por uno de estos sustituyentes distintos de R^1. Las siguientes ilustraciones representativas no limitantes indican que el grupo cíclico puede ser sustituido con el sustituyente indicado en cualquier posición del anillo o en cualquier anillo en el grupo de anillo fusionado:



B. CONJUGADOS

Se proporcionan compuestos de Fórmula (I):



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos,

donde:

A es arileno o heteroarileno;

L es un enlazador;

BA es un agente aglutinante; y

k es un entero desde 1 a 30.

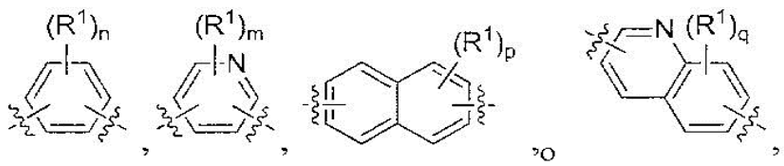
1. Restos "A"

En algunas realizaciones, A es arileno. En algunas realizaciones, A es heteroarileno. En algunas realizaciones, el arileno o heteroarileno es sustituido con uno o más grupos extractores de electrones y/o uno o más grupos donadores de electrones.

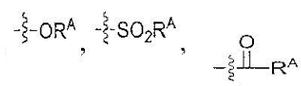
En algunas realizaciones, A es un radical divalente de benceno, de piridina, de naftaleno o de quinolona, los cuales son opcionalmente sustituidos.

En algunas realizaciones, A es un radical divalente de benceno, el cual es opcionalmente sustituido con un elemento seleccionado de grupo que consiste de amino, amido, alquilo, halo, haloalquilo, alcoxi y haloalcoxi.

En algunas realizaciones A es:



donde

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro, 

o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

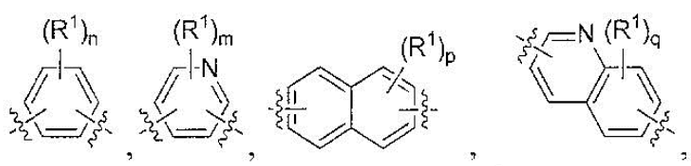
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

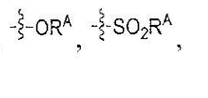
p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

En algunas realizaciones, A es:



donde

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo, haloalquilo, haloalcoxi, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, haloalcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro,  o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

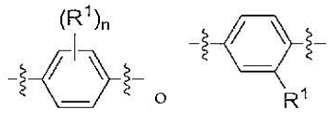
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

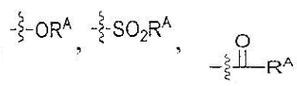
p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

En algunas realizaciones, A es:



donde :

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo, haloalquilo, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro,  o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

n es un entero desde 0 a 4;

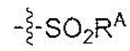
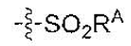
m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

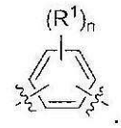
En algunas realizaciones, R^1 es alquilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6}. En algunas de estas realizaciones, R^1 es metilo, etilo, metoxi o etoxi. En algunas de estas realizaciones, R^1 es metoxi.

En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo o halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo C_{1-6}, haloquilo C_{1-6}, o halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, flúor, cloro, bromo, yodo, o trifluormetilo. En algunas realizaciones, n, m, p, ó q es 0, 1 ó 2. En algunas realizaciones, n, m, p ó q es 0 ó 1. En algunas realizaciones, n, m, p ó q es 0.

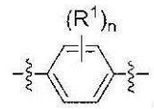
En algunas realizaciones, R^1 es  . En algunas realizaciones, R^1 es  donde R^A es metilo. En algunas realizaciones, R^1 es hidroxilo. En algunas realizaciones, R^1 es N-metilformamida. En algunas realizaciones, R^1 es morfolinilo.

En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo, alcoxi, o halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo C_{1-6}, haloquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, haloalcoxi C_{1-6} o halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, flúor, cloro, bromo, yodo, o trifluormetilo. En algunas realizaciones, n, m, p, ó q es 0, 1 ó 2. En algunas realizaciones, n, m, p ó q es 0 ó 1. En algunas realizaciones, n, m, p ó q es 0.

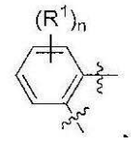
En algunas realizaciones, A es:



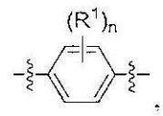
En algunas realizaciones, A es:



En algunas realizaciones, A es:

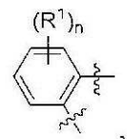


En algunas realizaciones, A es:



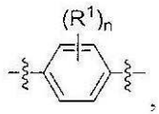
donde n es 0, 1 ó 2.

En algunas realizaciones, A es:



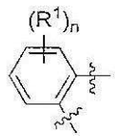
donde n es 0, 1 ó 2.

En algunas realizaciones, A es:



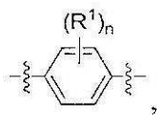
donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi, halo o haloalquilo.

En algunas realizaciones, A es:



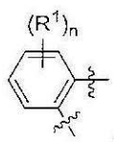
donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi, halo o haloalquilo. En algunos ejemplos, R^1 es alcoxi.

En algunas realizaciones, A es:



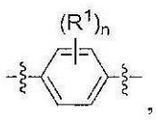
donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}.

En algunas realizaciones, A es:

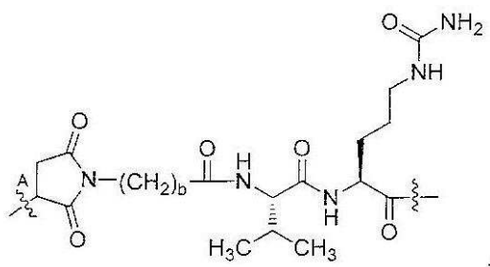


donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloaquilo C_{1-6}. En algunos ejemplos, R^1 es alcoxi C_{1-6}.

En algunas realizaciones, A es:

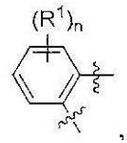


donde n es 0 ó 1; R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloquilo C_{1-6}; y L es

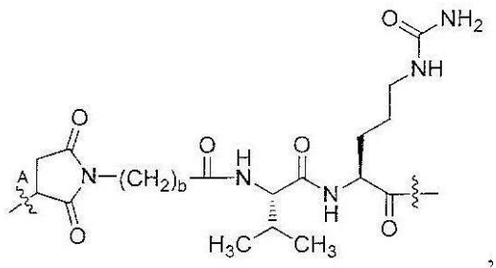


, donde b es un entero desde 2 a 8 y  es un enlace al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, A es:

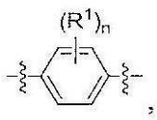


donde n es 0 ó 1; R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}; y L es



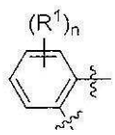
, donde b es un entero desde 2 a 8 y  es un enlace al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, A es:



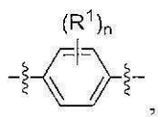
donde n es 0, 1, 2, 3, ó 4.

En algunas realizaciones, A es:



donde n es 0, 1, 2, 3, ó 4.

En algunas realizaciones, A es:

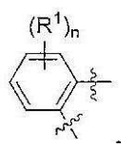


donde:

R^1 es alquilo C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}; y

n es 0, 1 ó 2.

En algunas realizaciones, A es:

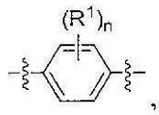


donde:

R^1 es alquilo C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}; y

n es 0, 1 ó 2.

En algunas realizaciones, A es:

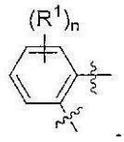


donde:

R^1 es alquilo C_{1-6}, alcoxi C_{1-6}, halo, haloalquilo C_{1-6} o haloalcoxi C_{1-6}; y

n es 0, 1, 2, 3 ó 4.

En algunas realizaciones, A es:

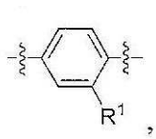


donde:

R^1 es alquilo C_{1-6}, alcoxi C_{1-6}, halo, haloalquilo C_{1-6} o haloalcoxi C_{1-6}; y

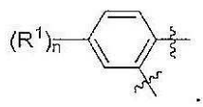
n es 0, 1, 2, 3 ó 4.

En algunas realizaciones, A es:

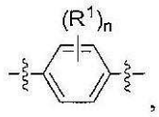


donde R^1 es alquilo C_{1-6}, alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}. En ciertas de estas realizaciones, R^1 es metoxi o metilo. En algunas realizaciones específicas, R^1 es metoxi.

En algunas realizaciones, A es;



En algunas realizaciones, A es:

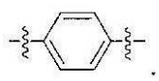


donde:

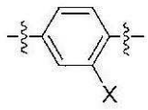
R^1 es halo o trifluormetilo; y

n es 0, 1 ó 2.

En algunas realizaciones, A es:



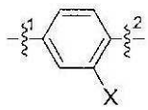
En algunas realizaciones, A es:



donde:

X es átomo de hidrógeno, halo o trifluormetilo.

En algunas realizaciones, A es:



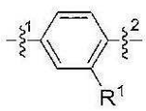
donde:

X es átomo de hidrógeno, halo o trifluormetilo;

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

En algunas realizaciones, A es:

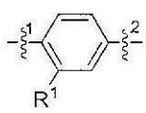


donde:

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, arilo, heteroalquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi o hidroxilo;

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo. En algunas realizaciones, R^1 es 1-metiletil-tiol, fenil, 2-fluorfenilo, piridinilo, 4-piridinilo, pirrolidinilo, ó 1-pirrolidinilo. En algunas realizaciones, R^1 es trifluormetilo. En algunas realizaciones, R^1 es metoxi. En algunas realizaciones, R^1 es flúor. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno. En algunas realizaciones, A es:



donde:

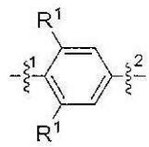
R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, arilo, heteroalquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi o hidroxilo;

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo. En algunas realizaciones, R^1 es 1-metiletil-tiol, fenil, 2-fluorfenilo, piridinilo, 4-piridinilo, pirrolidinilo, ó 1-pirrolidinilo. En algunas realizaciones, R^1 es trifluormetilo. En algunas realizaciones, R^1 es metoxi. En algunas realizaciones, R^1 es flúor. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno.

En algunas realizaciones, R^1 es sulfonilo. En algunas realizaciones, R^1 es N-metilformamida. En algunas realizaciones, R^1 es hidroxilo. En algunas realizaciones, R^1 es morfolinilo.

En algunas realizaciones, A es:



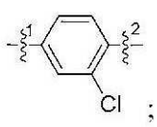
donde:

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, arilo, heteroalquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi o hidroxilo;

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo. En algunas realizaciones, R^1 es alquilo o alcoxi. En algunas realizaciones específicas, R^1 es propilamino, difluor-metoxi, fenilo, 2-fluorfenilo. En algunas realizaciones, R^1 es trifluormetilo. En algunas realizaciones, R^1 es metoxi. En algunas realizaciones, R^1 es flúor. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno.

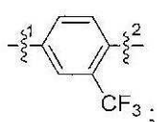
En algunas realizaciones, A es:



 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

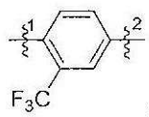
En algunas realizaciones, A es:



 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

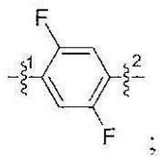
En algunas realizaciones, A es:



 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

En algunas realizaciones, A es:



 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

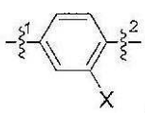
En algunas realizaciones, A es:

 donde X es F, Cl, Br, CN, metoxi, dimetilamino o ciclopropil;

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

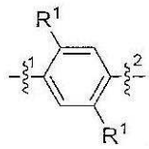
En algunas realizaciones, A es:

 donde X es F, Cl, Br, CN, metoxi, dimetilamino, 1-metil-etil-tio o ciclopropil;

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

En algunas realizaciones, A es:

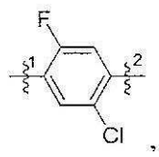


donde cada R^1 es independientemente, en cada ocurrencia, un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalquilo o haloalcoxi;

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno, flúor, trifluormetilo o metoxi. En algunas realizaciones, R^1 es flúor, cloro, bromo o yodo.

En algunas realizaciones, A es:

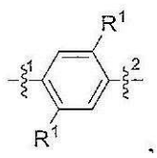


donde

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

En algunas realizaciones, A es:

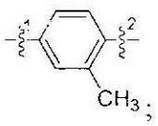


donde cada R^1 es independientemente, en cada ocurrencia, un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalquilo o haloalcoxi;

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

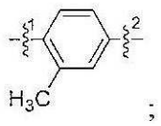
En algunas realizaciones, A es:



es el enlace al átomo de nitrógeno; y

es el enlace al carbonilo.

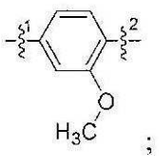
En algunas realizaciones, A es:



es el enlace al átomo de nitrógeno; y

es el enlace al carbonilo

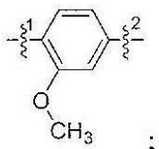
En algunas realizaciones, A es:



es el enlace al átomo de nitrógeno; y

es el enlace al carbonilo

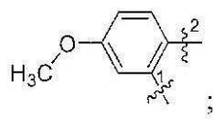
En algunas realizaciones, A es:



es el enlace al átomo de nitrógeno; y

es el enlace al carbonilo.

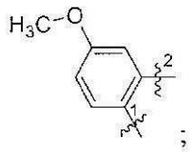
En algunas realizaciones, A es:



es el enlace al átomo de nitrógeno; y

es el enlace al carbonilo.

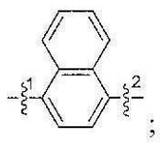
En algunas realizaciones, A es:



es el enlace al átomo de nitrógeno; y

es el enlace al carbonilo.

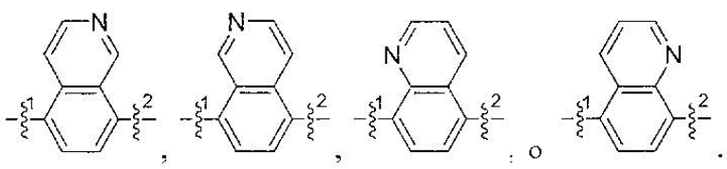
En algunas realizaciones, A es:



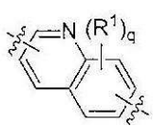
es el enlace al átomo de nitrógeno; y

es el enlace al carbonilo.

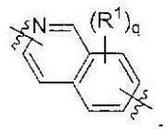
En algunas realizaciones, A es:



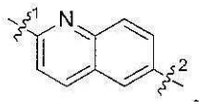
En algunas realizaciones, A es:



En algunas realizaciones, A es:



En algunas realizaciones, A es:

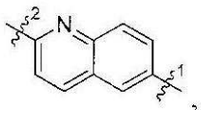


donde:

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

En algunas realizaciones, A es:

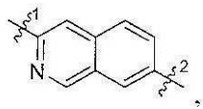


donde:

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

En algunas realizaciones, A es:

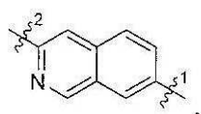


donde:

 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

En algunas realizaciones, A es:

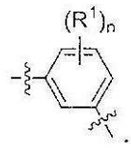


donde:

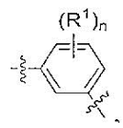
 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

 es el enlace al carbonilo.

En algunas realizaciones, A es:

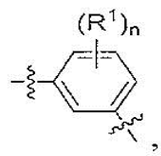


En algunas realizaciones, A es:



donde n es 0, 1, 2, ó 3.

En algunas realizaciones, A es:

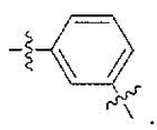


donde:

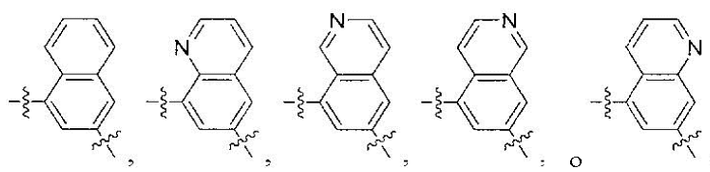
R^1 es alquilo C_{1-6}, alcoxi C_{1-6}, halo, haloalquilo C_{1-6}, haloalcoxi C_{1-6}, heteroalquilo C_{1-6}, y

n es 0, 1, 2, 3, ó 4.

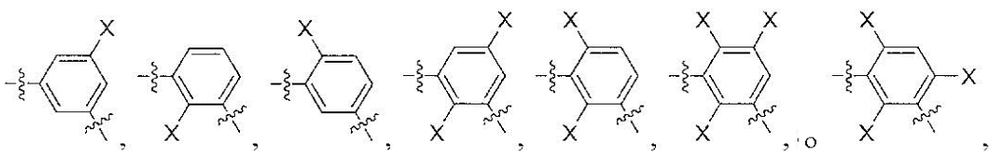
En algunas realizaciones, A es:



En algunas realizaciones, A es:



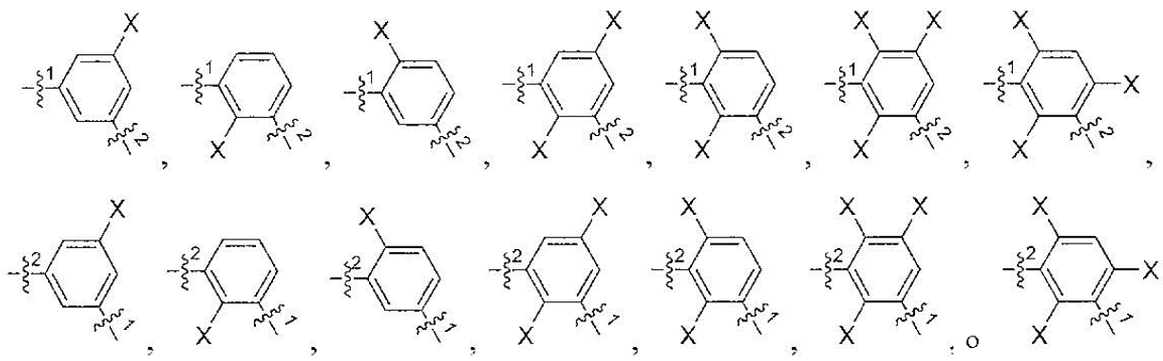
En algunas realizaciones, A es:



donde:

X es, independientemente en cada ocurrencia, un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroalquilo. En algunas realizaciones, X es flúor, cloro, bromo, yodo, dimetilamino, metilamino, metoxi, etoxi o trifluormetil.

En algunas realizaciones, A es:



donde:

X es, independientemente en cada ocurrencia, un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroalquilo. En algunas realizaciones, X es flúor, cloro, bromo, yodo, dimetilamino, metilamino, metoxi, etoxi, trifluormetil o metoxi;

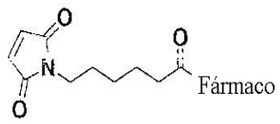
 es el enlace al átomo de nitrógeno; y

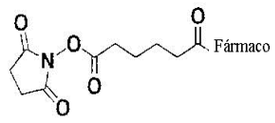
 es el enlace al carbonilo.

2. Enlazadores

La porción de enlazadores de los conjugados descritos en este documento es un resto divalente que enlaza de manera covalente el agente aglutinante a los derivados de maitansinoide descritos en este documento. Enlazadores adecuados incluyen aquellos que liberan la porción de maitansinoide en la presencia de una enzima o en un rango o valor particular de pH.

En algunas realizaciones, el enlazador comprende un resto de enzima enzimáticamente escindible. Los restos enzimáticamente escindibles ilustrativos incluyen, pero no están limitados a, enlaces peptídicos, enlaces éster, hidrazonas, y enlaces disulfuro. En algunas realizaciones, el enlazador comprende un enlazador escindible de catepsina.

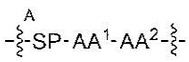
En algunas realizaciones, el enlazador comprende un resto no escindible. En algunas realizaciones, el enlazador no escindible es  o un residuo de los mismos.

En algunas realizaciones, el enlazador no escindible es  o un residuo de los mismos.

Enlazadores adecuados también incluyen, pero no están limitados a, aquellos que están unidos químicamente a dos residuos de cisteína de un agente aglutinante único, por ejemplo, anticuerpo. Dichos enlazadores pueden servir para imitar los enlaces de disulfuro del anticuerpo que son interrumpidos como resultado del proceso de conjugación.

En algunas realizaciones, el enlazador comprende uno o más aminoácidos. Aminoácidos adecuados incluyen aminoácidos naturales, no naturales, estándar, no estándar, proteinogénicos, no proteinogénicos, y L-, o D- α-aminoácidos. En algunas realizaciones, el enlazador comprende alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, triptófano, fenilalanina, prolina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina, glutamina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina, arginina, histidina, o citrulina o derivados de los mismos.

En algunas realizaciones, el enlazador comprende valina y citrulina.

En algunas realizaciones, el enlazador es: 

donde:

SP es un espaciador;

 es uno o más enlaces al agente aglutinante:

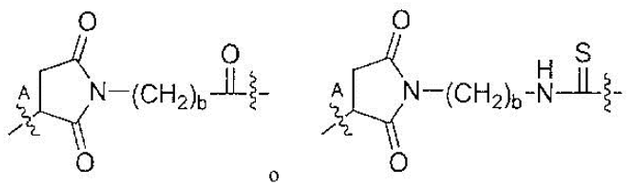
AA^1 es un aminoácido; y

AA^2 es un aminoácido.

El espaciador es un resto divalente que conecta el resto AA^1-AA^2 al agente aglutinante (BA). Espaciadores adecuados incluyen, pero no están limitados a aquellos comprendiendo alquileno o polietilenglicol. Los extremos de los espaciadores, es decir la porción del espaciador unido directamente al agente aglutinante o AA^1, pueden ser restos derivados de restos reactivos que son usados para fines de acoplar el anticuerpo desnudo o AA^1 al espaciador durante la síntesis química del conjugado.

En algunos ejemplos, los espaciadores adecuados incluyen, pero no están limitados a, un alquileno primario terminado en amina o un polietilenglicol primario terminado en amina. El extremo de terminación de la amina primaria del espaciador puede estar unido directamente a un anticuerpo desglicosilado o anticuerpo aglicosilado en la presencia de transglutaminasa.

En algunas realizaciones, el espaciador comprende un alquileno. En algunas realizaciones, el espaciador comprende un alquileno C_{5-7}. En algunas realizaciones, el espaciador es:



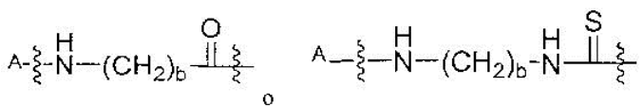
donde:



es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el espaciador comprende un alquileno primario terminado en amina. En algunas realizaciones, el espaciador comprende un alquileno NH_2-C_{5-7}. En algunas realizaciones, el espaciador es:



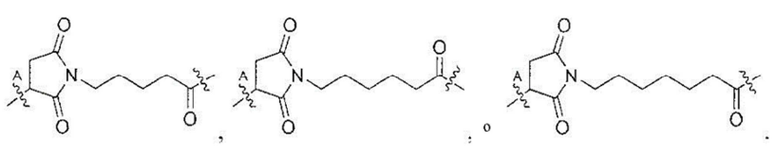
donde:



es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el espaciador es:

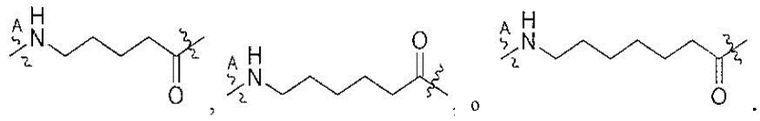


donde:



es un enlace al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, el espaciador es:

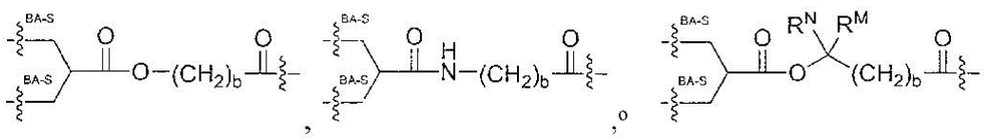


donde:



es un enlace al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, el espaciador es:



donde:

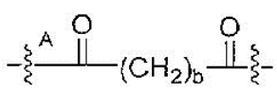
R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo;

R^M es alquilo;

Los dos enlaces representados por  son enlaces a cisteínas de un agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el espaciador es:



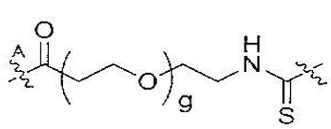
donde:



es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el espaciador es:

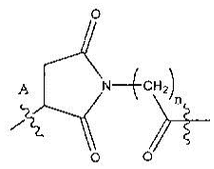


donde:

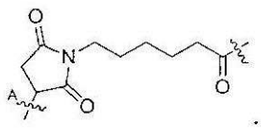


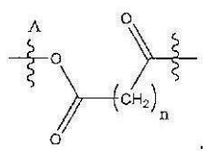
es un enlace al agente aglutinante; y

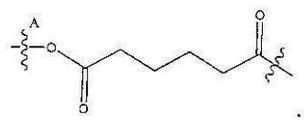
g es un entero desde 2 a 20. En algunas realizaciones, g es 2-8. En algunas realizaciones, g es 2, 4, 6, u 8.

En algunas realizaciones, el espaciador es  , donde n es un entero desde 4 a 10. En algunas realizaciones, n es 4, 5, 6, 7, 8, 9, ó 10.

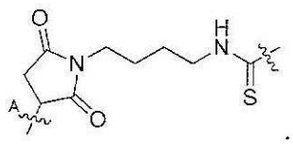
En algunas realizaciones, es espaciador es



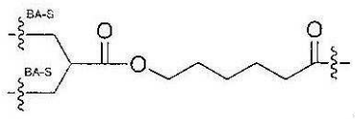
En algunas realizaciones, el espaciador es  ., donde n es un entero desde 4 a 10. En algunas realizaciones, n es 4, 5, 6, 7, 8, 9, ó 10.

En algunas realizaciones, el espaciador es  .

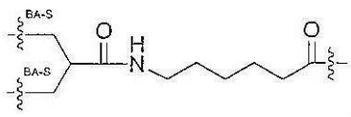
En algunas realizaciones, el espaciador es:

 .

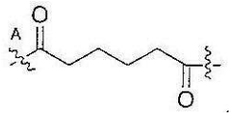
En algunas realizaciones, el espaciador es:

 .

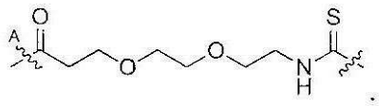
En algunas realizaciones, el espaciador es:



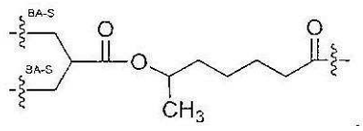
En algunas realizaciones, el espaciador es:



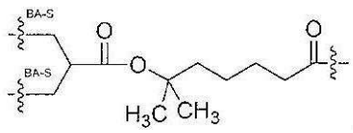
En algunas realizaciones, el espaciador es:



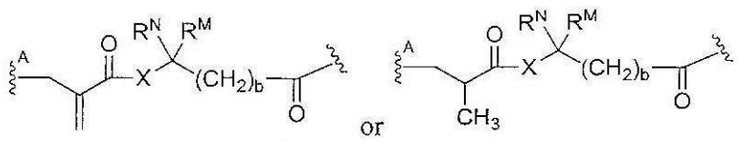
En algunas realizaciones, el espaciador es:



En algunas realizaciones, el espaciador es:



En algunas realizaciones, el espaciador es:



donde:



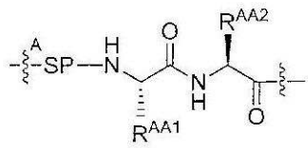
es un enlace al agente aglutinante;

X es N o R; R^N y R^M son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo, y b es un entero desde 1 a 8.

En algunas realizaciones, AA^1-AA^2 es: valina-citrulina, citrulina-valina, lisina-fenilalanina, fenilalanina-lisina, valina-asparagina, asparagina-valina, treonina-asparagina, asparagina-treonina, serina-asparagina, asparagina-serina, fenilalanina-asparagina, asparagina-fenilalanina, leucina-asparagina, asparagina-leucina, isoleucina-asparagina, asparagina-isoleucina, glicina-asparagina, asparagina-glicina, ácido glutámico-asparagina, asparagina-ácido glutámico, citrulina-asparagina, asparagina-citrulina, alanina-asparagina, o asparagina-alanina.

En algunas realizaciones, AA^1-AA^2 es: valina-citrulina o citrulina-valina. En algunas realizaciones, AA^1-AA^2 es: valina-citrulina.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



donde:

SP es un espaciador;



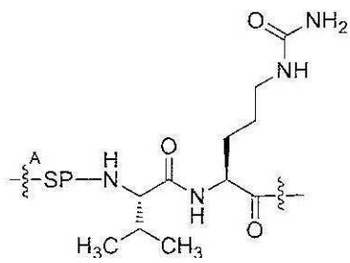
es uno o más enlaces al agente aglutinante;

R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos.

Como se usa en este documento, “cadena lateral de aminoácidos” se refiere al sustituyente no-hidrógeno monovalente unido a α-carbono de un α–aminoácido, incluyendo aminoácidos naturales y no naturales. Cadenas laterales de aminoácidos ejemplares incluyen, pero no están limitados a, el sustituyente de α–carbono de alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, triptófano, fenilalanina, prolina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina, glutamina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina, arginina, histidina y citrulina.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



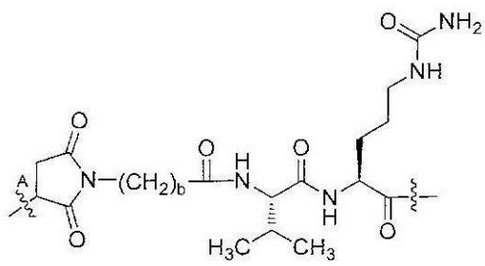
donde:

SP es un espaciador;



es uno o más enlaces al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



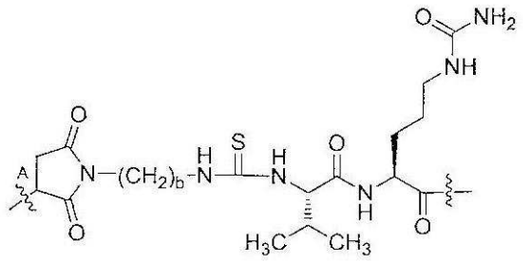
donde:



es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



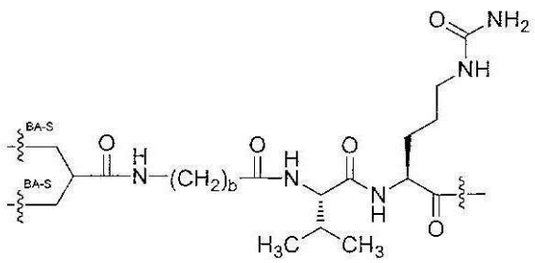
donde:



es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, BA es un anticuerpo y el enlazador es:

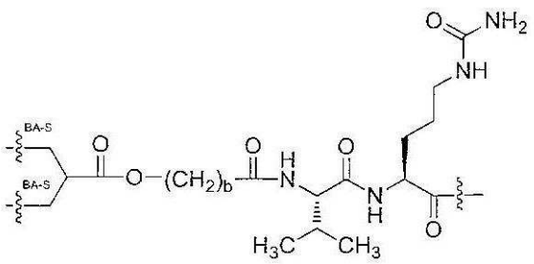


donde:

los dos enlaces representados por  son enlaces a cisteínas del anticuerpo; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, BA es un anticuerpo y el enlazador es:

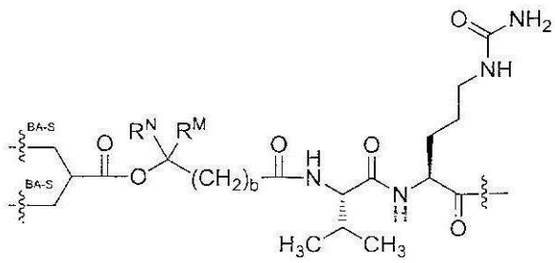


donde:

los dos enlaces representados por  son enlaces a cisteínas del anticuerpo; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, BA es un anticuerpo y el enlazador es:



donde:

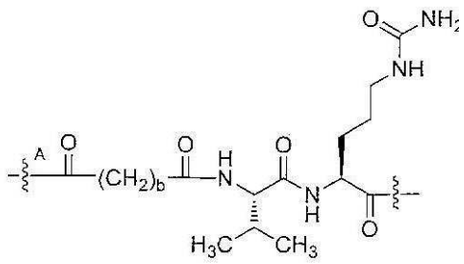
R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo;

R^M es alquilo;

los dos enlaces representados por  son enlaces a cisteínas del anticuerpo; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



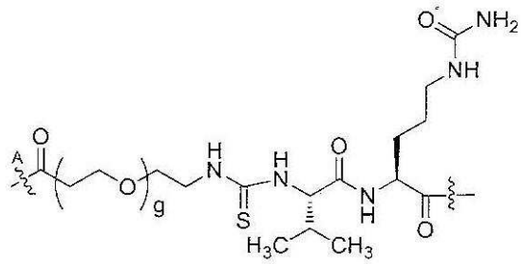
donde:



es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



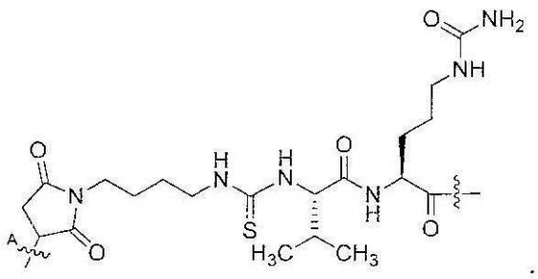
donde:



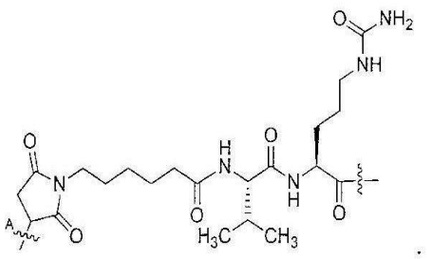
es un enlace al agente aglutinante; y

g es un entero desde 2 a 20. En algunas realizaciones, g es 2 a 8. En algunas realizaciones, g es 2, 4, 6, u 8.

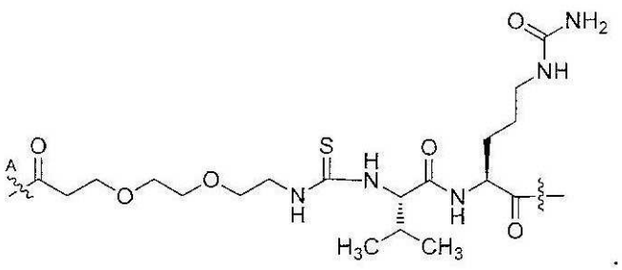
En algunas realizaciones, el enlazador es:



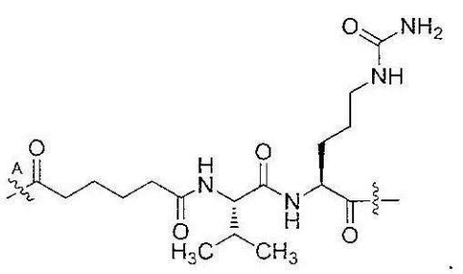
En algunas realizaciones, el enlazador es:



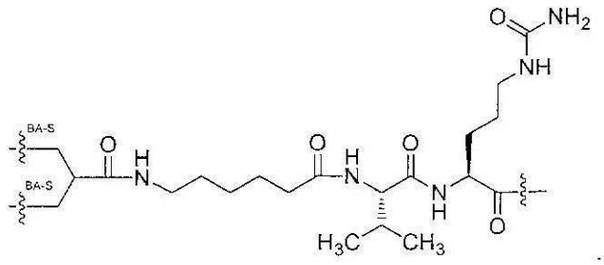
En algunas realizaciones, el enlazador es:



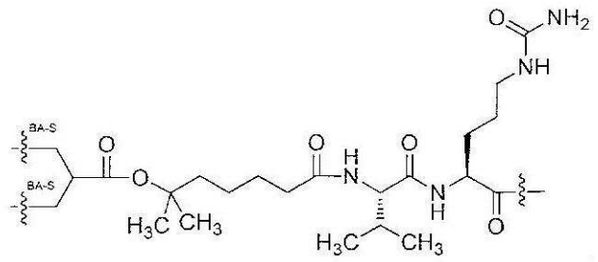
En algunas realizaciones, el enlazador es:



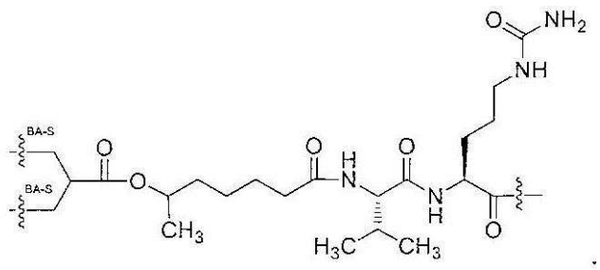
En algunas realizaciones, el enlazador es:



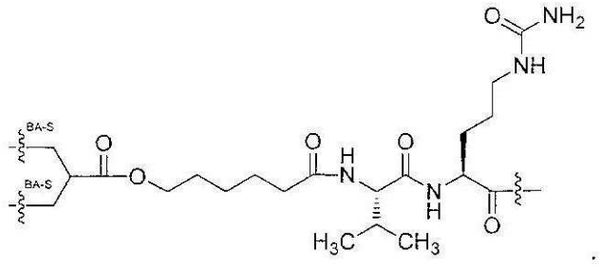
En algunas realizaciones, el enlazador es:



En algunas realizaciones, el enlazador es:



En algunas realizaciones, el enlazador es:



3. Agentes aglutinantes

Agentes aglutinantes adecuados incluyen, pero no están limitados a, anticuerpos, linfocinas, hormonas, factores de crecimiento, receptores virales, interleucinas, o cualquier otra molécula o sustancia aglutinante a células de unión a péptidos.

En algunas realizaciones, el agente aglutinante es un anticuerpo. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, anticuerpo policlonal, fragmento de anticuerpo (Fab, Fab', y F(ab)2), minibody, diabody, tribody, y similares, o anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos descritos en este documento pueden ser humanizados usando métodos descritos en la Patente U.S. N° 6.596.541 y la Publicación US N° 2012/0096572, cada una incorporada por referencia en su totalidad.

Donde el agente aglutinante es un anticuerpo, se une a un compañero de unión al antígeno que es un polipéptido y puede ser una molécula transmembrana (por ejemplo, receptor) o un factor de crecimiento que puede ser glicosilado o fosforilado. Antígenos ejemplares incluyen, pero no están limitados a, moléculas tales como renina; una hormona de crecimiento, incluyendo hormona de crecimiento humana y hormona de crecimiento bovino; factor de liberación de la hormona de crecimiento; hormona paratiroidea; hormona estimulante de tiroides; lipoproteínas, alfa1-antitripsina; cadena de insulina A; cadena de insulina B; proinsulina; hormona estimulante de folículos; calcitonina; hormona luteinizante; glucagón; factores de coagulación tales como factor vmc, factor IX, factor de tejido (TF) y factor von Willebrands; factores anti-coagulación tales como Proteína C; factor natriurético auricular, surfactante pulmonar; un activador de plasminógeno, como uroquinasa u orina humana o activador de plasminógeno tipo tejido (t-PA); bombesina; trombina; factor de crecimiento hemopoyético; factor de necrosis tumoral alfa y beta; encefalinasa; RANTES (regulado en la activación de células T normalmente expresadas y secretadas); proteína inflamatoria de macrófagos humanos (MIP-I-alfa); una albúmina sérica, como albúmina sérica humana, sustancia inhibidora Muellerian; cadena A de relaxina; cadena B de relaxina; prorelaxina; péptido de ratón asociado a gonadotropina; proteína microbiana, como betalactamasa; DNase; 19E; un antígeno asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA), como CTLA-4; inhibina; activina; factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF); receptores para hormonas o factores de crecimiento; proteína A o D; factores reumatoides; un factor neurotrófico como factor neurotrófico derivado de huesos (BDNF), neurotrofina-3, -4, -5 ó -6 (NT-3, NT-4, NT-5, o NT-6) o un factor de crecimiento nervioso como NGF-β; factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF); factor de crecimiento de fibroblastos como aFGF y bFGF; receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR2), factor de crecimiento epidérmico (EGF); factor de crecimiento transformante (TGF) como TGF-alfa y TGF-beta, incluyendo TGF- β1, TGF- β2, TGF- β3, TGF- β4, o TGF- β5; factor de crecimiento I y II similar a insulina (IGF-I y IGF-II); des(I-3)-IGF-1 (cerebro IGF-1), proteínas de unión al factor de crecimiento similar a la insulina, EpCAM, GD3, FLT3, PSMA, PSCA, MUC1, MUC16; STEAP, CEA, TENB2, receptores Eph2, receptores EphB, receptor de folato, FOLRI, mesotelina, cripto, alfavbeta6, integrinas, VEGF, VEGFR, EGFR, receptor de transferina, IRTA1, IRTA2, IRTA3, IRTA4, IRTA5; proteínas CD como CD2, CD3, CD4, CD5, CD6, CD8, CD11, CD14, CD19, CD20, CD21, CD22, CD25, CD26, CD28, CD30, CD33, CD36, CD37, CD38, CD40, CD44, CD52, CD55, CD56, CD59, CD70, CD79, CD80, CD81, CD103, CD105, CD134, CD137, CD138, CD152 o un anticuerpo que se une a uno o más antígenos asociados a tumores o receptores de superficie celular revelados en Publicación US N° 2008/0171040 o Publicación US N° 2008/0305044 e

incorporados en su totalidad por referencia; eritropoyetina; factores osteoinductivos; inmunotoxinas; una proteína morfogenética ósea (BMP); un interferón, como interferón alfa, beta y gamma, factores estimulantes de colonias (CSFs), por ejemplo, M-CSF, GM-CSF, y G-CSF; interleucinas (ILs), por ejemplo, IL-1 a IL-10; superóxido dismutasa; receptores de células T; proteínas de membrana de superficie; factor de aceleración de la desintegración, antígeno viral como por ejemplo, una porción de la envoltura del VIH; proteínas de transporte; receptores homing, adresinas; proteínas reguladoras, integrinas, como CD11a, CD11b, CD11c, CD18, un ICAM, VLA-4 y VCAM, un antígeno asociado a tumores como AFP, ALK, B7H4, proteínas BAGE, β-catenina, brc-abl, BRCA1, BORIS, CA9 (anhídrido carbónico IX), caspase-8, CD20, CD40, CD123, CDK4, CEA, CLEC12A, c-kit, cMET, CTLA4, ciclina-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, endoglina, Epcam, EphA2, ErbB2/Her2, ErbB3/Her3, Erb4/Her4, ETV6-AML, Fra-1, FOLR1, proteínas GAGE (por ejemplo, GAGE-1, -2) GD2, GD3, GloboH, glipican-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/EBNA1, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IGF1R, LGR5, LMP2, proteínas MAGE (por ejemplo, MAGE-1, -2, -3, -4, -6, y -12) MART-1, mesotelina, ML-IAP, Muc1, Muc16, (CA-125), MUM1, NA17, NGEP, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PDGFR-α, PDGFR-β, PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D, PLAC1, PRLR, PRAME, PSCA, PSGR, PSMA, (FOLH1), proteínas RAGE, Ras, RG55, Rho, SART-1, SART-3, Steap-1, Steap-2, STn, survivin, TAG-72, TGF-β, TMPRSS2, Tn, TNFRSF176, TRP-1, TRP-2, tirosinasa y uroplakin-3 y fragmentos de cualquier los polipéptidos mencionados anteriormente.

Antígenos ejemplares también incluyen, pero no están limitados a, BCMA, SLAMF7, B7H4, GPNMB, UPK3A y LGR5.

En algunas realizaciones, los antígenos incluyen el receptor prolactina (PRLR) o antígeno de membrana específico de próstata (PSMA).

Los agentes aglutinantes también incluyen, pero no están limitados a proteínas de repetición de anquirina, interferones, linfocinas tales como IL-2 o IL-3, hormonas como insulina y glucocorticoides, factores de crecimiento tales como EGF, transferrina y fibronectina de tipo III.

En algunas realizaciones, los agentes aglutinantes interactúan con o se unen a los antígenos tumorales, incluyendo antígenos específicos para un tipo de tumor o antígenos que son compartidos, sobreexpresados o modificados en un tipo particular de tumor. Ejemplos incluyen, pero no están limitados a: alfa-actinina-4 con cáncer pulmonar, ARTC1 con melanoma, proteína de fusión BCR-ABL con leucemia mieloide crónica, B-RAF, CLPP o Cdc27 con melanoma, CASP-8 con carcinoma de células escamosas, y hsp70-2 con carcinoma de células renales como también los siguientes antígenos específicos de tumores compartidos, por ejemplo: BAGE-1, GAGE, GnTV, KK-LC-1, MAGE-A2, NA88-A, TRP2-INT2.

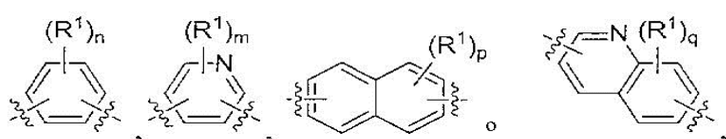
En algunas realizaciones, el agente aglutinante es un anticuerpo. En algunas realizaciones, el agente aglutinante es un anticuerpo monoclonal. En algunas realizaciones, el agente aglutinante es un anticuerpo policlonal. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anti-PSMA, anti-MUC16 o anti-EGFRvIII o anticuerpo anti-STEAP-2.

Los enlazadores pueden unirse al agente aglutinante, por ejemplo, anticuerpo o molécula de unión al antígeno, a través de una unión a un aminoácido particular dentro del anticuerpo o molécula de unión al antígeno. Uniones ejemplares de aminoácidos que pueden ser usadas en el contexto de este aspecto de la revelación incluyen, por ejemplo, lisina (ver US 5.208.020; US 2010/0129314; Hollander *et al., Bioconjugate Chem*., 2008, 19:358-361; WO 2005/089808; US 5.714.586; US 2013/0101546; y US 2012/0585592), cisteína (ver por ejemplo, US 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; US 2013/0101546; y US 7.750.116), selenocisteína (ver por ejemplo, WO 2008/122039; y Hofer *et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 2008*, *105*:12451-12456), formilglicina (ver, por ejemplo, Carrico *et al., Nat. Chem. Biol.,* 2007, 3:321 -322; Agrawal *et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2013*, *110*: 46-51, y Rabuka *et al., Nat. Protocols*, 2012, *10*:1052-1067), aminoácidos no naturales (ver, por ejemplo, WO 2013/068874 y WO 2012/166559) y aminoácidos ácidos (ver, por ejemplo, WO 2012/05982). Los enlazadores pueden ser conjugados mediante glutamina vía conjugación quimio-enzimática en base a transglutaminasa (ver por ejemplo, *Dennler et al., Bioconjugate Chem.,* 2014, 25, 569-578). Los enlazadores también pueden ser conjugados a una proteína de unión al antígeno mediante la unión a carbohidrato (ver por ejemplo, US 2008/0305497, WO 2014/065661, y Ryan *et al., Food & Agriculture Immunol*., 2001, 13: 127-130), y enlazadores disulfuro (ver por ejemplo, WO 2013/085925; WO 2010/010324, WO 2011/018611, WO 2014/197854 y Shaunak *et al., Nat. Chem. Biol*., 2006, 2:312-313).

En algunas realizaciones, el agente aglutinante es un anticuerpo, y el anticuerpo está unido al enlazador a través de un residuo de lisina. En algunas realizaciones, el anticuerpo está unido al enlazador a través de un residuo de cisteína.

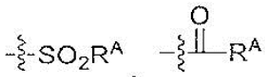
4. Realizaciones Ilustrativas

En algunas realizaciones, A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro, $-\S-OR^A$,


, o azido.

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

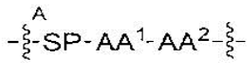
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde:

SP es un espaciador;

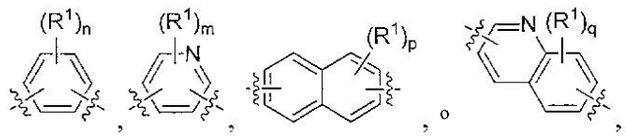

es uno más enlaces al agente aglutinante;

AA^1 es un aminoácido; y

AA^2 es un aminoácido.

En algunas realizaciones,

A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, o halo;

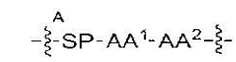
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



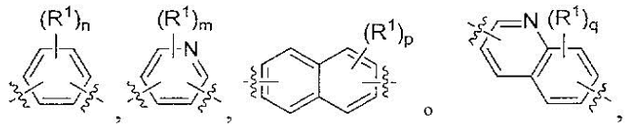
SP es un espaciador;


es uno o más enlaces al agente aglutinante;

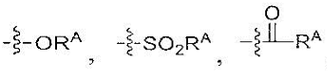
AA^1 es un aminoácido; y

AA^2 es un aminoácido.

En algunas realizaciones, A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, haloalcoxi, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro,  o azido.

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

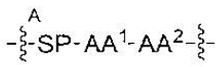
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde:

SP es un espaciador;

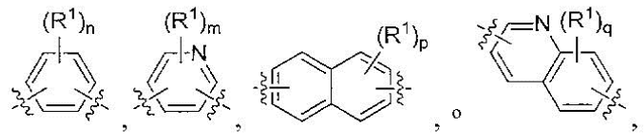


es uno o más enlaces al agente aglutinante;

AA^1 es un aminoácido; y AA^2 es un aminoácido.

En algunas realizaciones,

A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, o halo;

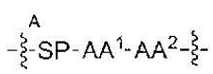
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

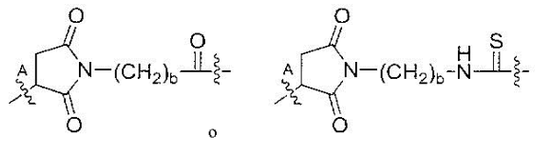
q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde

SP es



donde



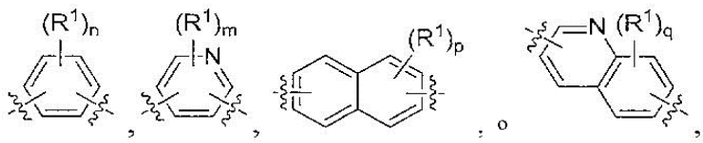
es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8; y

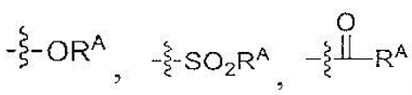
AA^1 es un aminoácido; y

AA^2 es un aminoácido.

En algunas realizaciones, A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro,  o azido.

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

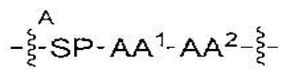
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

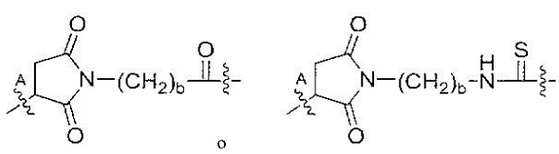
q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde:

SP es:



donde



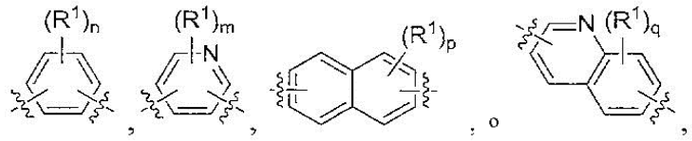
es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8; y

AA^1 es un aminoácido; y

AA^2 es un aminoácido.

En algunas realizaciones, A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, o halo;

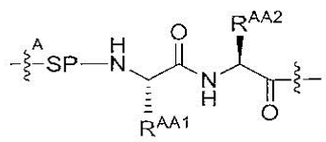
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde:

SP es un espaciador

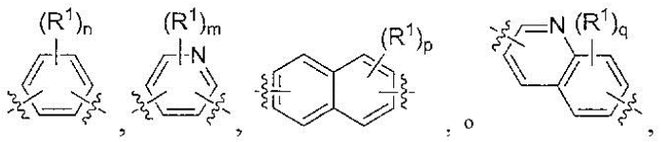


es uno o más enlaces al agente aglutinante;

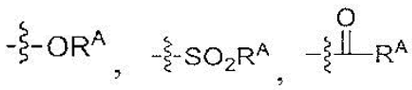
R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos.

En algunas realizaciones, A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro,  o azido.

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

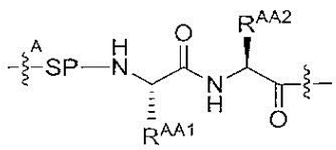
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde:

SP es un espaciador

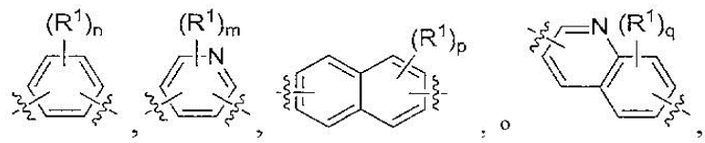


es uno o más enlaces al agente aglutinante;

R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos.

En algunas realizaciones, A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, o halo;

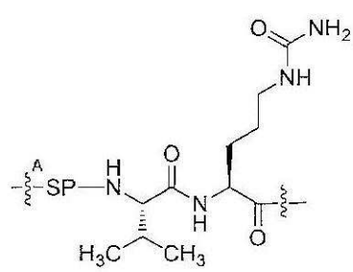
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



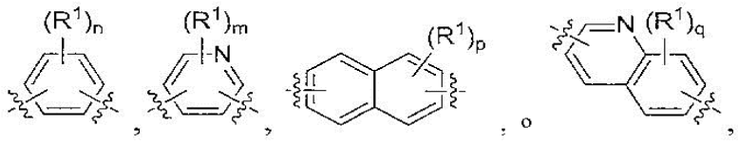
donde:

SP es un espaciador; y

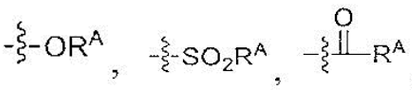


es uno o más enlaces al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro,  o azido.

donde R^A es alquilo;

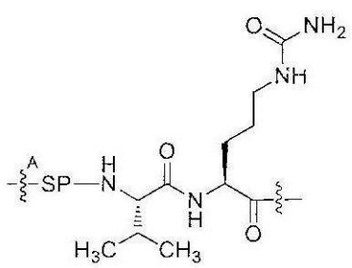
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



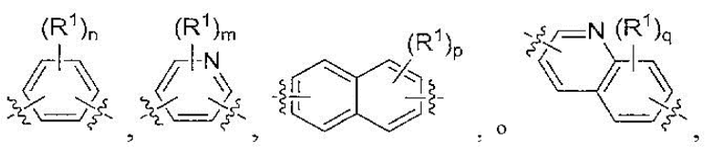
donde:

SP es un espaciador; y



es uno o más enlaces al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, o halo;

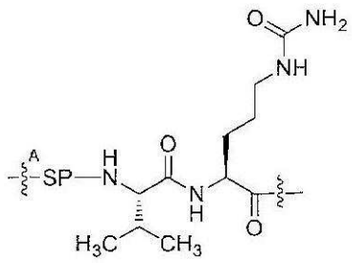
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

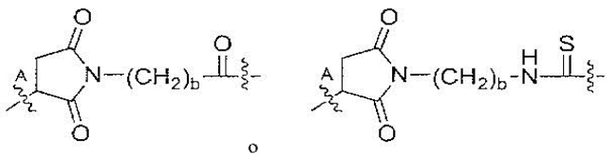
q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde:

SP es:



donde

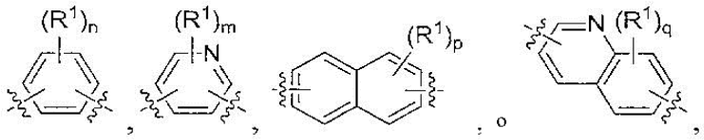


es un enlace al agente aglutinante; y

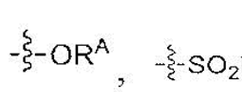
b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones,

A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro ,  o azido.

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

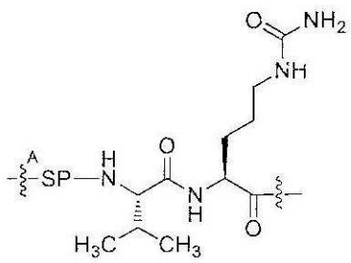
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

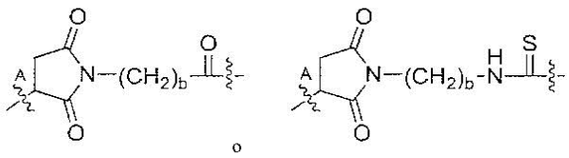
q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde:

SP es:



donde:

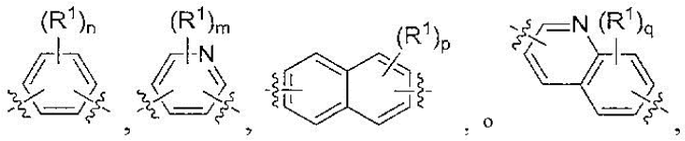


es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones,

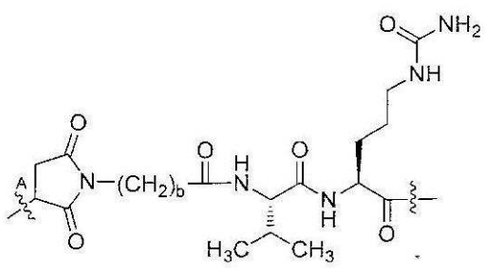
A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6} o halo; y n, m, p y q son 0, 1, ó 2; y

L es:



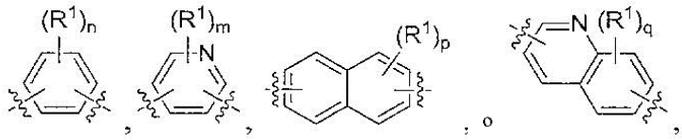
donde:



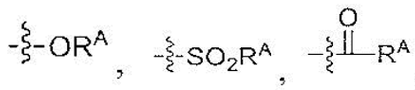
es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro ,  o azido.

donde R^A es alquilo;

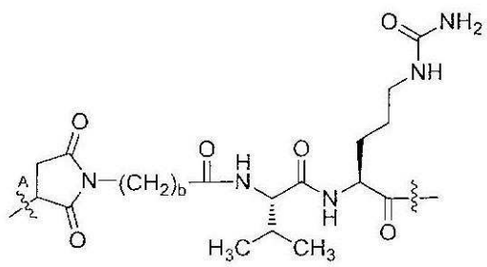
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde:

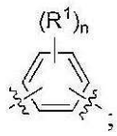


es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones,

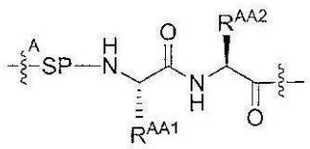
A es:



donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6} o halo; y n es 0, 1, ó 2; y

L es:



donde:

SP es un espaciador

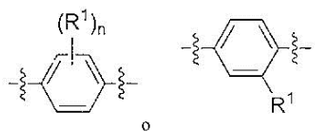


es uno o más enlaces al agente aglutinante;

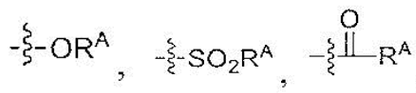
R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos.

En algunas realizaciones, A es:



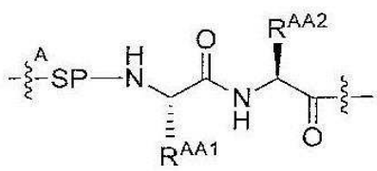
donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro ,  o azido.

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

donde n es un entero desde 0 a 4;

L es:



donde:

SP es un espaciador



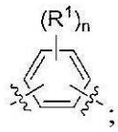
es uno o más enlaces al agente aglutinante;

R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos.

En algunas realizaciones,

A es:

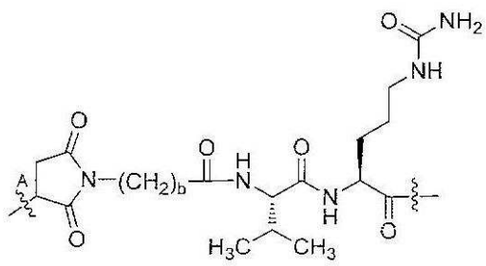


donde

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo; y

n es 0, 1, ó 2; y

L es



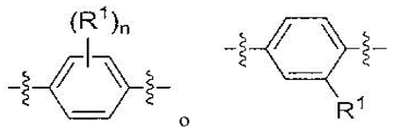
donde:



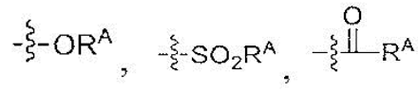
es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, A es:

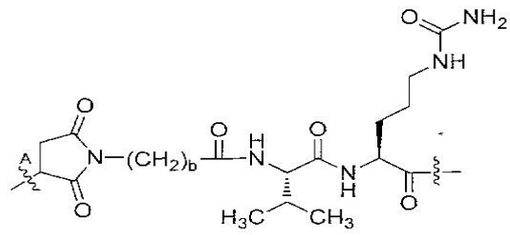


donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro ,  o azido.

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

L es:



donde:



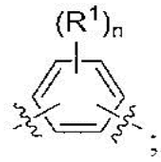
es un enlace al agente aglutinante; y

donde n es un entero desde 0 a 4; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones,

A es:

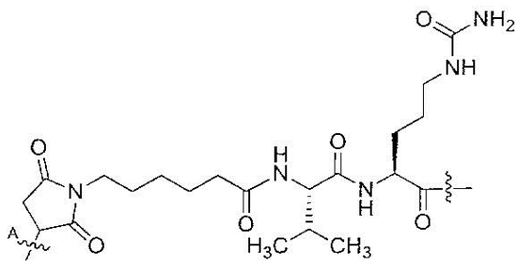


donde

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo; y

n es 0, 1, ó 2; y

L es:

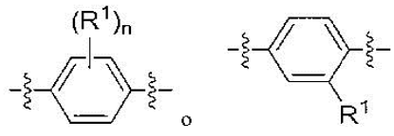


donde:

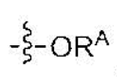
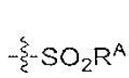
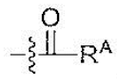


es un enlace al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, A es:



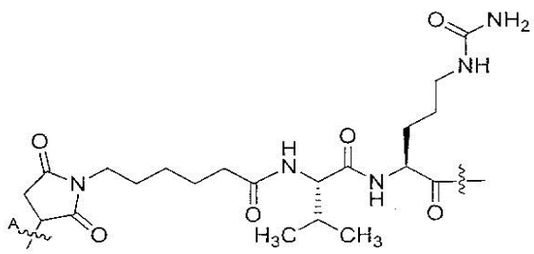
donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro ,    o azido.

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

donde n es un entero desde 0 a 4;

L es:



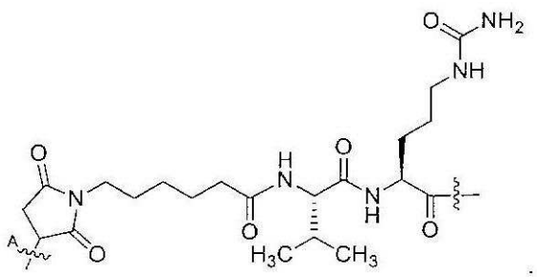
donde:

 es un enlace al agente aglutinante.

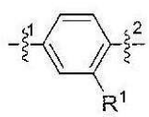
En algunas realizaciones, A es:

 ; y

L es:



En algunas realizaciones, A es:



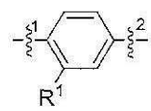
donde:

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, arilo, halo, haloalcoxi; haloalquilo o haloalcoxi;


es el enlace al átomo de nitrógeno; y


es el enlace al carbonilo. En algunas realizaciones, R^1 es 1-metiletil-tiol, fenilo, 2-fluorfenil, piridinilo, 4-piridinilo, pirrolidinilo, ó 1-pirrolidinilo. En algunas realizaciones, R^1 es trifluormetilo. En algunas realizaciones, R^1 es metoxi. En algunas realizaciones, R^1 es flúor. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno.

En algunas realizaciones, A es:



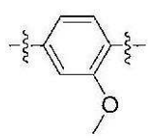
donde:

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, arilo, heteroalquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi;

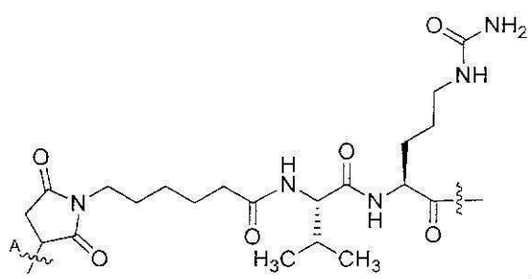

es el enlace al átomo de nitrógeno; y


es el enlace al carbonilo. En algunas realizaciones, R^1 es 1-metiletil-tiol, fenilo, 2-fluorfenil, piridinilo, 4-piridinilo, pirrolidinilo, ó 1-pirrolidinilo. En algunas realizaciones, R^1 es trifluormetilo. En algunas realizaciones, R^1 es metoxi. En algunas realizaciones, R^1 es flúor. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno.

En algunas realizaciones, A es:


; y

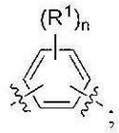
L es



En algunas realizaciones,

BA es un anticuerpo;

A es:

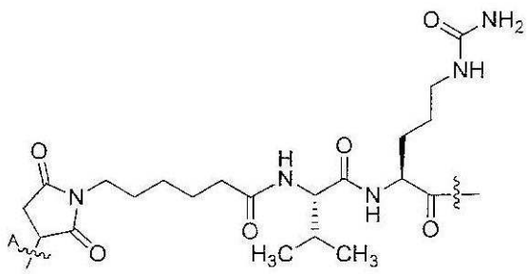


donde

R^1 es independientemente en cada ocurrencia, halo; y

n es 0, 1 ó 2; y

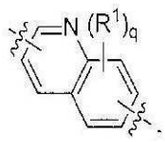
L es



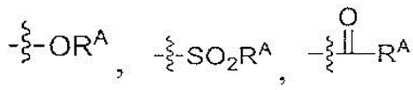
donde  es un enlace al agente aglutinante.

En algunas realizaciones,

A es:

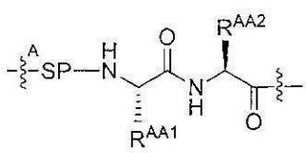


donde

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro ,  o azido; y

q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde:

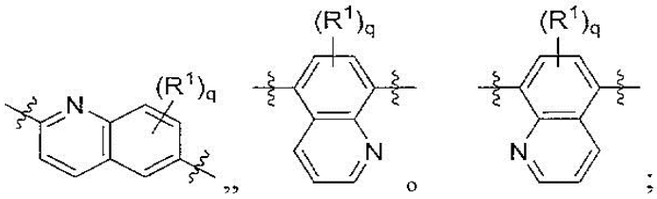
SP es un espaciador;

 es uno o más enlaces al agente aglutinante;

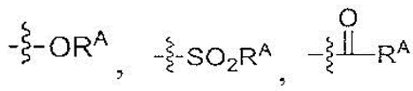
R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos.

En algunas realizaciones, A es:

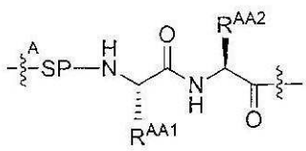


donde

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro ,  o azido; y

donde q es un entero desde 0 a 5; y

L es:



donde:

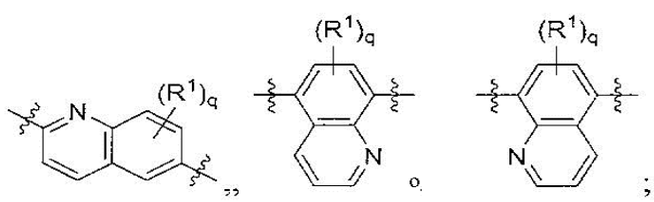
SP es un espaciador;

 es uno o más enlaces al agente aglutinante;

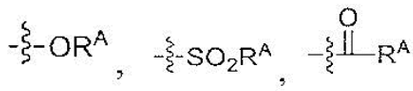
R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos.

En algunas realizaciones, A es:

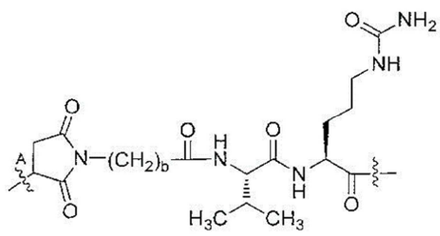


donde

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro ,  o azido; y

donde q es un entero desde 0 a 5; y

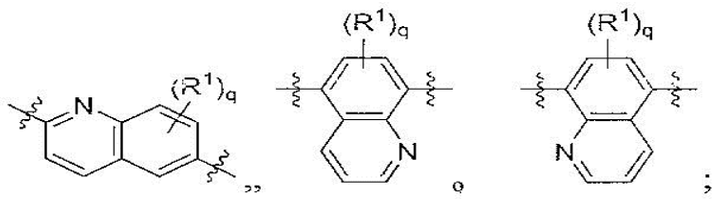
L es:



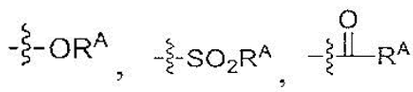
donde  es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, A es:

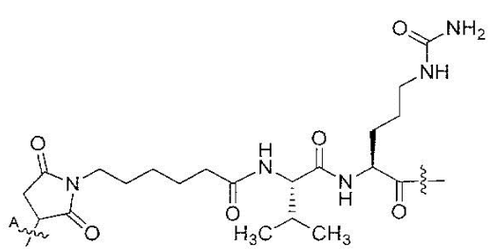


donde

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro ,  o azido; y

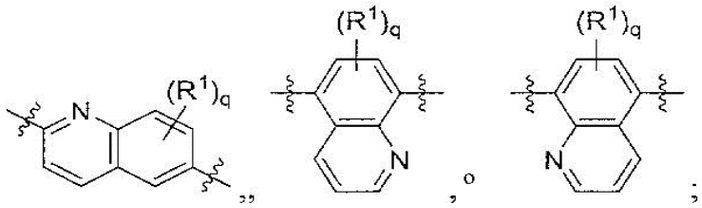
q es un entero desde 0 a 5; y

L es:

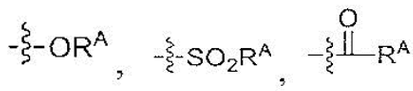


donde  es un enlace al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, A es:

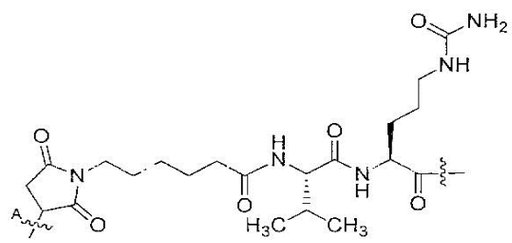


donde

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro ,  o azido; y

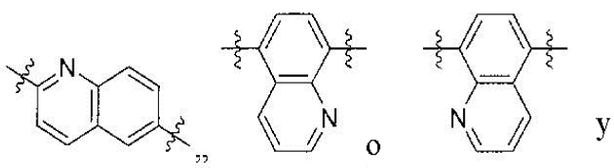
donde q es un entero desde 0 a 5;

L es:



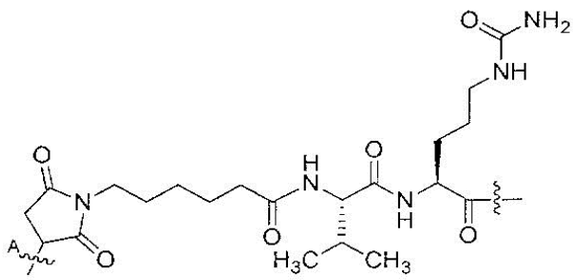
donde  es un enlace al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, A es:

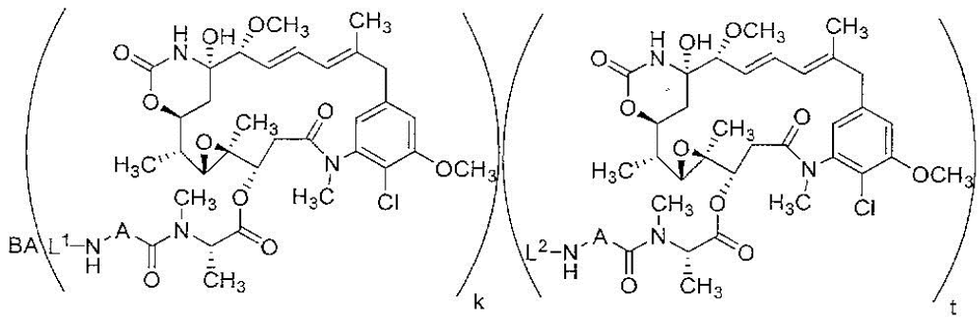


y

L es

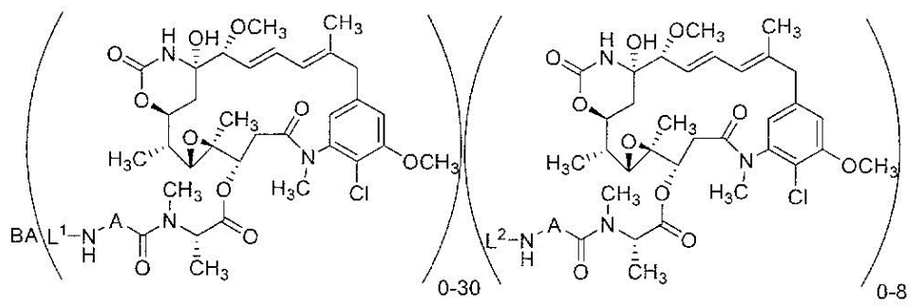


· En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I es:



donde A es arileno o heteroarileno, L^1 y L^2 son enlazadores, BA es un agente aglutinante, k es un entero desde 0 a 30, y t es un entero desde 0 a 8. En algunas de estas realizaciones, L^1 es un enlazador que se une a BA a través de un residuo de lisina. En algunas de estas realizaciones, el subíndice k representa el número de enlazadores, L^1, unidos a BA a través de residuos de lisina en BA. En algunas de estas realizaciones, L^2 es un enlazador que se une a BA a través de un residuo de cisteína. En algunas de estas realizaciones, el subíndice t, representa el número de enlazadores, L^2, unidos a BA través de residuos de cisteína en BA. En algunas realizaciones, cuando el enlazador, L^2, es un enlazador monodentado, t es un entero desde 0 a 8. En algunas realizaciones, cuando el enlazador, L^2, es un enlazador bidentado, t es un entero desde 0 a 4. En algunos de estos ejemplos, la suma de k + t es igual a 1-8.

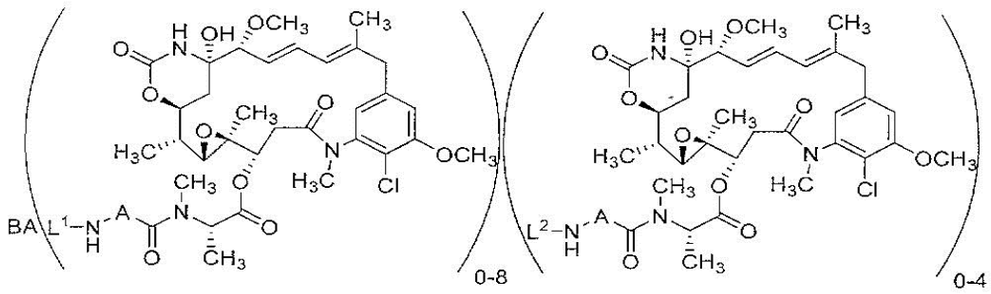
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I es:



donde A es arileno o heteroarileno, L^1 y L^2 son enlazadores, y BA es un agente aglutinante. En algunas de estas realizaciones, L^1 es un enlazador que se une a BA a través de un residuo de

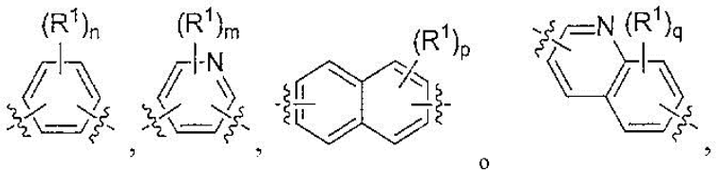
lisina. En algunas de estas realizaciones, L^2 es un enlazador que se une a BA a través de un residuo de cisteína.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I es:

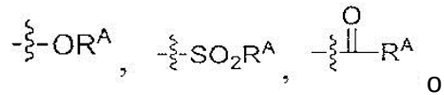


donde A es arileno o heteroarileno, L^1 y L^2 son enlazadores, y BA es un agente aglutinante. En algunas de estas realizaciones, L^1 es un enlazador que se une a BA a través de un residuo de lisina. En algunas de estas realizaciones, L^2 es un enlazador que se une a BA a través de un residuo de cisteína.

En algunas realizaciones, A es:



donde

R^1, independientemente en cada ocurrencia, es halo, haloalcoxi, haloalquilo, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro ,  o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

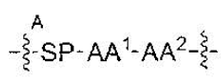
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



donde:

SP es un espaciador

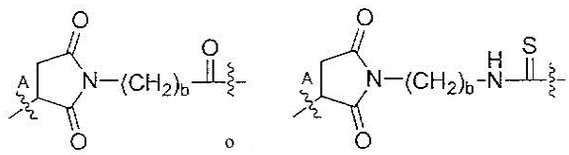
 es uno o más enlaces al agente aglutinante;

AA^1 es un aminoácido; y

AA^2 es un aminoácido.

El espaciador es un resto divalente que conecta el resto AA^1-AA^2 al agente aglutinante (BA). Espaciadores adecuados incluyen, pero no están limitados a, aquellos comprendiendo alquileno o polietilenglicol. Los extremos de los espaciadores, es decir, la porción del espaciador unido directamente al agente aglutinante o AA^1, pueden ser restos derivados de restos reactivos que son usados para fines de acoplar el anticuerpo o AA^1 al espaciador durante la síntesis química del conjugado.

En algunas realizaciones, el espaciador comprende un alquileno. En algunas realizaciones, el espaciador comprende un alquileno C_{5-7}. En algunas realizaciones, el espaciador es:

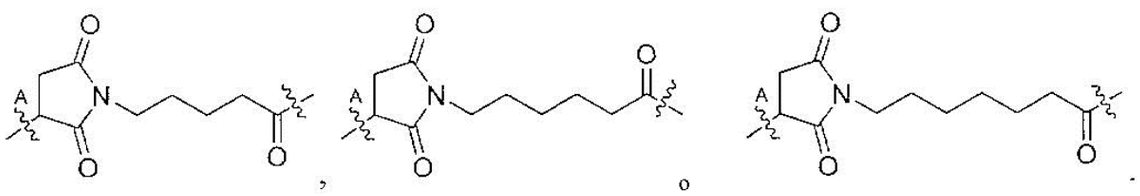


donde:

 es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

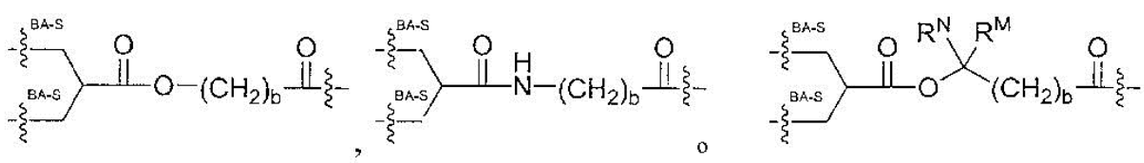
En algunas realizaciones, el espaciador es:



donde:

 es un enlace al agente aglutinante.

En algunas realizaciones, el espaciador es:



donde:

R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo;

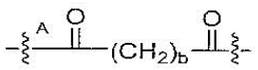
R^M es alquilo;



los dos enlaces representados por ; son enlaces a cisteínas de un agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el espaciador es:



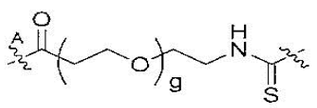
donde:



es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el espaciador es:



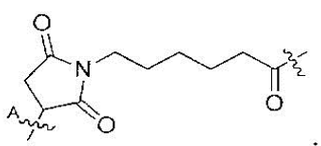
donde:



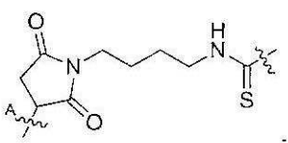
es un enlace al agente aglutinante; y

g es un entero desde 2 a 20. En algunas realizaciones, g es 2-8. En algunas realizaciones, g es 2, 4, 6, u 8.

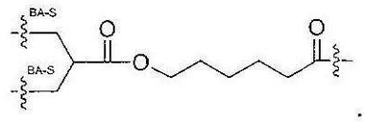
En algunas realizaciones, el espaciador es:



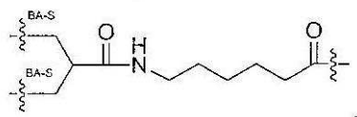
En algunas realizaciones, el espaciador es:



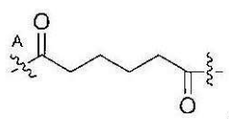
En algunas realizaciones, el espaciador es:



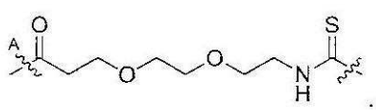
En algunas realizaciones, el espaciador es:



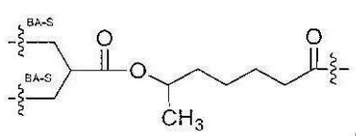
En algunas realizaciones, el espaciador es:



En algunas realizaciones, el espaciador es:



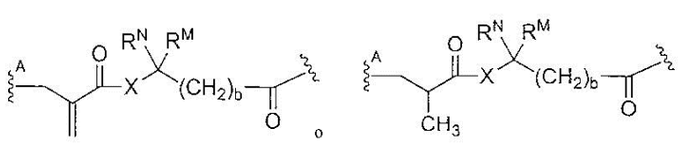
En algunas realizaciones, el espaciador es:



En algunas realizaciones, el espaciador es:



En algunas realizaciones, el espaciador es:



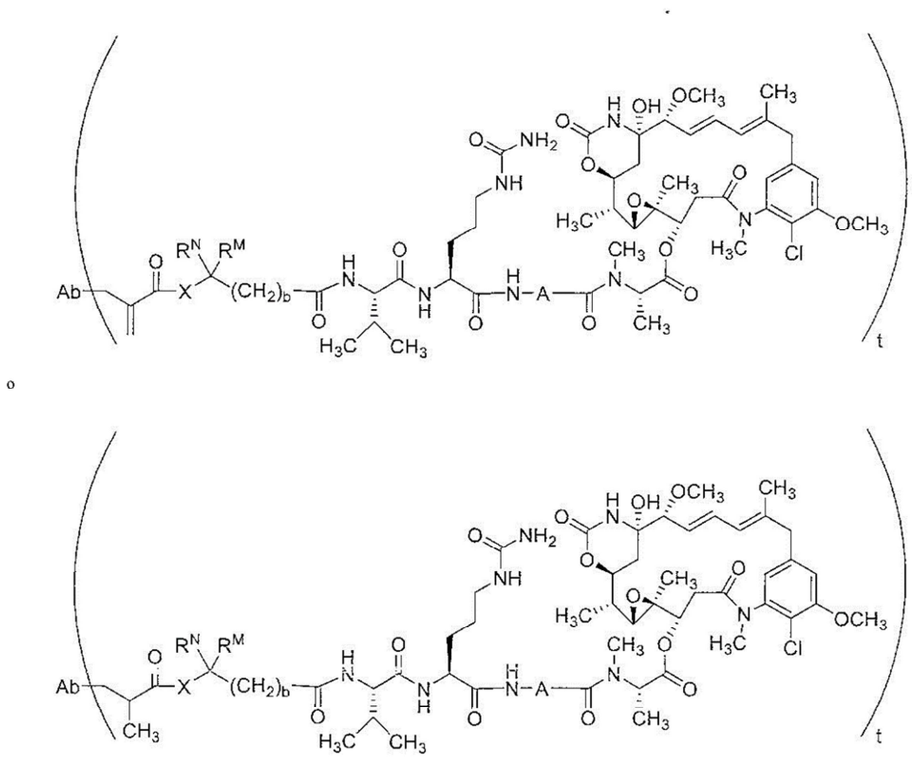
donde  es un enlace al agente aglutinante;

X es N o O; R^N y R^M son cada uno, independientemente, hidrógeno o alquilo; y b es un entero desde 1 a 8.

En algunas realizaciones, AA^1-AA^2 es: valina-citrulina, citrulina-valina, lisina-fenilalanina, fenilalanina-lisina, valina-asparagina, asparagina-valina, treonina-asparagina, asparagina-treonina, serina-asparagina, asparagina-serina, fenilalanina-asparagina, asparagina-fenilalanina, leucina-asparagina, asparagina-leucina, isoleucina-asparagina, asparagina-isoleucina, glicina-asparagina, asparagina-glicina, ácido glutámico- asparagina, asparagina-ácido glutámico, citrulina-asparagina, asparagina-citrulina, alanina-asparagina, o asparagina-alanina.

En algunas realizaciones, AA^1-AA^2 es: valina-citrulina o citrulina-valina. En algunas realizaciones, AA^1-AA^2 es: valina-citrulina.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I es:



o

donde X es N o O,

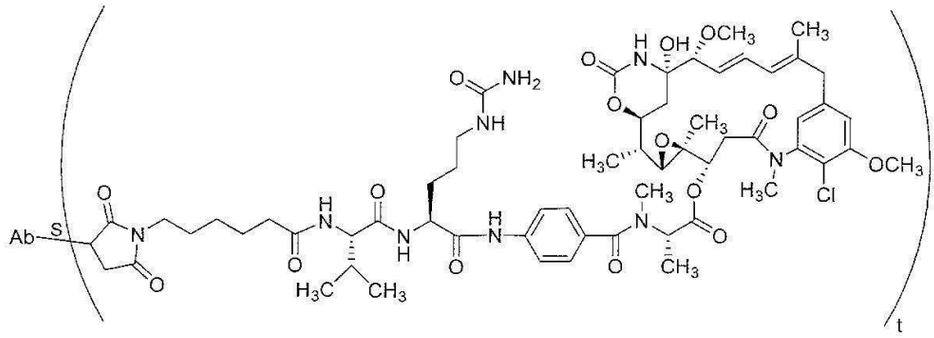
R^N y R^M son cada uno independientemente, hidrógeno o arilo,

b es un entero desde 1 a 8,

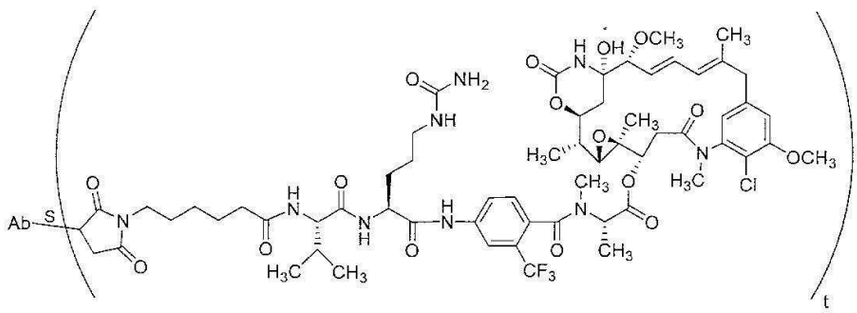
A es arilo o heteroarilo, y

t es entero desde 1 a 8.

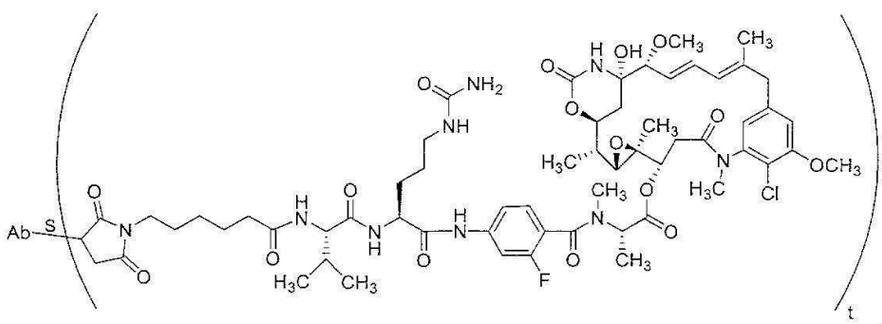
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I es:



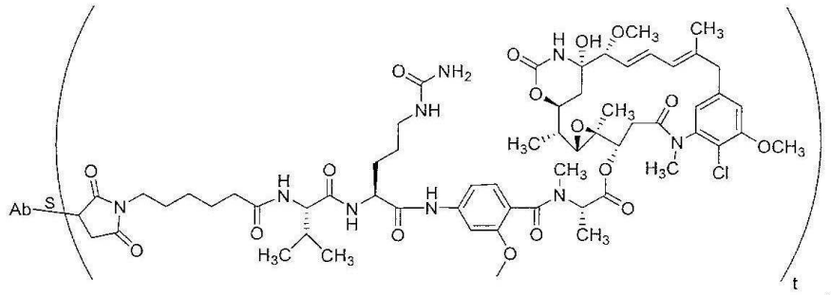
,

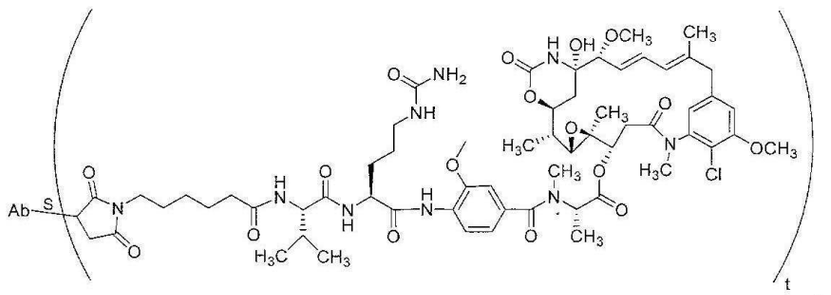


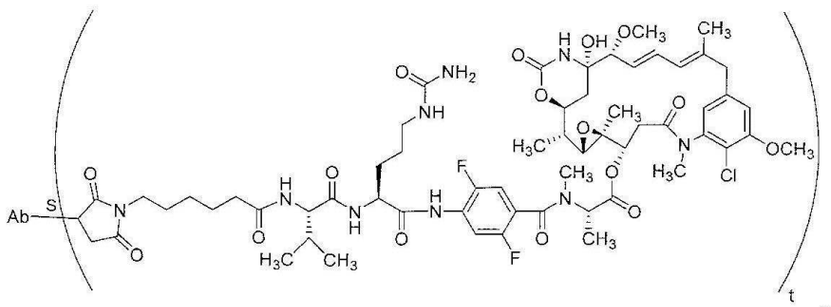
,

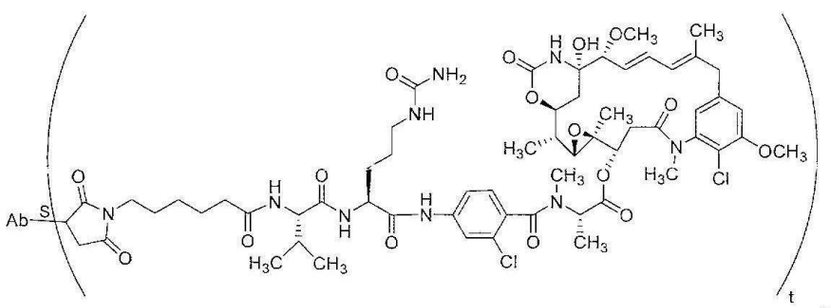


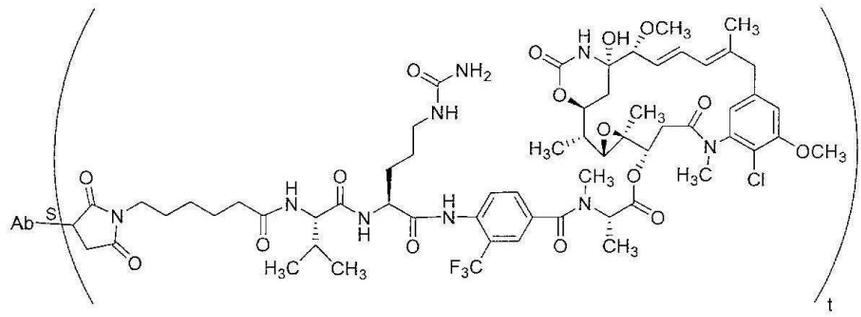
,



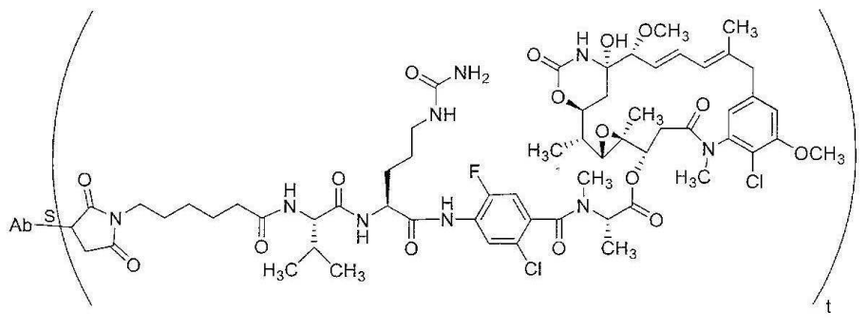




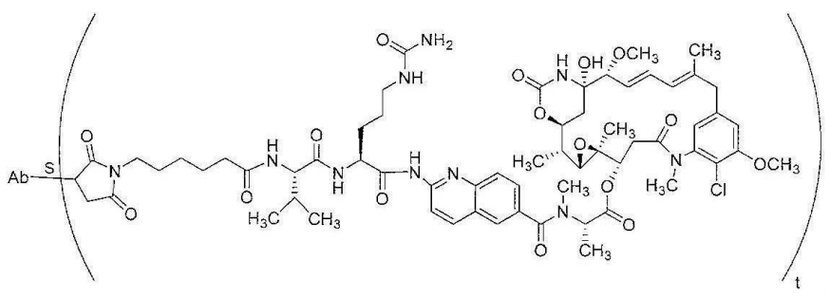




,

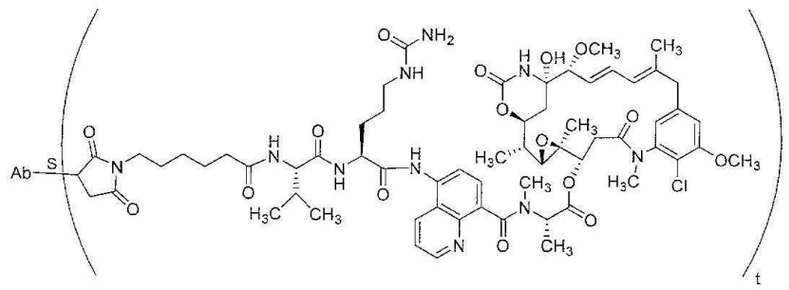


,

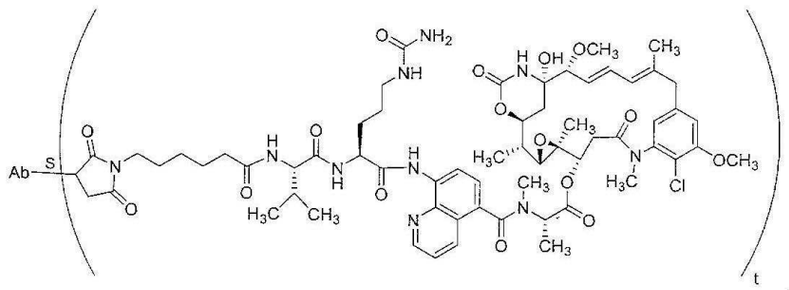


,

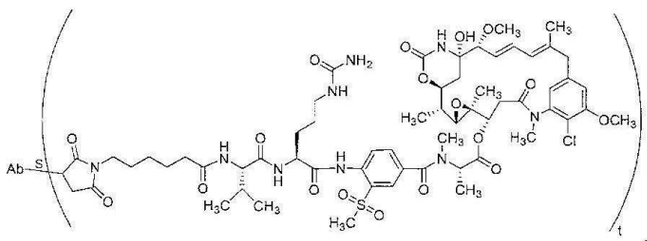
`



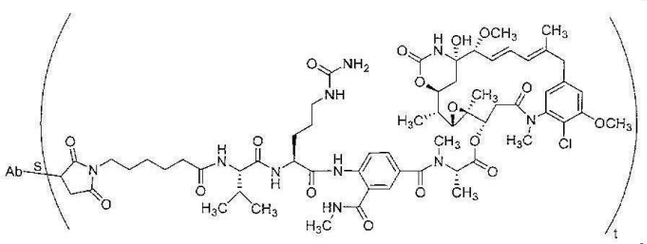
t ,



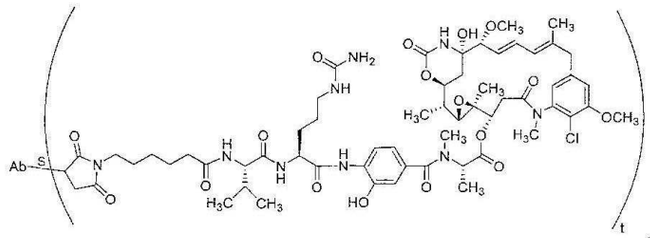
t ,

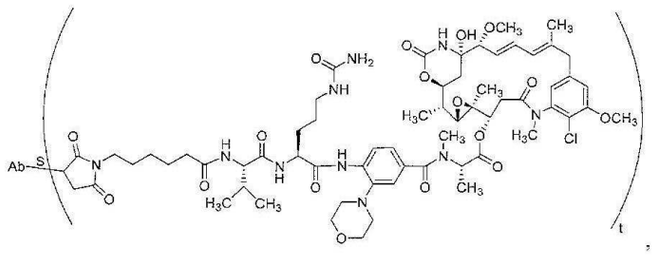


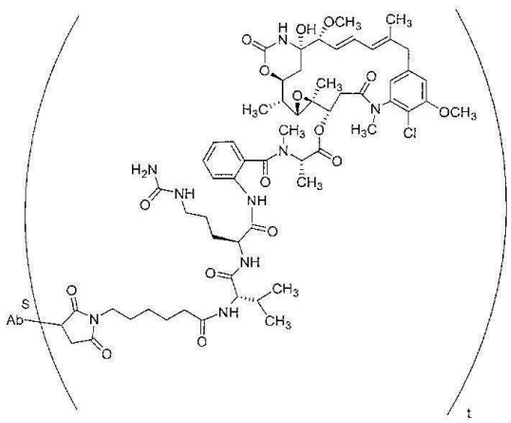
t ,

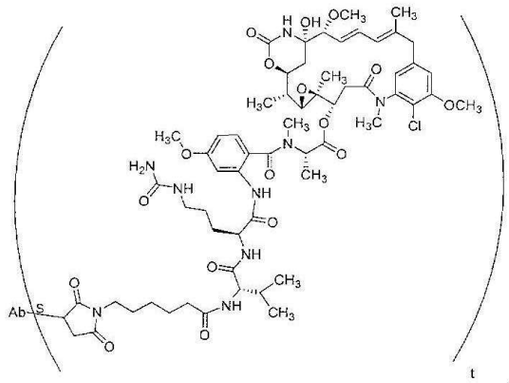


t ,

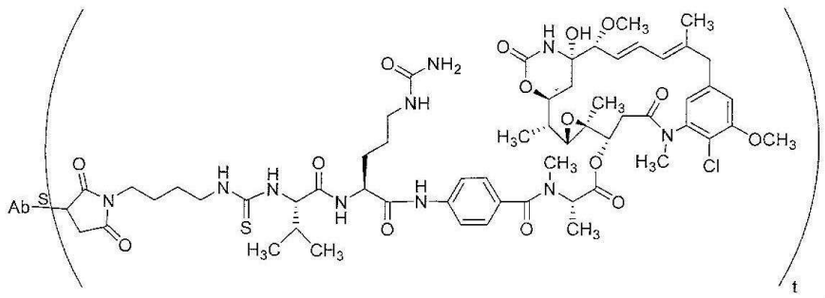




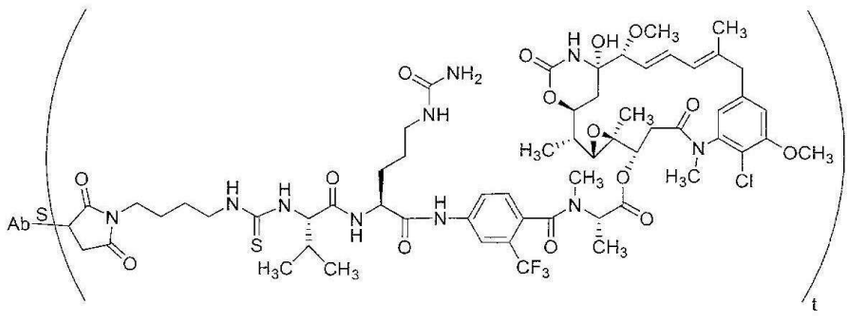




t ,

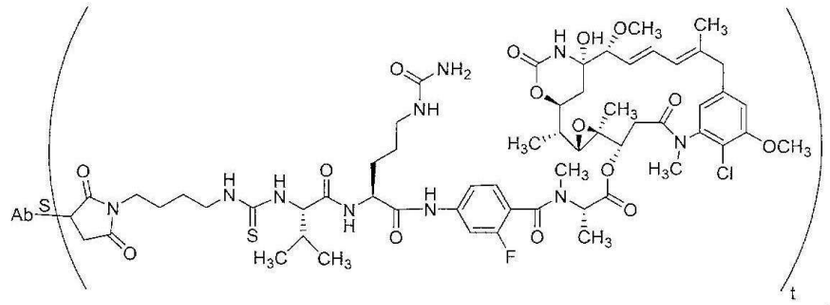


t ,

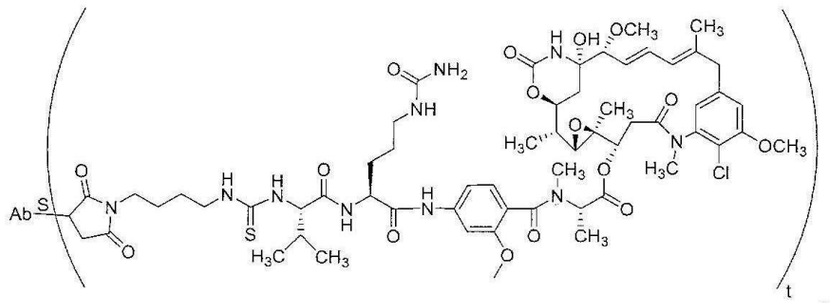


t

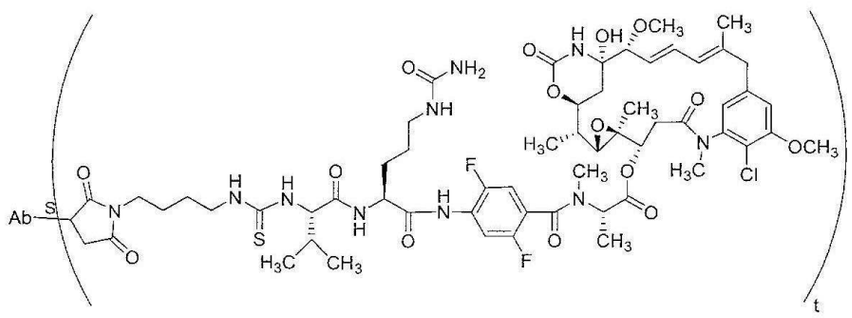
,



,

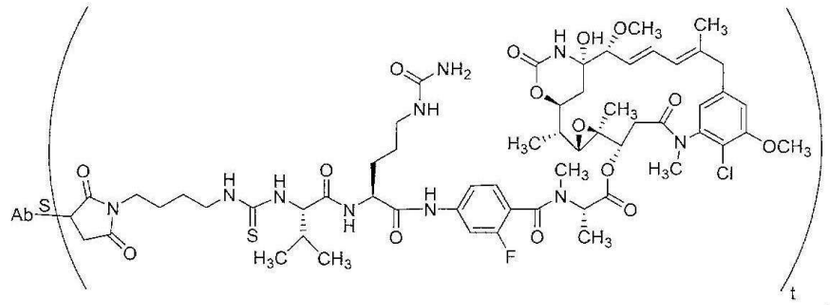


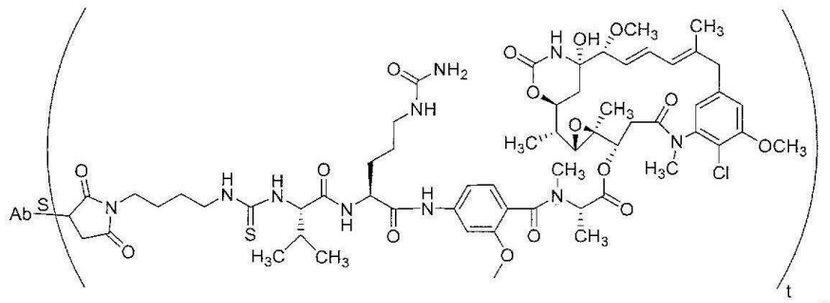
,

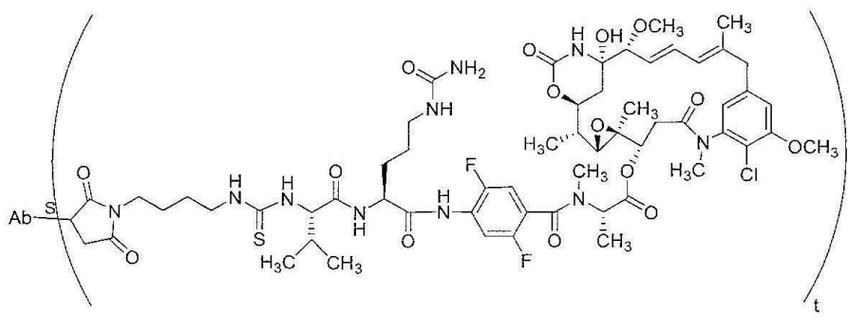


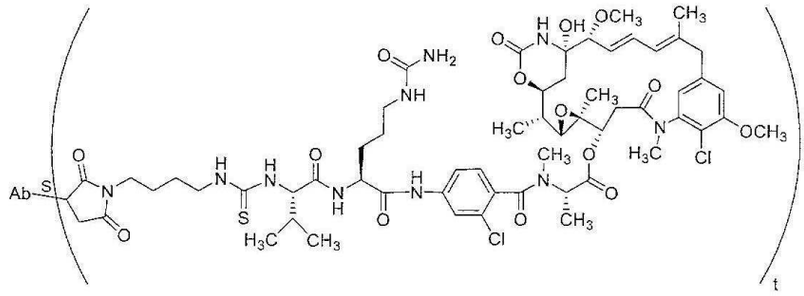
,

`

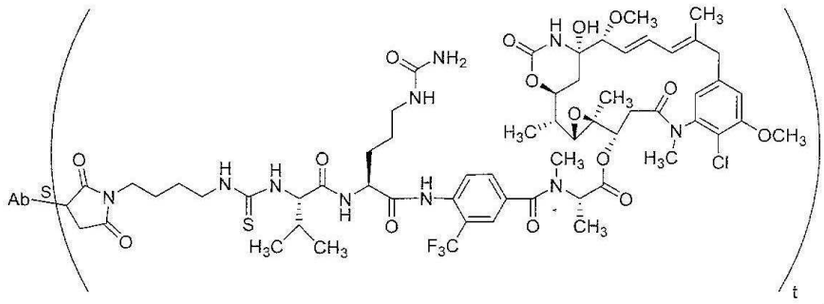




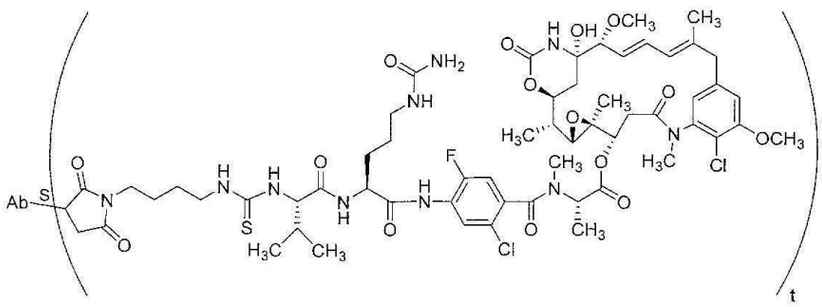




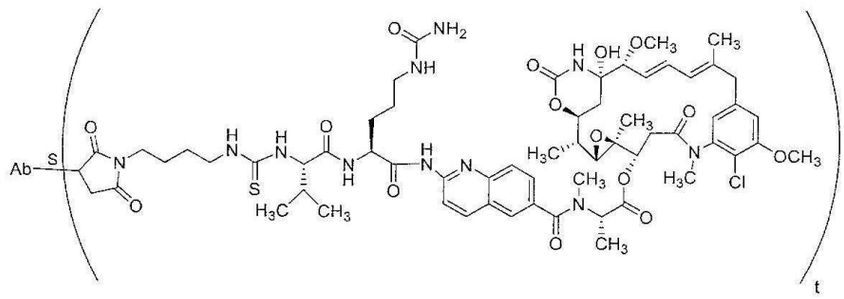
t ,



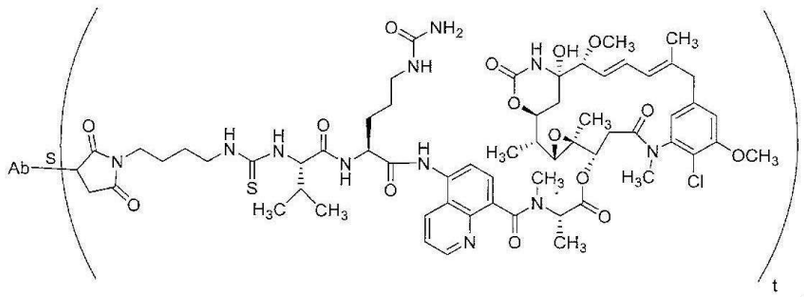
t ,



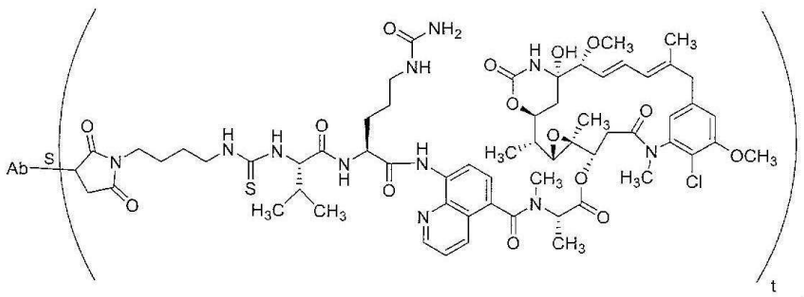
t ,



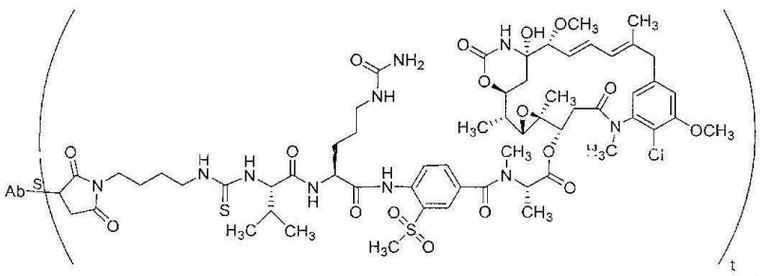
,



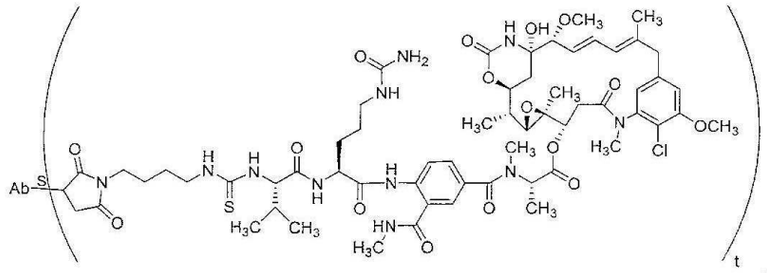
,



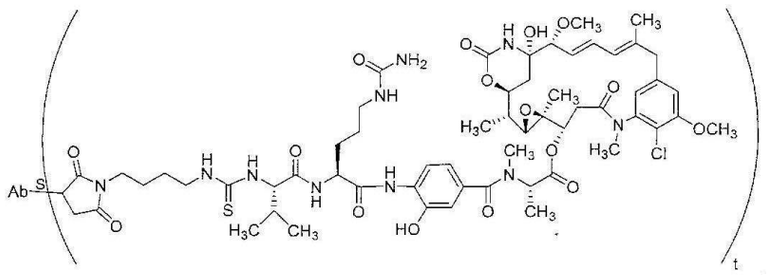
,



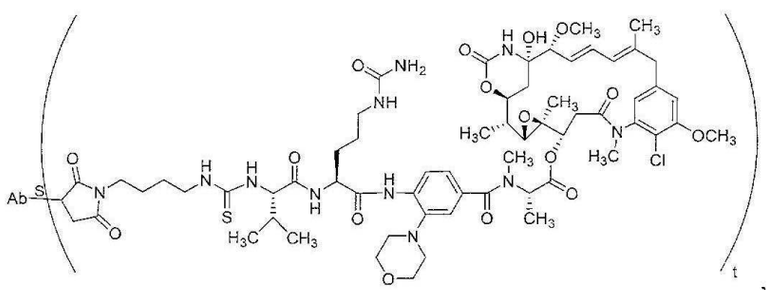
,



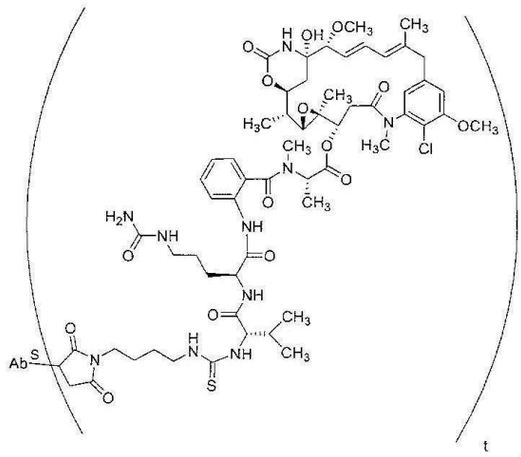
t ,



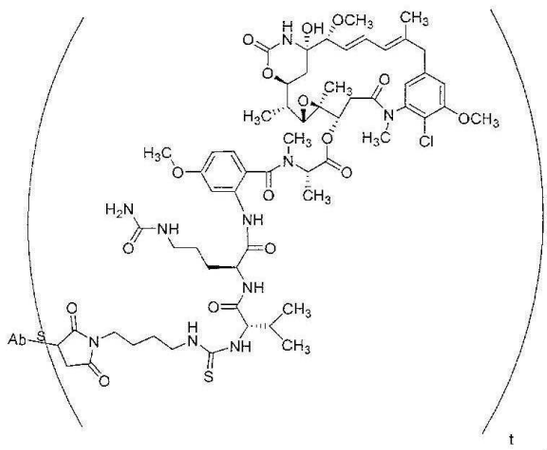
t ,



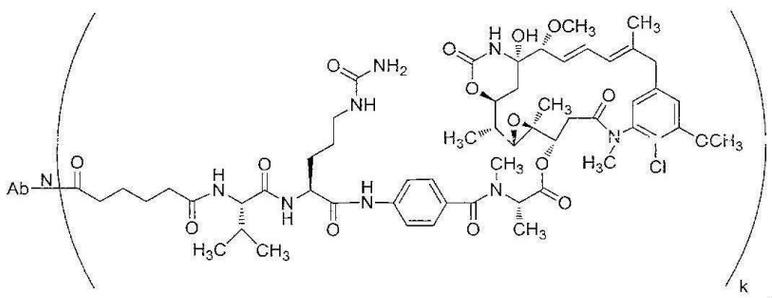
t ,



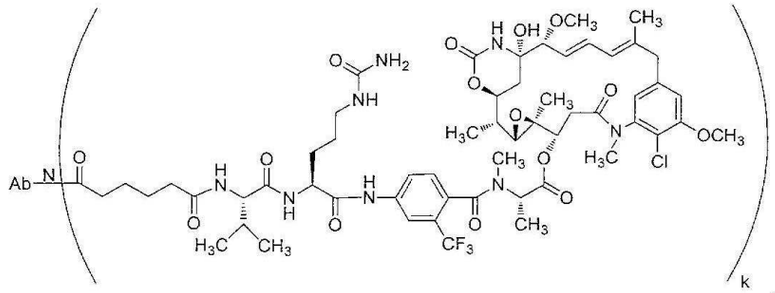
t ,



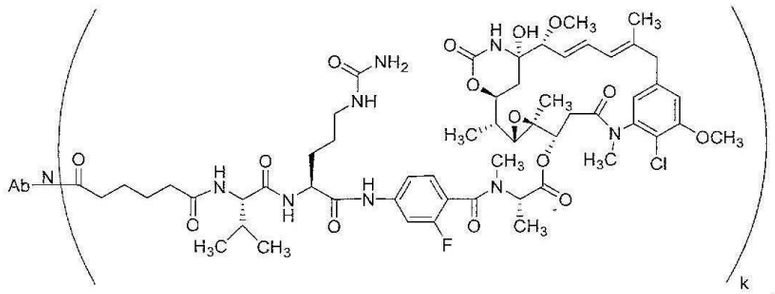
t ,



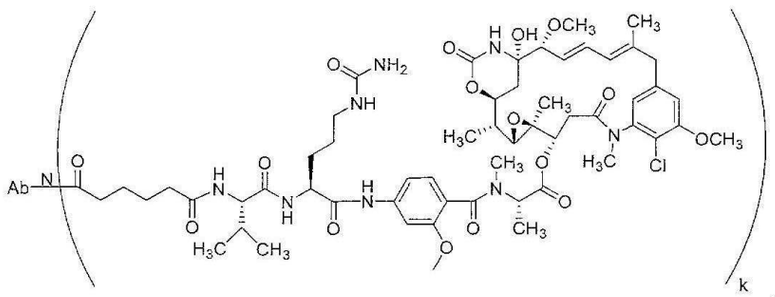
k ,



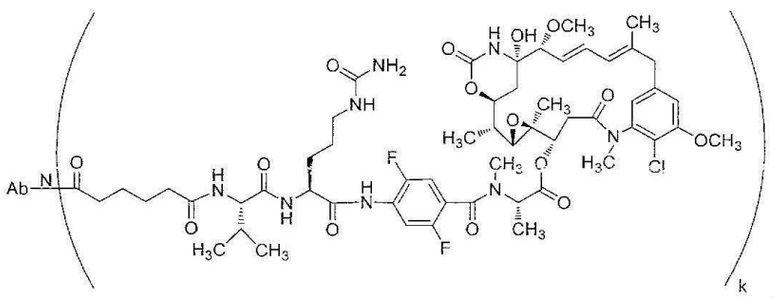
k ,



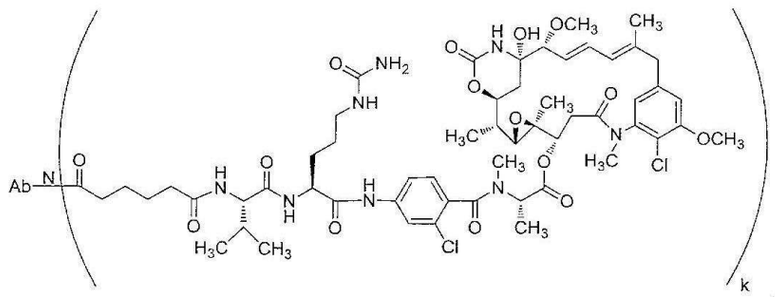
k ,

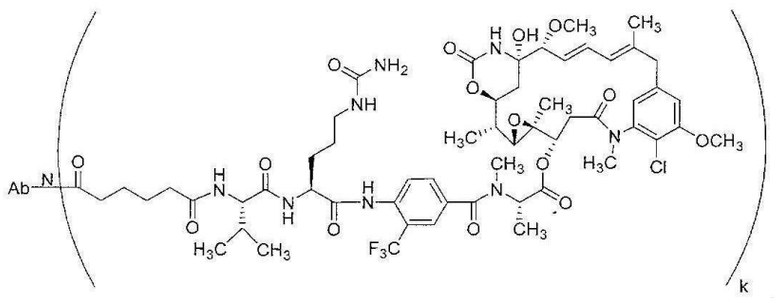


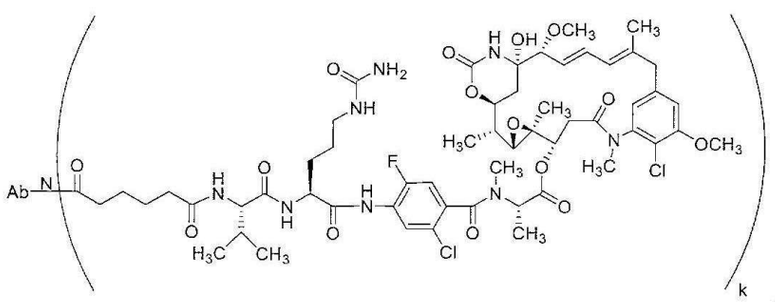
k ,

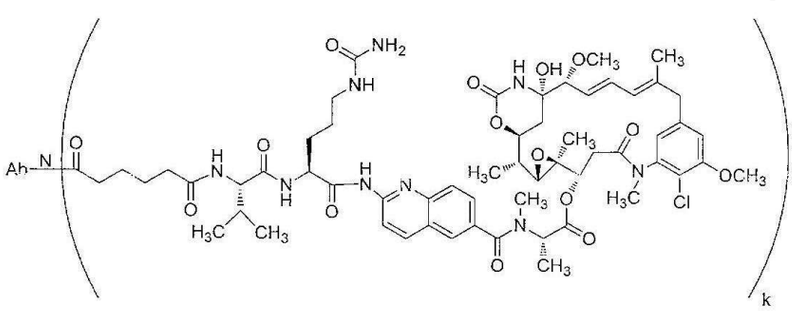


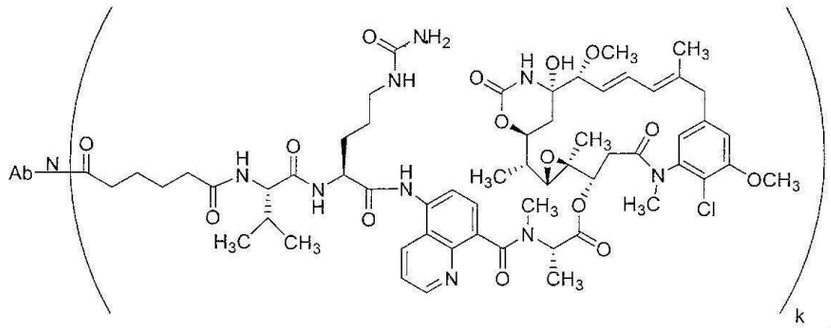
k ,



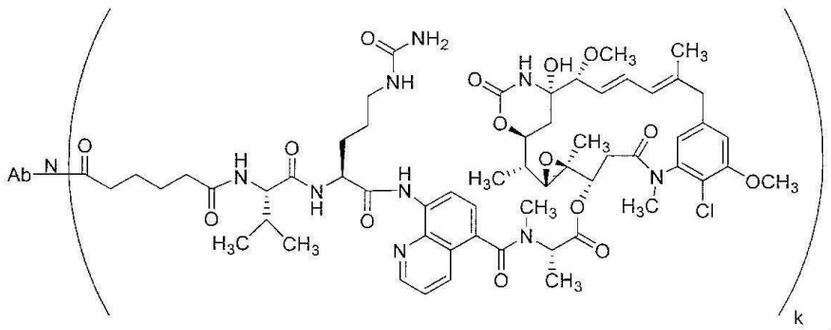




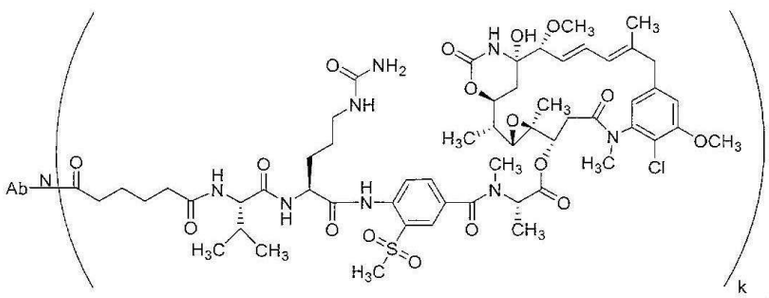




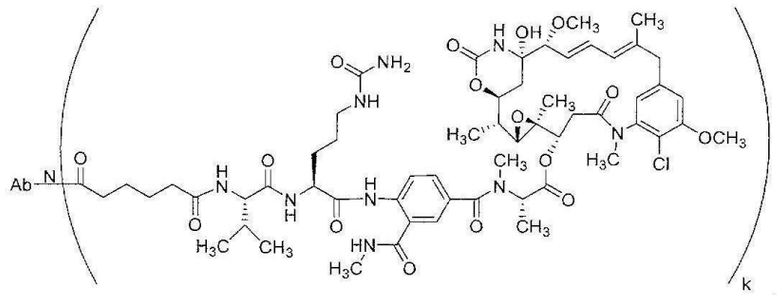
k ,



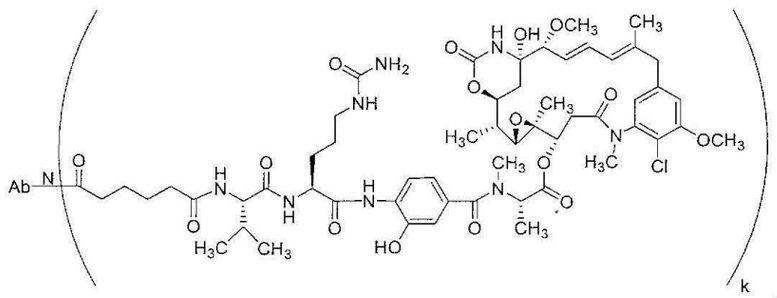
k ,



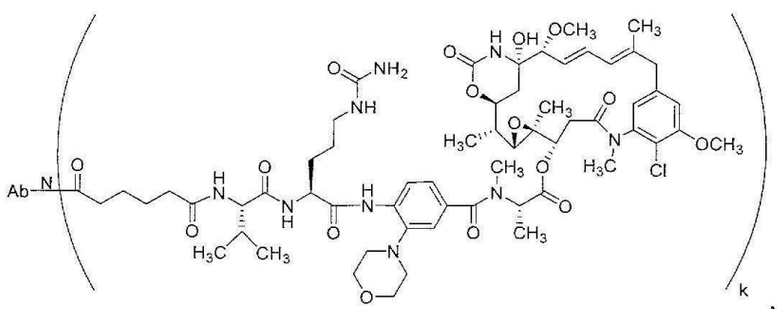
k ,



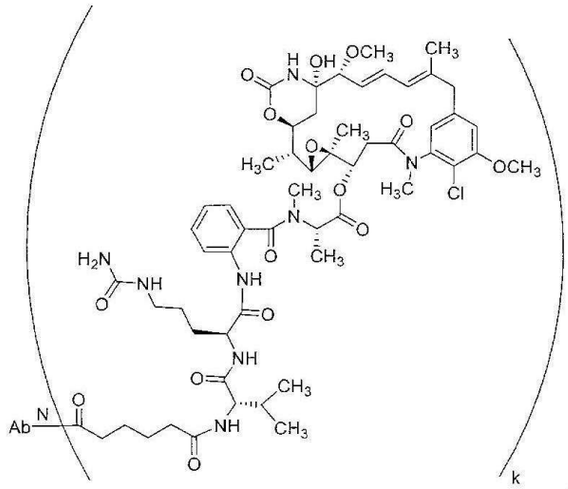
k ,

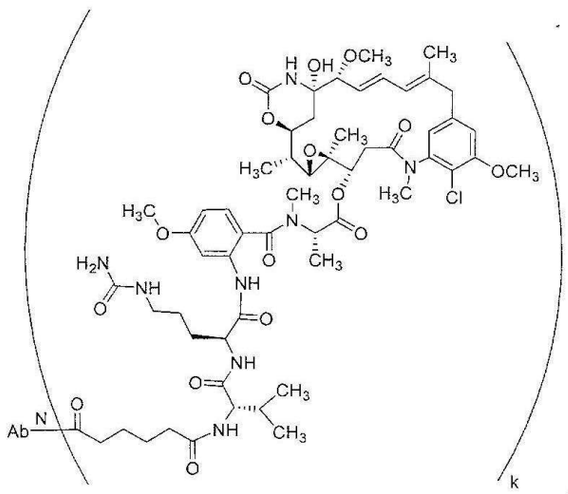


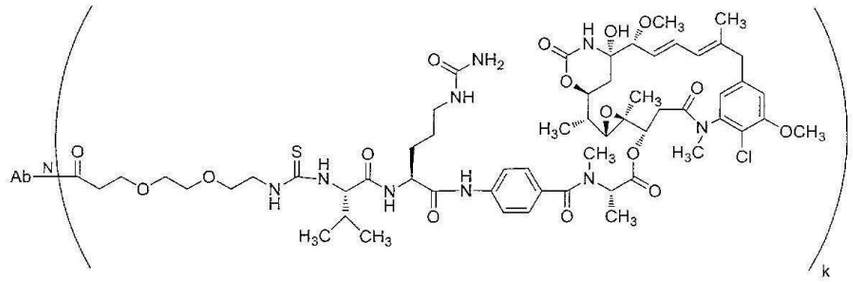
k ,



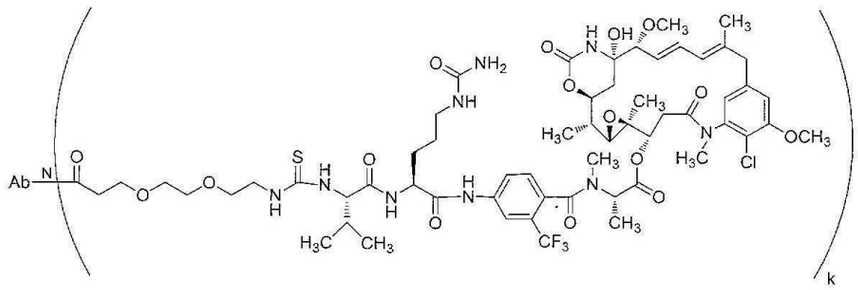
k ,



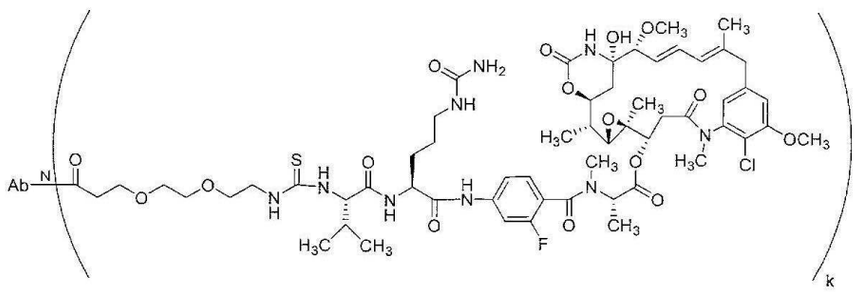




,

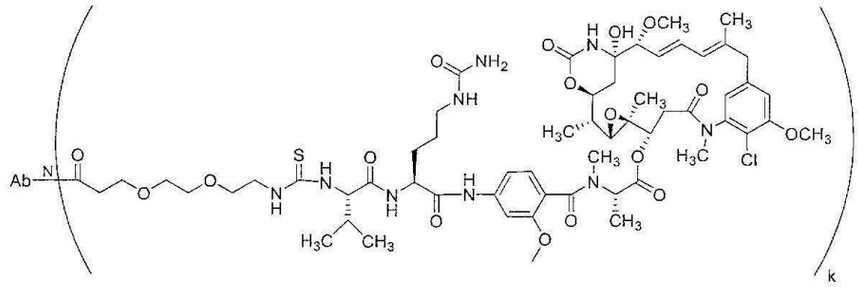


,

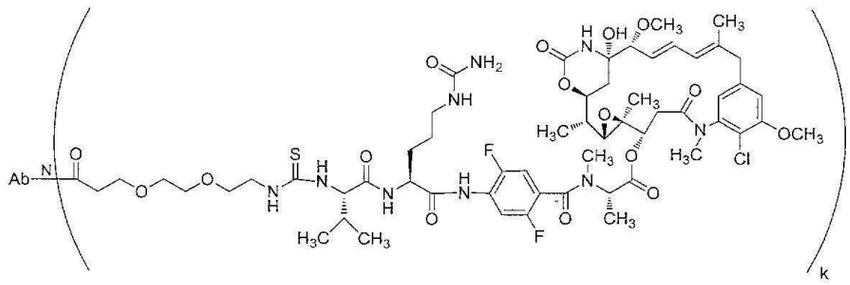


,

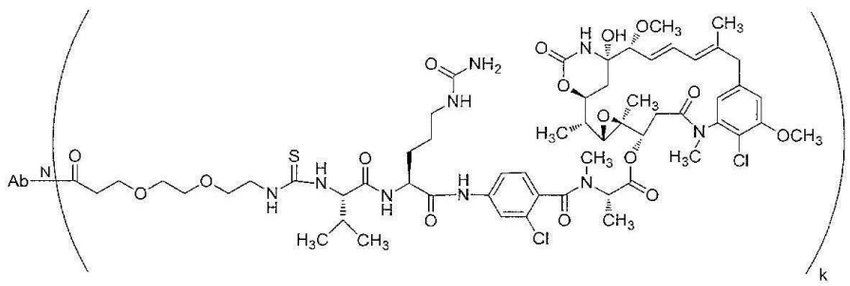
`



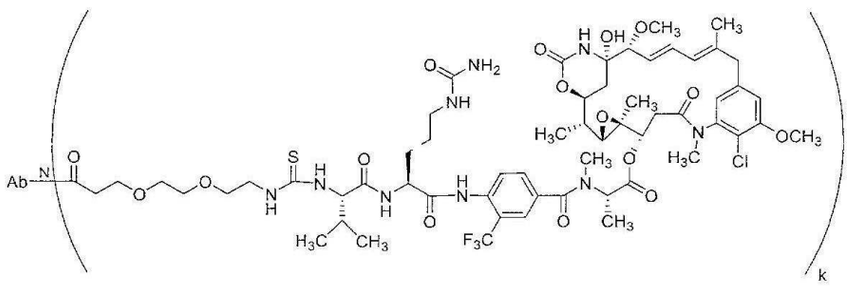
,



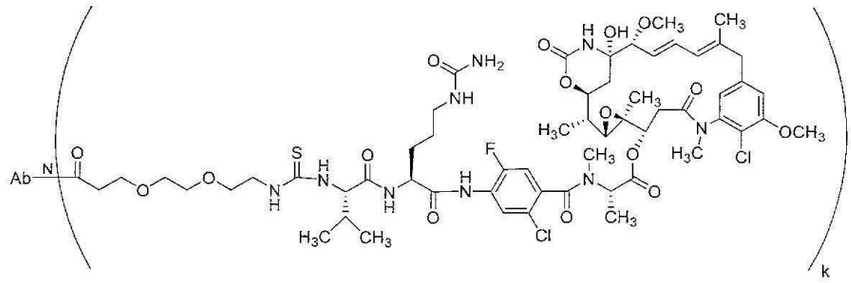
,



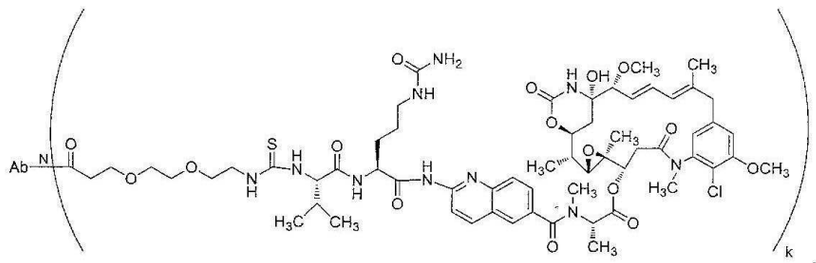
,



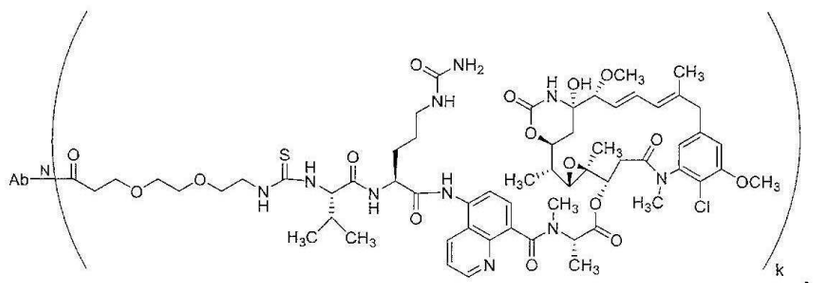
,



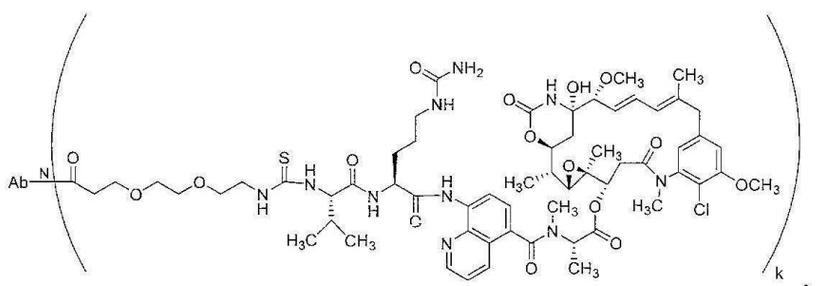
,



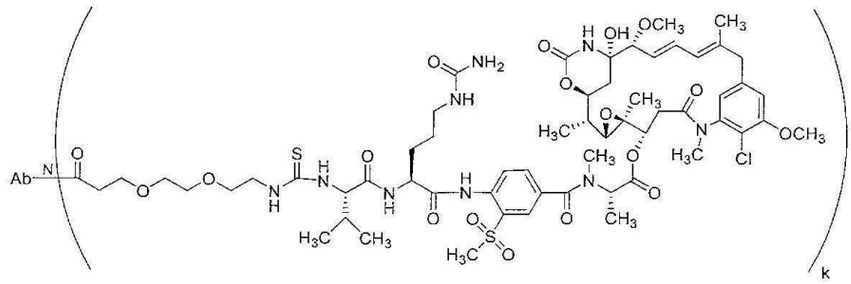
,



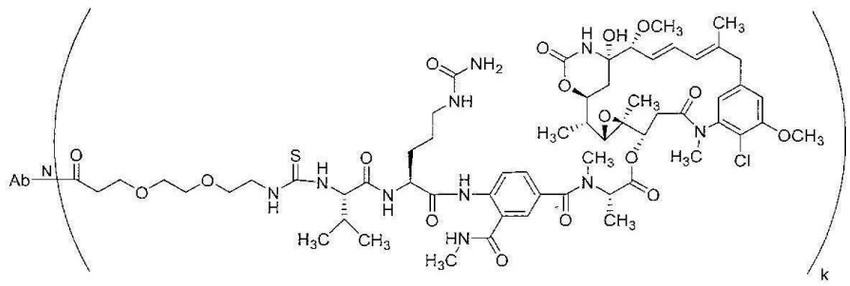
,



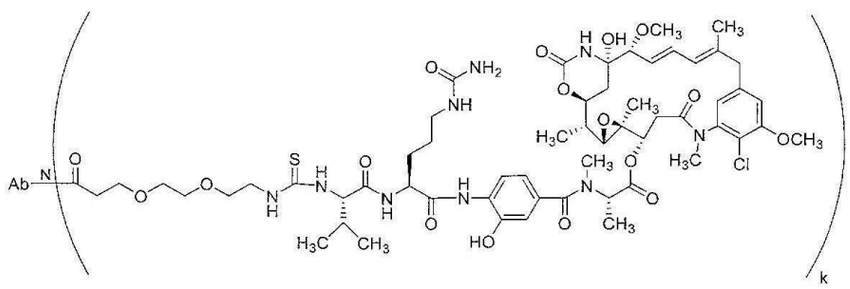
,



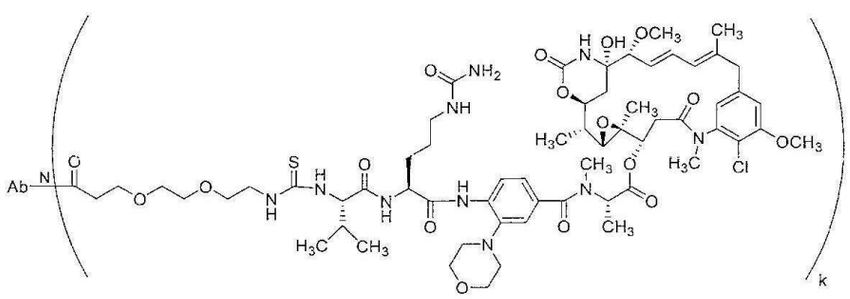
,



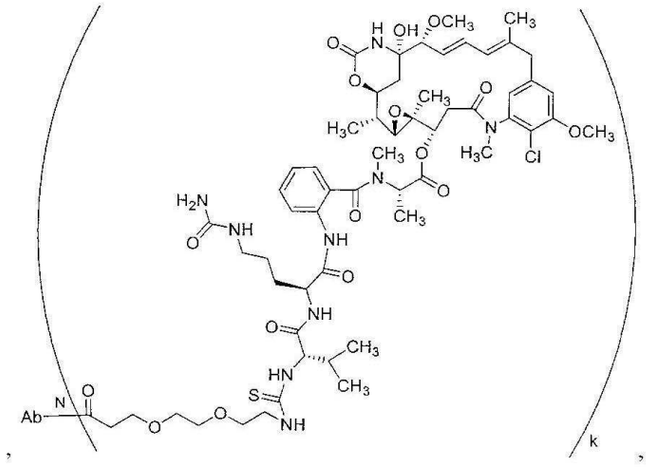
,

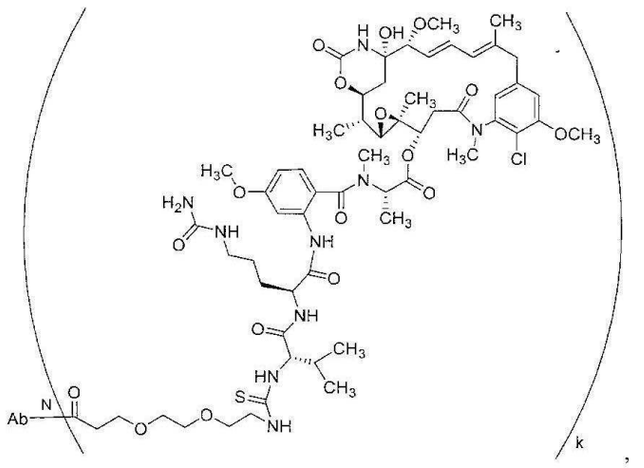


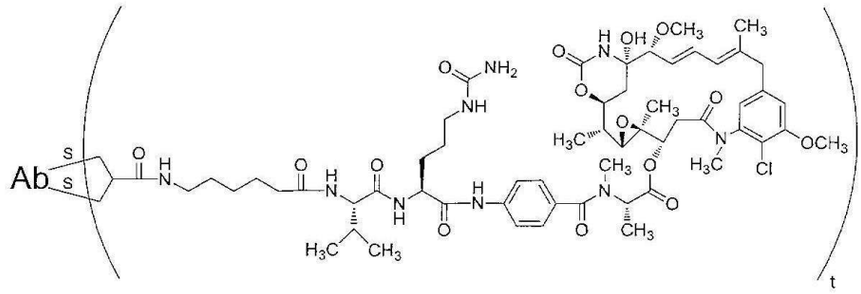
,



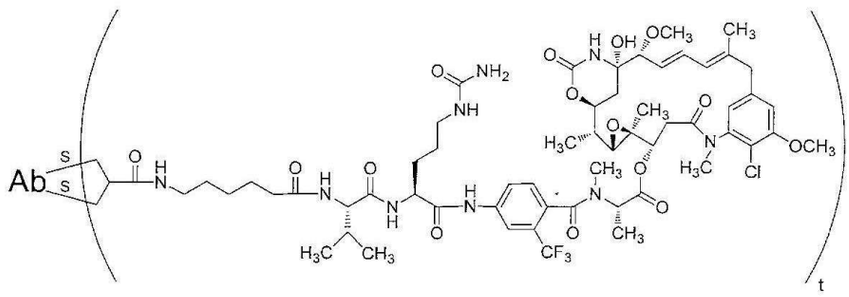
,



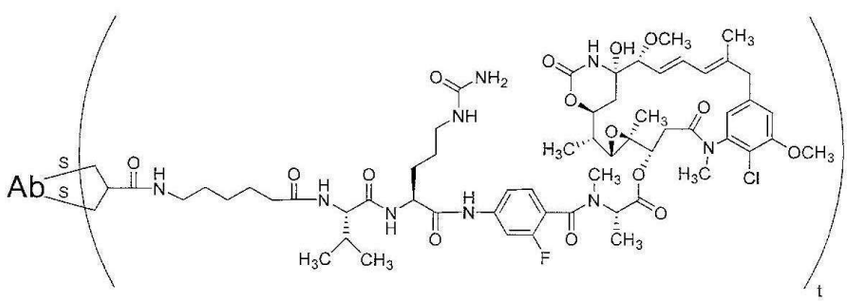




,

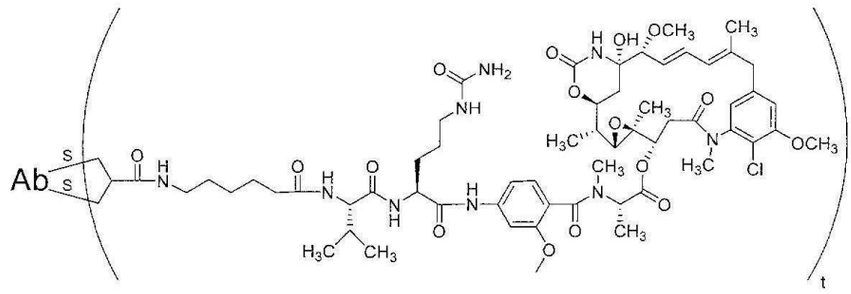


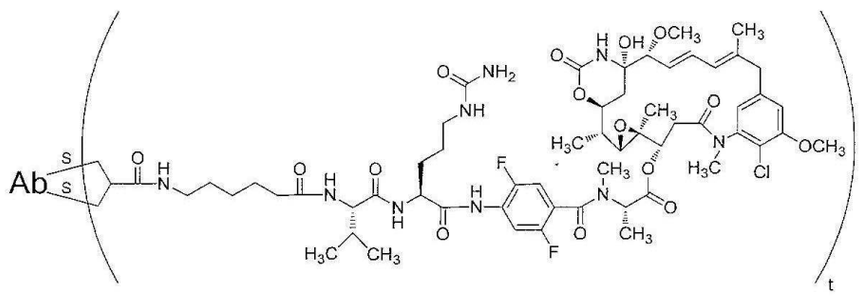
,



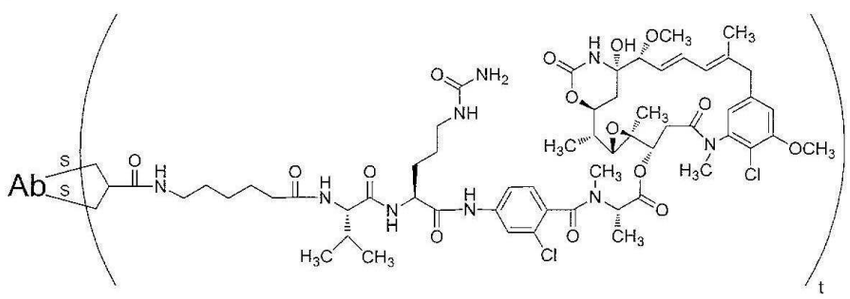
,

`

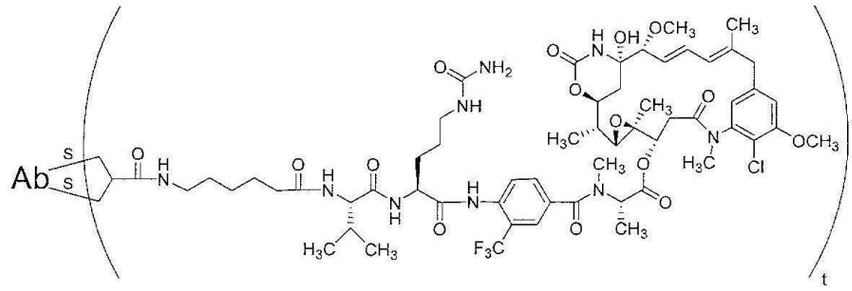




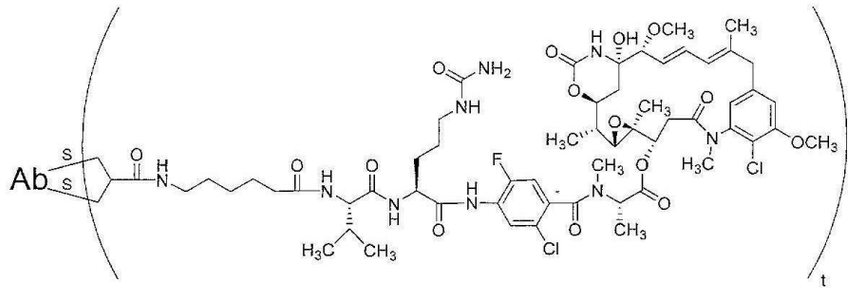
,



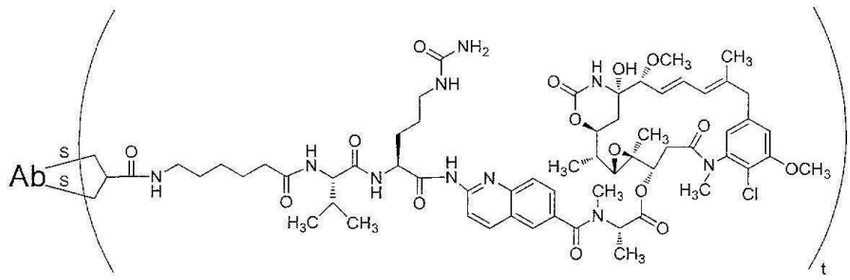
,



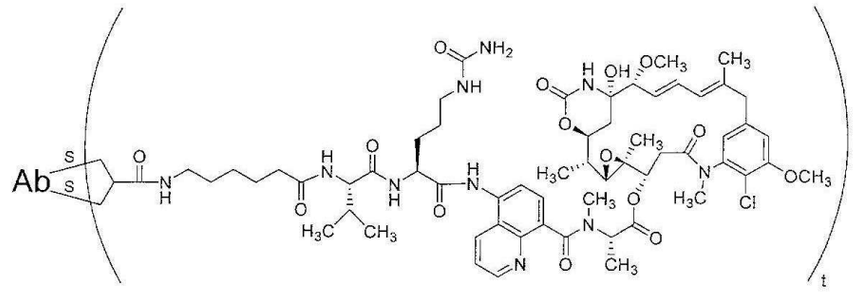
,



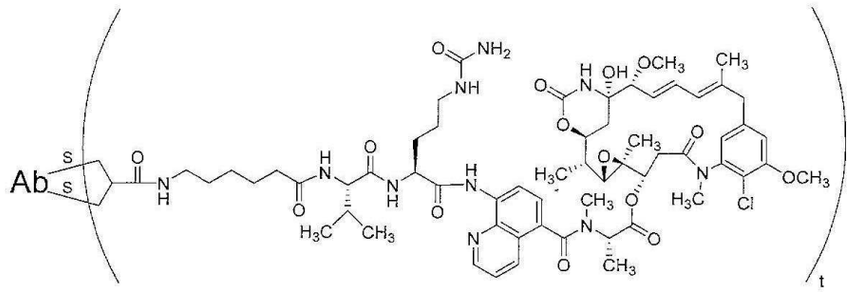
,



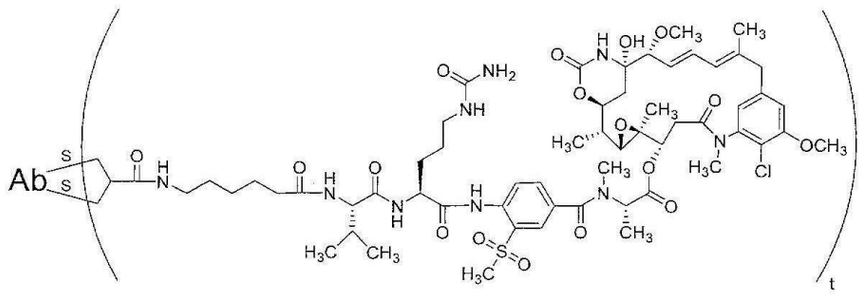
,



,

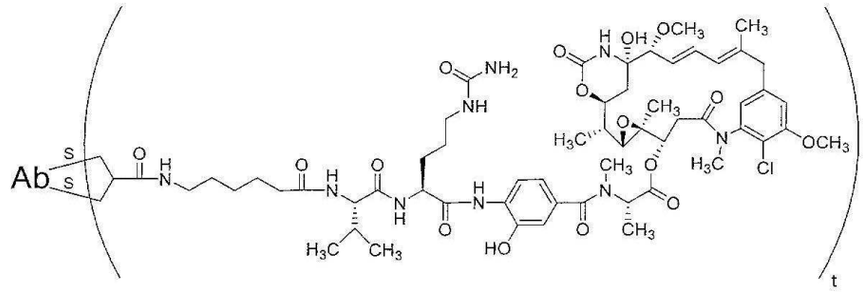


,

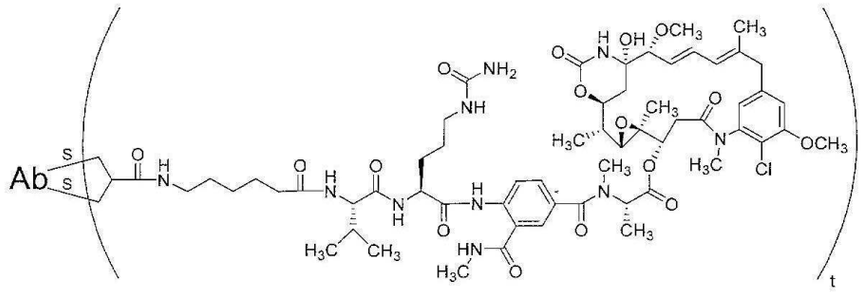


,

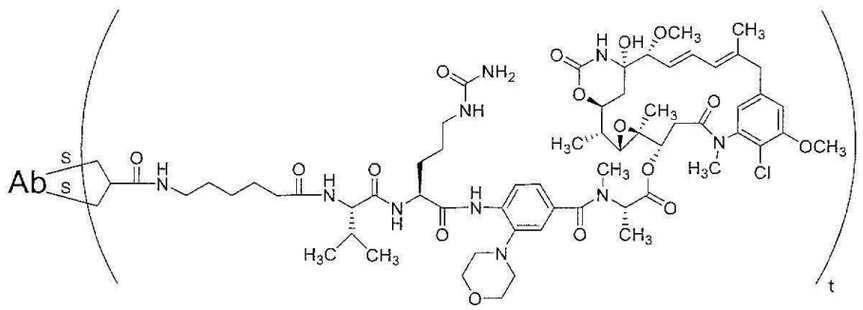
`



,

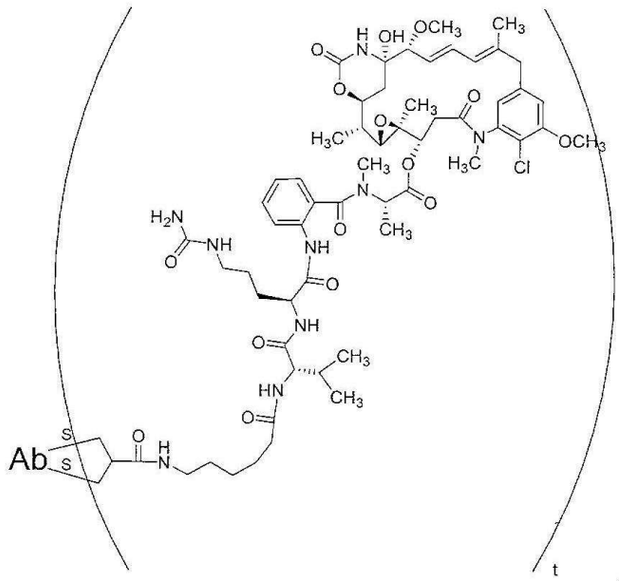


,

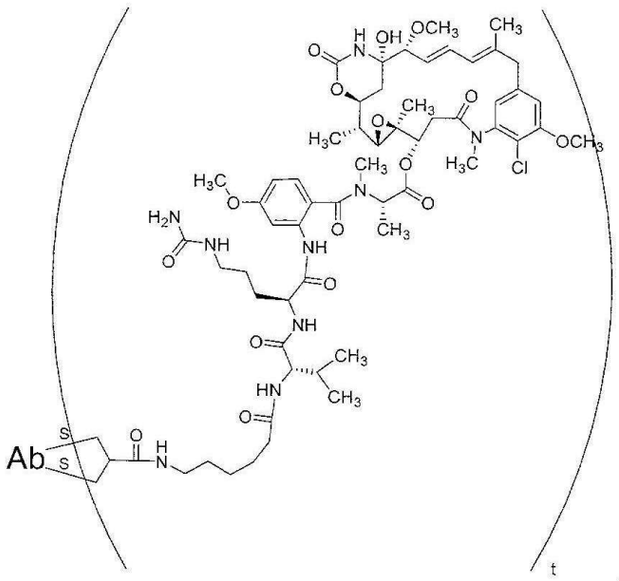


,

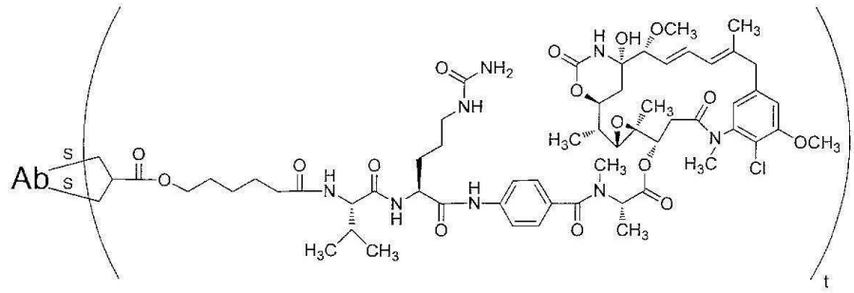
`


H
OH
OCH3
CH3
O
N
O
O
CH3
O
H3C
O
N
OCH3
CH3
H3C
Cl
N
O
O
CH3
H2N
NH
O
NH
O
NH
O
CH3
HN
CH3
O
S
O
H
Ab
S
N

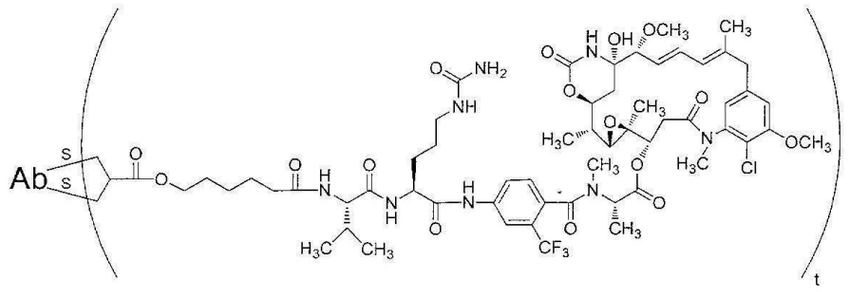
t ,


H
OH
OCH3
CH3
O
N
O
O
CH3
O
H3C
O
N
OCH3
CH3
H3C
Cl
H3C
O
N
O
O
CH3
H2N
NH
O
NH
O
NH
O
CH3
HN
CH3
O
S
O
H
Ab
S
N

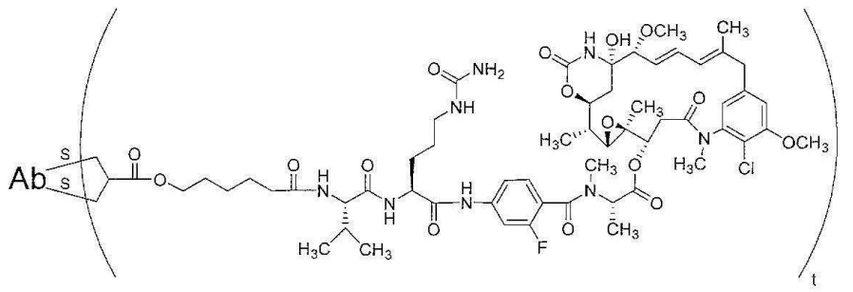
t ,


Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
N
H
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
H3C
O
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
CH3
O
O
H3C
CH3
t

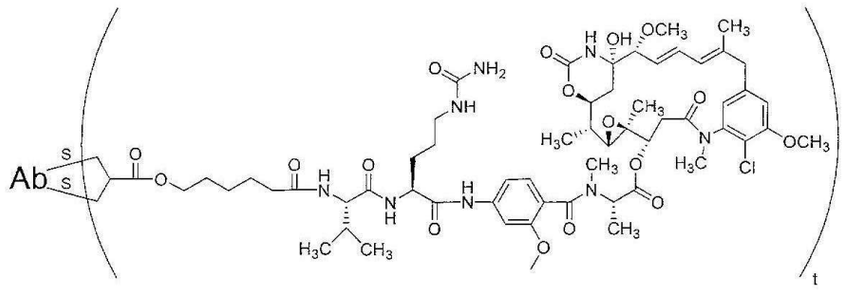
,

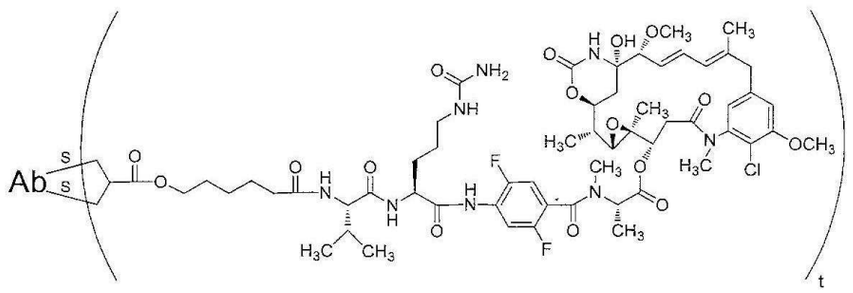

Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
N
H
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
H3C
O
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
CH3
O
O
H3C
CH3
CF3
t

,

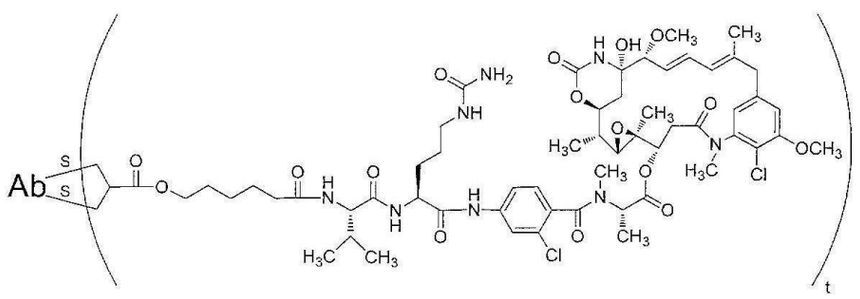

Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
N
H
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
H3C
O
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
CH3
O
O
H3C
CH3
F
t

,



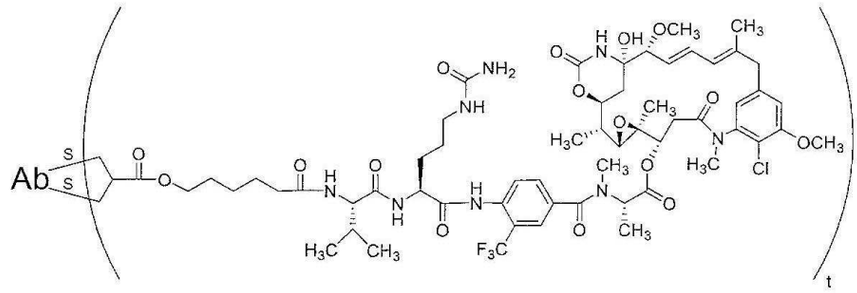


,

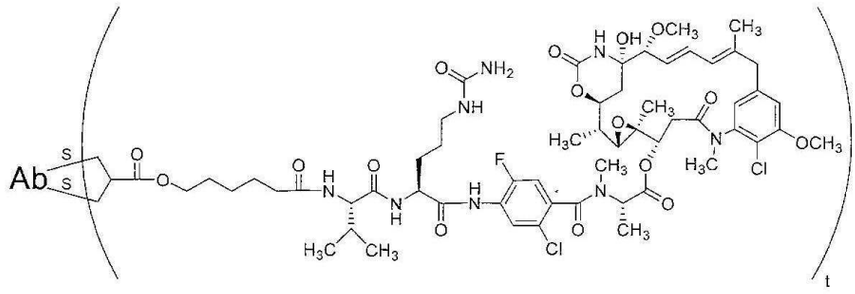


,

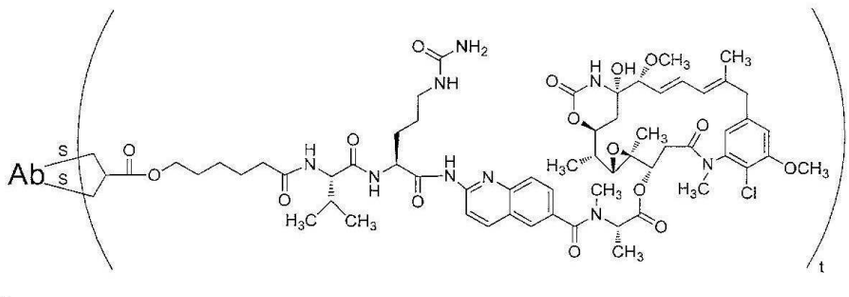
,


Ab
S
S
O
O
NH2
NH
H
N
OH
OCH3
CH3
H3C
CH3
O
N
Cl
OCH3
F3C
t

,

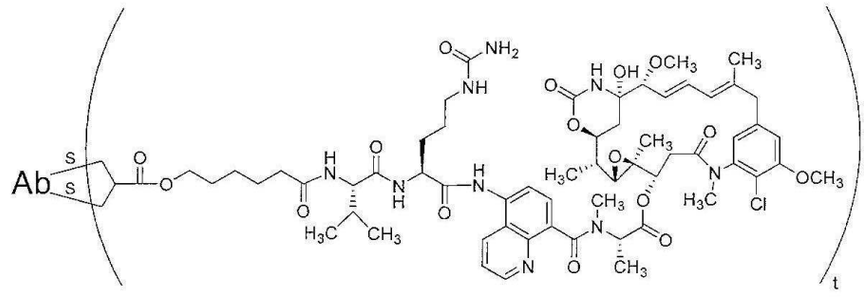

Ab
S
S
O
O
NH2
NH
H
N
OH
OCH3
CH3
H3C
CH3
O
N
Cl
OCH3
F
Cl
t

,

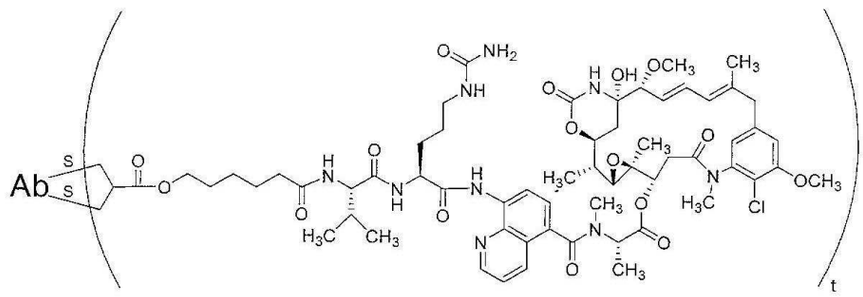

Ab
S
S
O
O
NH2
NH
H
N
OH
OCH3
CH3
H3C
CH3
O
N
Cl
OCH3
t

,

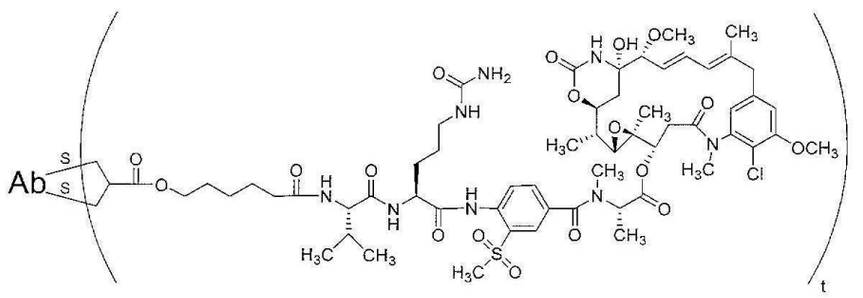
.


Ab
S
S
O
O
NH2
NH
H
N
OH
OCH3
CH3
O
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
H3C
CH3
O
N
O
CH3
t

,

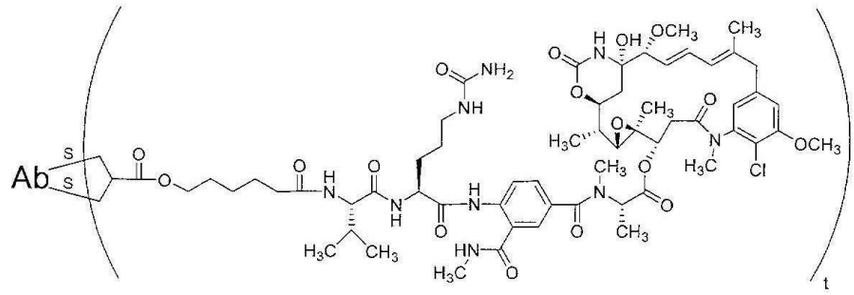

Ab
S
S
O
O
NH2
NH
H
N
OH
OCH3
CH3
O
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
H3C
CH3
O
N
O
CH3
t

,

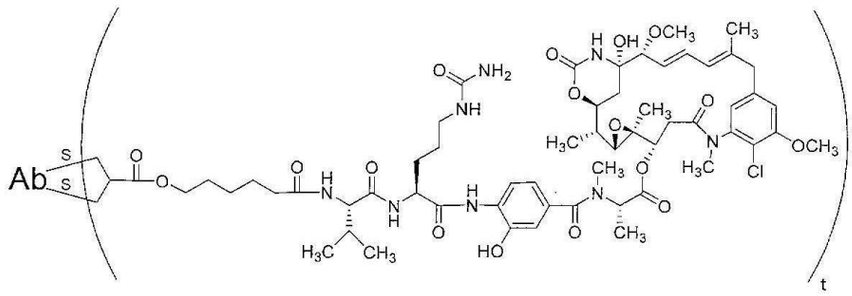

Ab
S
S
O
O
NH2
NH
H
N
OH
OCH3
CH3
O
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
H3C
CH3
O
S
O
O
t

,

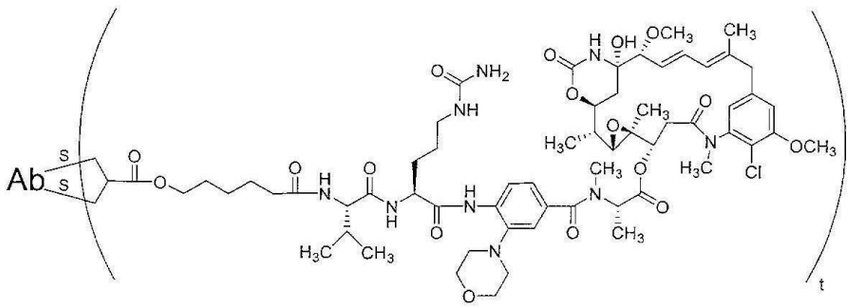
.


Ab
S
S
t

,

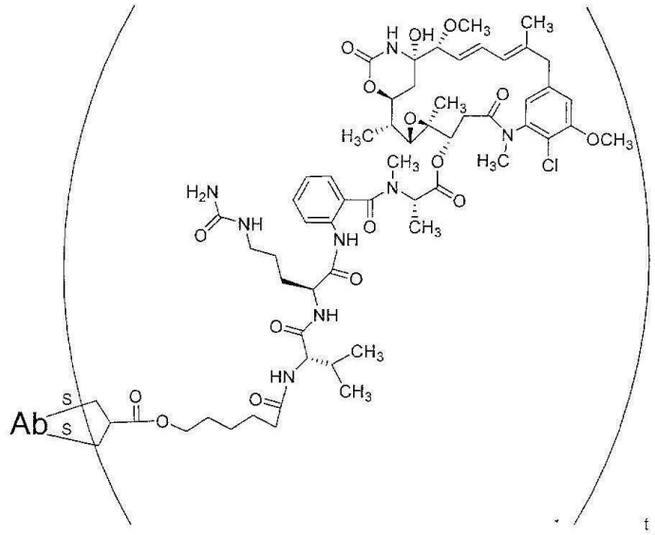

Ab
S
S
t

,

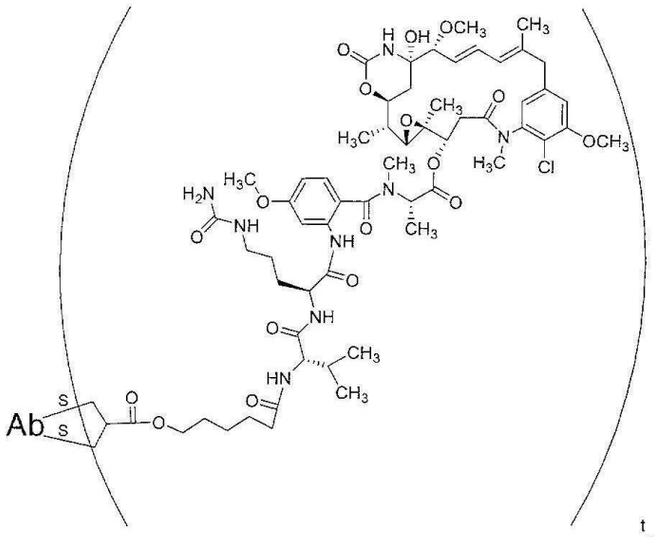

Ab
S
S
t

,

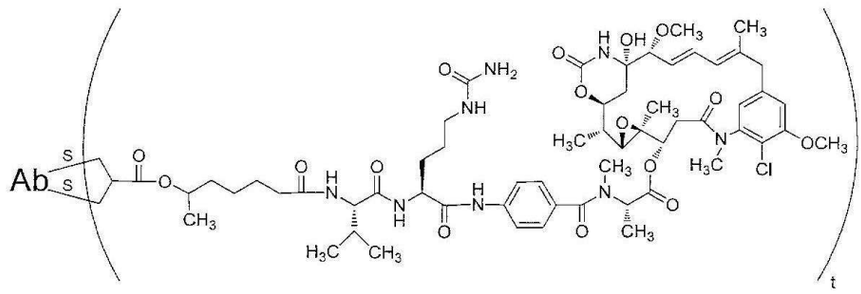
`


Ab
S
S
O
O
NH
NH
HN
OH
OCH3
CH3
H3C
N
Cl

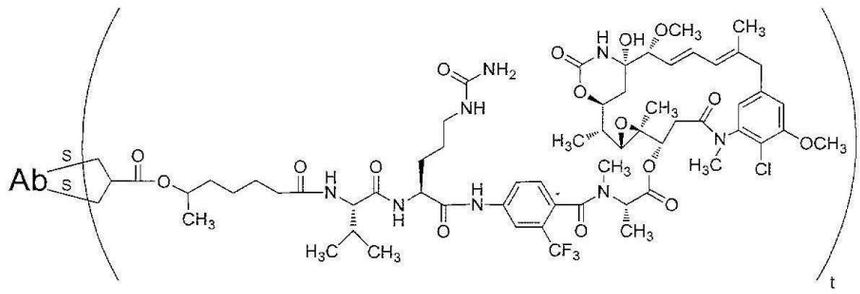
t,


Ab
S
S
O
O
NH
NH
HN
OH
OCH3
CH3
H3C
N
Cl

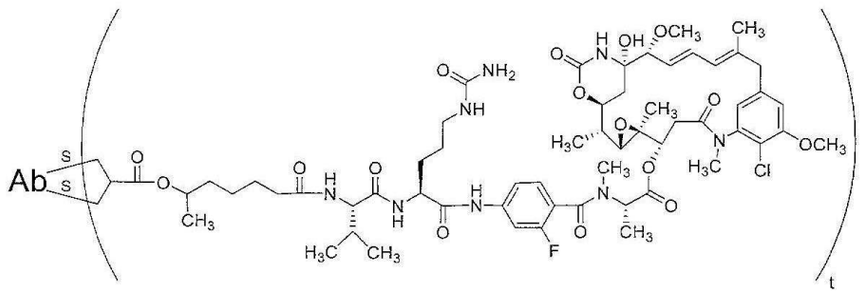
t,



,

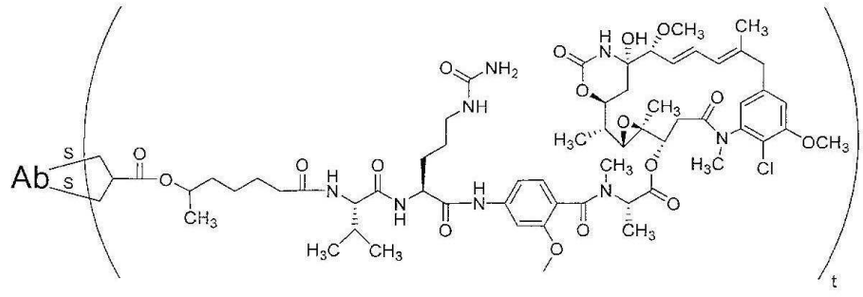


,

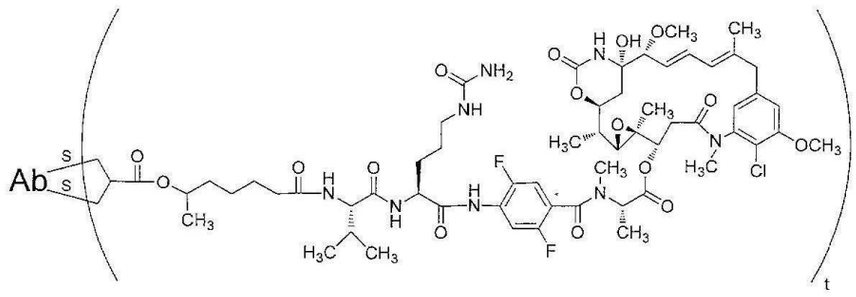


,

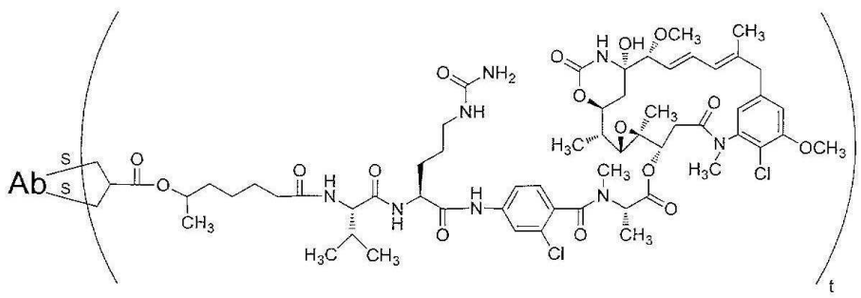
.



,

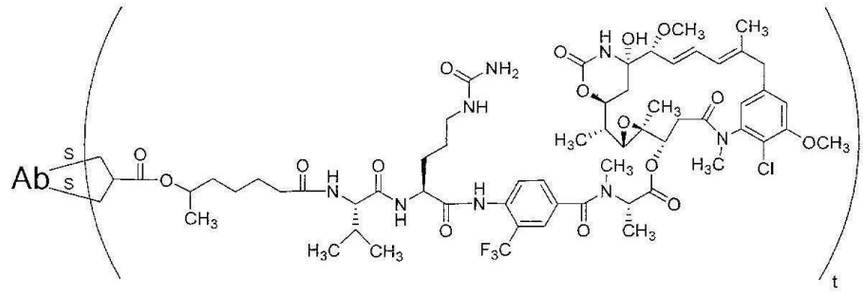


,

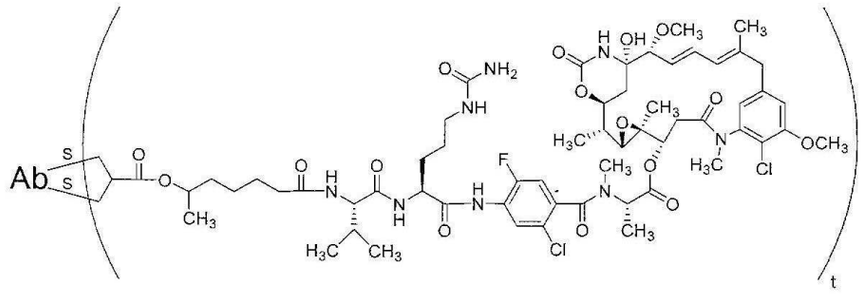


,

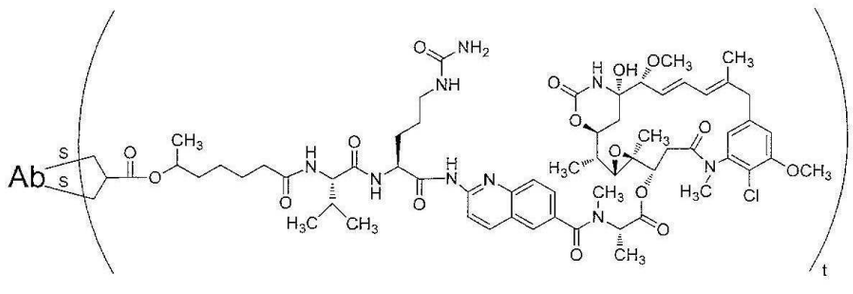
`



,

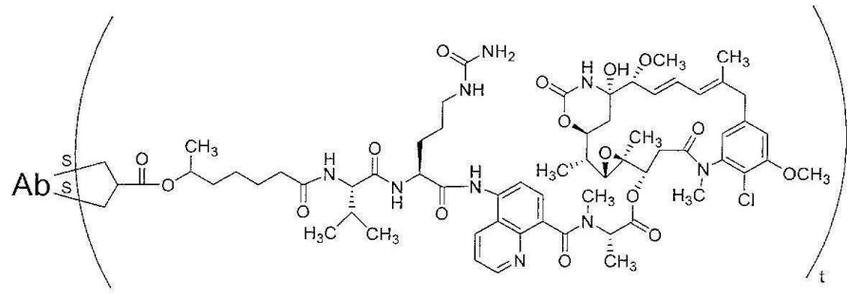


,

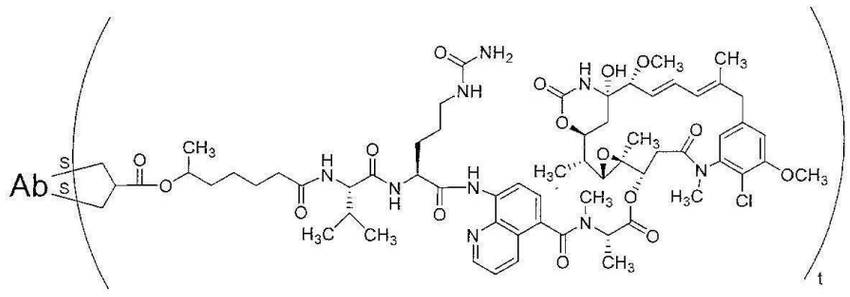


,

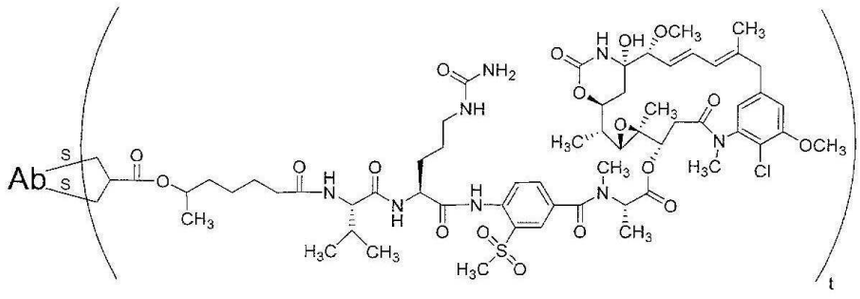
`



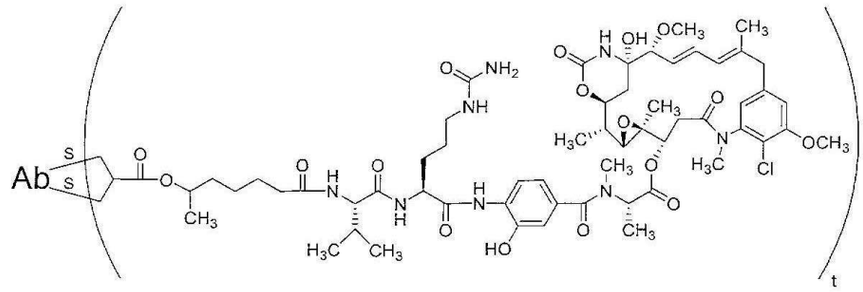
,



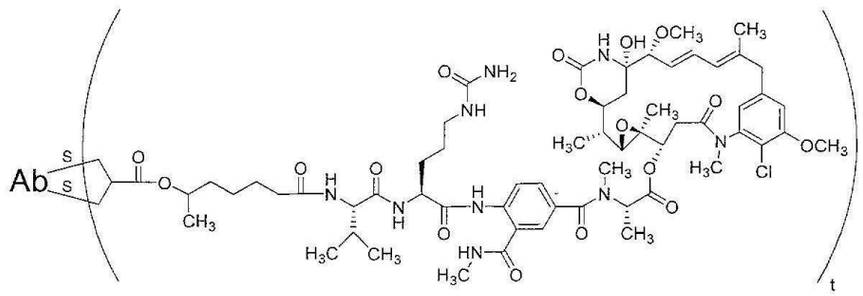
,



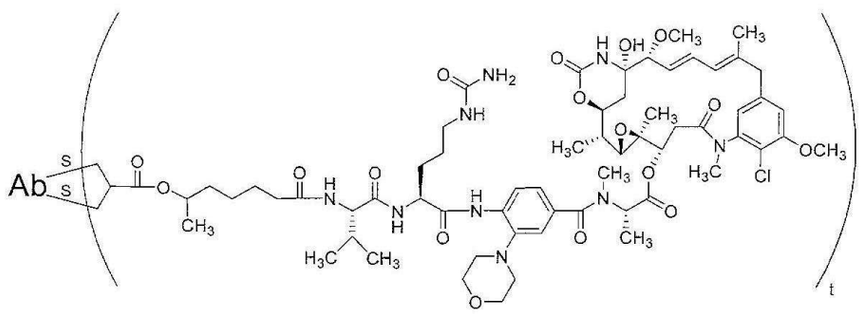
,


Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
CH3
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
H3C
O
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
CH3
O
O
HO
t

,

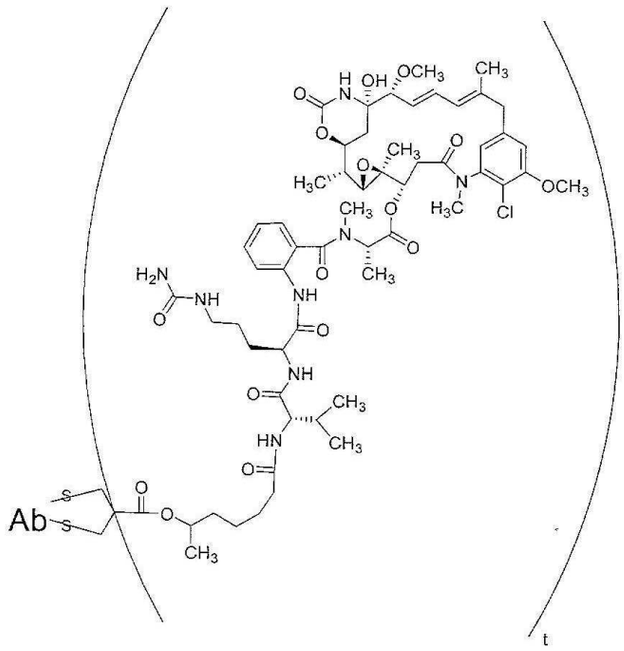

Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
CH3
H3C
CH3
HN
H3C
O
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
H3C
O
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
CH3
O
O
t

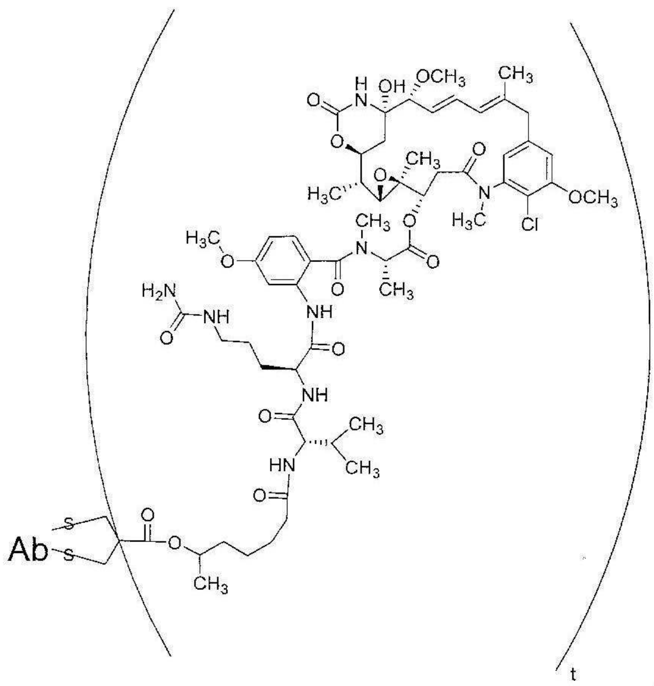
,


Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
CH3
H3C
CH3
N
O
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
H3C
O
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
CH3
O
O
t

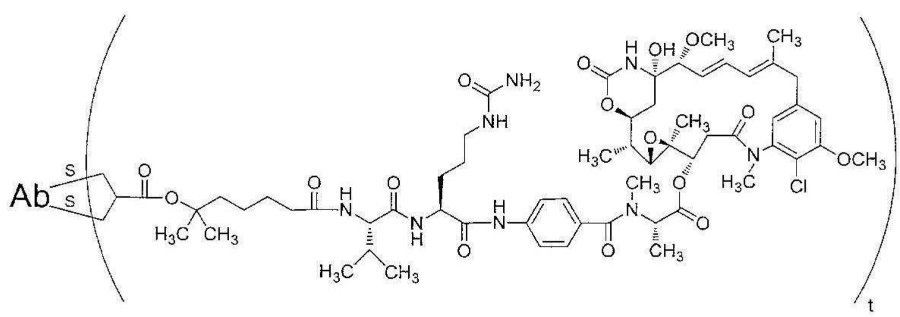
,

`

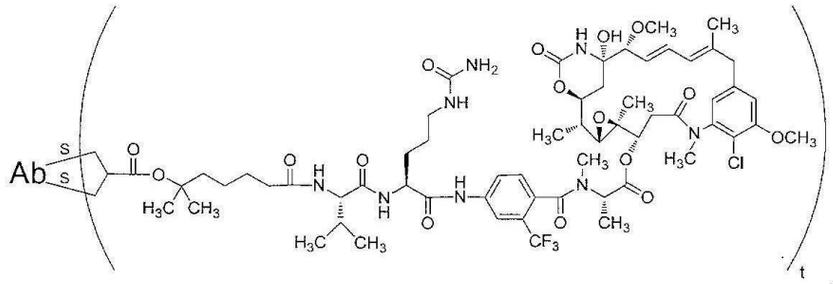

Ab
t

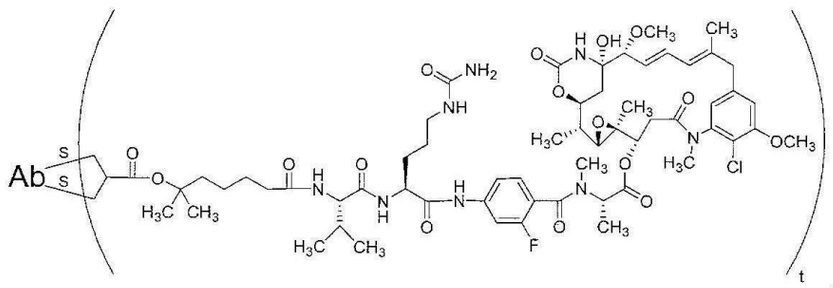


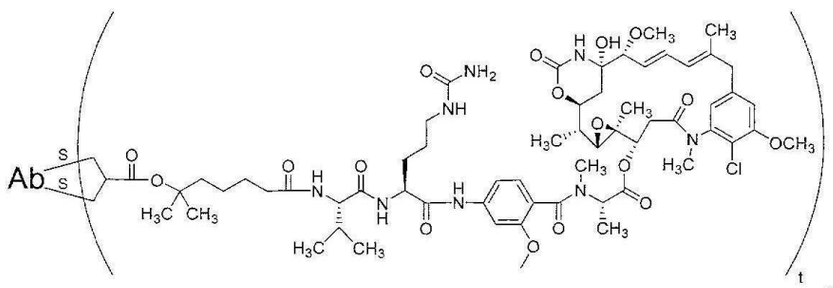
,

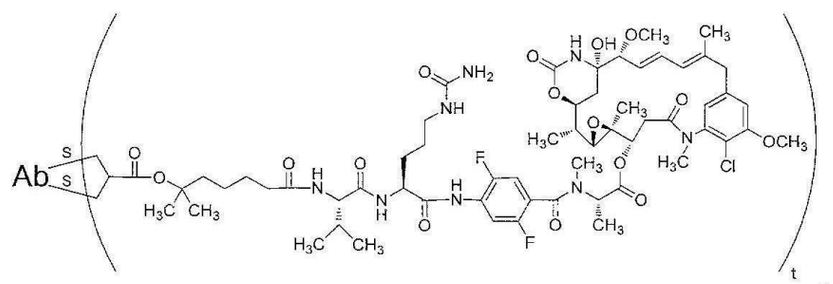


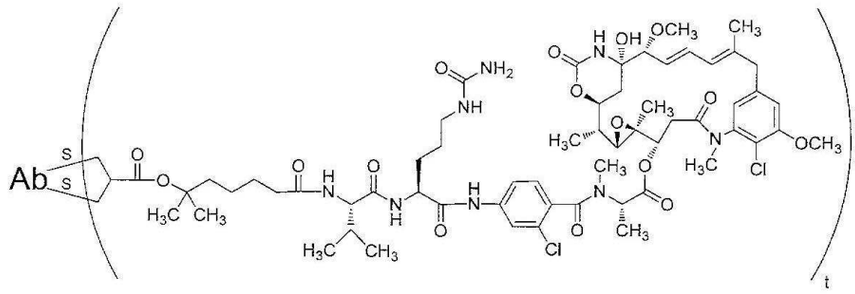
,


Ab
S
S
t

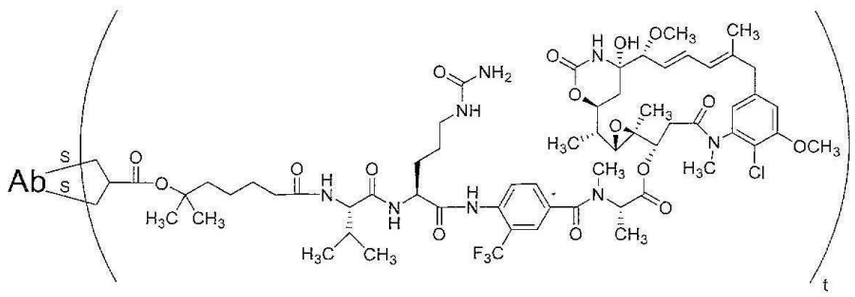

Ab
S
S
t


Ab
S
S
t

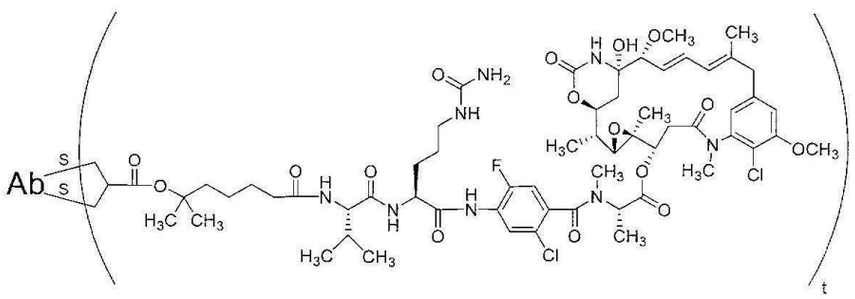

Ab
S
S
t


Ab
S
S
O
O
H
N
O
NH
NH2
H3C
CH3
H3C
CH3
OH
OCH3
CH3
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
O
O
CH3
Cl
t

,

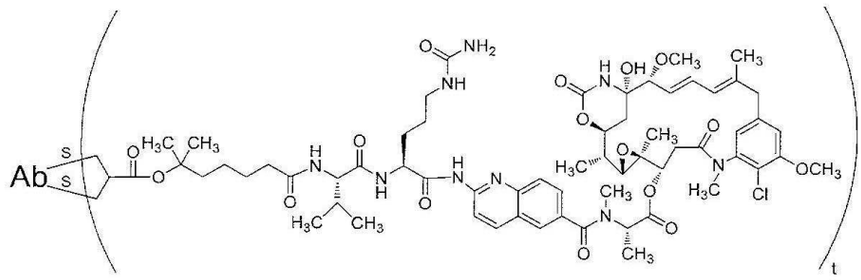

Ab
S
S
O
O
H
N
O
NH
NH2
H3C
CH3
H3C
CH3
OH
OCH3
CH3
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
O
O
F3C
t

,

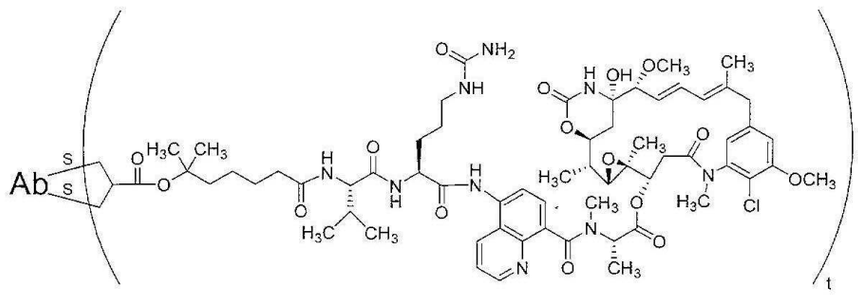

Ab
S
S
O
O
H
N
O
NH
NH2
H3C
CH3
H3C
CH3
OH
OCH3
CH3
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
O
O
F
Cl
t

,

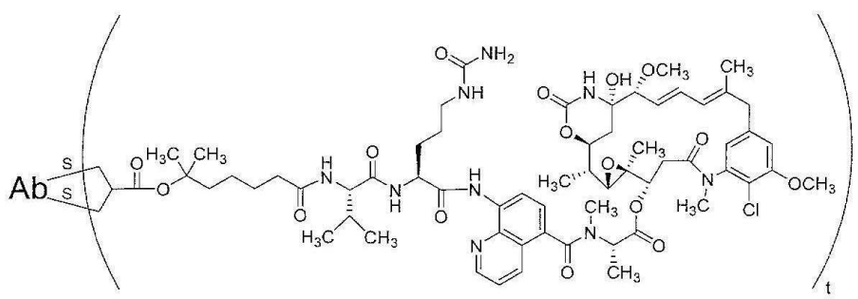
`



,

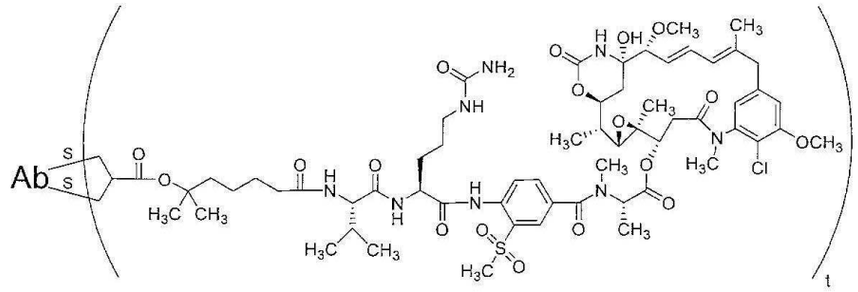


,

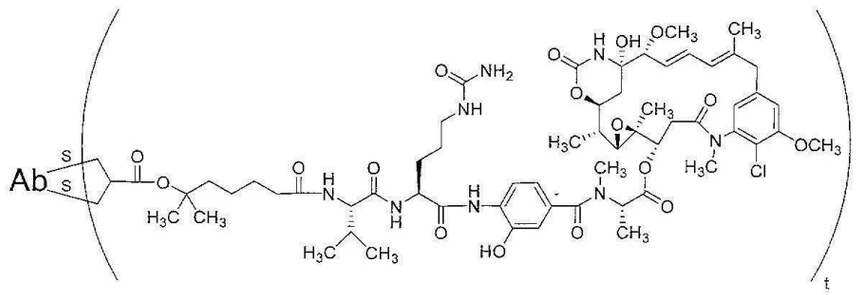


,

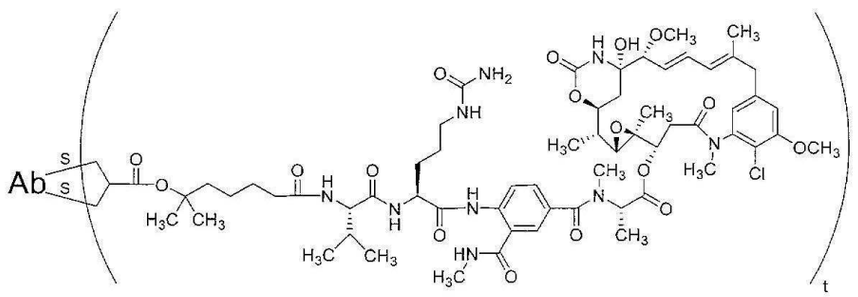
`



,

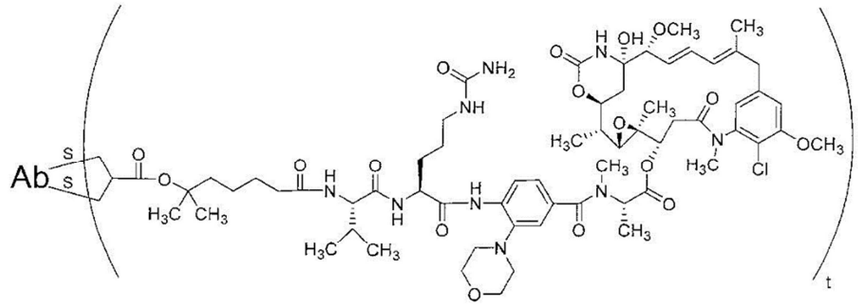


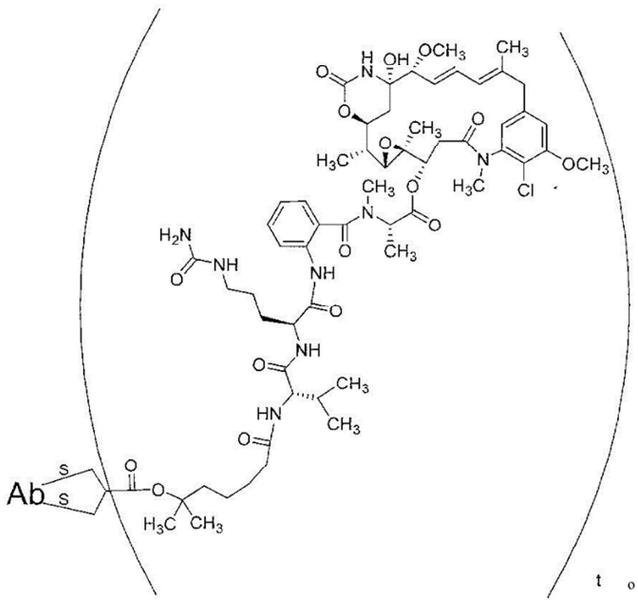
,

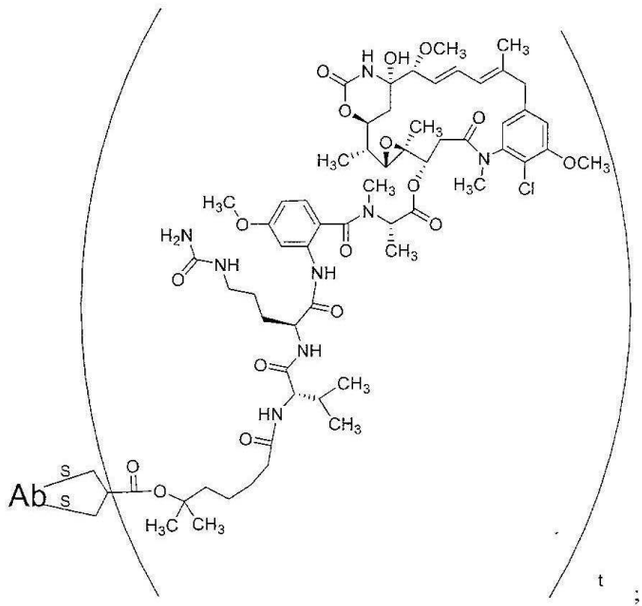


,

.


Ab
S
S
O
O
H
N
O
NH
NH2
OH
OCH3
CH3
H3C
CH3
Cl
OCH3
t


Ab
S
S
O
O
H2N
NH
HN
OH
OCH3
CH3
H3C
CH3
Cl
OCH3
t o



;

donde:

Ab es un anticuerpo;

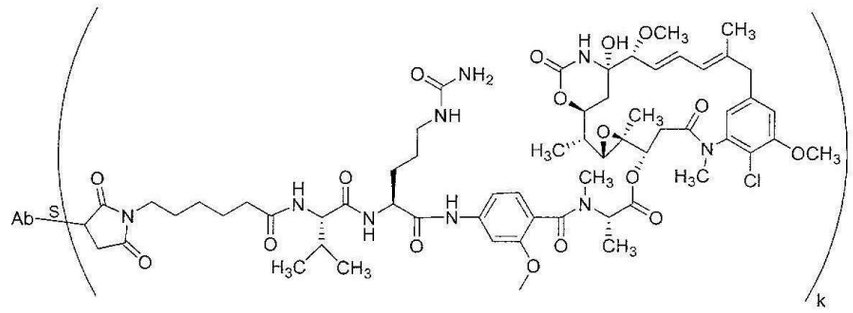
S es un enlace a una cisteína del anticuerpo;

N es un enlace a una lisina del anticuerpo;

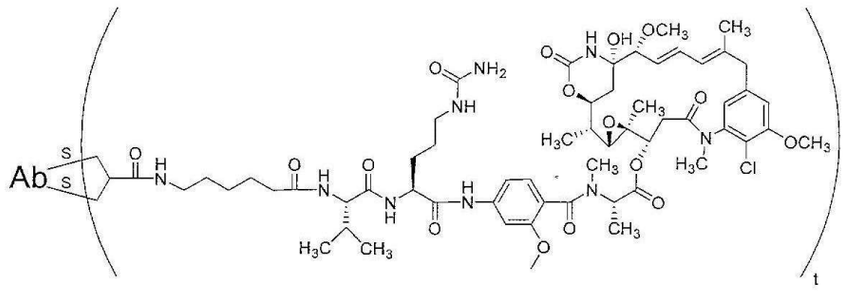
k es un entero desde 1 a 30; y

t es un entero desde 1 a 8. En algunos ejemplos, k es un entero desde 1 a 8. En algunos ejemplos, t es un entero desde 1 a 4. En algunos ejemplos, cuando S es un enlace a una cisteína del anticuerpo, hasta 8 conjugados establecidos en este documento pueden ser unidos al anticuerpo. En algunos ejemplos, cuando N es un enlace a una lisina del anticuerpo, hasta 30 conjugados establecidos en este documento pueden ser unidos al anticuerpo.

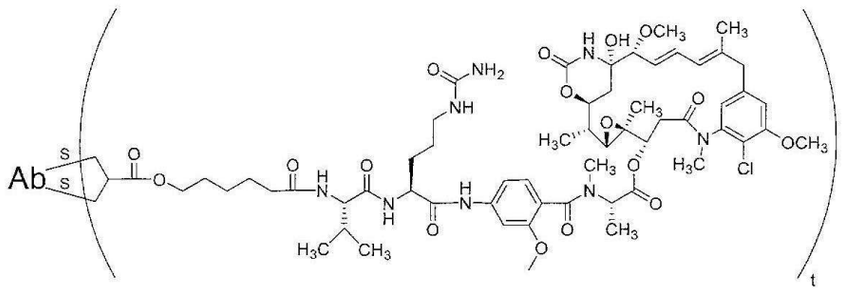
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I es:



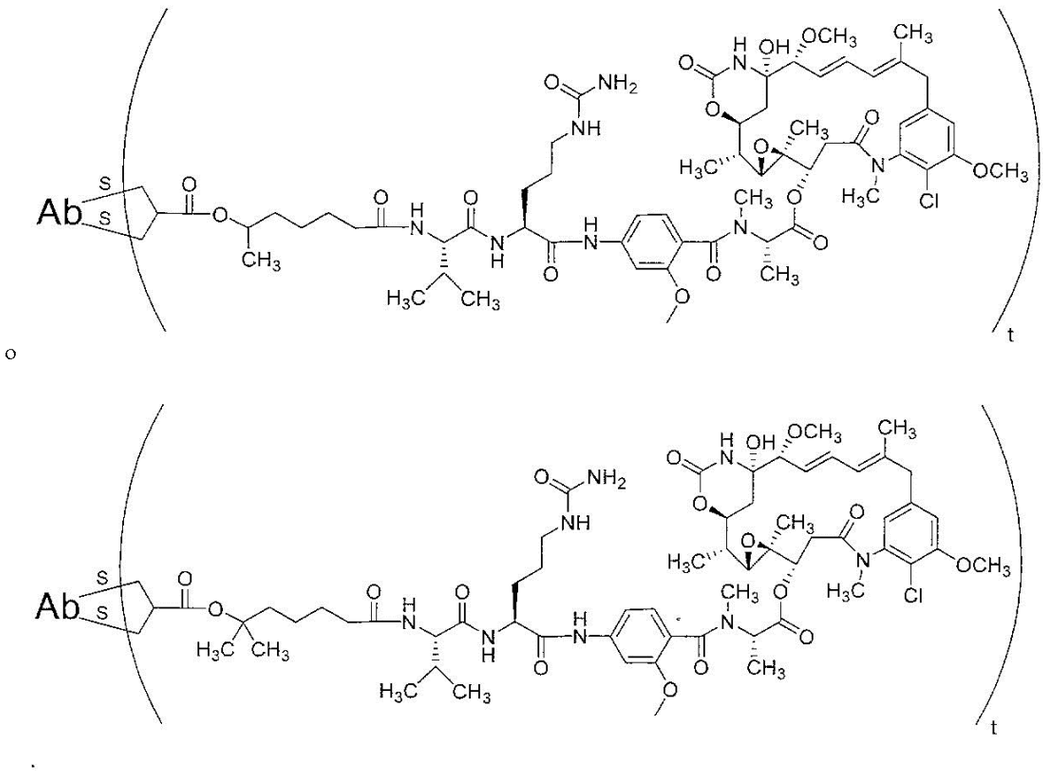
,



,



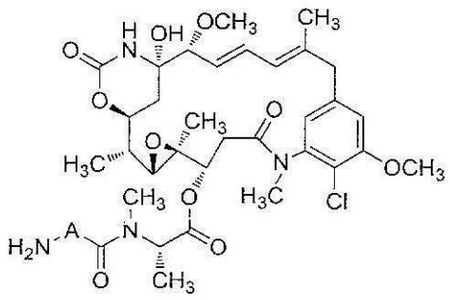
,



En alguna realización, k es un entero desde 1 a 30. En alguna realización, k es un entero desde 1 a 8. En alguna realización, k es un entero desde 1 a 6. En alguna realización, k es un entero desde 1 a 4. En algunas realizaciones, k es un entero desde 1 a 3. En algunas realizaciones, la relación fármaco-anticuerpo (DAR) del conjugado es desde 1.0 a 3.0.

C. DERIVADOS DE MAITANSINOIDE

En este documento se proporcionan compuestos de Fórmula (II):



(II)

O una sal farmacéuticamente aceptable de la misma,

donde A es arileno o heteroarileno.

En ciertas realizaciones, estos compuestos representan la porción de carga útil de los conjugados descritos en este documento y son liberados, por ejemplo, por proteólisis enzimática, tras la internalización del conjugado en una célula. Los métodos provistos en este documento

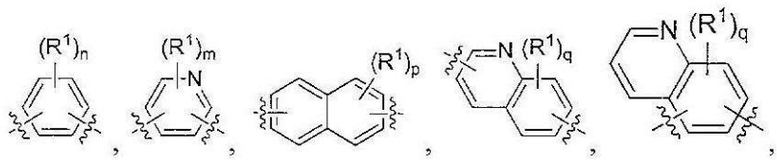
incluyen métodos para tratar una enfermedad proliferativa, por ejemplo, cáncer, comprendiendo administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado, por ejemplo, conjugado del fármaco anticuerpo que libera un compuesto de Fórmula (II) tras la internalización de dicho conjugado en una célula en dicho paciente.

En algunas realizaciones, estos compuestos representan el producto metabólico de los conjugados descritos en este documento, por ejemplo, producto de proteólisis enzimática. En algunas realizaciones, estos compuestos representan el producto catabólico de los conjugados descritos en este documento. En algunas realizaciones, estos compuestos representan el producto celular de los conjugados descritos en este documento.

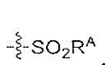
En algunas realizaciones, A es un radical divalente de benceno, de piridina, de naftaleno, o de quinolona, los cuales son opcionalmente sustituidos.

En algunas realizaciones, A es arileno.

En algunas realizaciones, A es:



donde:

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro,  ,  ,  o azido;

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

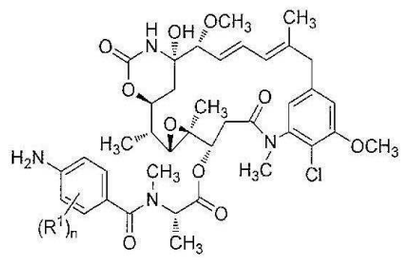
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

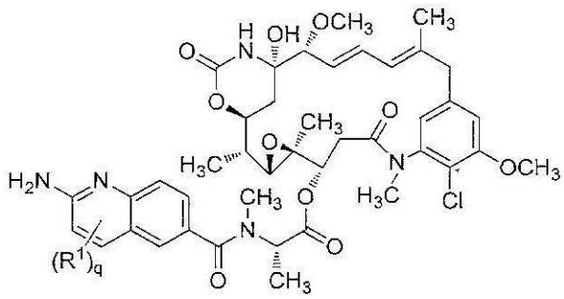
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (IIA)



(IIA)

donde R^1 y n son como se define en este documento.

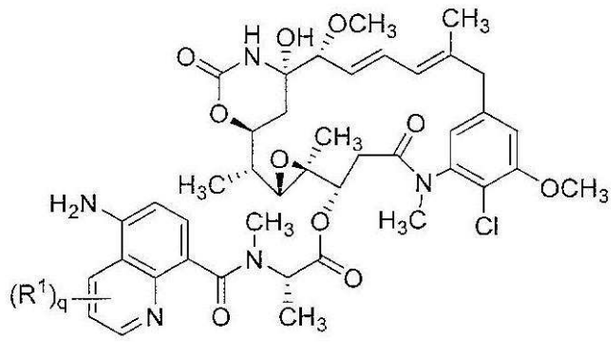
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (IIB):



(IIB)

donde R^1 y q son como se define en este documento.

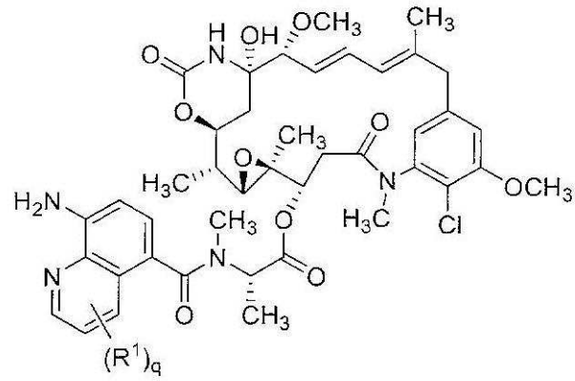
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (IIB2):



(IIB2)

donde R^1 y q son como se define en este documento.

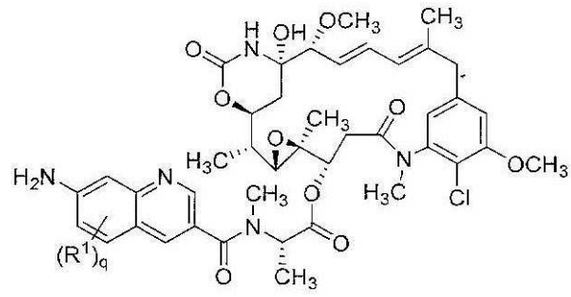
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es una compuesto de Fórmula (IIB3):



(IIB3)

donde R^1 y q son como se define en este documento.

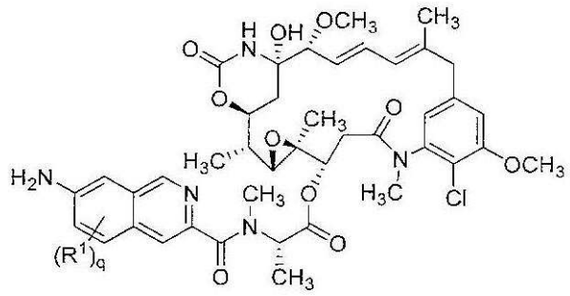
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es una compuesto de Fórmula (IIC):



(IIC)

donde R^1 y q son como se define en este documento.

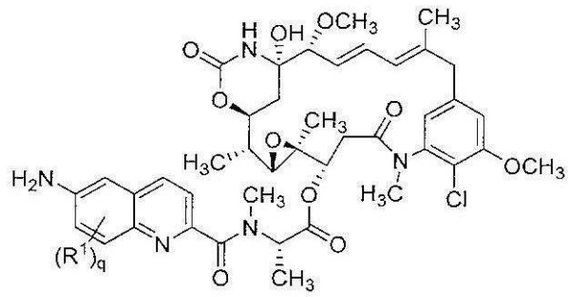
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es una compuesto de Fórmula (IID):



(IID)

donde R^1 y q son como se define en este documento.

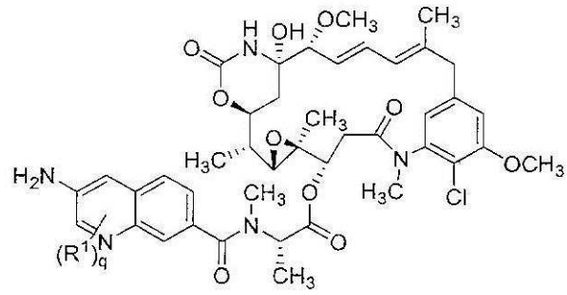
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es una compuesto de Fórmula (IIE):



(IIE)

donde R^1 y q son como se define en este documento.

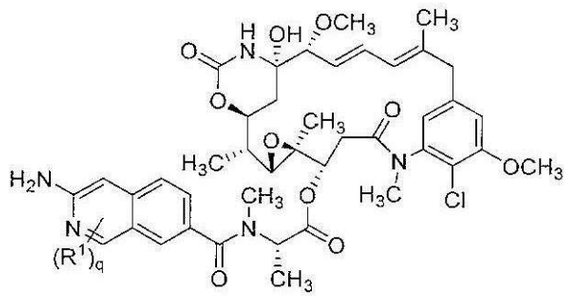
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es una compuesto de Fórmula (IIF):



(IIF)

donde R^1 y q son como se define en este documento.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es una compuesto de Fórmula (IIG):

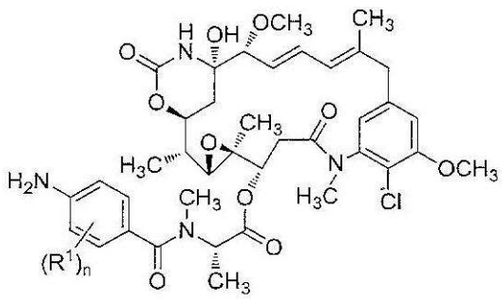


(IIG)

donde R^1 y q son como se define en este documento.

En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, alquilo o halo. En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, alquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, o halo. En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, haloalquilo C_{1-6} o halo. En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, halo. En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, flúor, cloro, bromo, yodo o trifluormetilo. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0, 1 ó 2. En algunas realizaciones, n, m, p, o q es 0 ó 1. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0.

En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, alquilo, alcoxi, heteroalquilo, halo, haloalquilo, o haloalcoxi. En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, alquilo C_{1-6}, alcoxi C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, haloalcoxi C_{1-6}, o halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6}. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alcoxi. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, metoxi, etoxi, propoxi. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0, 1 ó 2. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0 ó 1. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de Fórmula (IIA):



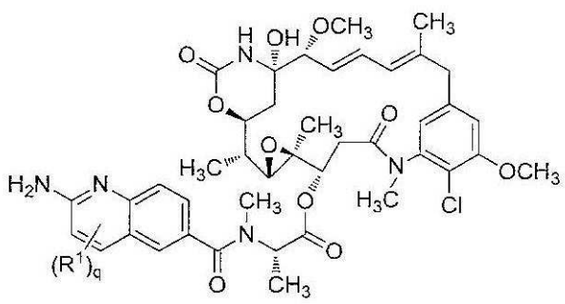
(IIA)

donde:

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo o trifluormetilo; y

n es 0, 1 ó 2.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de Fórmula (IIB):



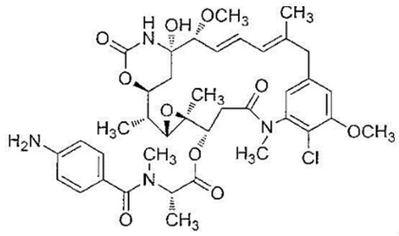
(IIB)

donde:

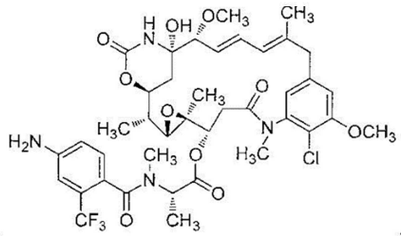
R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo o trifluormetilo; y

q es 0, 1 ó 2.

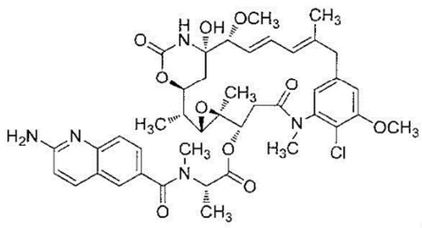
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es:



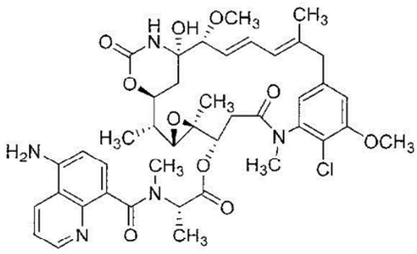
,



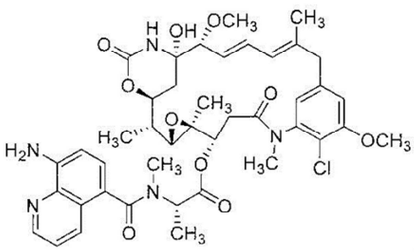
,



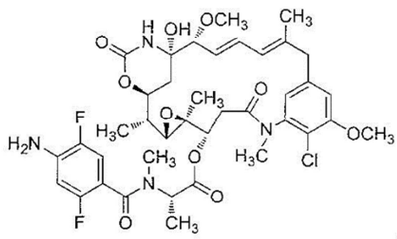
,



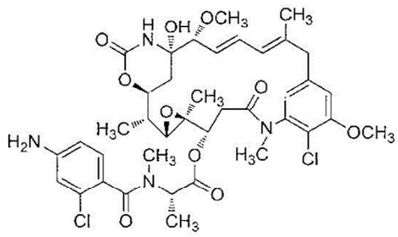
,



,



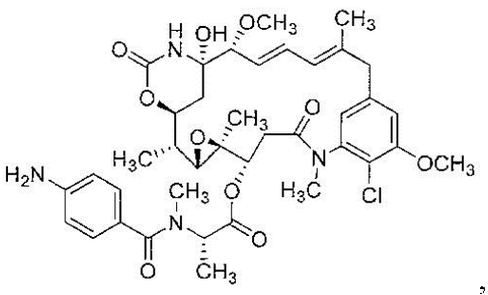
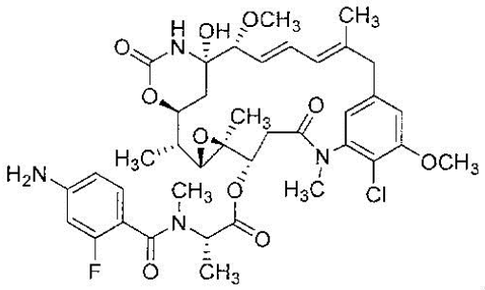
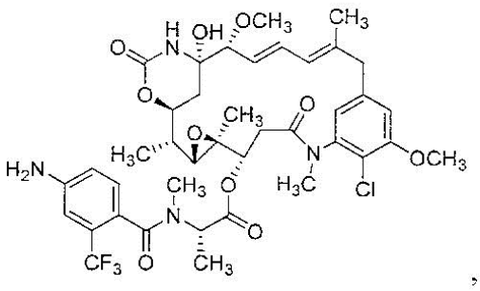
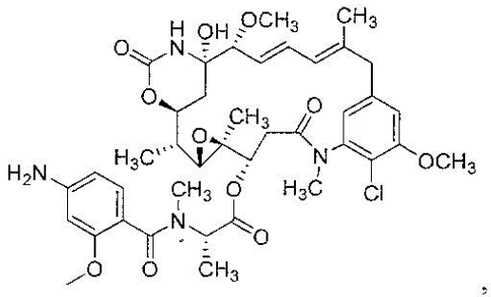
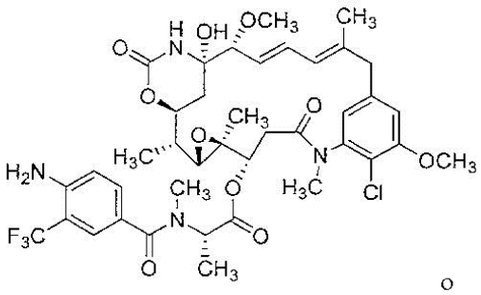
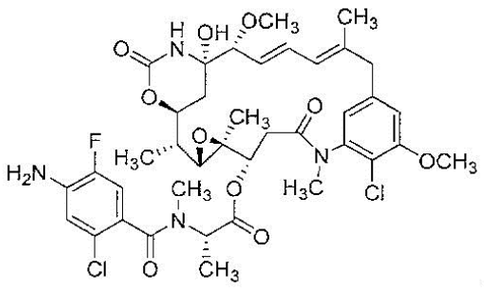
,



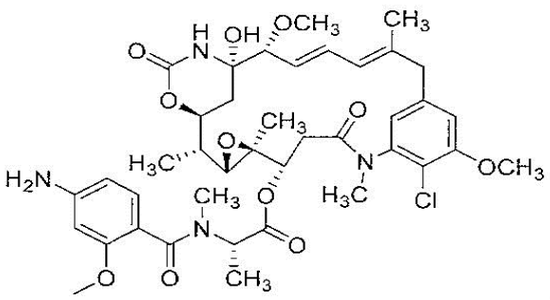
.

o

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto seleccionado de:


,

,

,

,

o

.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es:


.

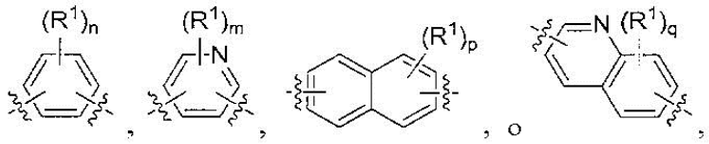
En ciertas realizaciones, estos compuestos representan la porción de carga útil de los conjugados descritos en este documento y son liberados, por ejemplo, por proteólisis enzimática, tras la internalización del conjugado en una célula. Los métodos proporcionados en este documento incluyen métodos para tratar una enfermedad proliferativa, por ejemplo cáncer, comprendiendo administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un conjugado, por ejemplo, un conjugado anticuerpo-fármaco que libera un compuesto de Fórmula (II) tras la internalización de dicho conjugado en una célula en dicho paciente.

En algunas realizaciones, estos compuestos representan el producto metabólico de los conjugados descritos en este documento, por ejemplo, producto de proteólisis enzimática.

En algunas realizaciones, A es un radical divalente de benceno, de piridina, de naftaleno o de quinolona, los cuales son opcionalmente sustituidos.

En algunas realizaciones, A es arileno.

En algunas realizaciones, A es:



donde

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, halalcoxi, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro  ,  ,  , o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

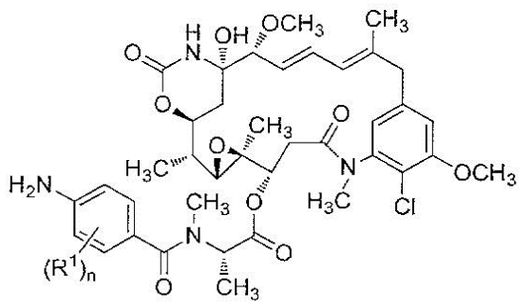
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

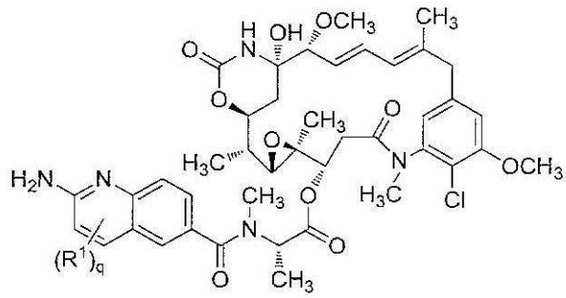
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (IIA):



(IIA)

donde R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, metoxi, halo o trifluormetilo; y n es 0, 1 ó 2.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (IIB):



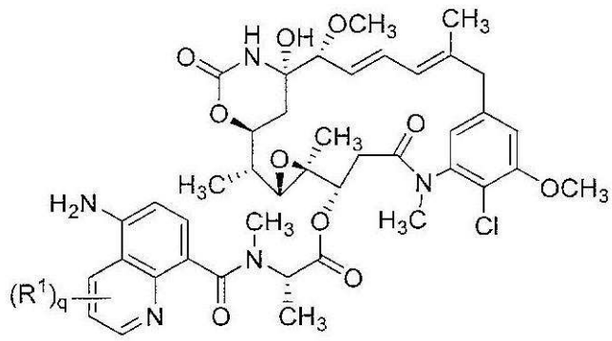
(IIB)

donde:

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, metoxi, halo o trifluormetilo; y

q es 0, 1 ó 2.

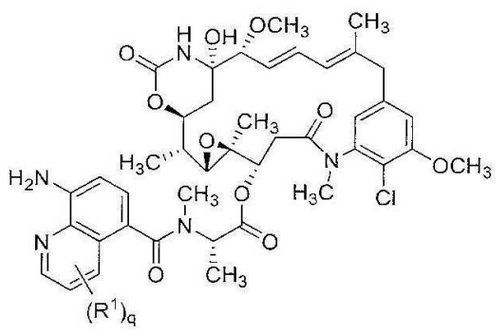
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (IIB2):



(IIB2)

donde R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, metoxi, halo o trifluormetilo; y q es 0, 1 ó 2.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (IIB3):



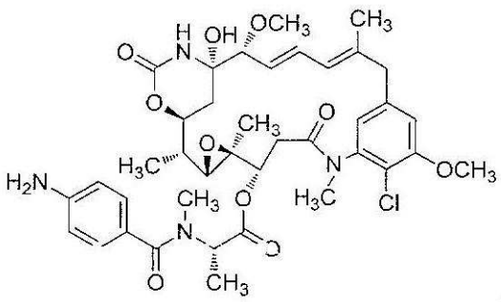
(IIB3)

donde R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, metoxi, halo o trifluormetilo; y q es 0, 1 ó 2. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo o halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6} o halo. En algunas

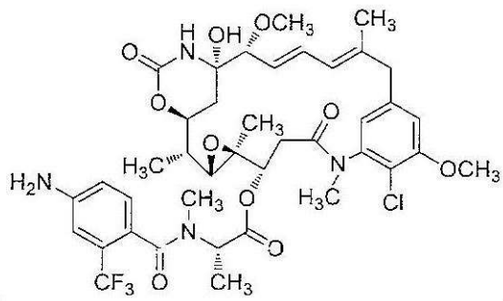
realizaciones, R^1 es, independientemente, haloalquilo C_{1-6} o halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, flúor, cloro, bromo, yodo o trifluormetilo. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0, 1 ó 2. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0 ó 1. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0.

En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo, alcoxi, heteroalquilo, halo, haloalquilo o haloalcoxi. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente alquilo C_{1-6}, alcoxi C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, haloalcoxi C_{1-6} o halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6}. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alcoxi. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, metoxi, etoxi, propoxi. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0, 1 ó 2. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0 ó 1. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0.

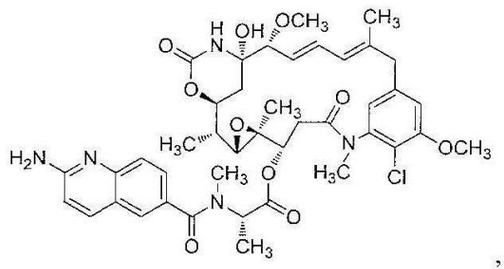
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es:



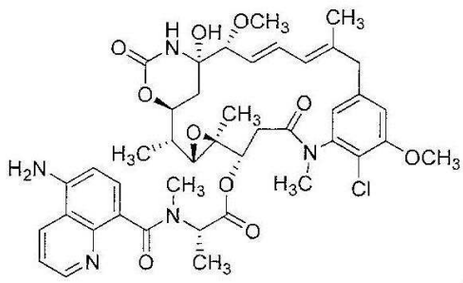
,



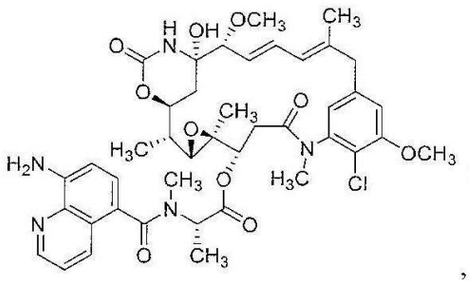
,



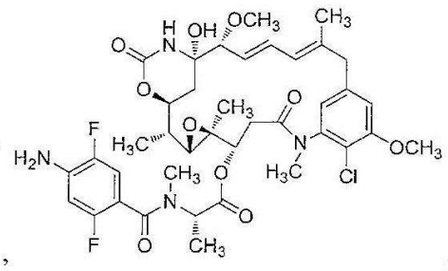
,



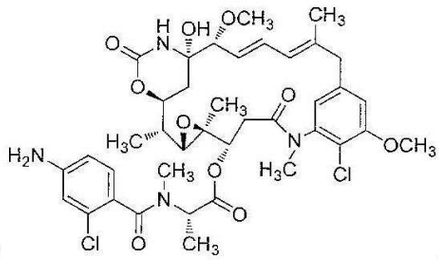
,



,

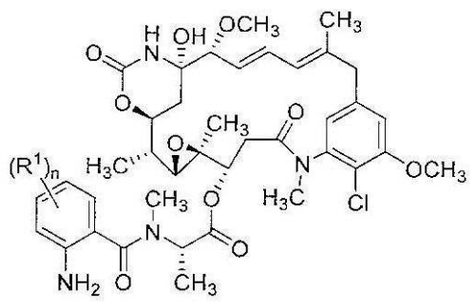


,



or .

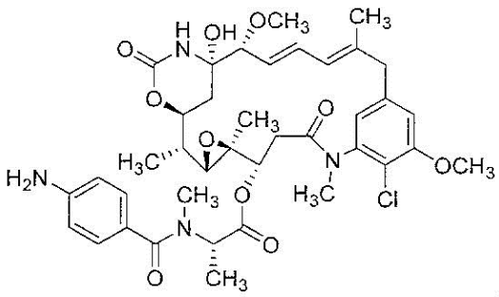
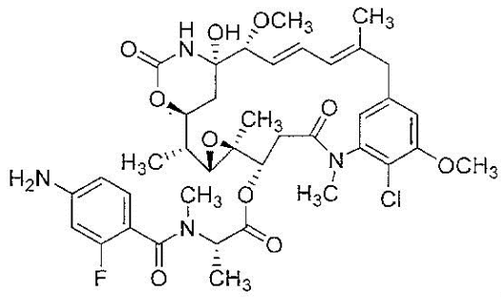
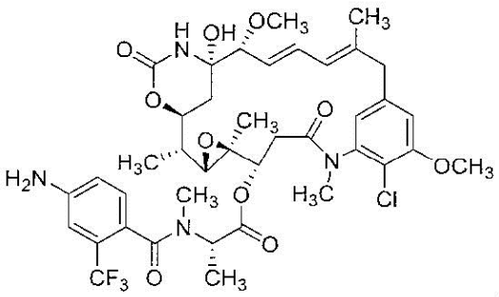
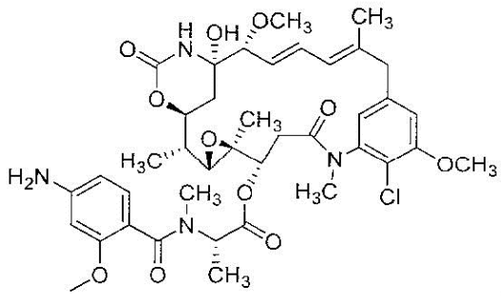
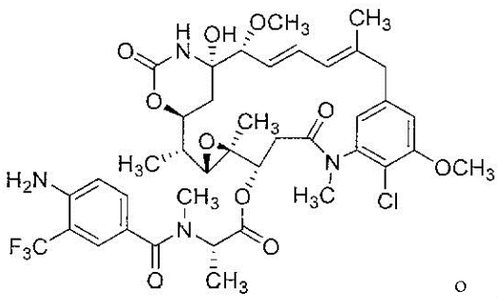
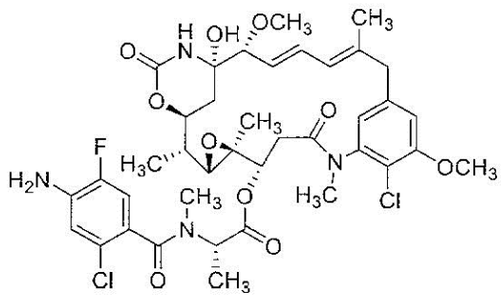
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (IIH):



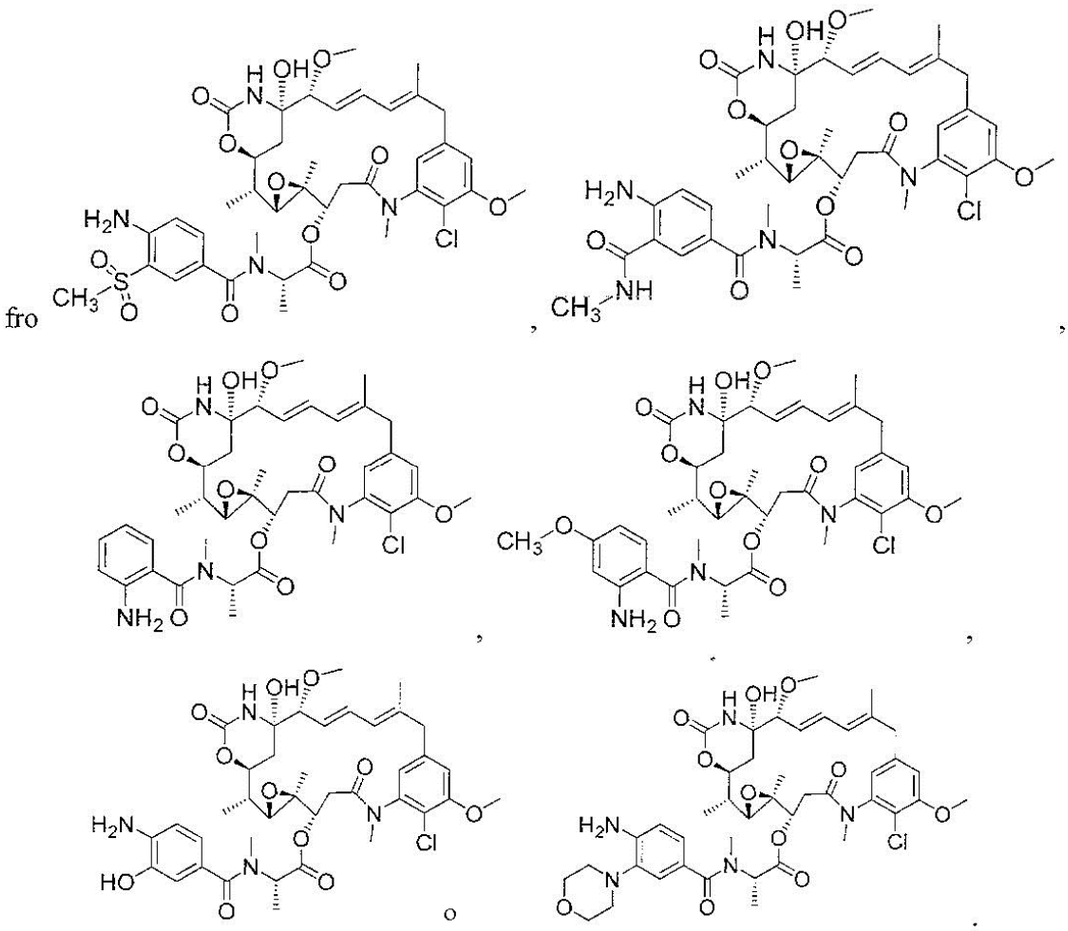
(IIH)

donde R^1 y n son como se define en este documento.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto seleccionado de:

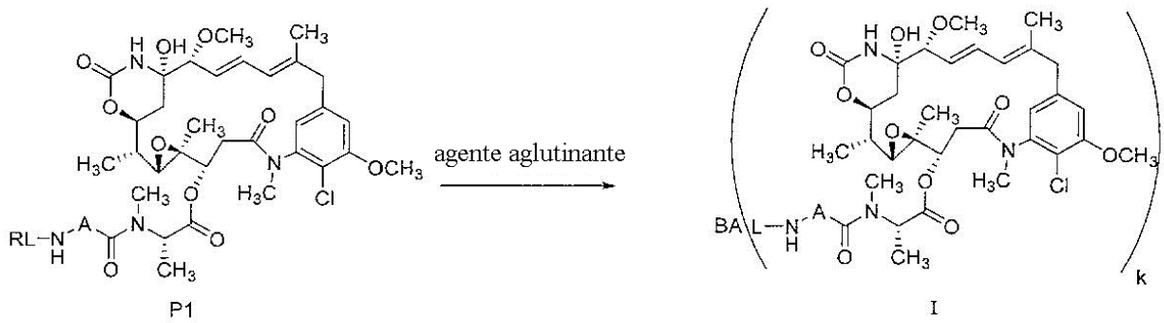

,

,

,

,

o

.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto seleccionado de:



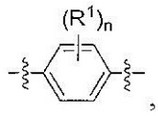
D. PREPARACION DE COMPUESTOS

Los compuestos de Fórmula I pueden ser sintetizados acoplando compuestos de Fórmula P1 con un agente aglutinante, por ejemplo, anticuerpo bajo condiciones de conjugación estándar (ver, por ejemplo, Doronina *et al., Nature Biotechnology* 2003, 21, 7, 778, el cual se incorpora por referencia). Cuando un agente aglutinante es un anticuerpo, el anticuerpo puede ser acoplado a un compuesto de Fórmula P1 mediante uno o más residuos de cisteína o lisina del anticuerpo. Los compuestos de Fórmula P1 pueden ser acoplados a residuos de cisteína, por ejemplo, sometiendo el anticuerpo a un agente reductor, por ejemplo, ditioteritol, para escindir los enlaces de disulfuro del anticuerpo, purificando el anticuerpo reducido, por ejemplo, por filtración de gel, y posteriormente reaccionando el anticuerpo con un compuesto de Fórmula P1 conteniendo un resto de reactivo, por ejemplo, un grupo maleimido. Solventes adecuados incluyen, pero no están limitados a agua, DMA; DMF y DMSO. Compuestos de Fórmula P1 conteniendo un resto reactivo, por ejemplo éster activado o haluro de ácido pueden ser acoplados a los residuos de lisina. Solventes adecuados incluyen, pero no están limitados a agua, DMA, DMF y DMSO. Los compuestos de Fórmula I pueden ser purificados usando técnicas conocidas de proteínas, incluyendo por ejemplo, cromatografía de exclusión de tamaño, diálisis y ultrafiltración/diafiltración.



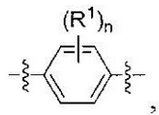
donde RL es un enlazador reactivo, A es arileno o heteroarileno, L es un enlazador, y BA es un agente aglutinante.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula P1 incluye A, donde A es:



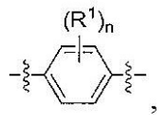
donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi, halo o haloalquilo.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 incluye A, donde A es:

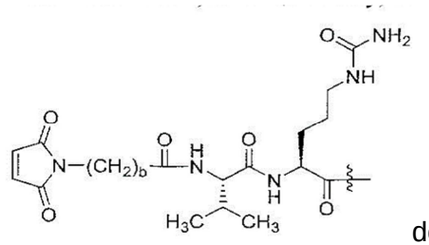


donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 incluye A, donde A es:

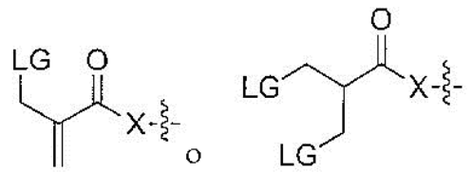


donde n es 0 ó 1; R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}; y RL es



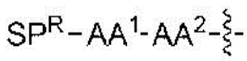
donde b es un entero desde 2 a 8 y  es un enlace al agente aglutinante.

El enlazador reactivo es un resto que comprende una porción en su estructura que es capaz de reaccionar con el agente aglutinante (por ejemplo, reaccionar con un anticuerpo en sus residuos de cisteína o lisina) para formar el compuesto de Fórmula 1. Tras la conjugación del agente aglutinante, el enlazador reactivo se convierte en el resto enlazador (L) del compuesto de Fórmula I. Los enlazadores reactivos ilustrativos incluyen, pero no están limitados a, aquellos que comprenden porciones de haloacetilo, isotiocianato, o maleimida que son capaces de reaccionar con el agente aglutinante. Las porciones reactivas también incluyen restos que tienen la siguiente estructura:



donde X es –O- o –NH- y LG es un grupo saliente, por ejemplo, Br.

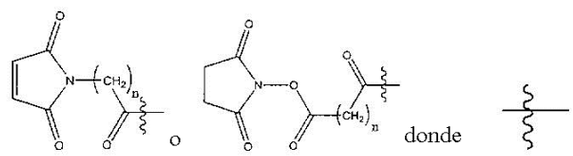
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



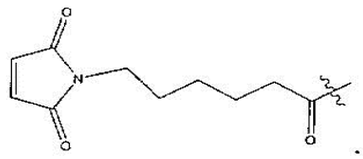
donde:
SP^R es un espaciador reactivo;
AA^1 es un aminoácido; y
AA^2 es un aminoácido.

El espaciador reactivo es un resto que contiene la porción de enlazador reactivo antes descrita que es capaz de reaccionar con el agente aglutinante y conecta esta porción a AA^1. Espaciadores adecuados incluyen, pero no están limitados a, aquellos que comprenden alquileno o polietilenglicol conectando el AA^1 a la porción capaz de reaccionar con el agente aglutinante (por ejemplo, haloacetilo, isotiocianato o maleimida).

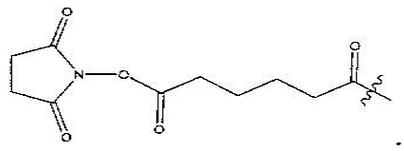
En algunas realizaciones, el espaciador reactivo comprende un resto no escindible seleccionado de:



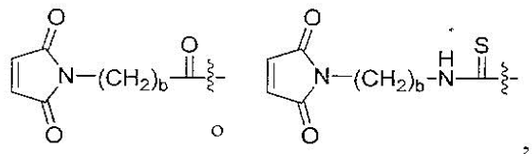
representa uno o más enlaces al derivado de maitansinoide; y donde n es un entero desde 4 a 10. En algunos ejemplos, n es 4, 5, 6, 7, 8, 9, ó 10. En algunas realizaciones, el espaciador reactivo es



En algunas realizaciones, el espaciador reactivo es

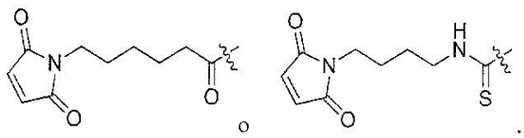


En algunas realizaciones, el espacidor reactivo es:

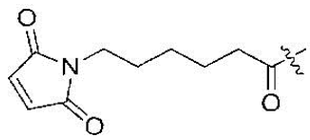


donde b es un entero desde 2 a 8.

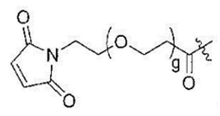
En algunas realizaciones, el espaciador reactivo es:

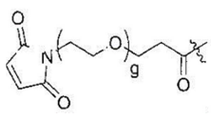


En algunas realizaciones, el espaciador es:



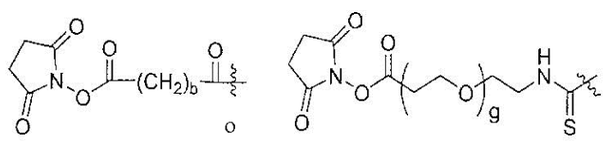
En algunas realizaciones, el espaciador es





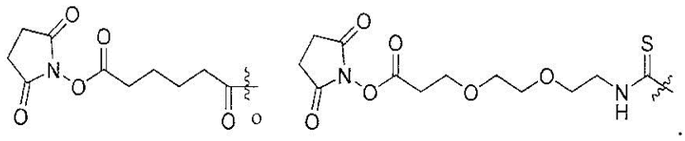
donde g es un entero desde 1 a

En algunas realizaciones, el espaciador reactivo es:



donde b es un entero desde 2 a 8 y g es un entero desde 2 a 20.

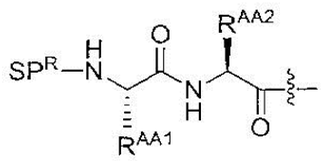
En algunas realizaciones, el espaciador reactivo es:



En algunas realizaciones, AA^1-AA^2 es: valina-citrulina, citrulina-valina, lisina-fenilalanina, fenilalanina-lisina, valina-asparagina, asparagina-valina, treonina-asparagina, asparagina-treonina, serina-asparagina, asparagina-serina, fenilalanina-asparagina, asparagina-fenilalanina, leucina-asparagina, asparagina-leucina, isoleucina-asparagina, asparagina-isoleucina, glicina-asparagina, asparagina-glicina, ácido glutámico- asparagina, asparagina-ácido glutámico, citrulina-asparagina, asparagina-citrulina, alanina-asparagina, o asparagina-alanina.

En algunas realizaciones, AA^1-AA^2 es: valina-citrulina o citrulina-valina. En algunas realizaciones, AA^1-AA^2 es: valina-citrulina.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



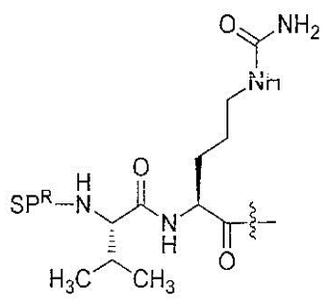
donde:

SP^R es un reactivo espaciador;

R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácido; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácido.

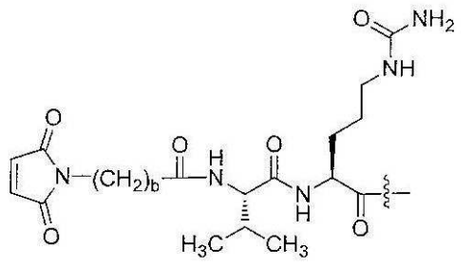
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



donde:

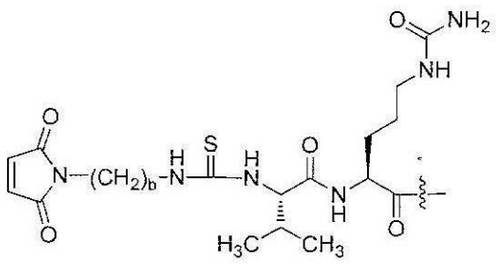
SP es un espaciador reactivo.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



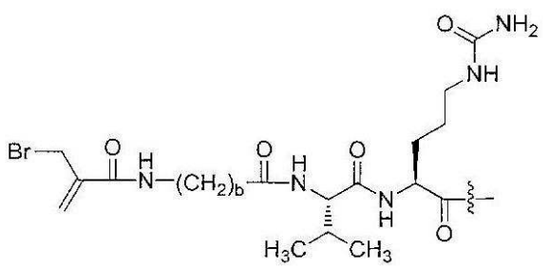
donde b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



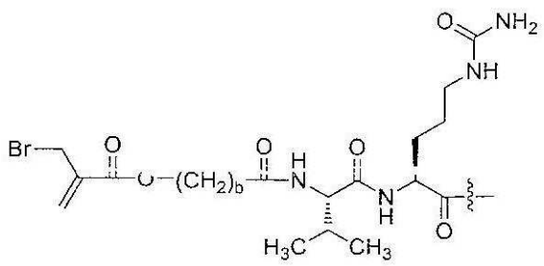
donde b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



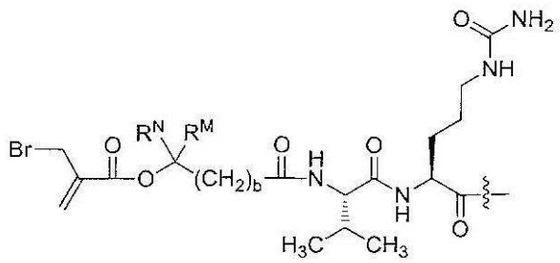
donde b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



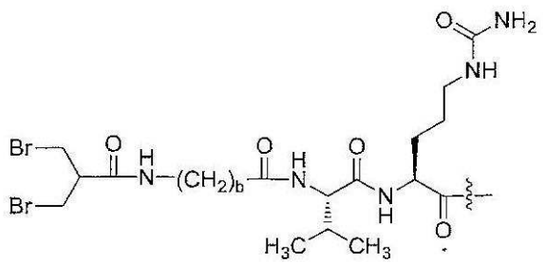
donde b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



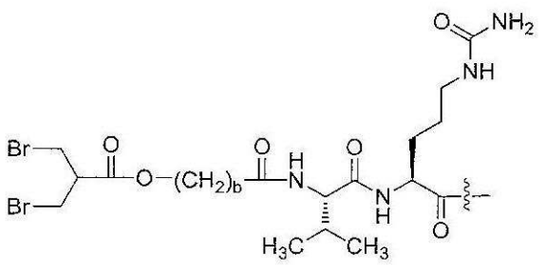
donde b es un entero desde 2 a 8, R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo, y R^M; es alquilo.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



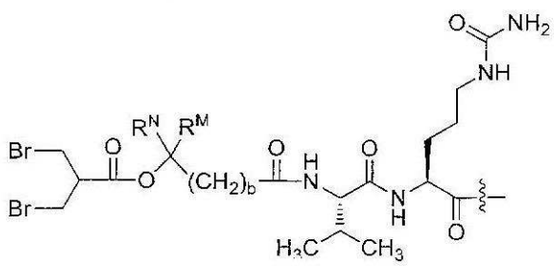
donde b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



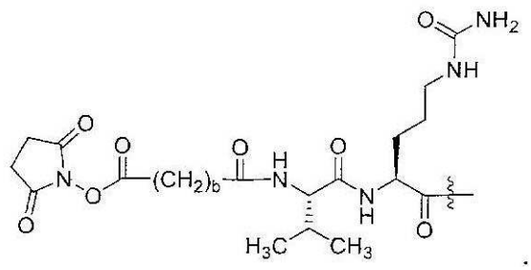
donde b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



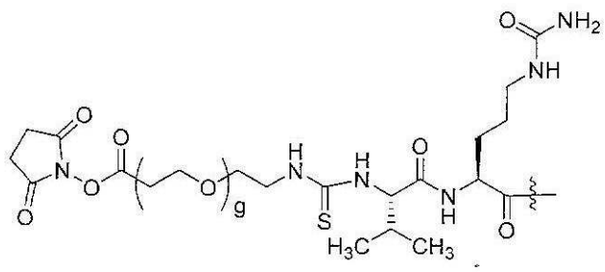
donde b es un entero desde 2 a 8, R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo, y R^M; es alquilo.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



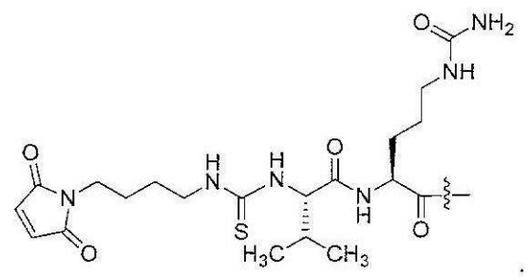
donde b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:

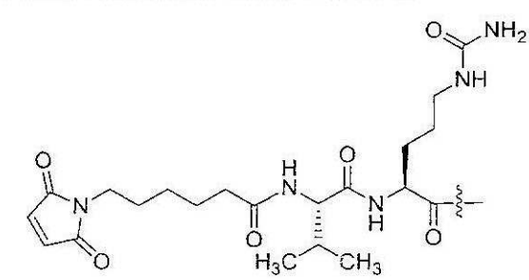


donde g es un entero desde 2 a 8.

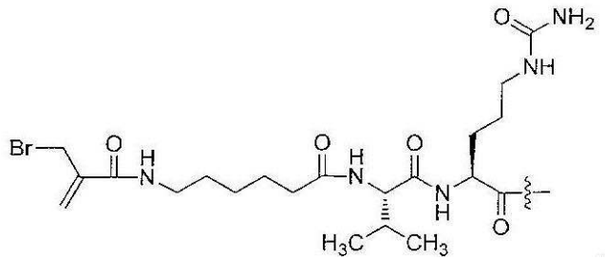
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



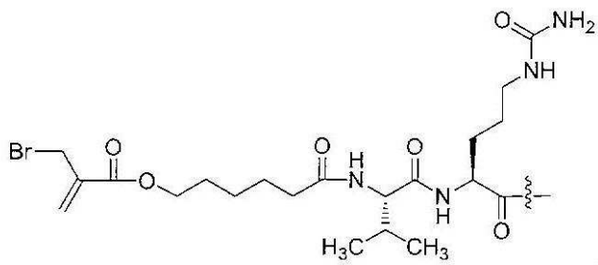
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



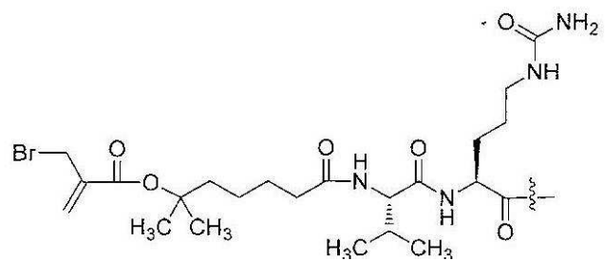
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



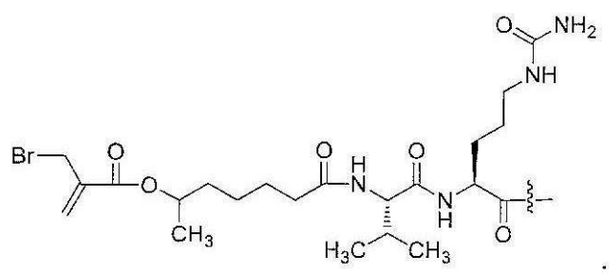
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



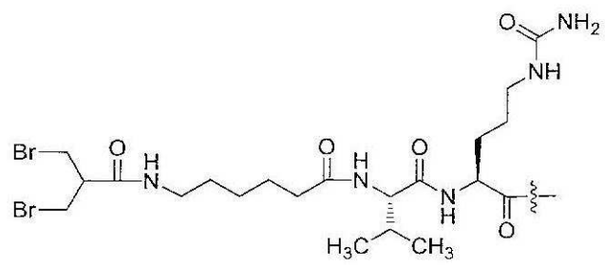
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



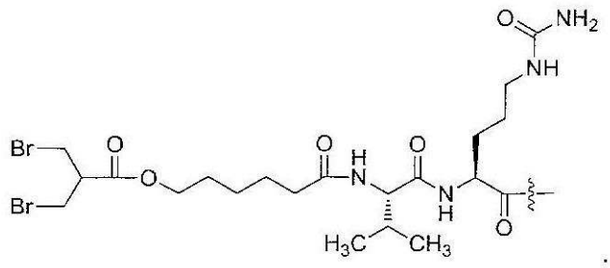
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



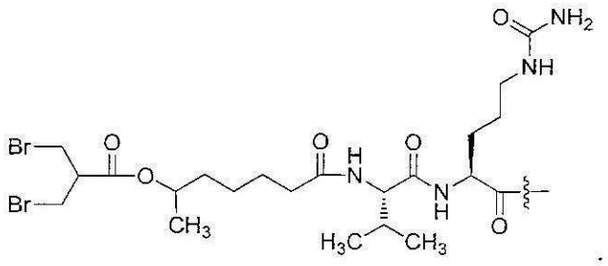
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



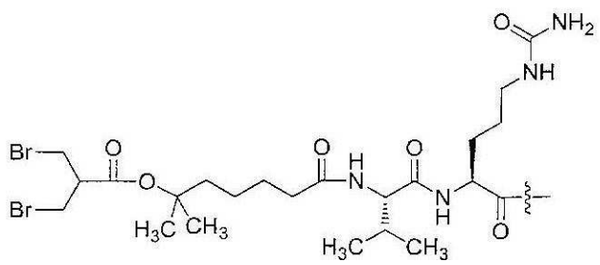
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



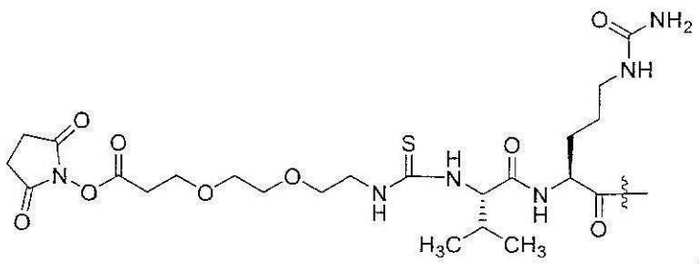
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



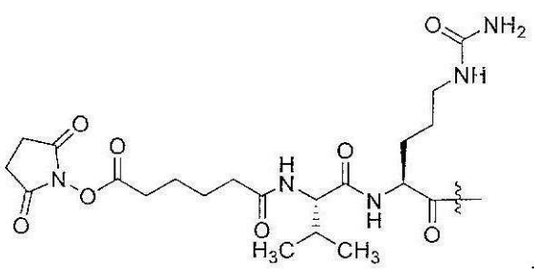
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



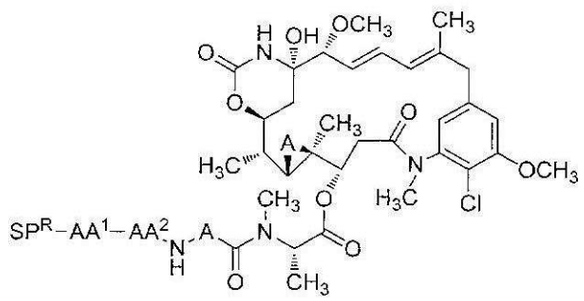
En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



En algunas realizaciones, el enlazador reactivo es:



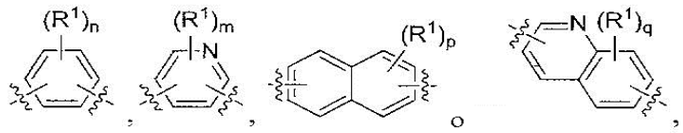
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de la Fórmula P1A:



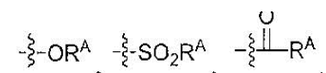
P1A

donde:

A es



donde:

R^1 es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro,  o azido, donde

R^A es alquilo o heteroalquilo;

n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

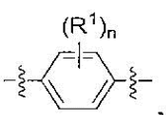
q es un entero desde 0 a 5;

SP^R es un espaciador reactivo;

AA^1 es un aminoácido; y

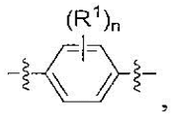
AA^2 es un aminoácido.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1A es un compuesto que incluye A, donde A es:



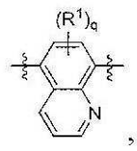
donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi, halo o haloalquilo. En algunos ejemplos, R^1 es metilsulfonilo, N-metilformamida, hidroxilo o morfolinilo.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1A es un compuesto que incluye A, donde A es:



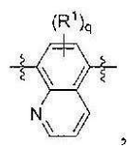
donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1A es un compuesto que incluye A, donde A es:



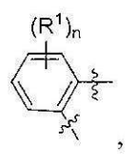
donde q es un entero desde 0 a 5; y R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1A es un compuesto que incluye A, donde A es:



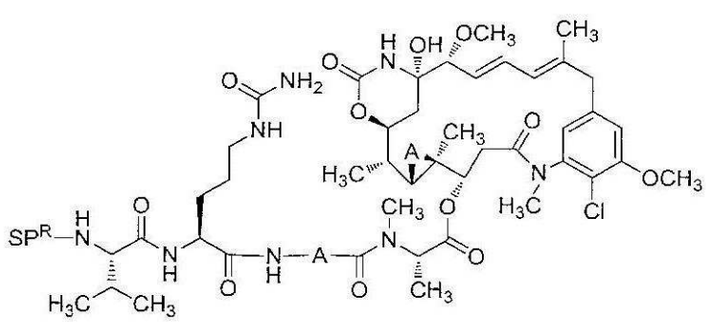
donde q es un entero desde 0 a 5; y R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1A es un compuesto que incluye A, donde A es:



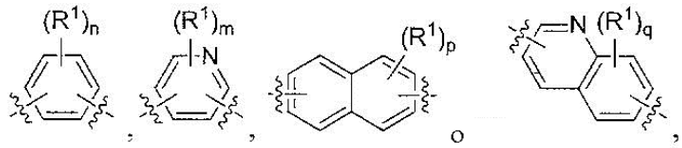
donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi, halo o haloalquilo. En algunos ejemplos, R^1 es metilsulfonilo, N-metilformamida, hidroxilo o morfolinilo.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1B:

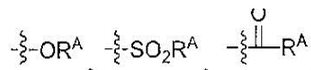


P1B

donde A es:



donde:

R^1 es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalcoxi, haloalquilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro,  o azido, donde

R^A es alquilo o heteroalquilo;

n es un entero desde 0 a 4;

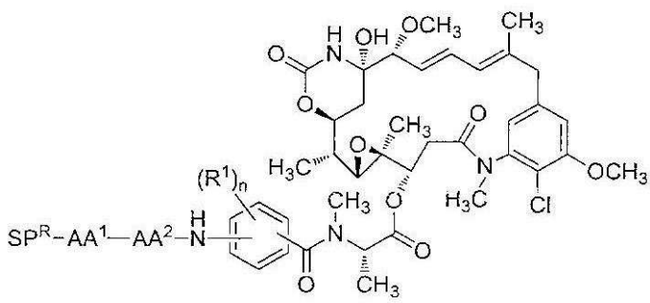
m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5;

SP^R es un espaciador reactivo.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1C:



P1C

donde:

SP^R es un espaciador reactivo;

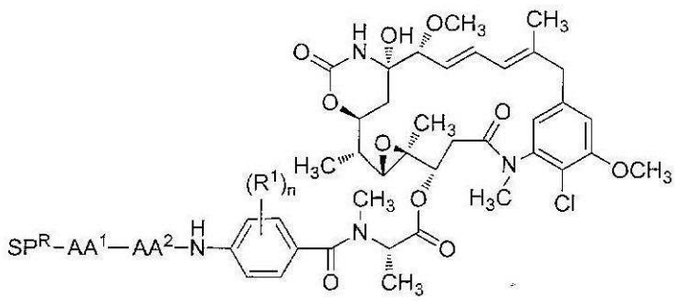
AA^1 es un aminoácido; y

AA^2 es un aminoácido

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo o trifluormetilo, y

n es 0, 1, ó 2.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1D:



P1D

donde:

SP^R es un espaciador reactivo;

AA^1 es un aminoácido; y

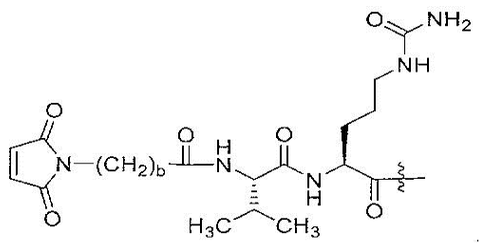
AA^2 es un aminoácido

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo o trifluormetilo, y

n es 0, 1, ó 2. En algunas realizaciones, n es 0. En algunas realizaciones, n es 1. En algunas realizaciones, n es 2.

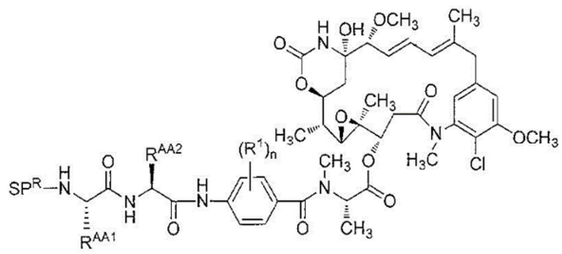
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1D, donde R^1 es alcoxi, halo, o haloalquilo. En algunas realizaciones, R^1 es alcoxiC_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}. En algunas realizaciones, n es 0. En algunas realizaciones, n es 1. En algunas realizaciones, n es 2.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1D, donde R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquiloC_{1-6}; y SP^R-AA^1-AA^2 es



donde b es un entero desde 2 a 8 y  es un enlace al agente aglutinante. En algunas realizaciones, n es 0. En algunas realizaciones, n es 1. En algunas realizaciones, n es 2. En algunas realizaciones, b es 2. En algunas realizaciones, b es 3. En algunas realizaciones, b es 4. En algunas realizaciones, b es 5. En algunas realizaciones, b es 6. En algunas realizaciones b es 7. En algunas realizaciones, b es 8.

En algunas realizaciones, el compuesto de FórmulaP1 es un compuesto de Fórmula P1E:



P1E

donde:

SP^R es un espaciador reactivo;

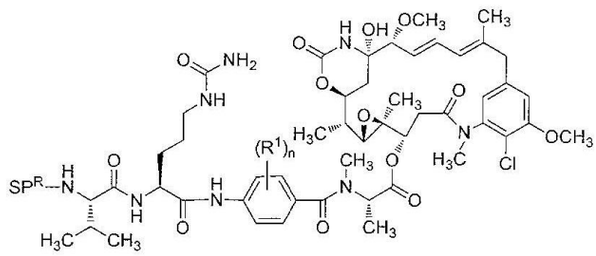
R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácido; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácido

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo o trifluormetilo, y

n es 0, 1, ó 2.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1F:



P1F

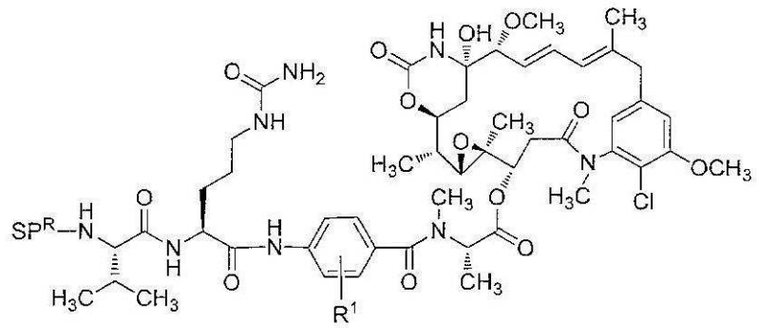
donde

SP^R es un espaciador reactivo;

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo, y

n es 0, 1 ó 2.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1G:



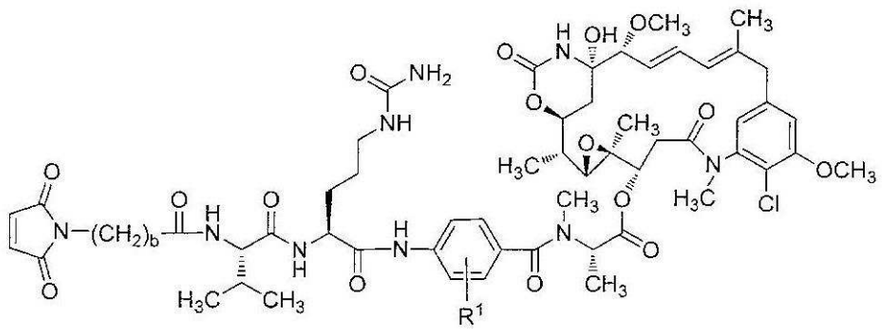
P1G

donde

SP^R es un espaciador reactivo;

R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo o trifluormetilo.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1H:



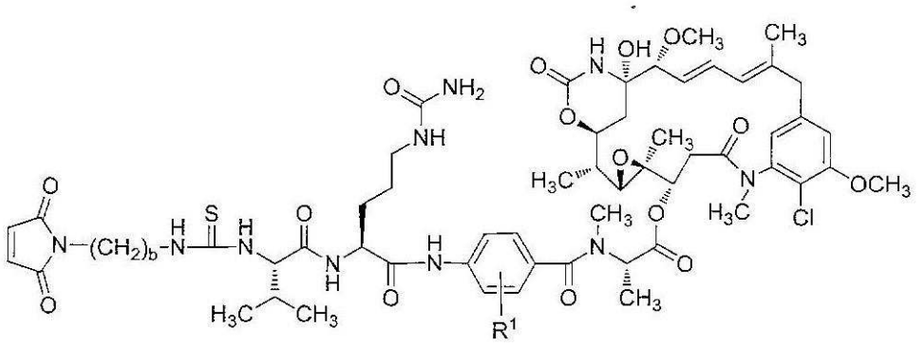
P1H

donde

R^1 es, un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de la Fórmula P1I:



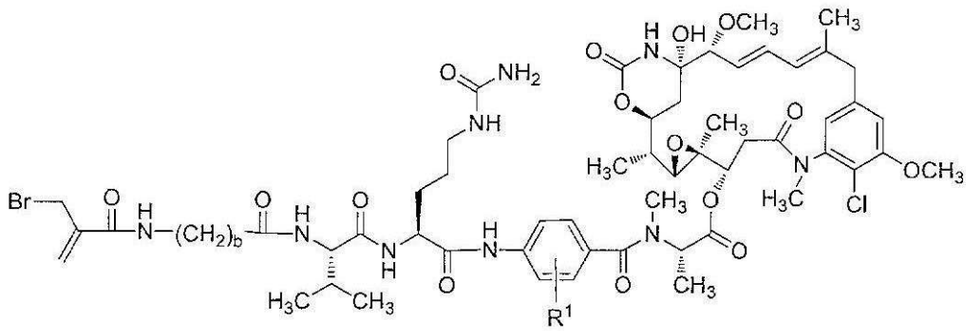
P1I

donde

R^1 es, un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo; y

b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de la Fórmula P1J:



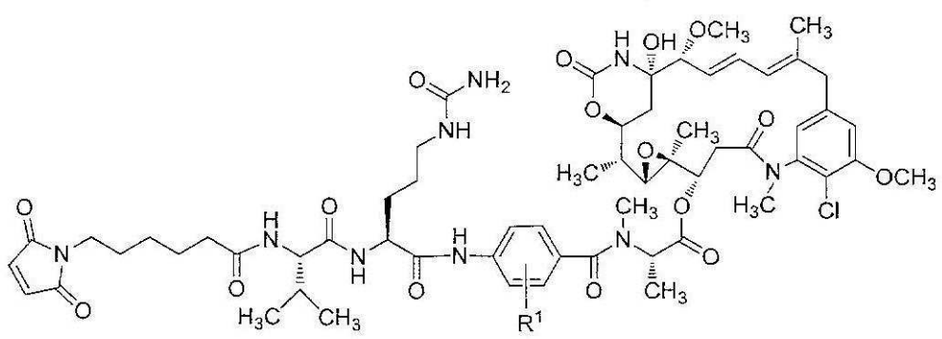
P1J

donde

R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo; y

b es un entero desde 2 a 8.

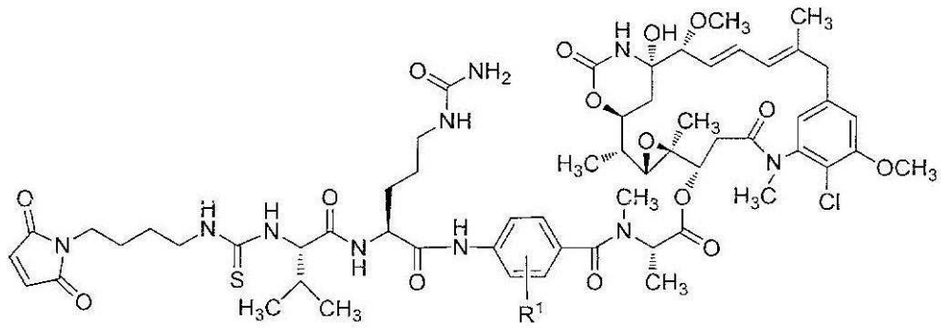
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de la Fórmula P1K:



P1K

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo.

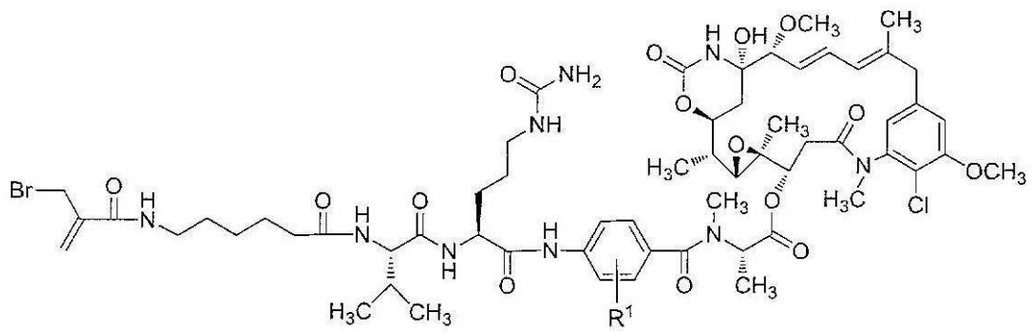
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de la Fórmula P1L:



P1L

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo.

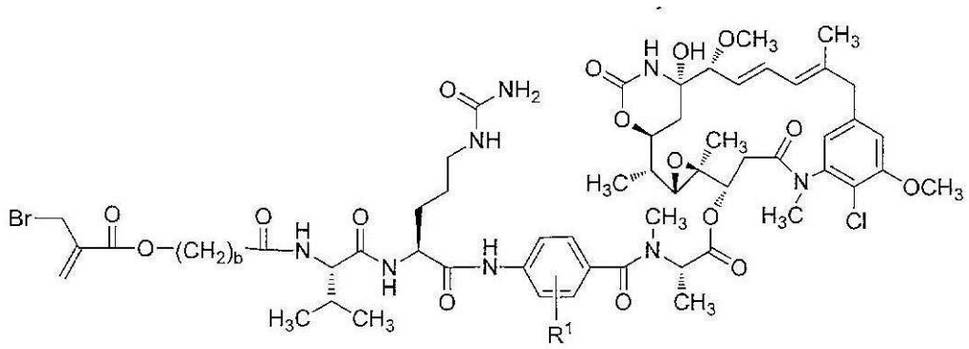
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de la Fórmula P1M:



P1M

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo.

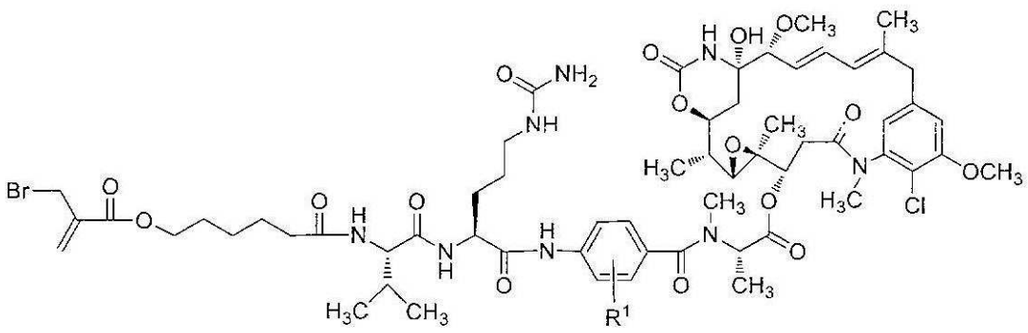
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de la Fórmula P1N



P1N

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo, y b es un entero desde 2 a 8.

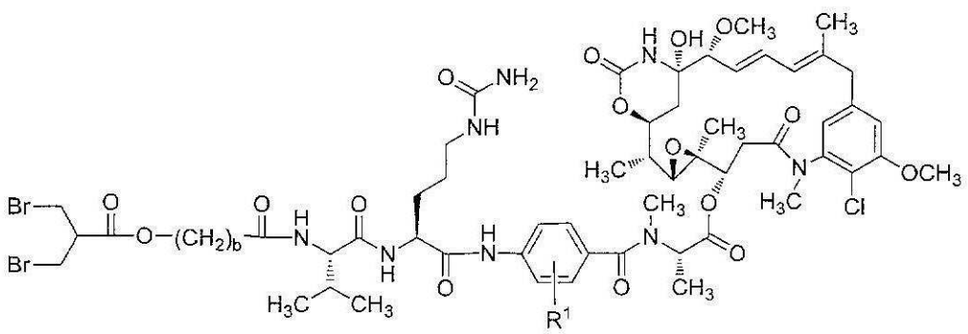
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de la Fórmula P1O:



P1O

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo.

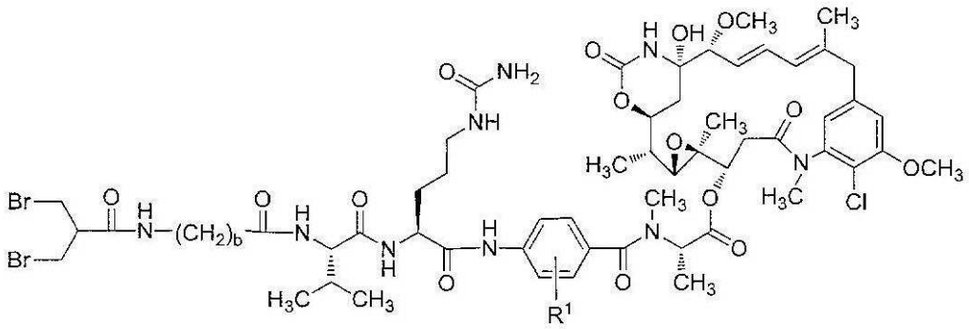
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1P:



P1P

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo, y b es un entero desde 2 a 8.

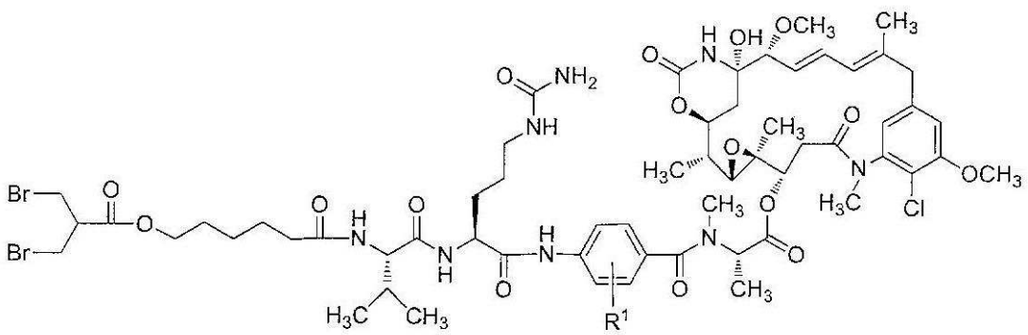
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de la Fórmula P1Q:



P1Q

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo, y b es un entero desde 2 a 8.

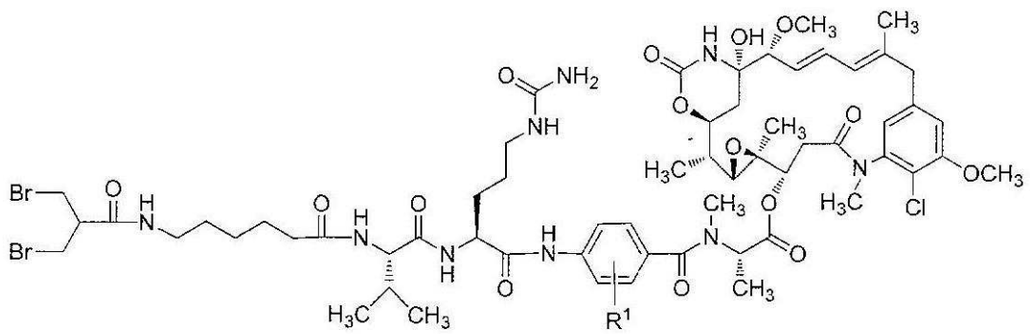
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de la Fórmula P1R:



P1R

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo.

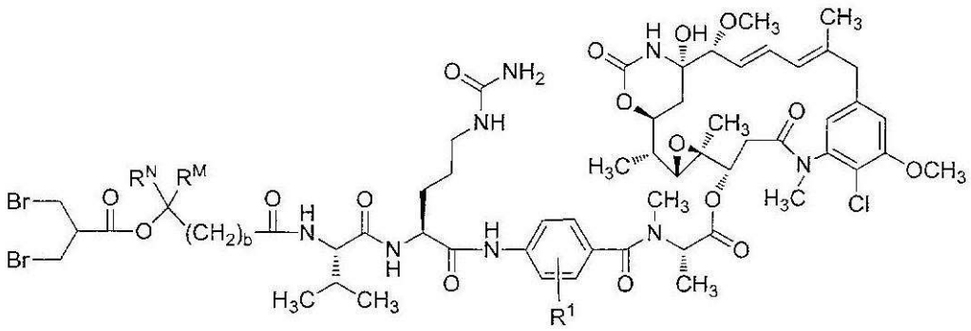
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1S:



P1S

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo.

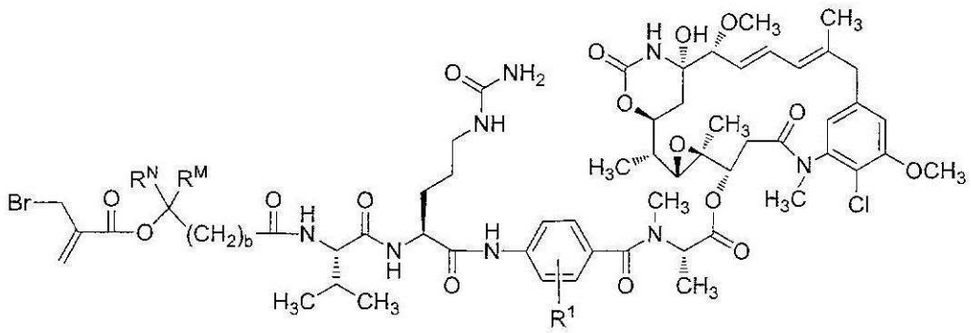
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1T:



P1T

donde R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo, R^M es alquilo, R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo o trifluormetilo, y b es un entero desde 2 a 8.

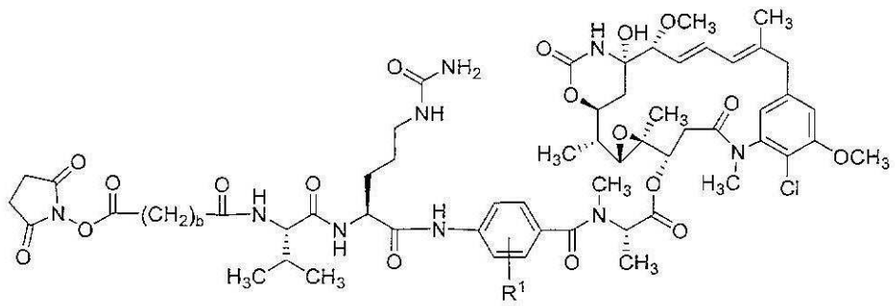
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1U:



P1U

donde R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo, R^M es alquilo, R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo o trifluormetilo, y b es un entero desde 2 a 8.

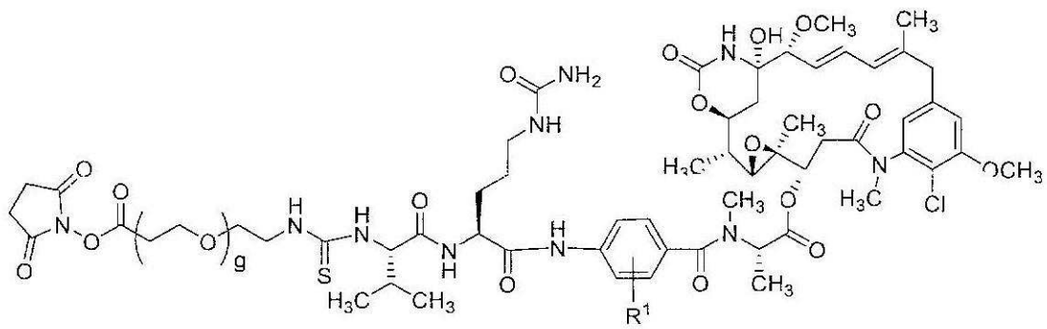
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1V:



P1V

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo, y b es un entero desde 2 a 8.

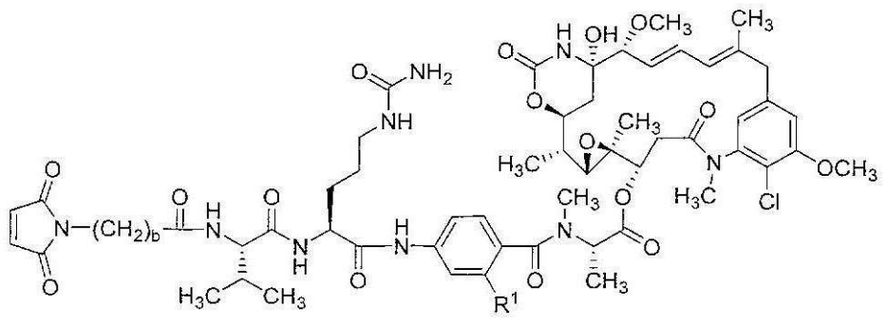
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1W:



P1W

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alquilo, alcoxi, halo, haloalcoxi, haloalquilo, o trifluormetilo, y g es un entero desde 2 a 20; y b es un entero desde 2 a 8.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1X:

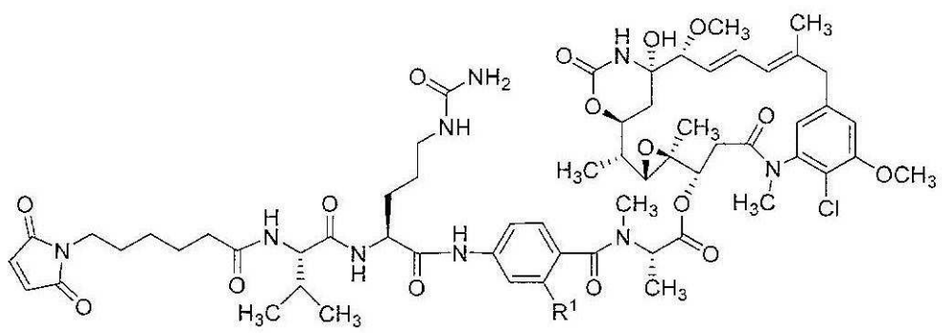


P1X

donde:

R^1 es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, heteroalquilo, halo, haloalquilo, o haloalcoxi; y b es un entero desde 2 a 8. En algunas realizaciones, R^1 es metilo, etilo, metoxi o etoxi. En algunas de estas realizaciones, R^1 es metoxi. En algunas realizaciones, R^1 es 1-metiletil-tiol, fenilo, 2-fluorfenil-piridinilo, 4-piridinilo, pirrolidinilo, o 1-pirrolidinilo. En algunas realizaciones, R^1 es trifluormetilo. En algunas realizaciones, R^1 es flúor. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1Y:

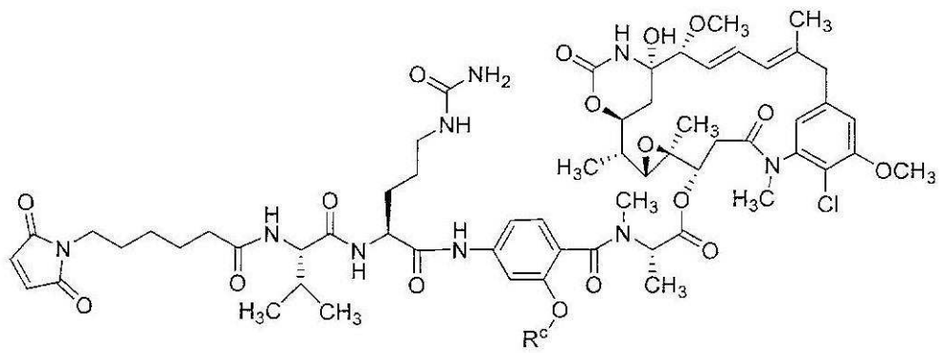


P1Y

donde:

R^1 es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, heteroalquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi; En algunas realizaciones, R^1 es metilo, etilo, metoxi o etoxi. En algunas de estas realizaciones, R^1 es metoxi. En algunas realizaciones, R^1 es 1-metiletil-tiol, fenilo, 2-fluorfenil- piridinilo, 4-piridinilo, pirrolidinilo, o 1-pirrolidinilo. En algunas realizaciones, R^1 es trifluormetilo. En algunas realizaciones, R^1 es flúor. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno.

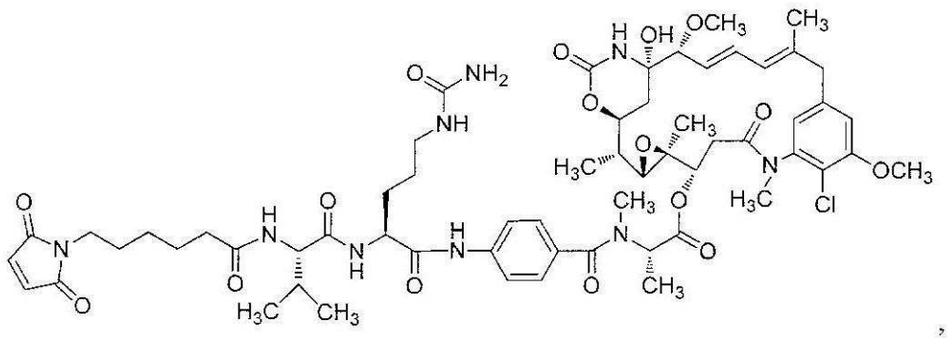
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1Z:



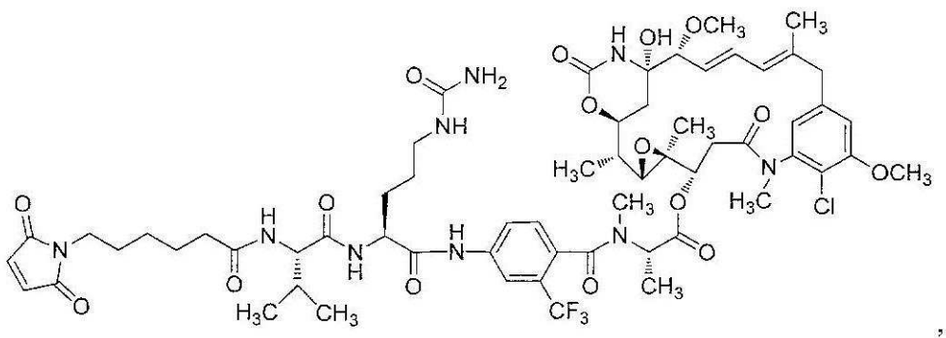
P1Z,

donde R^C es seleccionado de alquilo o haloalquilo y donde el alquilo o haloalquilo es lineal, ramificado o cíclico.

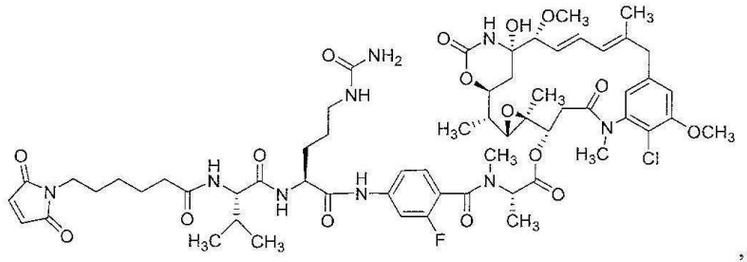
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto que tiene una de las siguientes estructuras:



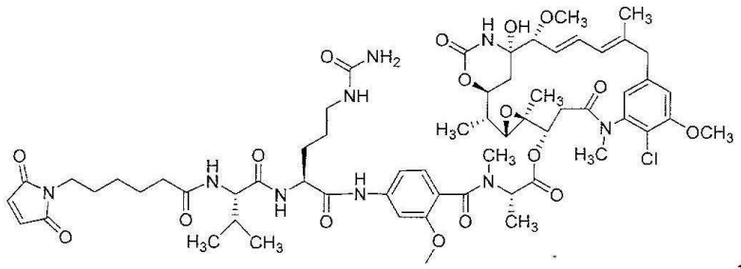
,



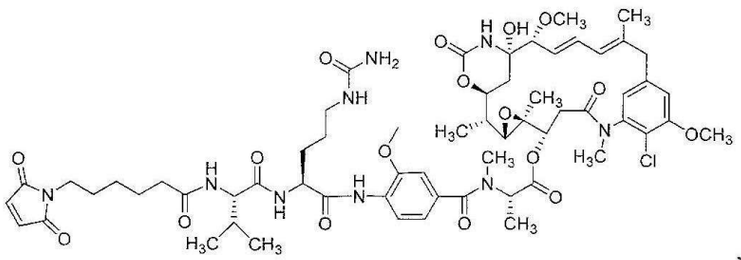
,



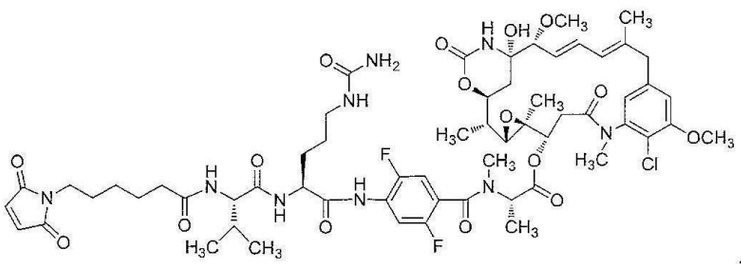
,



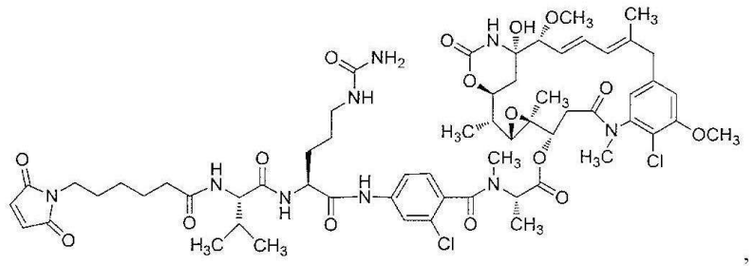
,



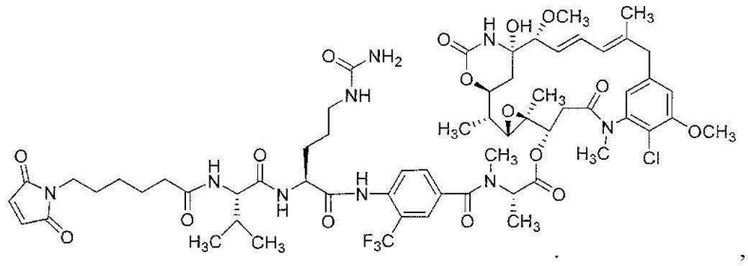
,



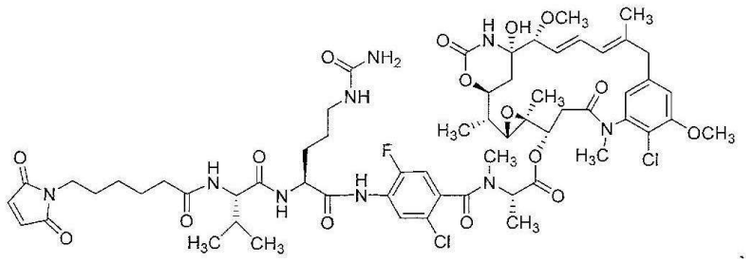
,



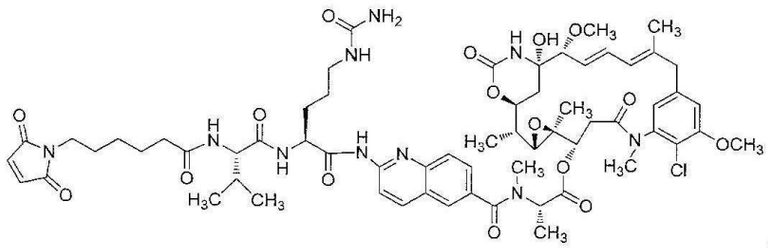
,



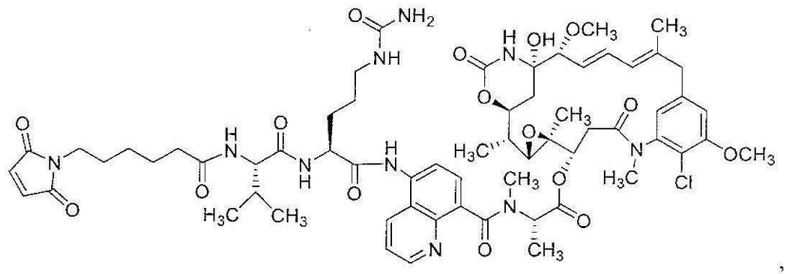
,

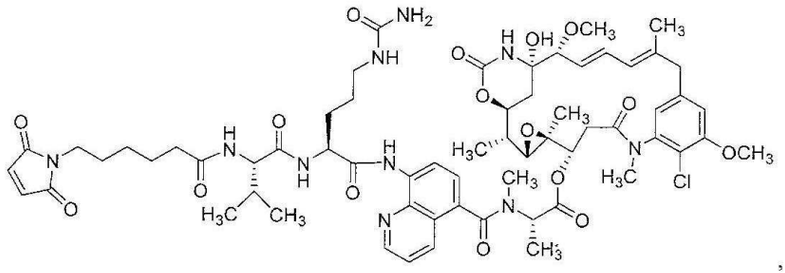


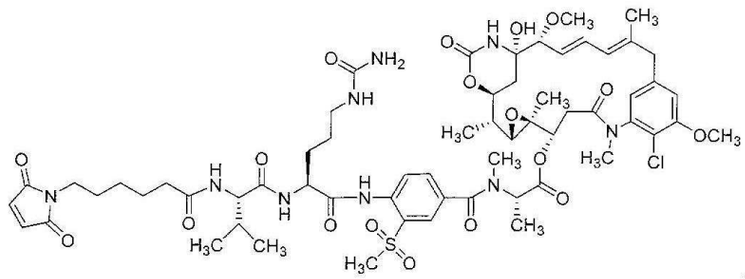
,

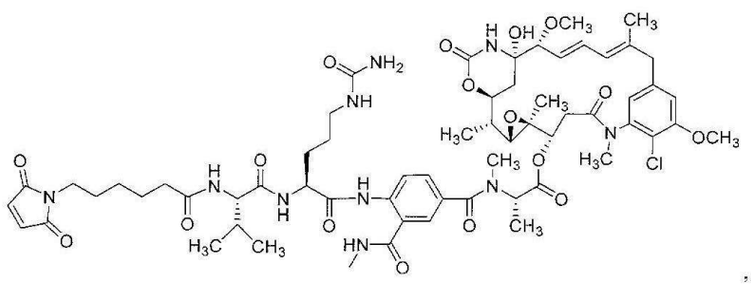


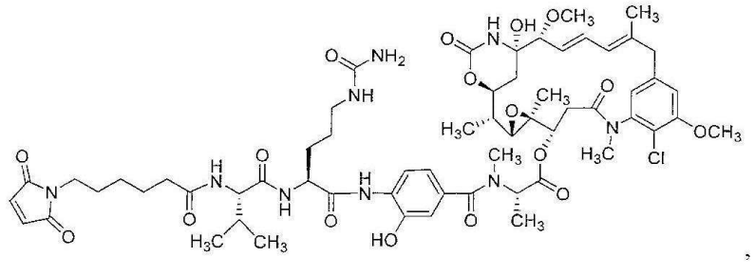
,



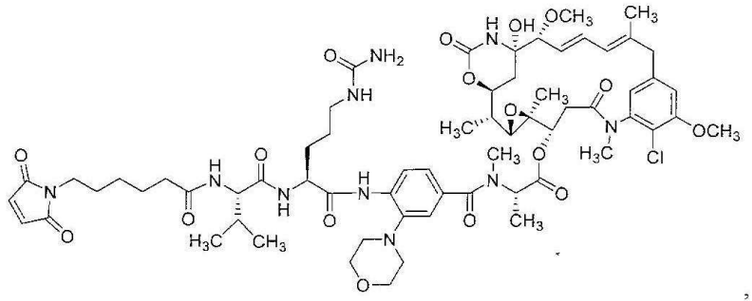




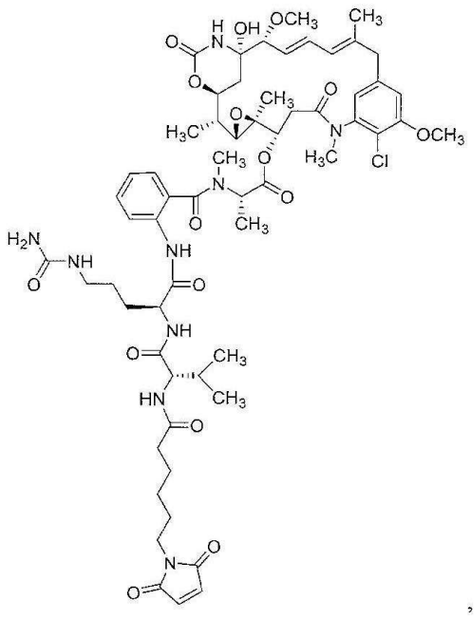




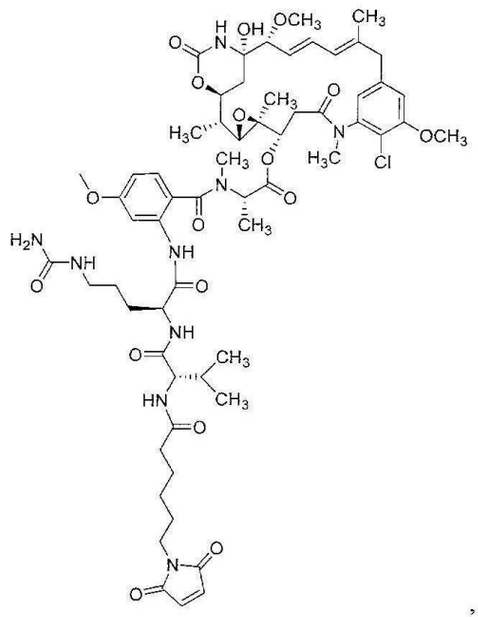
,



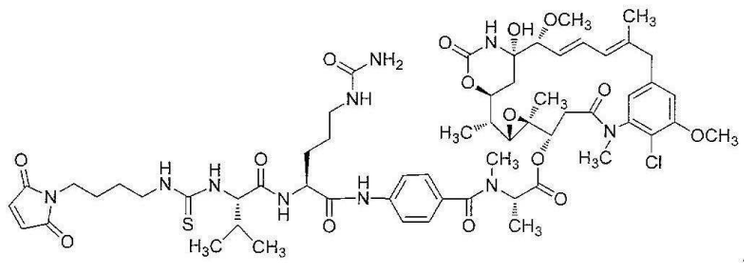
,



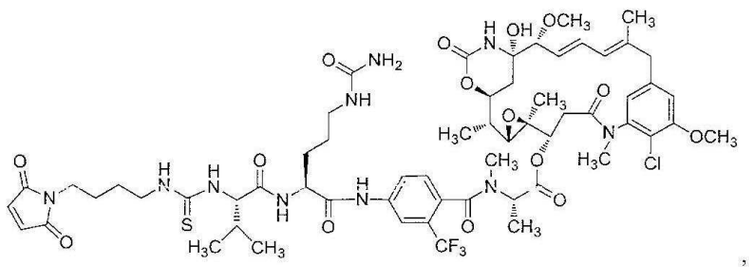
,



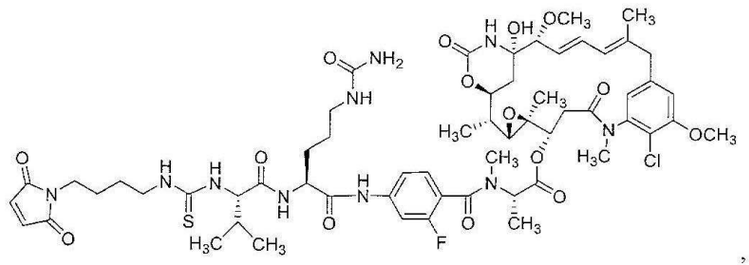
,



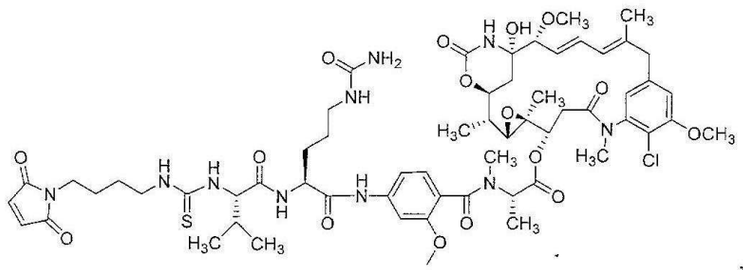
,



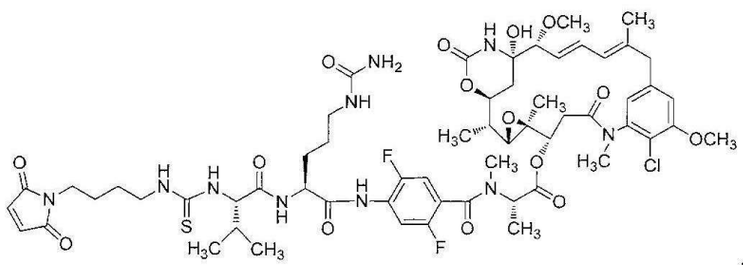
,



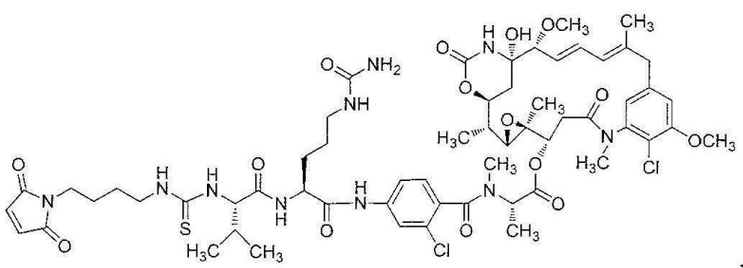
,



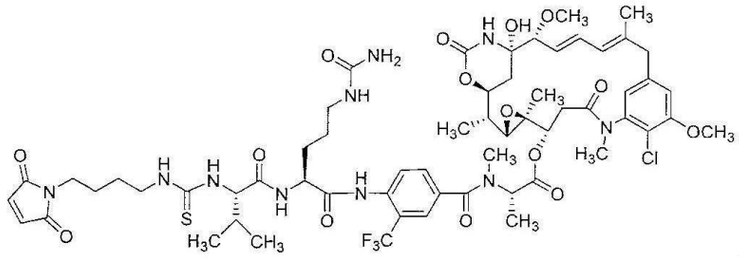
,



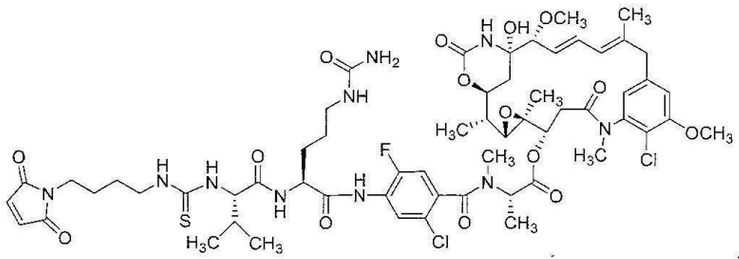
,



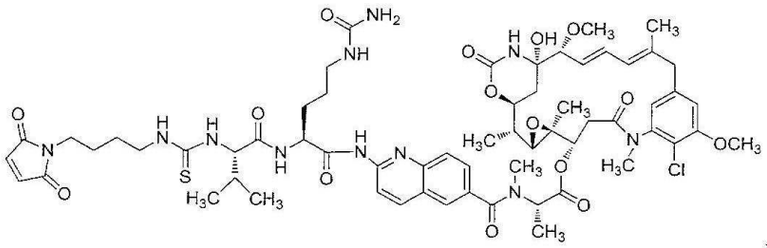
,



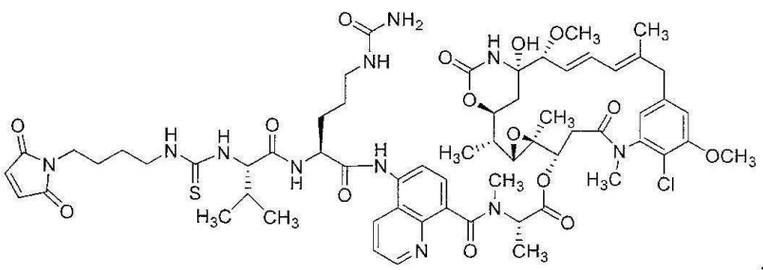
,



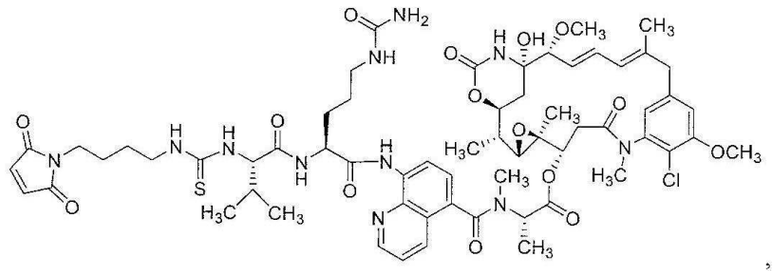
,



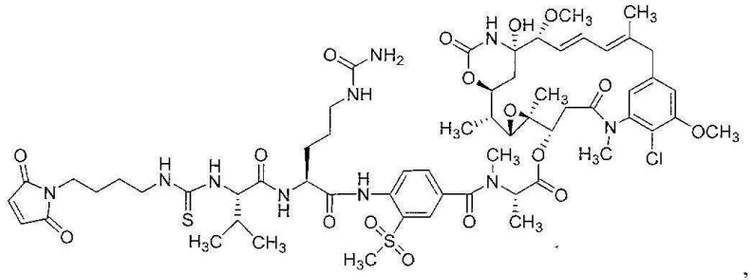
,



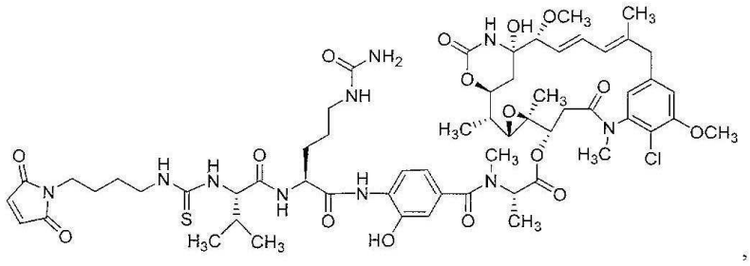
,



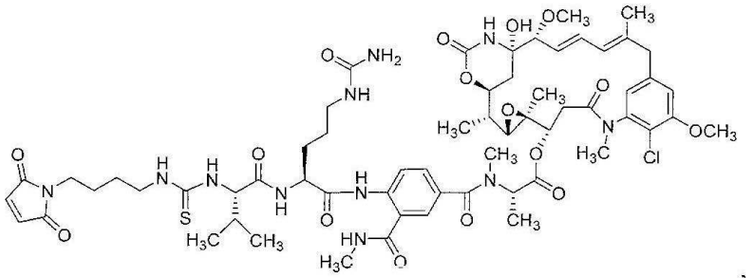
,



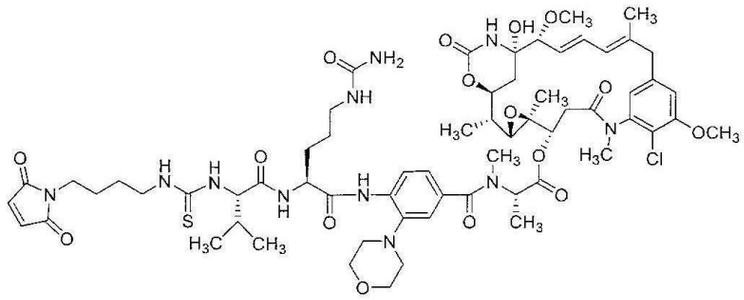
,



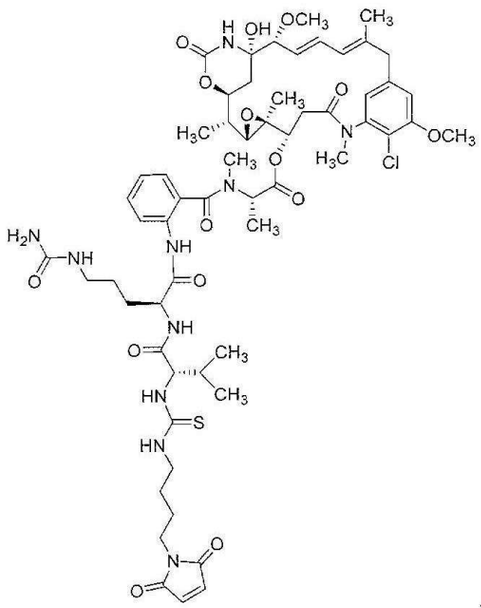
,



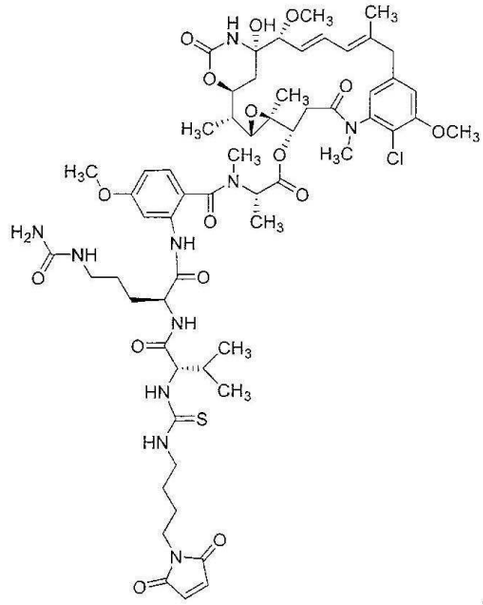
,

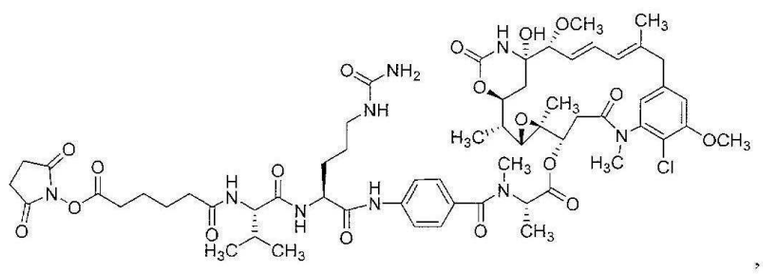


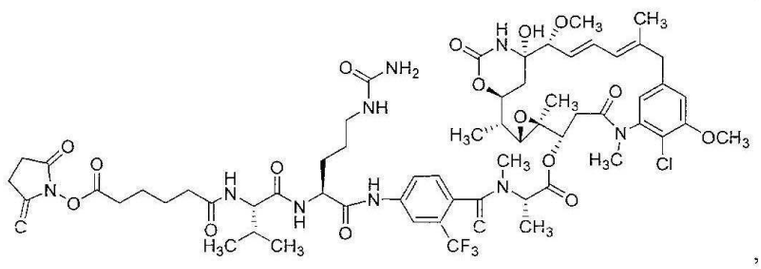
,

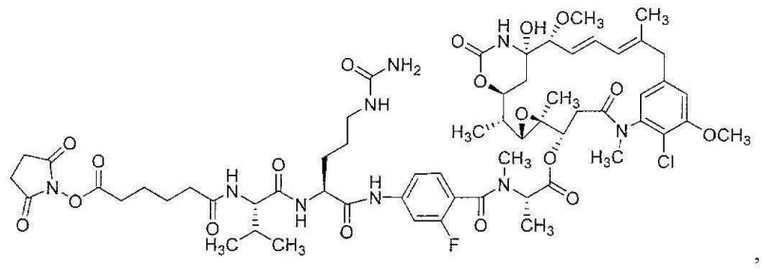


,

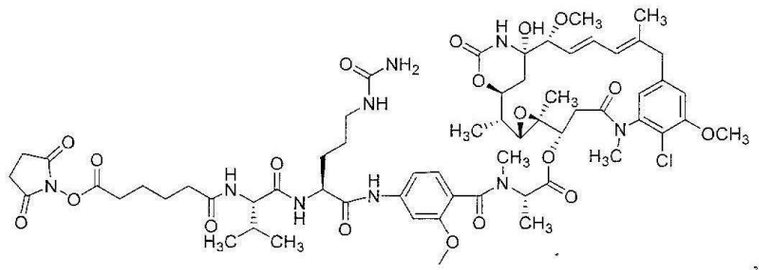




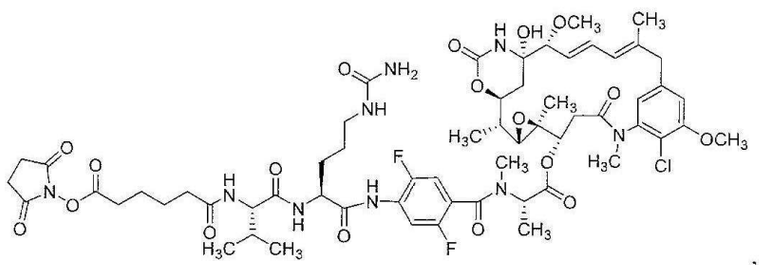




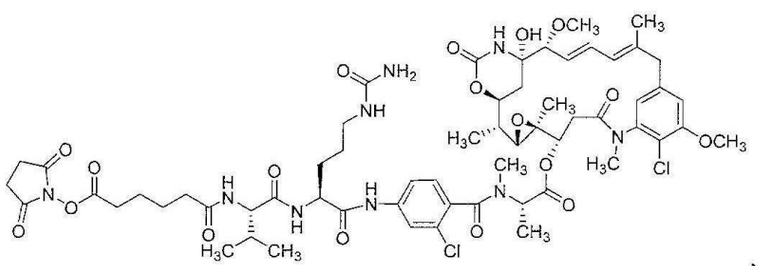
,



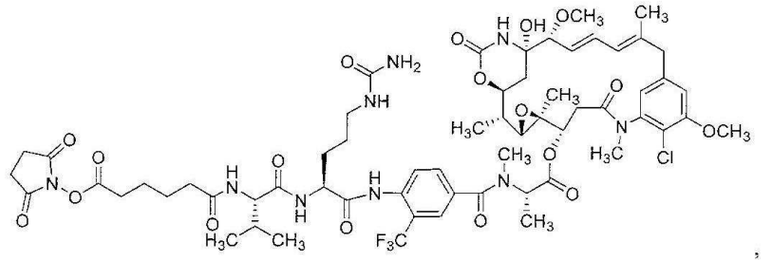
,



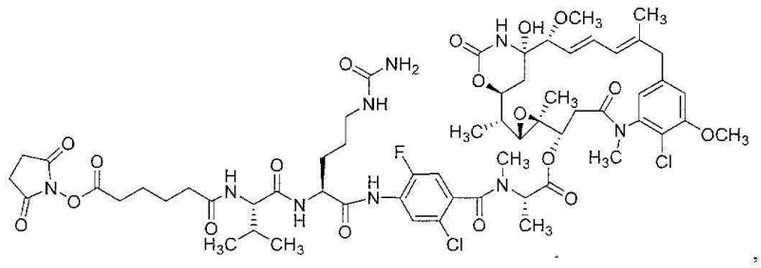
,



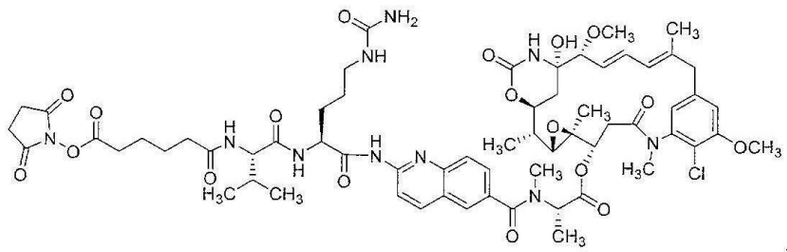
,



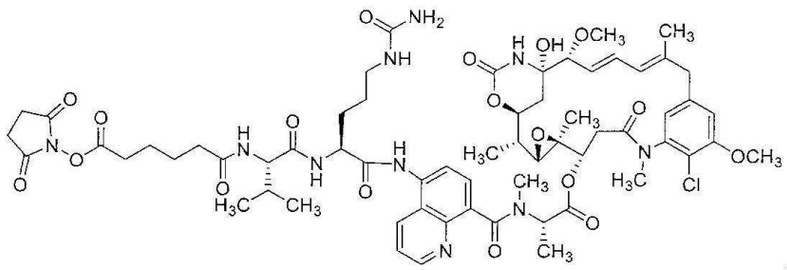
,



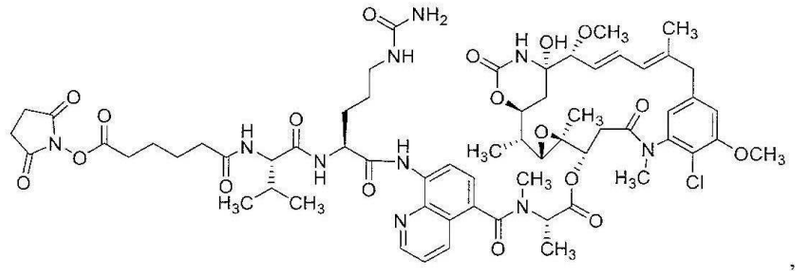
,



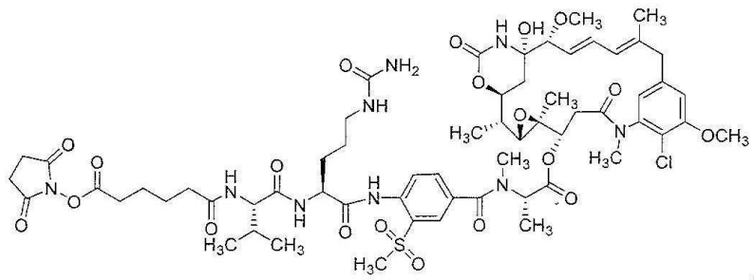
,



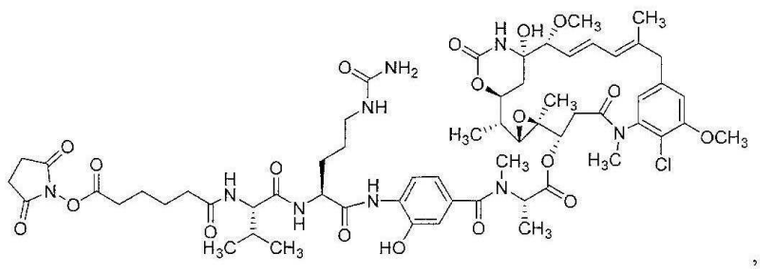
,



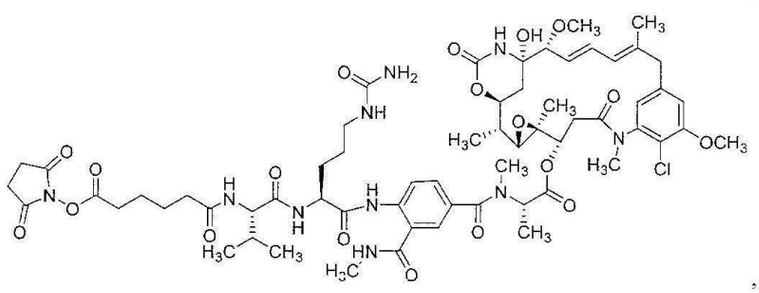
,



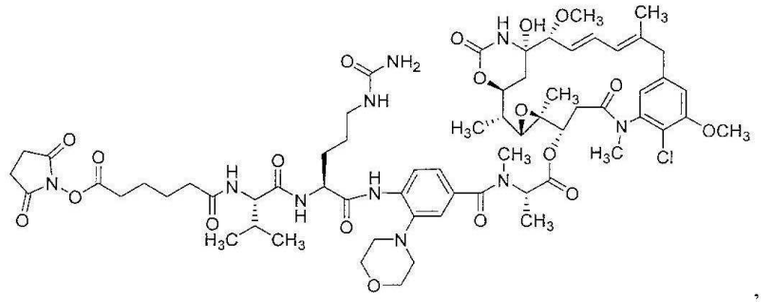
,

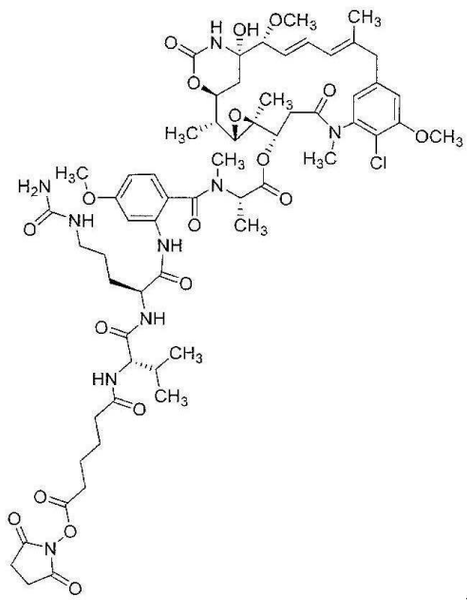


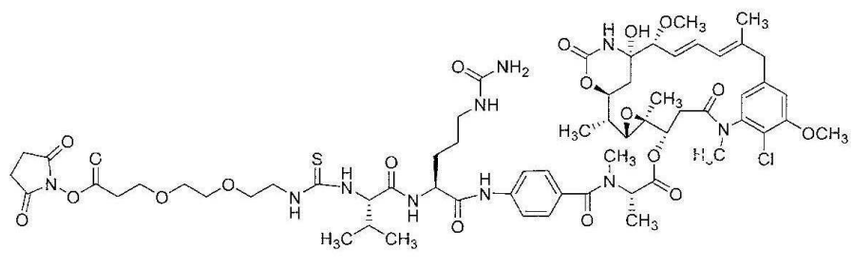
,

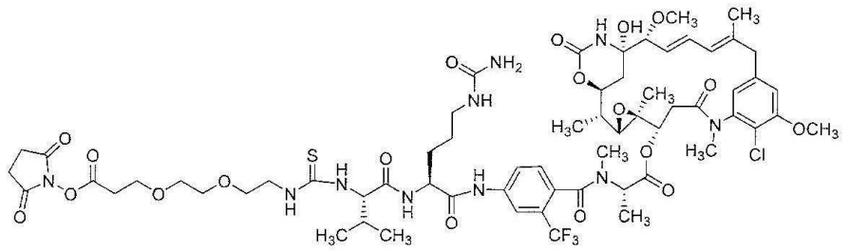


,

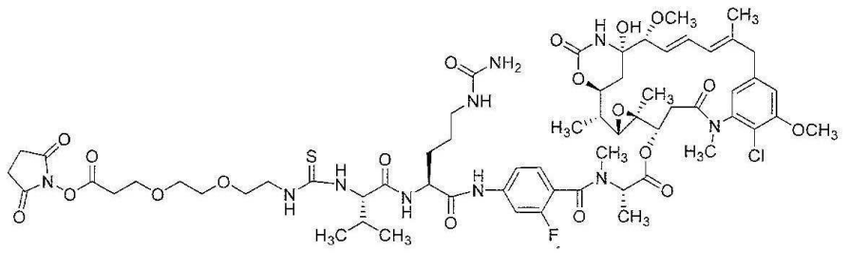




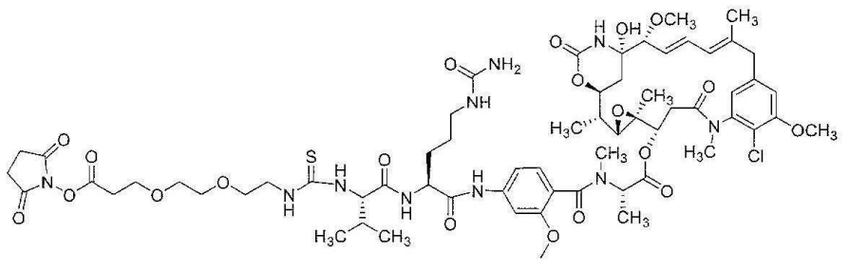




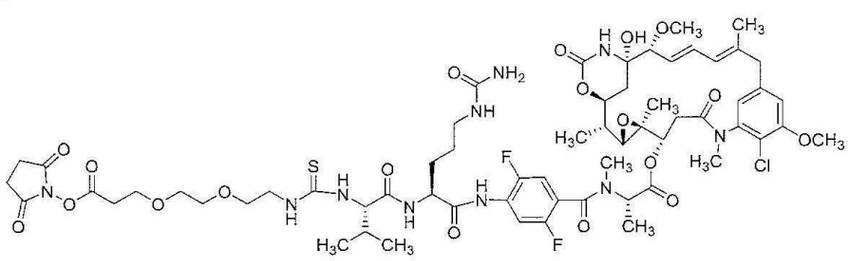
,



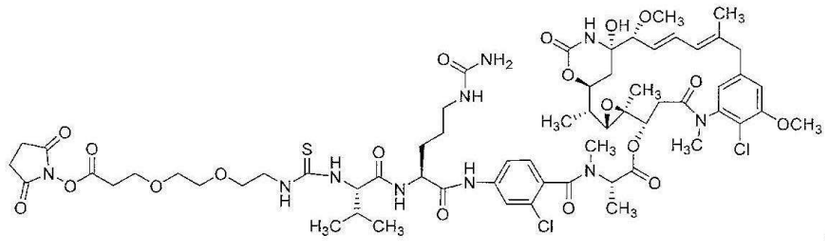
,



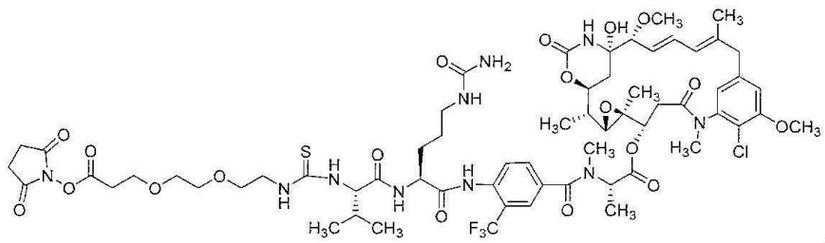
,



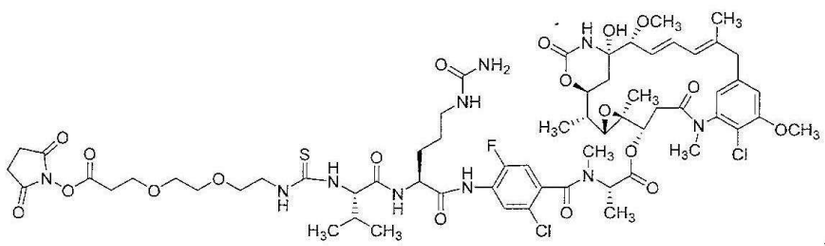
,



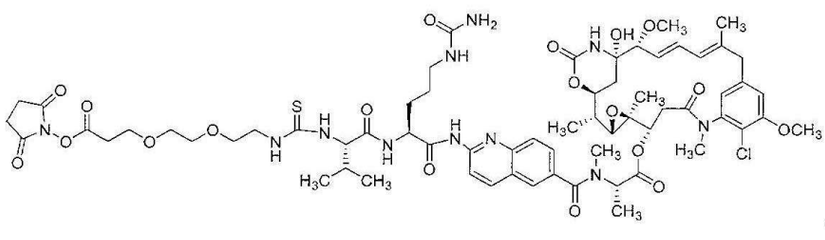
,



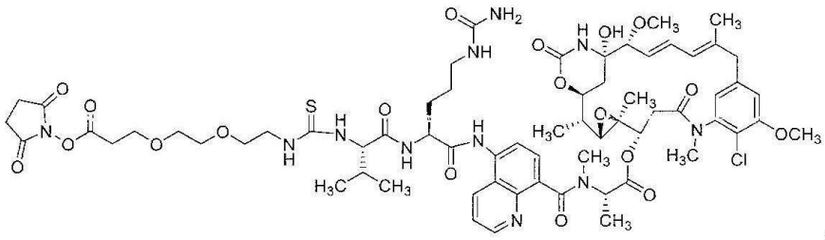
,



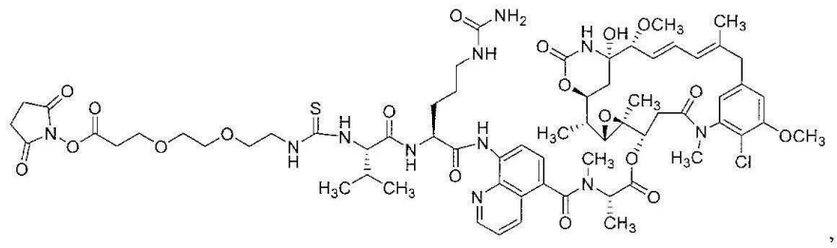
,



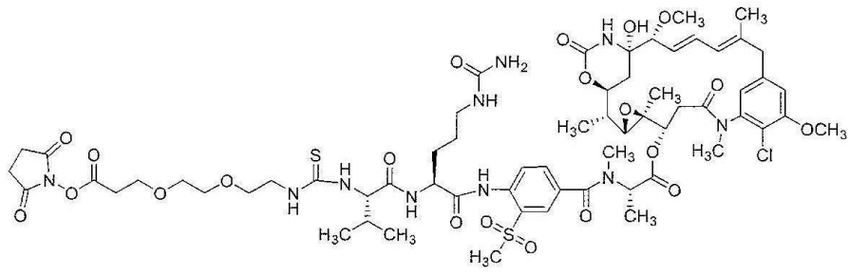
,



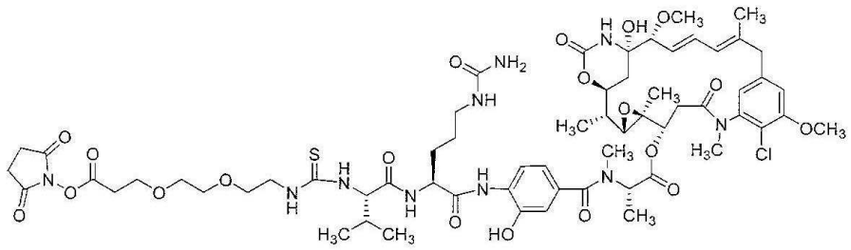
,



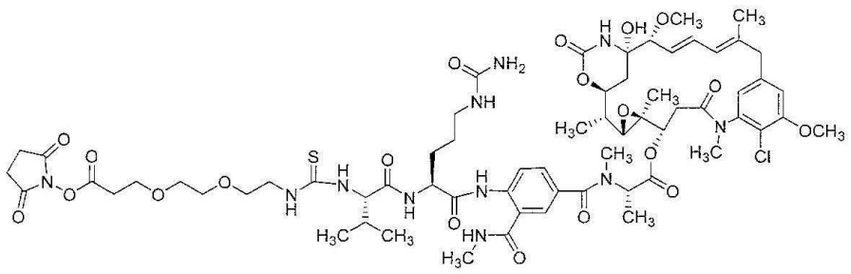
,



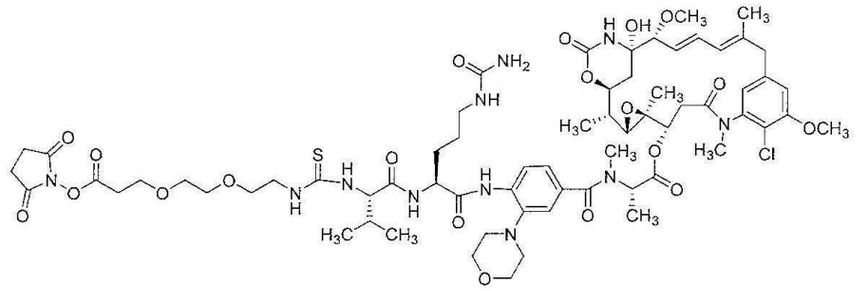
,



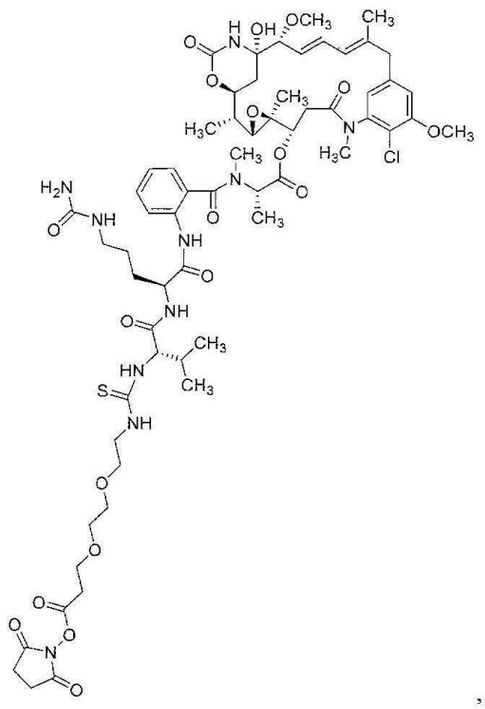
,



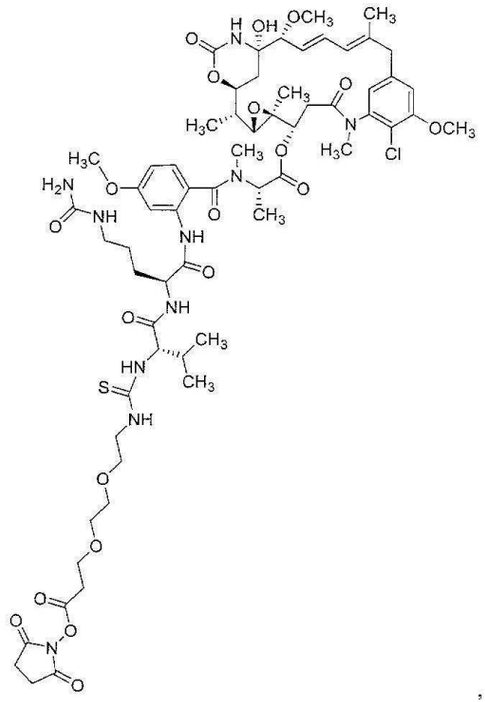
,



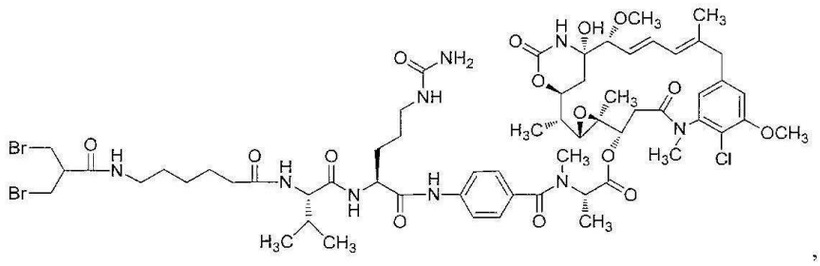
,



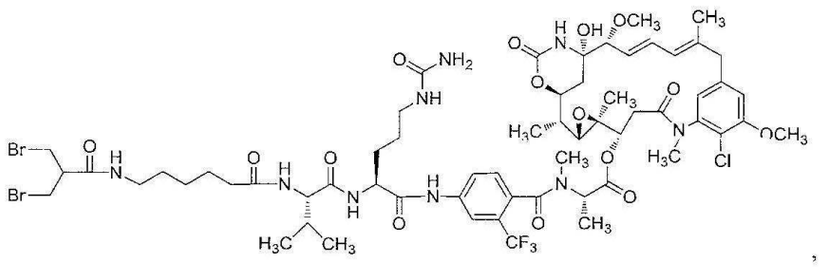
,



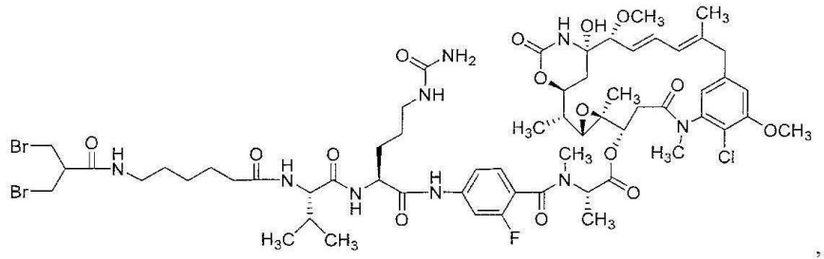
,



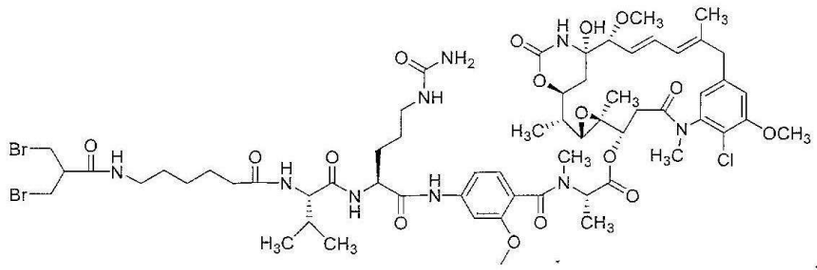
,



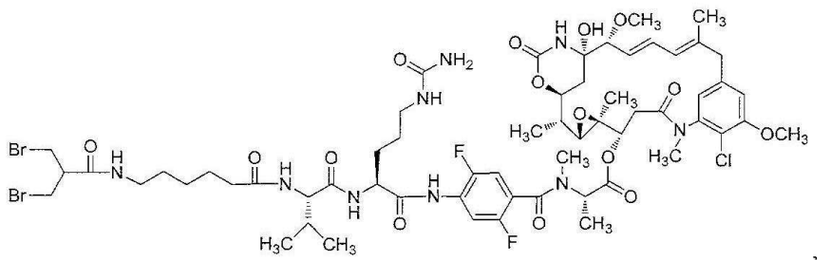
,



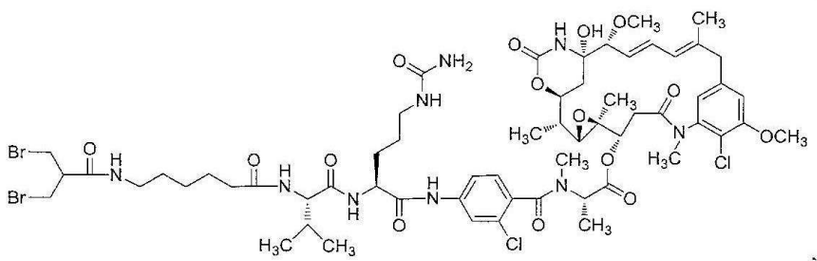
,



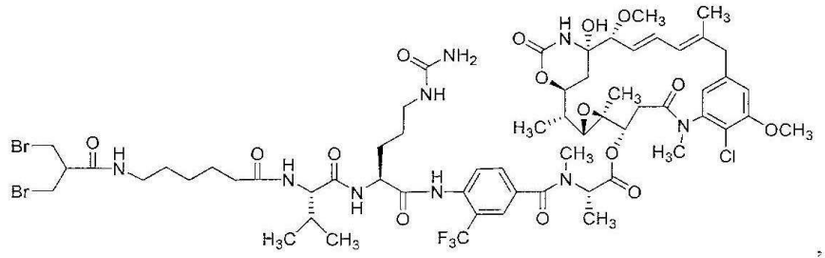
,



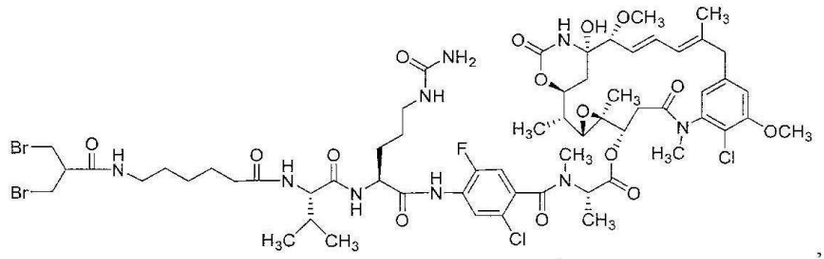
,



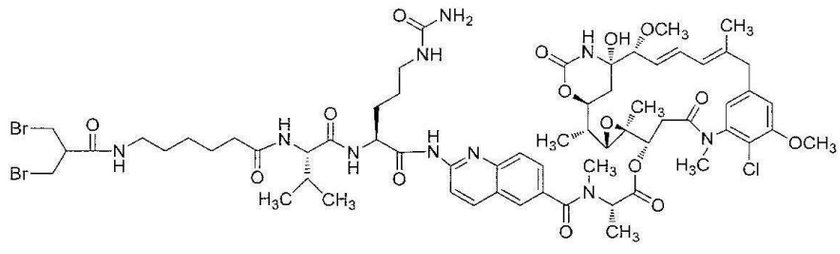
,



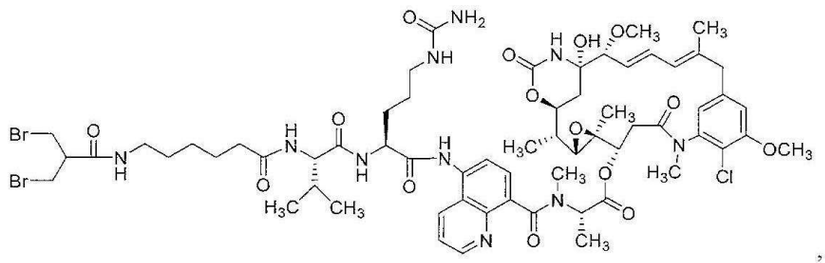
,



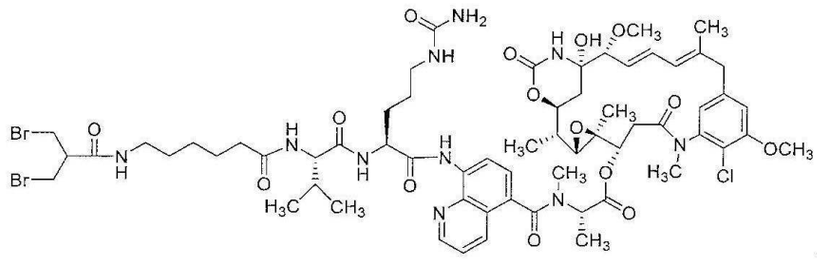
,



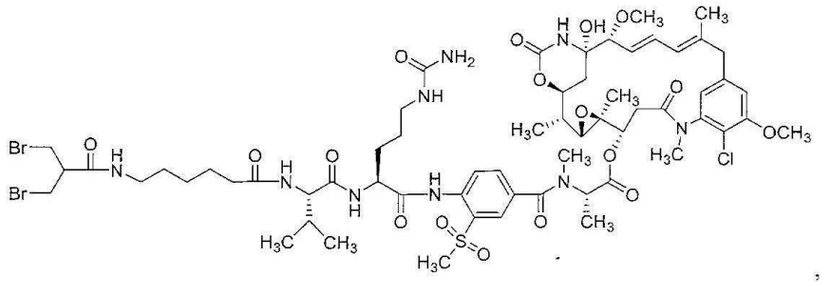
,



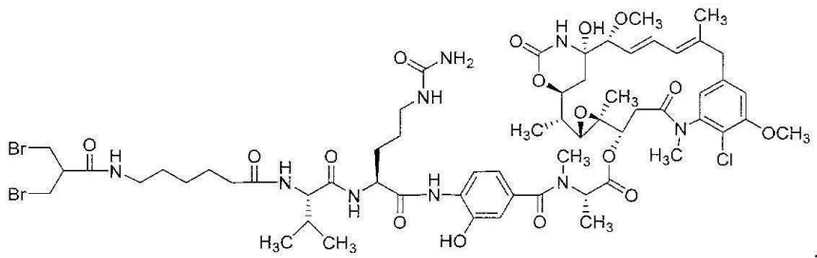
,



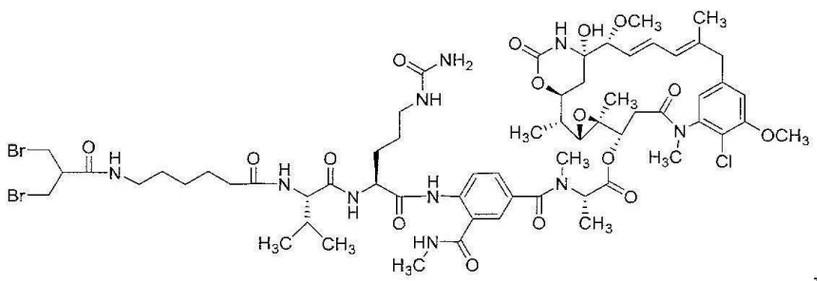
,



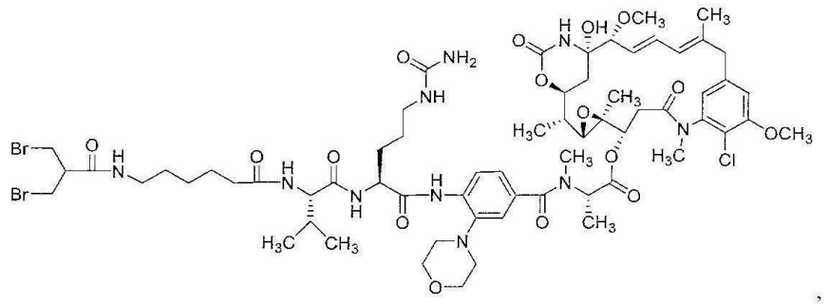
,

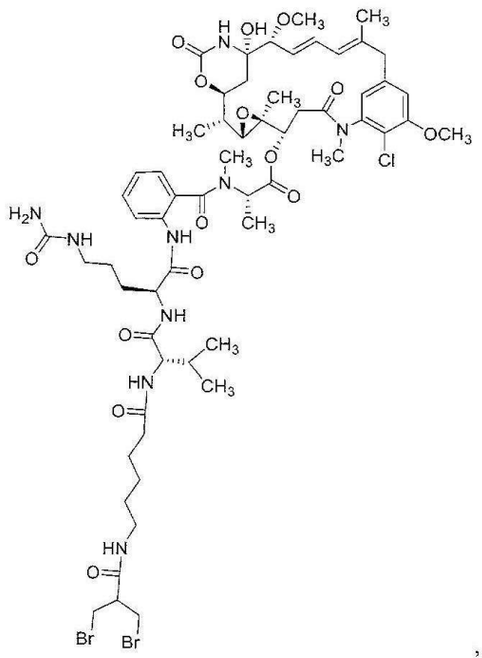


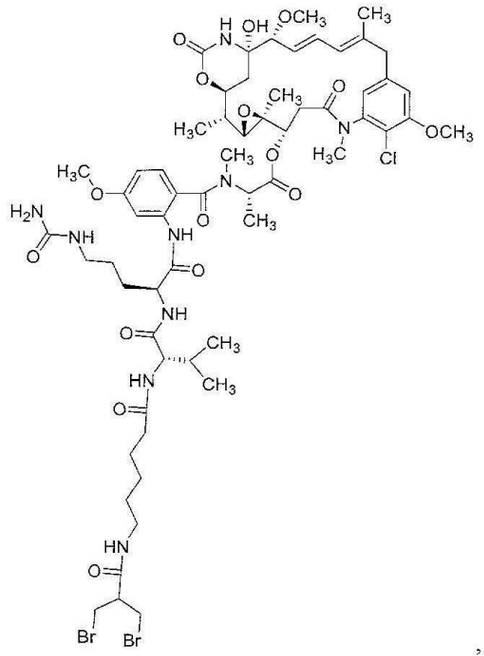
,

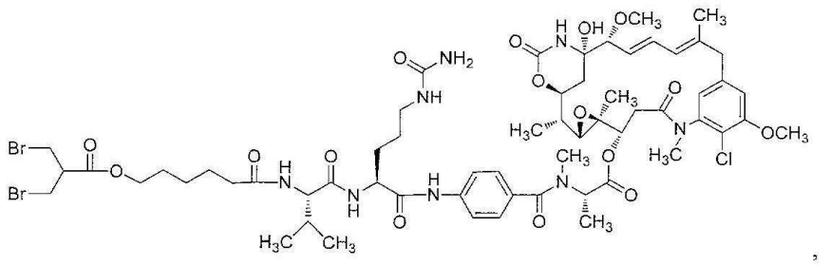


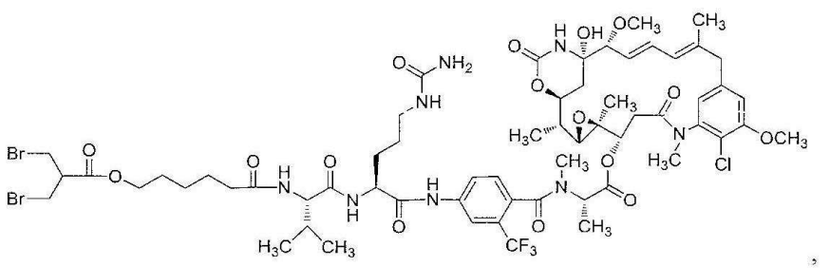
,

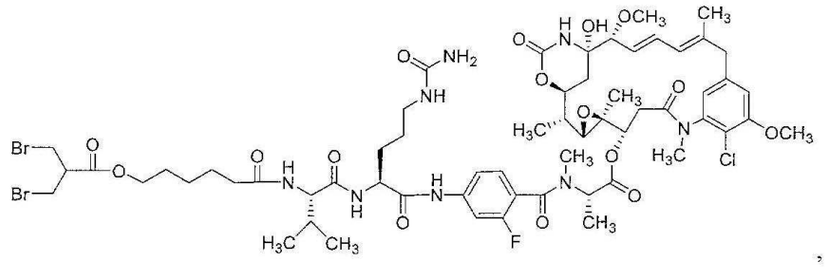


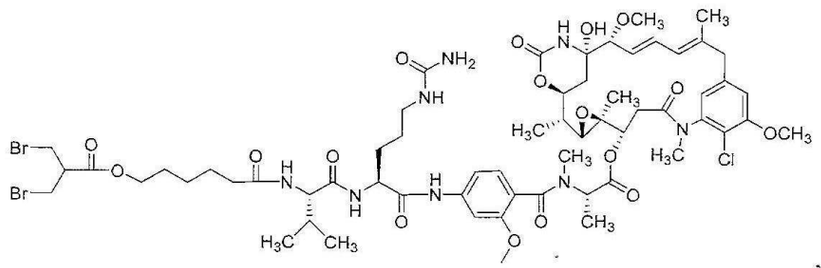


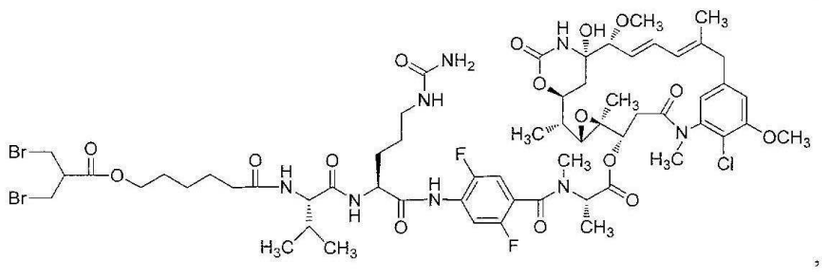


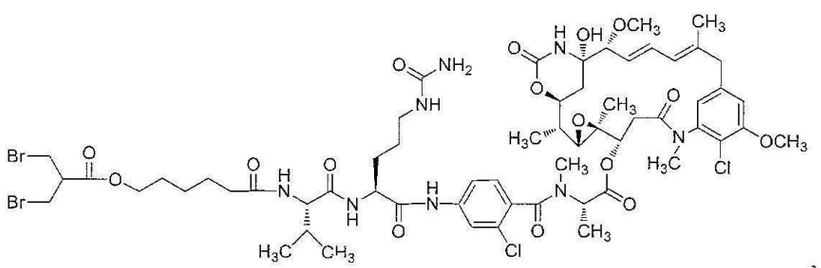


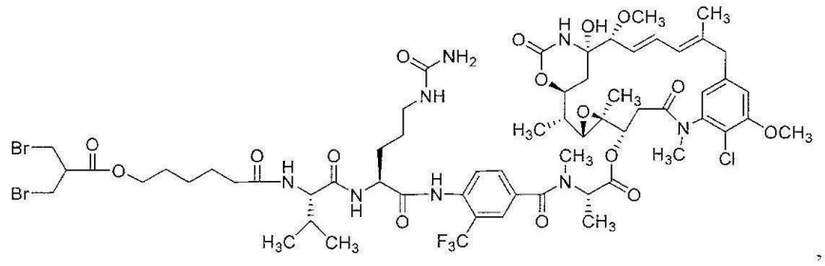


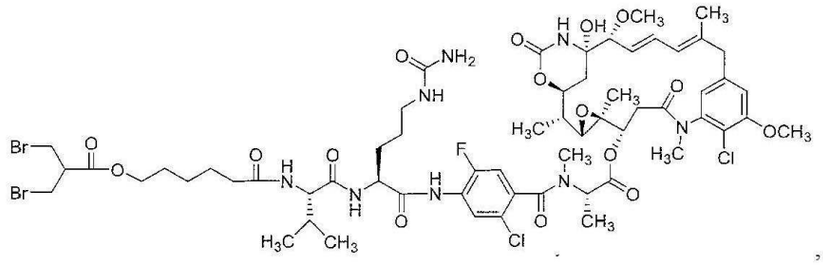


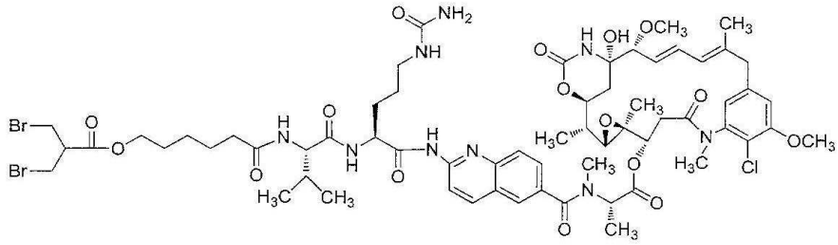


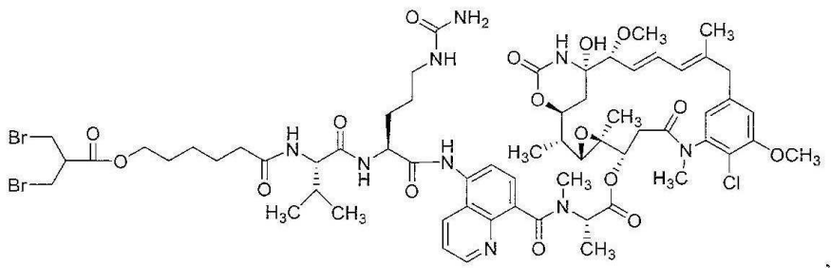


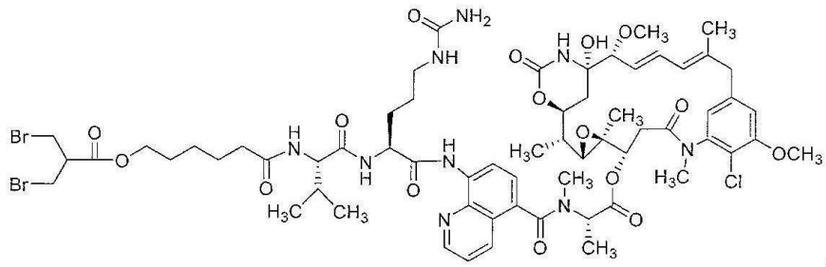


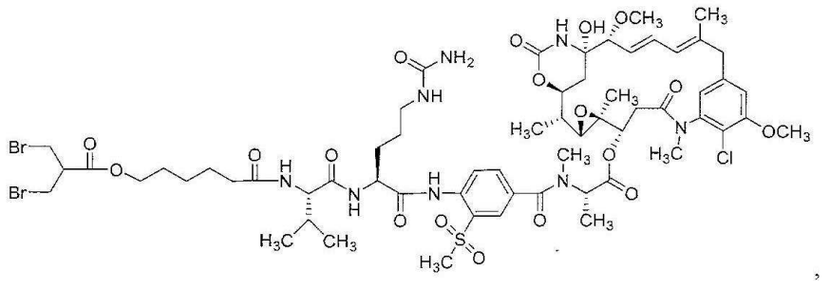


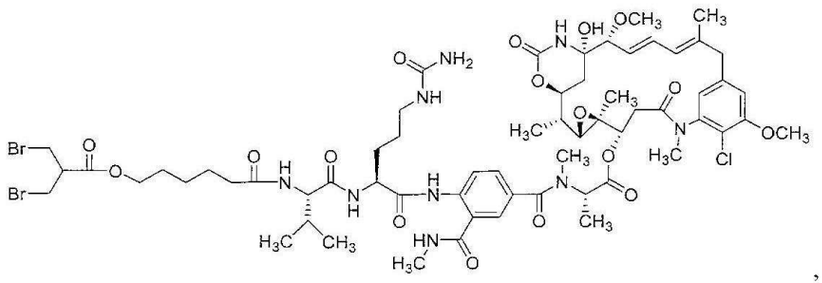


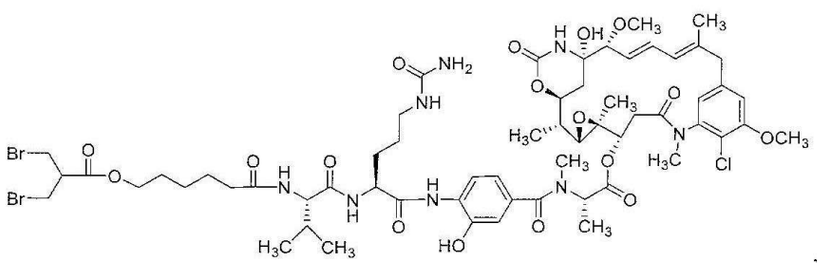


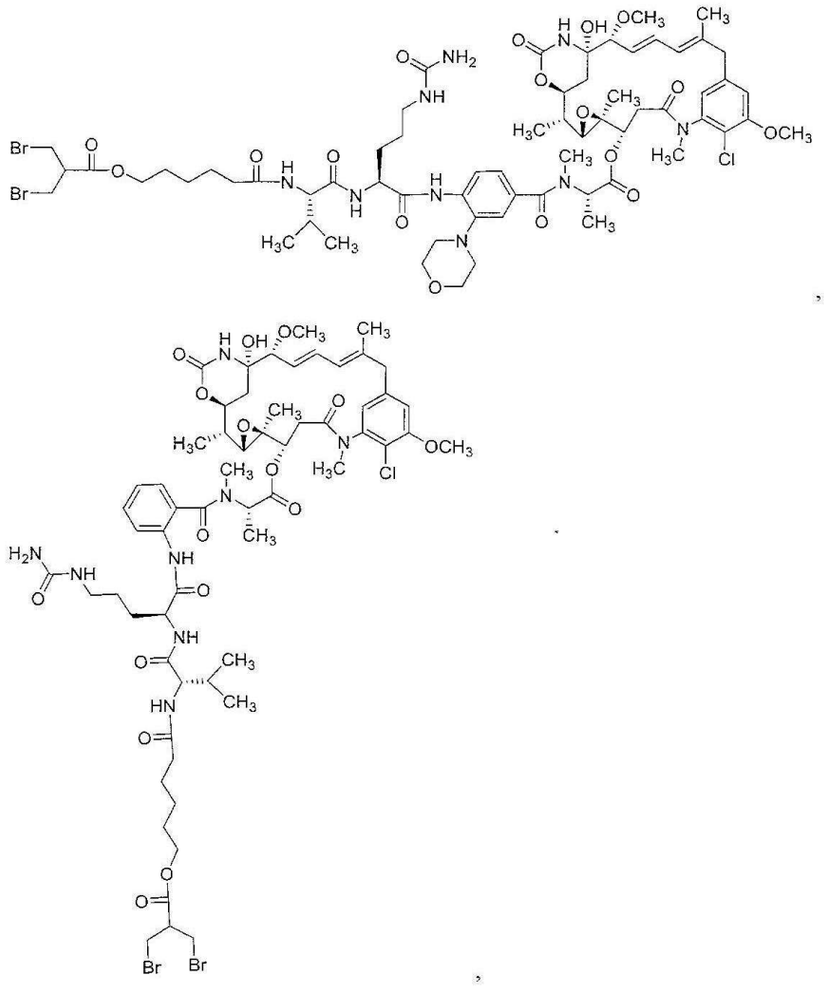


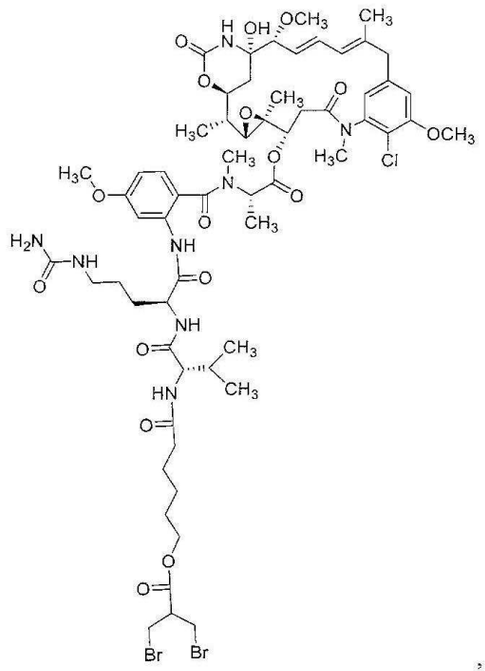


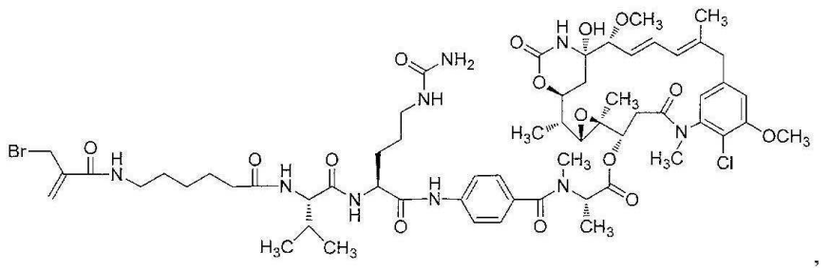


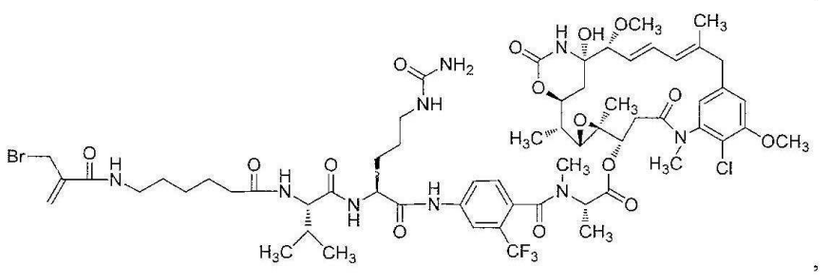


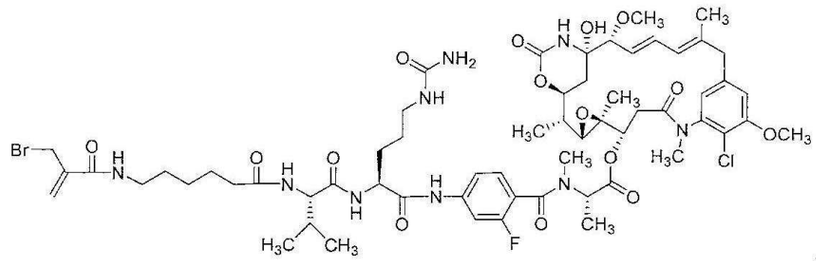




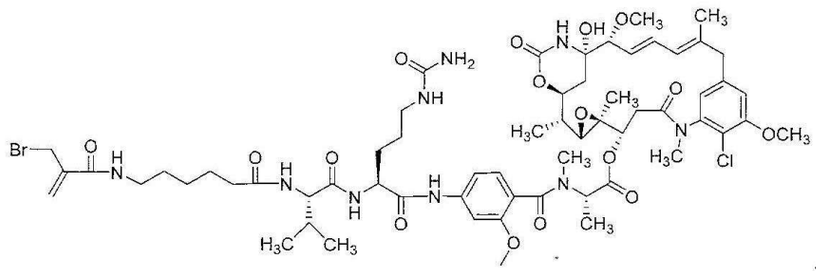




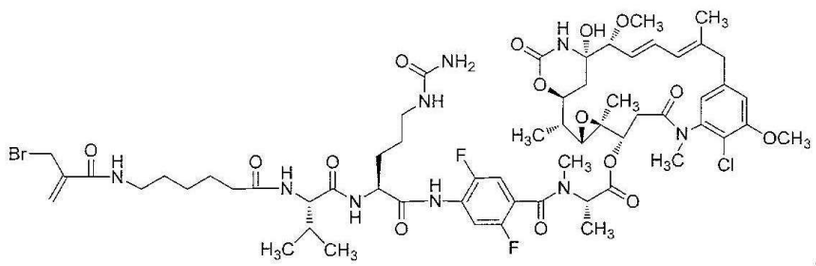




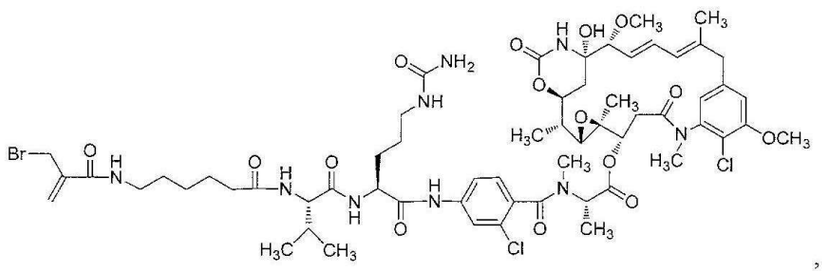
,



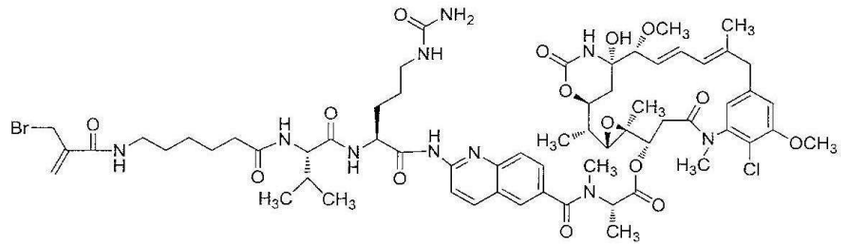
,



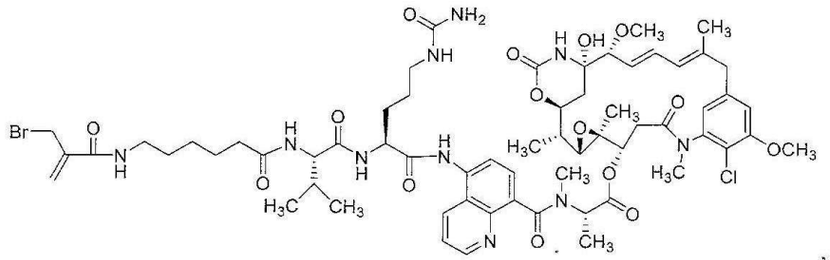
,



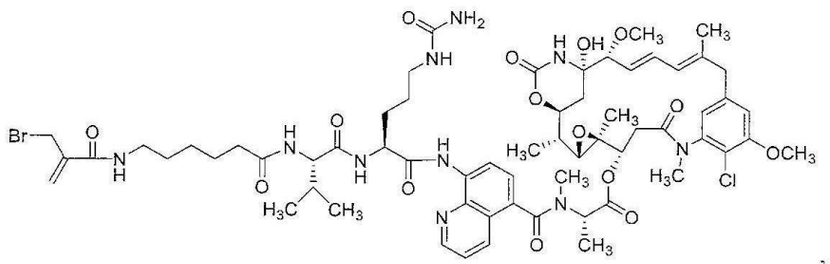
,



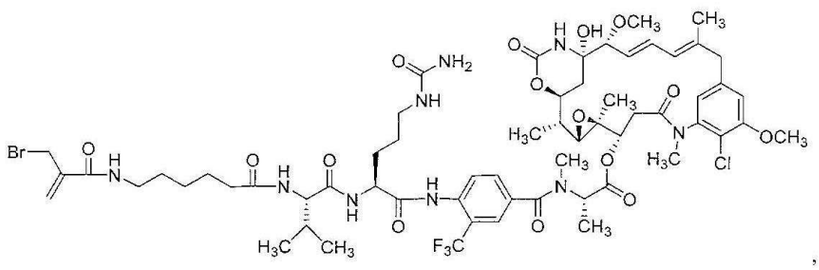
,



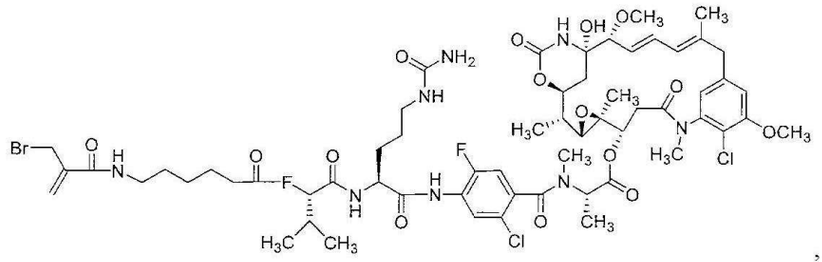
,



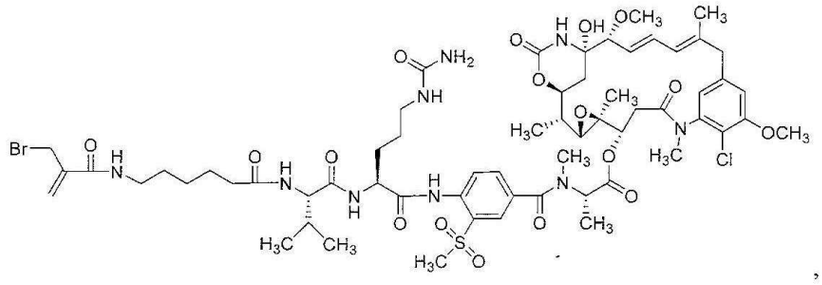
,



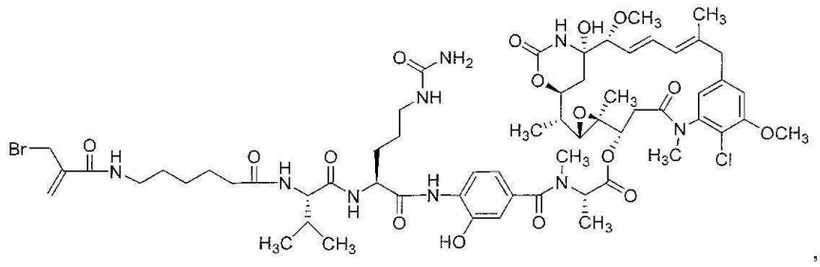
,



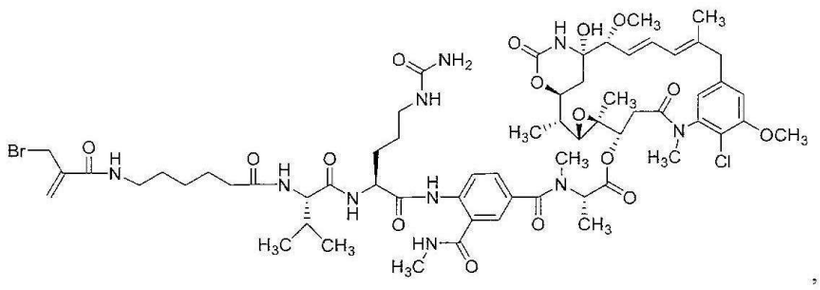
,



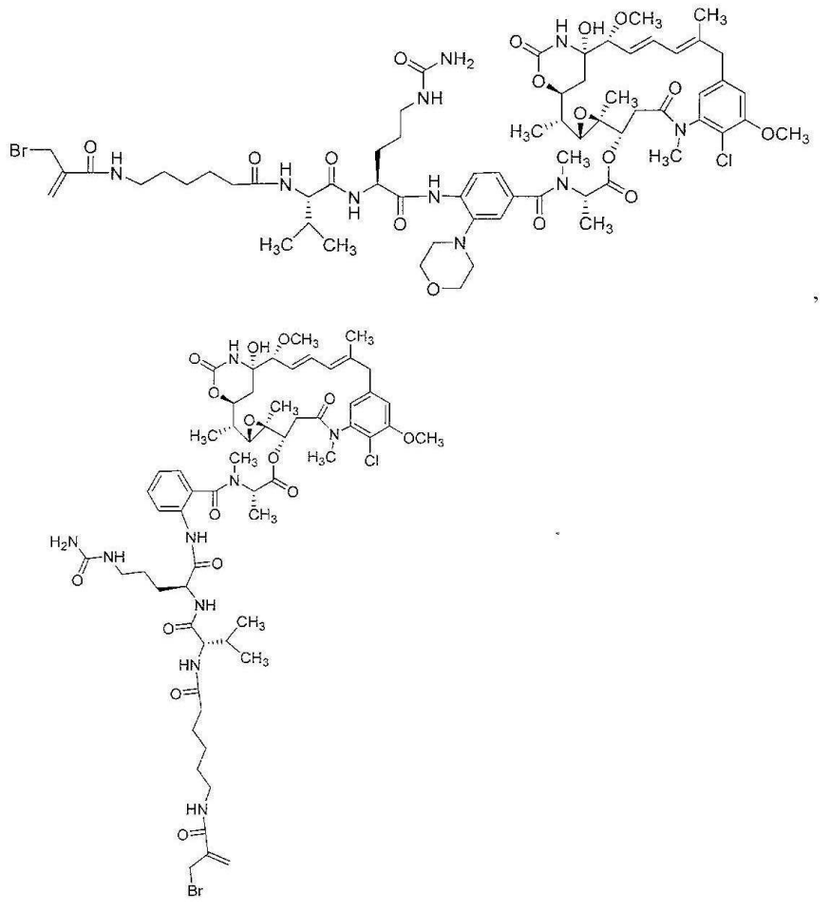
,

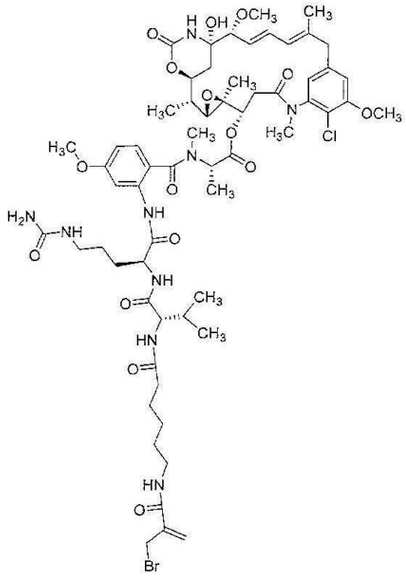


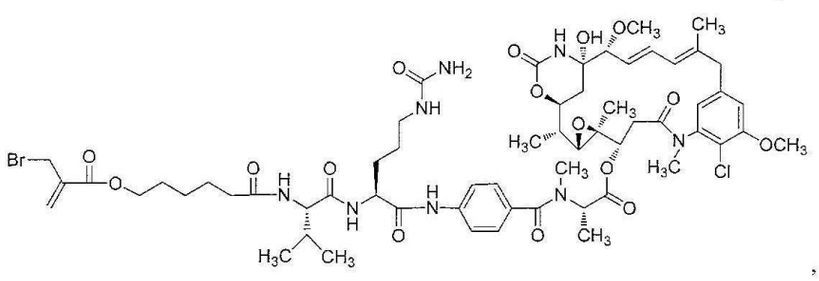
,

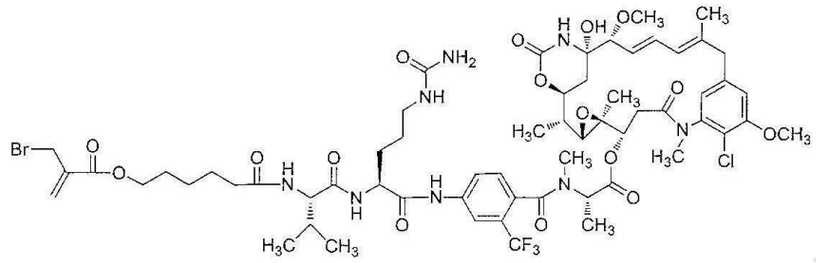


,

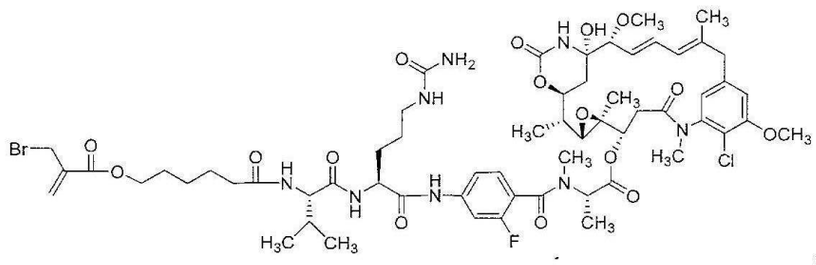




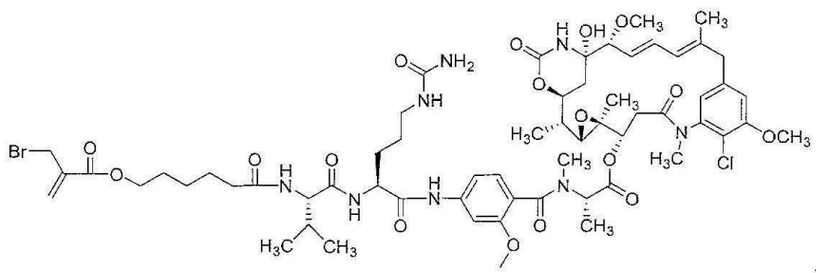




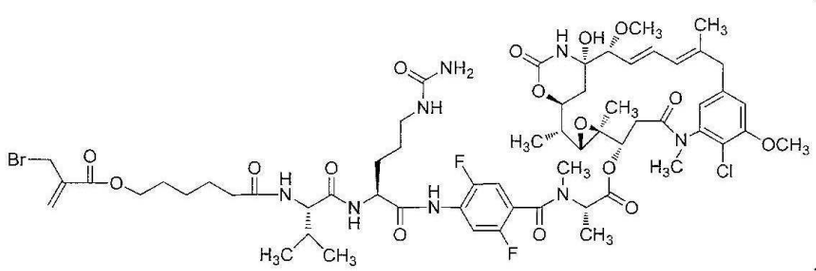
,



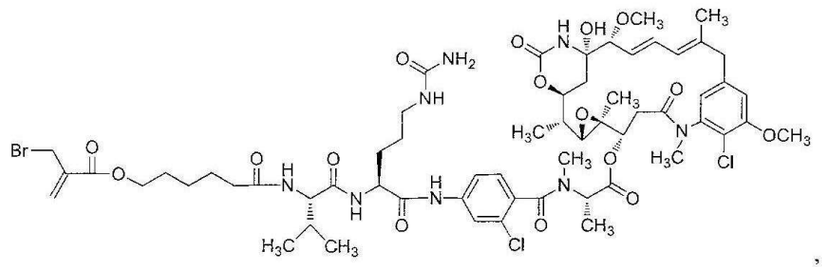
,



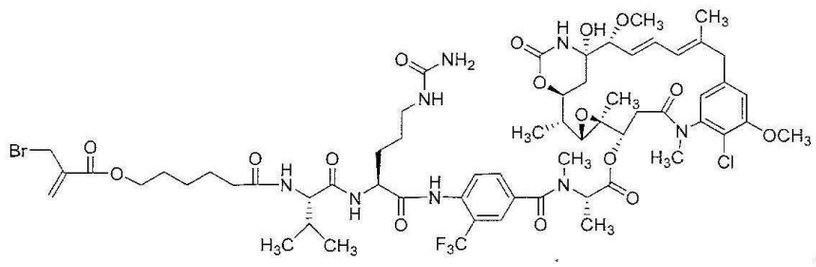
,



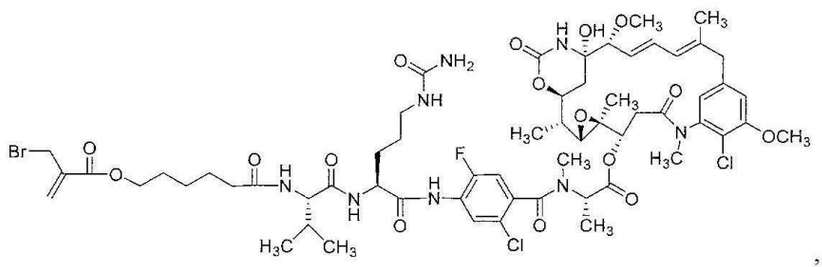
,



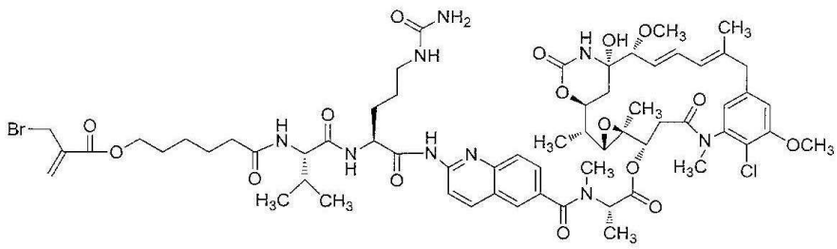
,



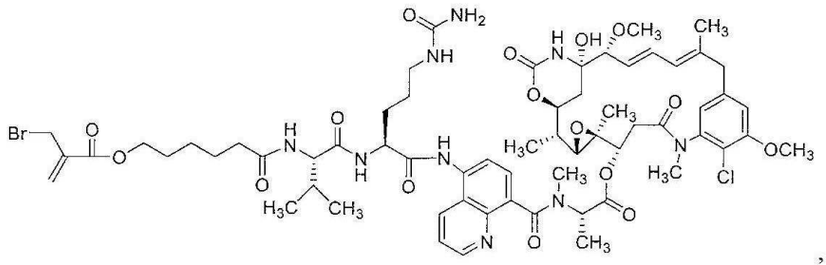
,



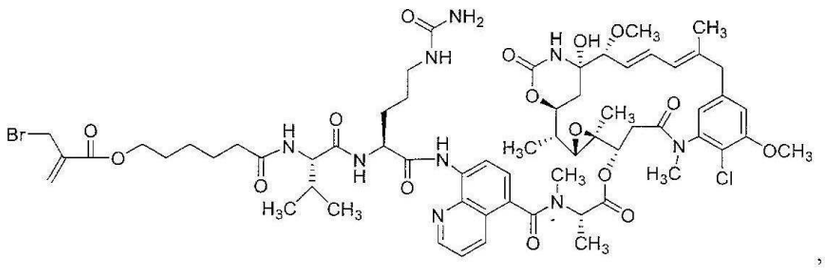
,



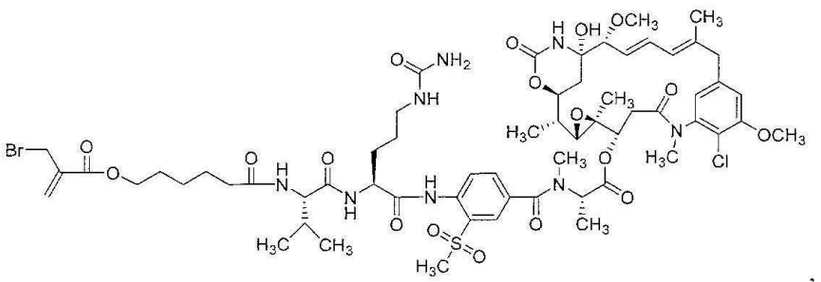
,



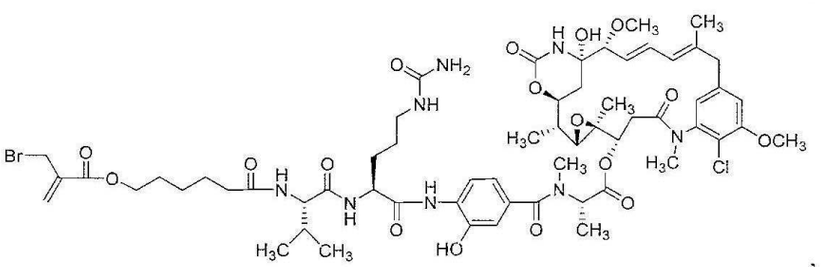
,



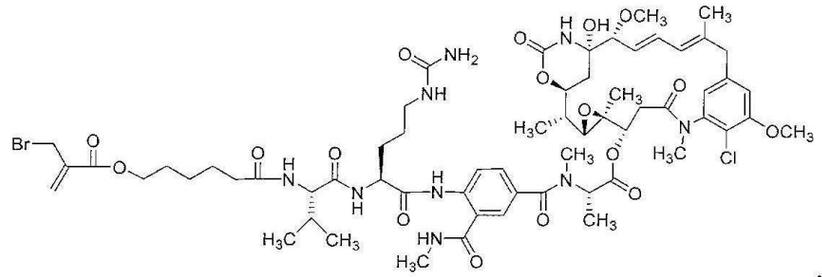
,

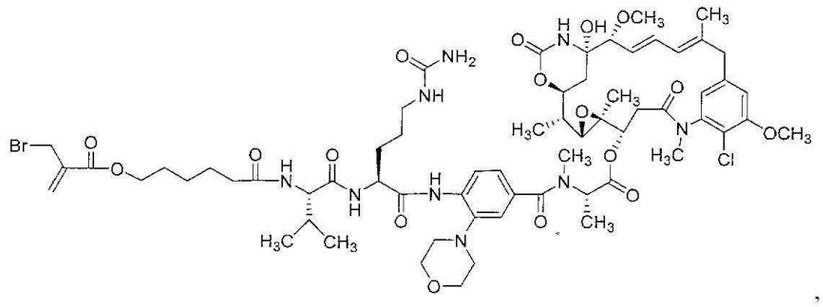


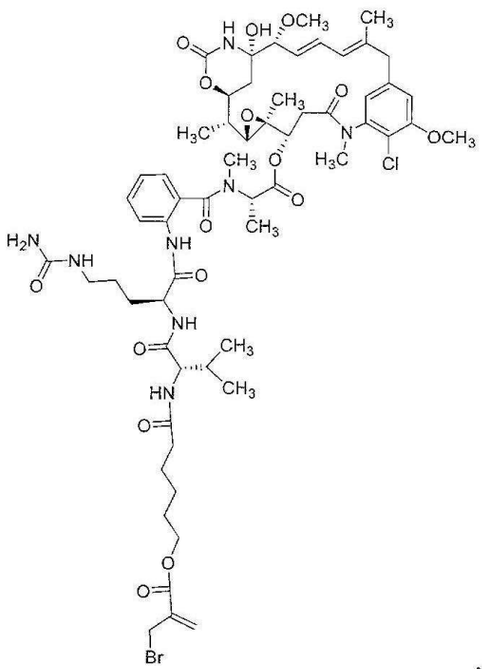
,

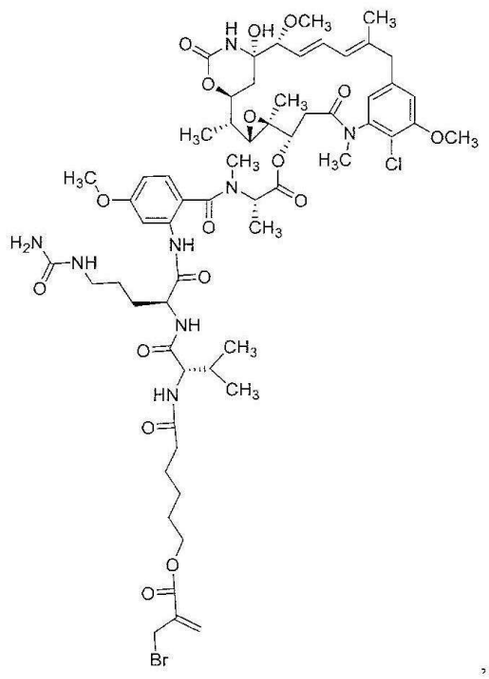


,

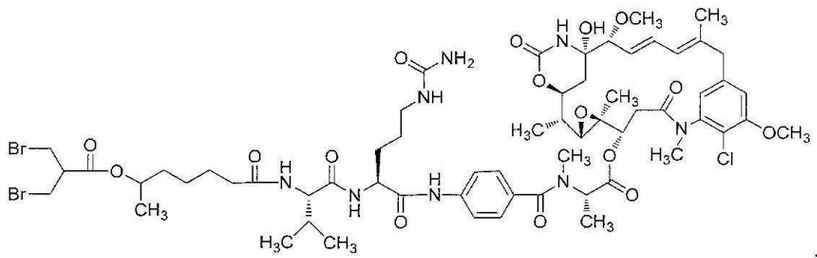




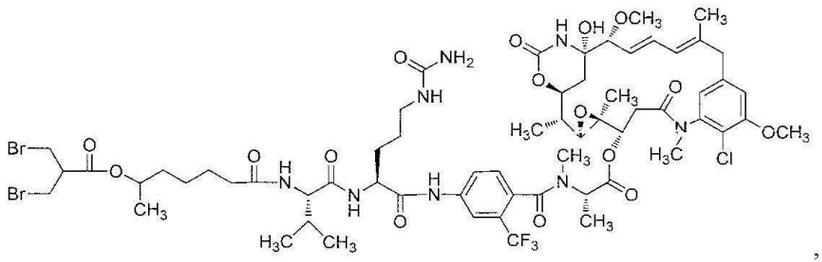




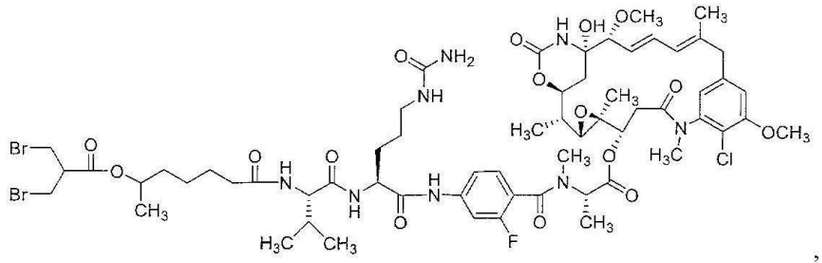
,



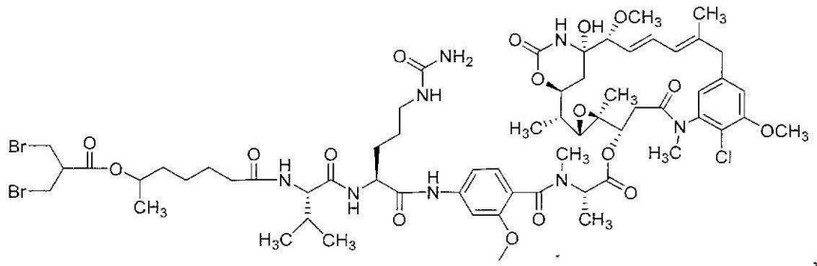
,



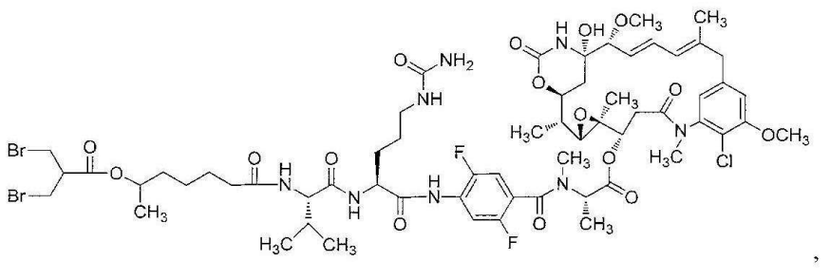
,



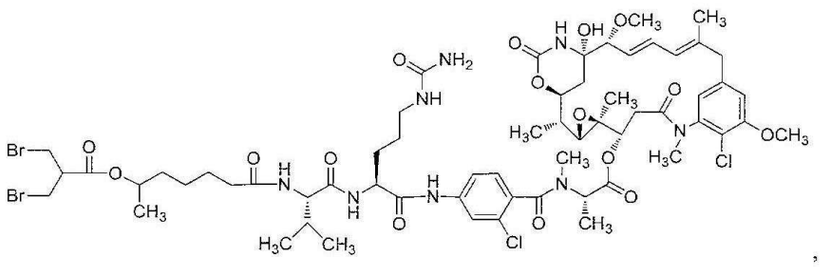
,



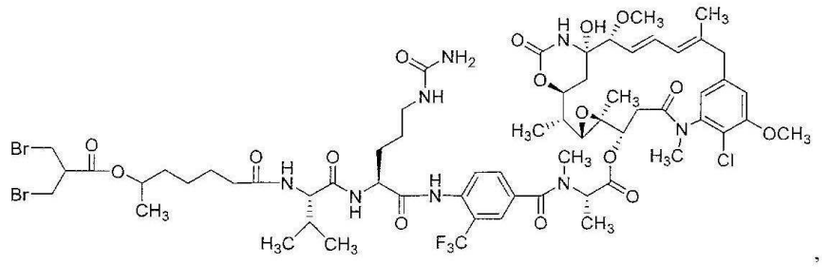
,



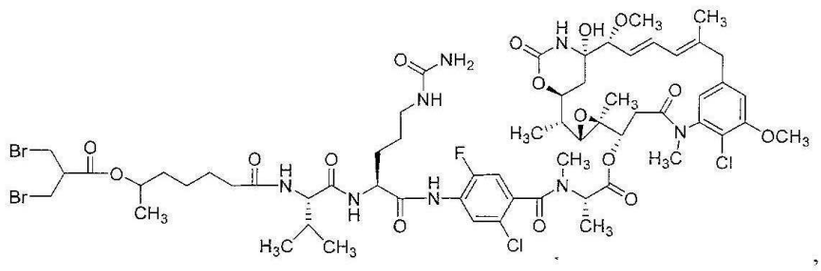
,



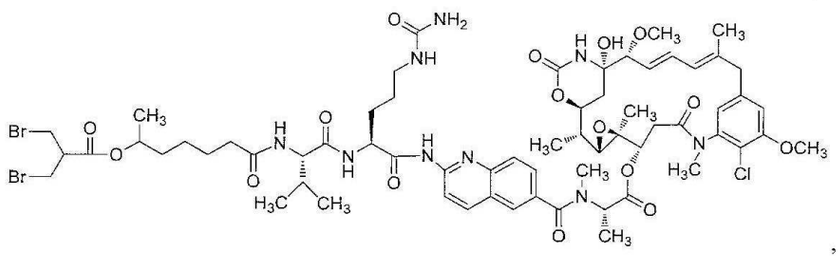
,



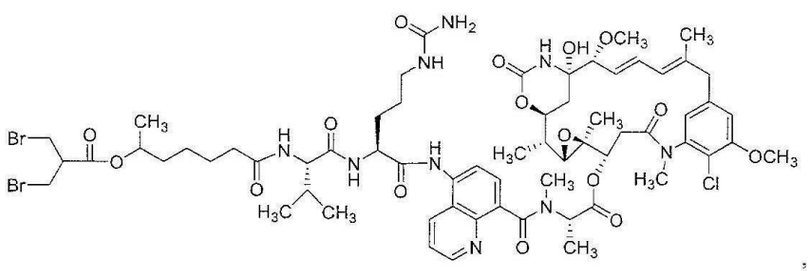
,



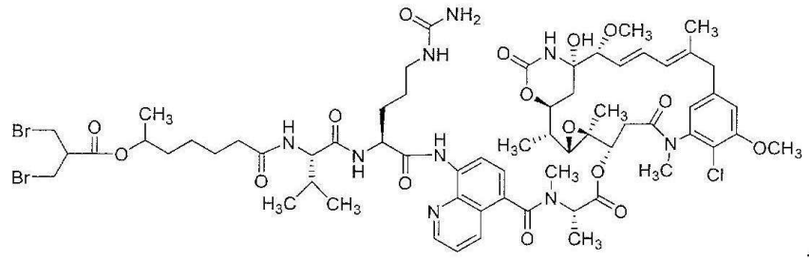
,



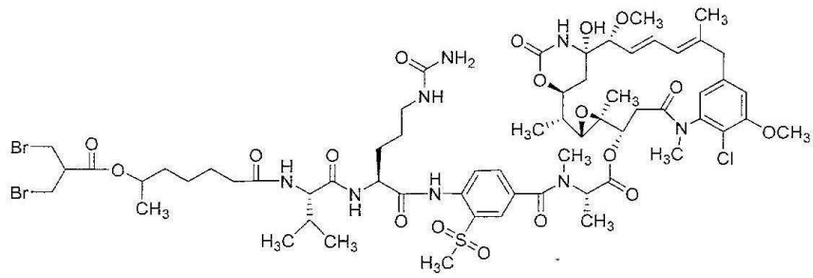
,



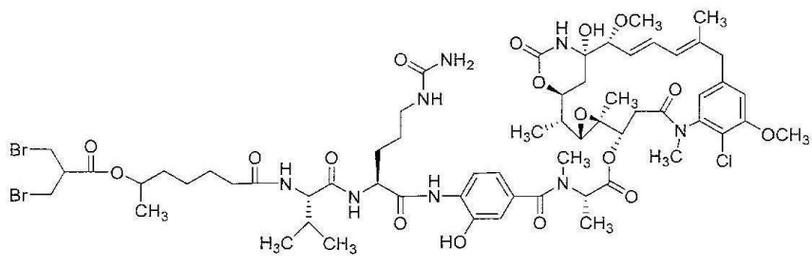
,



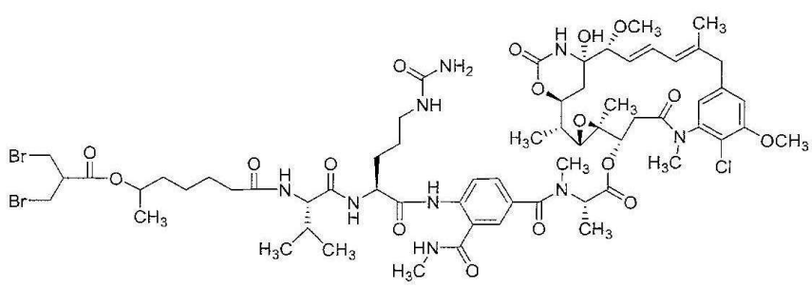
,



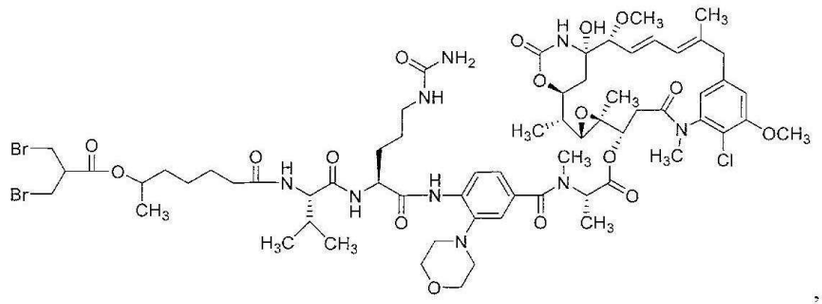
,

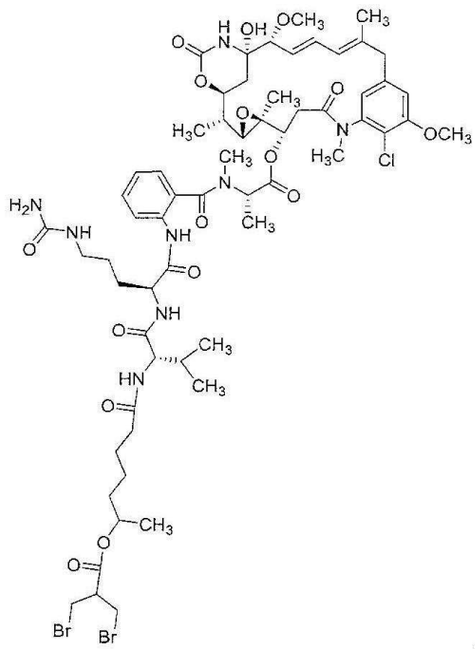


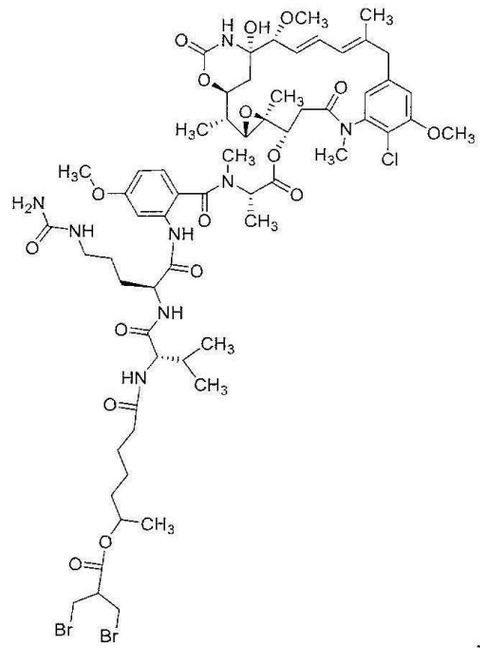
,

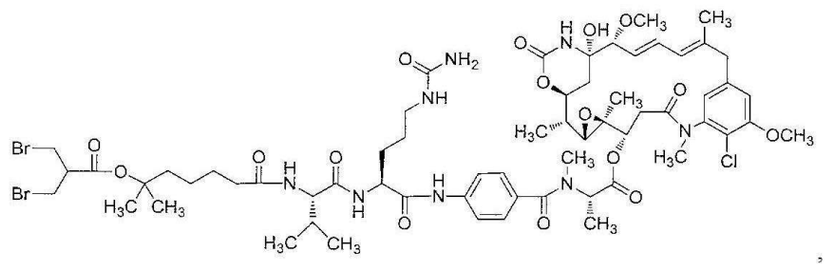


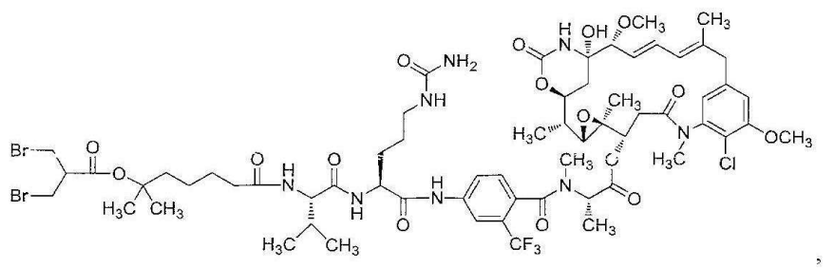
,

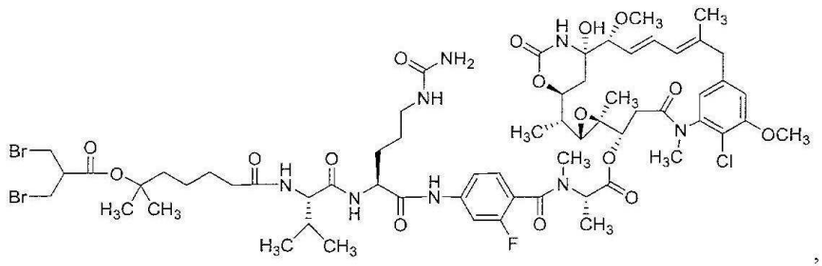




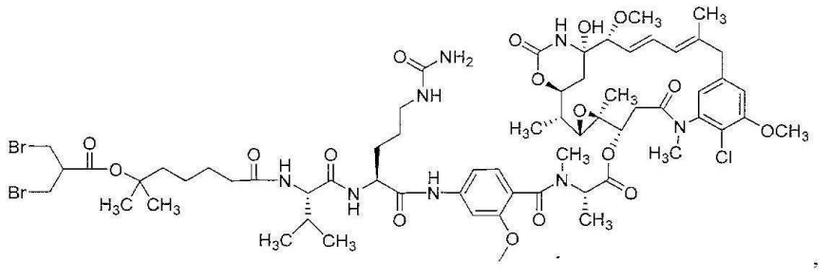




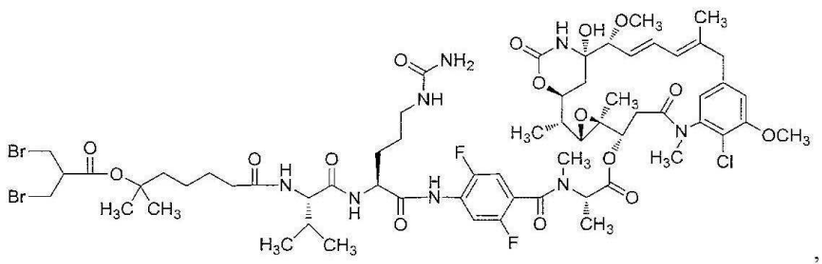




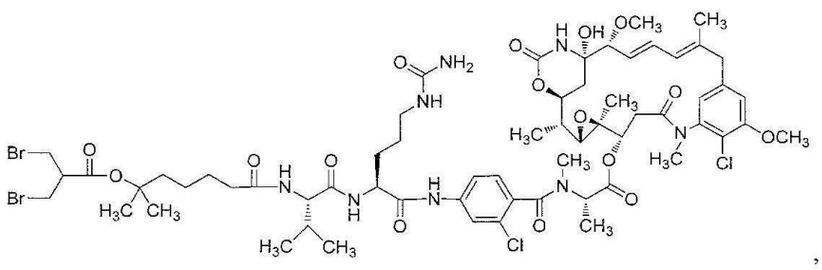
,



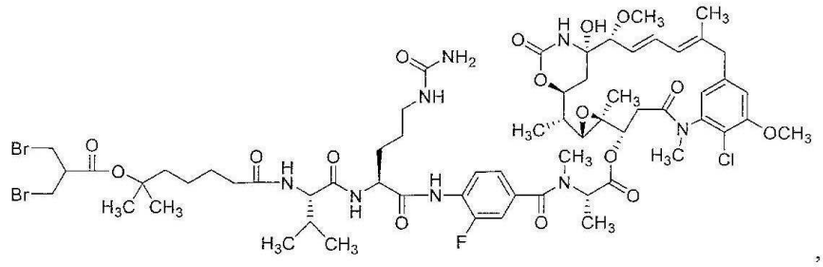
,



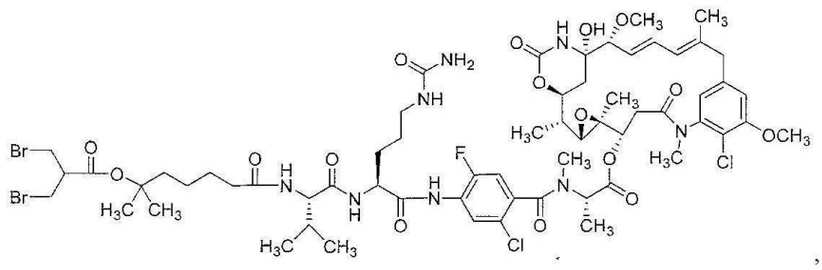
,



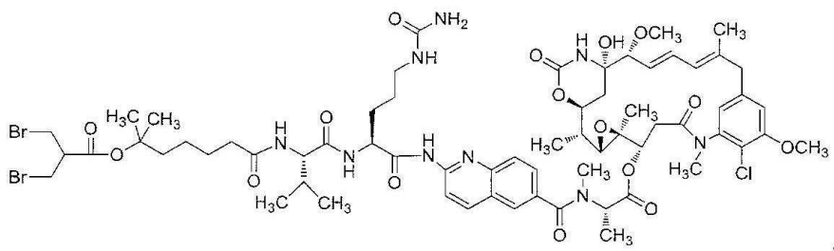
,



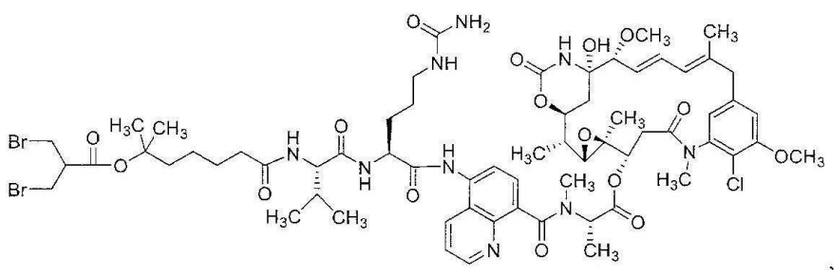
,



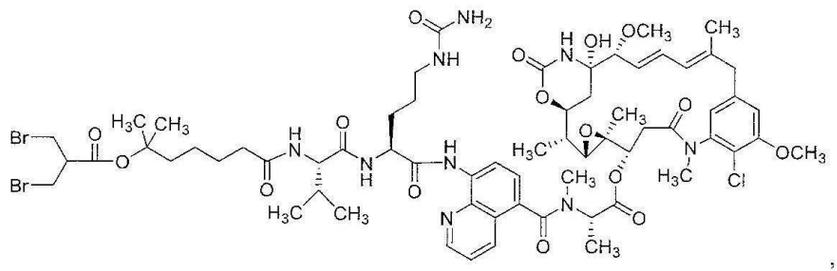
,

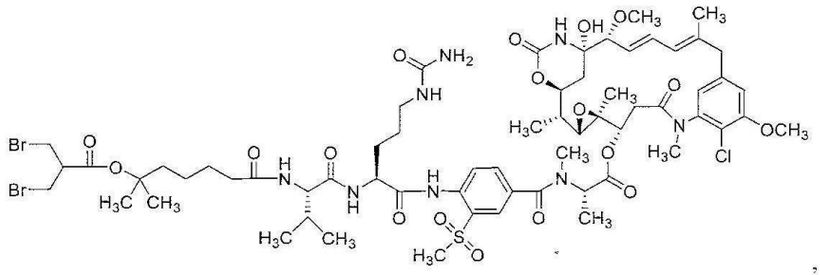


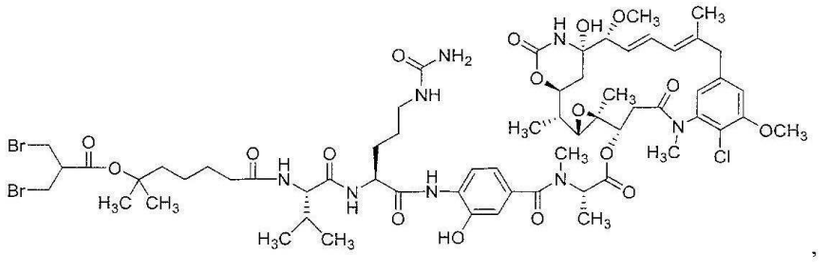
,

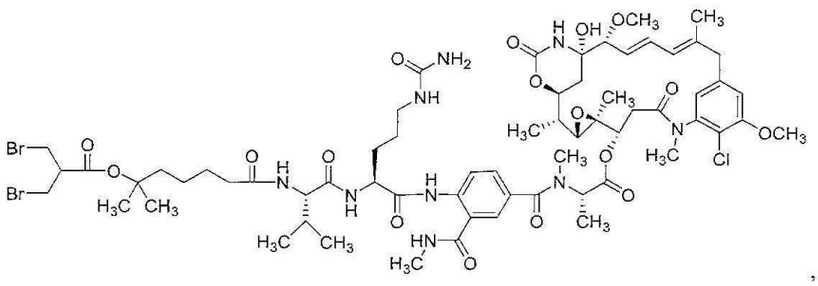


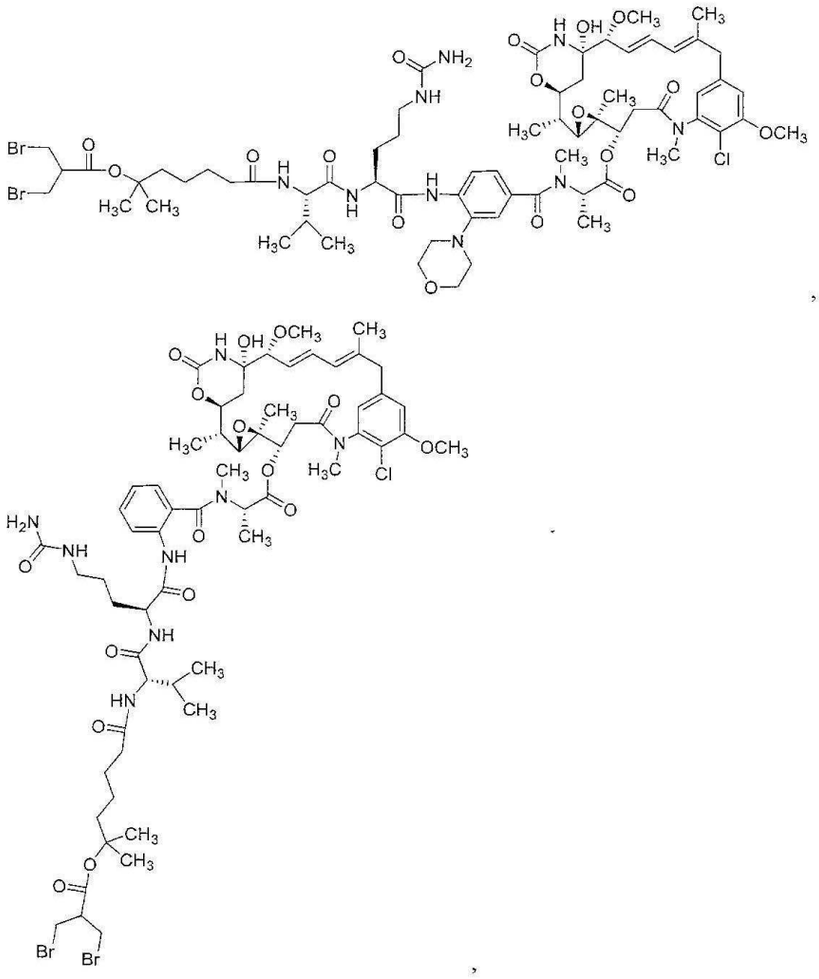
,

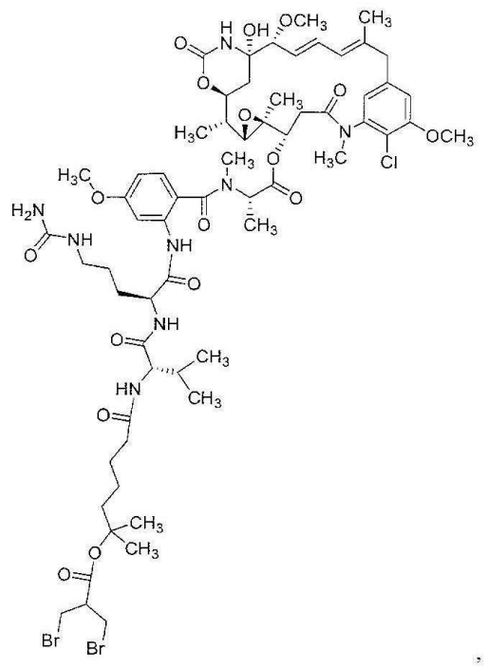


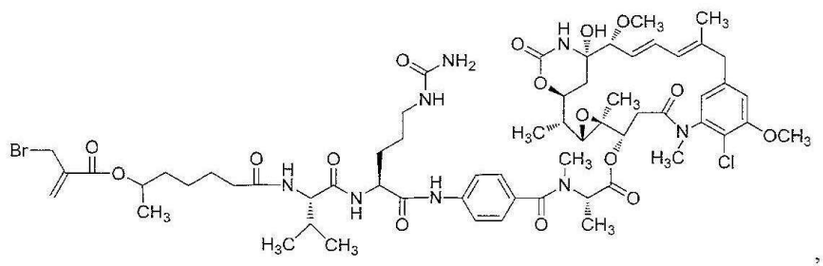


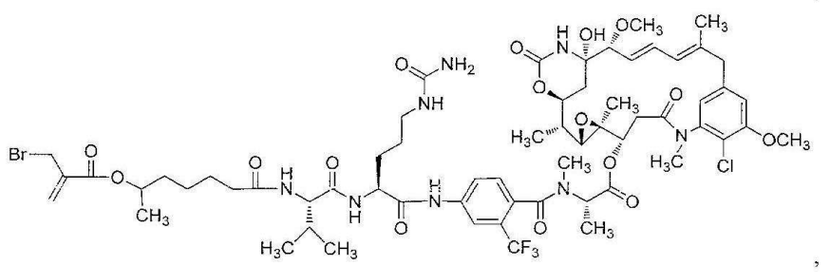


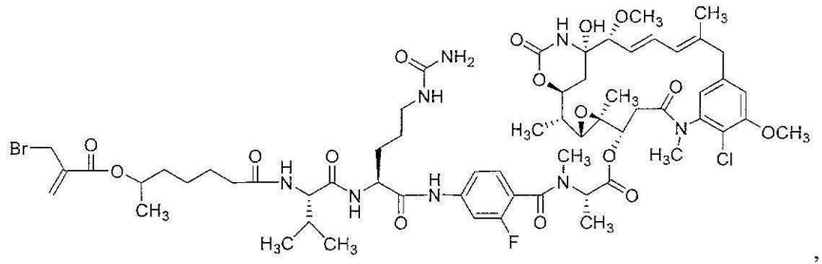




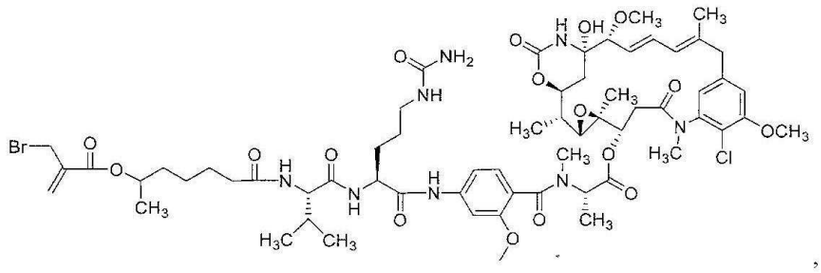




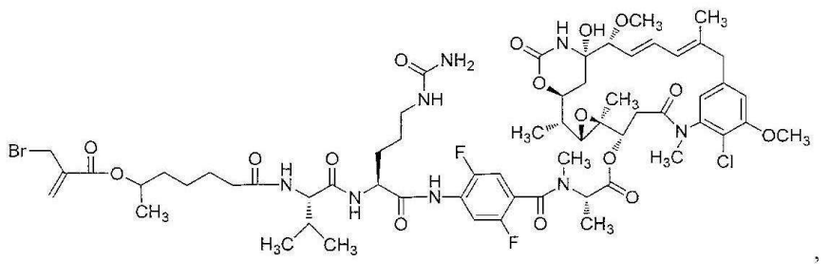




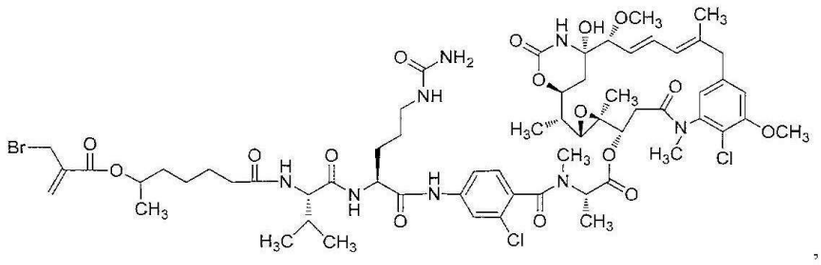
,



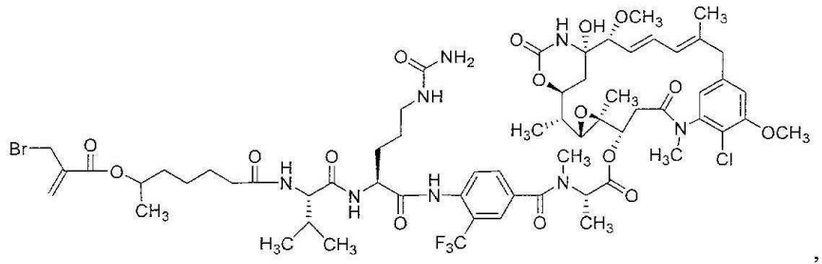
,



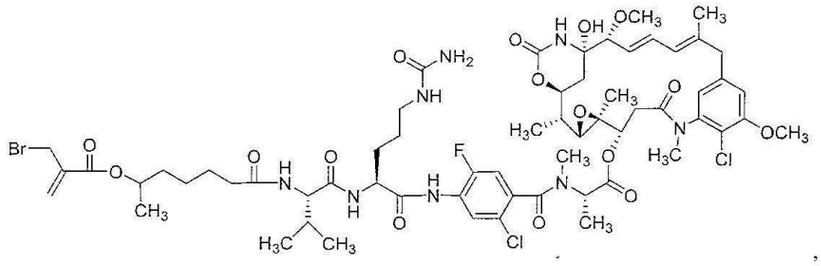
,



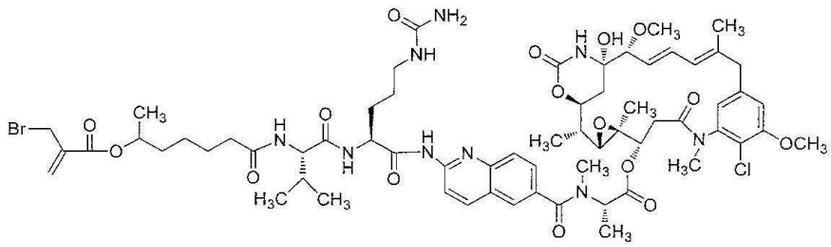
,



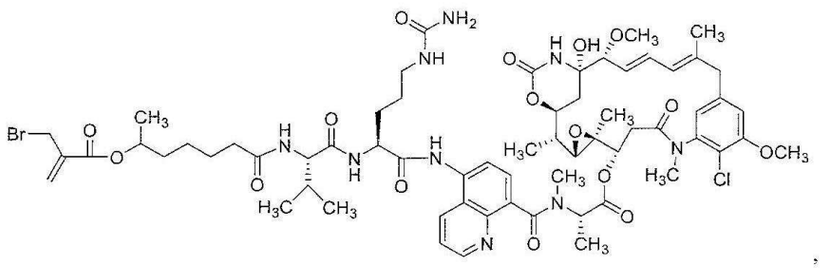
,



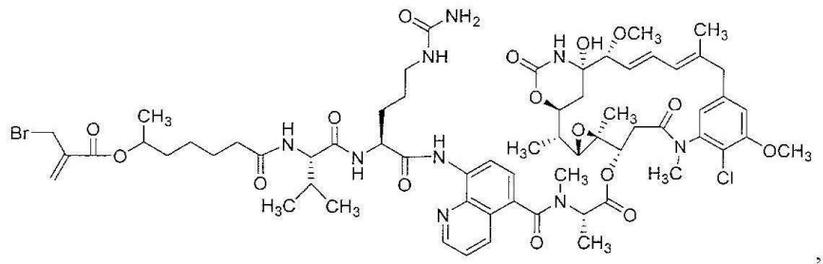
,



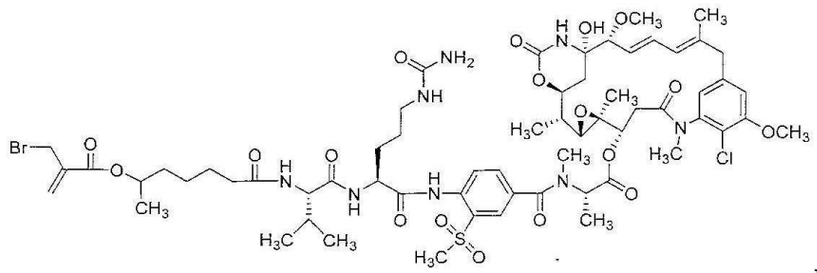
,



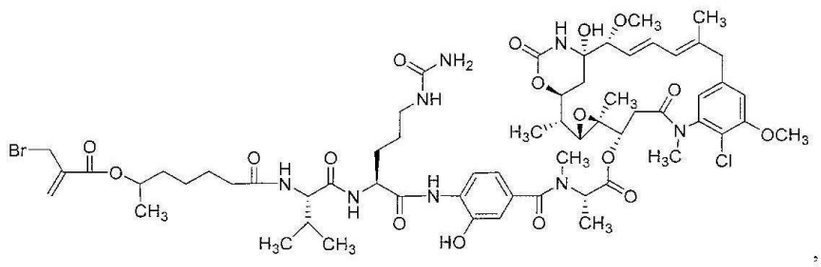
,



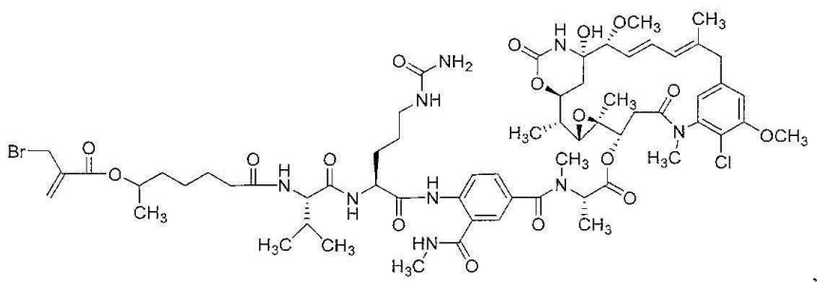
,



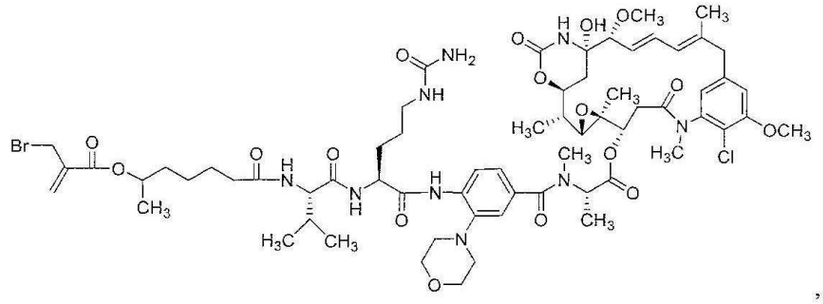
,



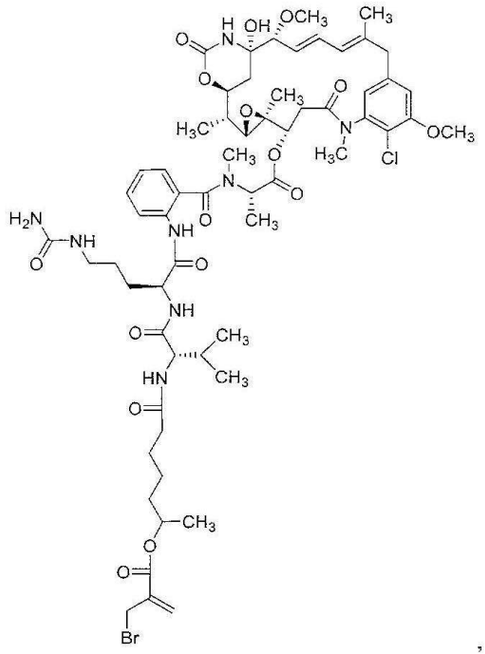
,



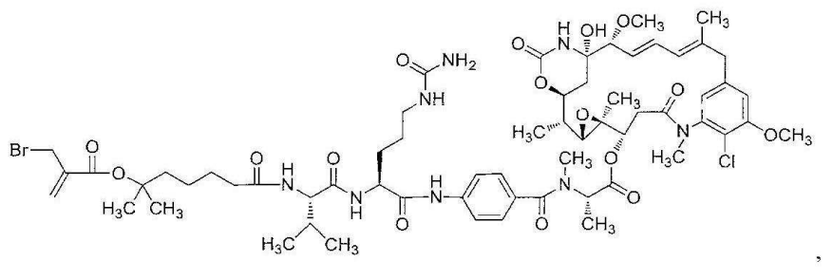
,



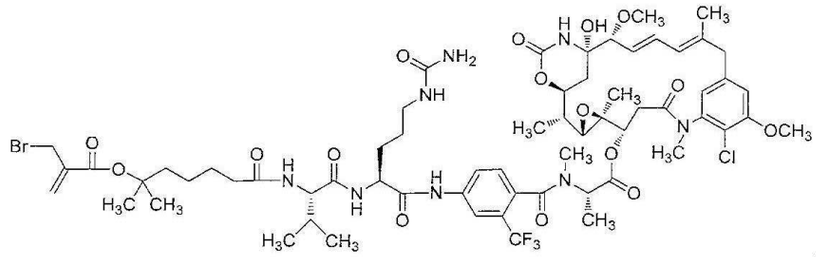
,



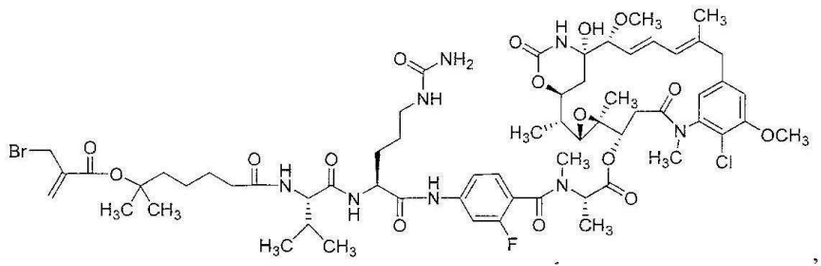
,



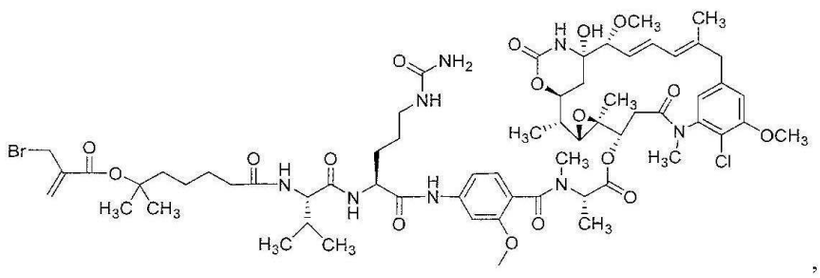
,



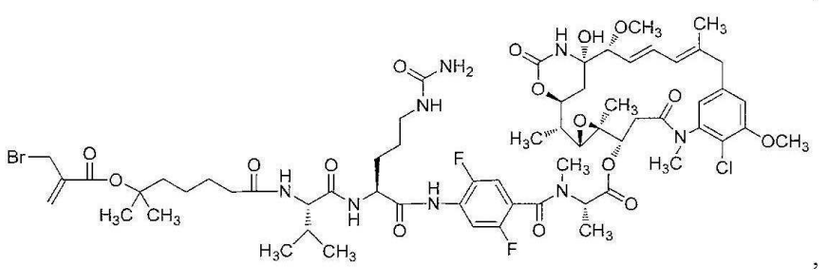
,



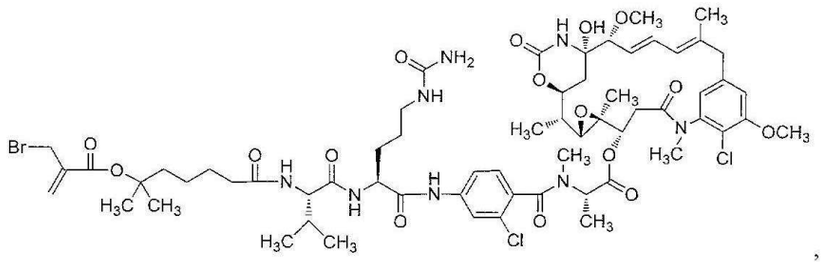
,



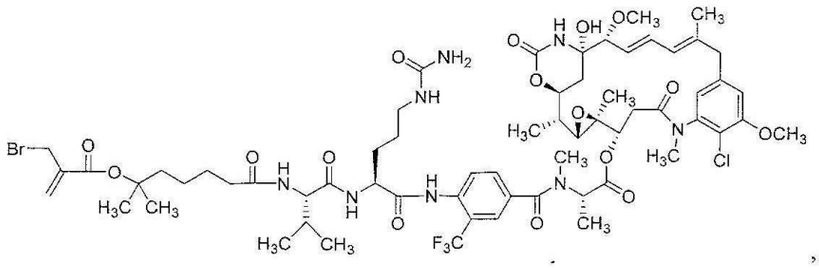
,



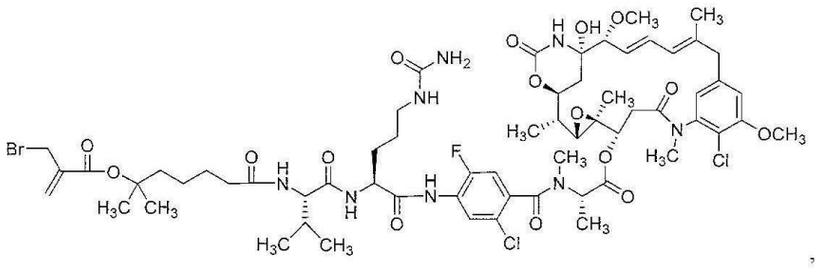
,



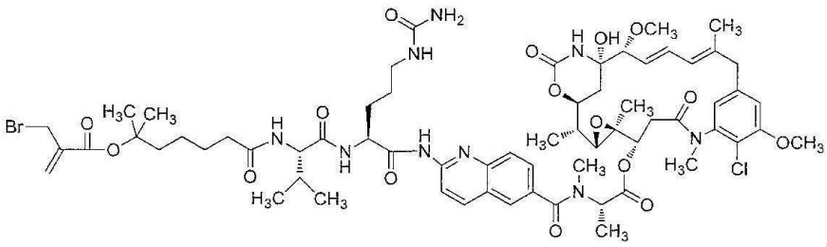
,



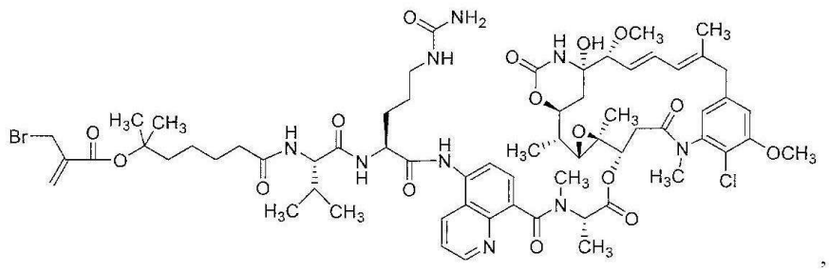
,



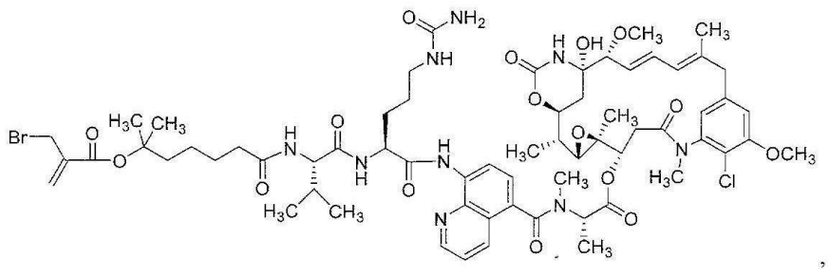
,



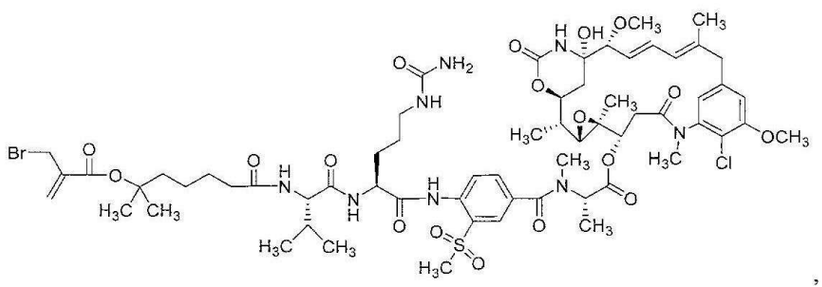
,



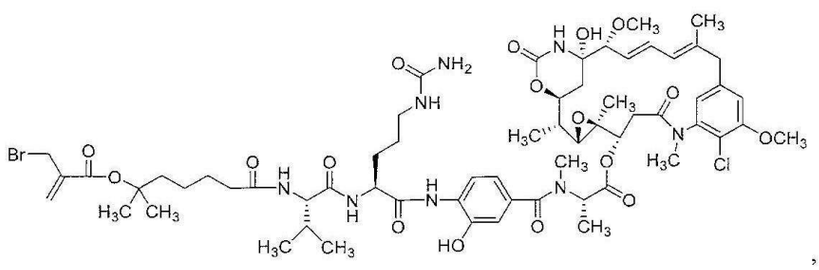
,



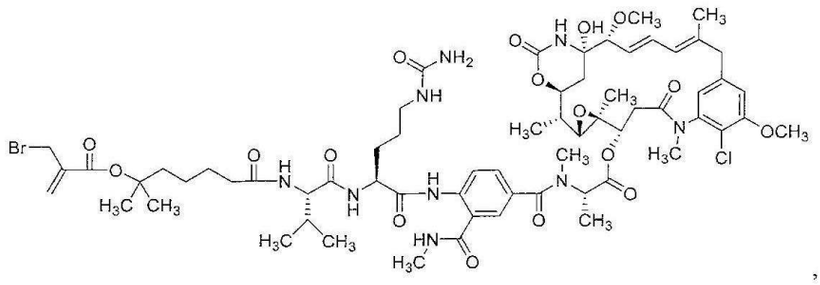
,

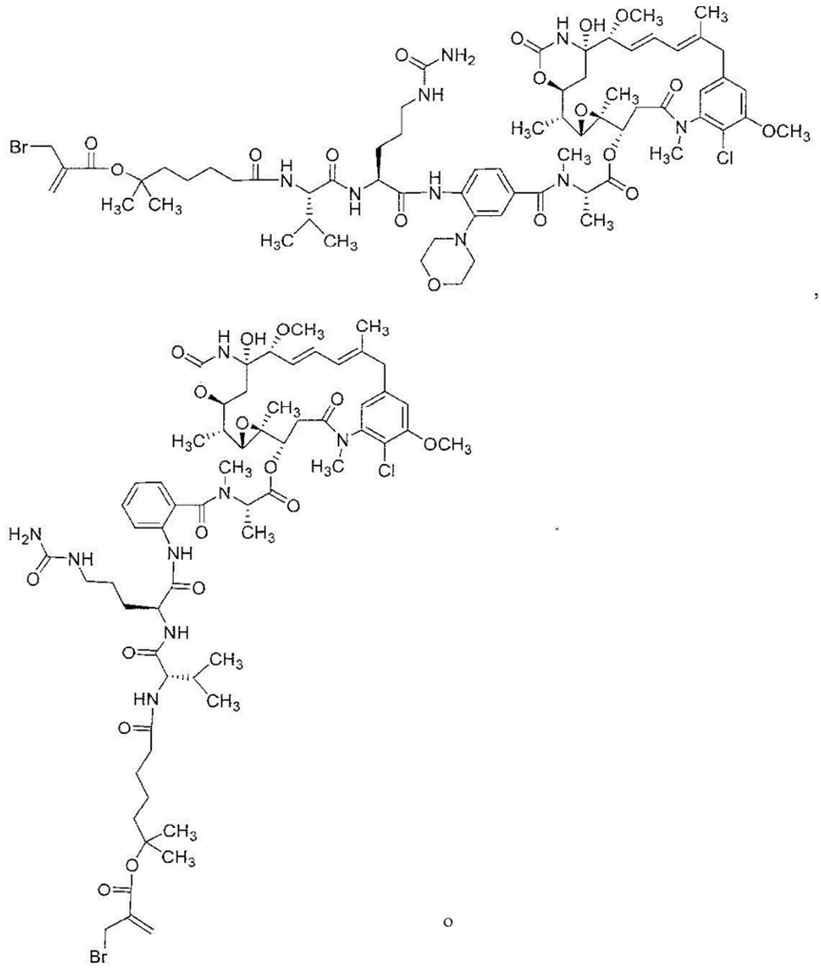


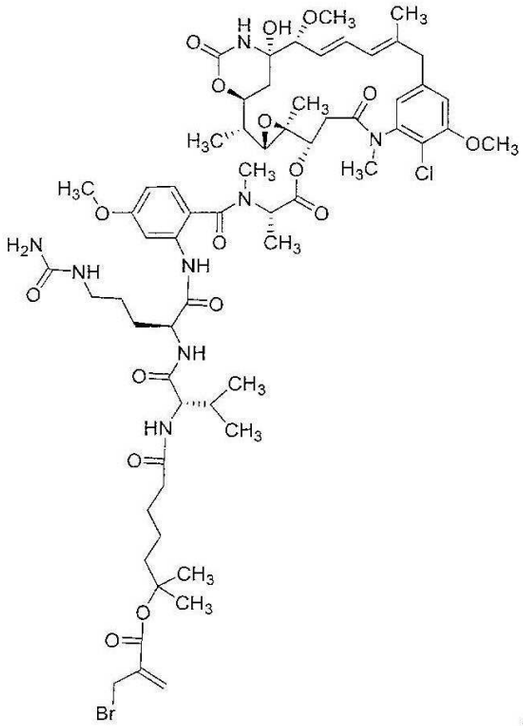
,



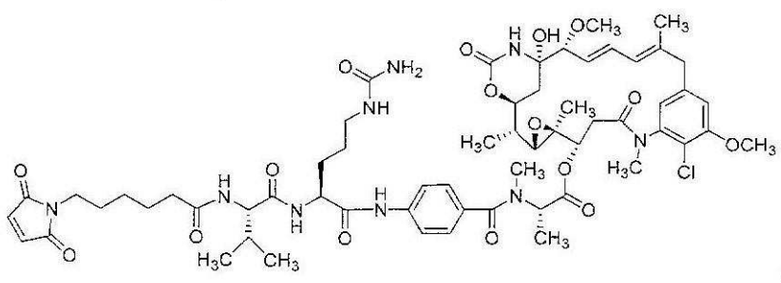
,

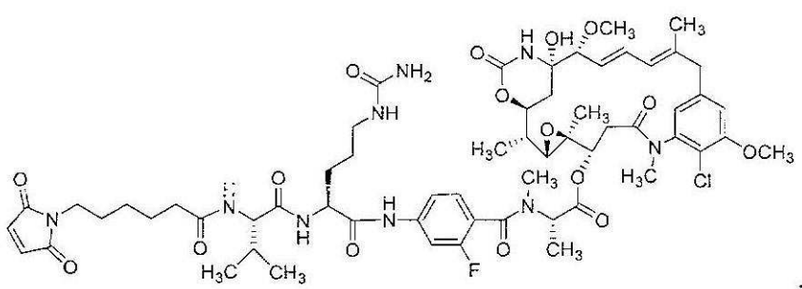

Br
O
O
O
H
N
O
N
H
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
HN
O
CH3
N
O
O
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
CH3
O
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
H3C
CH3
CH3
CH3
H3C
CH3

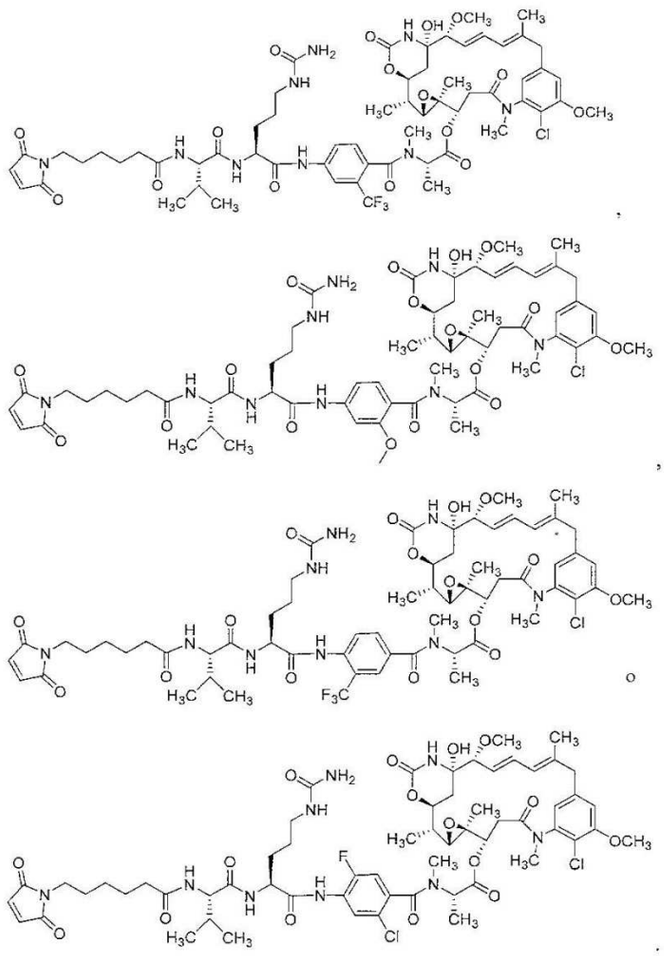




En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto que tiene una de las siguientes estructuras:

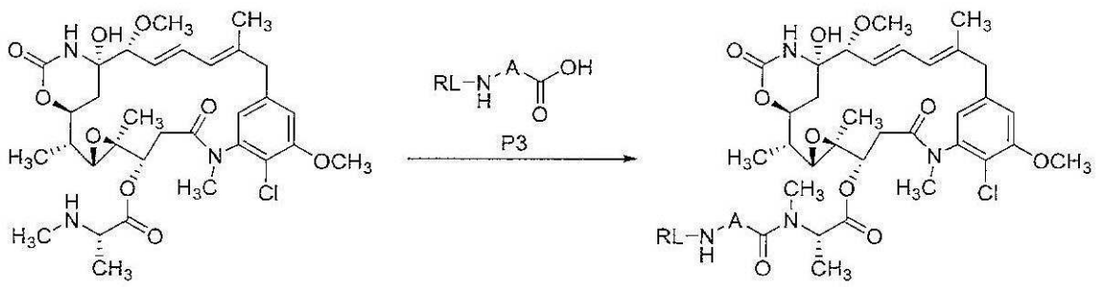




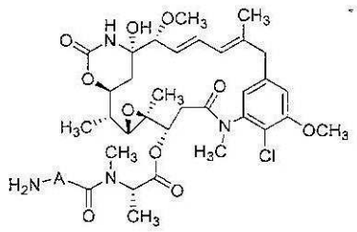


Los Compuestos de Fórmula P1 pueden ser sintetizados reaccionando compuestos de Fórmula P2 con el compuesto de Fórmula P3 bajo las condiciones de síntesis de amida. Condiciones de síntesis de amida adecuadas incluyen, pero no están limitados a, contactar el compuesto de Fórmula P2 en la presencia de un agente activador de ácido carboxílico y base. Agentes activadores adecuados incluyen, pero no está limitado a, EDC, HATU, HBTU, DCC, BOP y EEDQ. Bases adecuadas incluyen, pero no están limitadas a DIEA, DBU, Tributilamina, y 2,6-Lutidina.

El compuesto de Fórmula P2 puede ser sintetizado directamente de maitansinol y alanina usando técnicas conocidas (ver, por ejemplo, Patente U.S. N° 4.308.269 el cual se incorpora por referencia).

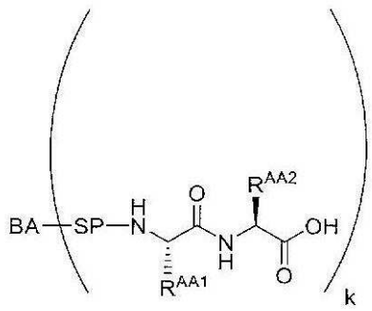


Compuestos de Fórmula I pueden ser sintetizados acoplando compuestos de Fórmula PP3:



PP3

con compuestos de Fórmula PP4 bajo condiciones de síntesis de amida:



PP4.

donde:

BA es un agente aglutinante;

SP es un espaciador;

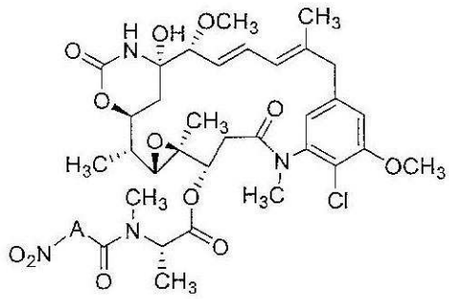
R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácido;

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácido;

A es arileno o heteroarileno; y

k es un entero desde 1 a 10.

Los compuestos de Fórmula PP3 pueden ser sintetizados contactando los compuestos de Fórmula PP5 con un agente reductor adecuado:



PP5,

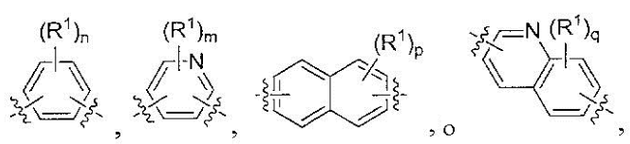
donde A es arileno o heteroarileno.

En algunas realizaciones, el agente reductor adecuado incluye un metal, una lámina de metal, un polvo de metal, una amalgama de metal, o rellenos de metal. En ciertas realizaciones, el metal es seleccionado de zinc, hierro, aluminio, paladio o níquel Raney.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, las siguientes condiciones del agente reductor son utilizadas. Con respecto a la cantidad del compuesto PP5, por ejemplo, en algunos de los métodos en este documento se combinaron aproximadamente veinte (20) equivalentes de polvo de zinc o cuarenta (40) equivalentes de ácido acético. En algunos ejemplos, la reacción reductora fue conducida a temperatura ambiente por aproximadamente desde 1 a 20 horas En algunos de estos ejemplos, el ácido acético antes mencionado es sustituido con otro ácido suave adecuado o donador de protón. Ejemplos de ácidos suaves adecuados o donadores de protones incluyen, pero no están limitados a ácido fórmico, pTsOH, y NH_4Cl. En algunos de estos ejemplos, el metal reductor es sustituido con un agente reductor adecuado seleccionado de hierro, aluminio, paladio o níquel Raney. En algunos de estos ejemplos, solventes adecuados incluyen aquellos solventes que tiene 10-50% de agua (por volumen) en un solvente orgánico miscible. Ejemplos de solventes orgánicos miscibles incluyen, pero no están limitados a THF, Dioxano, y éter dietílico. En algunos ejemplos, las reacciones reductoras establecidas en este documento son conducidas a temperaturas de reacción las cuales varían desde 0 a 50°C. En algunos ejemplos, las reacciones reductoras establecidas son llevadas a cabo en tiempos de reacción que varían desde 1 a 40 horas.

Acidos adecuados incluyen, pero no están limitados a, ácido acético.

En algunas realizaciones, A es:



donde

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro , ,  , o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

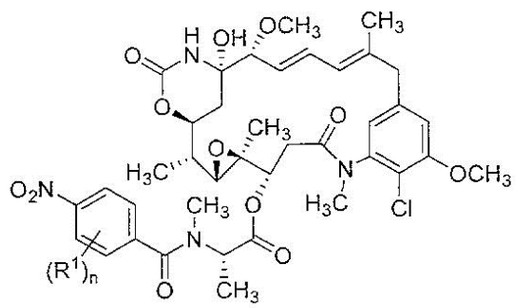
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula PP5 es un compuesto de la Fórmula PP5A:

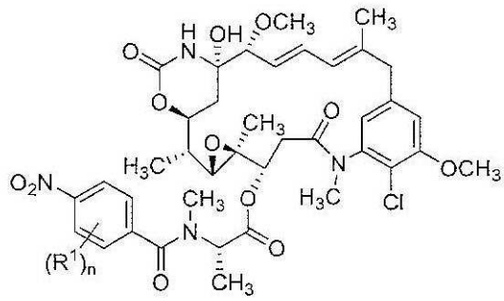


PP5A,

donde R^1 y n son como se define en este documento.

En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, alquilo, alcoxi, heteroalquilo, halo, haloalquilo, o haloalcoxi. En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, alquilo C_{1-6}, alcoxi C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, halolacoxi C_{1-6} o halo. En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, alquilo C_{1-6}, o alcoxi C_{1-6}. En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, alcoxi. En algunas realizaciones, R^1 es independientemente, metoxi, etoxi, propoxi. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0, 1 ó 2. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0 ó 1. En algunas realizaciones, n, m, p, o q es 0.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula PP5 es un compuesto de la Fórmula PP5A:



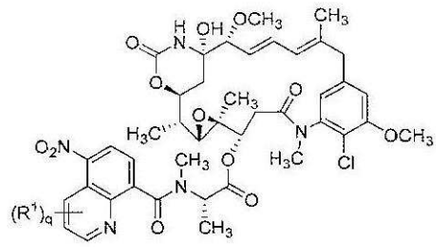
PP5A,

donde

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo o trifluormetilo; y

n es 0, 1 ó 2.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula PP5 es un compuesto de la Fórmula PP5A2:



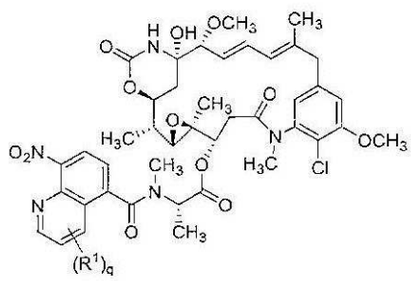
PP5A2,

donde:

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo o trifluormetilo; y

q es un entero desde 0 a 5.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula PP5 es un compuesto de la fórmula PP5A3:

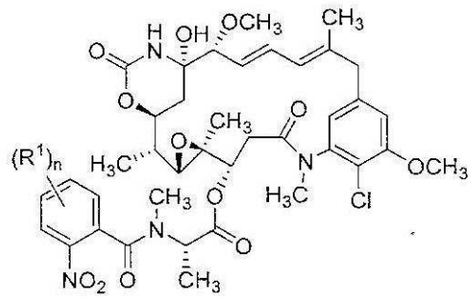


PP5A3,

donde:

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo o trifluormetilo; y q es un entero desde 0 a 5. En algunas realizaciones, R^1 es 1-metiletil-tiol, fenilo, 2-fluorfenil, piridinilo, 4-piridinilo, pirrolidinilo, o 1-pirrolidinilo., En algunas realizaciones, R^1 es trifluormetilo. En algunas realizaciones, R^1 es metoxi. En algunas realizaciones, R^1 es flúor. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno.

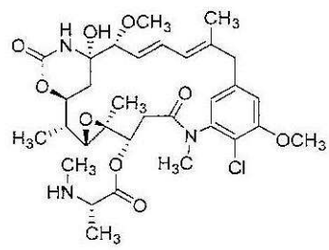
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula PP5 es un compuesto de la Fórmula PP5A4:



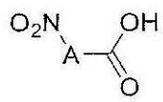
PP5A4,

donde R^1 y n son como se define en este documento.

Compuestos de Fórmula PP5 pueden ser sintetizados contactando los compuestos de Fórmula P2 con compuestos de Fórmula PP6 bajo condiciones de síntesis de amida.



P2,

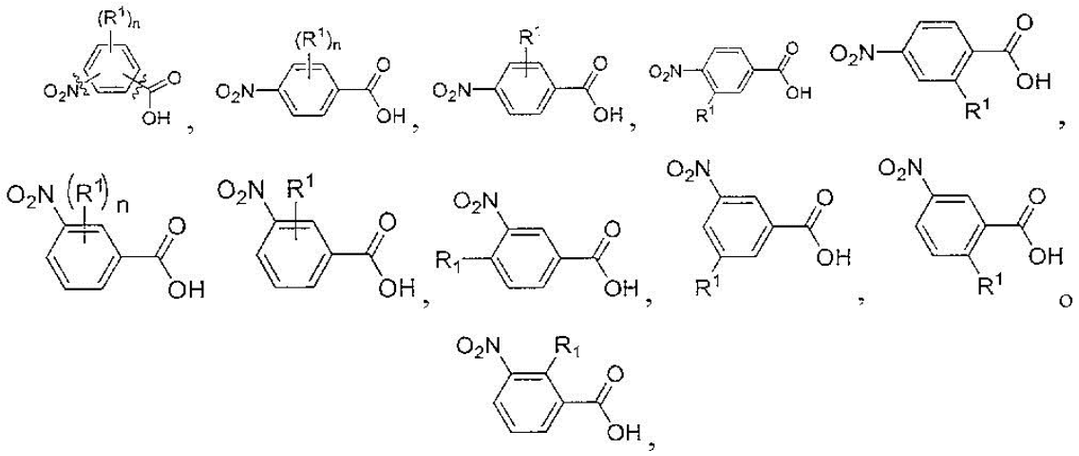


PP6.

Compuestos adecuados de Fórmula PP6 incluyen, pero no están limitados a, ácido 3-nitro-benzoico, ácido 3-cloro-5-nitro-benzoico, ácido 3-flúor-5-nitro-benzoico, ácido 3-nitro-1-naftalenecarboxílico, ácido 2-flúor-5-nitro-benzoico, ácido 3-(dimetilamino)-5-nitro-benzoico, ácido 3-etoxi-5-nitro-benzoico, ácido 2-metoxi-5-nitro-benzoico, ácido 4-metoxi-3-nitro-benzoico, ácido 2,6-diflúor-3-nitro benzoico, ácido 2-cloro-6-flúor-3-nitro-benzoico, ácido 6-cloro-2-flúor-3-nitro-benzoico, ácido 2-cloro-4-flúor-5-nitro-benzoico, ácido 4-cloro-2-flúor-5-nitro-benzoico, ácido 2-etoxi-5-nitro-benzoico, ácido 2-(metilamino)-3-nitro-benzoico, ácido 6-nitro-8-quinolinecarboxílico, ácido 4-(dimetilamino)-3-nitro benzoico, clorhidrato (1:1), ácido 2-metil-nitro-benzoico, ácido 3-

metil-4-nitro-benzoico, ácido 4-nitro-1-naftalenecarboxílico, ácido 4-nitro-1-naftalenecarboxilico, ácido 2,6-dimetil-4-nitro-benzoico, ácido 3-flúor-4-nitro-benzoico, ácido 3-cloro-4-nitro-benzoico, ácido 3-bromo-4-nitro-benzoico, ácido 3-ciano-4-nitro-benzoico, ácido 3-ciclopropil-4-nitro benzoico, ácido 3-metoxi-4-nitro-benzoico, ácido 2-metoxi-4-nitro-benzoico, ácido 5-cloro-2-metil-4-nitro-benzoico, ácido 8-nitro-5-isoquinolinecarboxilico, ácido 5-nitro-8-quinolinecarboxílico, ácido 8-nitro-5-quinolenecarboxilico, ácido 2,5-diflúor-4-nitro benzoico, ácido 2-(dimetilamino)-4-nitro-benzoico, ácido 2-cloro-5-flúor-4-nitro-benzoico, ácido 3-(dimetilamino)-4-nitro-benzoico, ácido 2-[(metiletil)tio]-4-nitro benzoico, ácido 4-nitro-3-(trifluormetil)-benzoico, ácido 4-nitro-2-(trifluormetil)-benzoico, ácido 3,5-dimetoxi-4-nitro-benzoico, ácido 4-nitro-2-(propilamino)-benzoico, ácido 3-(difluormetoxi)-4-nitro-benzoico, ácido 4-nitro-3-(4-piridinil)-benzoico o ácido 4-nitro-2-(1-pirrolidinil)-benzoico.

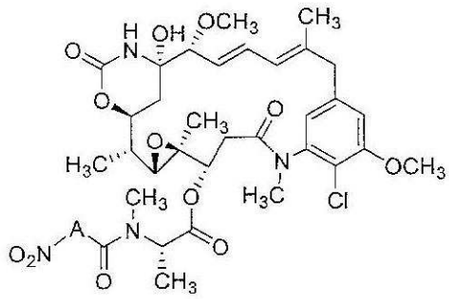
Compuestos adecuados de Fórmula PP6 incluyen compuestos que tienen cualquiera de las siguientes fórmulas:



donde R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo C_{1-6}, alcoxi C_{1-6}, halo, haloalquilo C_{1-6}, o haloalcoxi C_{1-6}, donde n es 0, 1, 2, 3, ó 4. En ciertas de estas realizaciones, R^1 es metoxi o metilo. En algunas realizaciones específicas, R^1 es metoxi, flúor, o trifluormetilo. En ciertas realizaciones, n es 1 ó 2. En algunas de estas realizaciones, n es 1. En algunas realizaciones, R^1 es flúor, cloro, bromo o yodo.

En algunas realizaciones, R^1 es 1-metiletil-tiol, fenilo, 2-fluorfenil, piridinilo, 4-piridinilo, pirrolidinilo o 1-pirrolidinilo. En algunas realizaciones, R^1 es trifluormetilo. En algunas realizaciones, R^1 es metoxi. En algunas realizaciones, R^1 es flúor. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno.

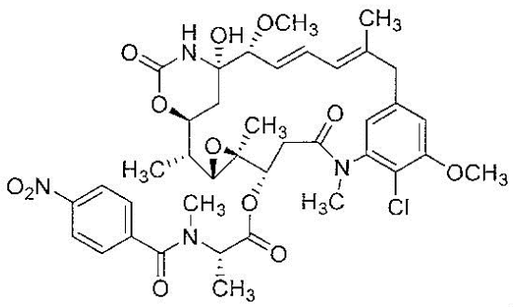
En algunas realizaciones, se proporcionan compuestos de Fórmula PP5:



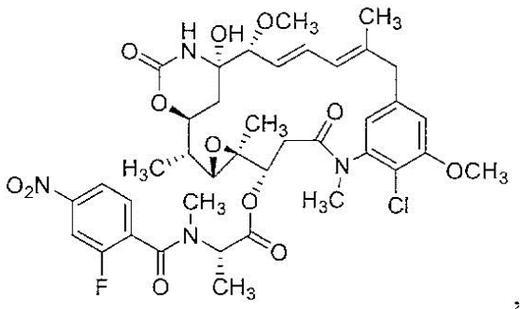
PP5,

donde A es arileno o heteroarileno.

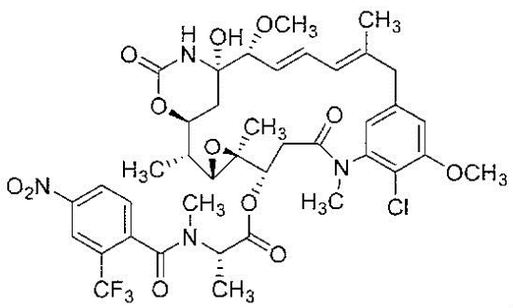
En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula PP5 es un compuesto seleccionado de



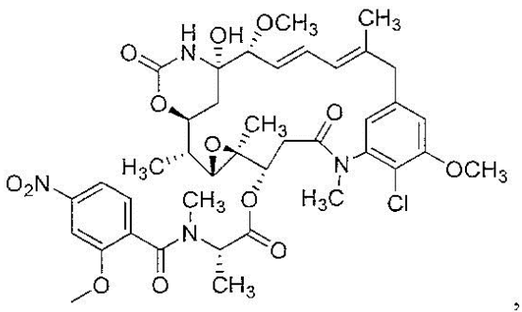
,



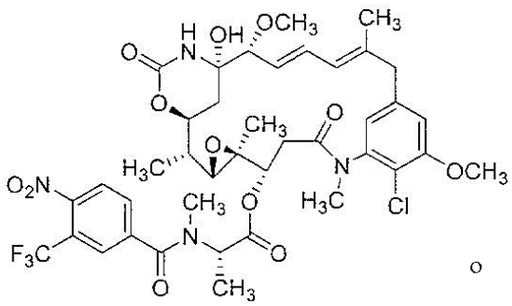
,



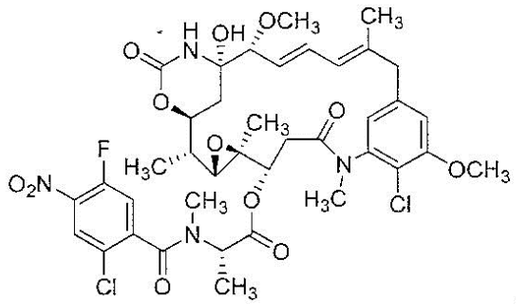
,



,

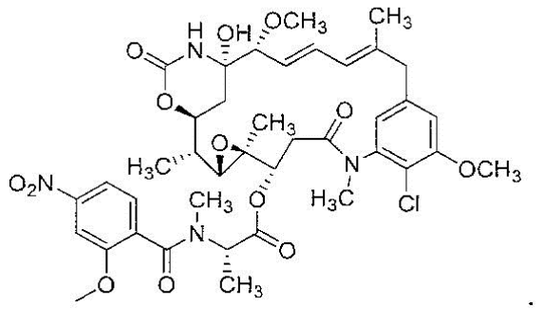


o

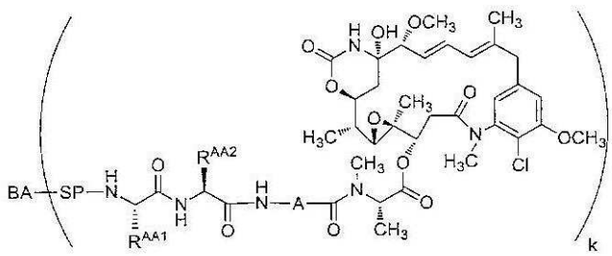


.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula PP5 es:

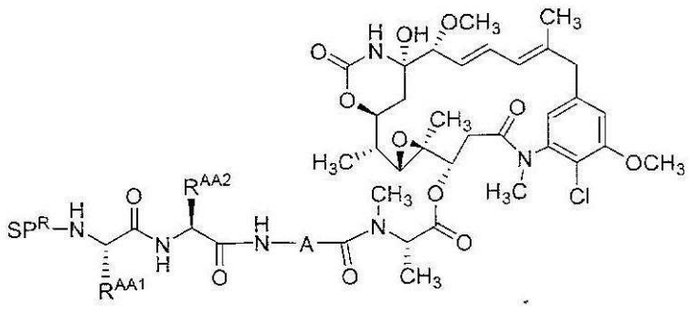


Compuestos de Fórmula III:



III

pueden ser sintetizados contactando los compuestos de Fórmula PP1:



PP1

con un agente aglutinante bajo condiciones de conjugación,

donde:

BA es un agente aglutinante;

SP es un espaciador;

SP^R es un espaciador reactivo;

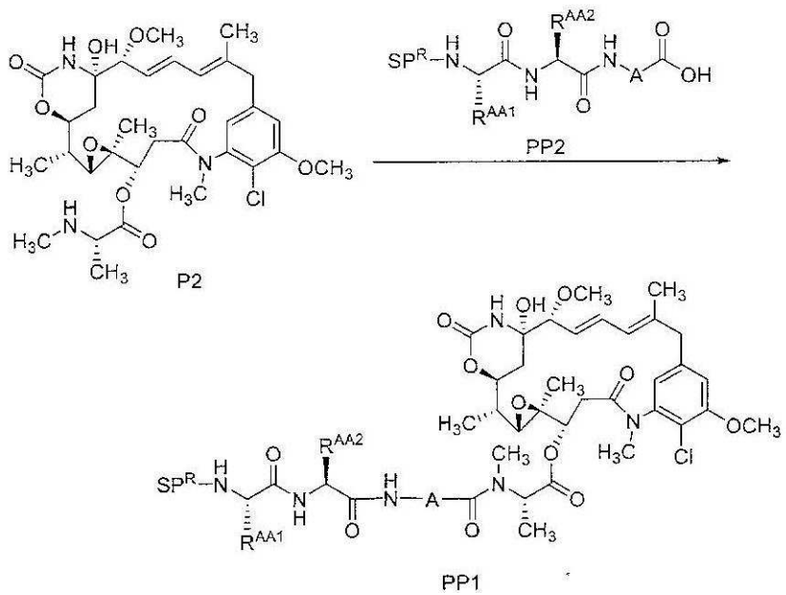
R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos;

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos

A es arileno o heteroarileno; y

k es un entero desde 1 a 30.

Los compuestos de Fórmula PP1 pueden ser preparados contactando un compuesto de Fórmula PP2 con el compuesto de Fórmula P2:



donde:

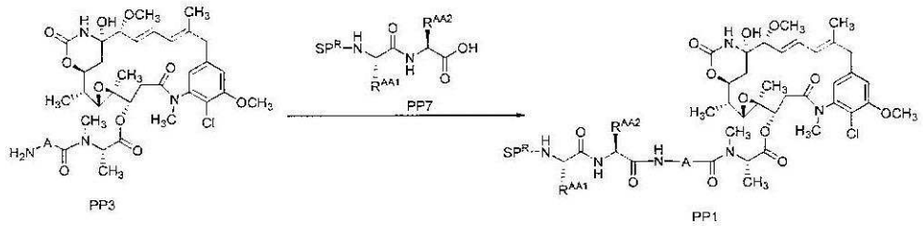
SP^R es un enlazador reactivo;

R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos;

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos

A es arileno o heteroarileno.

Los compuestos de Fórmula PP1 pueden ser preparados contactando un compuesto de Fórmula PP3 con el compuesto de Fórmula PP7:



donde:

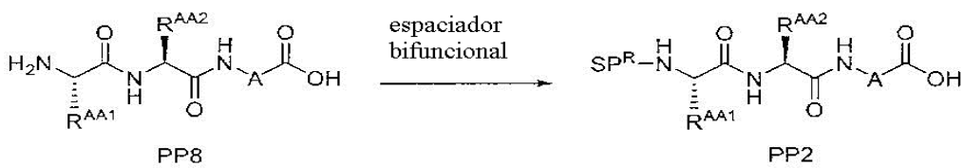
SP^R es un enlazador reactivo;

R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos;

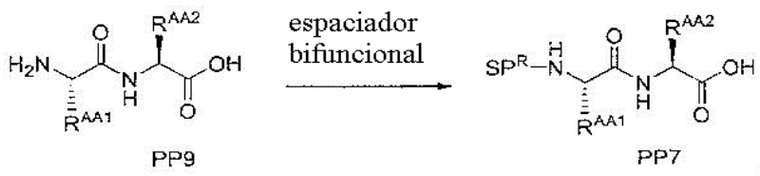
R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos

A es arileno o heteroarileno.

Compuestos de Fórmula PP2 pueden ser preparados contactando un compuesto de Fórmula PP8 con un espaciador bi-funcional:

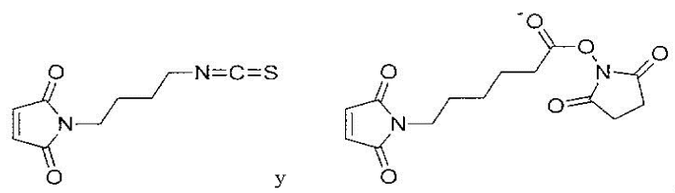


Los compuestos de Fórmula PP7 pueden ser preparados contactando un compuesto de Fórmula PP9 con un espaciador bi-funcional:



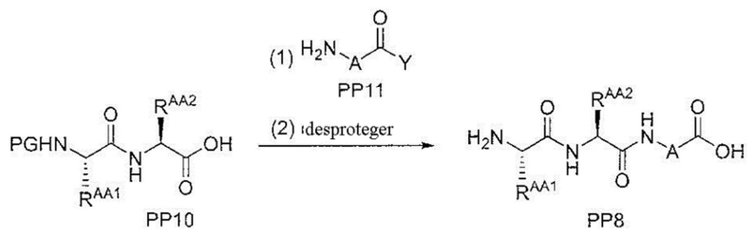
PP9 PP7

Los espaciadores bi-funcionales son compuestos que reaccionan con el compuesto de Fórmula PP3 para añadir el resto SP^R presente en los compuestos de Fórmula PP2. Espaciadores bi-funcionales ilustrativos incluyen, pero no están limitados a:



y

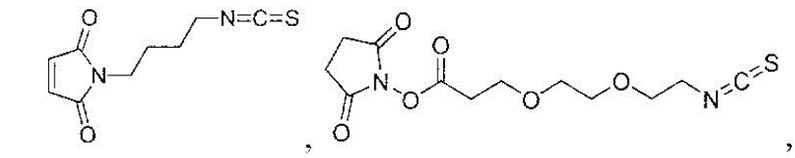
Los compuestos de Fórmula PP8 pueden ser preparados contactando un compuesto de Fórmula PP10 con un compuesto de Fórmula PP11, tras la eliminación del grupo protector:

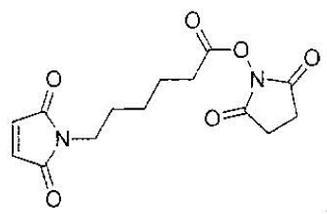
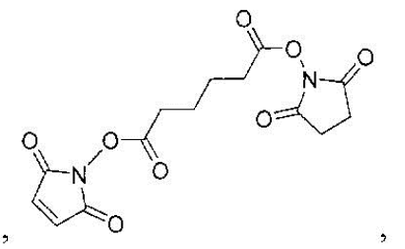
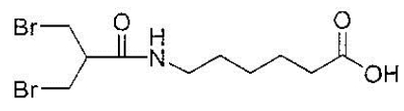
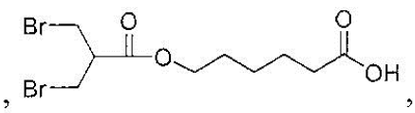
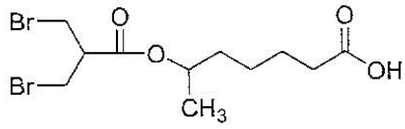
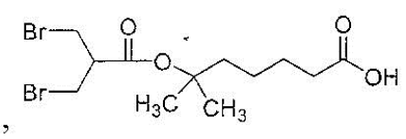
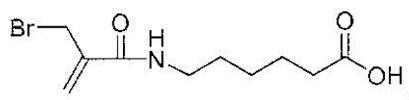
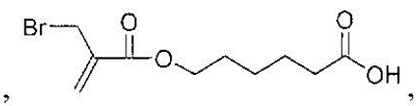
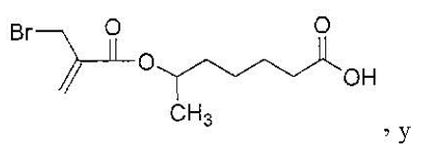
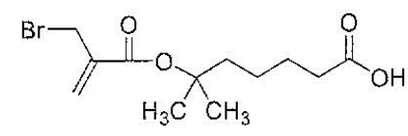


PP10 PP8

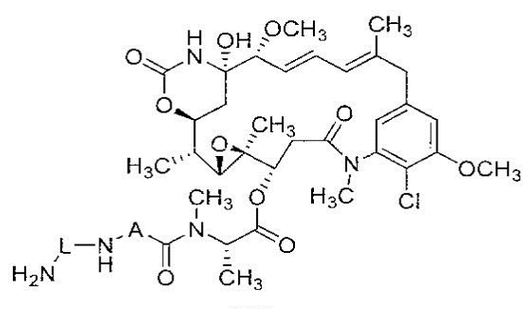
donde PG es un grupo protector de amina y Y es un resto que hace que el carbonilo al que está unido sea electrofílico. El Compuesto de Fórmula PP10 puede ser preparado acoplando sus correspondientes aminoácidos usando técnicas de acoplamiento de aminoácidos estándar, incluyendo, por ejemplo, la formación de éster activo usando HATU, BOP/HOBt o EDC/N-hidroxisuccinamida en la presencia de DIEA, DBU o tributilamina.

Los espaciadores bi-funcionales son compuestos que reaccionan con el compuesto de Fórmula PP9 para añadir el resto SP^R presente en los compuestos de Fórmula PP7. Los espaciadores bi-funcionales ilustrativos incluyen, pero no están limitados a:


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

, y

.

Los compuestos de conjugados de anticuerpo-fármaco de Fórmula (I) también pueden ser preparados reaccionando un anticuerpo adecuado, por ejemplo, anticuerpo desglicosilado o anticuerpo aglicosilado con un compuesto de Fórmula (PT1) en la presencia de transglutaminasa:



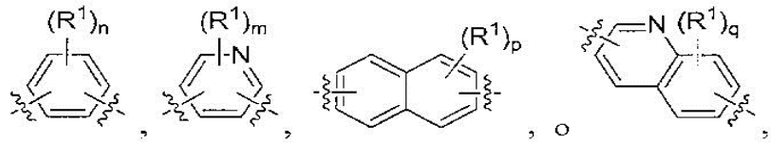
PT1

donde:

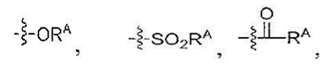
A es arileno o heteroarileno; y

L es un enlazador.

En algunas realizaciones, A es:



donde

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo, haloalquilo, haloalcoxi, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro  , o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

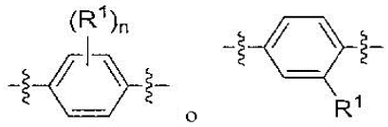
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

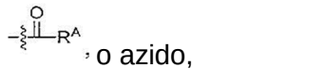
p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

En algunas realizaciones, A es:



donde

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, halo, haloalquilo, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro  , o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

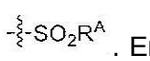
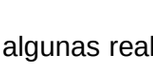
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

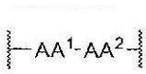
En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo o halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, alquilo C_{1-6}, haloalquilo C_{1-6}, o halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, halo. En algunas realizaciones, R^1 es, independientemente, flúor, cloro, bromo, yodo o trifluormetilo. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0, 1 ó 2. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0 ó 1. En algunas realizaciones, n, m, p o q es 0.

En algunas realizaciones, R^1 es  . En algunas realizaciones, R^1 es  donde R^A es metilo. En algunas realizaciones, R^1 es hidroxilo. En algunas realizaciones, R^1 es N-metilformamida. En algunas realizaciones, R^1 es morfolinilo.

En algunas realizaciones, el enlazador comprende uno o más aminoácidos. Aminoácidos adecuados incluyen aminoácidos naturales, no naturales, estándar, no estándar, proteinogénicos, no proteinogénicos y aminoácidos L-, o D- α. En algunas realizaciones, el enlazador comprende alanina, valina, leucina, isoleucina, metionine, triptofáno, fenilalanina, prolina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina, glutamina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina, arginina, histidina, o citrulina o derivados de los mismos.

En algunas realizaciones, el enlazador comprende valina y citrulina.

En algunas realizaciones, el enlazador es:



donde:

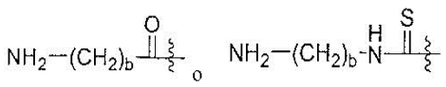
uno $\sim$ es uno o más enlaces a la carga útil;

el otro $\sim$ es uno o más enlaces a -NH_2 de PT1;
AA^1 es un aminoácido; y
AA^2 es un aminoácido.

El enlazador puede además comprender un resto divalente que conecta el resto AA^1-AA^2 al –NH_2 de PT1. Restos divalentes adecuados incluyen, pero no están limitados a, aquellos que comprenden alquileno o polietilenglicol. El resto divalente puede comprender uno o más grupos reactivos para facilitar la unión al resto del compuesto, o uno o más residuos de dichos grupos reactivos.

PT1 incluye un alquileno primario terminado en amina o un polietilenglicol primario terminado en amina. El resto primario terminado en amina puede ser enlazado directamente a un anticuerpo desglicosilado o un anticuerpo aglicosilado en la presencia de transglutaminasa.

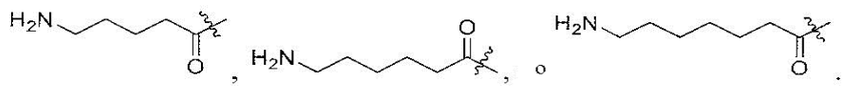
En algunas realizaciones, el compuesto comprende un alquileno primario terminado en amina. En algunas realizaciones, el compuesto comprende un alquileno NH_2-C_{5-7}. En algunas realizaciones, el compuesto comprende:



donde:

$\sim$ es un enlace a la carga útil; y
b es un entero desde 2 a 8.

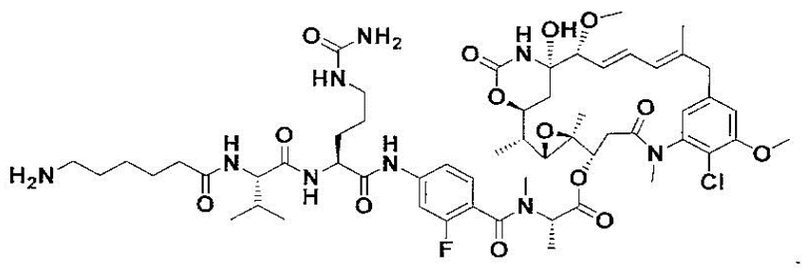
En algunas realizaciones, el compuesto comprende:



donde:

 es un enlace a la carga útil.

En algunas realizaciones, el compuesto de PT1 es



En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) se prepara contactando un agente aglutinante con PT1 en la presencia de transglutaminasa bajo condiciones adecuadas para una reacción de transglutaminasa. En algunas realizaciones, la reacción de transglutaminasa está a un pH entre aproximadamente 7 y aproximadamente 8 por al menos 4 horas. En algunos ejemplos, el pH es 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.8 u 8.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es preparado por una reacción de transglutaminasa donde la concentración del compuesto de Fórmula (PT1) está en una concentración de al menos 30 equivalentes molares en comparación con el anticuerpo desglicosilado o anticuerpo aglicosilado. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es preparado por una reacción de transglutaminasa donde la concentración del compuesto de Fórmula (PT1) está en una concentración de 30 a 150 equivalentes molares en comparación con el anticuerpo desglicosilado o anticuerpo aglicosilado.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es preparado por una reacción de transglutaminasa donde la reacción del compuesto de Fórmula (PT1) es 1 a 30 U por milígramo de anticuerpo desglicosilado o anticuerpo aglicosilado.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es desglicosilado con péptido N-glicosidasa F (PNGaseF) antes de la reacción de transglutaminasa.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es aglicosilado. Un anticuerpo aglicosilado puede ser preparado por técnicas de mutagénesis para eliminar una o más secuencias de aminoácidos que son necesarias para la glicosilación del anticuerpo. En ciertas realizaciones el anticuerpo

comprende una cadena pesada con una mutación que sustituye otro aminoácido para N180. En ciertas realizaciones, el anticuerpo aglicosilado comprende uno o más polipéptidos de cadena pesada N180Q.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es preparado por una reacción de transglutaminasa la cual es llevada a cabo en uno o más solvente(s) seleccionados del grupo que consiste de agua, agua tamponada, agua salina, agua salina tamponada, y un orgánico.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es preparado por una reacción de transglutaminasa la cual es llevada a cabo en agua tamponada con fosfato, HEPES o MOPS.

En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es preparado por una reacción de transglutaminasa la cual incluye reaccionar el anticuerpo modificado por glutaminilo con un compuesto espaciador reactivo para formar un conjugado de anticuerpo-espaciador; y luego reaccionando el conjugado anticuerpo-espaciador con un compuesto reactivo de carga útil para formar un conjugado de carga útil anticuerpo-espaciador.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo modificado por glutaminilo producido por un método establecido en este documento.

En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo modificado por glutaminilo producido por un método establecido en este documento.

En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar una condición en un sujeto que necesite del mismo comprendiendo administrar a un sujeto una cantidad farmacéuticamente aceptable del anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco proporcionado en este documento.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco descrito en este documento para terapia.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo o conjugado anticuerpo-fármaco descrito en este documento para el tratamiento del cáncer.

E. METODOS DE USO Y COMPOSICIONES FARMACEUTICAS

La presente revelación incluye métodos para tratar o prevenir enfermedades, condiciones o trastornos, por ejemplo, enfermedades proliferativas como cáncer, comprendiendo administrar una cantidad terapéuticamente efectiva o uno o más de los compuestos descritos en este documento, por ejemplo, uno o más compuestos de Fórmula (I) o (II). Enfermedades, trastornos, y/o

condiciones incluyen, pero no están limitados a, aquellos asociados con los antígenos enumerados en este documento. En algunas realizaciones, el antígeno es PSMA, MUC16 o EGFRvIII.

Los compuestos revelados en este documento pueden ser usados para tratar tumores primarios y/o metastásicos que surgen en el cerebro y meninges, orofaringe, pulmón y árbol bronquial, tracto gastrointestinal, tracto reproductivo masculino y femenino, músculos, huesos, piel y apéndices, tejido conectivo, bazo, sistema inmunológico, células formadoras de sangre y médula ósea, hígado y tracto urinario, y órganos sensoriales especiales como el ojo. En ciertas realizaciones, los compuestos proporcionados en este documento son usados para tratar uno o más de los siguientes cánceres: carcinoma de célula renal, carcinoma pancreático, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de próstata, gliomas malignos, osteosarcoma, cáncer colorrectal, cáncer gástrico (por ejemplo, cáncer gástrico con amplificación MET), mesotelioma maligno, mieloma múltiple, cáncer de ovarios, cáncer pulmonar de célula pequeña, cáncer pulmonar de célula no pequeña, sarcoma sinovial, cáncer de tiroides, cáncer de mama, o melanoma. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de mama.

Los compuestos descritos en este documento pueden ser administrados solos o en conjunto con uno o más agentes terapéuticas adicionales. El uno o más agentes terapéuticos adicionales puede ser administrado justo antes de, simultáneamente con, o poco después de la administración de los compuestos descritos en este documento. La presente revelación también incluye composiciones farmacéuticas comprendiendo cualquiera de los compuestos descritos en este documento en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, y métodos para tratar comprendiendo administrar tales combinaciones a sujetos que necesitan del mismo.

Agentes terapéuticos adicionales adecuados incluyen, pero no están limitados a: un antagonista EGFR (por ejemplo, un anticuerpo anti-EGFR [por ejemplo, cetuximab o panitumumab] o inhibidor de moléculas pequeñas de EGFR [por ejemplo, gefitinib o erlotinib], un antagonista de otro elemento de la familia EGFR como Her2/ErbB2, ErbB3 o ErbB4 (por ejemplo, anti-ErbB2 [por ejemplo, trastuzumab o T-DM1 {KADCYLA®}], anticuerpo anti-Erb3 o anti-Erb4 o inhibidor de moléculas pequeñas de actividad ErbB2, ErbB3 o ErbB4), un antagonista de EGFRvIII (por ejemplo, un anticuerpo que une específicamente EGFRvIII), un antagonista cMET (por ejemplo, un anticuerpo anti-cMET), un antagonista IGF1R (por ejemplo, un anticuerpo anti-IGF1R), un inhibidor B-raf (por ejemplo, vemurafenib, sorafenib, GCD-0879, PLX-4720), un inhibidor PDGFR-α (por ejemplo, un anticuerpo anti- PDGFR-α) un inhibidor PDGFR-β (por ejemplo, un anticuerpo anti-PDGFR-β o inhibidor quinasa de moléculas pequeñas como por ejemplo, imatinib mesilato o sunitinib malato), un inhibidor de ligando PDGF (por ejemplo, anticuerpo anti-PDGF-A, -B,-C o –D, aptamer, siRNA, etc.) un antagonista VEGF (por ejemplo, VEGF-Trap como aflibercept, ver, por ejemplo, US 7.087.411 (también referido como “proteína de fusión inhibidora de VEGF”), anticuerpo anti-VEGF (por ejemplo, bevacizumab), un inhibidor de quinasa de molécula pequeña del receptor VEGF (por ejemplo, sunitinib, sorafenib o pazopanib)), un antagonista DLL4 (por

ejemplo, un anticuerpo anti-DLL4 revelado en US 2009/0142354 como REGN421), un antagonista Ang2 (por ejemplo, un anticuerpo anti-Ang2 revelado en US 2011/0027286 como H1H685P), un antagonista FOLH1 (por ejemplo, un anticuerpo anti-FOLH1), un antagonista STEAP1 o STEAP2 (por ejemplo, un anticuerpo anti-STEAP1 o un anticuerpo anti-STEAP2), un antagonista TMPRS2 (por ejemplo, un anticuerpo anti-TMPRSS2), un antagonista MSLN (por ejemplo, un anticuerpo anti-MSLN), un antagonista CA9 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CA9), un antagonista uroplakin (por ejemplo, un anticuerpo anti-uroplakin [por ejemplo, anti-UPK3A]), un antagonista MUC16 (por ejemplo, un anticuerpo anti-MUC16), un antagonista antígeno Tn (por ejemplo, un anticuerpo anti-Tn), un antagonista CLEC12A (por ejemplo, un anticuerpo anti-CLEC12A), un antagonista TNFRSF17 (por ejemplo, un anticuerpo anti-TNFRS17), un antagonista LGR5 (por ejemplo, un anticuerpo anti-LGR-5), un antagonista monovalente CD20 (por ejemplo, un anticuerpo monovalente anti-CD20 como rituximab), etc. Otros agentes que pueden ser administrados de manera beneficiosa en combinación con los compuestos de la revelación incluyen, por ejemplo, tamoxifen, inhibidores de aromatasa, e inhibidores de citoquina, incluyendo inhibidores de citoquina de molécula pequeña y anticuerpos que se unen a citoquinas como IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, o sus respectivos receptores.

Agentes terapéuticos adecuados también incluyen, pero no están limitados a agentes quimioterapéuticos, incluyendo agentes alquilantes como tiotepa y ciclosfosfamida (Cytoxan^{TM}); alquil sulfonatos como busulfan, improsulfan, y piposulfan; aziridinas como benzodopa, carboquone, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilamelaminas incluyendo altretamina, trietilenemelamina, trietilenefosforamida, trietilenetiofosforamida y trimetilolomelamina; mostazas de nitrógeno como clorambucil, clornafazine, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloratamina, melfalan, novembiquina, fenesterina, prednimustine, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos como aclacinomicinas, actinomicina, autramicina, azaserina, belomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcellomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, quelamcina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos como metotrexato y 5-fluoracil (5-FU); análogos de ácido fólico como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina como fludarabine, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina como anxitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos como calusterone, dromostanolone propionato, epitiostanol, mepitiostane, testolactona; anti-suprarrenales como aminoglutetimida, mitonate, trilostane; reabastecedor de ácido fólico como ácido frolínico; aceglatone; aldofosfamida glicoside; ácido aminolevulínico; amsacrine; bestrabucil; bisantrene; edatraxato; defofamine, demecolcine; diaziquone; elfornitine; acetato de eliptinium; etoglucid; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinan; lonidamina; mitoguazone; mitoxantrone; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazine;

PSK™; razoxane; sizofiran; espirogermanium; ácido tenuazonico; 2,2',2"-triclorotrietilamina; uretano; vindesina; dacarbazine; manomustine; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacitosina; arabinoside ("Ara-C"); ciclofosfamida, tiotepa; taxanos, por ejemplo, paclitaxel (Taxol ™, Bristol Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) y docetaxel (Taxotere™; Aventis Antony, Francia); clorambucil; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de purina como cisplatina y carboplastin; vinblastine; platinum; etoposide (VP-16); ifosfamide; mitomicina C; mitoxantrone; vincristine; vinorelbine; navelbine; novantrone; teniposide; daunomicina; aminopterin; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS2000; difluormetilornitina (DMFO); ácido retinoico; esperamicinas; capecitabina; y sales farmacéuticamente aceptables, ácidos y derivados de cualquiera de los anteriores. También en esta definición se incluyen los agentes anti-hormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal en tumores como anti-estrógenos que incluyen por ejemplo, tamoxifen, raloxifene, inhibidores de la aromatasa 4(5)–imidazoles, 4-hidroxitamoxifen, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristone, y toremifeno (Fareston); y anti-andrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Los compuestos descritos en este documento también pueden ser administrados y/o co-formulados en combinación con anti-virales, antibióticos, analgésicos, cortico-esteroides, esteroides, oxígeno, antioxidantes, inhibidores COX, cardioprotectores, quelantes metálicos, IFN-gamma y/o NSAIDs.

En algunas realizaciones de los métodos descritos en este documento, se pueden administrar múltiples dosis de un compuesto descrito aquí (o una composición farmacéutica comprendiendo una combinación de un compuesto descrito en este documento y cualquiera de los agentes terapéuticos adicionales mencionados) a un sujeto por un definido período de tiempo. Los métodos de acuerdo a este aspecto de la revelación comprenden administrar secuencialmente a un sujeto múltiples dosis de un compuesto descrito en este documento. Como se usa en este documento, "administrar secuencialmente" significa que cada dosis del compuesto es administrado a un sujeto en un punto diferente de tiempo, por ejemplo, en diferentes días separados por un intervalo predeterminado (por ejemplo, horas, días, semanas o meses). La presente revelación incluye métodos que comprenden administrar secuencialmente al paciente una única dosis inicial de un compuesto descrito en este documento, seguido por una o más dosis secundarias del compuesto, y seguido opcionalmente por una o más dosis terciarias del compuesto.

Los términos "dosis inicial", "dosis secundaria", y "dosis terciaria", se refieren a la secuencia temporal de administración de los compuestos descritos en este documento. Por tanto, la "dosis inicial" es la dosis que es administrada al inicio del régimen de tratamiento (también referido como la "dosis de línea de base"); la "dosis secundaria" son las dosis que son administradas después de la dosis inicial; y la "dosis terciaria" son las dosis que son administradas después de la dosis secundaria. Las dosis inicial, secundaria y terciaria pueden todas contener la misma cantidad de

compuesto descrito en este documento, pero generalmente pueden diferir una de otra en términos de frecuencia de administración. En ciertas realizaciones, la cantidad del compuesto contenido en la dosis inicial, secundaria y terciaria varía una de otra (por ejemplo, ajustada hasta o bajo según corresponda) durante el curso de tratamiento. En ciertas realizaciones, dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, ó 5) dosis son administradas al inicio del régimen de tratamiento como “dosis de carga” seguido por dosis posteriores que son administradas sobre una base menos frecuente (por ejemplo, “dosis de mantención”).

En ciertas realizaciones ejemplares de la presente revelación, cada dosis secundaria y/o terciaria es administrada 1 a 26 (por ejemplo, 1, 1 ½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ o, más) semanas después de la dosis inmediatamente precedente. La frase “dosis inmediatamente precedente”, como se usa en este documento, significa, en una secuencia de administraciones múltiples, la dosis en la cual el compuesto es administrado a un paciente antes de la administración de la próxima dosis en la secuencia sin dosis intermedias.

Los métodos de acuerdo a este aspecto de la revelación pueden comprender administrar a un paciente cualquier número de dosis secundarias y/o terciarias del compuesto. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, solo una dosis secundaria única es administrada al paciente. En otras realizaciones, dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis secundarias son administradas al paciente. Asimismo, en ciertas realizaciones, sólo una dosis terciaria única es administrada al paciente. En otras realizaciones, dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis terciarias son administradas al paciente. El régimen de administración puede ser llevado a cabo indefinidamente durante la vida de un sujeto particular, o hasta que dicho tratamiento ya no es necesario terapéuticamente o ventajoso.

En realizaciones que implican múltiples dosis secundarias, cada dosis secundaria puede ser administrada en la misma frecuencia que las otras dosis secundarias. Por ejemplo, cada dosis secundaria puede ser administrada al paciente 1 ó 2 semanas ó 1 a 2 meses después de la dosis inmediatamente precedente. De manera similar, en realizaciones que implican múltiples dosis terciarias, cada dosis terciaria puede ser administrada en la misma frecuencia que las otras dosis terciarias. Por ejemplo, cada dosis terciaria puede ser administrada al paciente 2 a 12 semanas después de la dosis inmediatamente precedente. En ciertas realizaciones de la revelación, la frecuencia en la cual las dosis secundarias y/o terciarias son administradas a un paciente puede variar en el curso del régimen de tratamiento. La frecuencia de administración también puede ser ajustada durante el curso de tratamiento por un médico dependiendo de las necesidades del paciente individual tras el examen clínico.

La presente revelación incluye regímenes de administración en los cuales 2 a 6 dosis de carga son administradas a un paciente en una primera frecuencia (por ejemplo, una vez a la

semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada dos meses, etc.) seguido por la administración de dos o más dosis de mantención al paciente en una base menos frecuente. Por ejemplo, de acuerdo a este aspecto de la revelación, si las dosis de carga son administradas en una frecuencia de una vez al mes, entonces la dosis de mantención puede ser administrada al paciente una vez cada seis semanas, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, etc.

La presente revelación incluye composiciones farmacéuticas de los compuestos y/o conjugados descritos en este documento, por ejemplo, los compuestos de Fórmula (I) y (II), por ejemplo, composiciones que comprenden un compuesto descrito en este documento, una sal, estereoisómero, polimorfo de los mismos, y un portador, disolvente, y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de portadores, disolventes y excipientes incluyen, pero no están limitados a, tampones de mantenimiento de una composición adecuada de pH (por ejemplo, tampones de citrato, tampones de succinato, tampones de acetato, tampones de fosfato, tampones de lactato, tampones de oxalato, y similares), proteínas portadoras (por ejemplo, albúmina sérica humano), solución salina, polioles (por ejemplo, trehalosa, sacarosa, xilitol, sorbitol, y similares), surfactantes (por ejemplo, polisorbato 20, polisorbato 80, polioxalato y similares), antimicrobianos, y antioxidantes.

F. EJEMPLOS

Los espectros de protones NMR fueron adquiridos en instrumentos Varian Inova 300 ó 500 MHz, mientras el espectro de masa fue recogido en un Agilent series 1100 o 1200 LC/MSD con fuente de ionización electrospray y un analizador de un solo cuadrante o trampa de iones. Ciertas cargas útiles de enlazadores en ensayos enzimáticos fueron analizadas por un espectrómetro de masa Waters Xevo TQ-S. Todos los materiales de partida y solventes fueron comprados comercialmente y usados sin purificación, a menos que se indique o contrario.

EJEMPLO 1

Compuesto **10** fue sintetizado del Compuesto **1** como se describe a continuación y como se representa en **Figura 1.**

*Maitansin-N-metil-L-alanina-4-aminobenzamido-Cit-Val-Cap-Mal (**10**)*

Etapa A: En un matraz de fondo redondo se pesó Boc-L-valina (1.03 g, 4.74 mmol), *N*-hidroxisuccinimida (1.22 g, 10.6 mmol) y EDC (1.60g, 8.35 mmol). Los reactivos fueron disueltos en DCM seco (30 mL), el matraz fue sellado mediante un tabique de caucho, purgado con argón y la reacción agitada a temperatura ambiente. Después de 3 días Boc-valina no permaneció por TLC (después de tinción con ninhidrina), de manera que la reacción fue lavada con agua y $NaHCO_3$ saturado acuoso, la capa acuosa extraída con DCM, las capas orgánicas combinadas lavadas con salmuera, secado sobre Na_2SO_4 y filtrado. El filtrado fue luego evaporado y secado *in vacuo* dando

Boc-L-valina-succinato como un sólido blanco (1.52 g, 100%). 1H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 4.98 (br d, 1H), 4.58 (dd, 1H), 2.82 (m, 4H), 2.27 (m, 1H), 1.44 (s. 9H), 1.03 (dd, 6H).

*Boc-L-valina-L-citrulina (**3**)*:

Boc-L-valina-succinato (**1**) de la etapa anterior (1.50g, 4.77 mmol) fue disuelto en acetonitrilo (MeCN, 15 mL), tratado con una solución de L-citrulina (**2**, 1.07 g, 6.11mmol) en agua (9 mL), y $NaHCO_3$ saturado acuoso (6 mL), el matraz sellado con un tabique ventilado y la reacción agitada a temperatura ambiente. La reacción estaba incompleta después de 18 horas, de manera que se agregó $NaHCO_3$ acuoso saturado adicional (3 mL) para llevar el pH hasta ca. 7 y la reacción agitada otras 36 horas. La reacción fue parcialmente concentrada *in vacuo* para eliminar MeCN y lavada una vez con etil acetato (EtOAc) para eliminar cualquier impureza no polar. La capa acuosa fue luego acidificada a pH 3 con 10% v/v HCl, saturada con NaCl, y extraída 4 veces con 9:1 EtOAc/isopropanol. Los extractos orgánicos combinados fueron lavados con salmuera, secado sobre Na_2SO_4 y filtrado. El filtrado fue luego evaporado y secado *in vacuo* dando el compuesto del título como un sólido blanco (1.56g, 87%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{16}H_{30}N_4O_6$, 374.2; encontrado 375.2 (M+H), 397.2 (M+Na).

*Boc-L-valina-L-citrulina-p-ácido aminobenzoico-t-butil-ester (**5**)*

Etapa B: El producto de la etapa anterior (**3**, 152 mg, 0.406 mmol), tert-butil- 4-aminobenzoato (**4**, 150 mg, 0.776 mmol) y 1-[Bis(dimetilamino)metileno]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio 3-óxido hexafluorofosfato (HATU, 488 mg) 1.28 mmol) fueron pesados en un matraz de fondo redondo y disuelto en *N,N*-dimetilformamida anhidro (DMF, 3 mL). *N,N*-Diisopropiletilamina (DIEA, 0.25 ml, 1.44 mmol) fueron agregados a la reacción, el matraz sellado con tabique de caucho, purgado con argón, y la reacción agitada a temperatura ambiente. Después de 18 horas la reacción fue purificada directamente en una columna C18 RediSep Gold de 100 g mediante el sistema ISCO (gradiente de elución: 20 – 80% MeCN en agua, 0.05% ácido acético en ambos, por 20 minutos). Las fracciones conteniendo el producto fueron combinadas, parcialmente concentradas *in vacuo*, congeladas en hielo seco, y liofilizadas durante la noche dando un sólido blanco impuro (115 mg). Esto fue disuelto en DCM y repurificado en una columna de gel de sílice RediSep de 12 g mediante ISCO (gradiente de elución: 0 – 10% metanol en DCM por 12 minutos), y las fracciones del producto de funcionamiento más lento evaporadas y secadas *in vacuo* dando el compuesto de título como un sólido amarillo pálido (65 mg, 29%). MS (ESI, pos.): calculada para $C_{27}H_{43}N_5O_7$, 549.3; encontrado 450.3 (M-Boc+H), 572.3 (M+Na), 1099.5 (2M+H), 1121.5 (2M+Na).

*L-valina-L-citrulina-p-ácido aminobenzoico (**6**):*

Etapa C: El compuesto del título fue preparado usando el método Mehta *et al., (Tet. Lett*. **1992,** *33*, 5441-5444). El producto de la etapa anterior (**5**, 61mg, 0.111 mmol) fue disuelto en DCM seco (3 mL) en un matraz de fondo redondo, y tratado con ácido trifluoracético (TFA, 110µL, 1.44

mmol) y trietilsilano [TES (Et3SiH), 50 µL, 0.313 mmol]. El matraz fue sellado con tabique, purgado con argón, y agitado a temperatura ambiente por 18 horas. La reacción fue incompleta por LCMS, de manera que se agregó TFA (90µL) y TES (25µL) adicional y la reacción agitada por otras 6 horas. La reacción aún estaba incompleta de manera que fue tapada y almacenada a -20°C por 3 días. Después de calentar a temperatura ambiente y agitando otras 24 horas, fue concentrada *in vacuo* a un aceite, triturado dos veces con dietil éter, y secado bajo alto vacío dando el compuesto del título como un sólido blanquecino (55 mg, 98%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{18}H_{27}N_5O_5$, 393.2: encontrado 394.0 (M+H), 787.2 (2M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) mostró una mezcla de rotámeros de amida: δ10.52 (s, 0.5H), 10.46 (s, 0.5H), 8.83 (d, 0.5H), 8.71 (d, 0.5H), 8.06 (br s, 3H), 7.89 (m, 2H), 7.72 (m, 2H), 6.03 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.97 (m, 1H), 2.10 (m, 1H), 1.73 (m 1H), 1.63 (m, 1H), 1.5 – 1.3 (m, 2H), 0.95 (m 6H).

*6-(Maleimidil-caprolil)-L-valina-L-citrulina-p-ácido aminobenzoico (**8**)*:

Etapa D: El producto de la etapa anterior (**6**, 55mg, 0.108 mmol) fue disuelto en agua (3 mL), tratada con $NaHCO_3$ acuoso saturado, luego con una solución de ácido 6-maleimidil-caproico éster de succinato (56 mg, 0.182 mmol) en MeCN (3 mL). El matraz fue tapado bajo argón y la reacción agitada a temperatura ambiente por 22 horas. La reacción se completó por LCMS, de manera que se concentró parcialmente *in vacuo* y purificada directamente en una columna C18 Aq RediSep Gold de 30 g mediante ISCO (gradiente de elución: 20 – 80% MeCN en agua, 0.05% ácido acético en ambos, por 12 minutos). Las principales fracciones del producto fueron combinadas, parcialmente concentradas *in vacuo*, congeladas en hielo seco, y liofilizadas durante la noche dando un sólido amarillo pálido impuro (92 mg). Esto se encontró impuro por LCMS de manera que fue disuelto en MeCN/agua y repurificado en una columna C18 Aq Gold de 100g (gradiente de elución: 0 -50% MeCN, en agua, 0.05% ácido acético en ambos, por 20 minutos). Las fracciones de producto más limpias, concentradas parcialmente *in vacuo*, congeladas en hielo seco, y liofilizadas dando el compuesto del título como un sólido blanco (34 mg, 53%). MS (ESI, por): calculado para $C_{28}H_{38}N_6O_8$, 586.3: encontrado 587.3 (M+H), 609.3 (M+Na). ^{1}HNMR (500 MHz, DMSO-d_6) mostró una mezcla de rotámeros de amida: δ 10.26 (s, 0.6H), 10.11 (s, 0.4H), 8.43 (d, 0.4H), 8.13 (d, 0.6H), 7.93 -7.70 (m, 4H), 6.99 (m, 2H), 5.97 (m, 1H), 5.41 (m, 2H), 4.38 (m, 1H), 4.21 – 4.12 (m , 1H), 3.36 (m, 2H), 3.02 (m, 1H), 2.95 (m, 1H), 2.17 (m, 1H), 2.12 (m, 1H),1.95 (m, 1H), 1.78 – 1.58 (m, 2H), 1.48 (m, 6H), 1.36 (m, 1H), 1.18 (m, 2H), 0.85 (m, 6H).

*Maitansin-N-metil-L-alanina-4-aminobenzamida-citrulina-valina-caprolil-6-maleimidil **(10)**:*

Etapa E: El producto de la etapa anterior (**8**, 33 mg, 0.056 mmol), HATU (33 mg, 0.087 mmol), y maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, preparado como un sólido dorado a partir de maitansinol usando los métodos descritos en la Solicitud de Patente U.S. N° 2007/0037972 A1, 25 mg, 0.038 mmol) fueron pesados en un matraz de fondo redondo, disuelto en DMF anhidro (2mL), y tratado con DIEA (20 µL,0.115 mmol). El matraz fue sellado mediante tabique de caucho, purgado con argón, y la reacción agitada a temperatura ambiente por 20 horas. La reacción fue diluida con agua (1 mL), y purificada directamente en una columna C18 Aq RediSep de 50g mediante ISCO (gradiente de elución: 20 – 80% MeCN en agua, 0.05% ácido acético en ambos, por 12 minutos).

Las fracciones de producto fueron combinadas, concentradas parcialmente *in vacuo*, congeladas en hielo seco, y liofilizadas durante la noche dando el compuesto de título como un sólido blanco (8 mg, 17%). MS (ESI, pos.) calculado para $C_{60}H_{80}N_9O_{16}Cl$, 1217.5; encontrado 1218.6 (M+H), 1200.7 (M-H_2O+H), 1240.7 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 9.25 (s, 1H), 7.68 – 7.61 (m , 2H), 7.33 (d, 2H), 6.91 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.75 (d, 1H), 6.67 (s, 2H), 6.45 (dd, 1H), 6.27 (br s, 1H), 6.21 (d, 1H), 5.74 (dd, 1H), 5.44 (m, 1H), 4.98 (m, 1H), 4.88 (d, 1H), 4.77 (t, 1H), 4.53 (br s, 1H), 4.33 – 4.25 (m, 2), 4.00 (s, 3H), 3.65 (d, 1H), 3.48 (m, 4H), 3.56 (s, 3H), 3.20 (m, 1H), 3.11 (d, 1H), 3.05 (m, 3H), 2.88 (s, 3H), 2.69 (t, 1H), 2.26 – 2.19 (m, 3H), 2.10 (m, 2H), 1.94 (m, 1H), 1.70 - 1.55 (m, 6H), 1.66 (s, 3H), 1.46 (d, 3H), 1.33 – 1.26 (m, 7H), 0.96 (m, 6H), 0.85 (s, 3H).

EJEMPLO 2

Compuesto **15** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 6**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(4-amino-2-flúor)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal (**15**)*

*Boc-L-valina-L-citrulina-(4-amino-2-flúor)ácido benzoico t-butil éster (**12**):*

Etapa A: Siguiendo el procedimiento de Wipf & Heimgartner (*Helv. Chim. Acta*, **1998**, *71*, 140-154), Boc-L-valina-L-citrulina (**3**, 155 mg, 0.414 mmol) y diciclohexilcarbodiimida (DCC, 95 mg, 0.460mmol) fueron disueltos en diclorometano seco (DCM, 3 mL), enfriado a 0°C, y agitado por 5 minutos. Luego se agregaron (+)-Alcanfor-10-ácido sulfónico (CSA, 15 mg, 0.065mmol) y tert-butil-4-amino-2-fluorbenzoato (99 mg, 0.469 mmol) y la reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente mientras se agitaba por 3 días. El análisis LCMS mostró un nuevo gran pico con m/z 566 (ESI, neg). La reacción fue diluida con DCM y lavada con 10% v/v HCl, agua, y $NaHCO_3$ saturado. Las capas acuosas fueron extraídas cada una con DCM una vez, y las capas orgánicas combinadas lavadas con salmuera, secadas sobre Na_2SO_4 y filtradas. El filtrado fue luego evaporado y secado *in vacuo* dando un sólido dorado pálido el cual fue purificado en una columna RediSep Gold de 24 g mediante ISCO (gradiente de elución: Etil Acetato – 5:5:1 EtOAc/DCM/metanol por 12 minutos). Las fracciones de producto más limpias fueron combinadas, concentradas *in vacuo*, y secadas bajo alto vacío dando el compuesto del título como un sólido blanco (95 mg, 40%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{27}H_{42}N_5O_7F$, 567.3; encontrado 568.3 (M+H), 590.4 (M+Na).

*L-valina-L-citrulina-(4-amino-2-flúor) sal de trifluoroacetato de ácido benzoico (**13**):*

Etapa B: El compuesto de título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**12,** 94 mg, 0.166), usando la Etapa C, Ejemplo 1, para dar un sólido blanquecino (112 mg). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{18}H_{26}N_5O_5F$, 411.2; encontrado 412.2 (M+H), 395.2 (M-H_2O+H).

*6-Maleido)-caproamidilo-L-valina-L-citrulina-(4-amino-2-flúor)ácido benzoico (**14**):*

Etapa C: El compuesto de título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**13**, 106 mg, 0.166 mmol), usando la Etapa D, Ejemplo 1, para dar un sólido blanco (92 mg) que fue sólo 70% puro por LCMS pero usado sin purificación adicional. MS (ESI, pos.): calculado para $C_{28}H_{37}N_6O_8F$, 604.3; encontrado 605.2 (M+H), 627.2 (M+Na).

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(4-amino-2-flúor)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal **(15)**:*

Etapa D: El compuesto de título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior, (**14**, 50 mg, 0.077 mmol) y maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 50 mg, 0.077 mmol), usando la Etapa E, Ejemplo 1, para dar un sólido blanco (18 mg) que fue sólo 55% puro por LCMS. Purificando dos veces por HPLC usando una columna Phenomenex Geminin C18, 5u, 30 x 150 mm (20 – 80%, luego 40 – 60%, MeCN en agua, 0.1% HOAc ambas fases, por 20 minutos, 30 mL/min) dio el compuesto del título como un sólido blanco (3 mg, 3%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{60}H_{79}N_9O_{16}C1F$, 1235.5; encontrado 1236.5 (M+H), 1258.5 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 9.40 (s, 1H), 7.64 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 7.42 (s 1H), 7.14 (t, 1H, *J*= 8Hz), 6.90 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.77 (m, 1H), 6.68 (s, 2H), 6.46 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11Hz), 6.25 (br s, 1H), 6.19 (br m, 1H), 5.75 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 9Hz), 5.48 (br m, 1H), 4.88 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 4.76 (m, 1H), 4.29 (t, 1H, *J*= 11Hz), 4.23 (t, 1H, *J*= 7 Hz), 4.01 (s, 2H), 3.99 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 3.53 - 3.47 (m, 4H), 3.36 (s, 3H), 3.20 (m, 1H), 3.13 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 3.03 (m, 3H), 2.81 (s, 2H), 2.67 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 12 Hz), 2.25 (t, 1H, *J*= 7Hz), 2,21 (m 2H), 2.10 (m, 1H), 1.70 – 1.64 (m, 2H), 1.67 (s, 3H), 1.46 – 1.41 (m, 6H), 1.33 – 1.25 (m, 10H), 0.99 – 0.95 (m, 6H), 0.89 – 0.80 (m, 1H), 0.85 (s, 3H).

EJEMPLO 3

Compuesto **20** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 7**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(4-amino-2-trifluormetil)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal **(20)***

*Boc-L-valina-L-citrulina-(4-amino-2-trifluormetil)ácido benzoico t-butil-éster **(17)**:*

Etapa A: El compuesto del título fue preparado a partir de Boc-L-valina-L-citrullina (**3**, 175 mg, 0.467 mmol) y tert-butil-4-amino-trifluormetilbenzoato (150 mg, 0.574 mmol), usando el método de Wipf & Heimgartner (*Helv. Chim Acta*, **1998**, *71*,140-154) para dar un sólido blanco (77 mg, 27%). MS (ESI, neg.): calculado para $C_{28}H_{42}N_5O_7F_3$, 617.3: encontrado 616.4 (M-H).

*L-valina-L-citrulina-(4-amino-2-trifluormetil)sal de trifluoroacetato de ácido benzoico **(18)**:*

Etapa B: El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**17,** 67 mg, 0.108), usando la Etapa C, Ejemplo 1, para dar un sólido blanquecino (77 mg). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{19}H_{26}N_5O_5F_3$, 461.2; encontrado 462.3 (M+H), 445.2 (M-H_2O+H).

*6-(Maleimido)-caproamidil-L-valina-L-citrulina-(4-amino-2-trifluormetil)ácido benzoico (**19**):*

Etapa C: El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**18**, 75 mg, 0.108mmol), usando la Etapa D, Ejemplo 1, para dar un sólido blanco (47 mg, 66%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{29}H_{37}N_6O_8F_3$, 654.3; encontrado 655.3 (M+H).

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(4-amino-2-trifluormetil)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal **(20):***

Etapa D: El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**19**, 34 mg, 0.052 mmol) y maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 34 mg, 0.052 mmol), usando la Etapa E, Ejemplo 1, para dar un sólido blanco (11 mg, 16%) después de una segunda purificación ISCO (columna C18 Aq Gold de 100 g, 30 – 70% MeCN en agua, 0.05% HOAc ambos, por 15 minutos, 50 mL/min). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{61}H_{79}N_9O_{16}ClF_3$, 1285.5; encontrado 1287.4 (M+H), 1268.4 (M-H_2O+H), 1308.4 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-$_{d6}$): δ 10.4 (s, 1H), 8.16 (d, 1H, *J*= 7 Hz), 8.13 (s, 1H), 7.80 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 7.25 (s, 1H), 7.12 (m, 1H), 6.99 (s, 2H), 6.93 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.63 – 6.55 (m, 2H), 6.01 (s, 1H), 5.95 (m, 1H), 5.58 (dd, 1H; *J*= 15 Hz, 9Hz), 5.38 (m, 3H), 4.64 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3Hz), 4.30 (m, 1H), 4.17 – 4.08 (m, 2H), 3.96 (s, 2H), 3.93 (m, 1H), 3.53 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.40 (br m, 1H), 3.36 (m, 1H), 3.27 (s, 3H), 3.25 (m, 1H), 3.04 (s, 3H), 3.03 – 2.92 (m, 2H), 2.84 – 2.70 (m, 2H), 2.53 (m, 2H), 2.20 – 2.09 (m, 3H), 1.94 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.64 (s, 3H), 1.60 – 1.53 (m, 3H), 1.51 – 1.44 (m , 6H), 1.40 (m, 1H), 1.37 – 1.32 (m, 3H), 1.30 – 1.24 (m, 2H), 1.20 – 1.12 (m, 5H), 0.89 (m, 1H), 0.86 (s, 3H), 0.84 – 0.80 (m, 6H).

EJEMPLO 4

Compuesto **25** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 8**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(4-amino-2-metoxi)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal (**25**)*

*Boc-L-valina-L-citrulina-(4-amino-2-metoxi)ácido benzoico t-butil éter (**22**):*

Etapa A: El compuesto del título fue preparado a partir de Boc-L-valina-L-citrulina (**3**, 143 mg, 0.382 mmol) y tert-butil-4-amino-2-metoxibenzoato (109 mg, 0.488 mmol), usando el método de Wipf & Heimgartner *(Helv. Chim. Acta*, **1998**, *71*, 140-154) para dar un sólido blanco (92 mg, 42%). MS (ESI, neg.): calculado para $C_{28}H_{45}N_5O_8$, 579.3: encontrado 580.3 (M-H), 602.3 (M+Na).

*L-valina-L-citrulina-(4-amino-2-metoxi) sal de trifluoroacetato de ácido benzoico (**23**):*

Etapa B: El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**22**, 90 mg, 0.155), usando la Etapa C, Ejemplo 1, para dar un sólido pálido (99 mg); que fue triturado dos veces con DCM, disuelto en MeCN y THF, filtrado y el solvente evaporado *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (79 mg, 95%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{19}H_{29}N_5O_6$, 423.2; encontrado 424.2 (M+H), 407.2 (M-H_2O+H), 446.2 (M+Na).

*6-(Maleimido)-caproamidil-L-valina-L-citrulina-(4-amino-2-metoxi)ácido benzoico (**24**):*

Etapa C: El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**23**, 76 mg, 0.141 mmol), usando la Etapa D, Ejemplo 1, para dar un sólido blanco (50 mg, 57%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{29}H_{40}N_6O_9$, 616.3; encontrado 617.2 (M+H).

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(4-amino-2-metoxi)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal **(25):***

Etapa D: El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**24**, 49 mg, 0.079 mmol) y maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 34 mg, 0.052 mmol), usando la Etapa E, Ejemplo 1, para dar un sólido blanco (34 mg, 34%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{61}H_{82}N_9O_{17}Cl$, 1247.6 encontrado 1248.5 (M+H), 1230.5 (M-H_2O+H), 1270.5 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-$_{d6}$): δ 9.26 (br s, 1H), 7.49 (br m, 1H), 6.99 (m ,1H), 6.95 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.85 (m, 1H), 6.69 (s, 2H), 6.45 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11Hz), 6.29 (br s, 1H), 5.73 (dd, 1H, *J*= 16 Hz, 10 Hz), 4.84 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 4.70 (br m, 1H), 4.30 (t, 1H, *J*= 12 Hz), 4.01 (s, 3H), 3.74 (br m, 4H), 3.55 – 3.47 (m, 5H), 3,35 (s, 3H), 3.14 (m ,2 H), 3.02 (m, 4 H), 2.83 (br s, 3H), 2.71 (s, 3H), 2.65 (m, 1H), 2.60 (t, 1H, *J*= 8 Hz), 2.24 – 2.18 (m, 3H), 2.09 (m ,1H), 1.77 (pentet, 1H, *J*= 8 Hz), 1.70 – 1.61 (m, 6H),1.67 (s, 3H),1.51 -1.40 (m, 6H), 1.30 – 1.26 (m, 5H), 0.94 (m, 6H), 0.85 (s, 3H).

EJEMPLO 5

Compuesto **27** fue sintetizado a partir del Compuesto **26** como se describe a continuación y se representa en **Figura 9**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-4-aminobenzamido **(27)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(4-nitro)benzamido

En un matraz seco, de fondo redondo, se pesó maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 96 mg, 0.15 mmol), ácido 4-nitrobenzoico (**26**) (42 mg, 0.25 mmol) y HATU (0.12 g, 0.31 mmol). Los reactivos fueron disueltos en DMF anhidro (3.0 mL), tratado con DIEA (0.10 mL, 0.57 mmol) y el matraz purgado con argón y sellado con un tabique de caucho. La reacción fue agitada a temperatura ambiente por 3 días, después de lo cual LCMS mostró una conversión completa de Maytan-NMA, de manera que fue diluido con unos pocos mL de agua y purificada directamente en una columna C18 Aq Gold de 100 g (gradiente de elución: 20 – 80% MeCN en agua, 0.05% ácido acético en ambos, por 15 minutos). Las fracciones de producto más limpias fueron combinadas, concentradas parcialmente *in vacuo*, congeladas en hielo seco, y liofilizadas durante la noche dando el compuesto del título como un sólido amarillo (64 mg, 54%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{47}N_4O_{12}Cl$, 798.3; encontrado 798.4 (M+H).

*Etapa B: Maitan-NMA-(4-amino)benzamido) (**27**):*

El producto de la etapa anterior (63 mg, 0.079 mmol) y polvo de zinc (< 10µm, 98+% puro, 108 mg, 1.65 mmol) fueron disueltos/suspendidos en una mezcla de THF (4 mL) y agua (1 mL). Se le agregó ácido acético (0.180 mL, 3.14 mmol) a la mezcla, el matraz sellado con un tabique de caucho, y la reacción agitada a temperatura ambiente por 1 hora. LCMS de la mezcla cruda mostró

una conversión completa, de manera que la reacción fue filtrada sobre Celite, lavada con MeCN, y el filtrado concentrado *in vacuo*. El producto crudo fue purificado directamente en un columna C18 Aq Gold de 50 g (gradiente de elución: 20 – 80% MeCN en agua, 0.05% ácido acético en ambos, por 12 minutos). Las fracciones de producto más limpias fueron combinadas, parcialmente concentradas *in vacuo*, congeladas en hielo seco, y liofilizadas durante la noche para dar 46 mg de sólido blanco que fue sólo 88% puro por LCMS. Esto fue disuelto en 1:1 MeCN/agua (3 mL) y repurificado por HPLC usando una columna Phenomenex Gemini C18 5u, 30 x 150 mm en dos inyecciones (40 – 80% y 30 – 70% MeCN en agua, 0.05% HOAc ambas fases, por 20 minutos, 30 mL/min), y la fracción más limpia fue concentrada, congelada y liofilizada como previamente dando el compuesto del título como un sólido blanco (31 mg, 48%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{41}H_{53}N_4O_{12}Cl$, 768.3; encontrado 751.2 (M-H_2O+H), 769.2 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.24 (d, 2H, *J*= 9 Hz), 6.93 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.76 (d, 1H, *J* = 12 Hz), 6.57 (d, 2H, *J*= 9 Hz), 6.45 (dd, 1H, *J*= 16 Hz, 12 Hz); 6.23 (s, 1H), 574 (dd, 1H, *J* = 16 Hz, 9Hz), 5.43 (br m, 1H), 4.87 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3Hz), 4.32 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.85 (s, 2H), 3.65 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.51 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.47 (br s, 1H), 3,36 (s, 3H), 3.10 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.07 (s, 3H), 3.04 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 2.93 (s, 3H), 2,67 (m, 1H), 2.20 (dd, 1H; *J*= 14 Hz, 3 Hz), 1.67 (m , 1H), 1.66 (s, 3H), 1.51 – 1.47 (m, 2H), 1.44 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.31 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.27 (m, 1H), 0.84 (s, 3H).

EJEMPLO 6

Compuesto **29** fue sintetizado a partir del Compuesto **28** como se describe a continuación y se representa en **Figura 10**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-flúor-4-amino)benzamido (**29**)*

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-flúor-4-nitro)benzamido

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 40 mg, 0.056 mmol) y 2-flúor-4-ácido nitrobenzoico (**28**) (26 mg, 0.140 mmol) usando la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo claro (16 mg, 35%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{46}N_4O_{12}ClF$, 816.3; encontrado 817.2 (M+H), 839.2 (M+Na).

*Etapa B: Maitan-NMA-(2-flúor-4-amino)benzamido (**29**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (15 mg, 0.018 mmol), usando la Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (8 mg, 50%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{48}N_4O_{10}ClF$, 786.3; encontrado 769.2 (M-H_2O+H), 787.2 (M+H), 809.3 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.05 – 6.99 (m, 2H), 6.92 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.81 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 6.47 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6.36 – 6.29 (m, 2H), 6.22 (s, 1H), 5.73 (dd, 1H, *J*= 16 Hz, 9 Hz), 5.48 (m, 1H), 4.87 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3Hz), 4.30 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.93 (s, 2H), 3.73 (d, 1H, *J*= 13 Hz). 351 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.41 (br m, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.13 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 3.04 (s, 3H), 3.02 (m, 1H), 2.83 (s, 3H), 2.66 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 13 Hz), 2.19 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 3 Hz),

1.67 (s, 3H), 1.63 (m, 1H), 1.51 – 1.45 (m, 2H), 1.43 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.30 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.27 (m, 1H), 0.84 (s, 3H).

EJEMPLO 7

Compuesto **31** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 11**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-2(trifluormetil)-4-amino)benzamido (**31**)*

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-trifluormetil-4-nitro)benzamido

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 68 mg, 0.105 mmol) y 2-trifluormetil-4-ácido nitrobenzoico (**30**) (37 mg, 0.157 mmol) usando la Etapa A del Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo pálido (82 mg, 90%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{46}N_4O_{12}ClF_3$, 866.3; encontrado 867.1 (M+H), 889.1 (M+Na).

*Etapa B: Maitan-NMA-(2-trifluormetil-4-amino)benzamido (**31**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (79 mg, 0.091 mmol) usando la Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (29 mg, 35%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{48}N_4O_{10}ClF_3$, 836.3; encontrado 818.8 (M-H_2O+H), 836.8 (M+H), 858.0 (M+Na).). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.00 - 6.91 (m, 3H), 6.85 (d, 1H, *J*= 3 Hz), 6.75 (br d, 1H, *J*= 18 Hz), 6.63 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 6.45 (dd, 1H, *J*= 26 Hz, 19 Hz), 6.23 (s, 1H), 5.73 (dd, 1H, *J*= 26 Hz, 15 Hz), 4.88 (dd, 1H, *J*= 20 Hz, 5 Hz), 4.31 (m, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.96 (m, 1H), 3.66 (d, 1H, *J*= 22 Hz), 3.52 (d, 1H, *J*=15 Hz), 3.37 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 3.11 (m, 1H), 3.03 (d, 1H, *J*= 16 Hz), 2.72 (m, 1H), 2.66 (s, 3H), 2,23 (dd, 1H, *J*= 24 Hz, 5 Hz), 1.66 (s, 3H), 1.51 – 1.45 (m, 2H), 1.43 (d, 3H, *J*= 12 Hz), 1.31 (d, 3H, *J*= 11 Hz), 1.27 (m, 1H), 0.87 (s, 3H).

EJEMPLO 8

Compuesto **33** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 12**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-metoxi-4-amino)benzamido (**33**)*

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-metoxi-4-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 68 mg, 0.105 mmol) y 2-metoxi-4-ácido nitrobenzoico (**32**) (32 mg, 0.162 mmol) usando la Etapa A del Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo pálido (78 mg, 90%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{49}N_4O_{13}Cl$, 828.3; encontrado 811.1 (M-H_2O+H) 829.2 (M+H), 851.2 (M+Na).

*Etapa B: Maitan-NMA-(2-metoxi-4-amino)benzamido (**33**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (75 mg, 0.090 mmol) usando la Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (62 mg, 79%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{51}N_4O_{11}Cl$, 798.3; encontrado 781.2 (M-H_2O+H), 799.2 (M+H), 821.2 (M+Na).). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.03 (d, 1H, *J*= 14 Hz), 6.99 (s, 1H), 6.94 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 6.86 (s, 1H), 6.81 (d, 1H; *J*= 3 Hz), 6.46 (dd, 1H, *J*= 16 Hz,11 Hz), 6.24 (s, 1H), 6.17 (s, 1H), 6.11 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 5.73 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 9 Hz), 5.54 (m ,1H), 4.81 (m, 1H), 4.31 (t, 1H, *J*= 11 Hz), 4.00 (s, 3H), 3.81 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.79 (m, 1H), 3.52 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.36 (s, 3H), 3.12 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.04 (m, 1H), 3.02 (s, 3H), 2.72 (s, 3H), 2.64 (t, 1H, *J*= 12 Hz), 2.18 (dd, 1H, *J*= 14 Hz, 3 Hz), 1.66 (s, 3H), 1.63 (m, 2H), 1.51 – 1.45 (m, 2H), 1.41 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.30 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.26 (m,1H), 0.84 (s, 3H).

EJEMPLO 9

Compuesto **35** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 13.**

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-trifluormetil-4-amino)benzamido (**35**)*

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-trifluormetil-4-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 46 mg, 0.071 mmol) y 3-trifluormetil-4-ácido nitrobenzoico (**34**) (25 mg, 0.106 mmol) usando el método de la Etapa A del Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo pálido (37 mg, 61%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{46}N_4O_{12}ClF_3$, 866.3; encontrado 849.2 (M-H_2O+H) 867.2 (M+H), 889.2 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-trifluormetil-4-amino)benzamido (**35**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (36 mg, 0.042 mmol) usando el método de la Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (17 mg, 46%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{48}N_4O_{10}ClF_3$, 836.3; encontrado 819.2 (M-H_2O+H), 837.2 (M+H), 859.2 (M+Na).). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.54 (s, 1H), 7.37 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.91 (br s, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.70 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 6.66 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.45 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6.28 (s, 1H), 5.73 (dd, 1H, *J*= 16 Hz, 9 Hz), 5.44 (m ,1H), 4.88 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3 Hz), 4.40 (s, 2H), 4.30 (t, 1H, *J*= 11 Hz), 3.99 (s, 3H), 3.63 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.52 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.36 (s, 3H), 3.12 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.03 (m, 4H), 2.92 (s, 3H), 2.69 (m, 1H), 2.,21 (dd, 1H, *J*= 14 Hz, 3 Hz), 1.65 (m, 4H), 1.52 – 1.44 (m, 4H), 1.31 (d, 3H, *J*= 6 Hz), 1.26 (m, 2H), 0.85 (s, 3H).

EJEMPLO 10

Compuesto **37** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 14.**

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(2-cloro-4-amino-5-flúor)benzamido (**37**)*

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-cloro-4-nitro-5-flúor)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 46 mg, 0.071 mmol) y 3-trifluormetil-4-ácido nitrobenzoico (**36**) (26 mg, 0.118 mmol) usando el método de la Etapa A del Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (33 mg, 55%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{45}N_4O_{12}Cl_2F$, 850.2; encontrado 833.1 (M-H_2O+H) 851.1 (M+H), 873.1 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(2-cloro-4-amino-5-flúor)benzamido (**37**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (36 mg, 0.042 mmol) usando el método de la Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (17 mg, 46%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{47}N_4O_{10}Cl_2F$, 820.3; encontrado 803.2 (M-H_2O+H), 821.2 (M+H), 843.2 (M+Na).). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 6.88 (d, 2H, *J*= 13 Hz), 6.83 (d, 1H, *J*= 11 Hz) 6.77 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.72 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 6.46 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6.25 (s, 1H), 5.71 (dd, 1H, *J*= 16 Hz, 10 Hz), 5.52 (m ,1H), 4.85 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3Hz), 4.30 (t, 1H, *J*= 11 Hz), 4.01 (s, 3H), 3.92 (s, 2H), 3.73 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.52 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.37 (s, 3H), 3.15 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.10 (s, 3H), 3,03 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 2.75 (s, 3H), 2.68 (dd, 1H, *J*= 14 Hz, 12 Hz), 2.22 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 3 Hz), 1.67 (s, 3H), 1.61 (m ,1H), 1.50 – 1.43 (m, 5H), 1.31 (d. 3H, *J*= 6 Hz), 1.27 – 1.24 (m, 1H), 0.86 (s, 3H).

EJEMPLO 11

Compuesto **39** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 16.**

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(2,5-diflúor-4-amino)benzamido (**39**)*

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2,5-diflúor-4-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 48 mg, 0.074 mmol) y 2,5-diflúor-4-ácido nitrobenzoico (**38**) (27 mg, 0.133 mmol) usando el método de la Etapa A del Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (37 mg, 60%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{45}N_4O_{12}ClF_2$, 834.3; encontrado 817.2 (M-H_2O+H) 835.2 (M+H), 857.2 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(2,5-diflúor-4-amino)benzamido (**39**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (36 mg, 0.043 mmol) usando el método de la Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (22 mg, 59%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{47}N_4O_{10}Cl_2F$, 804.3; encontrado 787.3 (M-H_2O+H), 805.3 (M+H), 827.3 (M+Na).). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 6.89 – 6.84 (m, 3H), 6.77 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 6.49 – 6.41 (m, 2H), 6.24 (s, 1H), 5.72 (dd, 1H, *J*= 16 Hz, 9 Hz), 5.47 (q, 1H, *J*= 7 Hz), 4.87 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3 Hz), 4.30 (td, 1H, *J*= 12 Hz, 2 Hz), 4.00 (m, 5H), 3.71 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.52 (d,

1H, *J*= 9 Hz), 3.36 (s, 3H), 3.33 (br s, 1H), 3.13 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.06 (s, 3H), 3.02 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 2.83 (d, 3H, *J*= 2 Hz), 2.66 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 12 Hz), 2.18 (dd, 1H, *J*= 14 Hz, 3 Hz), 1.67 (s, 3H), 1,63 (d, 1H, *J*= 14 Hz), 1.51 – 1.45 (m ,1H), 1.43 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.31 (d, 3H, *J*= 6, Hz). 1.27 (m, 1H), 0.84 (s, 3H).

EJEMPLO 12

Compuesto **41** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 17.**

Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-flúor-4-amino)benzamido (41)

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-flúor-4-nitro)benzamido

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 47 mg, 0.072 mmol) y 3-flúor-4-ácido nitrobenzoico (**40**) (24 mg, 0.130mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (40 mg, 68%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{46}N_4O_{12}$ ClF, 816.3; encontrado 799.2 (M-H_2O+H), 817.2 (M+H), 839.2 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-flúor-4-amino)benzamido (**41**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (39 mg, 0.048 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (24 mg, 60%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{48}N_4O_{10}ClF$, 786.3; encontrado 769.2 (M-H_2O+H), 787.2 (M+H), 809.2 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.11 – 7.04 (m, 2H), 6.89 (s, 1H), 6.83 (d, 1H, *J*= 2 Hz), 6.72 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 6.68 (t, 1H, *J*= 8 Hz), 6.45 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6.25 (s, 1H), 5.72 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 9 Hz), 5.43 (m,1H), 4.86 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3 Hz), 4.31 (t, 1H, *J*= 11 Hz), 3.99 (s, 3H), 3.92 (m ,2H), 3.62 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.51 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.40 (bs, s, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.12 (m ,1H), 3,08 (s, 3H), 3.04 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 2.92 (s, 3H), 2.68 (t, 1H, *J*= 13 Hz), 2.20 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 3Hz), 1.66 (s, 3H), 1.63 (m, 1H), 1. 49 – 1.46 (m, 1H), 1.44 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.31 (d, 3H, *J*= 87 Hz), 1.27 (m, 1H), 0.84 (s, 3H).

EJEMPLO 13

Compuesto **43** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 18**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-cloro-4-amino)benzamido (**43**)*

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-cloro-4-nitro)benzamido

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 45 mg, 0.069 mmol) y 3-cloro-4-ácido nitrobenzoico (**42**) (26 mg, 0.129 mmol), usando el método de la

Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (36 mg, 62%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{46}N_4O_{12}$ Cl_2, 832.2; encontrado 815.2 (M-H_2O+H), 833.2 (M+H), 855.2 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-cloro-4-amino)benzamido (**43**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (35 mg, 0.042 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (24 mg, 67%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{48}N_4O_{10}Cl_2$, 802.3; encontrado 785.2 (M-H_2O+H), 803.2 (M+H), 825.1 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.35 (s, 1H), 7.17 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.90 (s, 1H), 6.83 (d, 1H, *J*= 2 Hz), 6.68 (m, 2H), 6.44 (dd, 1H, *J*= 15 Hz), 6.30 (s, 1H), 5.73 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 9 Hz), 5.42 (m, 1H), 4.87 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3 Hz), 4.32 – 427 (m, 3H), 3.99 (s, 3H), 3.60 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.51 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 3.44 (bs s 1H), 3.36 (s, 3H), 3.10 (m, 4H), 3.03 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 2.92 (s, 3H), 2.69 (m, 1H), 2.21 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 3Hz), 1.65 (s, 3H), 1.63 (m, 1H), 1.52 – 1.45 (m, 1H), 1.43 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.31 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.27 (m, 1H), 0.83 (s, 3H).

EJEMPLO 14

Compuesto **45** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 19**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(5-amino-8-carboxiquinolina)carboxamida (**45**)*

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(5-nitro-8-carboxiquinolina)carboxamida:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 45 mg, 0.069 mmol) y 5-nitro-8-carboxiquinolina (**44**) (24 mg, 0.110 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo pálido (26 mg, 44%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{42}H_{48}N_5O_{12}Cl$, 849.3; encontrado 832.2 (M-H_2O+H), 850.2 (M+H), 872.2 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-(5-amino-8-carboxiquinolina)carboxamida (**45**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (25 mg, 0.029 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo pálido (8 mg, 31%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{42}H_{50}N_5O_{10}Cl$, 819.3; encontrado 802.3 (M-H_2O+H), 820.3 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-$_{d6}$): δ 8.80 (br s, 1H), 8.54 (d,1H, *J*= 10 Hz), 7.39 (br s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.05 – 7.00 (br m, 2H), 6.90 (s, 1H), 6.84 (m, 1H), 6.62 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6.52 (br m, 1H), 6.22 (s, 2H), 5.98 (s, 1H), 5.62 (br m, 2H), 4.56 (br m, 1H), 4.11 (m, 1H), 3.98 (s, 3 H), 3.64 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.53 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.,27 (s, 3H), 2.92 – 2.88 (m, 3H), 2.81 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 2.42 (br s, 2H), 2.07 – 2.04 (m, 1H), 1.75 (m, 2H), 1.66 (s, 3H), 1.55 – 1.45 (m, 3H), 1.42 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.32 (d, 1H, *J*= 14 Hz), 1.24 (s, 1H), 1.14 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 0.84 (s, 3H).

EJEMPLO 15

Compuesto **47** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 20**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-bromo-4-amino)benzamido **(47)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-bromo-4-nitro)benzamido

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 49 mg, 0.075 mmol) y 3-bromo-4-ácido nitrobenzoico (**46**) (30 mg, 0.122 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (38 mg, 58%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{46}N_4O_{12}$ BrCl, 876.2/878.2; encontrado 861.1 (M-H_2O+H), 879.1 (M+H), 901.1 (M+Na), para los isótopos más abundantes.

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-bromo-4-amino)benzamido (**47**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (37 mg, 0.042 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (28 mg, 74%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{48}N_4O_{10}$BrCl, 846.2/848.2; encontrado 831.1 (M-H_2O+H), 849.1 (M+H), 871.2 (M+Na), para los isótopos más abundantes. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.51 (s, 1H), 7.20 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.90(s, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.68 (m, 2H), 6.44 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6.33 (s, 1H), 5,74 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 10 Hz), 5.42 (m, 1H), 4.88 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3 Hz), 4.31 (m, 3H), 3.99 (s, 3H), 3.60 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.51 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.46 (br s, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.10 (s, 3H), 3.09 (m, 1H), 3.03 (d, 1H, *J*= 10Hz), 2.70 (t, 1H, *J*= 13 Hz), 2.21 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 3Hz), 1.,65 (s, 3H), 1.51 - 1.45 (m, 2H), 1.43 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.30 (d, 3H, *J*= 6 Hz), 1.27 (m, 1H), 0.85 (s, 3H).

EJEMPLO 16

Compuesto **49** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 21**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-metoxi-4-amino)benzamido **(49)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-metoxi-4-nitro)benzamido

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 49 mg, 0.075 mmol) y 3-metoxi-4-ácido nitrobenzoico (**48**) (23 mg, 0.117 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (34 mg, 55%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{49}N_4O_{13}$Cl, 828.3; encontrado 811.2 (M-H_2O+H), 829.3 (M+H), 851.3 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-metoxi-4-amino)benzamido (**49**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (33 mg, 0.040 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (25 mg, 74%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{51}N_4O_{11}$Cl, 798.3; encontrado 781.2 (M-H_2O+H), 799.2 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ6.94 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.85 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.81 (s, 1H), 6.74 (br d, 1H, *J*= 10 Hz), 6.54 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 6.44 (dd, 1H, *J*= 15 Hz,11 Hz), 6.33 (s, 1H), 5.76 (m, 1H),

5.43 (br s, 1H), 4.87 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3 Hz), 4.31 (t, 1H, *J*= 11 Hz), 3.98 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.64 (br d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.36 (s, 3H), 3.11 – 3.02 (m, 5H), 2.94 (s, 3H), 2.68 (m ,1H), 2.20 (dd, 1H, *J*= 4 Hz, 3Hz), 1.67 (m ,1H), 1.65 (s, 3H), 1.49 (dd, 1H, *J*= 9 Hz, 7 Hz), 1.44 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.30 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.27 (m, 1H), 0.85 (s, 3H).

EJEMPLO 17

Compuesto **51** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 22**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-metil-4-amino)benzamido **(51)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-metil-4-nitro)benzamido

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 49 mg, 0.075 mmol) y 2-metil-4-ácido nitrobenzoico (**50**) (24 mg, 0.132 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo pálido (32 mg, 52%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{49}N_4O_{12}Cl$, 812.3; encontrado 795.3 (M-H_2O+H), 813.3 (M+H), 835.3 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-metil-4-amino)benzamido (**51**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (30 mg, 0.037 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (17 mg, 55%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{51}N_4O_{10}Cl$, 782.3; encontrado 765.2 (M-H_2O+H), 783.2 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 6.93 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.81 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.77 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 6.49 (s, 1H), 6.45 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6.34 (d, 1H, *J*= 7 Hz), 6.28 (s 1H), 5.74 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 9 Hz); 5.38 (m, 1H), 4.90 (m, 1H), 4.32 (t, 1H, *J*= 11 Hz); 4.00 (s, 3H), 3.69 (d, 1H, *J*= 13 Hz); 3.51 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.36 (s, 3H), 3.15 (m 1H), 3.12 (s, 3H), 3.01 (d, 1H, *J*= 10Hz); 2.73 (s, 3H), 2.69 (m, 1H), 2.22 (m 1H), 2.18 (s, 3H), 1.68 (m, 1H), 1.66 (s, 3H), 1.51 (m, 1H), 1,47 (d, 3H, *J*= 7 Hz); 1.30 (d, 3H, *J*= 6 Hz),1.28 (m, 1H), 0.87 (s, 3H).

EJEMPLO 18

Compuesto **53** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 23**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-metil-4-amino)benzamido **(53)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-metil-4-nitro)benzamido

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 49 mg, 0.075 mmol) y 3-metil-4-ácido nitrobenzoico (**52**) (26 mg, 0.143 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (34 mg, 56%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{49}N_4O_{12}Cl$, 812.3; encontrado 795.2 (M-H_2O+H), 813.2 (M+H).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-metil-4-amino)benzamido (**53**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (33 mg, 0.041 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (24 mg, 71%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{51}N_4O_{10}Cl$, 782.3; encontrado 765.2 (M-H_2O+H), 783.2 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.15 (s, 1H), 7.09 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.94 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.72 (br d, 1H, *J*= 10 Hz); 6.54 (d, 1H; *J*= 8 Hz); 6.44 (dd, 1H, H= 15 Hz, 12 Hz), 6.33 (s, 1H), 5.75 (dd, 1H, *J*= 14 Hz, 9 Hz); 5.42 (m, 1H), 4.87 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 10 Hz), 4.31 (t, 1H, *J*= 11 Hz), 3.98 (s, 3H), 3.63 (br d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.50 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.36 (s, 3H), 3.10 (m, 1H), 3.07 (s, 3H), 3.03 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 2.91 (s, 3H), 2.68 (t, 1H, *J*= 13 Hz), 2.19 (dd, 1H, *J*= 14 Hz, 3Hz), 2.06 (s, 3H), 1.66 (m, 1H), 1.65 (s, 3H), 1.48 (dd, 1H, *J*= 11 Hz, 7 Hz), 1.43 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.29 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.27 (m, 1H), 0.84 (s, 3H).

EJEMPLO 19

Compuesto **55** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 24**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(8-amino-5-carboxiquinolina)carboxamida **(55)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(8-nitro-5-carboxiquinolina)carboxamida:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9**, 47 mg, 0.072 mmol) y 8-nitro-5-carboxiquinolina (**54**) (35 mg, 0.160 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo pálido (30 mg, 49%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{42}H_{48}N_5O_{12}Cl$, 849.3; encontrado 832.6 (M-H_2O+H), 850.7 (M+H).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-(8-amino-5-carboxiquinolina)carboxamida (**55**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (29 mg, 0.034 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo pálido (18 mg, 60%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{42}H_{50}N_5O_{10}Cl$, 819.3; encontrado 802.0 (M-H_2O+H), 820.0 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 8.77 (dd, 1H, *J*= 4 Hz, 2Hz), 8,18 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 7.40 (dd, 1H, *J*= 9 Hz, 4 Hz), 7.23 (m 1H), 6.99 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.73 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.68 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 6.47 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6,26 (s, 1H), 5.77 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 9 Hz), 5.32 (br m, 1H), 5.21 (br s, 2H), 4.99 (d, 1H, *J*= 9 Hz); 4.34 (t, 1H, *J*= 11 Hz), 4.01 (s, 3H), 3.78 (br m, 1H), 3.67 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.51 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 3.37 (s, 3H), 3.16 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.12 (s, 3H), 3.00 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 2.79 (s, 3H), 2.73 (m, 1H), 2.24 (dd, 1H, *J*= 14 Hz, 3 Hz), 1.76 (d, 1H, *J*= 14 Hz), 1.68 (s, 3H), 1.61 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.33 (m, 1H), 1.30 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.25 (s, 1H), 0.90 (s, 3H).

EJEMPLO 20

Compuesto **60** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 25**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-metoxi-4-amino)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal **(60)***

*Etapa A: Boc-L-valina-L-citrulina-(3-metoxi-4-amino(ácidobenzoico t-butil éster (**57**):*

El compuesto del título fue preparado a partir de Boc-L-valina-L-citrulina (**3**, 100 mg, 0.267 mmol) y 4-amino-3-ácido metoxibenzoico tert-butil éster (**56**) (61 mg, 0.273 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 2, para dar un sólido blanco (74 mg, 48%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{28}H_{45}N_5O_8$, 579.3; encontrado 580.4 (M+H), 602.6 (M+Na).

*Etapa B: L-valina-L-citrulina-(3-metoxi-4-amino)ácidobenzoico (**58**)*:

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**57**), (72 mg, 0.124 mmol) usando el método de Etapa C de Ejemplo 1, para dar un sólido blanquecino (68 mg, 100%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{19}H_{29}N_5O_{6,}$ 423.2; encontrado 424.4 (M+H), 847.4 (2M+H).

*Etapa C: 6-(Maleimidil-caprolil)-L-valina-L-citrulina-(3-metoxi-4-amino)ácido benzoico (**59**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**58**), (67 mg, 0.124 mmol) usando el método de Etapa D de Ejemplo 1, para dar un sólido blanco (45 mg, 59%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{29}H_{40}N_6O_{9,}$ 616.3; encontrado 617.5 (M+H), 639.6 (M+Na).

*Etapa D: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-metoxi-4-amino)benzamido-Cit-Val-Cap-Mal **(60)***

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**59**) (44 mg, 0.071 mmol) y maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (49 mg, 0.075 mmol) usando el método de Etapa E de Ejemplo 1, para dar un sólido blanco (14 mg, 16%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{61}H_{82}N_9O_{17}Cl$, 1247.6; encontrado 1231.1 (M-H_2O+H), 1249.1 (M+H), 1271.1 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 8.48 (s, 1H), 8.24 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 7.11 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.96 – 6.93 (m, 3H), 6.83 (s, 1H), 6.72 – 6.68 (m, 3H), 6.45 (dd, 1H, *J*= 16 Hz, 11 Hz), 6.25 (s, 1H), 6.18 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 5.77 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 10 Hz), 5.44 (m , 1H), 5.03 (br s, 1H), 4.90 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 4.62 (m, 1H), 4.54 (br s, 2H), 4.33 – 4.28 (m, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.61 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.52 – 3.48 (m, 3H), 3.36 (s, 3H), 3.24 (m, 2H), 3.11 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.07 (s, 3H), 3.03 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 2.90 (s, 3H), 2.70 (m, 1H), 2.26 – 2.20 (m, 3H), 2.12 (m, 1H), 2.00 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 1.63 – 1.57 (m, 6H), 1.46 (d, 2H, *J*= 7 Hz), 1.33 – 1.25 (m, 6H), 0.86 (s, 3H).

EJEMPLO 21

Compuesto **63** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 26**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-flúor-4-amino)benzamido-Cit-Val-Cap-6-amina **(63)***

Etapa A: Boc-6-ácido aminohexanoico succinato éster:

El compuesto del título fue preparado a partir de Boc-6-ácido aminohexanoico (**64)**, (502 mg, 2.17 mmol) usando el método de la Etapa A de Ejemplo 1, para dar un sólido blanco (712 mg, 99%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{15}H_{24}N_2O_6$, 328.2; encontrado 351.2 (M+Na).

*Etapa B: Boc-(6-amino-caprolil)-L-valina-L-citrulina (**62**)*:

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de las etapas anteriores, (710 mg, 2.16 mmol) y sal TFA de L-valina-L-citrulina (970 mg, 2.51 mmol) usando el método de Etapa D de Ejemplo 1, para dar un sólido dorado pálido (720 mg, 69%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{22}H_{41}N_5O_7$ 487.3; encontrado 488.3 (M+H), (M+H).

Etapa C: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-flúor-4-amino)benzamido-Cit-Val-Cap-6-Boc-amina:

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**62**), (25 mg, 0.051 mmol) y Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-flúor-4-amino)benzamido **(29**), (35 mg, 0.041 mmol) usando el método de Etapa A de Ejemplo 2, para dar un sólido blanco (17 mg, 33%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{61}H_{87}N_9O_{16}ClF$, 1255.6; encontrado 1238.5 (M-H_2O+H), 1256.6 (M+H), 1278.6 (M+Na).

*Etapa D: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-flúor-4-amino)benzamido-Cit-Val-Cap-6-amina **(63)***

El producto de la etapa anterior (16 mg, 0.013 mmol) se disolvió en acetonitrilo (MeCN, 3 mL) y agua (1 mL), tratado con ácido trifluoracético (TFA, 1.0 mL, 13.0 mmol), el matraz sellado con un tabique de caucho, purgado con argón y la reacción agitada a temperatura ambiente. Después de 24 horas, la reacción fue parcialmente concentrada *in vacuo* a temperatura ambiente, diluida con agua (ca. 1 mL), y purificada dos veces en una columna C18 Aq RediSep Gold mediante un sistema ISCO (20 – 80% MeCN en agua, 0.1% TFA ambas fases). Las fracciones más puras por LCMS fueron combinadas, parcialmente concentradas *in vacuo* a temperatura ambiente, congeladas a -78°C y liofilizadas para dar el compuesto del título como un sólido blanco (9 mg, 56%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{56}H_{79}N_9O_{14}ClF$, 1155.5; encontrado 1156.6 (M+H), 1178.6 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 8.72 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 8.39 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 8.14 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 7.84 (dd, 1H, *J*= 21 Hz, 3 Hz); 7.75 (dd, 1H, *J*= 1 Hz, 3 Hz), 7.60 (dd, 1H, *J*= 15

Hz, 3Hz), 7.33 (dd, 1H, *J*= 14 Hz, 3 Hz), 7.25 (m, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.75 (m , 1H), 6.72 (s, 1H), 6.67 (m, 1H), 5.78 – 5.60 (m, 3H), 4.77 (m , 1H), 4.45 (m, 2H), 4.26 (m, 1H), 4.20 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 4.05 – 4.00 (m, 2H), 4.03 (s, 3H), 3.69 (dd, 1H, *J*= 21 Hz, 5 Hz), 3.64 (d, 1H, *J*= 16 Hz), 3.41 (s, 3H), 3.30 – 3.26 (m, 2H), 3.23 – 3.09 (m, 2H), 3.05 (m, 3H), 2.97 (dd, 1H, *J*= 16 Hz, 5 Hz), 2.92 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 2.86 (m, 3H), 2.82 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 2.75 (m, 1H), 2.36 – 2.29 (m, 2H), 2.25 – 2.20 (m, 1H), 2.08 -2.02 (m ,2H), 1.76 (s, 3H), 1.73 – 1.50 (m, 10H), 1.45 (m, 2H), 1.36 – 1.32 (m, 2H), 1.28 (d, 3H, *J*= 11 Hz), 1.05 (d, 3H*, J*= 11 Hz), 1.03 – 0.98 (m, 4H), 0.93 (s, 3H).

EJEMPLO 22

Compuesto **65** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 27**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(2-metoxi-5-amino)benzamido **(65)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-metoxi-5-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (50 mg, 0.077 mmol) y 2-metoxi-5-ácido nitrobenzoico (**64**) (25 mg, 0.127 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (51 mg, 80%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{49}ClN_4O_{13}$, 829.3; encontrado 812.0 (M-H_2O+H), 830.0 (M+H), 852.0 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(2-metoxi-5-amino)benzamido (**65**)*:

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior, (50 mg, 0.060 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (19 mg, 40%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{51}ClN_4O_{11,}$ 798.3; encontrado 781.3 (M-H_2O), 799.3 (M+H), 822.3 (M+Na).

EJEMPLO 23

Compuesto **67** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 28**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-amino-4-metoxi)benzamido **(67)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-nitro-4-metoxi)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (50 mg, 0.077 mmol) y 3-nitro-4-ácido nitrobenzoico (**66**) (25 mg, 0.127 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (46 mg, 72%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{49}ClN_4O_{13}$, 829.3; encontrado 812.0 (M-H_2O+H), 830.0 (M+H), 852.0 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-amino-4-metoxi)benzamido (**67**)*:

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior, (45 mg, 0.054 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (23 mg, 53%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{51}ClN_4O_{11,}$ 798.3; encontrado 781.3 (M-H_2O), 799.3 (M+H), 822.3 (M+Na).

EJEMPLO 24

Compuesto **69** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 29**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-amino-5-flúor)benzamido **(69)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-nitro-5-flúor)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (50 mg, 0.077 mmol) y 3-nitro-5-ácido fluorobenzoico (**68**) (24 mg, 0.127 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (37 mg, 59%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{46}ClFN_4O_{12}$, 816.3; encontrado 817.2 (M+H).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-amino-5-flúor)benzamido (**69**)*:

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior, (37 mg, 0.045 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (9.1 mg, 24%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{48}ClFN_4O_{10,}$ 786.3; encontrado 769.3 (M-H_2O), 787.3 (M+H).

EJEMPLO 25

Compuesto **71** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 30**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(2-flúor-5-amino)benzamido **(71)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-flúor-5-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (50 mg, 0.077 mmol) y 2-flúor-5-ácido nitrobenzoico (**70**) (24 mg, 0.127 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (37 mg, 59%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{46}ClFN_4O_{12}$, 816.3; encontrado 799.3 (M-H_2O), 817.2 (M+H).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(2-flúor-5-amino)benzamido (**71**)*:

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior, (37 mg, 0.045 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (2.2 mg, 6%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{48}ClFN_4O_{10,}$ 786.3; encontrado 769.3 (M-H_2O), 787.3 (M+H).

EJEMPLO 26

Compuesto **73** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 31**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-amino)benzamido **(73)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (50 mg, 0.077 mmol) y 3-ácido nitrobenzoico (**72**) (21 mg, 0.127 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (34 mg, 56%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{47}ClN_4O_{12}$, 798.3; encontrado 781.2 (M-H_2O), 799.3 (M+H).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-amino)benzamido (**73**)*:

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior, (34 mg, 0.043 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (9.3 mg, 27%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{49}ClN_4O_{10,}$ 768.3; encontrado 751.2 (M-H_2O), 769.2 (M+H).

EJEMPLO 27

Compuesto **75** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 32**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-amino-4-flúor)benzamido **(75)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-nitro-4-flúor)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (50 mg, 0.077 mmol) y 3-nitro-4-ácido nitrobenzoico (**74**) (24 mg, 0.127 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (34 mg, 54%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{46}ClFN_4O_{12}$, 816.3; encontrado 799.3 (M-H_2O), 817.2 (M+H).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-amino-4-flúor)benzamido (**75**)*:

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior, (34 mg, 0.042 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (12 mg, 37%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{48}ClFN_4O_{10,}$ 786.3; encontrado 769.3 (M-H_2O), 787.3 (M+H).

EJEMPLO 28

Compuesto **77** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 33**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-4-aminobenzamido-adipico-NHS **(77)***

*Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(4-amino)benzamido-ácido adípico (**76**):*

El compuesto del título fue preparado a partir de **27** (20 mg, 0.026 mmol) y anhídrido adípico (17 mg, 0.133 mmol) fueron pesados en un matraz de fondo redondo y disuelto en piridina (1.5 mL) El matraz fue sellado con un tabique de caucho, purgado con nitrógeno y la reacción agitada a temperatura ambiente. Después de 4 horas, la reacción fue directamente purificada en una columna C18 Aq RediSep Gold de 30 g mediante un sistema ISCO (gradiente de elución: 20 – 90% MeCN en agua, 0.05% ácido acético en ambas). Las fracciones conteniendo el producto fueron combinadas, parcialmente concentradas *in vacuo*, congeladas en hielo seco y liofilizadas para dar un sólido blanquecino (16 mg, 67%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{45}H_{57}ClN_4O_{13}$, 896.4; encontrado 879.4 (M-H_2O), 897.4 (M+H).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(4-amino)benzamido-adípico-NHS (**77**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**76**), (16 mg, 0.017 mmol) usando el método de Etapa A de Ejemplo 1, para dar un sólido blanco (10 mg, 58%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{49}H_{60}ClN_5O_{15}$, 993.5; encontrado 976.0 (M-H_2O), 994.0 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.92 (s, 1H), 7.57 (d, 2H, *J*= 8 Hz), 7.36 (d, 2H, *J*= 8 Hz), 6.93 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.75 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 6.47 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6.29 (s, 1H), 5.74 (dd, 1H, *J*= 16 Hz, 9 Hz), 5.47 (m, 1H), 4.90 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3 Hz), 4.32 (t, 1H, *J*= 11 Hz), 4.02 (s, 4H), 3.63 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.62 (br s, 1H), 3.53 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.38 (s, 3H), 3.13 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 2 (s, 3H), 2.80 (d, 2H, *J*= 10 Hz), 2.73 (s, 3H), 2.60 (m, 1H), 2.27 (t, 2H, *J*= 10 Hz), 2.11 (br s, 1H), 2.07 (s, 2H), 1.62 (s, 3H), 1.58 – 1.52 (m, 2H), 1.51 – 1.46 (m, 2H), 1.34 – 1.29 (m, 3H), 1.25 – 1.20 (m, 2H), 1.13 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 0.82 (s, 3H).

EJEMPLO 29

Compuesto **78** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 34**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-4-aminobenzamido-Cap-Mal (**78**)*

El compuesto del título fue preparado a partir de **27** (15 mg, 0.019 mmol) y 6-ácido maleimidohexanoico (6 mg, 0.029 mmol), usando el método de Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido blanquecino (9.8 mg, 52%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{49}H_{60}ClN_5O_{13}$, 962.5; encontrado 944.8 (M-H_2O), 962.8 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 10.01 (s, 1H), 7.56 (d, 2H, *J*= 9 Hz), 7.29 (d, 2H, *J*= 9 Hz); 7.21 (s, 1H), 6.99 (s, 2H), 6.91 (s, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.62 – 6.56 (m, 2H), 5.97 (s, 1H), 5.61 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 10 Hz=, 5.44 (m, 1H), 4.59 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 4.10 (t, 1H, *J*= 12 Hz); 3.94 (s, 3H), 3.51 (d, 1H, *J*= 9 Hz); 3.40 – 3.36 (m, 2H), 3.26 (s, 3H), 3.23 – 3.21 (m, 2H), 2.94 (s, 3H), 2.80 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 2.73 (s, 3H), 2.64 – 2.57 (m, 1H), 2.27 (t, 2H, *J*= 10 Hz), 2.11 – 2.09 (m, 1H), 2.07 (s, 2H), 1.62 (s, 3H), 1.57 – 1.52 (m, 2H), 1.51 – 1.46 (m, 2H), 1.34 – 1.29 (m, 3H), 1.25 – 1.19 (m, 2H), 1.13 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 0.82 (s, 3H).

EJEMPLO 30

Compuesto **80** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 35**.

Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-metilsulfonil)-4-amino)benzamido ***(80)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-metilsulfonil-4-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (40 mg, 0.062 mmol) y 3-metilsulfonil-4-ácido nitrobenzoico (**79**) (25 mg, 0.102 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (37 mg, 69%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{50}H_{49}N_4O_{14}C1S$, 876.3; encontrado 857.6 (M-H_2O+H), 875.6 (M+H), 897.6 (M+Na).

Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-metilsulfonil)-4-amino)benzamido ***(80)***

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (36 mg, 0.041 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (28 mg, 76%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{51}N_4O_{12}C1S$, 846.3; encontrado 829.1 (M-H_2O+H), 847.1 (M+H), 869.1 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.85 (s 1H), 7.44 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 6.90 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.71 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 6.66 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 6.45 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6.23 (s, 1H), 5.72 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 10 Hz), 5.32 – 5.25 (m, 2H), 4.89 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3 Hz), 4.31 (t, 1H, *J*= 11 Hz); 3.99 (s, 3H), 3.65 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.51 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.36 (s, 3H), 3.14 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.05 (s, 3H), 3.01 (m, 1H), 2.99 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.68 (t, 1H, *J*= 14 Hz), 2.20 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 3 Hz), 1.70 (m, 1H), 1.67 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.52 (m, 1H), 1.47 (d, 1H, *J*= 7 Hz), 1.31 (d, 1H, *J*= 7 Hz), 1.28 (m, 1H), 0.85 (s, 3H).

EJEMPLO 31

Compuesto **82** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 36**.

Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-hidroxi-4-amino)benzamido ***(82)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-hidroxi-4-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (47 mg, 0.072 mmol) y 3-hidroxi-4-ácido nitrobenzoico (**81**) (20 mg, 0.109 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (29 mg, 49%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{47}N_4O_{13}Cl$, 814.3; encontrado 796.8 (M-H_2O+H), 814.8 (M+H), 836.8 (M+Na).

Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-hidroxi-4-amino)benzamido ***(82)***

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (28 mg, 0.034 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo pálido (20 mg, 69%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{51}N_4O_{12}C1S$, 784.3; encontrado 767.7 (M-H_2O+H), 785.7 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 9.19 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.79 (br s, 2H), 6.63 – 6.56 (m, 3H), 6.47(m, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.57 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 4.09(t, 1H, *J*= 12Hz); 3.93 (s, 3H), 3.50 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.26 (s, 3H), 3.18 (br m, 1H), 2.99 (s, 3H), 2.79 (d, 1H,

J= 10 Hz), 2.76 (s, 3H), 2.06 (dd, 1H, *J*= 14 Hz, 2 Hz), 1.60 (s, 3H), 1.48 – 1.46 (m, 2H), 1.33 – 1.27 (m, 4H), 1.13 (d, 3H, *J*= 6 Hz), 0.80 (s, 3H).

EJEMPLO 32

Compuesto **84** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 37**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(2-amino)benzamido **(84)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (30 mg, 0.046 mmol) y 2-ácido nitrobenzoico (**83**) (15 mg, 0.092 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (26 mg, 71%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{47}N_4O_{12}Cl$, 798.3; encontrado 799.3 (M+H), 821.3 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(2-amino)benzamido **(84)***

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (24 mg, 0.038 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (13 mg, 54%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{39}H_{49}N_4O_{10}C1$, 768.3; encontrado 769.0 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7.16 (m, 1H), 7.08 (d, 1H, *J*= 6 Hz), 6.92 (s, 1H), 6.84 (d, 1H, *J*= 2 Hz), 6.71 (d, 1H, *J*= 8 Hz); 6.63 (t, 1H, *J*= 7 Hz), 6.57 (m, 1H), 6.47 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 11 Hz), 6.27 (s, 1H), 5.76 (m, 1H), 5.20 (br s, 1H), 4.99 (m, 1H), 4.39 – 4.32 (m, 3H), 4.01 (s, 3H), 3.74 (br s, 1H), 3.59 (d, 1H, *J*= 13 Hz); 3.52 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.39 (s, 3H), 3.20 (s, 3H), 3.15 (d, 1H, *J*= 12 Hz); 2.99 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 2.,94 (s, 3H), 2.73 (t, 1H, *J*= 14 Hz), 2.26 (m, 1H), 1.75 (d, 1H, *J*= 12 Hz); 1.69 (s, 3H), 1.55 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.50 (m, 1H), 1.35 – 1.30 (m, 4H), 0.90 (s, 3H).

EJEMPLO 33

Compuesto **86** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 38**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(4-metoxi-2-amino)benzamido **(86)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(2-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (30 mg, 0.046 mmol) y 4-metoxi-2-ácido nitrobenzoico (**85**) (18 mg, 0.092 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (18 mg, 47%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{49}N_4O_{13}Cl$, 828.3; encontrado 829.4 (M+H), 851.3 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(4-metoxi-2-amino)benzamido **(86)***

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (18 mg, 0.022 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (15 mg, 84%).

MS (ESI, pos.): calculado para $C_{40}H_{51}N_4O_{11}C1$, 798.3; encontrado 799.1 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 6.85 (d, 1H, *J*= 2 Hz), 6.79 (dd, 1H, *J*= 9 Hz, 3 Hz); 6.67 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 6.65 (m, 1H), 6.60 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 6.48 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 12 Hz), 6.27 (s, 1H), 5.76 (m, 1H), 5.22 (br s, 1H), 4.98 (m, 1H), 4.36 (t, 1H, *J*= 11 Hz), 4.01 (s, 3H), 3.93 (br s, 1H), 3.72 (br s, 1H), 3.65 (m, 1H), 3.61 (s, 3H), 3.52 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.39 (s, 3H), 3.18 (s, 3H), 3.16 (m, 1H), 2.99 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 2.94 (s, 3H), 2.72 (t, 1H, *J*= 13 Hz), 2.26 (dd, 1, *J*= 15 Hz, 3 Hz), 1.74 (d, 1H, *J*= 14 Hz), 1.70 (s, 3H), 1.55 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.52 – 1.48 (m, 1H), 1.35 – 1.30 (m, 4H), 0.90 (s, 3H).

EJEMPLO 34

Compuesto **88** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 39**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-morfolino-4-amino)benzamido **(88)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-morfolino-4-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (30 mg, 0.046 mmol) y 3-morfolino-4-ácido nitrobenzoico (**87**) (23 mg, 0.092 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo (28 mg, 70%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{43}H_{56}N_5O_{13}Cl$, 883.3; encontrado 884.5 (M+H), 906.3 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-morfolino-4-amino)benzamido **(88)***

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (28 mg, 0.032 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanquecino (12 mg, 52%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{43}H_{56}N_5O_{11}C1$, 853.4; encontrado 853.9 (M+H), 875.9 (M+Na). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ7.12 (s, 1H), 7.02 (d, 1H, *J*= 8 Hz); 6.98 (s, 1H), 6.86 (d, 1H, *J*= 2 Hz), 6.81 (d, 1H, *J*= 11 Hz), 6.61 (d, 1H, *J*= 8 Hz), 6.48 (dd, 1H, *J*= 16 Hz, 12 Hz), 6.29 (s, 1H), 5.77 (dd, 1H, *J*= 15 Hz, 9 Hz), 5.48 (m, 1H), 4.89 (dd, 1H, *J*= 12 Hz, 3Hz), 4.34 (t, 1H, *J*= 12 Hz); 4.19 (br m, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.80 – 3.75 (m, 5H), 3.53 (m, 2H), 3.39 (s, 3H), 3.15 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 3.07 (d, 1H, *J*= 10 Hz), 3.03 (s, 3H), 2.96 (s, 3H), 2.73 (m, 5H), 2.22 (dd, 1H, *J*= 14 Hz, 3 Hz), 1.71 (m, 1H), 1.69 (s, 3H), 1.54 – 1.49 (m, 1H), 1.47 (d, 3H, *J*= 8 Hz), 1.33 (d, 3H, *J*= 7 Hz), 1.30 (m, 1H), 0.88 (s, 3H).

EJEMPLO 35

Compuesto **90** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 40**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-(3-acetamido-4-amino)benzamido **(90)***

Etapa A: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-acetamido-4-nitro)benzamido:

El compuesto del título fue preparado a partir de maitansin-N-metil-L-alanina (**9)**, (50 mg, 0.077 mmol) y 3-acetamido-4-ácido nitrobenzoico (**89**) (29 mg, 0.129 mmol), usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido amarillo pálido esponjoso (36 mg, 54%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{41}H_{50}N_5O_{13}Cl$, 855.3; encontrado 839.1 (M-H_2O), 857.1 (M+H), 879.1 (M+Na).

*Etapa B: Maitansin-N-metil-L-alanina-(3-acetamido-4-amino)benzamido **(90)***

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (35 mg, 0.042 mmol) usando el método de Etapa B de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (19 mg, 57%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{41}H_{52}N_5O_{11}C1$, 825.3; encontrado 808.4 (M-H_2O), 826.4 (M+H). ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 9.05 (s, 1H), 7.30 (s, 1H), 7.17 (s, 1H), 6.98 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 6.91 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.58 (m, 3H), 5.97 (s,1 H), 5.64 (br s, 1H), 5.34 (m, 3H), 4.60 (d, 1H, *J*=12 Hz), 4.10 (t, 1H, *J*= 12 Hz), 3.93 (s, 3H), 3.50 (d, 1H, *J*= 9 Hz), 3.33 (s, 3H), 3.29 (m, 1H), 3.26 (s, 3H), 3.16 (d, 1H, *J*= 12 Hz), 2.97 (s, 3H), 2.79 (m, 4H), 2.07 (d, 1H, *J*= 13 Hz), 1.95 (s, 2H), 1.59 (s, 3H), 1.51 – 1.42 (m, 2H), 1.29 (m, 3H), 1.13 (d, 3H, *J*= 6 Hz), 0.81 (s, 3H).

EJEMPLO 36

Compuesto **100** fue sintetizado como se describe a continuación y como se representa en **Figura 41**.

*Maitansin-N-metil-L-alanina-N-4-aminobenzamido-Cit-Val-Cap-di-Bromometilacril **(100)***

*Etapa A: Cloruro de 3-bromo-2-bromometil - propionilo (**92**)*:

En un matraz de fondo redondo de 10 ml equipado con un agitador magnético y una entrada de nitrógeno se cargó ácido 3-bromo-2-bromometil-propiónico **(91**) (1.0g; 4.1 mmol) y cloruro de tionilo (3.0 mL). Esta solución se calentó a reflujo por 3 horas y concentrado a 0.90 g (84% rendimiento) como un aceite marrón. ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 3.85 – 3.75 (m, 4H), 3.60 (pentet, 1H, *J*= 9 Hz).

*Etapa B: Éster tert-butil de ácido 6-amino-hexanoico (**94**)*:

En un matraz de fondo redondo de 50 ml equipado con un agitador magnético y una entrada de nitrógeno se cargó ácido 6-aminohexanoico **(93**) (2.0g; 15 mmol) y cloruro de tionilo (5.0 mL; 69 mmol; 4.5 equiv.) Esta solución fue agitada a o bajo 30°C por 2 horas y concentrada *in vacuo* hasta secar. Al semi-sólido color canela se le agregó una suspensión de bicarbonato de sodio (2.6 g; 30 mmol; 2.0 equiv.) en *t*-BuOH (5.0 mL; 87 mmol; 5.7 equiv.) y la suspensión fue agitada a temperatura ambiente por otras 2 horas. El butanol fue eliminado *in vacuo* a 40°C. La suspensión espesa blanca fue diluida con etil acetato y lavada con 4 porciones de 1N NaOH, 3 porciones de H_2O, 1 porción de salmuera. Los orgánicos fueron secados sobre Na_2SO_4, filtrado y concentrado para dar 2.2 g, (77% rendimiento) como un aceite incoloro. MS (ESI, pos.): calculado para $C_{10}H_{21}NO_2$, 187.3; encontrado 188.4 (M+H). ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 2.68 – 2.64 (m,

2H), 2.21 – 2.16 (m, 2H), 1.62 – 1.52 (m, 2H), 1.48 – 1.38 (m, 9H), 1.36 – 1.20 (m, 2H), 1.09 (m, 2H).

*Etapa C: 6-(3-Bromo-2-bromometil-propionilamino)-ácido hexanoico tert-butil-éster (**95**):*

A un matraz de fondo redondo de 50 mL equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se le cargó ácido 6-aminohexanoico *tert*-butil éster (**94**) (0.50 g; 2.7 mmol) y dimetilaminopiridina (0.03 g, 0.27 mmol; 0.10 equiv.) en DCM (5.0 mL). Esta solución fue enfriada a 0°C mediante un baño de hielo. 3-Bromo-2-bromometil-cloruro de propionilo **(92**) (0.90 g, 3.4 mmol; 1.2 equiv.) se disolvió en DCM (5 mL) y se agregó lentamente a la mezcla reacción a 0°C. Se agitó y calentó lentamente a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla reacción diluida con etil acetato, lavada la mezcla orgánica con H_2O, 5% $NaHCO_3$ y salmuera. Los orgánicos fueron secados sobre Na_2SO_4, filtrado, concentrado y purificado en una columna de gel de sílice eludiendo con 0-100% etil acetato en hexanos para dar 0.49g (42% rendimiento) como un aceite amarillo claro. ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ5.92 (br s, 1H), 3.64 – 3.58 (m, 2H), 3.54 – 3.48 (m, 2H), 3.36 – 3.29 (m, 2H), 2.89 – 2.83 (m, 1H), 2.24 – 2.20 (m, 2H), 1.65 – 1.51 (m, 4H), 1.44 – 1.35 (m, 11H).

*Etapa D: 6-(3-Bromo-2-bromometil-propionilamino)-ácido hexanoico (**96**):*

A un matraz de fondo redondo de 50 mL equipado con un agitador magnético y entrada de nitrógeno se le cargó ácido 6-(3-Bromo-2-bromometil-propionilamino) ácido hexanoico *tert*-butil éster (**95**) (0.26 g; 0.62 mmol) y ácido trifluoracético (0.70 mL, 9.3 mmol; 15 equiv.) en DCM (10 mL). Esta solución fue agitada a temperatura ambiente durante la noche, concentrada hasta secar, disuelta en acetonitrilo y H_2O (1.0 mL cada uno), congelada y liofilizada para dar 0.22 g (100%) como un sólido. MS (ESI, pos.): calculado para $C_{10}H_{17}Br_2NO_3$, 359.0, encontrado 358.0, 360.0, 362.0 (M+H), 380.0, 382.0, 384.0 (M+Na), 356.0, 358.0, 360.0 (M-H). ^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 11.97 (s, 1H), 8.20 – 8.16 (m 1H), 3.58 – 3.56 (d, 4H), 3.11 – 3.04 (m, 2H), 3.02 – 2.97 (m, 1H), 2.21 – 2.16 (m, 2H), 1.54 – 1.37 (m, 4H), 1.33 – 1.29 (m, 2H).

*Etapa E: Boc-Val-Cit-4-ácido aminobenzoico (**97**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de Ejemplo 1, Etapa D, (**6**), (100 mg, 0.254 mmol) y di-tert-butil dicarbonato (61 mg, 0.279 mmol), los cuales fueron pesados en un matraz de fondo redondo y tratado con 1M NaOH (2 mL) en THF (3 mL) y H_2O (1.5 mL). El matraz fue sellado mediante tabique de caucho y la reacción fue agitada a temperatura ambiente durante la noche, concentrada *in vacuo* y neutralizada a pH 7, con adición en gotas de 1M HCl (2 mL). La reacción acuosa con etilacetato, secada la capa orgánica sobre Na_2SO_4, filtrada y concentrada para dar un sólido blanquecino (93 mg, 74%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{23}H_{35}N_5O_7$, 493.5; encontrado 394.2 (M+1-Boc), 494.2 (M+H), 516.2 (M+Na).

*Etapa F: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-4-aminobenzamido-Cit-Val-Boc (**98**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior Boc-Val-Cit-4-ácido aminobenzoico (**97**) (76 mg, 0.154 mmol) y maitansin-N-metil-L-alanina (**9**), (50 mg, 0.077 mmol) usando el método de la Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (22 mg, 26%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{55}H_{77}ClN_8O_{15}$, 1124.5; encontrado 1107.2 (M-H_2O), 1125.3 (M+H), 1147.2 (M+Na).

*Etapa G: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-4-aminobenzamido-Cit-Val (**99**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**98**) (20 mg, 0.018 mmol) pesado en un matraz de fondo redondo disuelto en ACN (3 mL) y H_2O (1 mL), y tratado con TFA (1 mL). El matraz fue sellado mediante tabique de caucho, purgado con nitrógeno, y la reacción fue agitada a temperatura ambiente. Después de 48 horas la reacción fue purificada directamente en un sistema de columna S18 RediSep Gold Aq de 30 g (gradiente de elución: 10-65% MeCN en agua, 0.05% ácido acético en ambos, por 20 minutos). Las fracciones conteniendo el producto fueron combinadas, concentradas parcialmente *in vacuo*, congeladas en hielo seco, y liofilizadas para dar un sólido blanquecino (8 mg, 46%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{50}H_{69}ClN_8O_{13}$, 1024.5; encontrado 1007.2 (M-H_2O), 1026.2 (M+H).

*Etapa H: Maitansin-N-metil-L-alanina-N-4-aminobenzamido-Cit-Val-capril-bis(BrMe)acrilamido (**100**):*

El compuesto del título fue preparado a partir del producto de la etapa anterior (**99**) (8 mg, 0.008 mmol) y 6-(3-Bromo-2-bromometil-propionilamino) ácido hexanoico (**96)**, usando el método de Etapa A de Ejemplo 5, para dar un sólido blanco (8 mg, 75%). MS (ESI, pos.): calculado para $C_{60}H_{84}Br_2ClN_9O_{15}$, 1363.4; encontrado 1363.1 (M+H).). ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ9.32 (s, 1H), 8.72 (m, 1H), 8.37 (m 1H), 7.65 (m, 2H), 7.45 (m, 1H), 7.34 (m, 1H), 7.32 (m, 2H), 7.22 – 7.18 (m, 2H), 6.89- 6.84 (m, 2H), 6.70 – 6.60 (m, 2H), 6.44 (m, 1H), 6.32 (br s, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.76 – 5.71 (m, 1H), 5.65 (s, 1H), 5.37 – 5.29 (m, 3H), 4.86- 4.70 (m, 3H), 4.52 (br s, 1H), 4.31 – 4.25 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.65 – 3.58 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.34 – 3.21 (m, 8H), 3.13 – 3.02 (m, 5H), 2.88 (s, 3H), 2.68 (m, 1H), 2.28 – 2.17 (m, 3H), 2.11 – 1.83 (m, 2H), 1.80 -1.70 (m, 2H), 1.66 (s, 3H), 1.57 – 1.49 (m, 4H), 1.47 – 1.43 (m, 3H), 1.30 – 1.26 (m, 7H), 1.00 – 0.91 (m, 6H), 0.85 (s, 3H).

EJEMPLO 37

Preparación y Caracterización del Conjugado

Cinco anticuerpos fueron conjugados a los compuestos de carga útil de enlazadores de la revelación usando los procedimientos siguientes. Los cuatro anticuerpos dirigidos utilizados en estos experimentos fueron: (1) un anticuerpo PSMA teniendo los dominios variables de cadena pesada y ligera del clon AB-PG1-XG1-006 como se establece en WO2007002222A2, (2)

anticuerpo anti-MUC16 teniendo regiones variables derivadas del clon 3A5 de WO2007001851, y (3) dos anticuerpos PRLR teniendo los dominios variables de cadena pesada y ligera del clon H1H6765P y H1H6958N2 como se establece en WO2015026907A1. Todos los anticuerpos monoclonales fueron expresados en células CHO y purificados por Proteína A. Se utilizó también un control de isotipo no vinculante derivado de un antígeno que no tenía relación con la oncología.

EJEMPLO 38

*Método de Conjugación para Compuesto **10***

Método de Conjugación para Maleimidas

El anticuerpo (1-10 mg/ml) en 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7.5 fue tratado con 1 mM ditiotreitol a 37°C por 30 minutos. Después de la filtración de gel (G-25, pH 4.5 acetato de sodio), se agregó el derivado de carga útil del enlazador de maleimido **10, 15, 20, 25, 60** y **78** (1.2 equivalentes/grupo SH) en DMSO (10 mg/ml) al anticuerpo reducido y la mezcla ajustada a pH 7.0 con 1M HEPES (pH 7.4). Después de 1 hora la reacción fue aplacada con exceso de N-etil-maleimida. Los conjugados fueron purificados por cromatografía de exclusión de tamaño y filtrado estéril. Las concentraciones de proteína y la relación de carga útil a anticuerpo se determinaron por análisis espectral de UV. HPLC de exclusión de tamaño estableció que todos los conjugados utilizados eran >95% monoméricos, y RP-HPLC estableció que había <0.5% de carga útil de enlace no conjugado. Todos los anticuerpos conjugados fueron analizados por UV para valores de carga de carga útil del enlazador de acuerdo a Hamblett *et al*., Cancer Res. 2004 *10* 7063. Los rendimientos y la carga útil a las proporciones de anticuerpos se presentan en la Tabla 1.

EJEMPLO 39

Método de Conjugación para Esteres Activos

Los anticuerpos (1-10 mg/ml) en 50 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 8.0 y 15% (v/v) DMA) fueron conjugados con un exceso 6 veces del compuesto **77** por 1-2 horas a temperatura ambiente. Los conjugados fueron purificados por cromatografía de exclusión de tamaño y filtrado estéril. Las concentraciones de proteína y carga útil del enlazador fueron determinadas por análisis espectral de UV. HPLC de exclusión de tamaño estableció que todos los conjugados utilizados eran >95% monoméricos, y RP-HPLC estableció que había <0.5% de carga útil de enlace no conjugado. Los rendimientos son informados en Tabla 1 en base a proteínas. Todos los anticuerpos conjugados fueron analizados por UV para valores de carga de carga útil del enlazador de acuerdo a Hamblett

et al., Cancer Res 2004 *10* 7073. Los rendimientos y la carga útil a las proporciones de anticuerpos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1

Compuesto	**ε252 nm (cm^{-1} M^{-1})**	**ε280 nm (cm^{-1} M^{-1})**
10	45990	20600
15	68900	26500
20	65000	33000
25	64550	25550
60	32000	8600
63	53500	22300
77	44500	17166
78	47600	15600
Anticuerpo	**ε252 nm (cm^{-1} M^{-1})**	**ε280 nm (cm^{-1} M^{-1})**
PSMA	77652	224320
MUC16	85888	247360
PRLR	80673	220420
PRLR-Q	82000	195400
Control de Isotipo	75113	218360
Control de Isotipo Q	68741	203757
Conjugado de Anticuerpo	**Carga Util:Anticuerpo (UV)**	**% Rendimiento**
PSMA-10	2.4	70
MUC16-10	1.5	50
Control de Isotipo-10	2.4	75
PSMA-25	2.5	65
MUC16-25	2.0	40
Control de Isotipo-25	2.5	65
PSMA-60	3.9	60
MUC16-60	1.5	40
PRLR-60	3.8	70
Control de Isotipo-60	3.1	70
PRLR-Q-63	2.9 (3.3 ESI-MS)	60
Control de Isotipo-Q-63	3.2 (3.1 ESI-MS)	60
PSMA-77	4.0	55
MUC16-77	2.8	40
PRLR-77	4.3	70

Control de Isotipo-77	3.9	65
PSMA-78	NA	NA
MUC16-78	2.0	40
PRLR-78	2.8	50
Control de Isotipo-78	4.0	70

EJEMPLO 40

Ensayos enzimáticos libres de células in vitro enlazador-carga útil

Incubación Catepsina B

El procedimiento de ensayo enzimático libre de células *in vitro* fue adoptado de Dubowchik, et al., Bioconjugate Chem. **2002** *13* 855. La carga útil del enlazador **10** fue fijada a 100 µg/mL final en 25 mM de buffer de acetato de sodio, 1 mM EDTA, pH 5.0 y pre-incubado a 37°C. Catepsina B (Sigma #C8571) fue activado a temperatura ambiente por 15 minutos con 1 equivalente de 3 mM DTT, 15 mM EDTA a 2 equivalentes de material de catepsina B. La solución de catepsina B activada fue agregada a las soluciones de sustrato a una relación molar de 1:20 (se agregó H_2O purificada, en lugar de catepsina B activada a la muestra de control). Las muestras fueron incubadas a 37°C durante la noche y las muestras resultantes fueron detectadas por LC-MS a través de Scan Q1.

Detección de LC-MS

Las muestras son centrifugadas a 12.000 g por 5 minutos. El sobrenadante fue recuperado y analizado por cromatografía líquida-espectrometría de masas (Thermo Quantiva) por infusión combinada de 0.3 ml/min de 30:70 fase móvil B:A (Fase Móvil A: 0.1% FA en H_2O; Fase Móvil B: 0.1% FA en acetonitrilo) a 20 µl/min del sobrenadante. MS1 se fija a un rango apropiado para detección de ión molecular de cualquier carga útil o carga útil del enlazador. El sobrenadante contenía la carga útil prevista, *p*-amino-benzamido maitansinoide (**27**), con una masa de 791.27 M+Na (masa monoisotópica calculada para $C_{39}H_{49}ClN_4O_{10}$, 768.31) y las muestras de control sin catepsina B contenidas **10** con una masa de 1240.50 M+Na (masa monoisotópica calculada para $C_{60}H_{80}ClN_9O_{16}$, 1217.54). No se detectó ningún ión molecular de carga útil previsto en las muestras de control.

Los resultados de este Ejemplo son significativas en parte porque la proteólisis catepsina B de **10** debiera ocurrir después de la internalización de ADC en la célula donde existe la enzima. Los efectos deseados deben reducirse ya que el anticuerpo entrega la carga útil citotóxica directamente a las células objetivo.

EJEMPLO 41

Ensayos de Citotoxicidad in Vitro

En este ejemplo, se evaluó la capacidad de varios conjugados anticuerpo-fármaco o sus cargas útiles asociadas para matar células tumorales que expresan antígenos *in vitro*.

Las células Ovcar3 (Muc 16+) ó C4-2 (PSMA+) se sembraron en placas de 96 pocillos a 3000 células (C42) por pocillo en medio de crecimiento completo y se cultivaron durante la noche. Para curvas de viabilidad celular, los conjugados o cargas útiles diluidas serialmente fueron agregados a las células en concentraciones finales variando desde 300 nM a 5pM e incubados por 3 días. Para medir la viabilidad, las células fueron incubadas con CCK8 (Dojindo) para las últimas 1-3 horas y la absorbencia a 450 nm (OD_{450}) se determinó en un Victor (Perkin Elmer). Los niveles de fondo OD_{450} determinados a partir de células tratadas con digitonina (40 nM) fueron suprimidas de todos los pocillos y la viabilidad se expresa como un porcentaje de los controles no tratados. Los valores IC_{50} fueron determinados a partir de una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva de respuesta de 10 puntos (GraphPad Prism). Todas las curvas del conjugado y valores IC_{50} son corregidos para equivalentes de carga útil.

En las células C4-2 (línea de cáncer de próstata), que expresan de forma nativa PSMA a 271 veces por encima de la unión de control del isotipo, los conjugados de maitansinoides PSMA-**10** y PSMA-**25** poseían valores de CI_{50} de 0,11 y 0,59 nM, respectivamente (**Figuras 2-5**). Las cargas útiles **27** y **33** solas tenían valores IC_{50} de 0.20 y 0.55 nM, respectivamente. El anticuerpo PSMA desnudo y el control de isotipo estaban desprovistos de cualquier actividad anti-proliferación en las concentraciones ensayadas.

En las células Ovcar-3 (línea de cáncer de ovarios), que expresan de forma nativa MUC16 a 320 veces por encima de la unión de control del isotipo, los conjugados de maitansinoides MUC16-**10** y MUC16-**25** poseían valores de CI_{50} de 0.74 y 0.63 nM, respectivamente (**Figuras 2-5**). Las cargas útiles **27** y **33** solas tenían valores IC_{50} de 0.06 y 0.11 nM, respectivamente. El anticuerpo MUC16 desnudo y el control de isotipo estaban desprovistos de cualquier actividad anti-proliferación en las concentraciones ensayadas.

Tabla 2 enumera la capacidad anti-proliferación de las cargas útiles sólo tanto en células Ovcar3 (Muc16+) o células C4-2 (PSMA+). Todos los compuestos poseen actividades sub-nanomolares con los compuestos **35** y **37** en o cerca del IC_{50S} picomolar de un solo dígito.

Tabla 2

	C4-2		Ovcar3	
Compuesto #	**IC_{50} (nM)**	**% muerte**	**IC_{50} (nM)**	**% muerte**
29	**0.27**	**83**	**0.13**	**93**

33	**0.45**	**86**	**0.20**	**93**
31	**0.10**	**82**	**0.04**	**93**
27	**0.20**	**84**	**0.09**	**92**
35	**0.004**	**84**	**<0.01**	**93**
37	**0.01**	**86**	**<0.01**	**94**

EJEMPLO 42

Expresión de Anticuerpos

Ensayo/Tipo de Experimento: Clonación, expresión y purificación de anticuerpos modificados para contener motivos de conjugación específicos del sitio.

Este Ejemplo proporciona la generación de anticuerpos con secuencias de aminoácidos que permiten la conjugación específica del sitio mediante reacciones de transglutaminasa.

Para generar anticuerpos, la mutagénesis se llevó a cabo en un plásmido codificando los dominios CH1, CH2 y CH3 de IgG1 humano (aminoácidos 1 a 330 de UniprotKB acceso N° P01857) para generar una mutacion N a Q en la posición 180 usando un QuikChange Lightning Multi-Site Directed Mutagenesis Kit (Agilent, #210516). Se seleccionaron dos fragmentos pesados de región variable (VH) de anticuerpo, uno codificando el VH de un anticuerpo anti-humano PRLR, H1H6958N2 (Solicitud internacional de Patente WO2015026907 A1) y otro codificando el VH del anticuerpo de control de isotipo reconociendo un antígeno exógeno. Los cebadores fueron diseñados (idtdna.com) para amplificar las regiones VH de estos dos anticuerpos usando ADN polimerasa Kapa HiFi (Kapa Biosciences; # KK2102). Mientras se desarrollaba la amplificación por PCR, un plásmido que contenía la mutación N180Q de IgG1 humano fue digerido con la enzima LguI (Fermentas, #FD1934) a 37°C por 30 minutos. Una vez completada la amplificación, el plásmido de IgG1 humana digerido y los dos productos de PCR se agotaron en un gel de agarosa al 1% que contenía mancha de SYBR Safe (Life Technologies, # S33102). Se identificaron bandas del tamaño apropiado y se escindieron del gel usando una cuchilla de afeitar limpia. Todos los productos escindidos fueron purificados usando un conjunto Gel Extraction (Qiagen, #28704). Luego se llevó a cabo una reacción de clonación In-Fusion (Clontech, # 638911) usando una relación de 3:1 de vector IgG1 humano digerido a producto VH PCR y luego incubado por 15 minutos a 50°C. Después de la incubación, cada reacción fue transformada en células competentes Mix and Go (Zymo, # T3007), incubadas en hielo por 5 minutos, y las células competentes fueron sembradas en placas LB + Carbenicillin (Teknova, VWR, # 101320-126), las cuales fueron incubadas durante la noche a 37°C.

Al día siguiente, se inocularon colonias individuales de la placa en caldo LB que contenía 100 µg/mL de Carbenicilina y se hicieron crecer durante una noche en una incubadora de sobremesa a 37ºC. Las células fueron sedimentadas por centrifugación y minipreparadas en un

robot Hamilton Starlet usando un conjunto PureLink HiPure Plasmid miniprep kit (Thermo Fisher, #K210003). El ADN purificado fue secuenciado y los resultados analizados usando un software Sequencher (GeneCodes). Se seleccionó un clon de cada reacción de ligación para volver a transformarse en células Mix y Go competentes, incubadas en hielo por 5 minutos y las células competentes fueron sembradas en placas LB conteniendo Carbenicilina, las cuales fueron incubadas durante la noche a 37°C.

Al día siguiente, se escogió una sola colonia de cada placa y se cultivó en caldo LB que contenía 100 µg/mL de Carbenicilina por 3 a 4 horas. La muestra fue luego diluida en un caldo LB conteniendo 100 µg/mL de Carbenicilina y transferido a una incubadora de agitación a 37°C para crecer durante la noche. Luego se llevó a cabo una extracción de ADN maxiprep en ambos plásmidos y se secuenciaron los marcos de lectura abiertos de ADN completos. Una vez confirmadas las secuencias, el ADN de cadena pesada junto con el ADN de cadena ligera afiliado previamente clonado se transfectó establemente en una línea celular CHO para producir cada anticuerpo.

El H1H6958N2 (Solicitud internacional de Patente WO 2015026907 A1) conteniendo la mutación N180Q Fc es referida como **PRLR-Q,** y el anticuerpo de control de isotipo que reconoce un antígeno exógeno conteniendo también la mutación N180Q Fc es referido como **CONTROL DE ISOTIPO-Q.**

EJEMPLO 43

Conjugación Bacterial Tranglutaminasa

Los anticuerpos PRLR-Q (MW 145438 Da) y el Isotipo Control-Q (MW 144602 Da) fueron conjugados a 1-10 mg/mL en PBS pH 7.4. Se agregó la carga útil del enlazador **63** en un exceso molar de 10 a 25 veces sobre el anticuerpo y la reacción enzimática se inició con la adición de 1-5 unidades de transglutaminasa bacteriana (Zedira, T1001) por mg de anticuerpo y se incubó con agitación a 37ºC durante 4-16 horas. Los conjugados fueron purificados por cromatografía de exclusión de tamaño y filtrado estéril. Las concentraciones de proteínas y carga útil del enlazador fueron determinadas por análisis espectral de UV. La HPLC de exclusión de tamaño estableció que todos los conjugados utilizados eran >95% monoméricos. Los rendimientos se informan en Tabla 1 basados en proteínas. Todos los anticuerpos conjugados fueron analizados por UV para valores de carga de carga útil de enlazadores de acuerdo a Hamblet et al, Cancer Res. 2004 10 7063. Además, los conjugados fueron analizados por ESI-MS para cargas de carga útil del enlazador usando una espectrometría de masa Waters Synapt G2-Si QTOF acoplada con Acquity UPLC. La separación cromatográfica se logró en una columna C4 (Waters protein BEH C4, 50mm x 1mm, 1.7µm) en un gradiente de 25 minutos (minuto:porcentaje de fase móvil B; 0:20%, 1:20%, 18:40%, 18.1:90, 20:95%, 20.8/95%, 20.9:20%, 25:20%). La fase móvil A fue 0.1% ácido fórmico en agua y la fase móvil fue 0.1% ácido fórmico en acetonitrilo. La velocidad de flujo se fijó a 100µl/min. El detector TQF scan se fijó desde m/z 700-5000 por 25 minutos con parámetros

principales enumerados (voltaje de capilaridad 3.2 kV; Cono de muestreo 150; Source Offset a 80; Temperaturas de fuente 120°C; Temperatura de desolvatación 500°C; Energía de colisión de la trampa 30; Transferencia de Energía de colisión Off; Controles de Gas OFF; Cuadrupolar de resolución: Resolución LM a 4.7). Los espectros combinados fueron deconvolucionados con una función MaxEnt dentro del software MassLynx. Los iones moleculares resultantes los cuales fueron pesados de acuerdo con las intensidades corresponden a las cargas enumeradas en Tabla 3. Los espectros de espectros de masas reales se enumeran en las Figuras 42 y 43.

Tabla 3. Resumen de promedio ponderado de intensidad de cargas de carga útil del enlazador en PRLR-Q y conjugados del Control deIsotipo Q para compuesto **63**.

PRLR-Q-63				**Control de Isotipo-Q-63**			
Ion molecular MW (Da)	Carga útil del enlazador correspondiente	Intensidad relativa	Intensidad de carga promedio ponderado	Ión molecular MW (DA)	Carga útil del enlazador correspondiente	Intensidad relativa	Intensidad de carga promedio ponderado
			3.3	146575	1	1648307	3.1
146864	2	1424490		147719	2	9007543	
148010	3	4716164		148868	3	20406614	
149151	4	4658294		150008	4	18048784	

EJEMPLO 44

Las constantes de disociación de equilibrio (valores K_D) para la unión de PRLR humano a anticuerpos anti-PRLR purificados que eran H1H6958N2, PRLR-Q y PRLR-Q-**63** no modificados fueron determinadas usando un biosensor de resonancia plasmónica de superficie en tiempo real usando un instrumento Biacore 3000. La superficie del sensor Biacore se derivatizó primero por acoplamiento de amina con un anticuerpo monoclonal anti-Fc humano de ratón (GE, #BR-1008-39) para capturar anticuerpos monoclonales anti-PRLR. Todos los estudios de unión se llevaron a cabo en 0.01M HEPES pH 7.4, 0.15 m NaCl, 3mM EDTA, y 0.05% v/v Surfactante Tween-20 (buffer de ejecución HBS-ET) a 25°C y 37°C. Diferentes concentraciones de dominio extracelular PRLR humano expresado con una etiqueta de myc-myc-hexahistidina C-terminal (hPRLR-MMH; SEQ ID N°: 401 como se describe en la solicitud de patente WO 2015026907), en un buffer de ejecución HBS-ET (variando desde 40nM a 3.33 nM) fueron inyectadas sobre la superficie capturada del anticuerpo anti-PRLR por 4 minutos a una velocidad de flujo de 50µL/minuto y su disociación en un buffer de ejecución HBS-ET fue monitoreada por 8 minutos. Se determinó la constante de velocidad de asociación cinética (k_a) y la constante de velocidad de disociación (k_d)

ajustando el sensorgrama en tiempo real a un modelo vinculante 1: 1 usando el software de ajuste de curva Scrubber 2-0c. Las constantes de equilibrio de disociación vinculante y las semividas disociativas (t½) se calcularon a partir de las constantes de velocidad cinética como:

$$K_D\,(M) = \frac{kd}{ka}, \quad y \quad t½\,(min) = \frac{\ln(2)}{60*kd}$$

Los parámetros cinéticos de unión para la unión de hPRLR-MMH a diferentes anticuerpos anti-PRLR a 25ºC se muestran en la tabla 4. A 25ºC, hPRLR-MMH se unió al anticuerpo parental H1H6958N2 con un valor K_D de 1.09 nM. El PRLR-MMH humano se unió al PRLR-Q con un valor K_D de 850 pM y a PRLR-Q-**63** con un valor K_D de 1.50 nM.

Tabla 4. Parámetros cinéticos de unión de anticuerpos anti-PRLR que se unen a hPRLR-MMH a 25°C.

Anticuerpo	**Nivel de Captura mAb (RU)**	**100 nm Union hPRLR-MMH (RU)**	**k_a (1/Ms)**	**k_d (1/s)**	**KD (M)**	**t½ (min)**
H1H6958N2	141.3±0.8	38	4.17E+0.5	4.54E-04	1.09E-09	25
PRLR-Q	148.5±0.6	46	4.48E+05	3.79E-04	8.50E-10	30
PRLR-Q-63	153.7±0.7	45	3.80E+05	5.69E-04	1.50E-09	20

EJEMPLO 45

El presente ejemplo proporciona ensayos de citotoxicidad para conjugados proporcionados en este documento. Para evaluar la capacidad de los anticuerpos anti-PRLR conjugados con **63, 60, 77 y 78** para matar una línea celular que expresa PRLR, se utilizó un ensayo de citotoxicidad *in vitro* usando una línea de carcinoma ductal T47D (ATCC, # HTB-133), que se determinó previamente para expresar >27.000 copias de PRLR humano en su superficie celular.

Para el ensayo, las células T47D fueron sembradas sobre placas blancas de 96 pocillos a 2.000 células/pocillo en un medio conteniendo DMEM suplementado con FBS al 10%, NEAA y penicilina/estreptomicina (medios completos). Se hicieron crecer durante la noche a 37°C en 5% de CO_2. Para determinar las curvas de viabilidad celular, los conjugados de fármacos de anticuerpo, anticuerpos no conjugados o cargas útiles libres se agregaron al día siguiente a las células en diluciones seriales finales variando desde 100 nM a 0.01 nM en medio completo y luego se incubaron durante 5 días adicionales. La actividad de luciferasa fue detectada después de la adición del reactivo CellTiter-Glo™ (Promega, G7571) a cada pocillo, el cual contiene reactivos para lisar las células viables restantes para liberar su ATP, inhibidores de ATPasa para prevenir la degradación del ATP, así como luciferina y luciferasa para catalizar la reacción luminiscente. Las

células viables antes de la adición de CellTiter-Glo serán las únicas fuentes de ATP dado que las células muertas en cultivo no sintetizan el ATP y cualquier otro de su ATP liberado será destruido mediante ATPasa endógena. Las unidades de luz relativa (RLU) fueron medidas en un luminómetro Victor (Perkin Elmer) y los resultados fueron determinados usando una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva de respuesta de 10 puntos (GraphPad Prism). Todos los valores medidos y valores IC_{50} calculados fueron corregidos para equivalente de carga útil. Todos los valores IC_{50} son expresados en concentración nM y el porcentaje de muerte es informada para la concentración más alta probada. Los resultados se resumen en Figuras 45 a 48.

Como se muestra en Figura 44, el anticuerpo anti-PRLR conjugado específicamente en el sitio con **63** (PRLR-Q-**63**) demostró citotoxicidad de células T47D con un IC_{50} de 1.1nM y un porcentaje máximo de muerte de 55%. La carga útil libre, **29,** demostró citotoxicidad de células T47D con un IC_{50} de 0.07 nM y un porcentaje máximo de muerte de 67%. Un anticuerpo de control de isotipo conjugado con **63** (CONTROL DE ISOTIPO-Q-63) no demostró muerte de células T47D, y el anticuerpo no conjugado anti-PRLR (PRLR-Q) no demostró ninguna muerte de células T47D.

Como se muestra en Figura 45, el anticuerpo anti-PRLR conjugado con **60** (PRLR-**60**) demostró citotoxicidad de células T47D con un IC_{50} de 0.6nM y un porcentaje máximo de muerte de 60%. La carga útil libre, **49,** demostró citotoxicidad de células T47D con un IC_{50} de 0.03 nM y un porcentaje máximo de muerte de 69%. Un anticuerpo de control de isotipo conjugado con **60** (CONTROL DE ISOTIPO-**60**) no demostró muerte de células T47D, y el anticuerpo no conjugado anti-PRLR (PRLR) no demostró ninguna muerte de células T47D.

Como se muestra en Figura 46, el anticuerpo anti-PRLR conjugado con **77** (PRLR-**77**) demostró citotoxicidad de células T47D con un IC_{50} de 0.4nM y un porcentaje máximo de muerte de 69%. La carga útil libre, **27,** demostró citotoxicidad de células T47D con un IC_{50} de 0.1 nM y un porcentaje máximo de muerte de 67%. Un anticuerpo de control de isotipo conjugado con **77** (CONTROL DE ISOTIPO-**77**) no demostró muerte de células T47D, y el anticuerpo no conjugado anti-PRLR (PRLR) no demostró ninguna muerte de células T47D.

Como se muestra en Figura 47, el anticuerpo anti-PRLR conjugado con **78** (PRLR-**78**) demostró citotoxicidad de células T47D con un IC_{50} de 0.9nM y un porcentaje máximo de muerte de 61%. La carga útil libre, **27,** demostró citotoxicidad de células T47D con un IC_{50} de 0.1 nM y un porcentaje máximo de muerte de 67%. Un anticuerpo de control de isotipo conjugado con **78** (CONTROL DE ISOTIPO-**78**) no demostró muerte de células T47D, y el anticuerpo no conjugado anti-PRLR (PRLR) no demostró ninguna muerte de células T47D.

Tabla 5 enumera la capacidad anti-proliferativa de las cargas útiles sólo en células Ovcar3 (Muc16+), C4-2 (PSMA+) y T47D (PRLR+)

Tabla 5

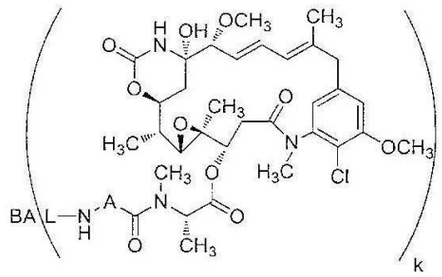
	C4-2		Ovcar3		T47D	
Compuesto #	**IC50 (nM)**	**% muerte**	**IC50 (nM)**	**% muerte**	**IC50 (nM)**	**% muerte**
29	0.27	83	0.13	93	0.07	67
33	0.45	86	0.20	93		
31	0.10	82	0.04	93		
27	0.20	84	0.09	92		
35	0.004	84	<0.01	93		
37	0.01	86	<0.01	94		
39					0.02	70
41					0.03	72
43					0.01	71
45					3.73	72
47					0.01	72
49					0.06	70
51					0.49	72
53					0.2	72
55					0.18	75
65					1.13	72
67					0.19	71
69					0.39	73
71					0.73	68
73					0.57	73
75						
86	0.73	90				
84	0.07	88				
90	>100	86				
80	1.3	91				
88	0.05	89				
82	19.95	93				

Las realizaciones y ejemplos descritos en este documento están destinados solamente para ser ilustrativos y no limitantes. Aquellos expertos en la técnica reconocerán o serán capaces de determinar utilizando no más que la experimentación de rutina, numerosos equivalentes de

materiales y procedimientos de compuestos específicos. Todos estos equivalentes se consideran dentro del alcance y están abarcados por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I):



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

CARACTERIZADO porque:

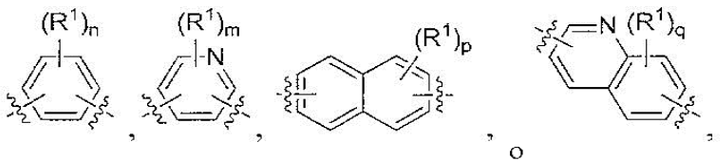
A es arileno o heteroarileno;

L es un enlazador;

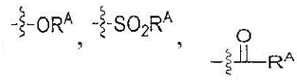
BA es un agente aglutinante; y

k es un entero desde 1 a 30

2. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque A es:



donde

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro,  o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

n es un entero desde 0 a 4;

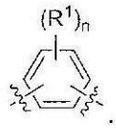
m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

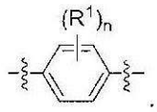
q es un entero desde 0 a 5

3. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2, CARACTERIZADO porque:

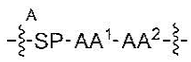
A es:



4. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 3, CARACTERIZADO porque A es:



donde n es 0, 1 ó 2.

5. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 4, CARACTERIZADO porque n es 0.
6. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 4, CARACTERIZADO porque R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alcoxi o halo.
7. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6, CARACTERIZADO porque L es: 

donde:

SP es un espaciador;

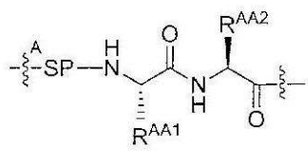


es uno o más enlaces al agente aglutinante:

AA^1 es un aminoácido; y

AA^2 es un aminoácido.

8. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 7, CARACTERIZADO porque AA^1-AA^2 es: valina-citrulina, citrulina-valina, lisina-fenilalanina, fenilalanina-lisina, valina-asparagina, asparagina-valina, treonina-asparagina, asparagina-treonina, serina-asparagina, asparagina-serina, fenilalanina-asparagina, asparagina-fenilalanina, leucina-asparagina, asparagina-leucina, isoleucina-asparagina, asparagina-isoleucina, glicina-asparagina, asparagina-glicina, ácido glutámico- asparagina, asparagina-ácido glutámico, citrulina-asparagina, asparagina-citrulina, alanina-asparagina, o asparagina-alanina.
9. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6, CARACTERIZADO porque L es:



donde:

SP es un espaciador;

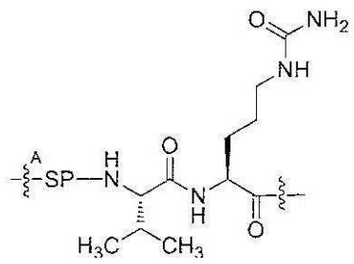


es uno o más enlaces al agente aglutinante;

R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos.

10. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 9, CARACTERIZADO porque L es:



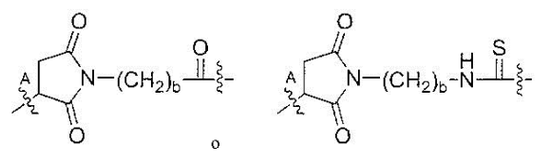
donde:

SP es un espaciador;



es uno o más enlaces al agente aglutinante;

11. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 7 – 10, CARACTERIZADO porque SP comprende un alquileno C_{5-7}.
12. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 11, CARACTERIZADO porque SP es:



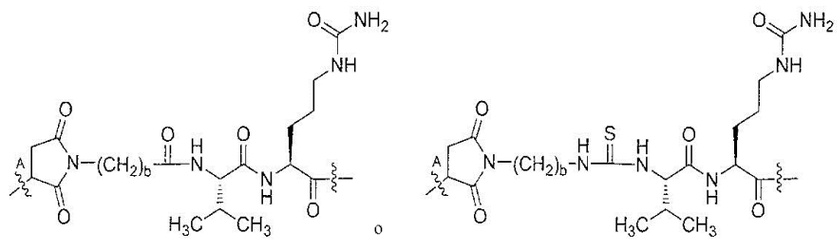
donde



es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

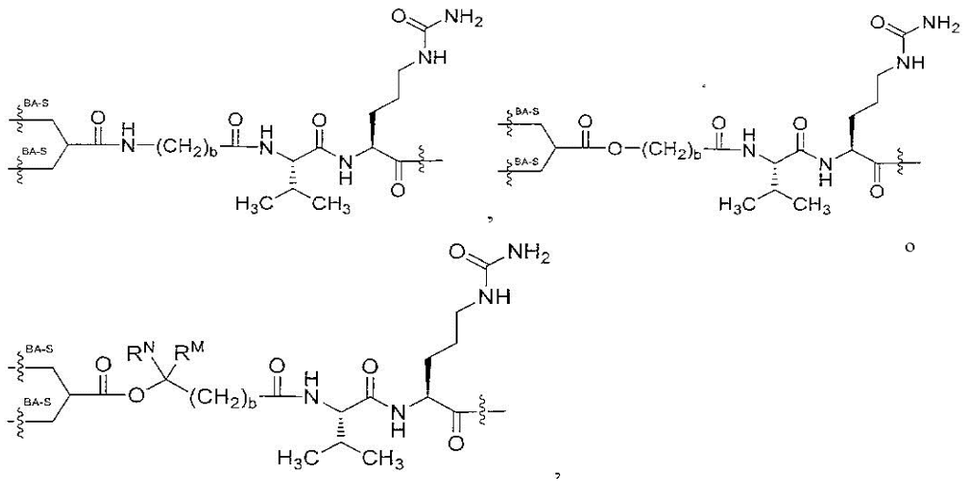
13. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6, CARACTERIZADO porque L es:



donde  es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

14. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6, CARACTERIZADO porque L es:



donde:

BA es un anticuerpo;

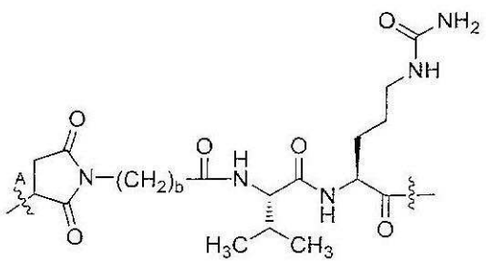
R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo;

R_M es alquilo;

los dos enlaces representados por  son enlaces a cisteínas del anticuerpo; y

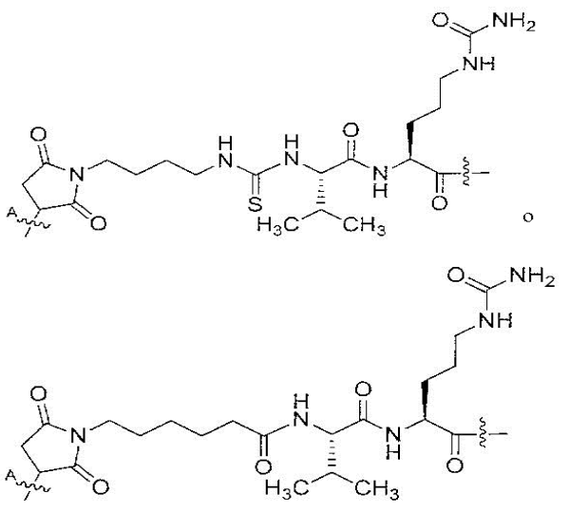
b es un entero desde 2 a 8.

15. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 13, CARACTERIZADO porque L es:



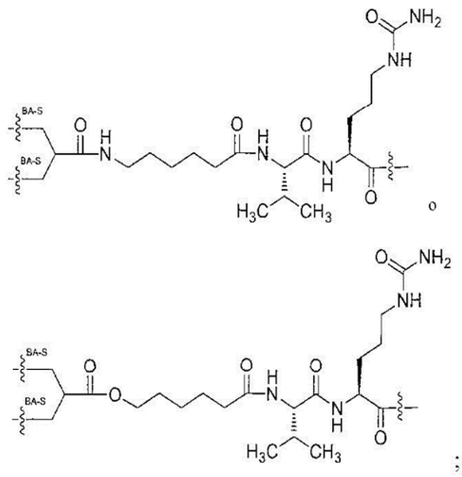
donde  es un enlace al agente aglutinante.

16. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6, CARACTERIZADO porque L es:



donde  es un enlace al agente aglutinante.

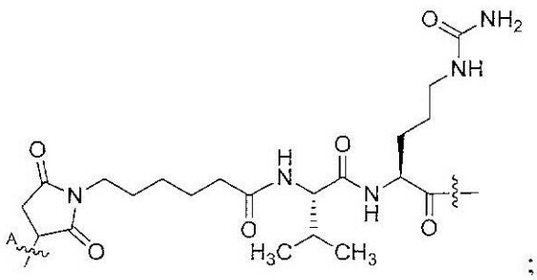
17. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6, CARACTERIZADO porque BA es un anticuerpo y L es:



donde

los dos enlaces representados por  son enlaces a cisteínas del anticuerpo.

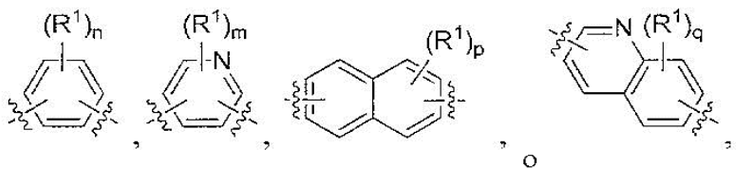
18. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 6, CARACTERIZADO porque L es:



donde  es un enlace al agente aglutinante.

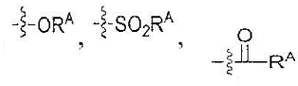
19. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque:

A es



donde

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo,



ciano, nitro, o azido,

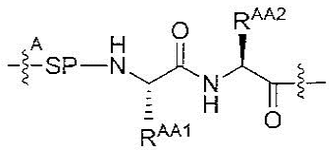
donde R^A es alquilo;

n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5; y



L es:

donde:

SP es un espaciador;

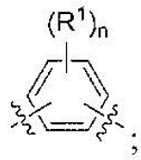


es uno o más enlaces al agente aglutinante;

R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos; y

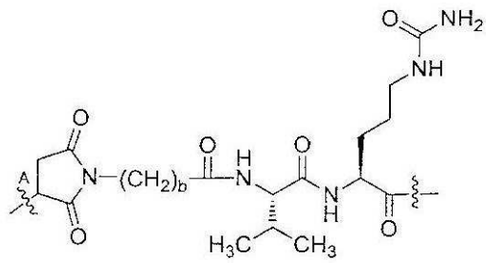
R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos.

20. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque:



A es: ;

donde R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alcoxi, haloalquilo, o halo; y



L es:

donde

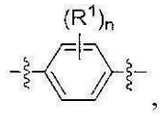


es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

21. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque:

A es:

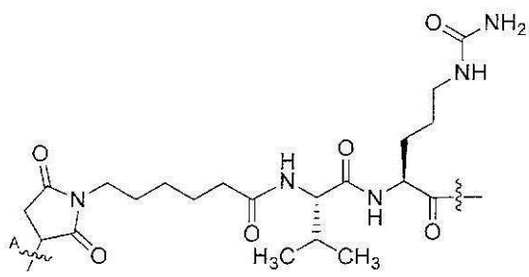


donde

n es 0, 1 ó 2; y

R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alcoxi, haloalquilo, o halo;

L es

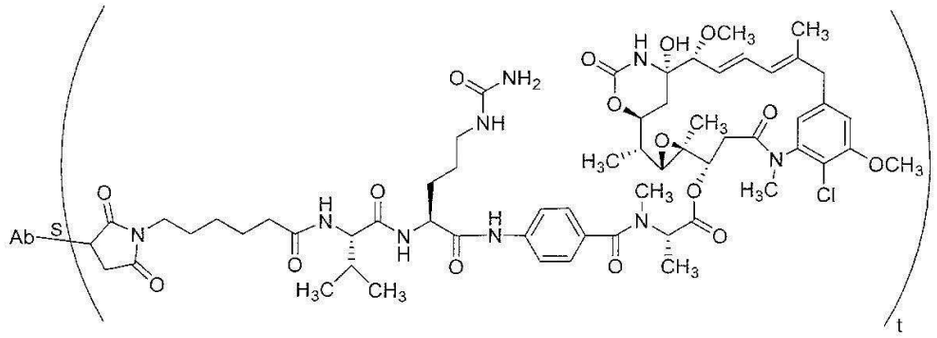


donde

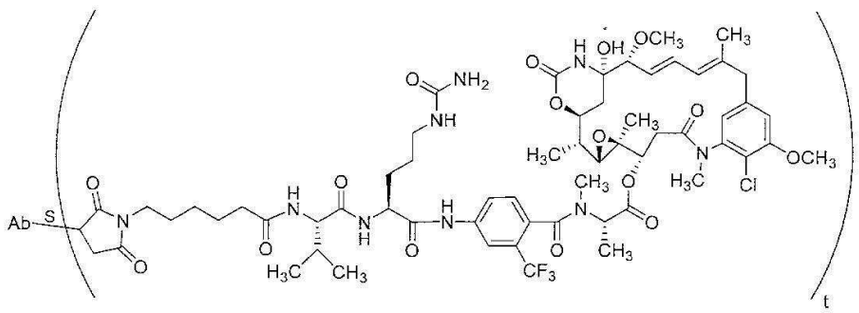


es un enlace al agente aglutinante.

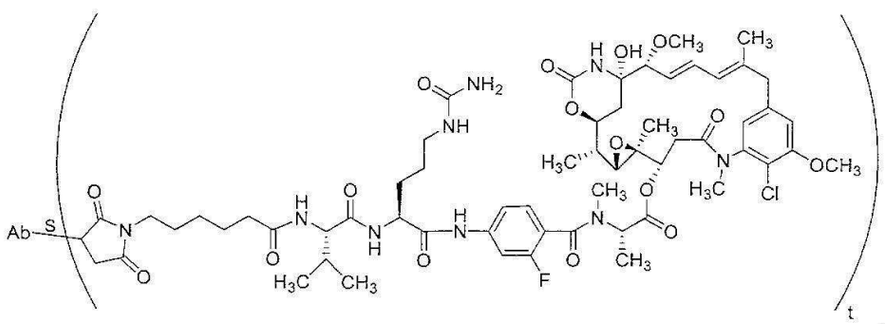
22. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADO porque el compuesto es:



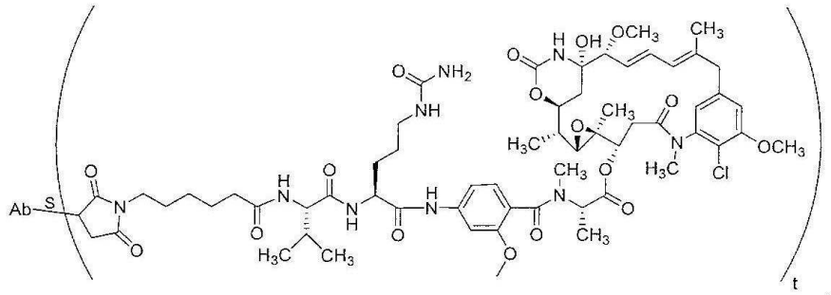
,

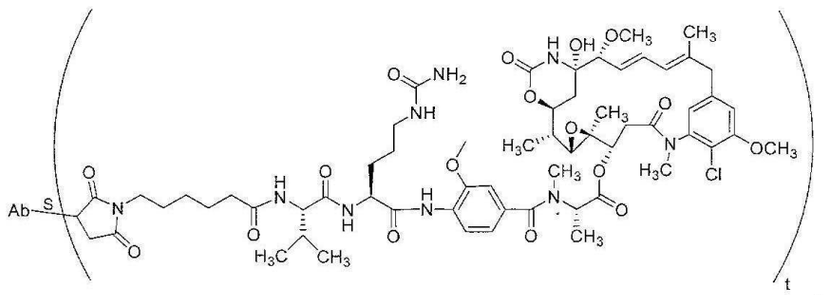


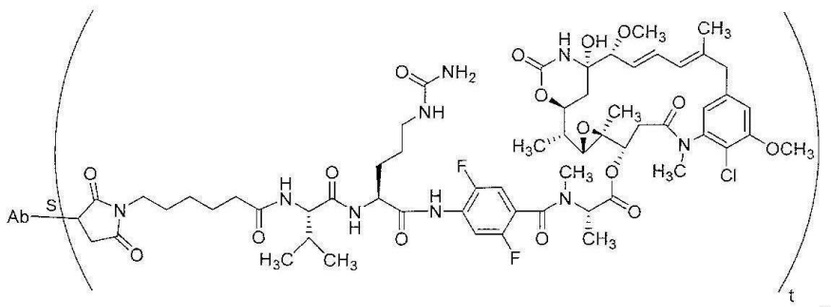
,

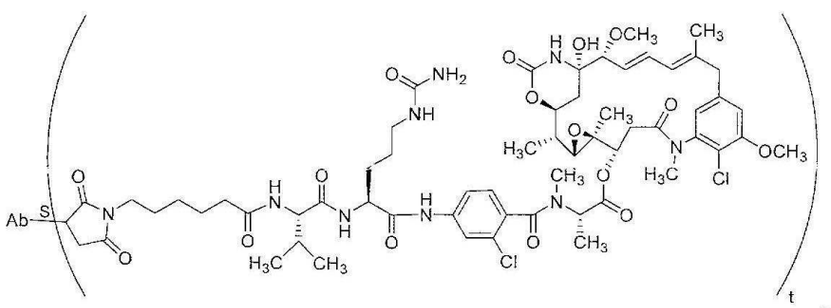


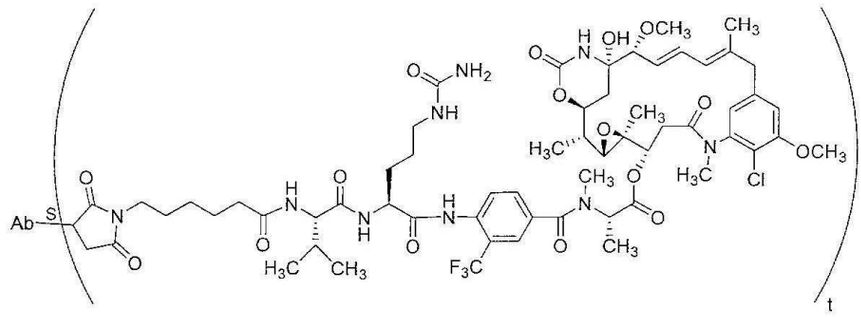
,



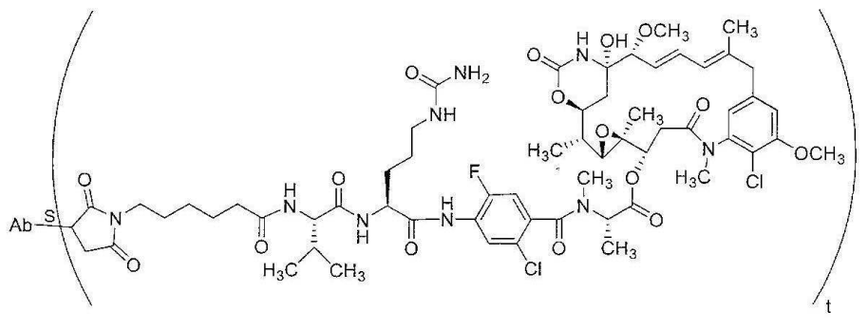




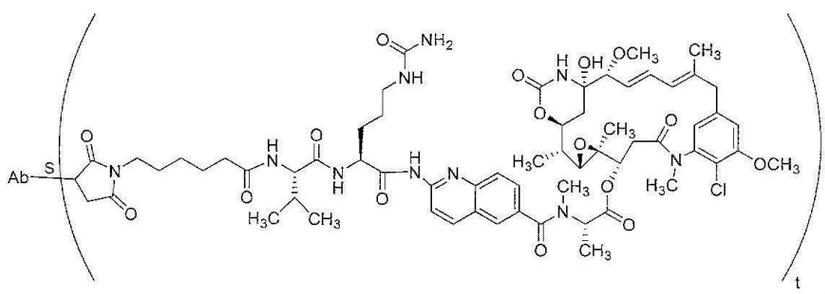




,

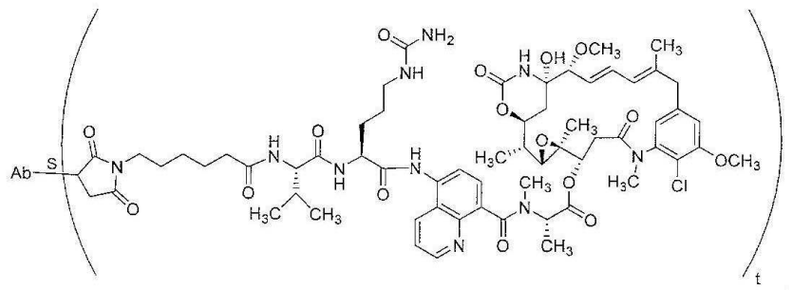


,

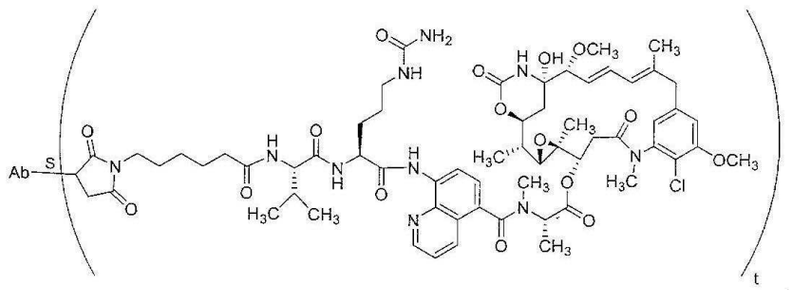


,

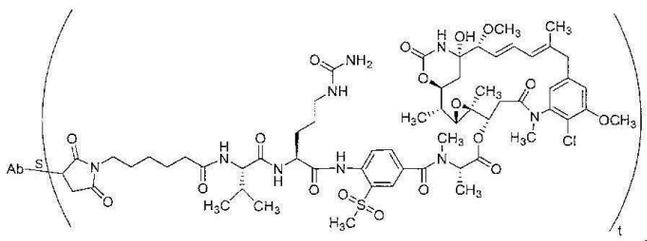
`


Ab
S
t

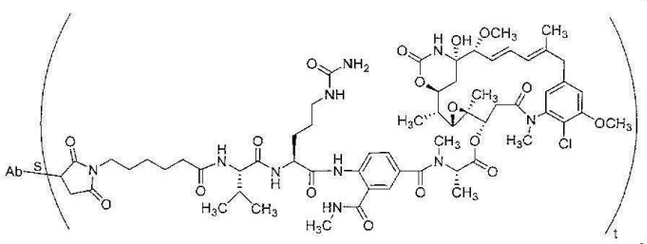
,


Ab
S
t

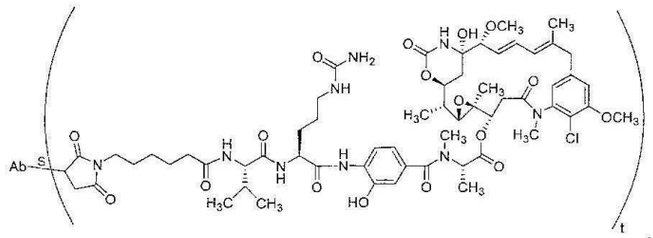
,

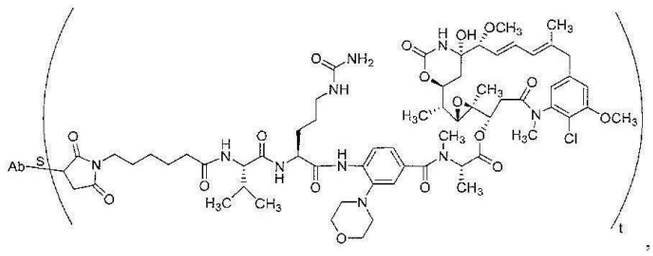

Ab
S
t

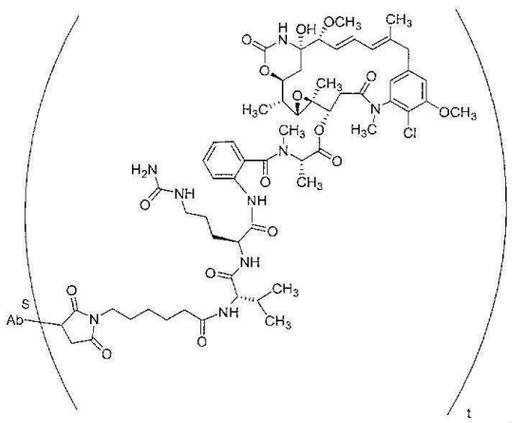
,

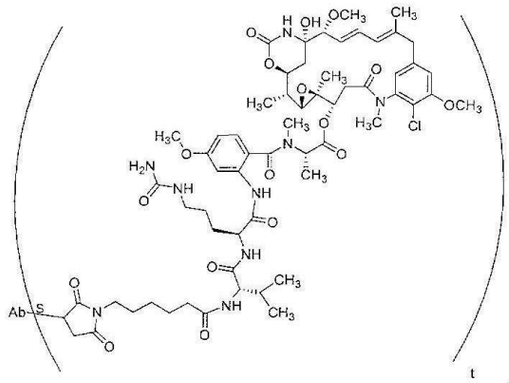

Ab
S
t

,

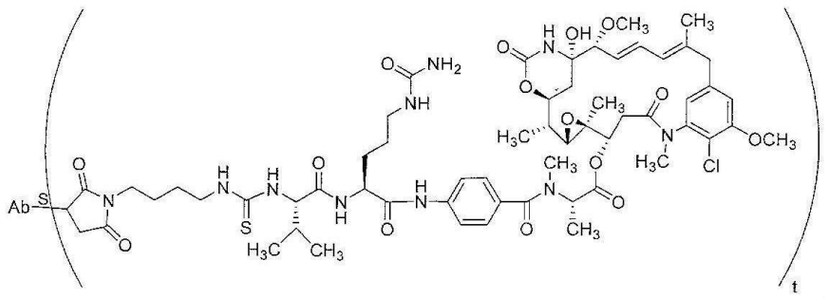




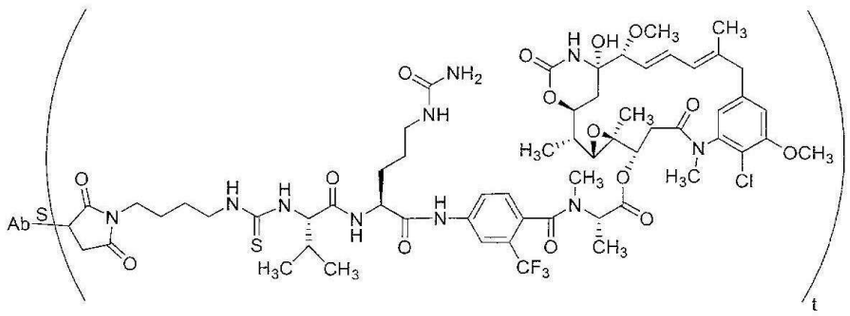




t ,

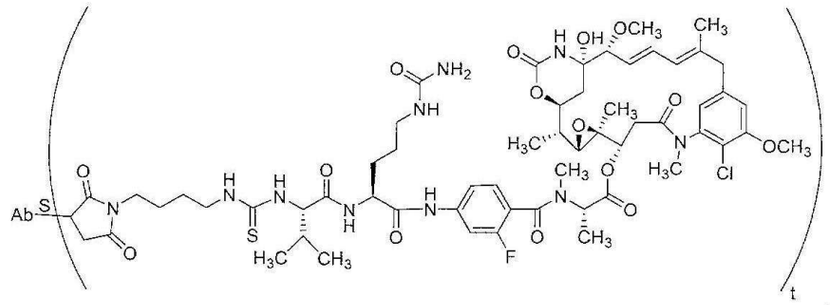


t ,

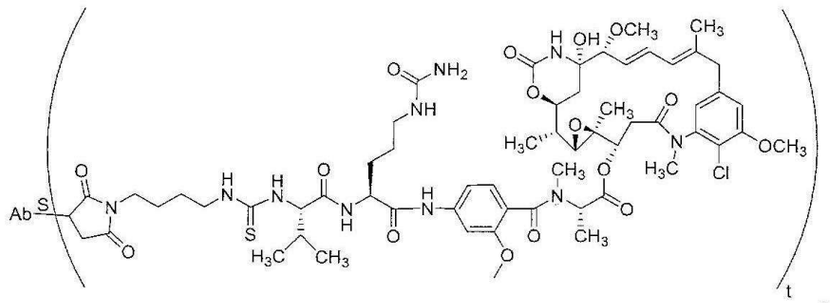


t

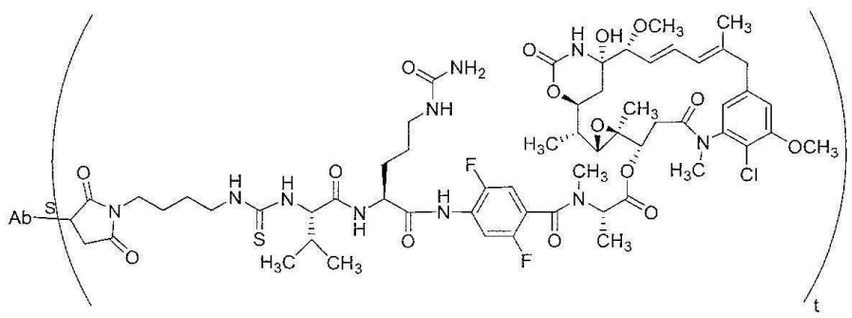
,



,

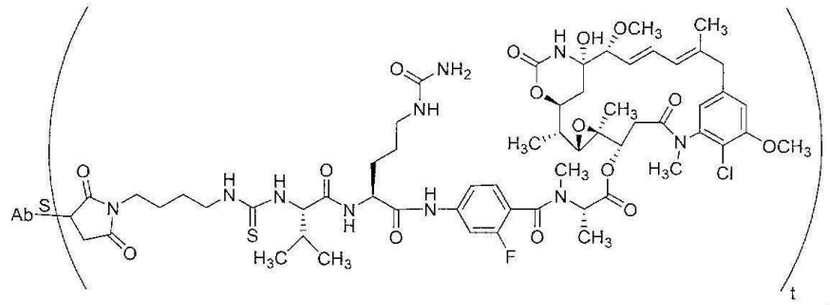


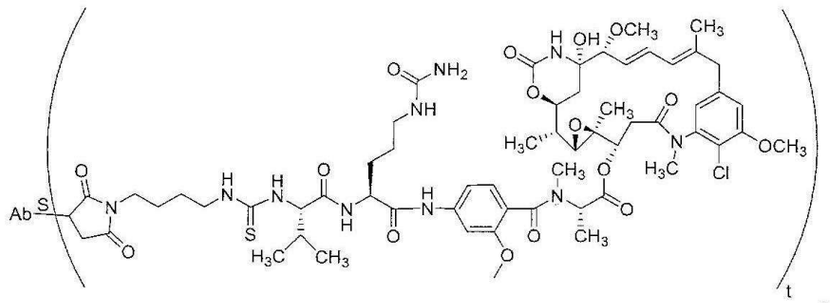
,

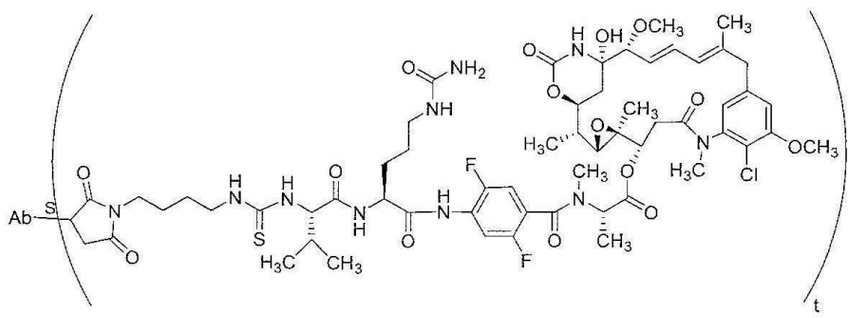


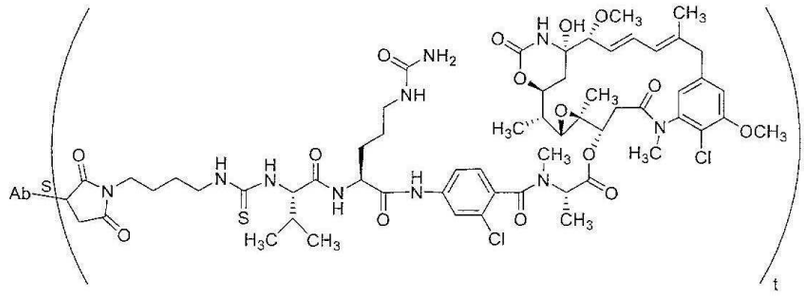
,

`

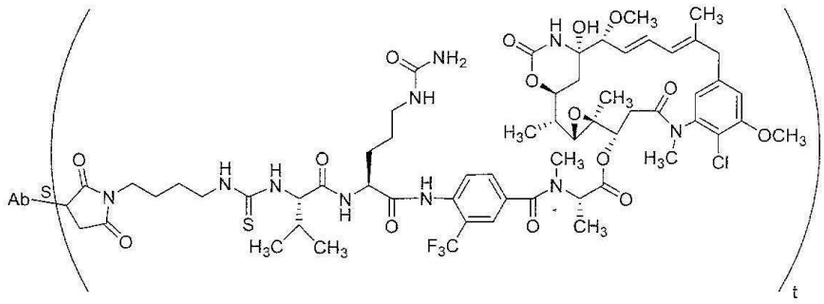




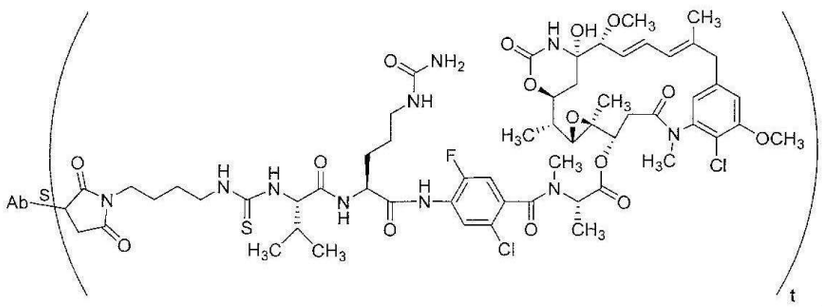



Ab
S
t

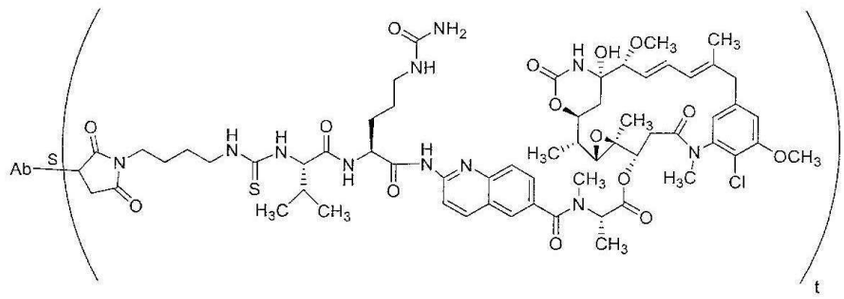
,


Ab
S
t

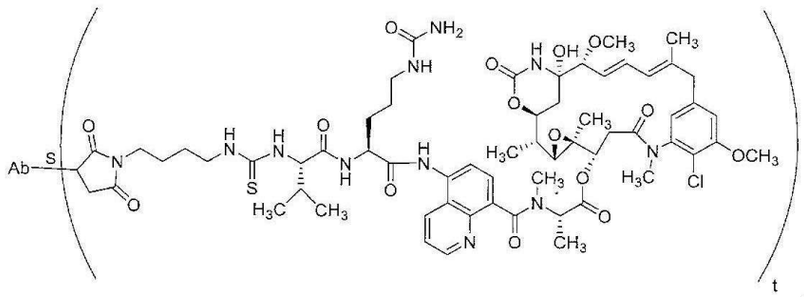
,


Ab
S
t

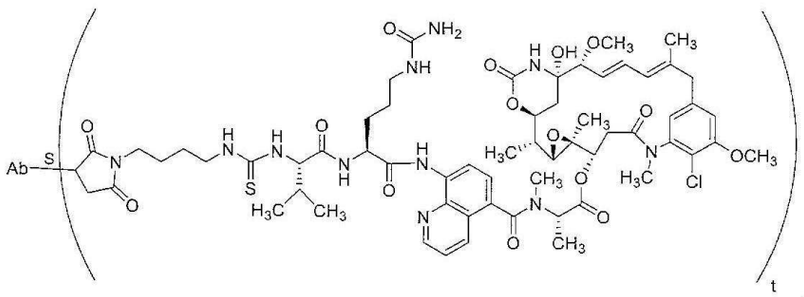
,



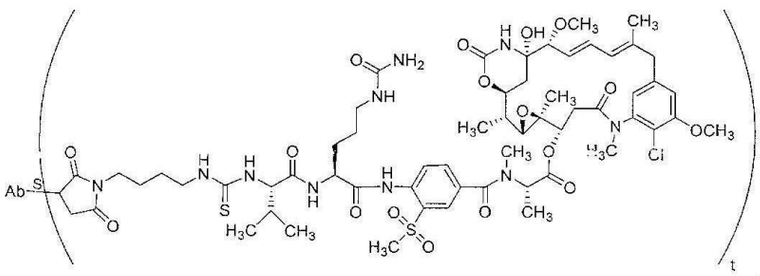
,



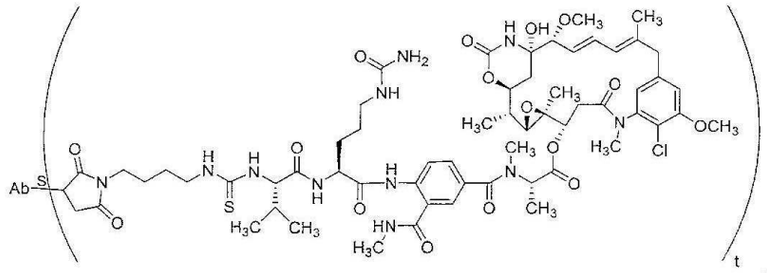
,



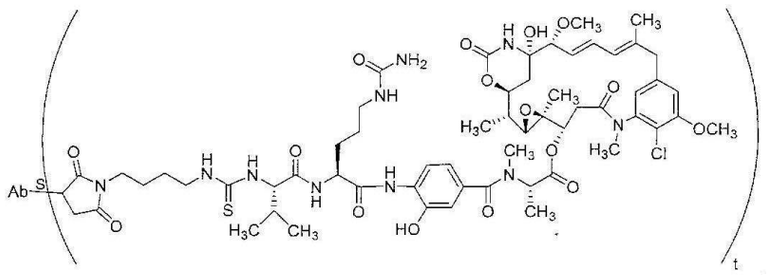
,



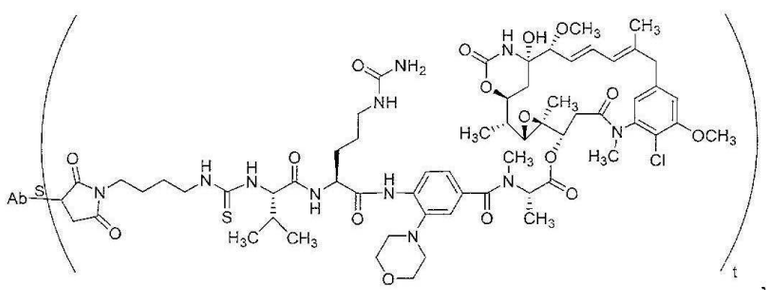
,



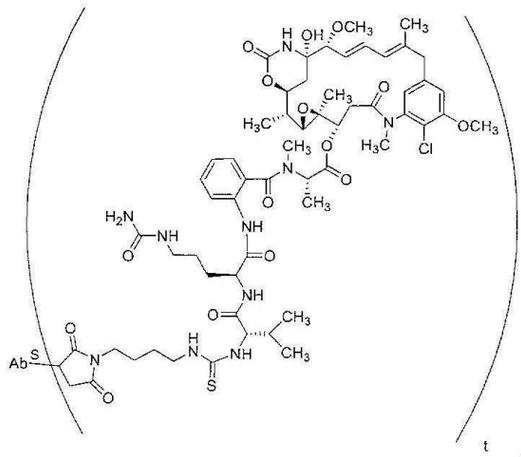
t ,



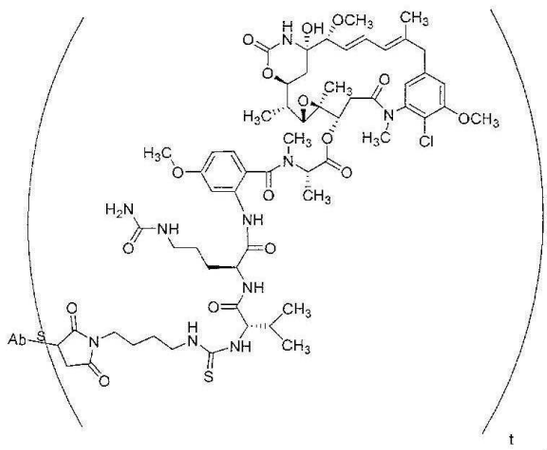
t ,



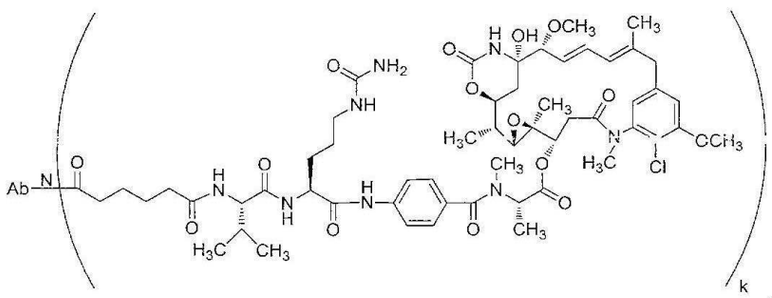
t ,



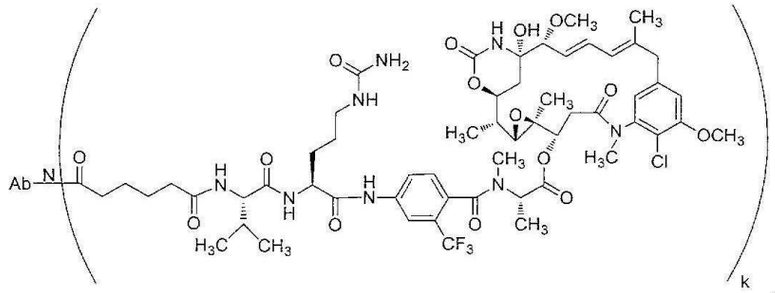
t ,

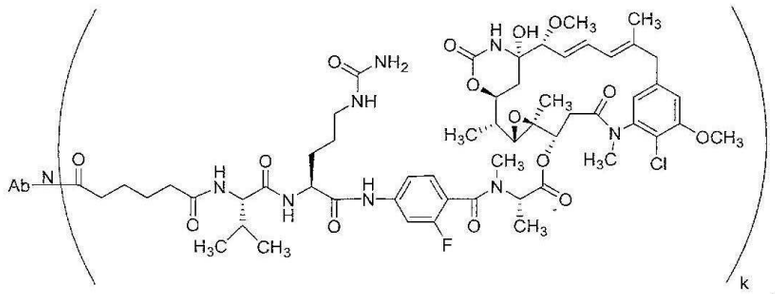


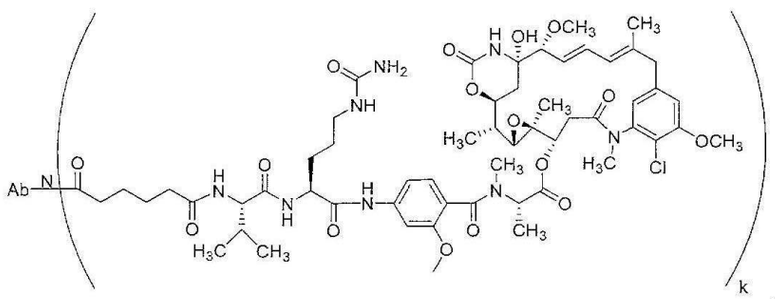
t ,

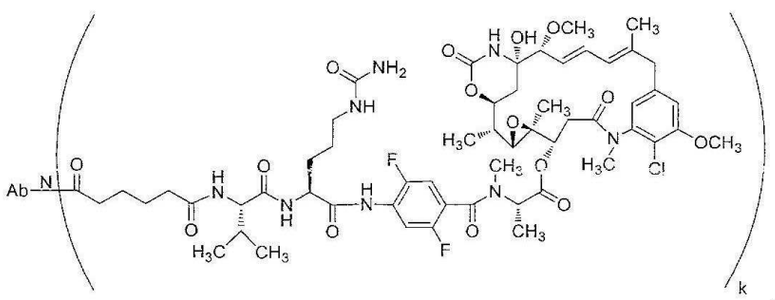


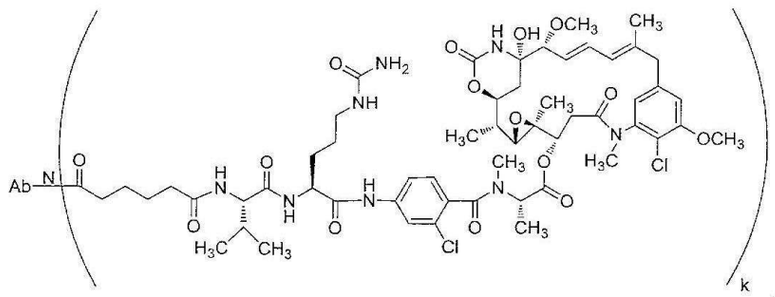
k ,

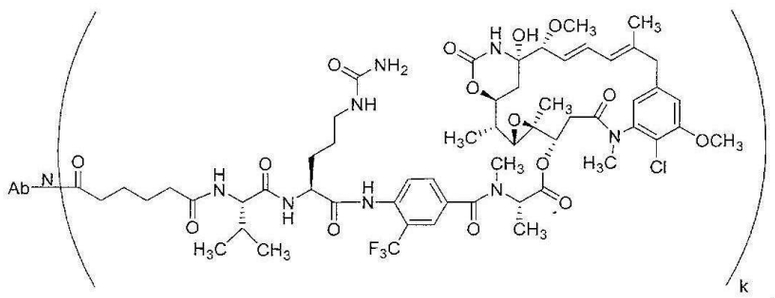


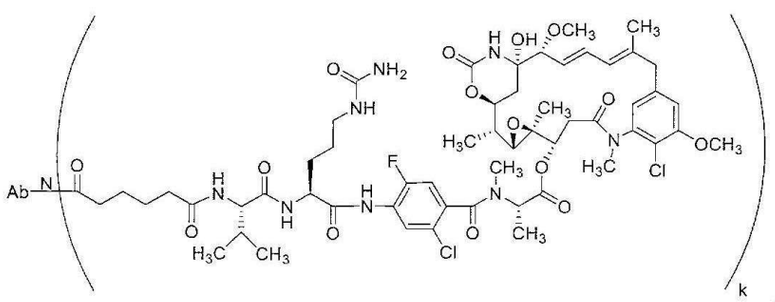


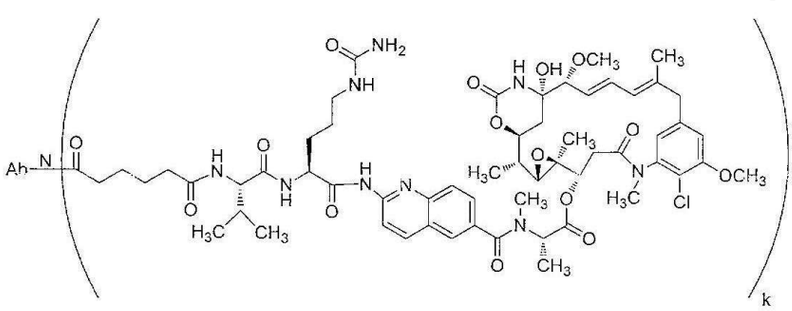


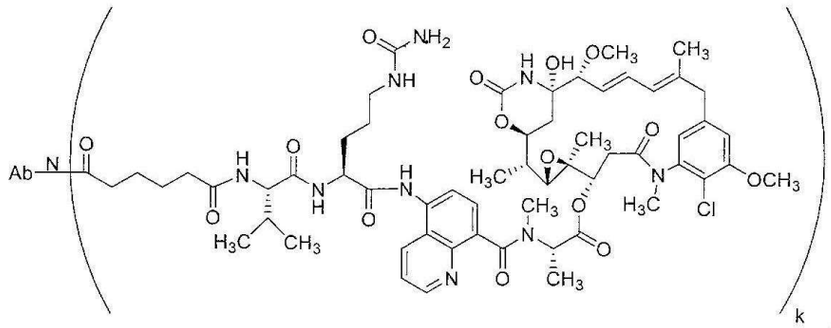


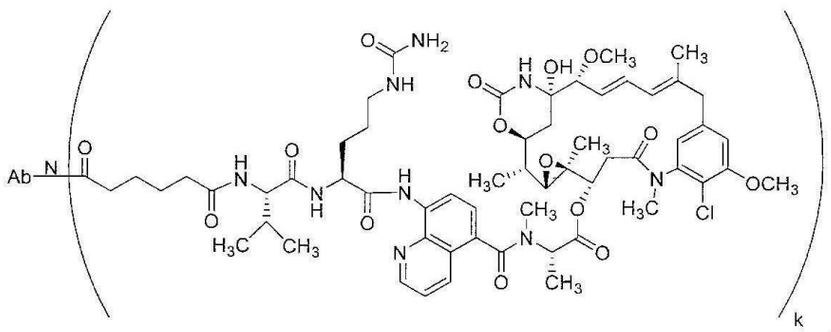

Ab
N
O
NH2
NH
H
OH
OCH3
CH3
O
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
CH3
O
O
H3C
CH3
H
N
O
O
N
H
O
H
N
O
O
N
CH3
O
CH3
Cl
k

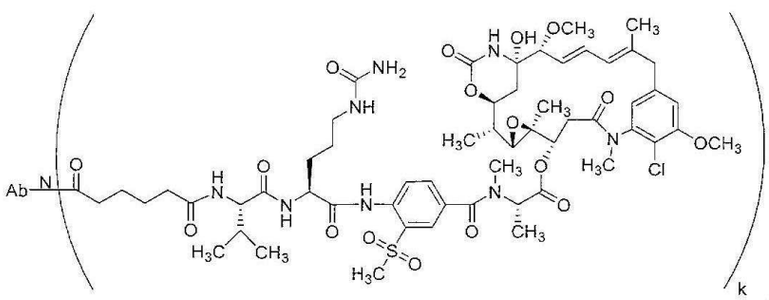

Ab
N
O
NH2
NH
H
OH
OCH3
CH3
O
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
CH3
O
O
H3C
CH3
H
N
O
O
N
H
O
H
N
O
O
N
CH3
O
CH3
F3C
k

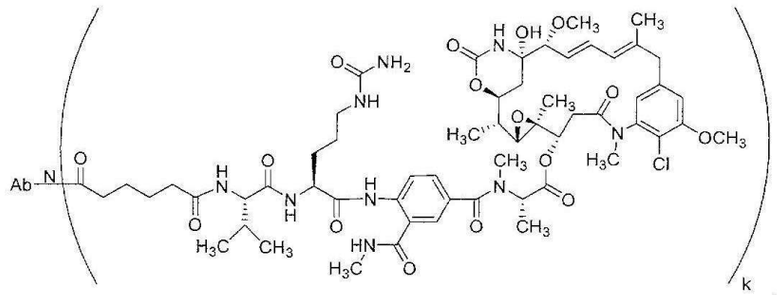

Ab
N
O
NH2
NH
H
OH
OCH3
CH3
O
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
CH3
O
O
H3C
CH3
H
N
O
O
N
H
O
H
N
O
O
N
CH3
O
CH3
F
Cl
k


Ab
N
O
NH2
NH
H
OH
OCH3
CH3
O
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
CH3
O
O
H3C
CH3
H
N
O
O
N
H
O
H
N
O
O
N
CH3
O
CH3
N
k

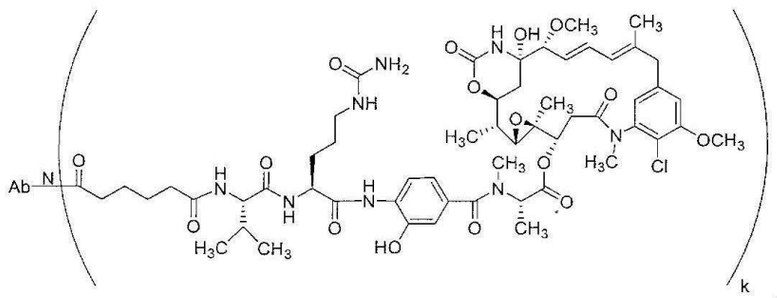




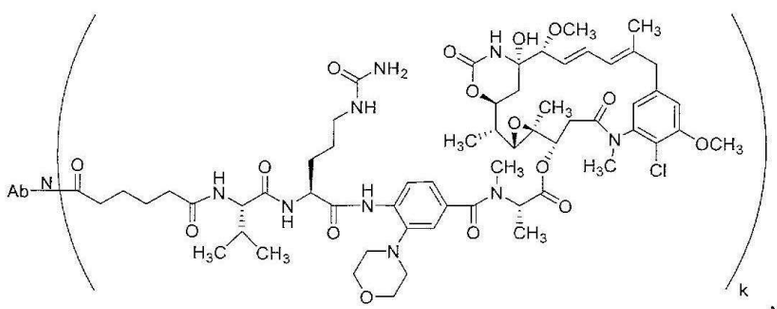




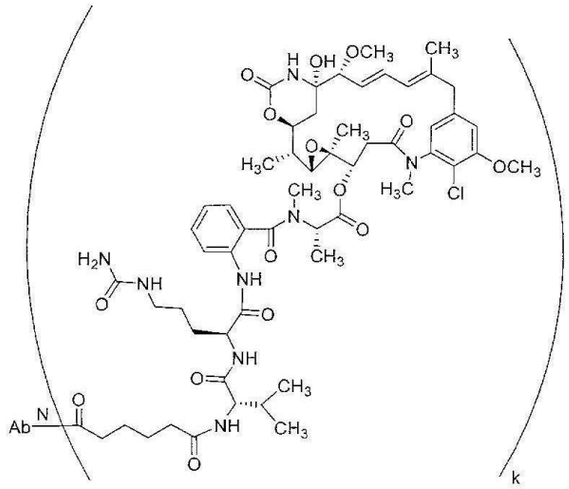
k ,

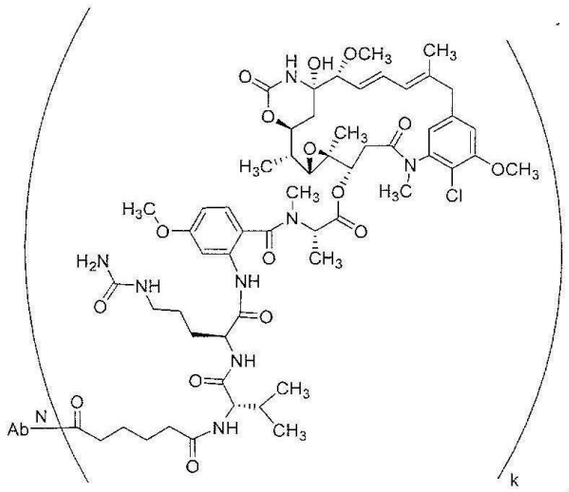


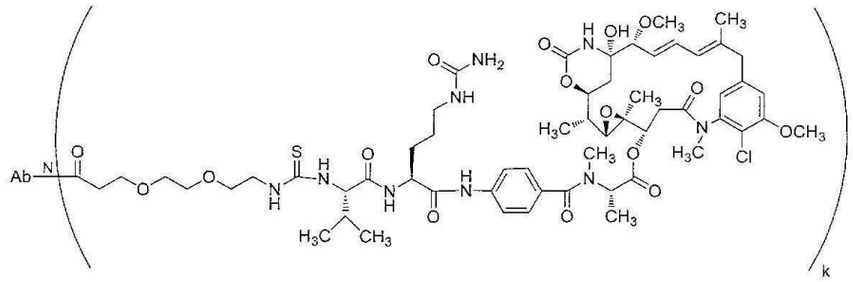
k ,



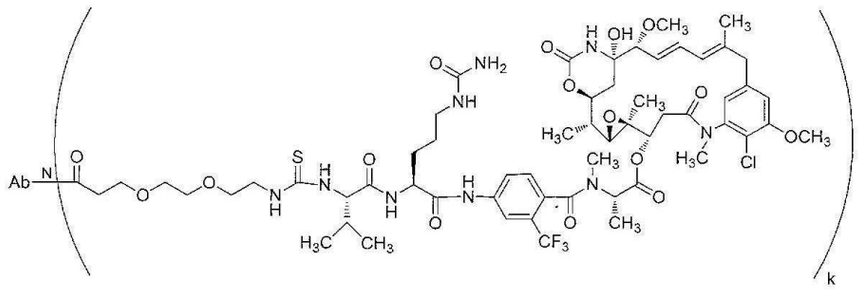
k ,



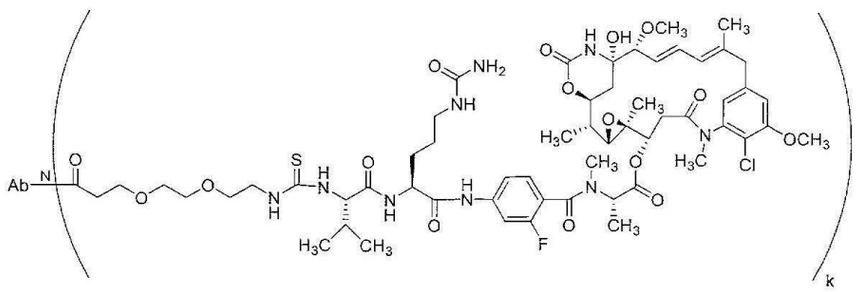




,

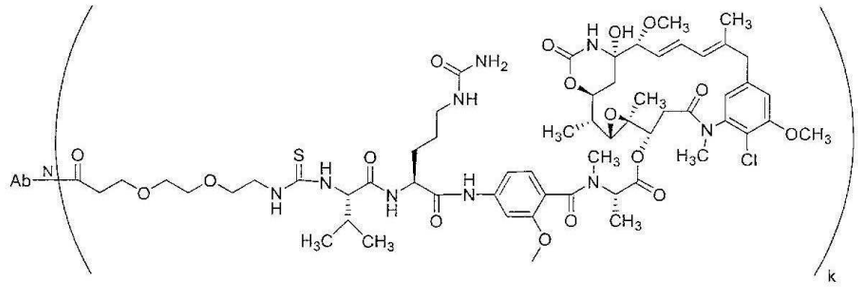


,

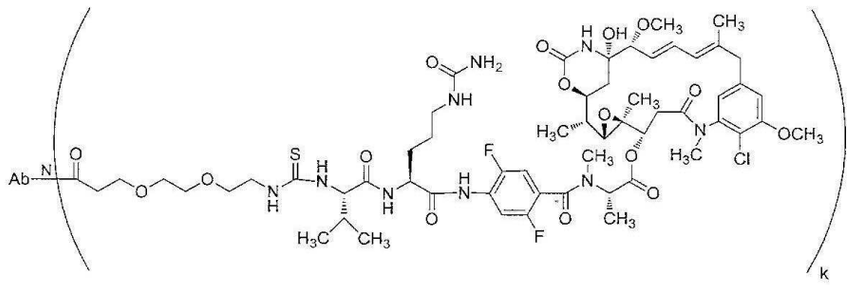


,

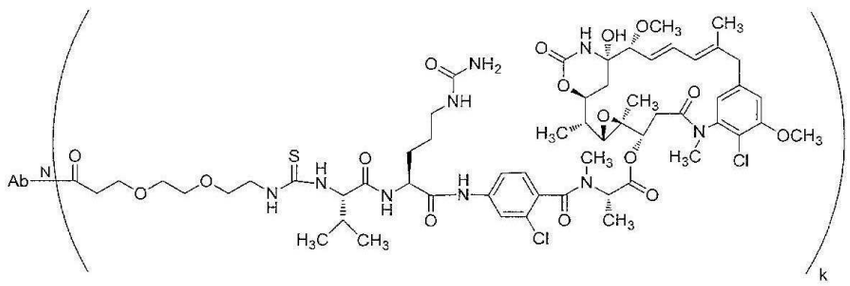
`



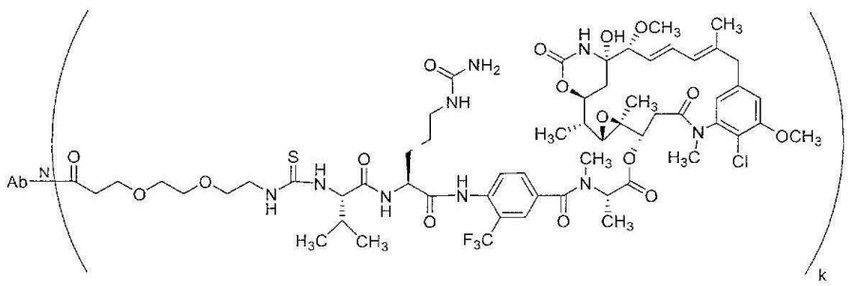
,



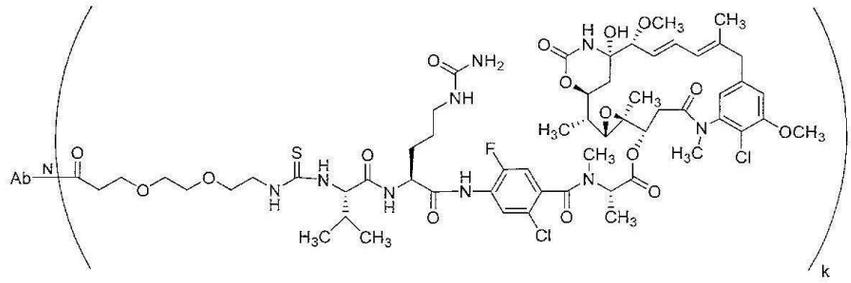
,



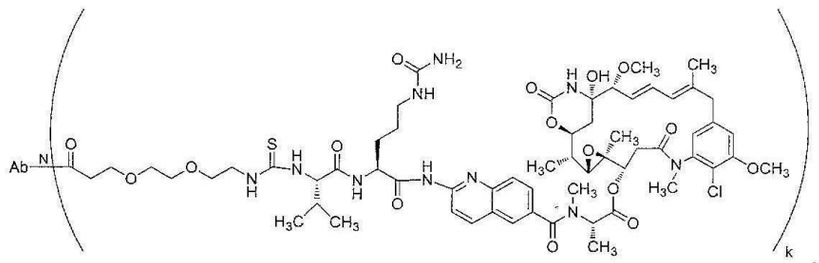
,



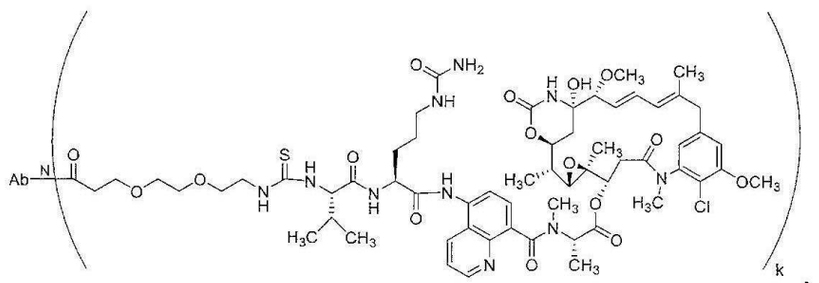
,



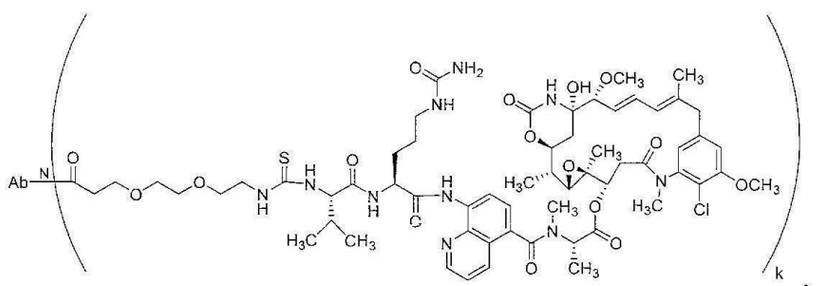
,



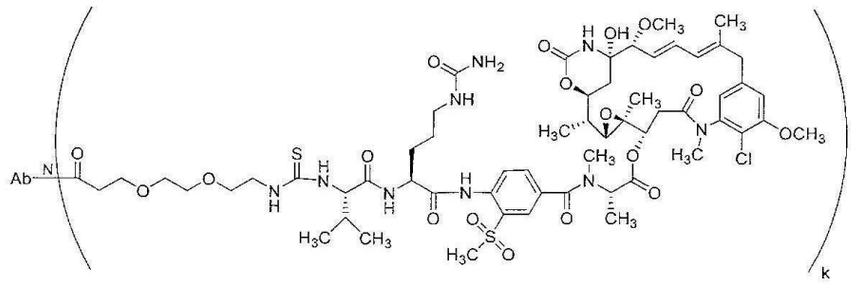
,



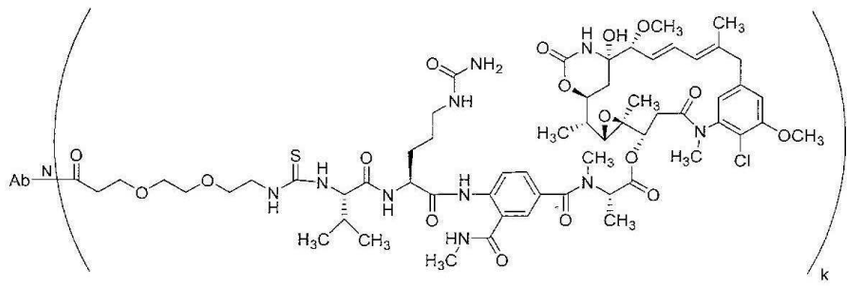
,



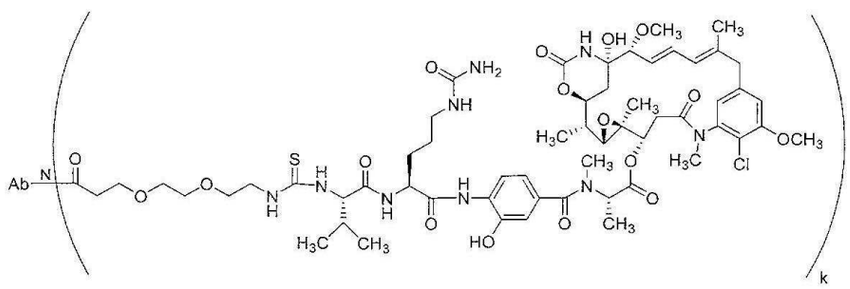
,



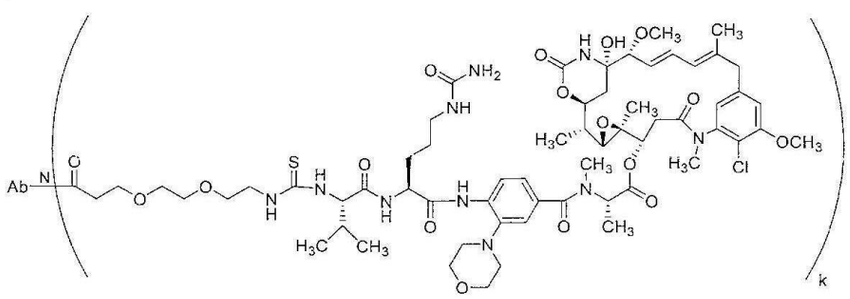
,



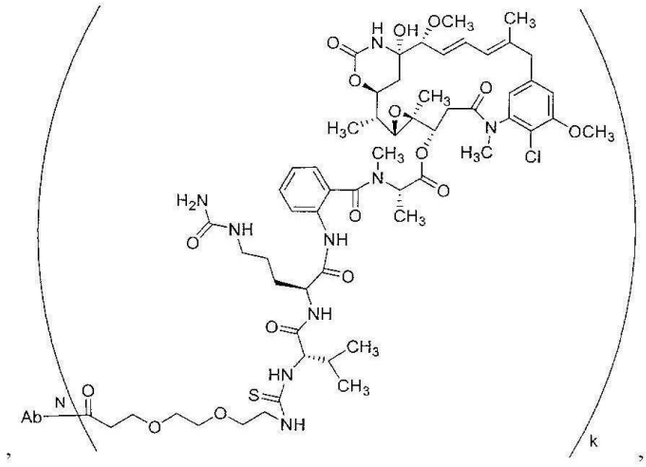
,

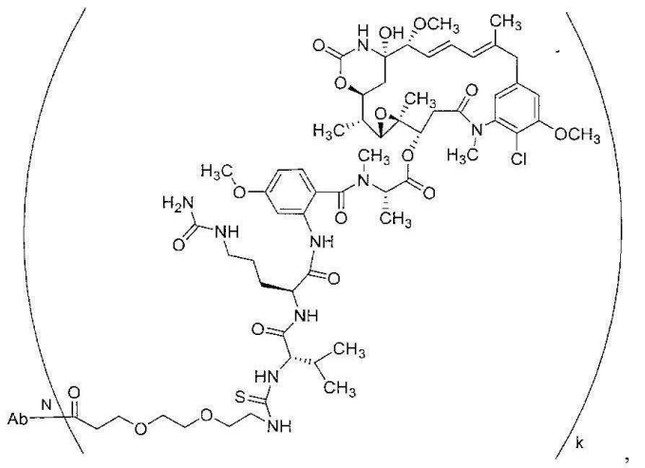


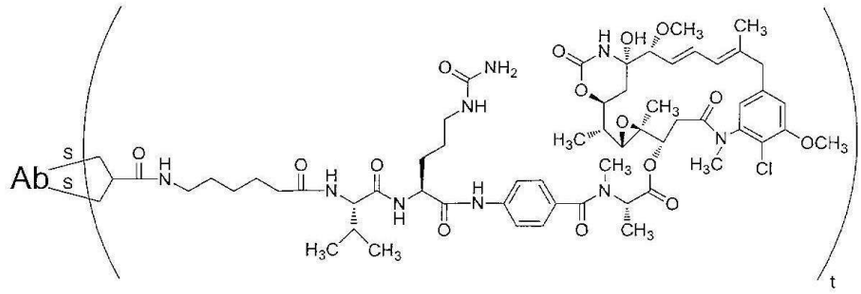
,



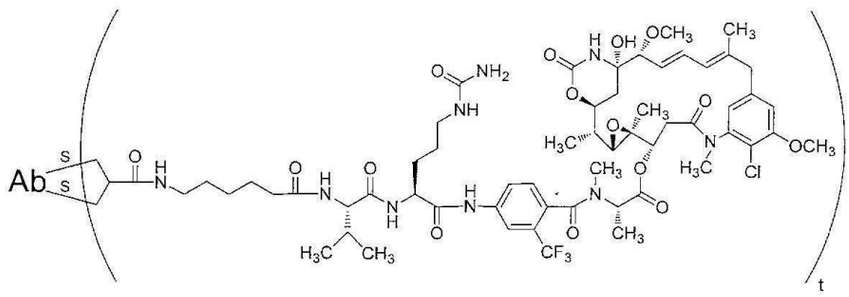
,



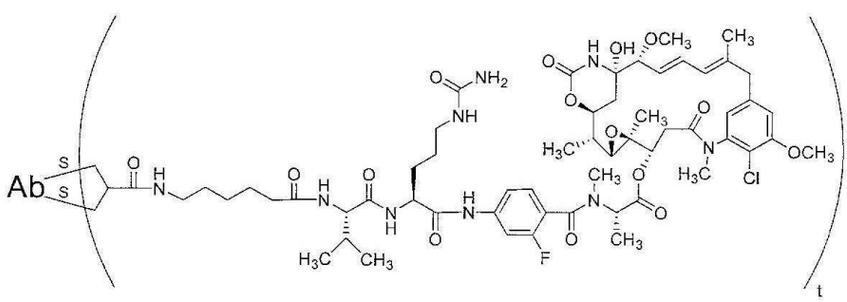




,

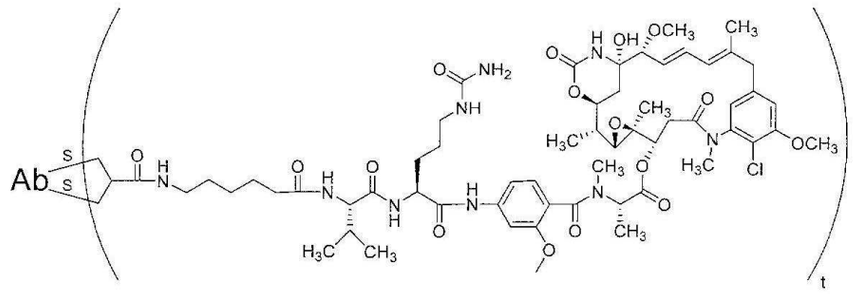


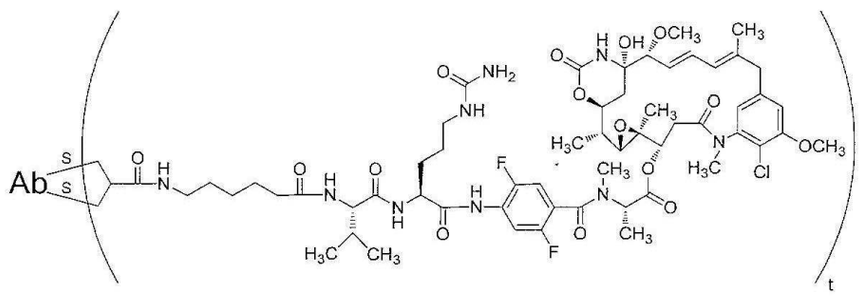
,



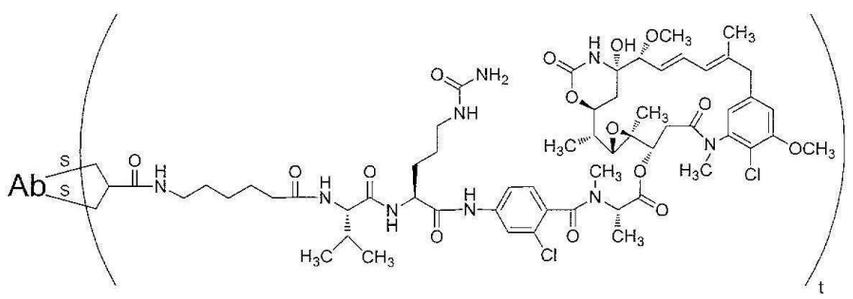
,

`



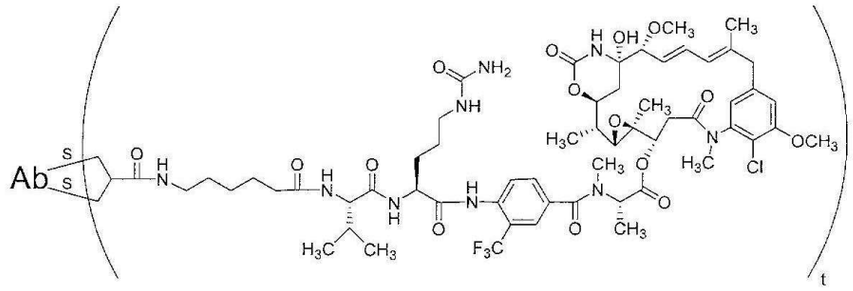


,

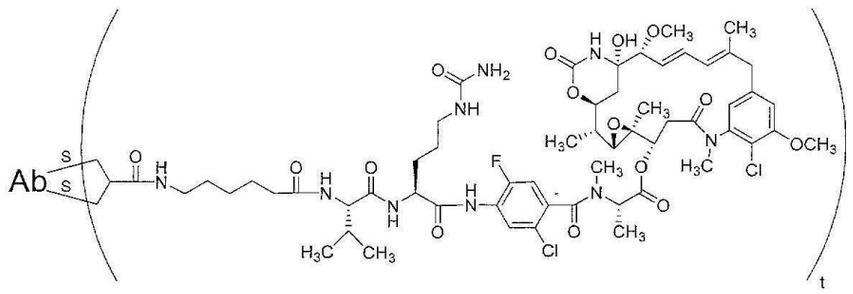


,

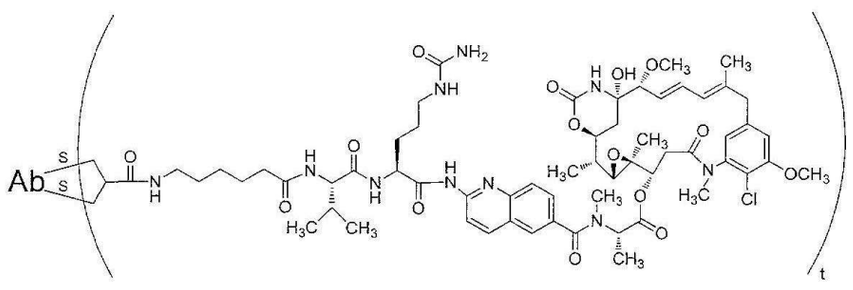
`


Ab
S
S
O
H
N
O
NH2
NH
H
N
O
N
H
O
H
N
O
H3C
CH3
F3C
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
O
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
O
N
CH3
O
CH3
t

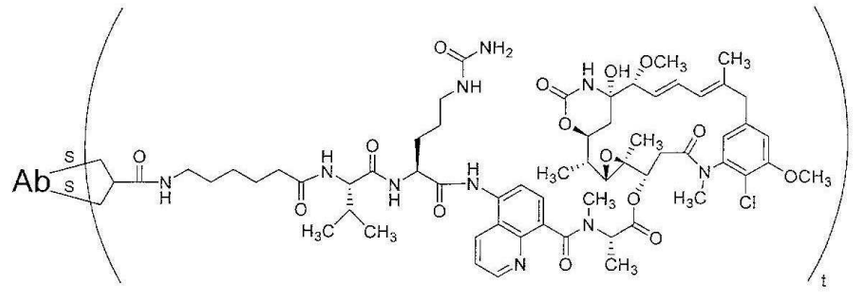
,


Ab
S
S
O
H
N
O
NH2
NH
H
N
O
N
H
O
H
N
O
H3C
CH3
F
Cl
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
O
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
O
N
CH3
O
CH3
t

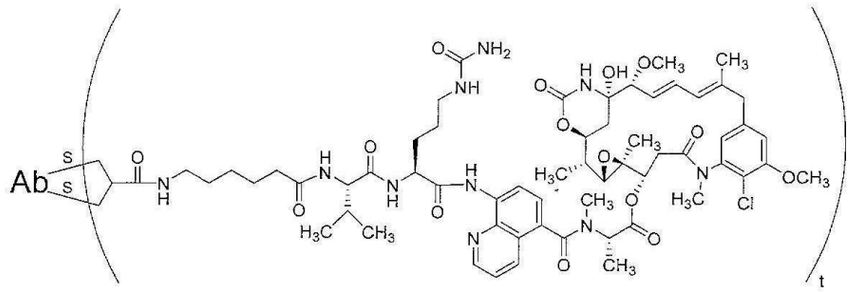
,


Ab
S
S
O
H
N
O
NH2
NH
H
N
O
N
H
O
H
N
O
H3C
CH3
N
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
O
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
O
N
CH3
O
CH3
t

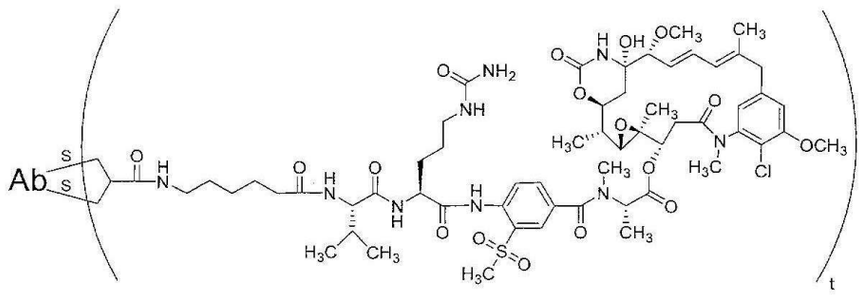
,



,

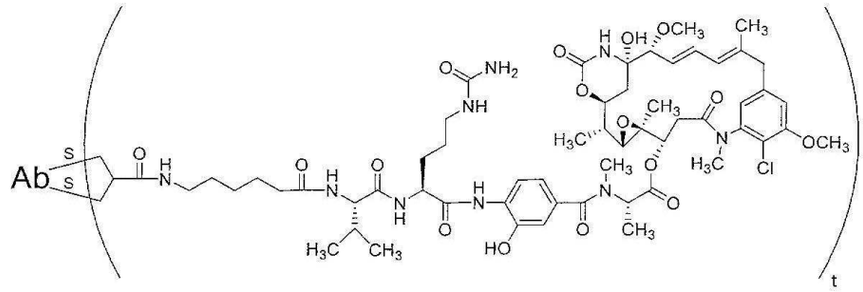


,

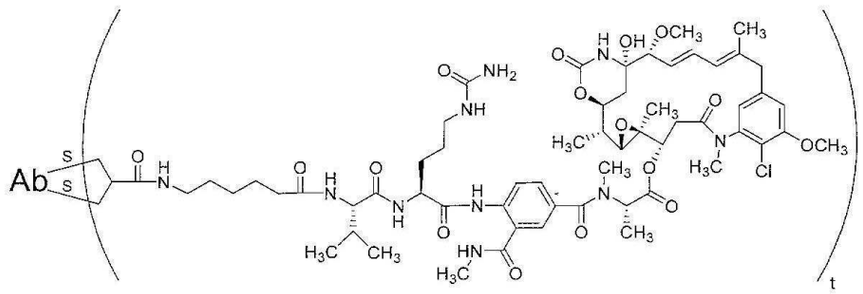


,

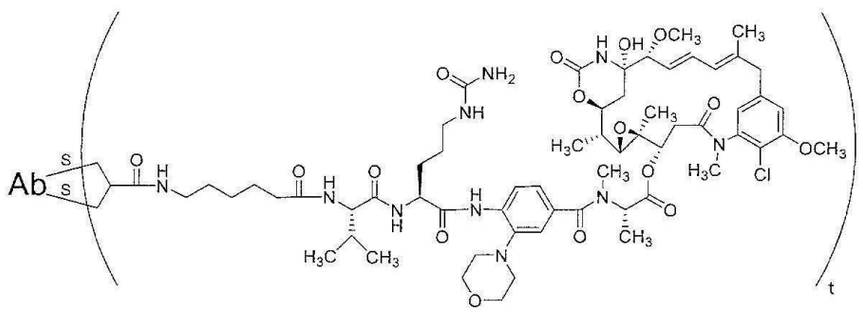
`



,

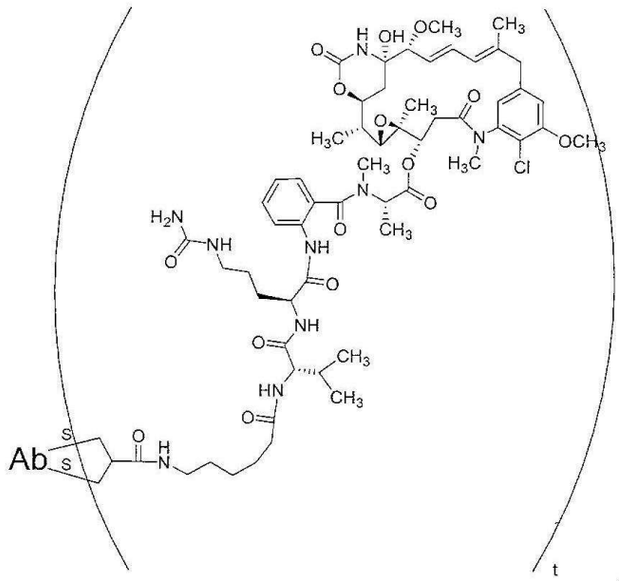


,

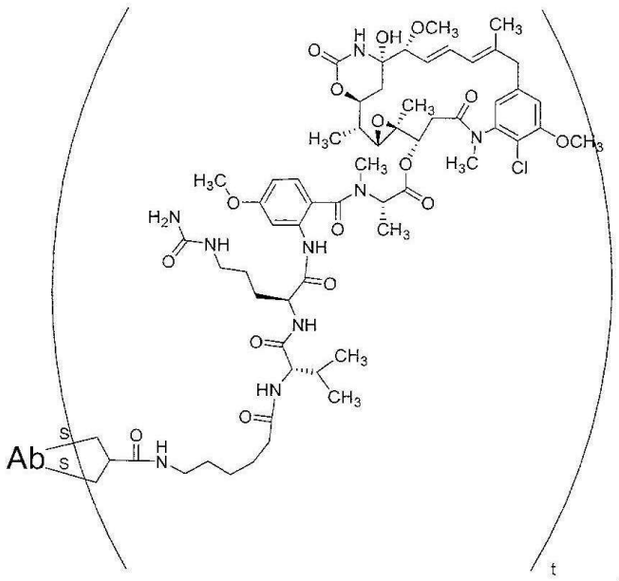


,

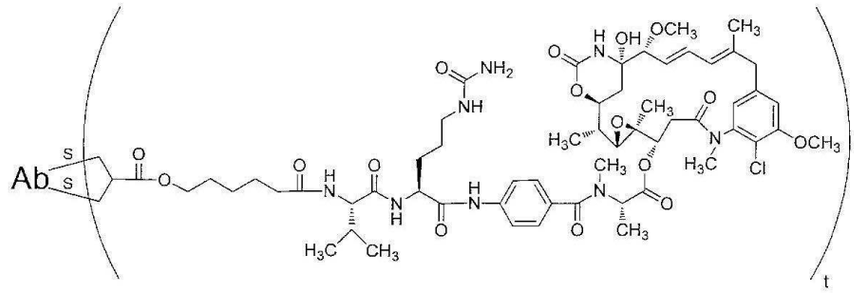
`


Ab
S
S
O
H
N
NH
O
HN
CH3
CH3
NH
NH2
O
NH
O
O
O
O
CH3
CH3
N
O
O
CH3
H3C
O
CH3
O
N
H3C
Cl
OCH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O

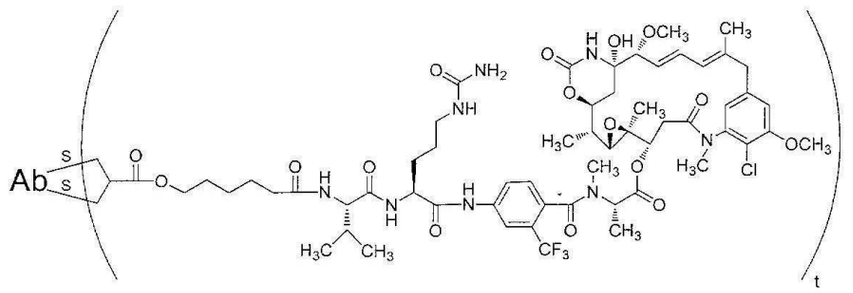
t ,


Ab
S
S
O
H
N
NH
O
HN
CH3
CH3
NH
NH2
O
NH
O
O
O
O
CH3
CH3
N
O
O
CH3
H3C
O
CH3
O
N
H3C
Cl
OCH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
H3C
O

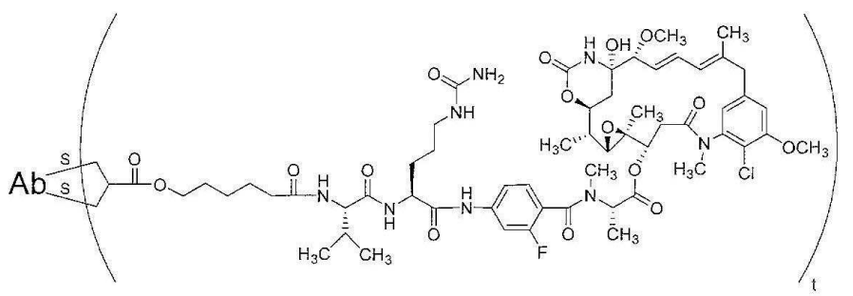
t ,


Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
O
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
H3C
O
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
O
CH3
t

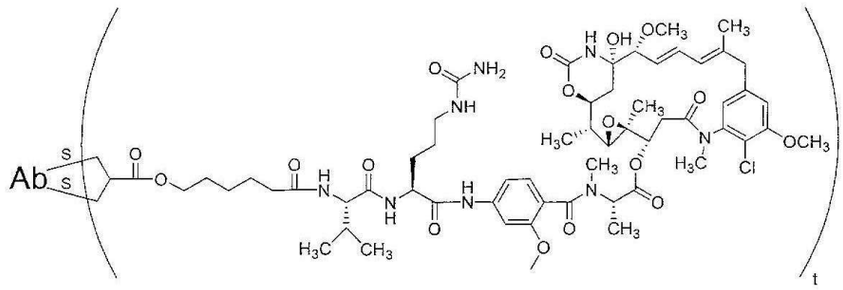
,

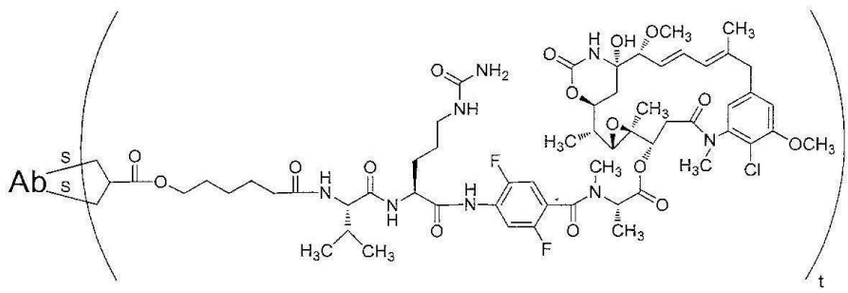

Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
O
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
H3C
O
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
O
CH3
CF3
t

,

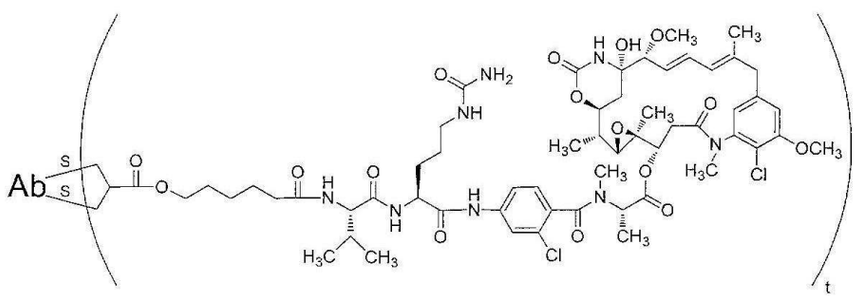

Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
O
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
H3C
O
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
O
CH3
F
t

,





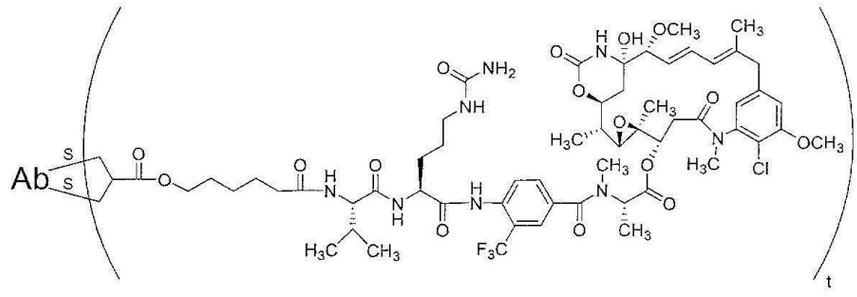
,



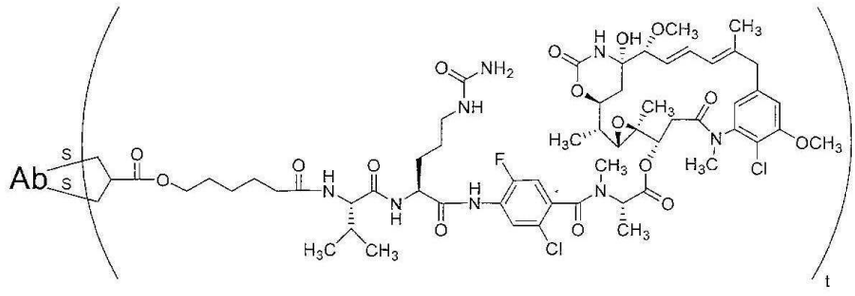
,

,

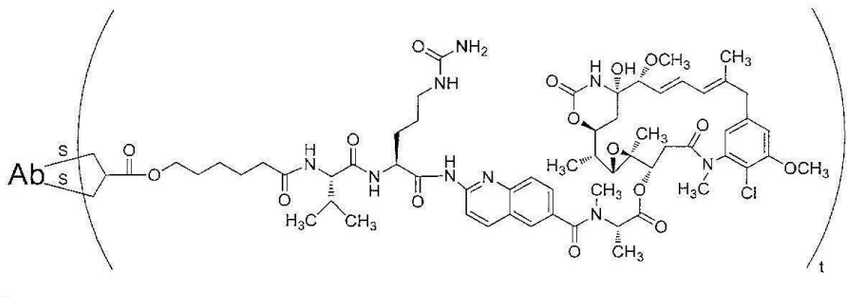
`


Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
F3C
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
H3C
O
CH3
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
O
t

,

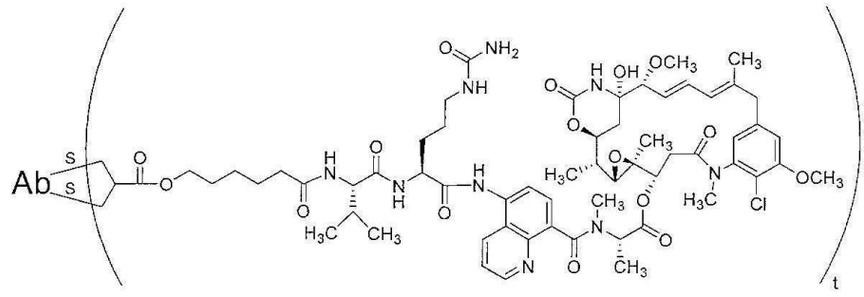

Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
F
Cl
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
H3C
O
CH3
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
O
t

,

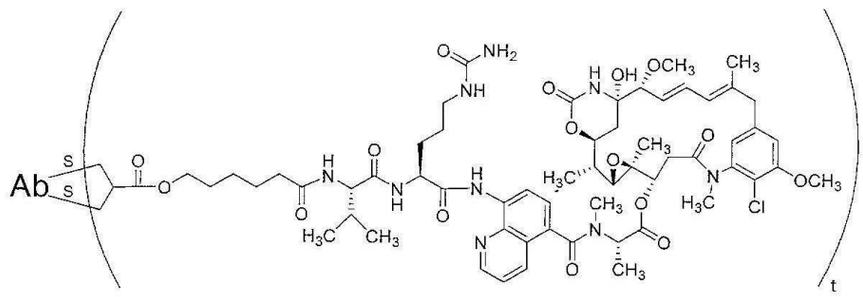

Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
N
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
H3C
O
CH3
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
O
t

,

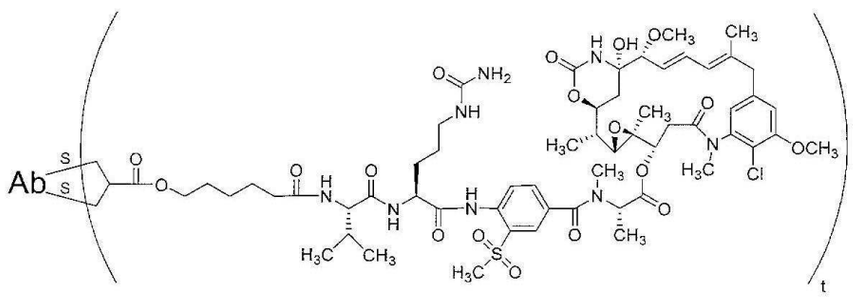
.


Ab
S
S
O
O
NH2
NH
H
N
OH
OCH3
CH3
O
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
H3C
CH3
O
N
O
CH3
t

,

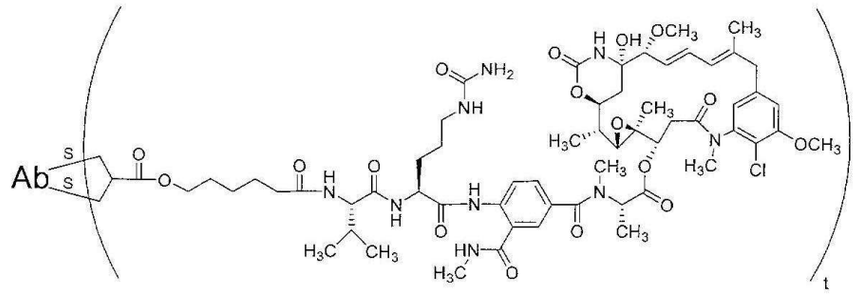

Ab
S
S
O
O
NH2
NH
H
N
OH
OCH3
CH3
O
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
H3C
CH3
O
N
O
CH3
t

,

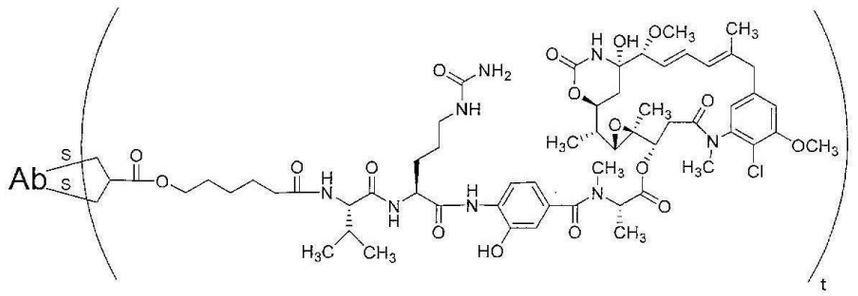

Ab
S
S
O
O
NH2
NH
H
N
OH
OCH3
CH3
O
CH3
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
H3C
CH3
O
S
O
H3C
O
N
O
CH3
t

,

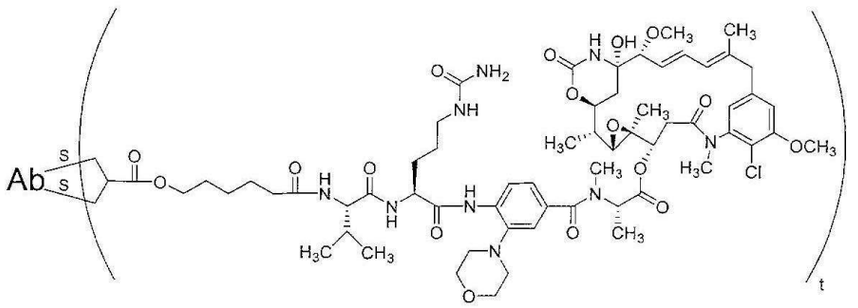
.



,

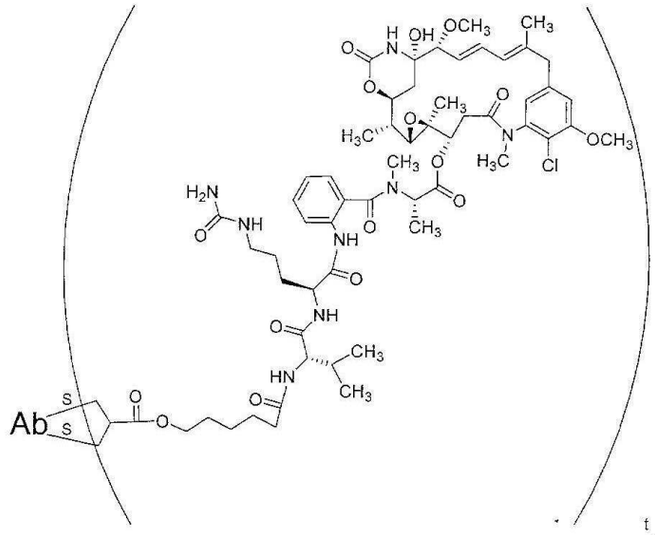


,

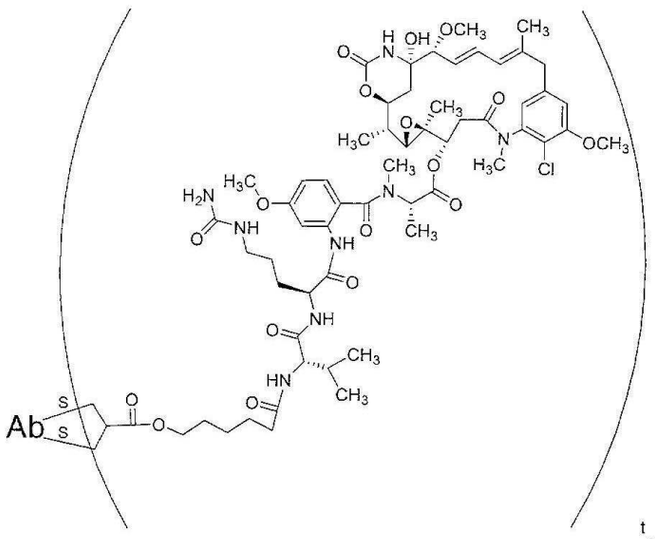


,

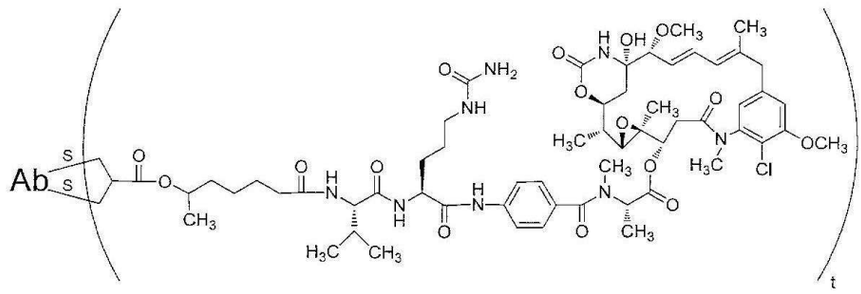
`


Ab
S
S
O
O
NH
HN
NH
NH
O
N
H
OH
OCH3
CH3
H3C
CH3
O
N
H3C
Cl
OCH3
H2N
NH
O
O
O
O
O
O
CH3
CH3
CH3
CH3
CH3

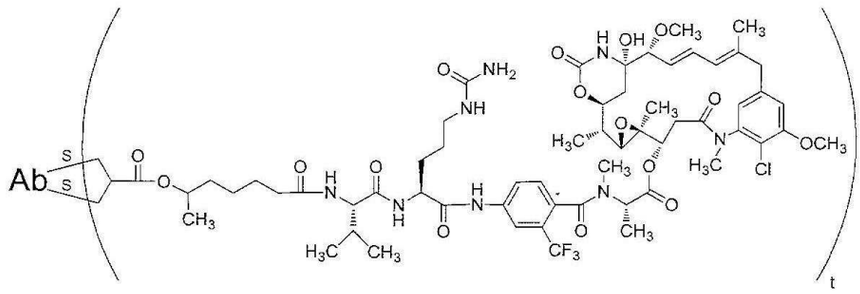
t,


Ab
S
S
O
O
NH
HN
NH
NH
O
N
H
OH
OCH3
CH3
H3C
CH3
O
N
H3C
Cl
OCH3
H2N
H3C
O
NH
O
O
O
O
O
O
CH3
CH3
CH3
CH3
CH3

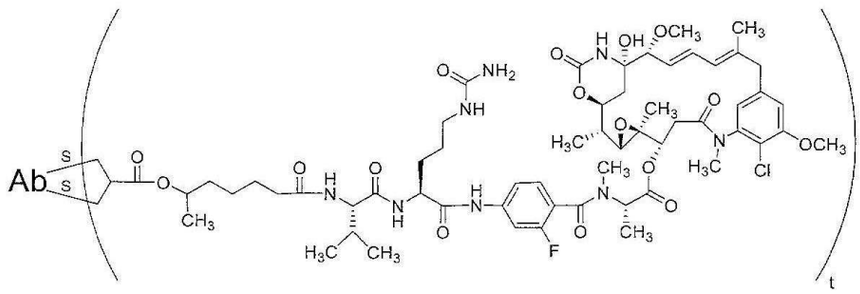
t,


Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
N
H
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
O
CH3
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
O
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
O
N
O
CH3
O
CH3
t

,

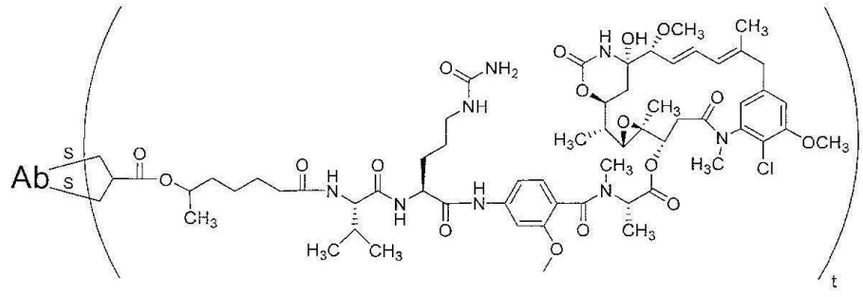

Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
N
H
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
O
CH3
H3C
CH3
CF3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
O
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
O
N
O
CH3
O
CH3
t

,

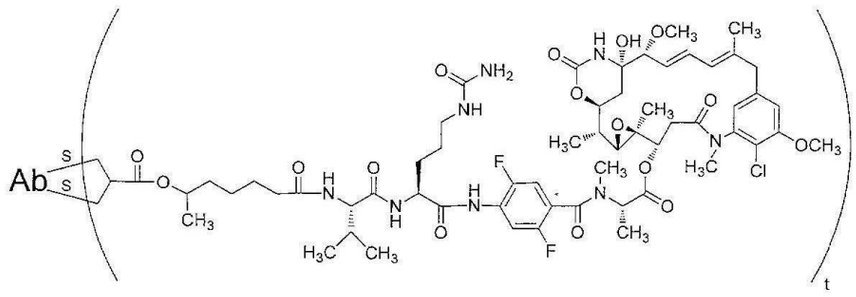

Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
N
H
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
O
CH3
H3C
CH3
F
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
O
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
O
N
O
CH3
O
CH3
t

,

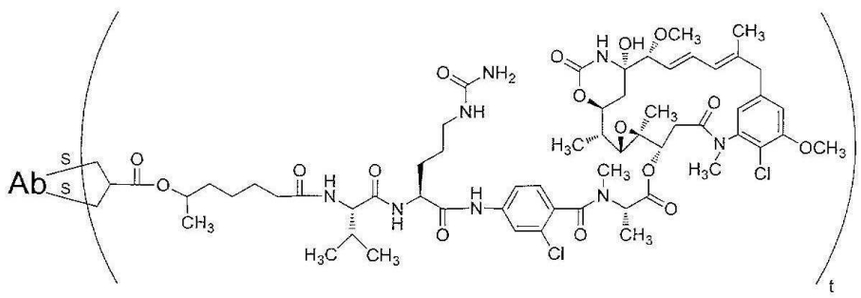
`



,

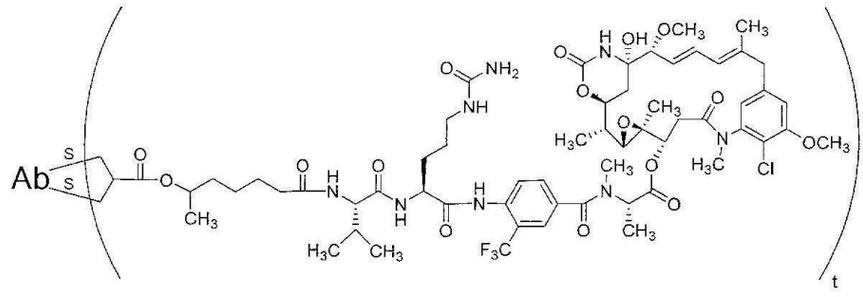


,

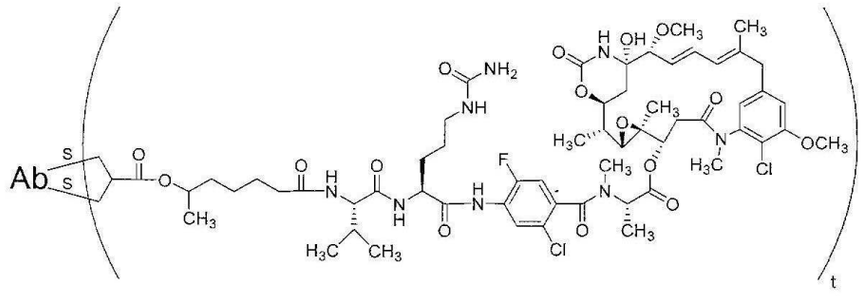


,

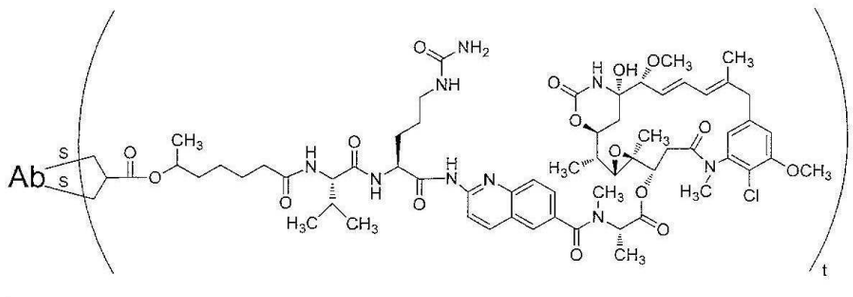
`



,

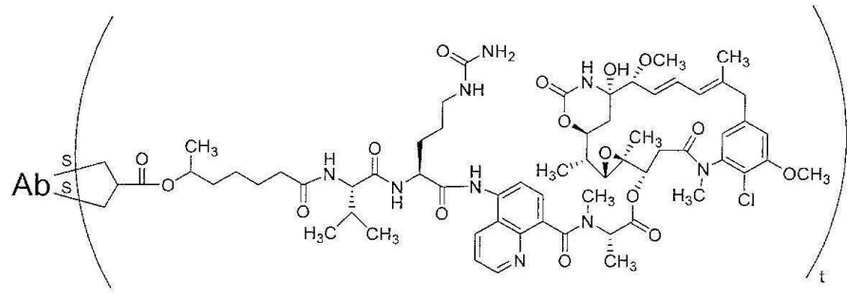


,

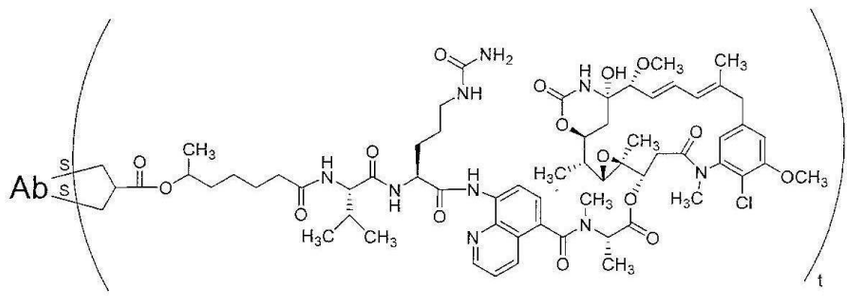


,

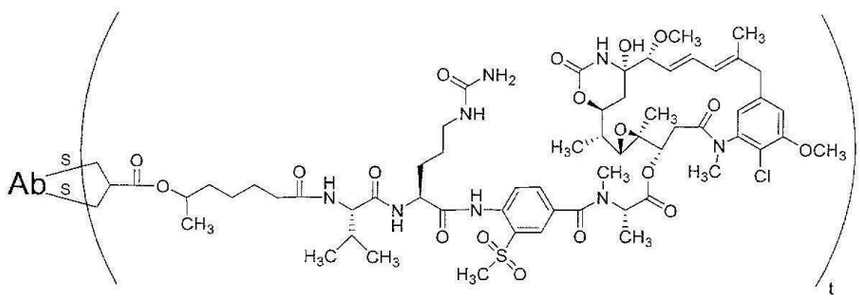
`


Ab
S
S
t

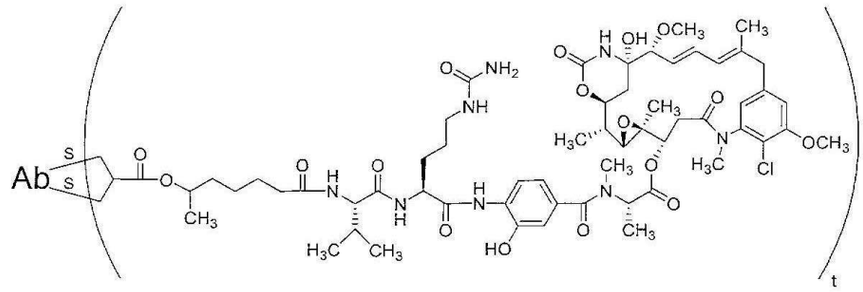
,


Ab
S
S
t

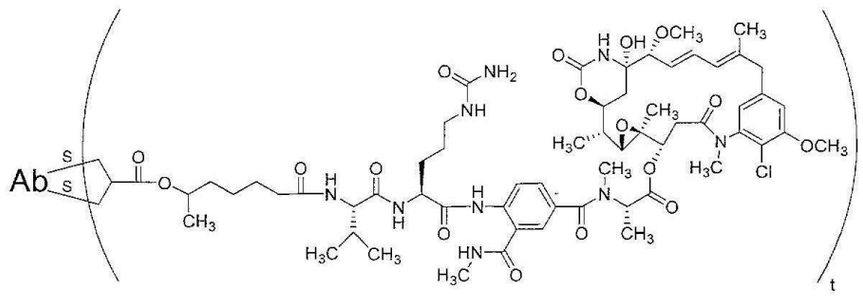
,


Ab
S
S
t

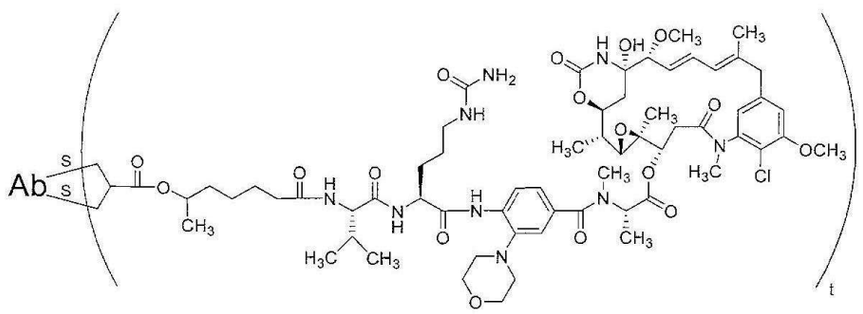
,


Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
CH3
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
O
H3C
O
CH3
N
H3C
OCH3
Cl
O
N
CH3
O
O
CH3
HO
t

,

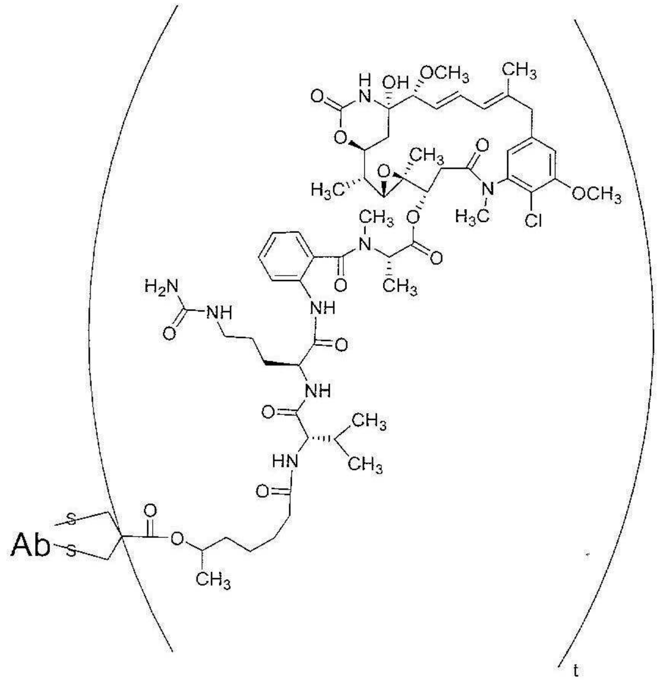

Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
CH3
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
O
H3C
O
CH3
N
H3C
OCH3
Cl
O
N
CH3
O
O
CH3
HN
H3C
O
t

,


Ab
S
S
O
O
O
H
N
O
NH
NH2
H
N
O
H
N
O
CH3
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
O
CH3
O
H3C
O
CH3
N
H3C
OCH3
Cl
O
N
CH3
O
O
CH3
N
O
t

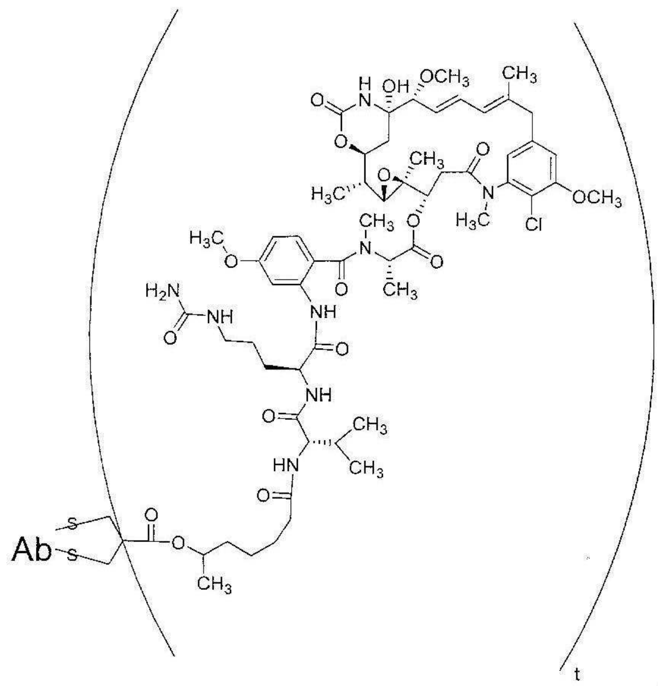
,

`



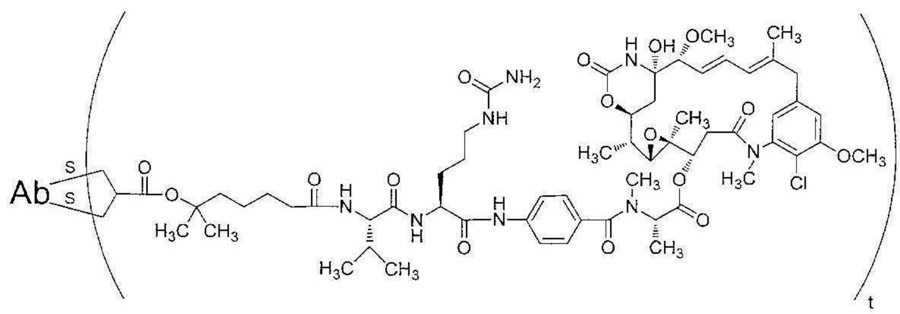
Ab
S
S
O
O
CH3
O
HN
CH3
CH3
O
NH
H2N
NH
O
NH
O
O
N
CH3
CH3
O
O
H
N
O
O
OH
OCH3
CH3
H3C
O
CH3
O
N
H3C
Cl
OCH3
t

,



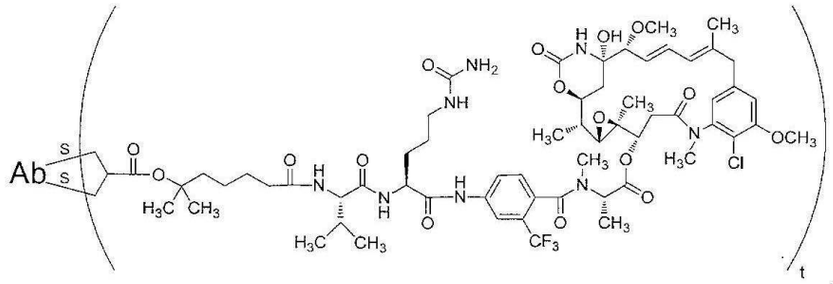
Ab
S
S
t

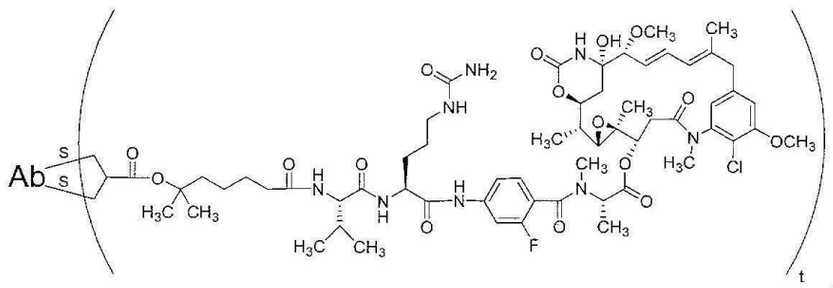
,

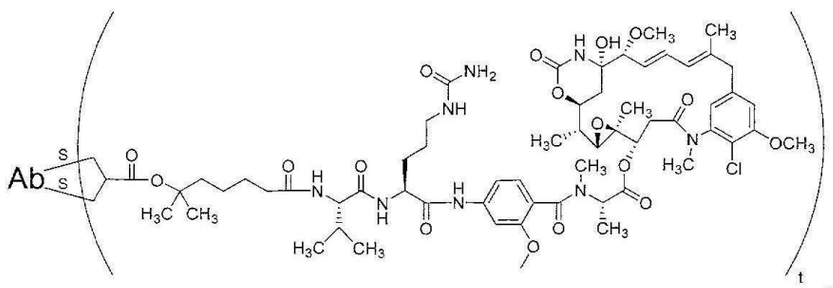


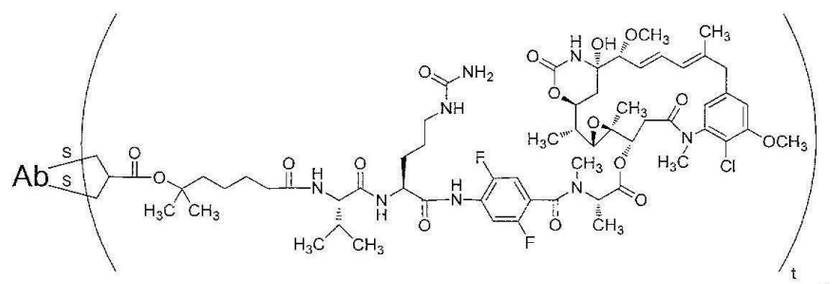
Ab
S
S
t

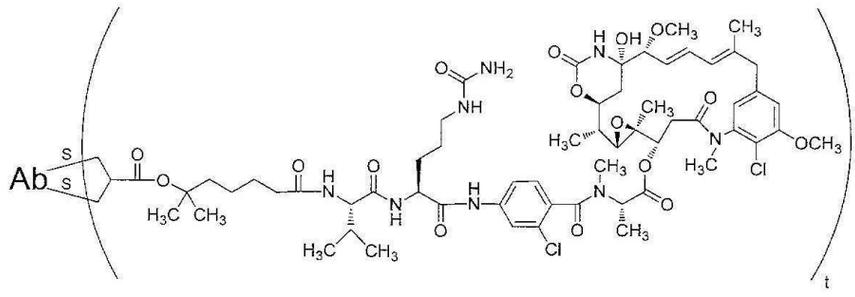
,


Ab
S
S
t

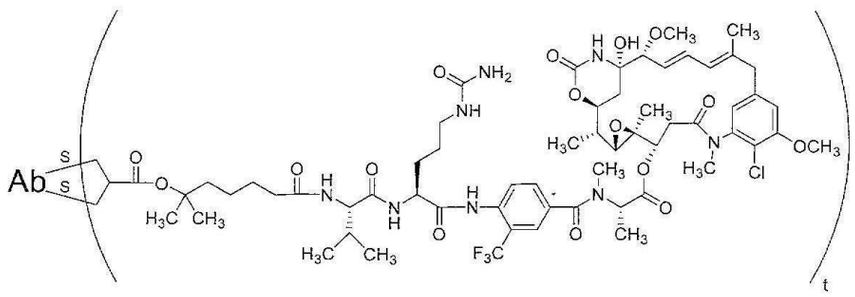

Ab
S
S
t


Ab
S
S
t

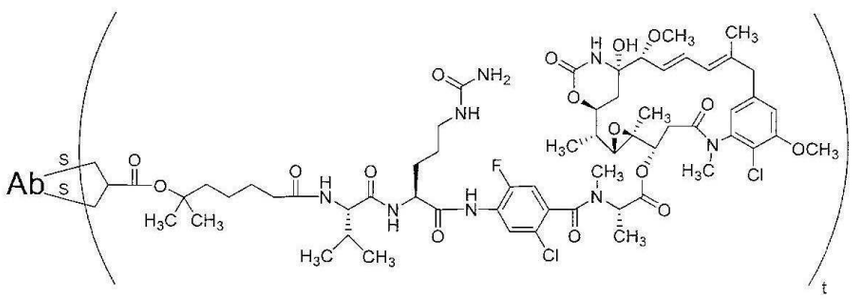

Ab
S
S
t


Ab
S
S
O
O
H
N
O
NH
NH2
H3C
CH3
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
CH3
O
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
O
O
CH3
Cl
t

,

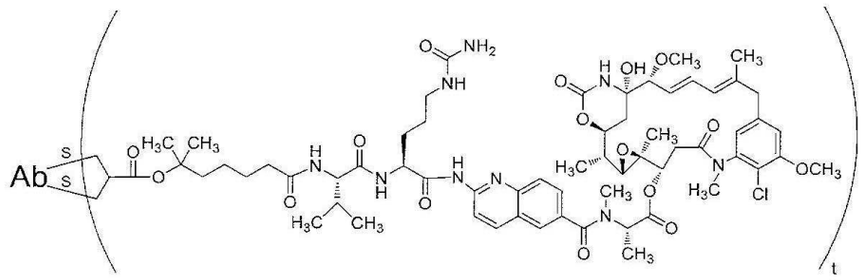

Ab
S
S
O
O
H
N
O
NH
NH2
H3C
CH3
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
CH3
O
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
O
O
CH3
F3C
t

,

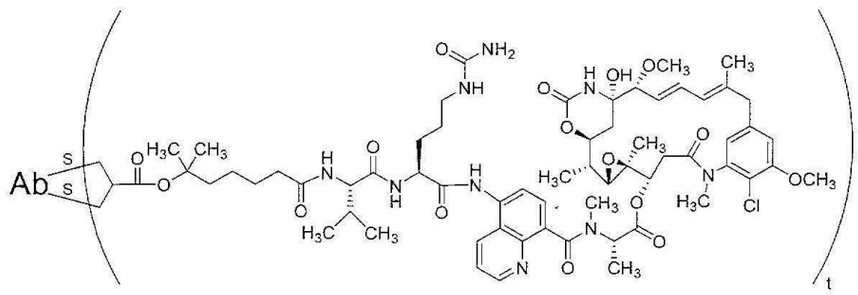

Ab
S
S
O
O
H
N
O
NH
NH2
H3C
CH3
H3C
CH3
H
N
OH
OCH3
CH3
O
O
CH3
O
H3C
O
N
H3C
Cl
OCH3
CH3
O
N
O
O
CH3
F
Cl
t

,

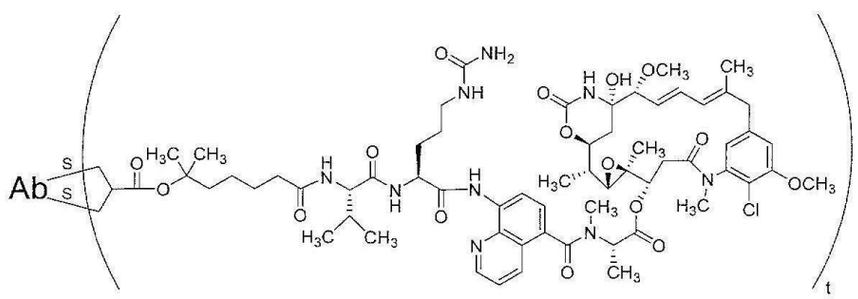
`


Ab
S
S
t

,

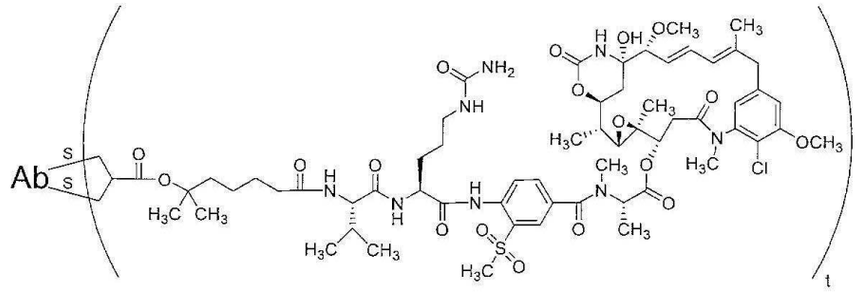

Ab
S
S
t

,

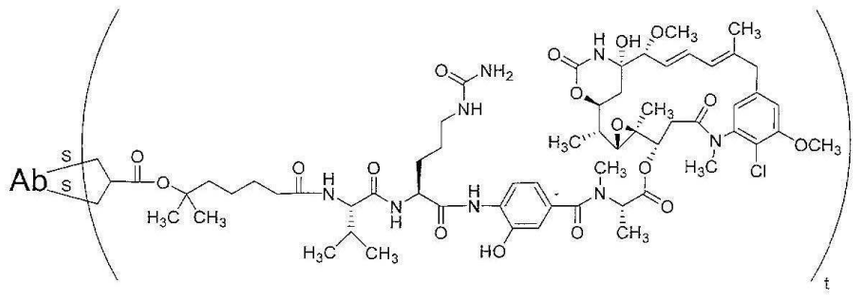

Ab
S
S
t

,

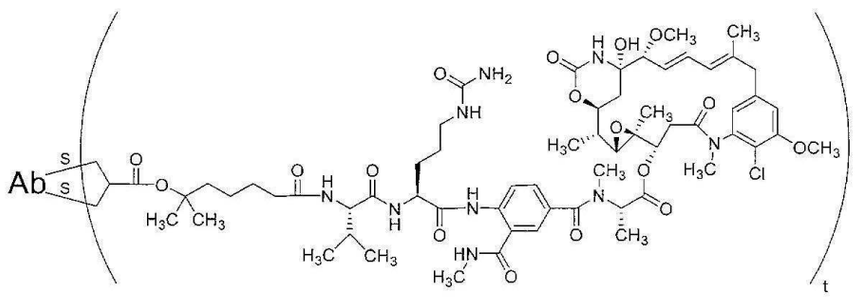
`



,

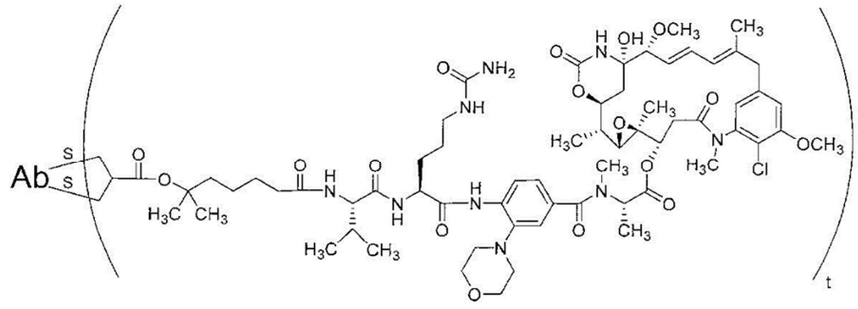


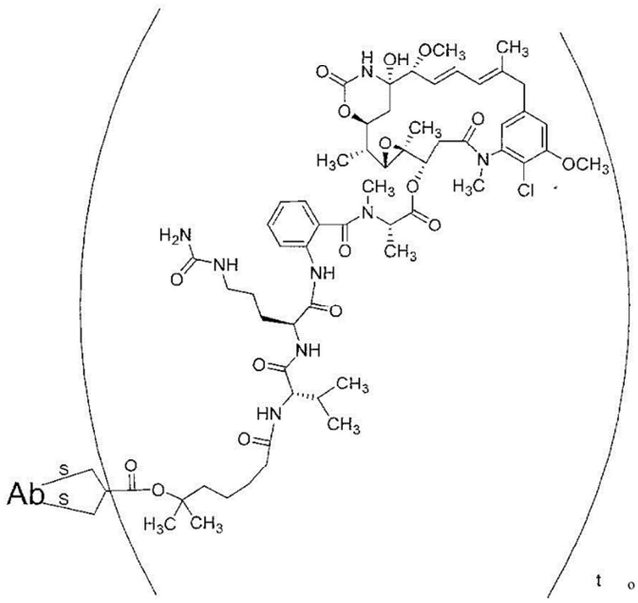
,

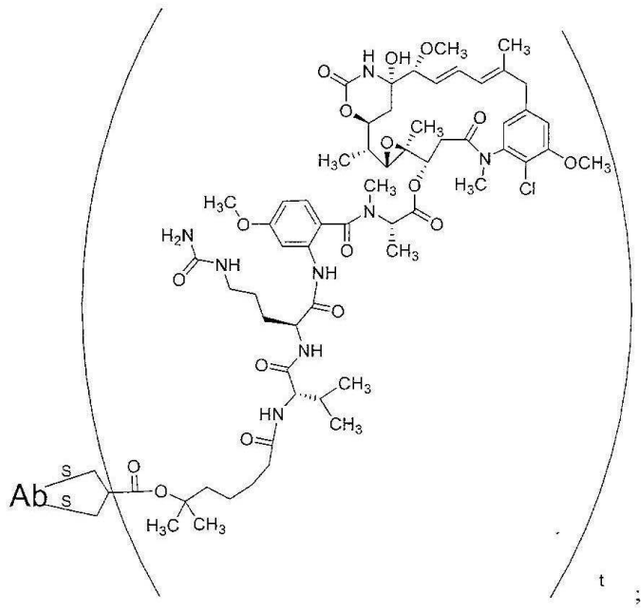


,

.


Ab
S
S
O
O
H
N
OH
OCH3
CH3
NH2
NH
H3C
CH3
N
Cl
OCH3
t


Ab
S
S
O
O
H
N
OH
OCH3
CH3
H2N
NH
HN
N
Cl
OCH3
t



donde:

Ab es un anticuerpo;

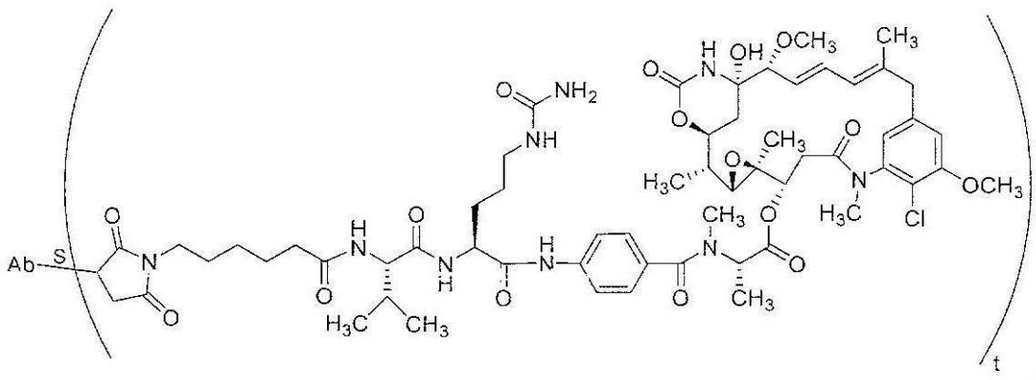
—S— es un enlace a una cisteína del anticuerpo;

—N— es un enlace a una lisina del anticuerpo;

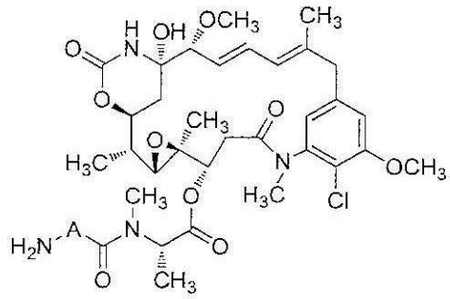
k es un entero desde 1 a 30; y

t es un entero desde 1 a 8.

23. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 22, CARACTERIZADO porque el compuesto es:



24. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 23, CARACTERIZADO porque t es 1.
25. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 21, CARACTERIZADO porque BA es un anticuerpo.
26. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 – 25, CARACTERIZADO porque el anticuerpo es un anticuerpo anti-MUC16 o un anticuerpo anti-PSMA.
27. Un compuesto de Fórmula II:



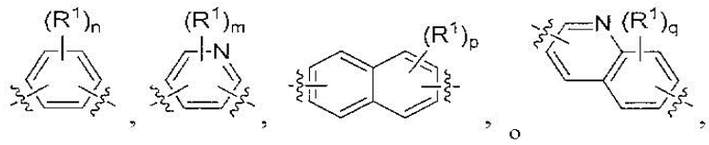
(II)

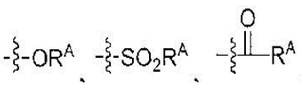
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

CARACTERIZADO porque A es arileno o heteroarileno.

28. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 27, CARACTERIZADO porque:

A es:



donde R^1 es independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heteroarilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro,  o azido,

donde R^A es alquilo;

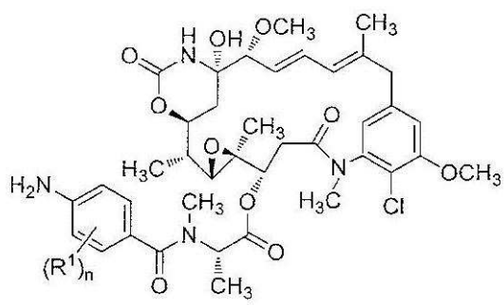
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

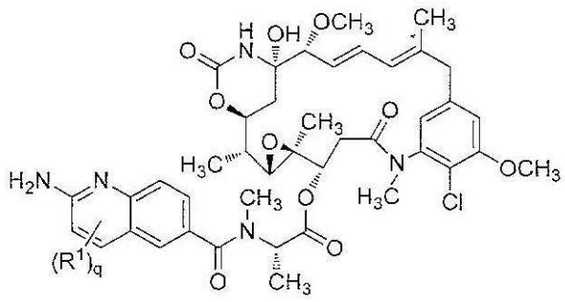
q es un entero desde 0 a 5.

29. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 28, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de Fórmula (IIA):



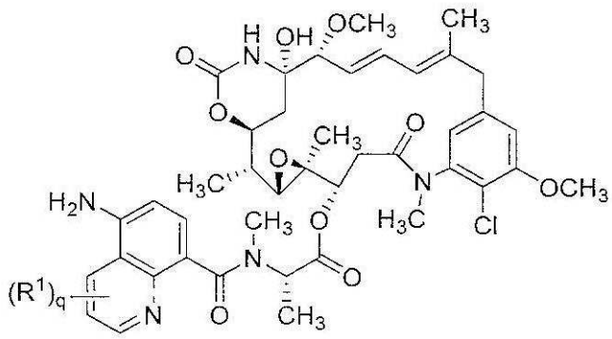
(IIA).

30. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 28, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de Fórmula (IIB):



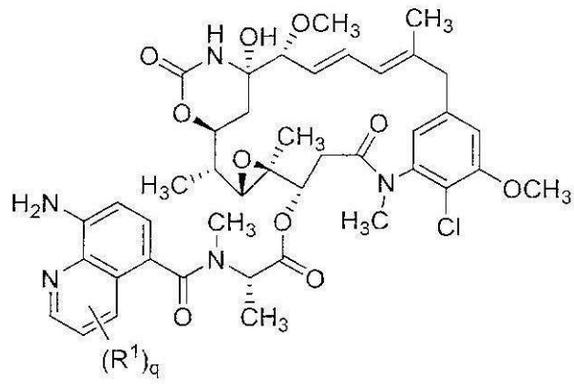
(IIB).

31. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 28, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de Fórmula (IIB2):



(IIB2).

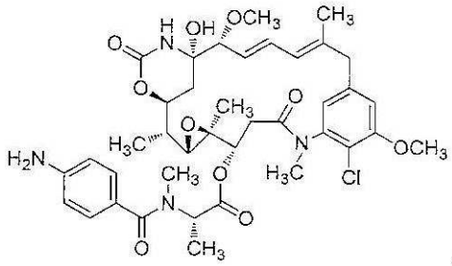
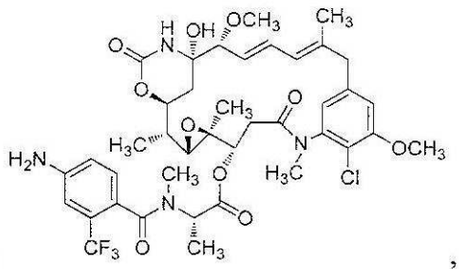
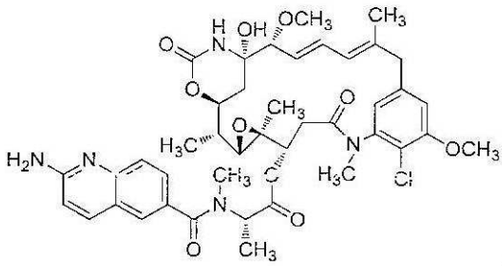
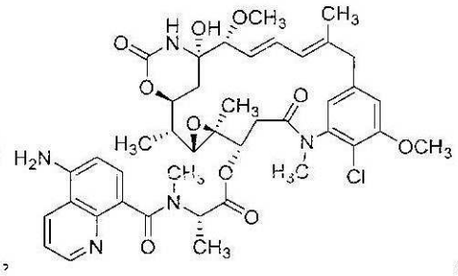
32. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 28, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula (II) es un compuesto de Fórmula (IIB3):

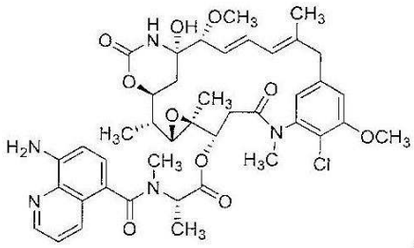
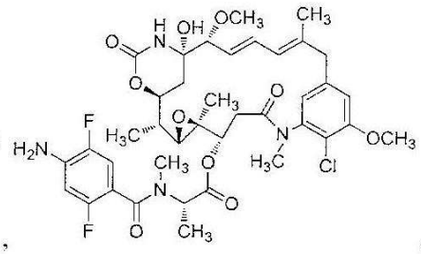
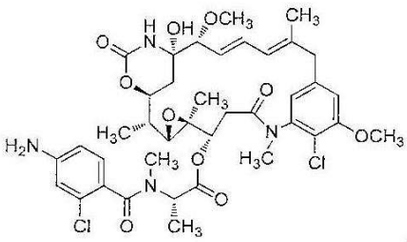
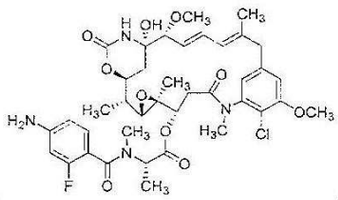
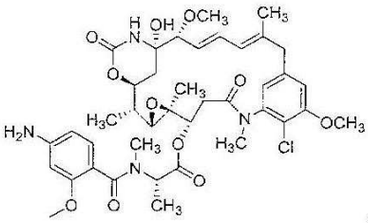
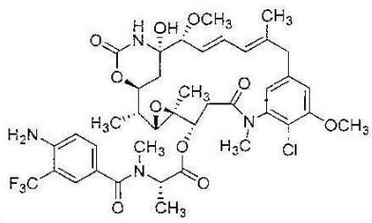
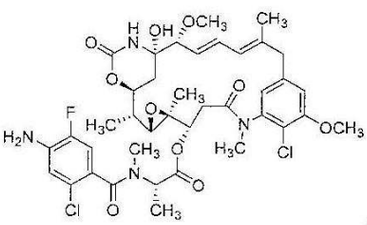
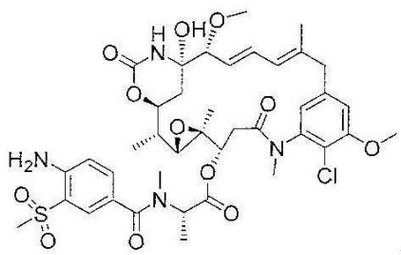
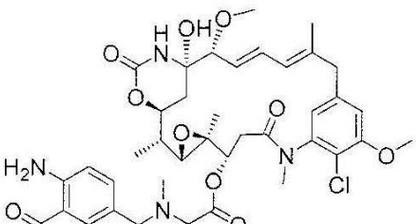
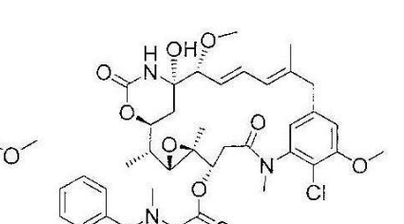
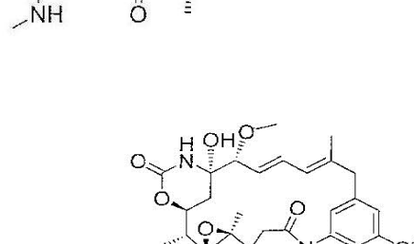
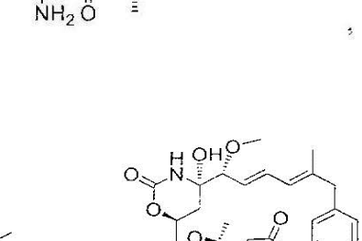
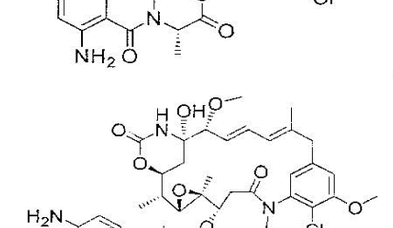
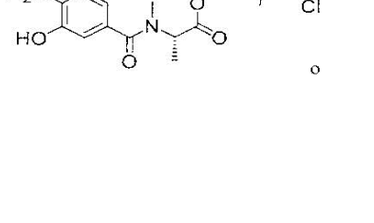
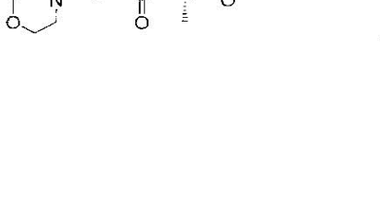


(IIB3).

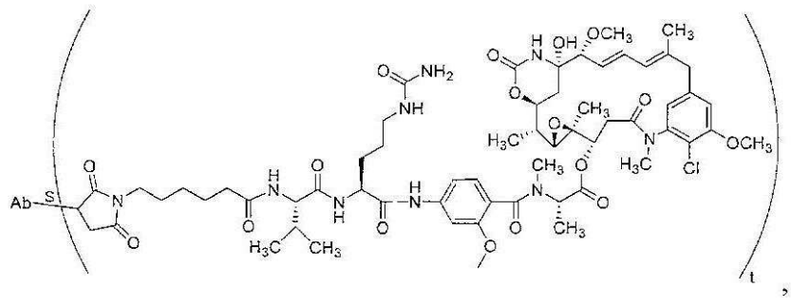
33. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 28 – 32, CARACTERIZADO porque R^1 es, independientemente, alcoxi C_{1-6}, haloalquilo o halo.
34. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 28 – 33, CARACTERIZADO porque R^1 es, independientemente, alcoxi o halo.
35. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 28 – 34, CARACTERIZADO porque n, m, p y q son 0, 1, ó 2.
36. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 28 – 35, CARACTERIZADO porque n, m, p y q son 0.

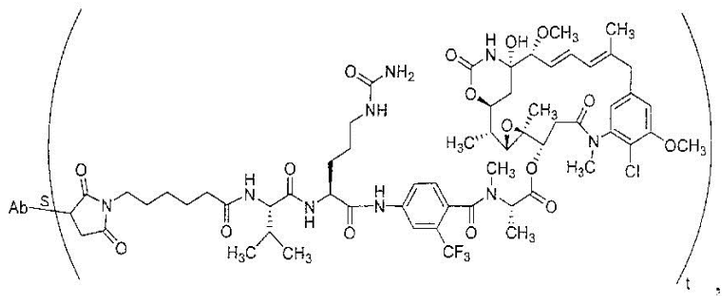
37. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 27, CARACTERIZADO porque el compuesto es:


,

,

,

,

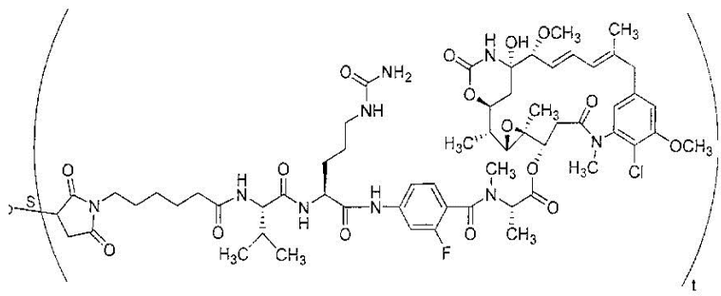

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

.

38. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1, 27 ó 28, CARACTERIZADO porque R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alcoxi, haloalquilo o halo.
39. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 38, CARACTERIZADO porque R^1 es alcoxi.
40. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 38, CARACTERIZADO porque R^1 es metoxi, trifluormetilo, cloro o flúor.
41. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 40, CARACTERIZADO porque R^1 es metoxi.
42. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 40, CARACTERIZADO porque el compuesto es:

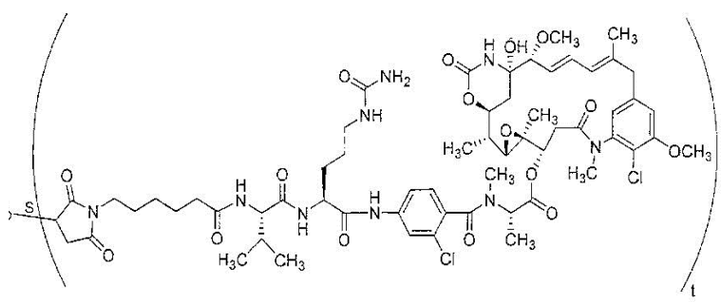




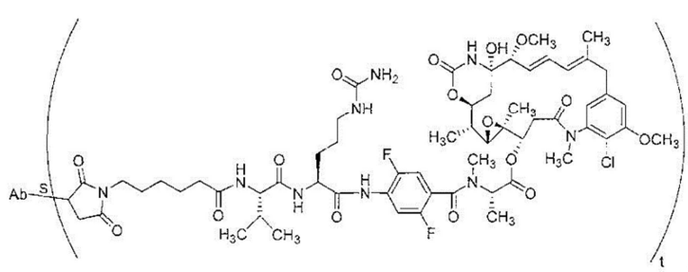
t ,



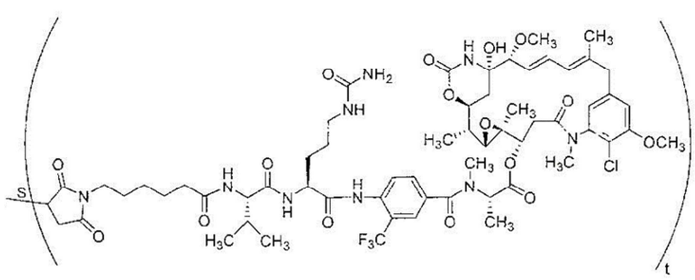
t ,



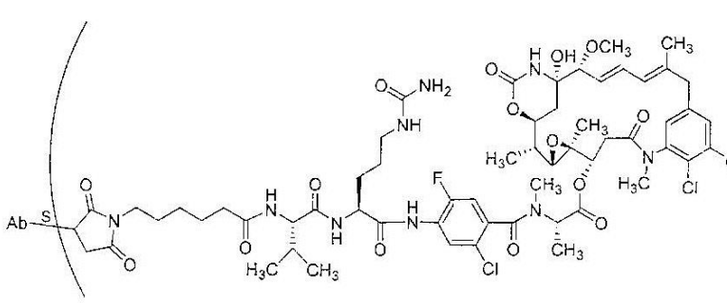
t ,



t ,

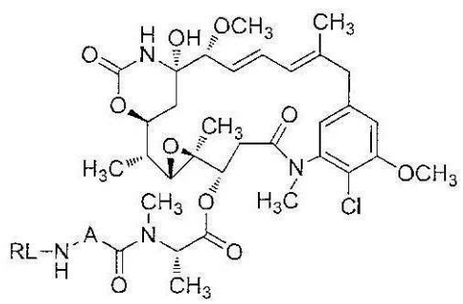


t o



t .

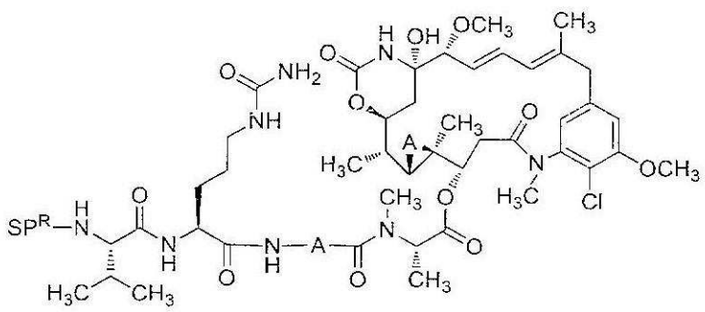
43. Una composición farmacéutica, CARACTERIZADA porque comprende el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 42 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
44. Un método para tratar un trastorno proliferativo, CARACTERIZADO porque comprende administrar a un paciente que tiene dicho trastorno una cantidad terapéuticamente efectiva de una compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 42 o una composición de la reivindicación 43.
45. Un compuesto de Fórmula P1:



P1

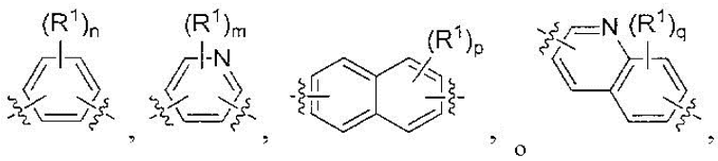
CARACTERIZADO porque A es arileno o heteroarileno y RL es un enlazador reactivo.

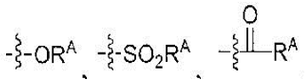
46. El compuesto de la reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1B:



P1B

donde A es:



donde R^1 es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heteroarilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro,  o azido, donde R^A es alquilo;

n es un entero desde 0 a 4;

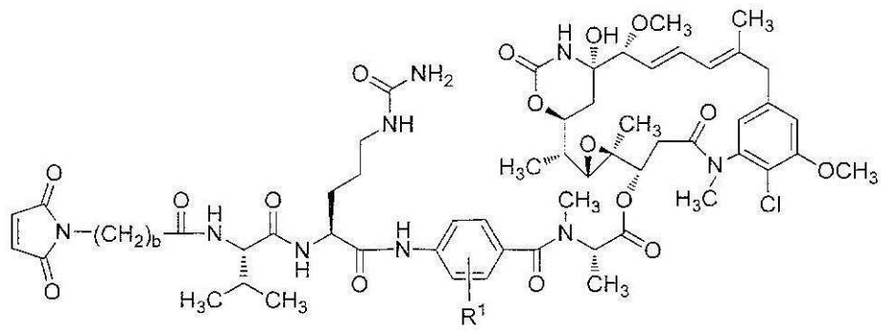
m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5; y

SP^R es en espaciador reactivo.

47. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1H:

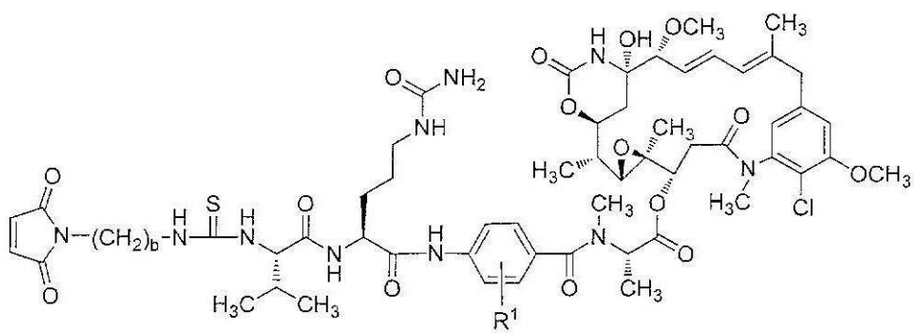


P1H

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alcoxi, halo, haloalquilo o trifluormetilo; y

b es un entero desde 2 a 8.

48. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 47, CARACTERIZADO porque R^1 es alcoxi o haloalquilo.
49. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 48, CARACTERIZADO porque R^1 es metoxi o trifluormetilo.
50. El compuesto de acuerdo a la reivindicación 48, CARACTERIZADO porque R^1 es metoxi.
51. El compuesto de reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1I:

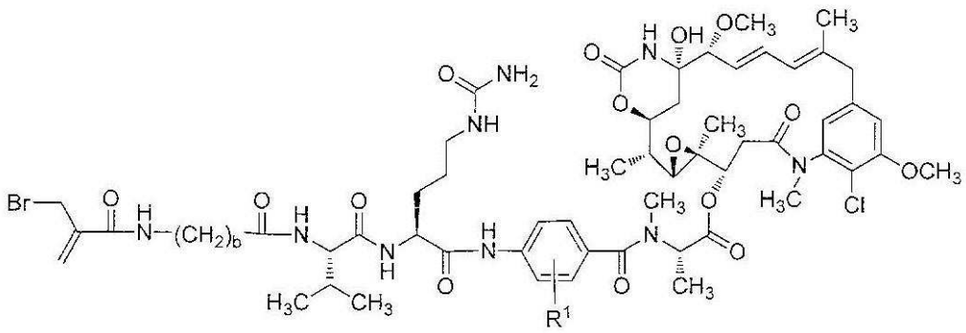


P1I

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alcoxi, halo, haloalquilo o trifluormetilo; y

b es un entero desde 2 a 8.

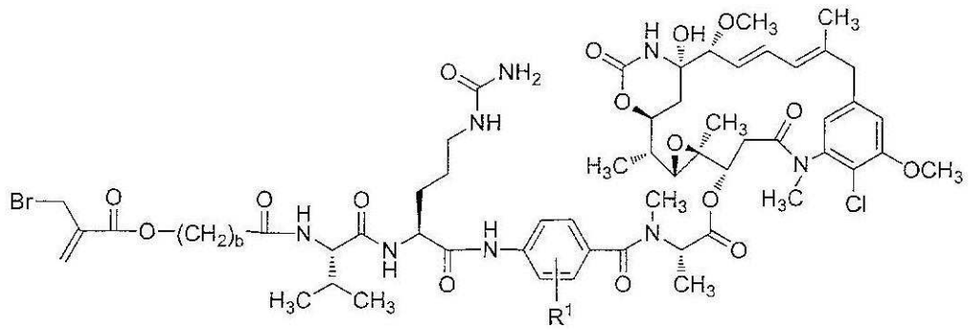
52. El compuesto de reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1J:



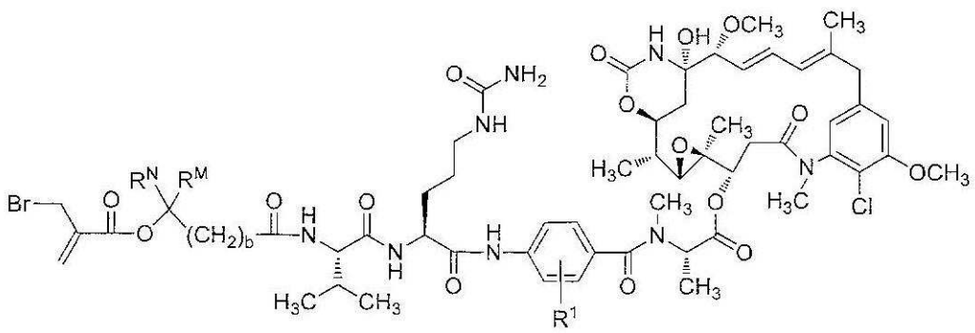
P1J

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alcoxi, halo, haloalquilo o trifluormetilo; y
b es un entero desde 2 a 8.

53. El compuesto de reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1N o P1U:



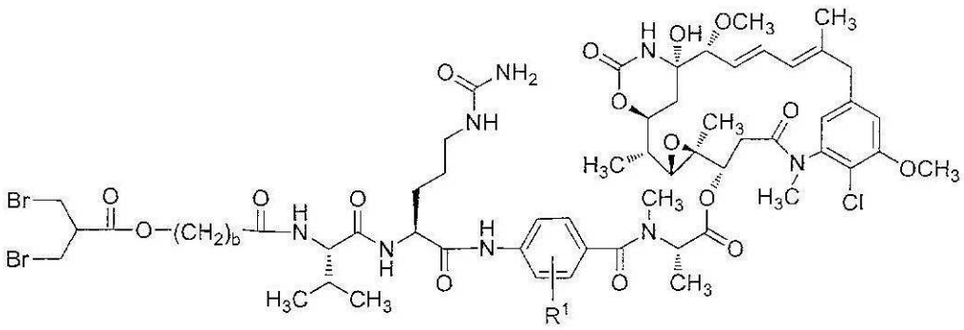
P1N



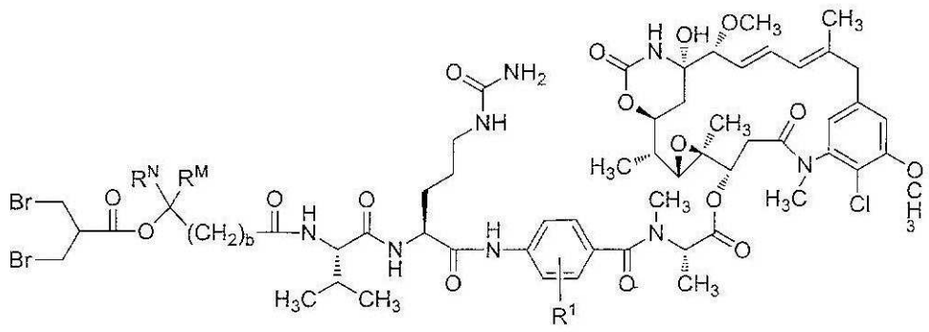
P1U

donde R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo, R^M es alquilo, R^1 es un átomo de hidrógeno, alcoxi, halo, haloalquilo o trifluormetilo; y b es un entero desde 2 a 8.

54. El compuesto de reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1P o Fórmula P1T:



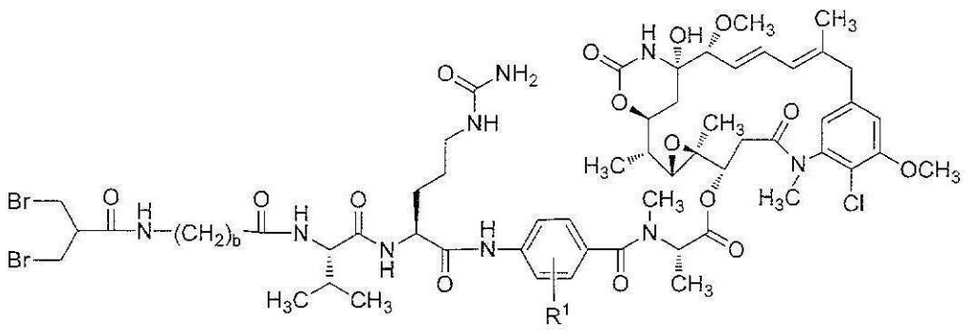
P1P



P1T

donde R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo, R^M es alquilo, R^1 es un átomo de hidrógeno, alcoxi, halo, haloalquilo o trifluormetilo; y b es un entero desde 2 a 8.

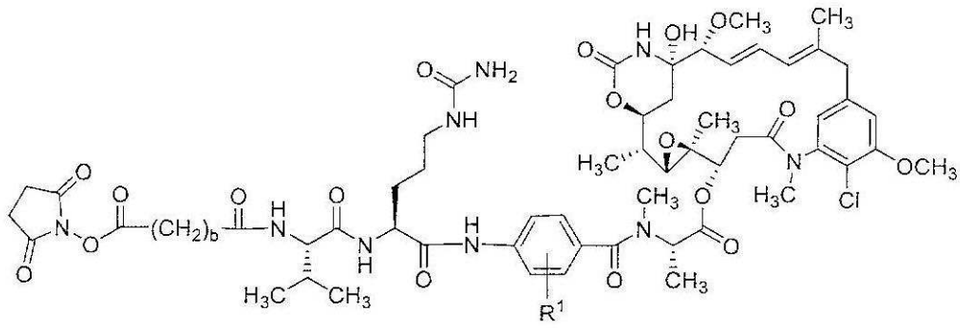
55. El compuesto de reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1Q:



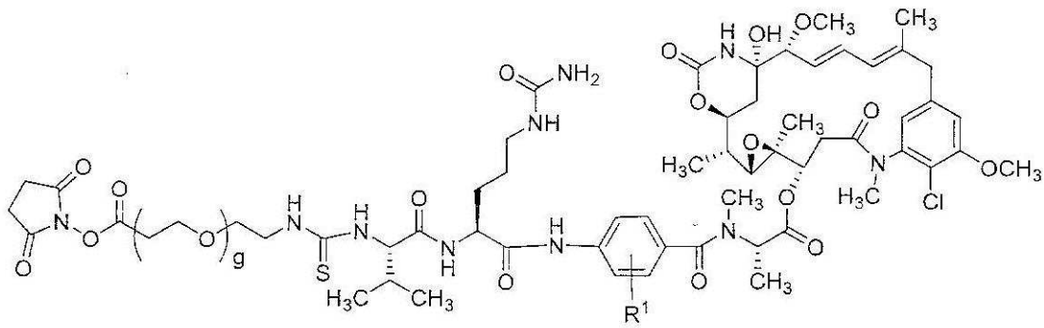
P1Q

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alcoxi, halo, haloalquilo o trifluormetilo; y b es un entero desde 2 a 8.

56. El compuesto de reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1V o Fórmula P1W:



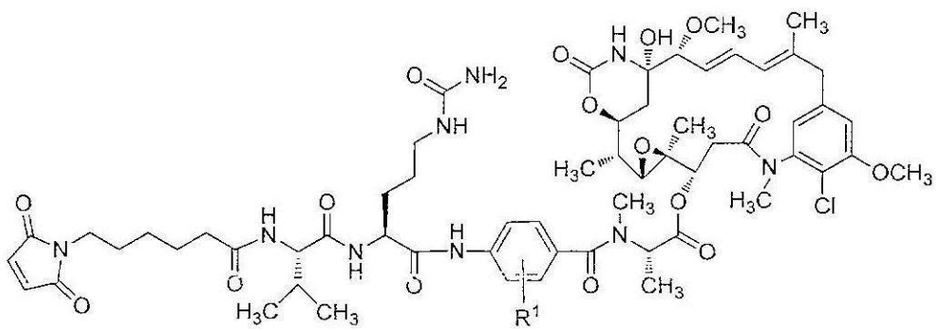
P1V



P1W

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alcoxi, halo, haloalquilo o trifluormetilo; g es entero desde 2 a 8, y b es un entero desde 2 a 8.

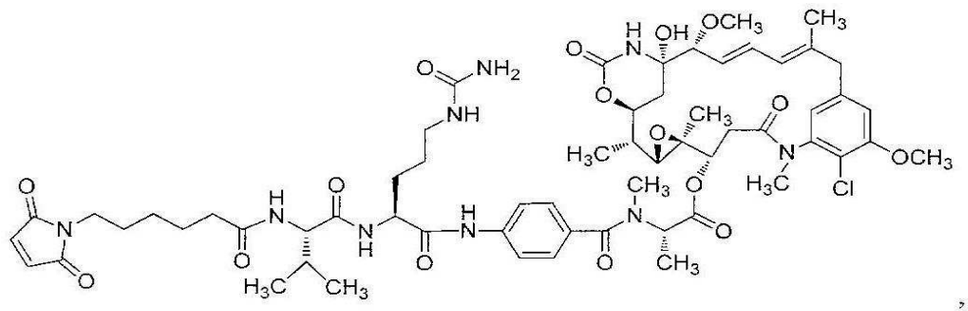
57. El compuesto de reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es un compuesto de Fórmula P1K:



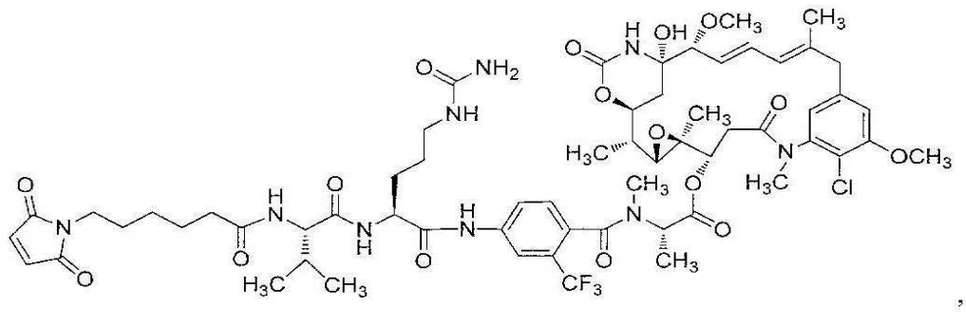
P1K

donde R^1 es un átomo de hidrógeno, alcoxi, halo, haloalquilo o trifluormetilo.

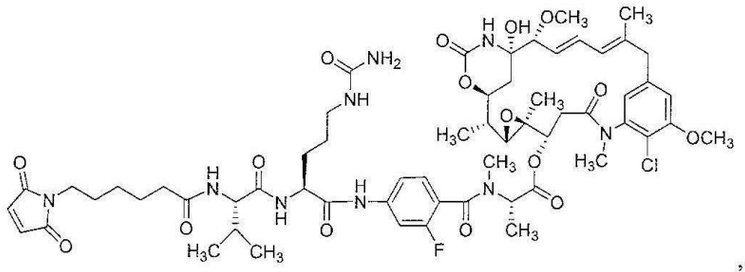
58. El compuesto de reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto es:



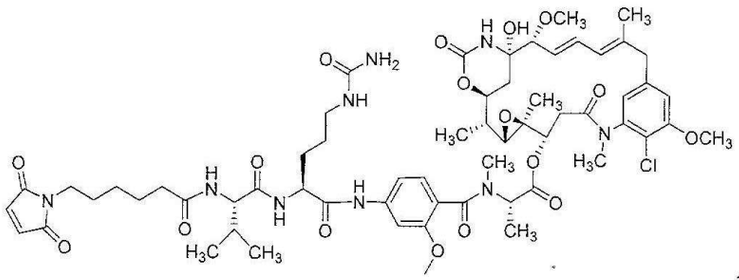
,



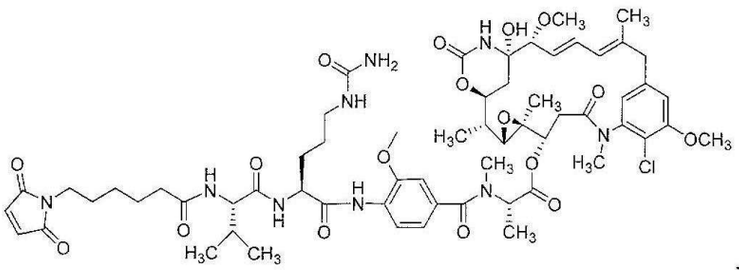
,



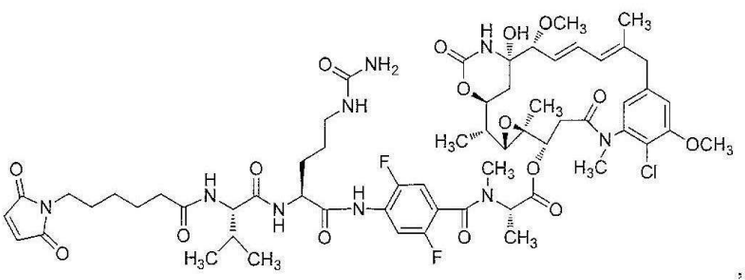
,



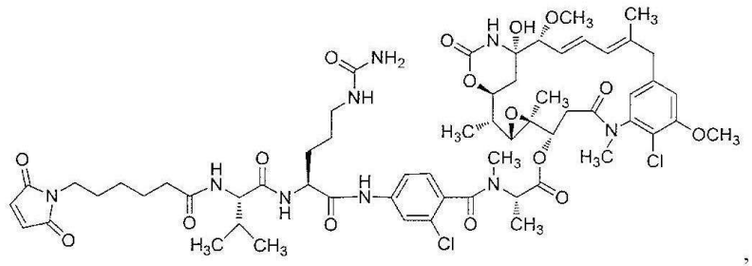
,



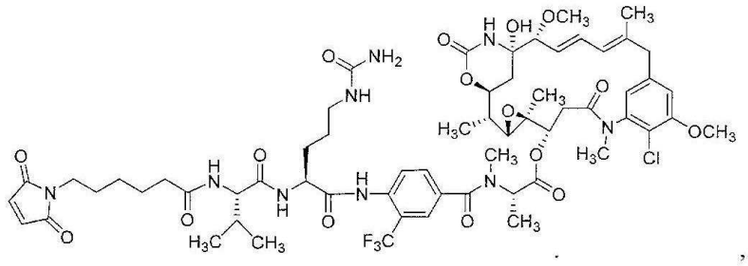
,



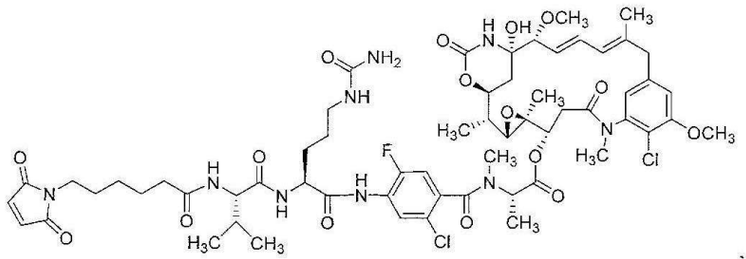
,



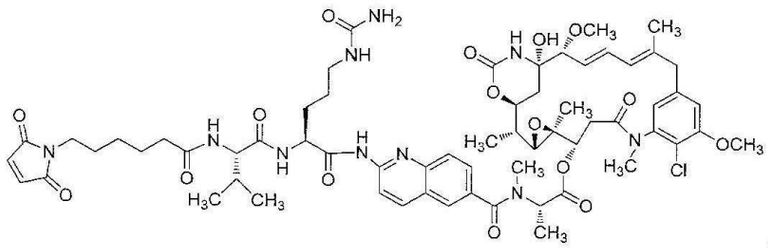
,



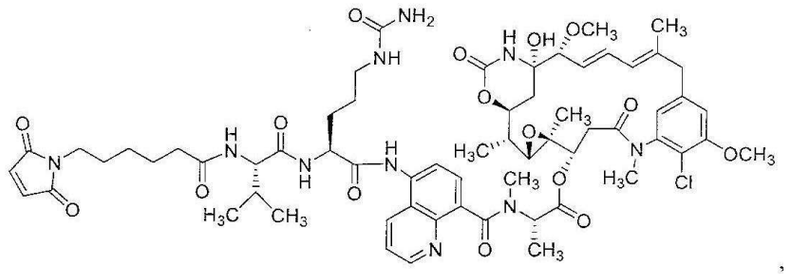
,



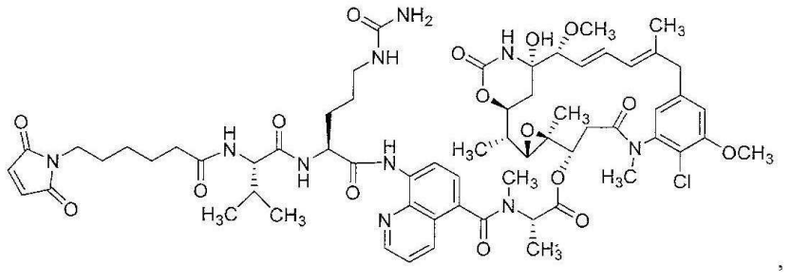
,



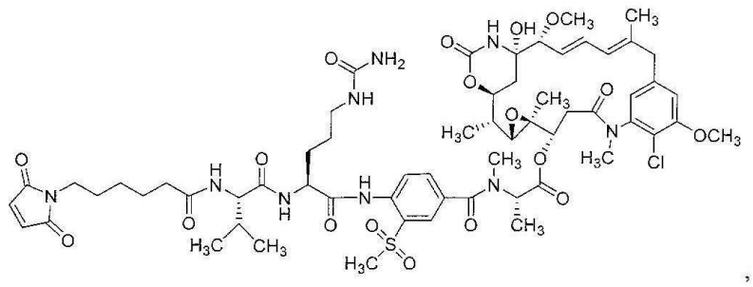
,



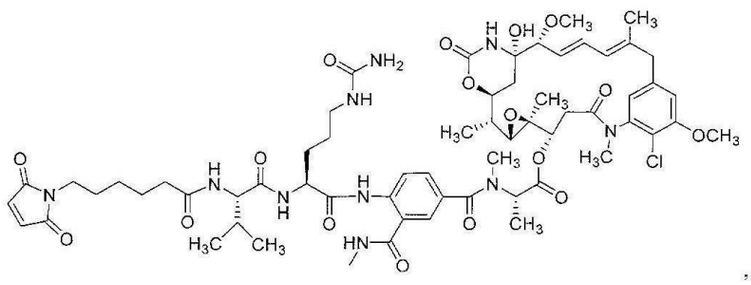
,



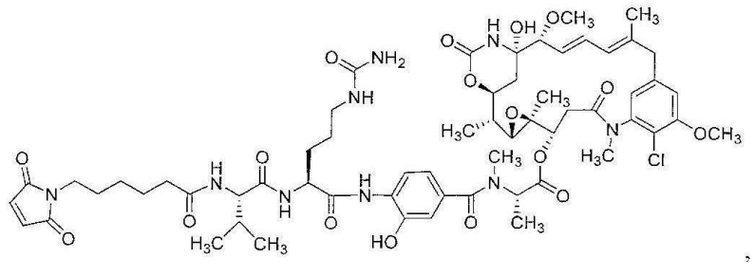
,



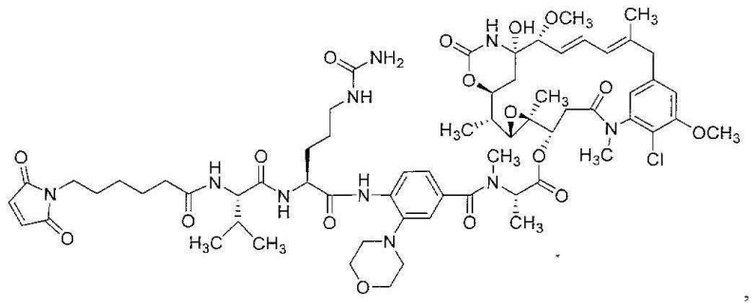
,



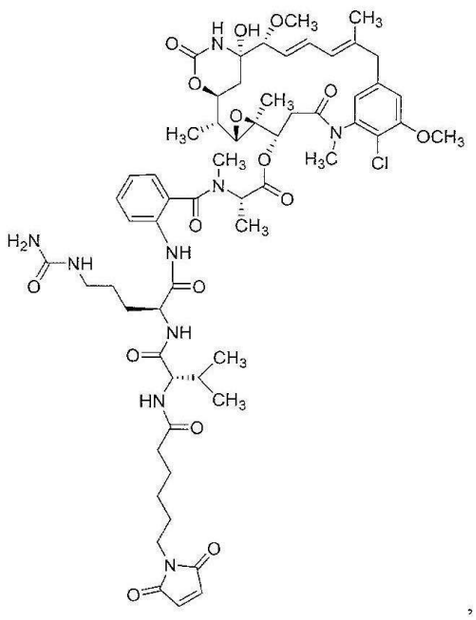
,



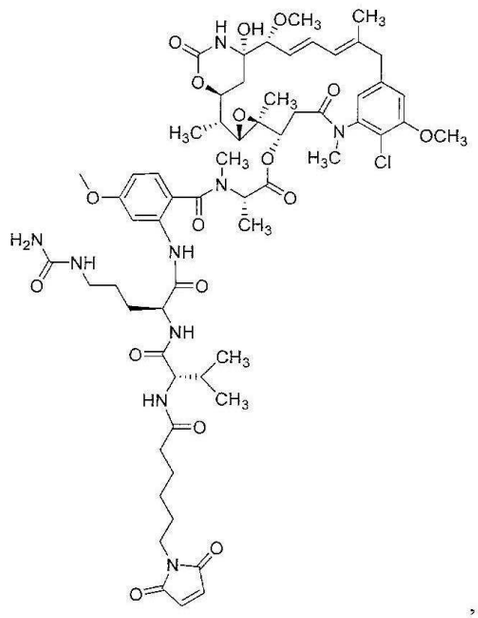
,



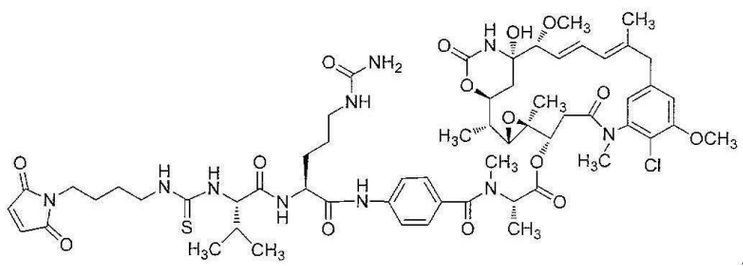
,



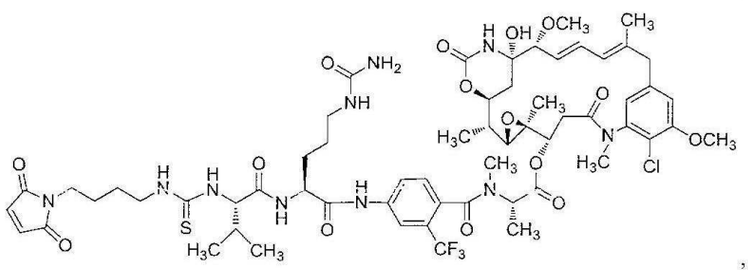
,



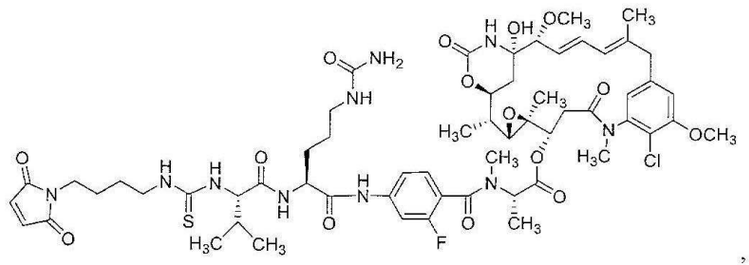
,



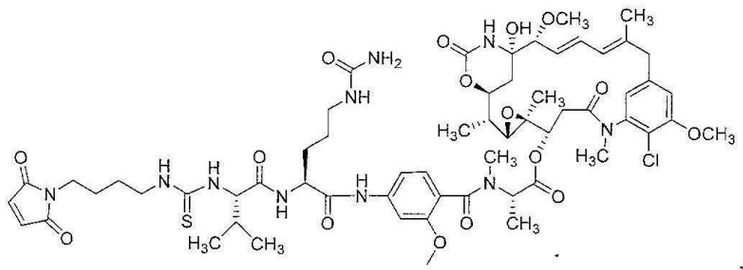
,



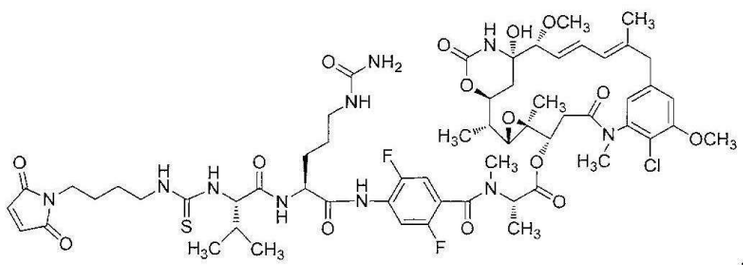
,



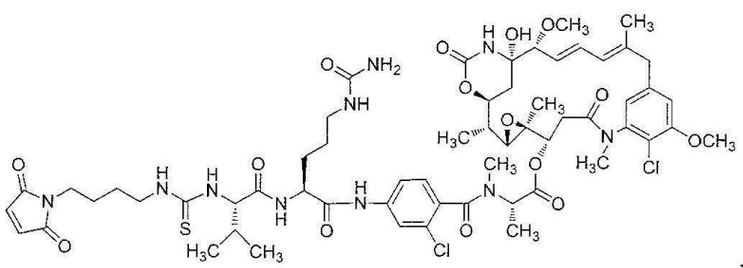
,



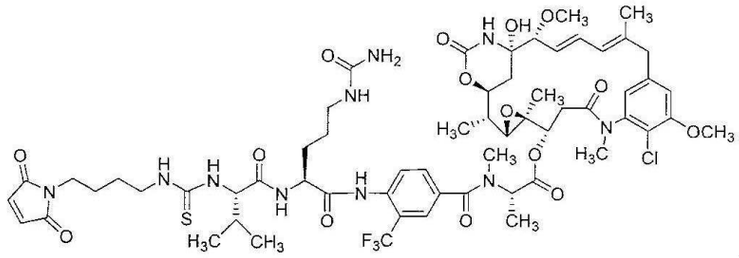
,



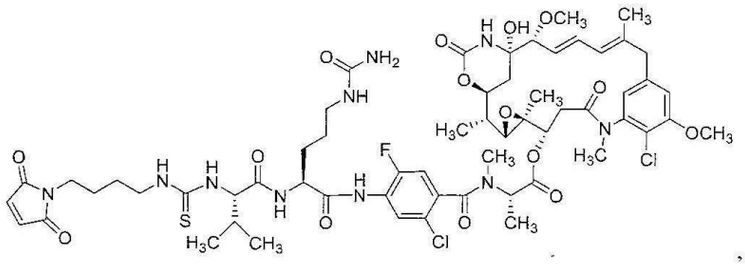
,



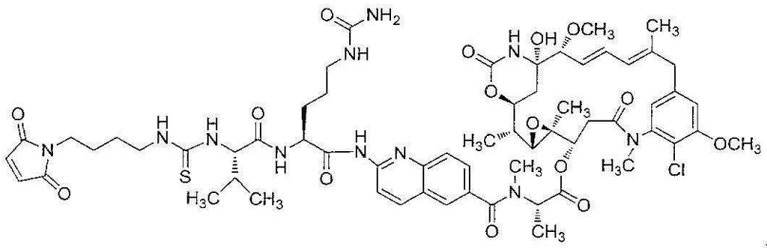
,



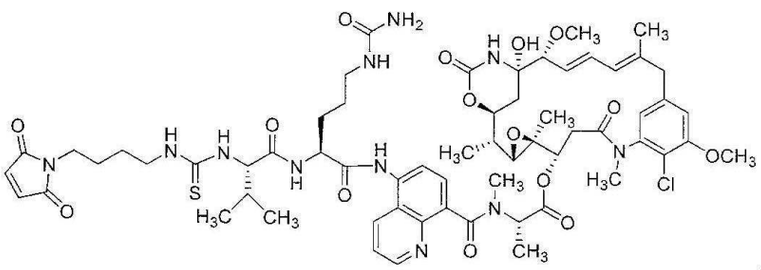
,



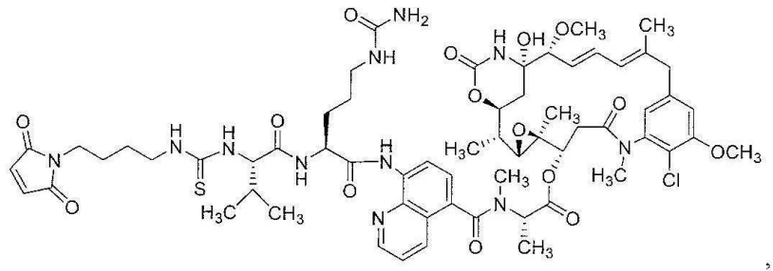
,



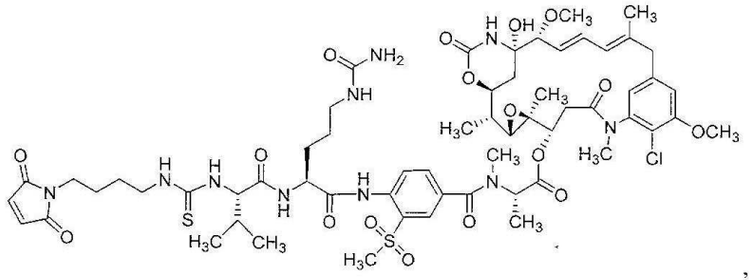
,



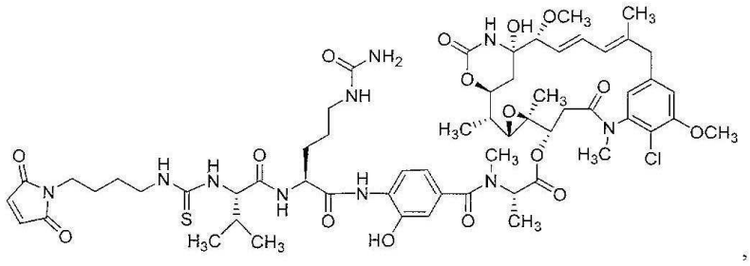
,



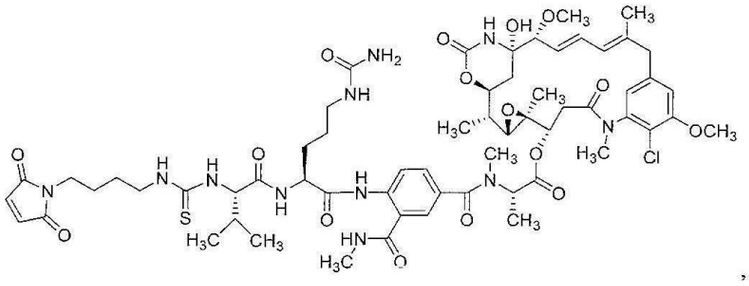
,



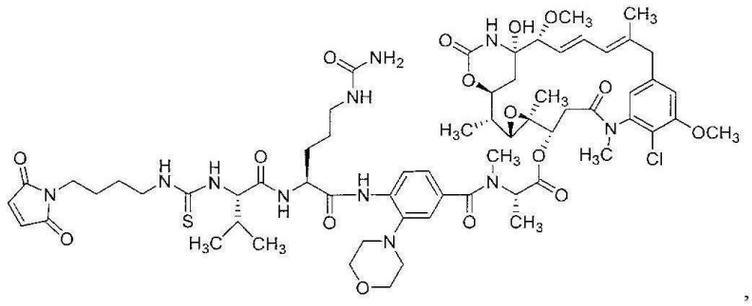
,



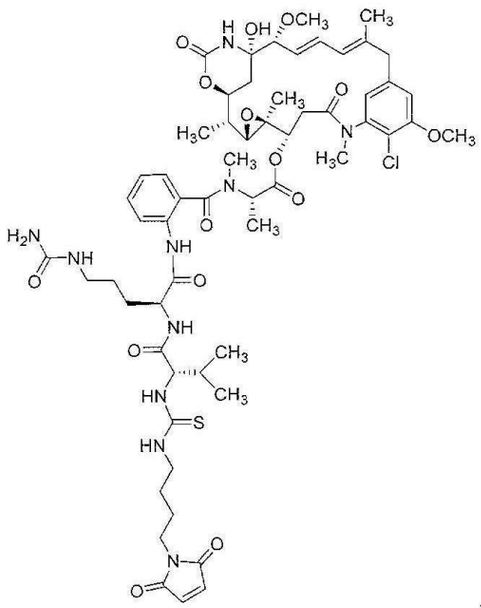
,



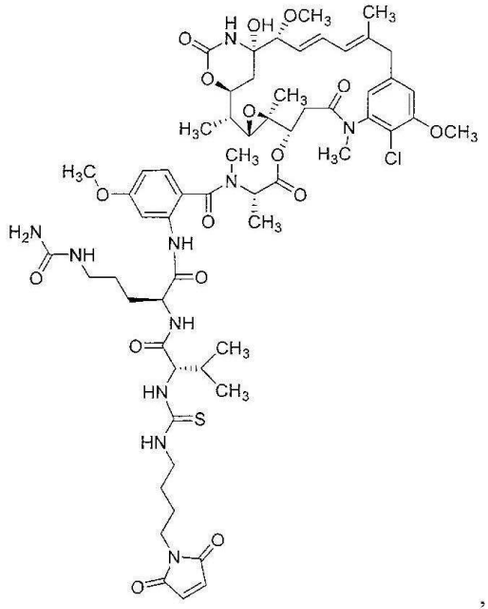
,

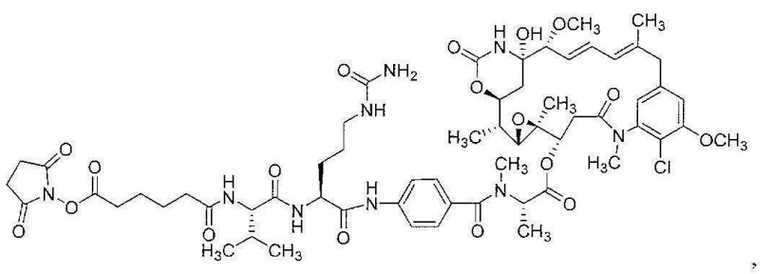


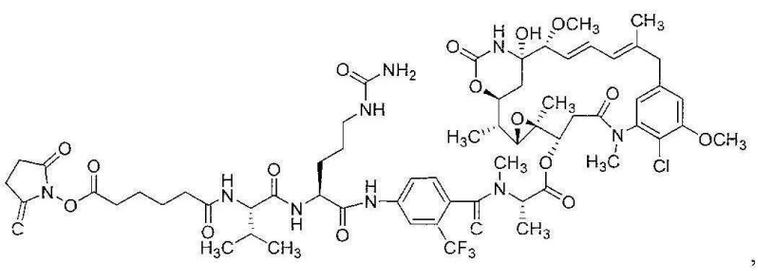
,

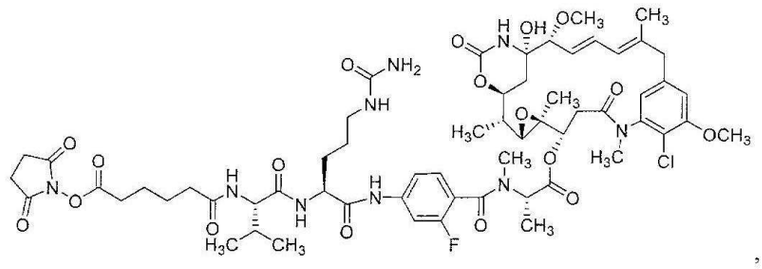


,

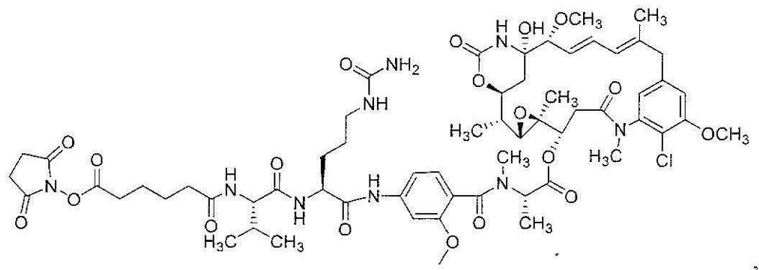




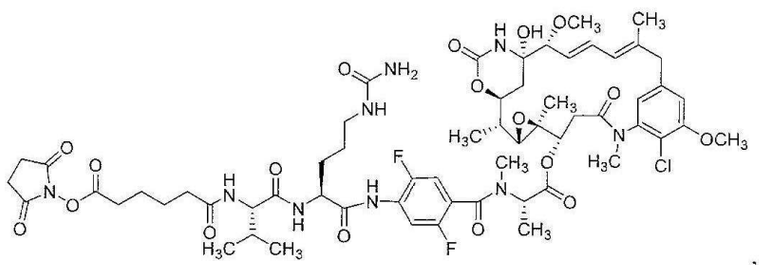




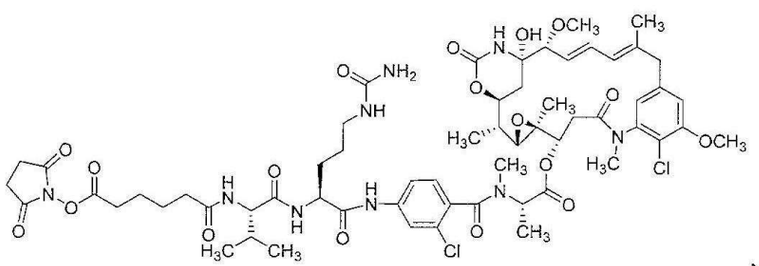
,



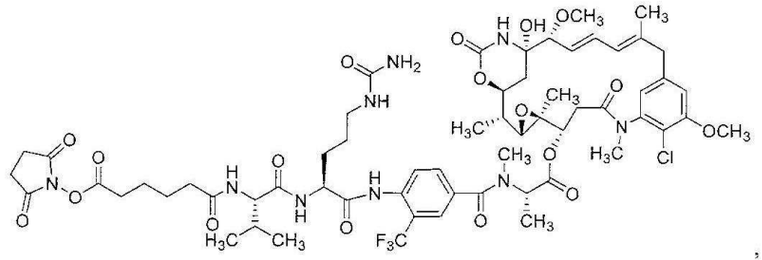
,



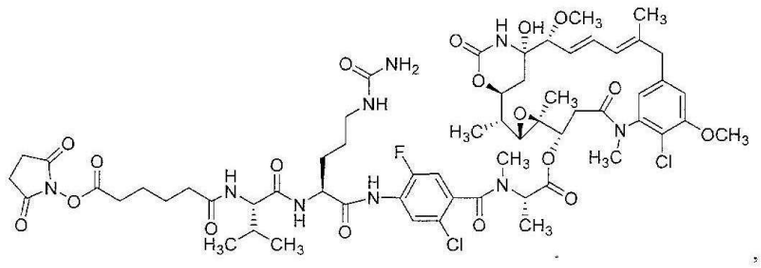
,



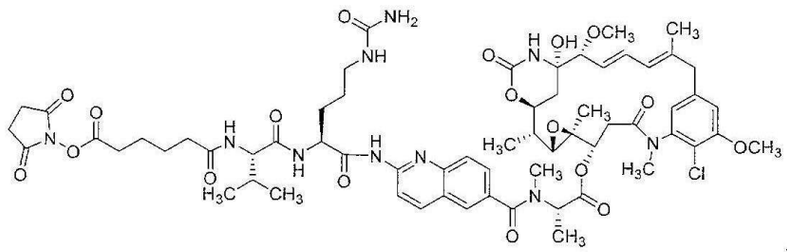
,



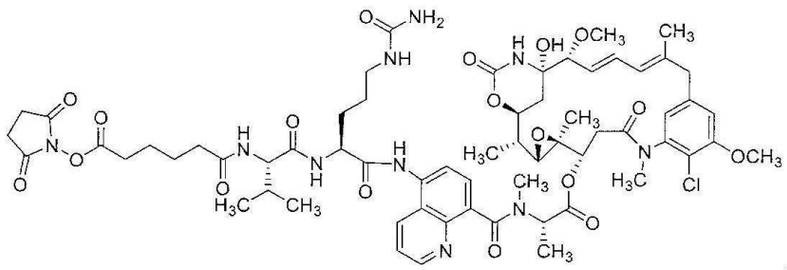
,



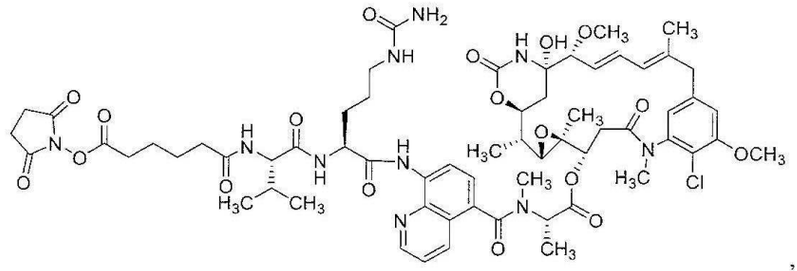
,



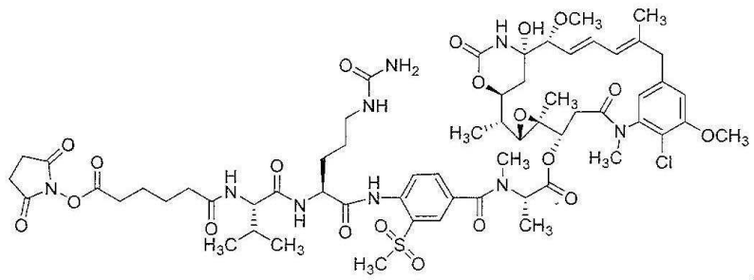
,



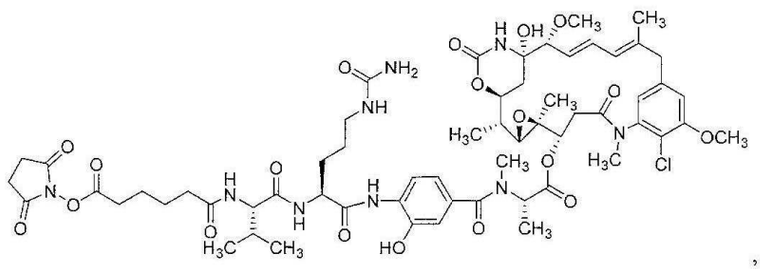
,



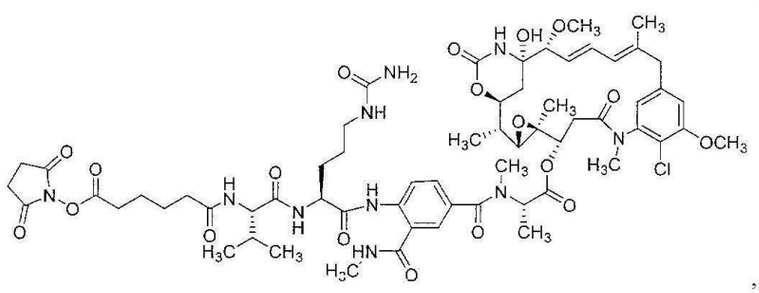
,



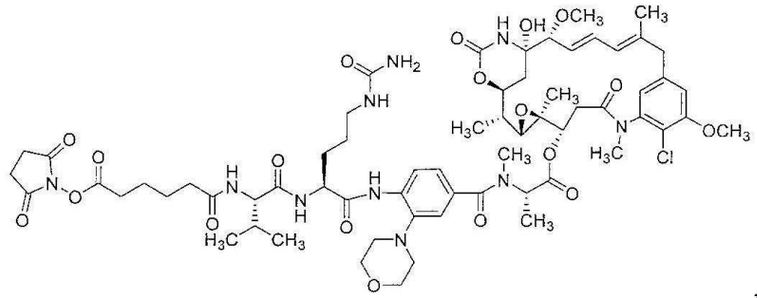
,

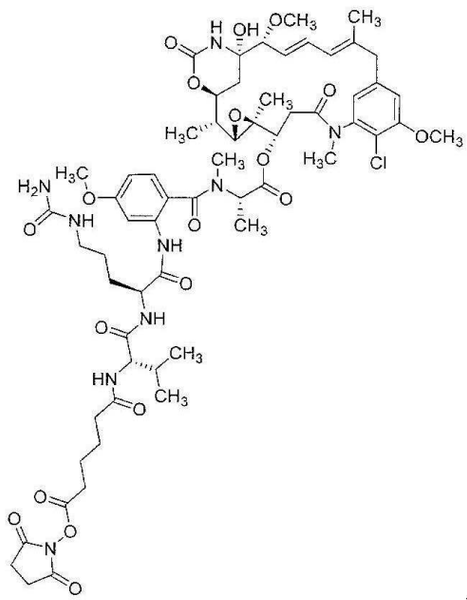


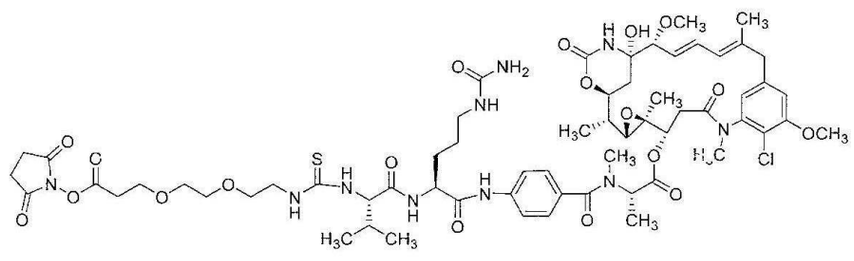
,

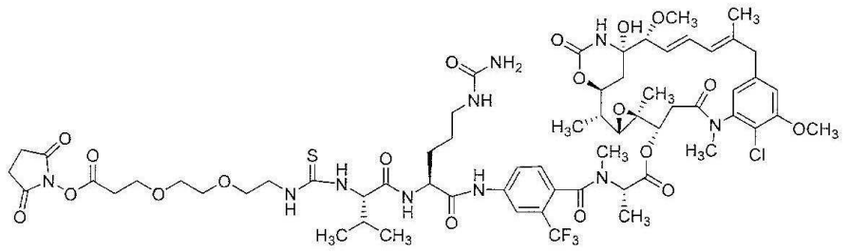


,

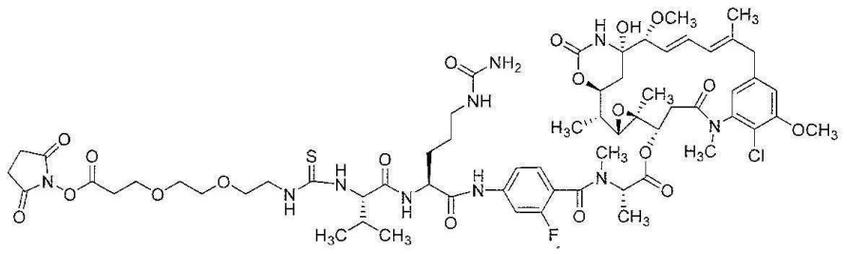




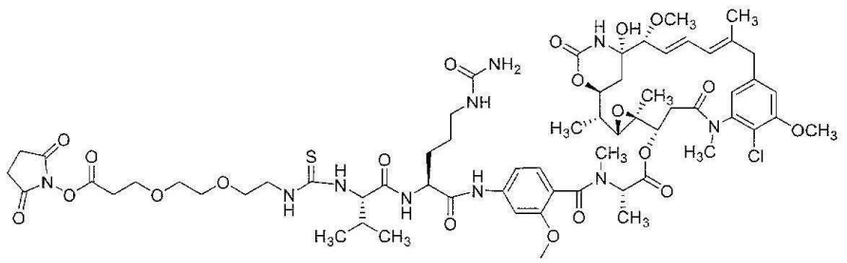




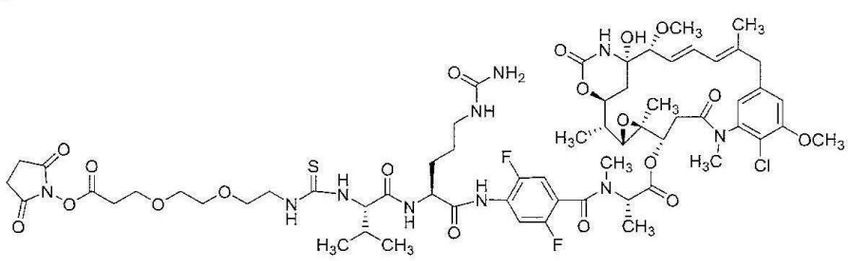
,



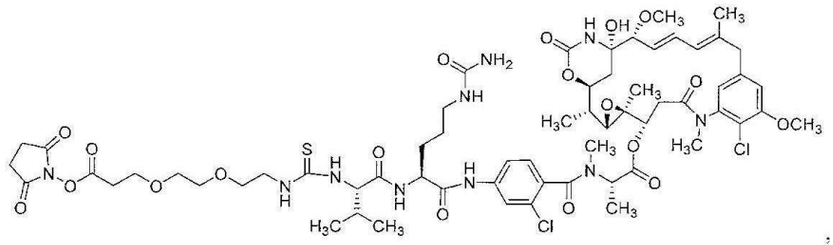
,



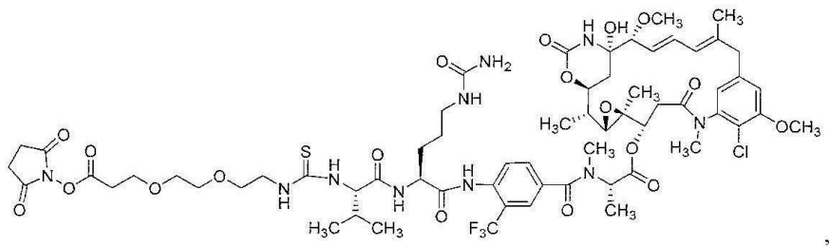
,



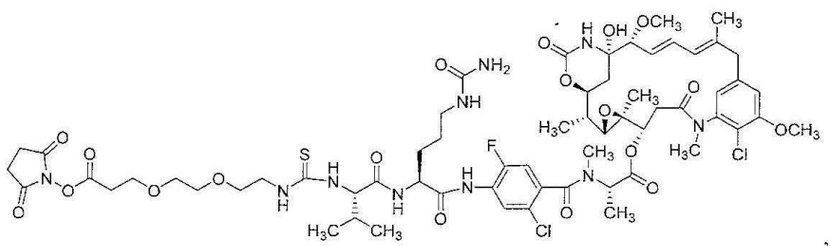
,



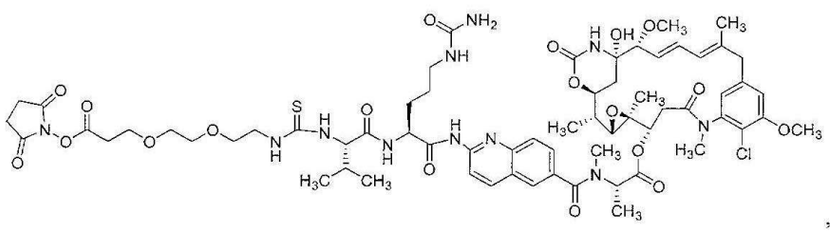
,



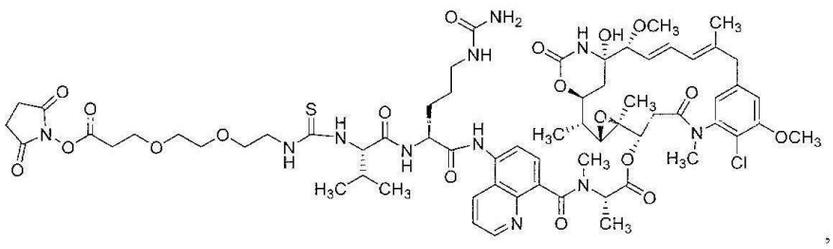
,



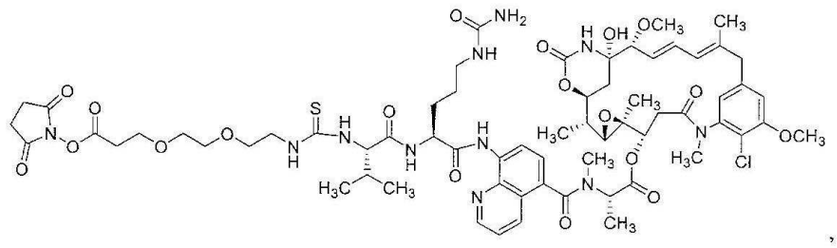
,



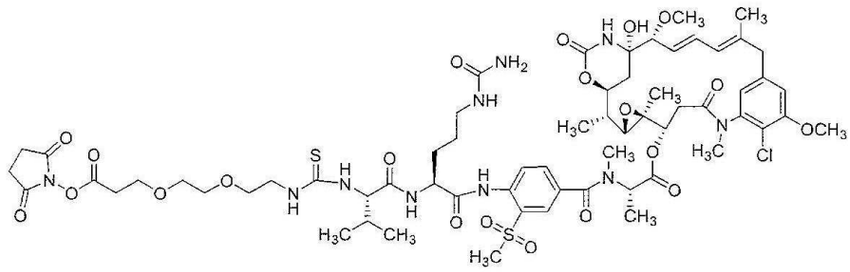
,



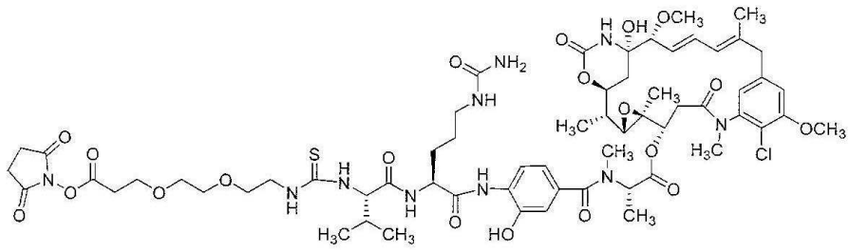
,



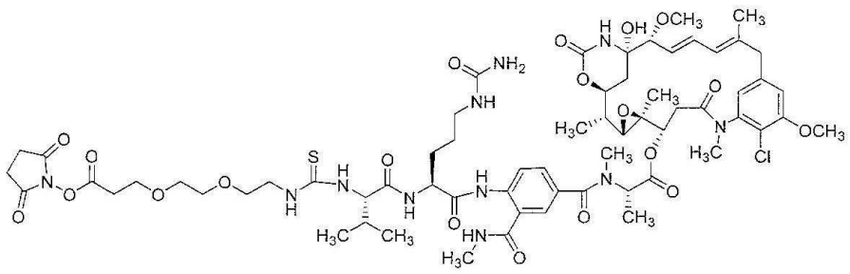
,



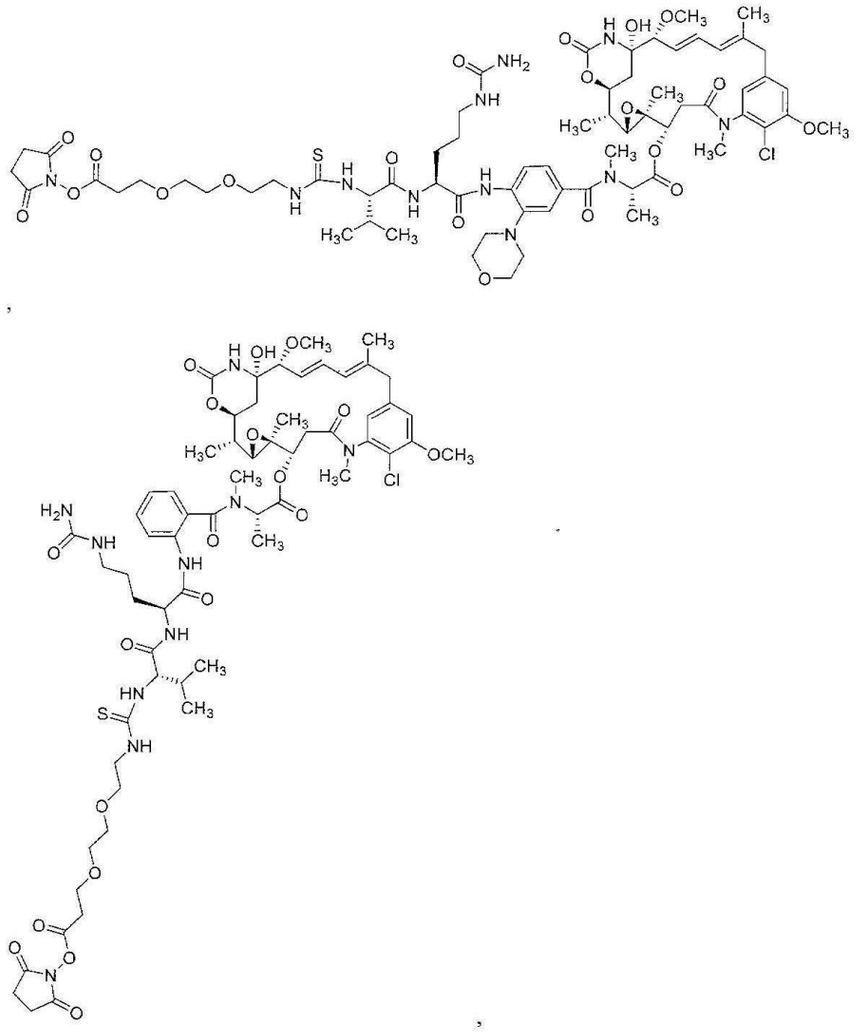
,

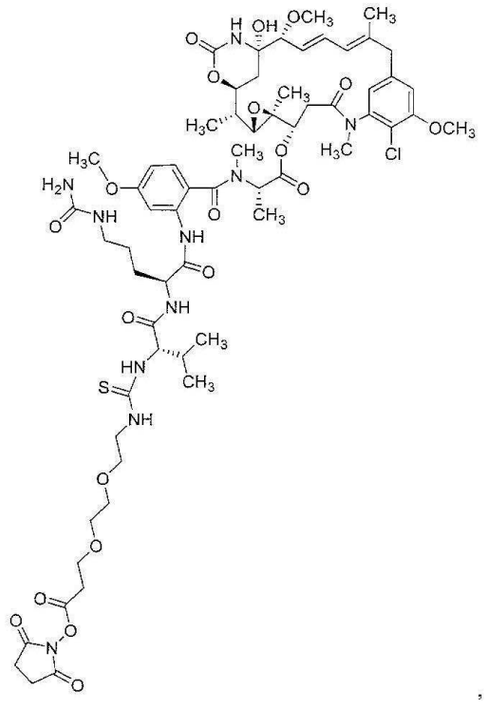


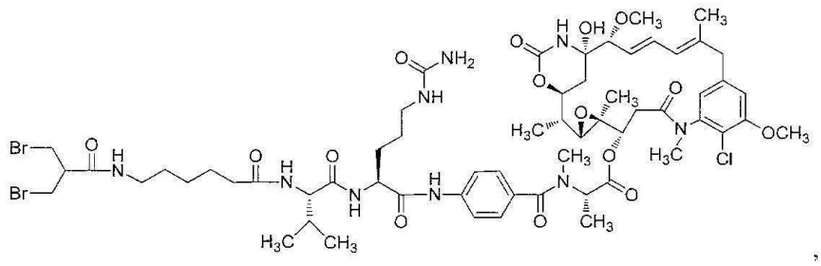
,

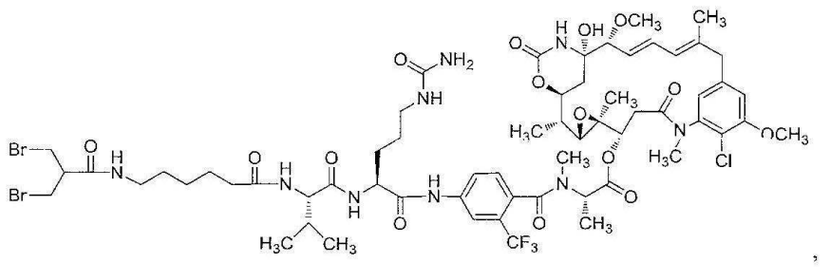


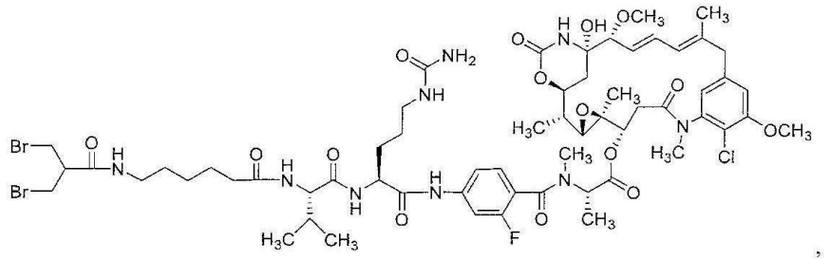
,



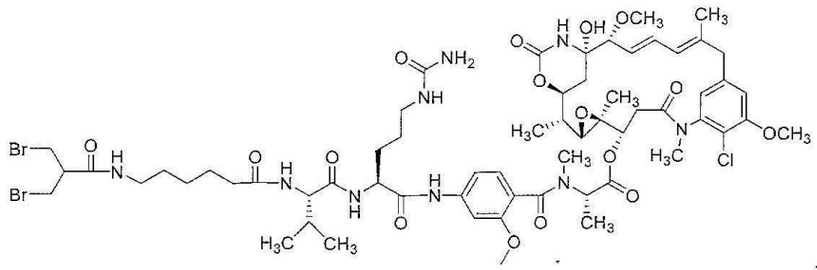




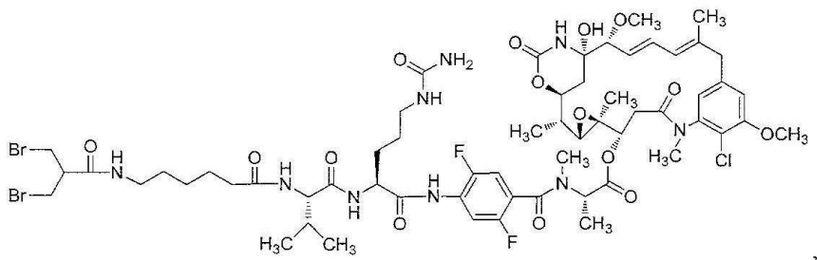




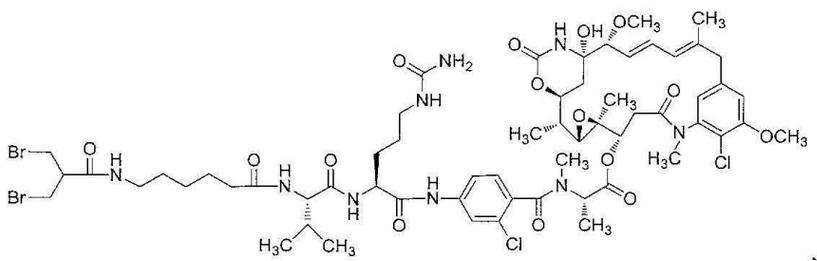
,



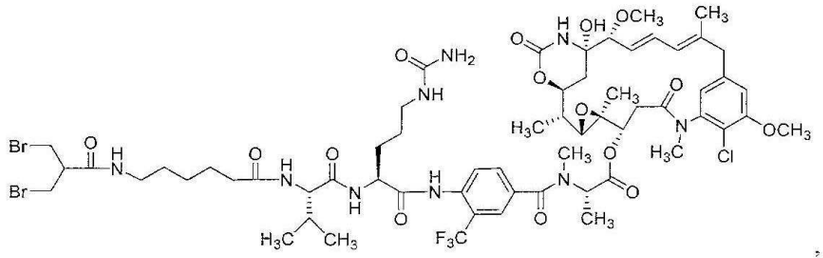
,

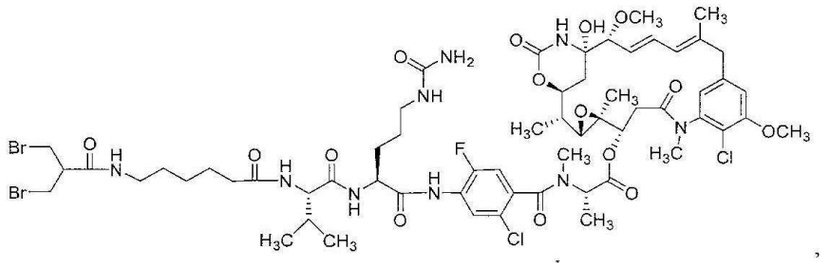


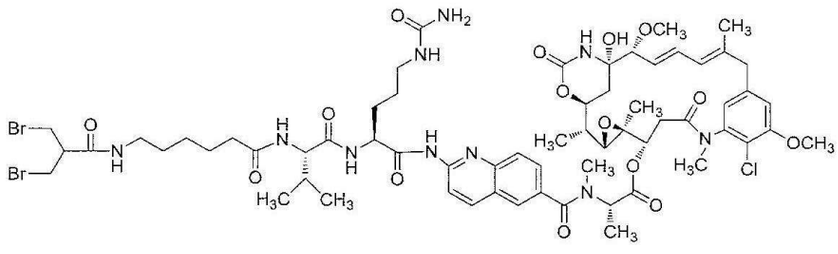
,

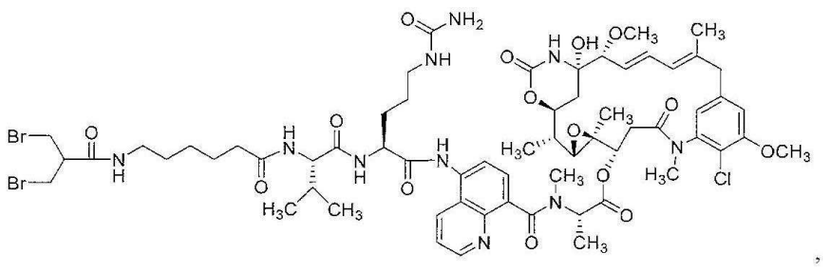


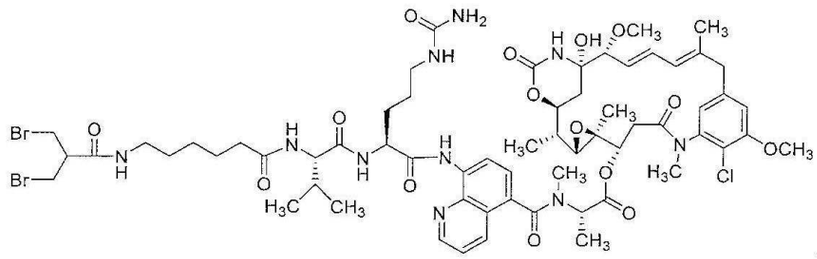
,



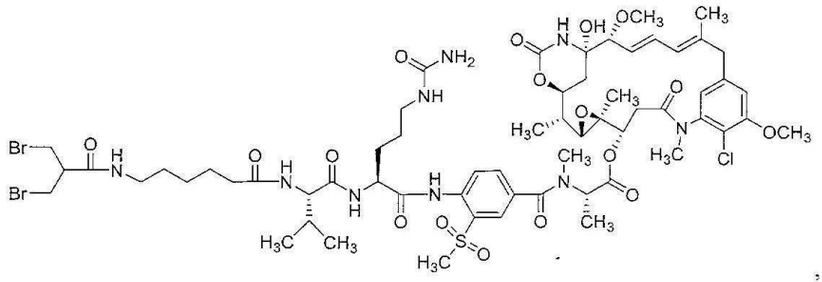




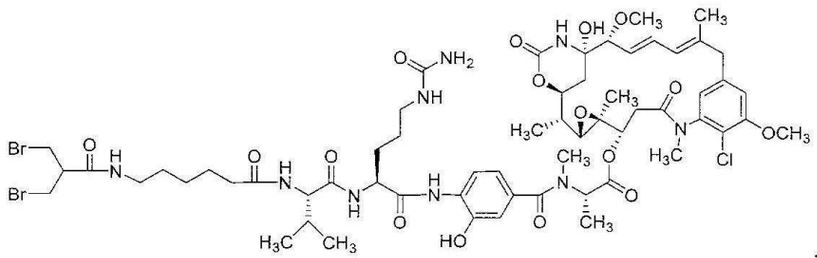




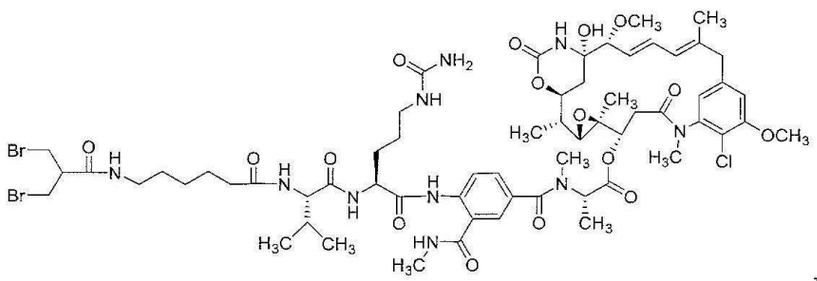
,



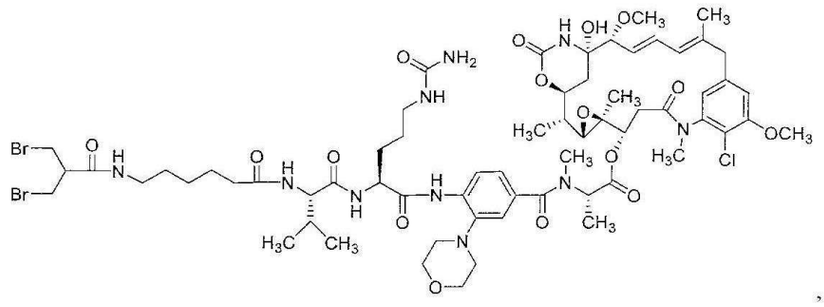
,

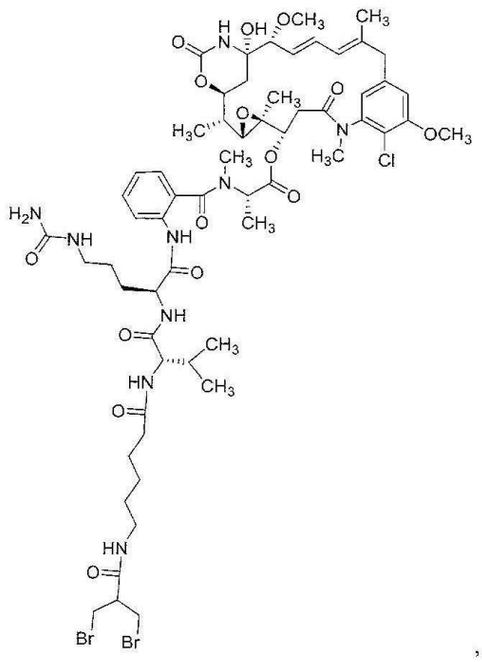


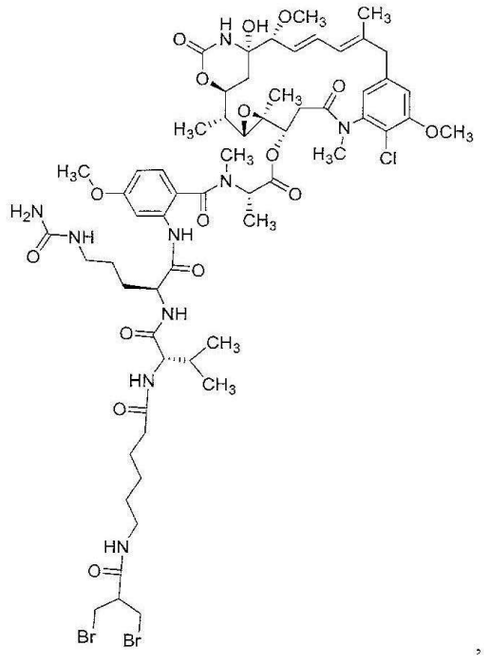
,

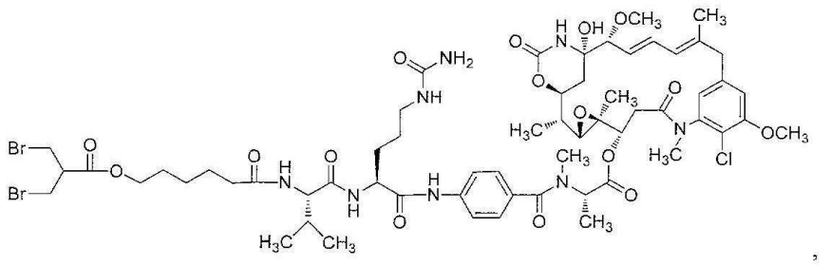


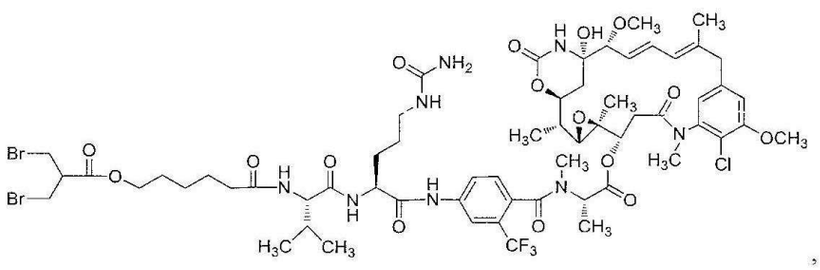
,

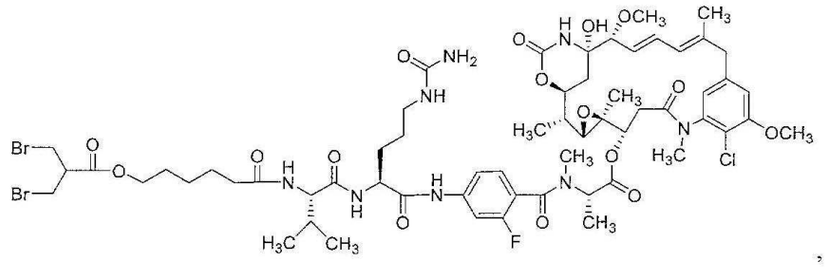


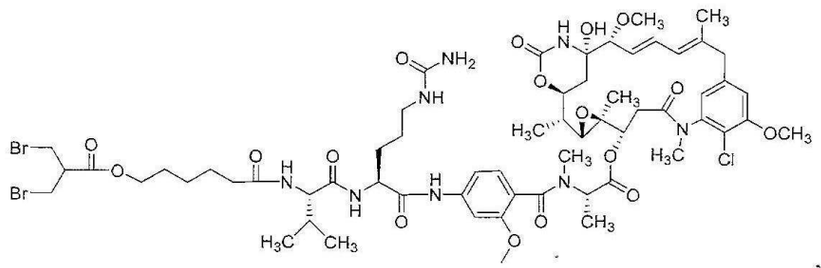


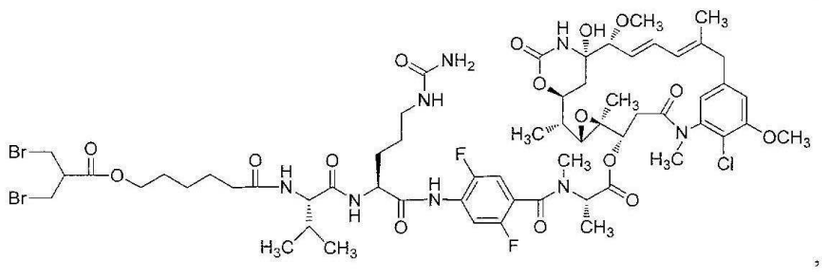


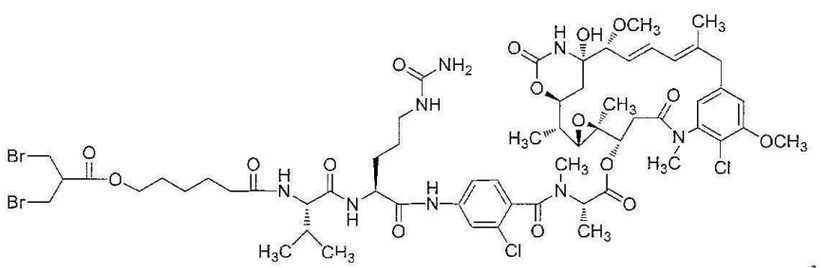


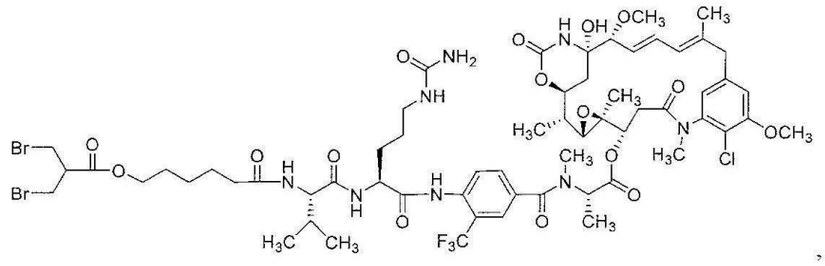


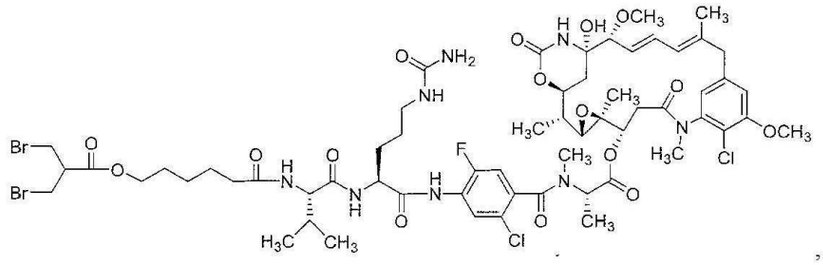


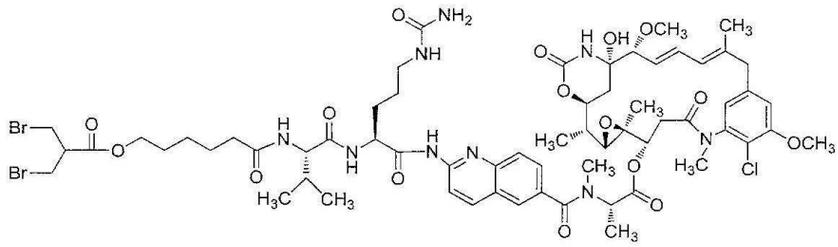


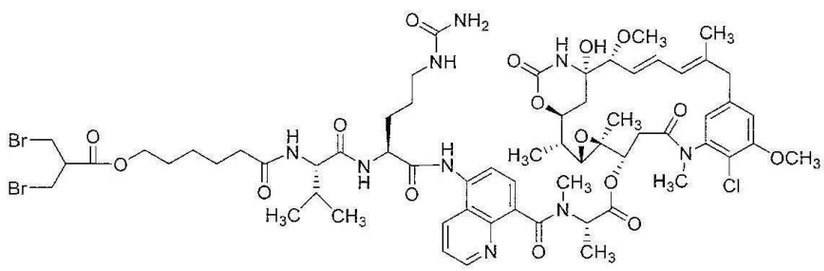


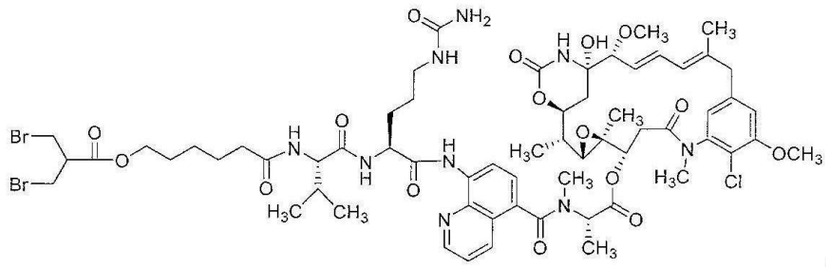


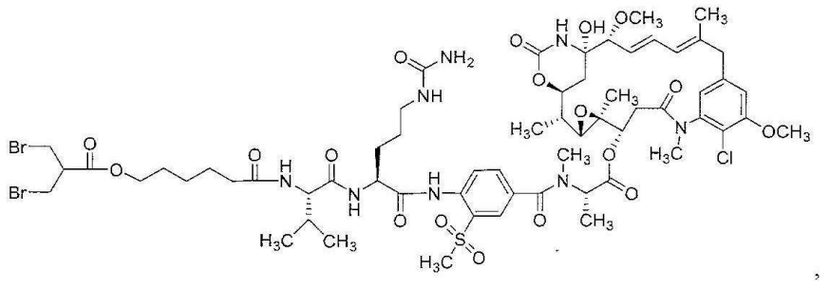


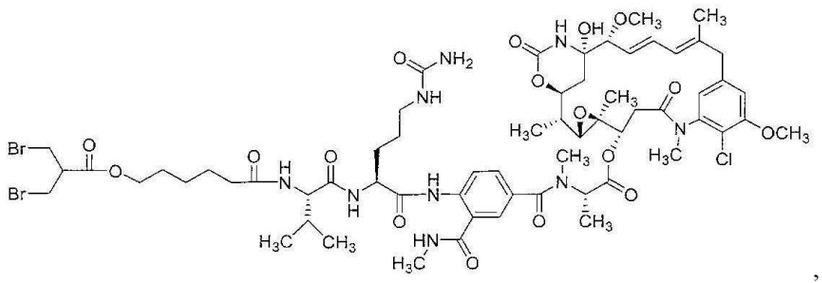


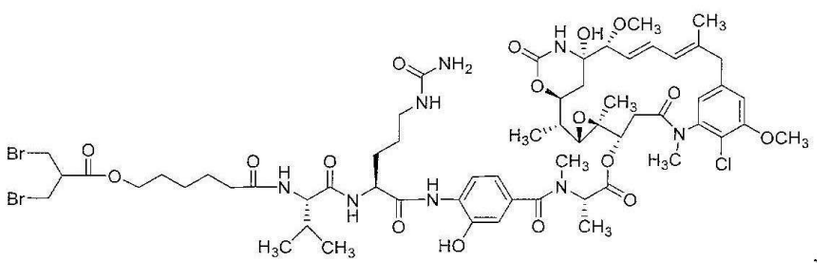


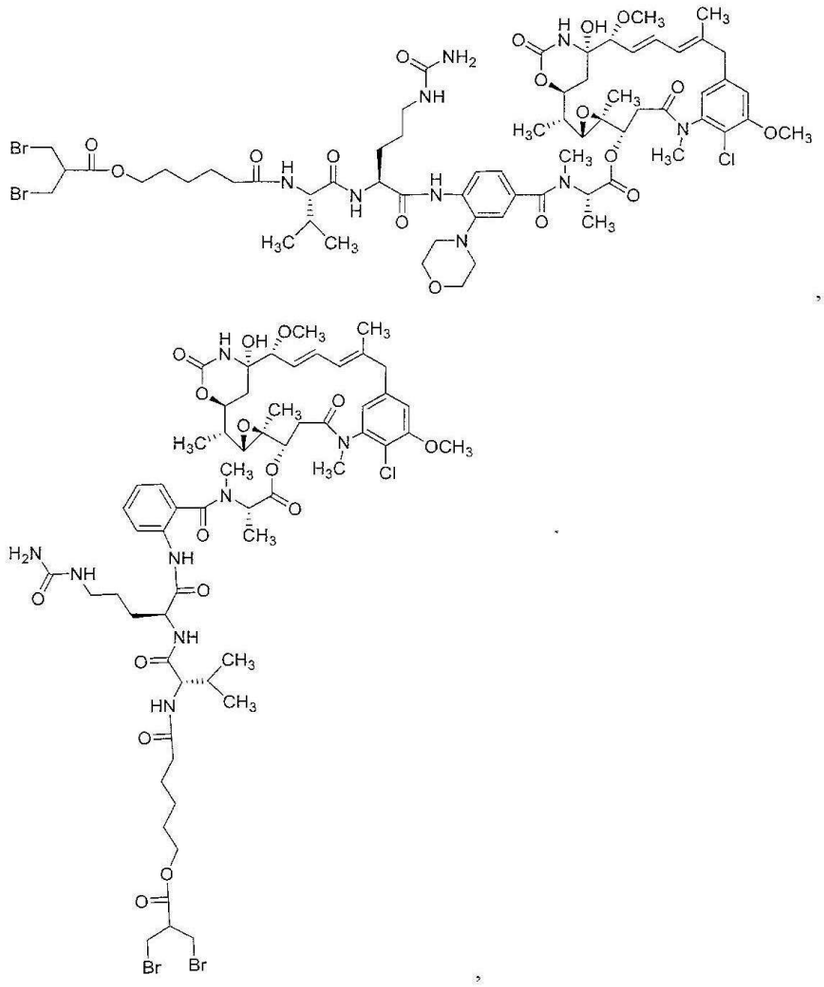


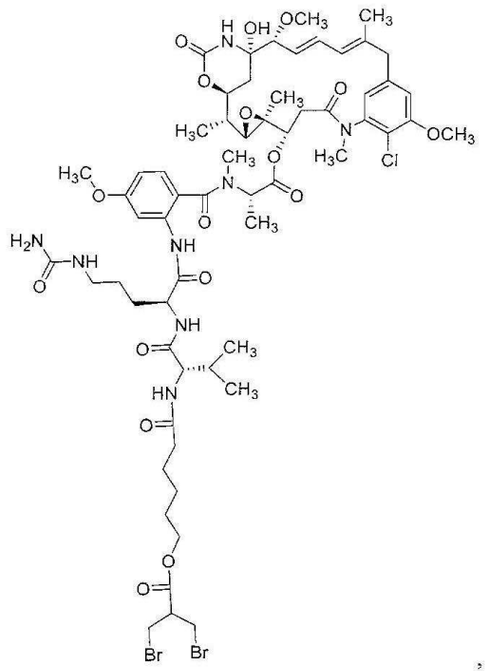


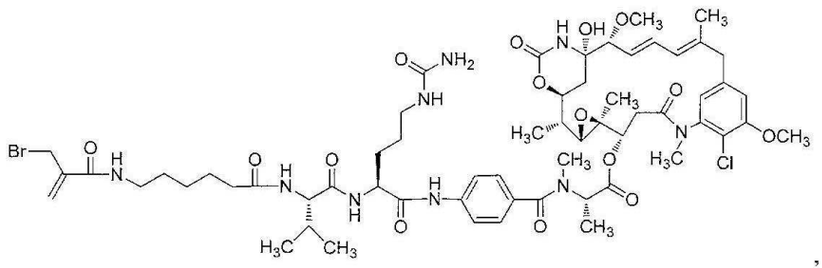


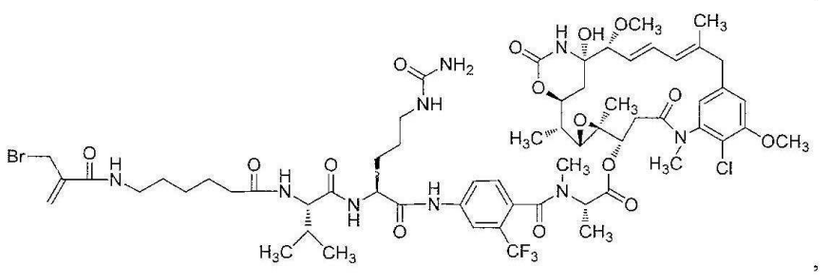


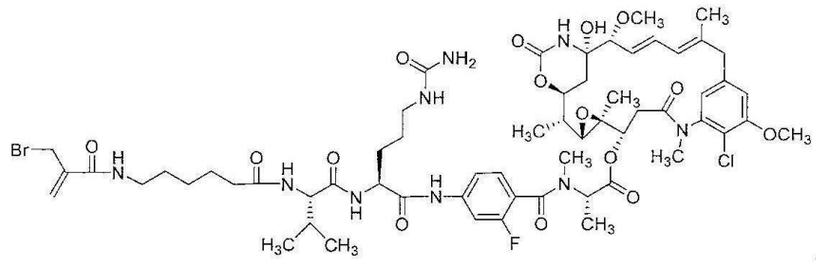




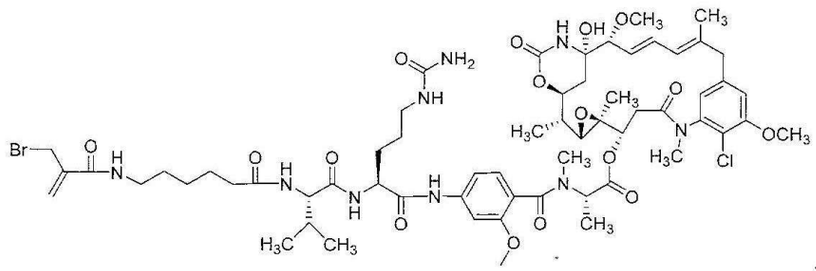




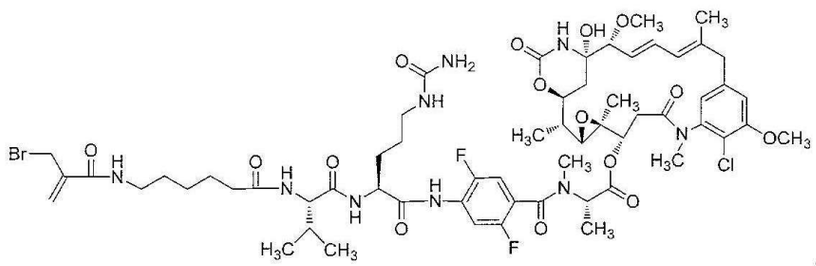




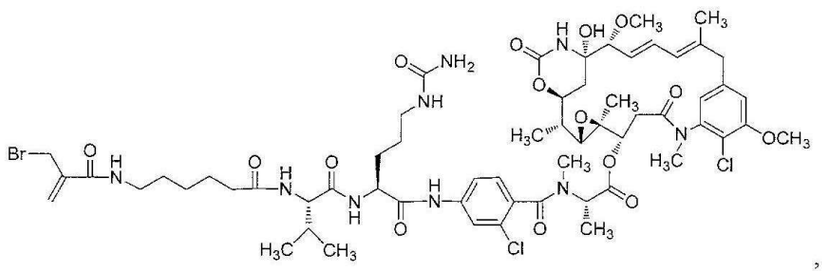
,



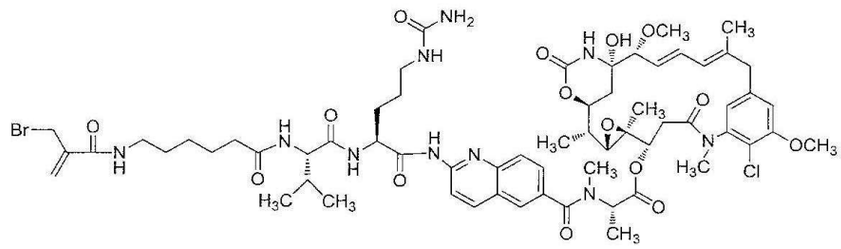
,



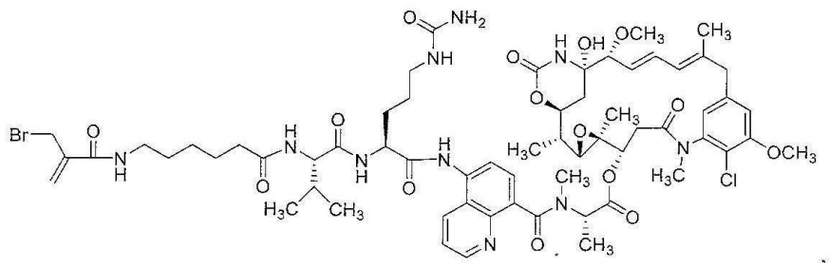
,



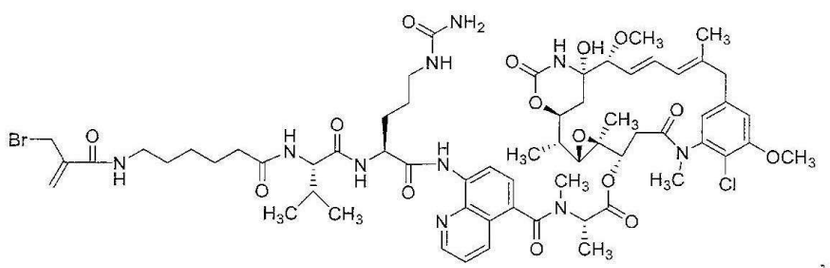
,



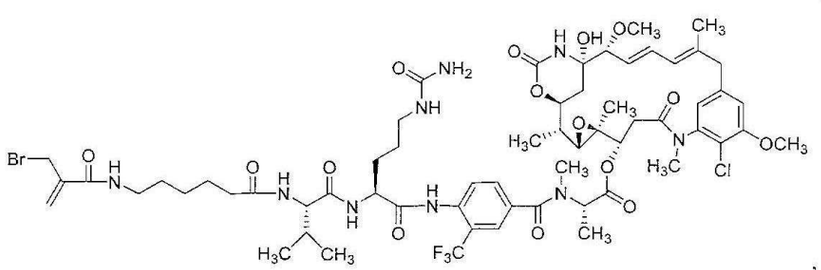
,



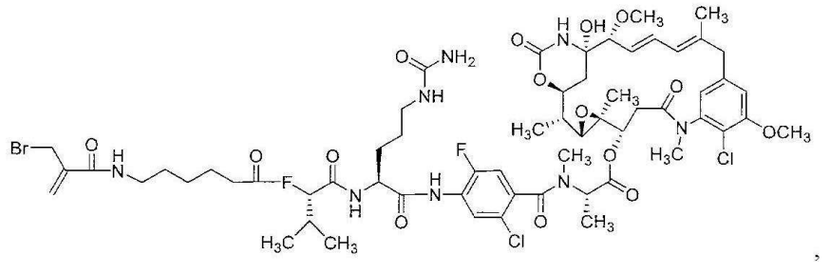
,



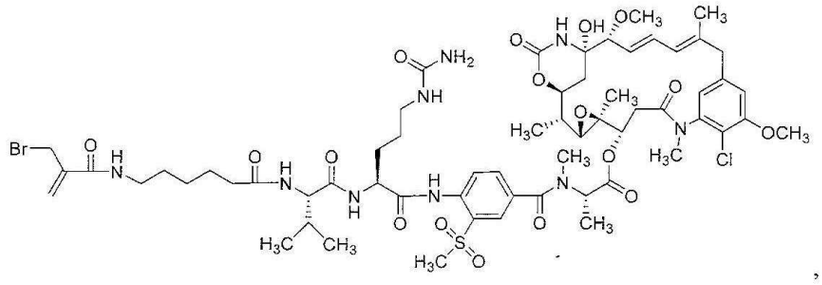
,



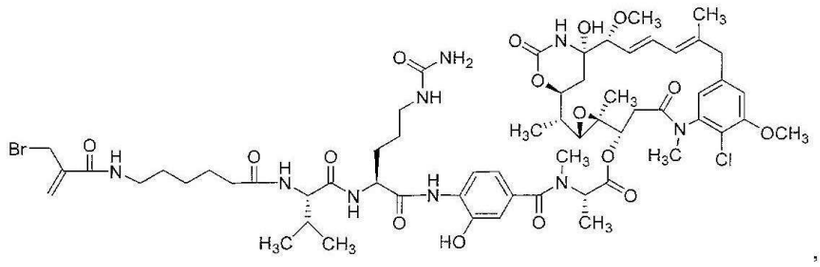
,



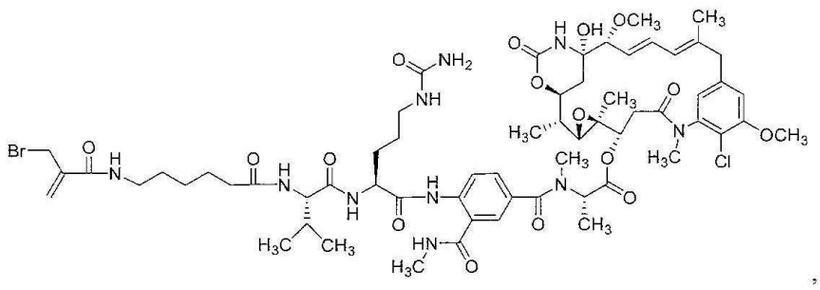
,



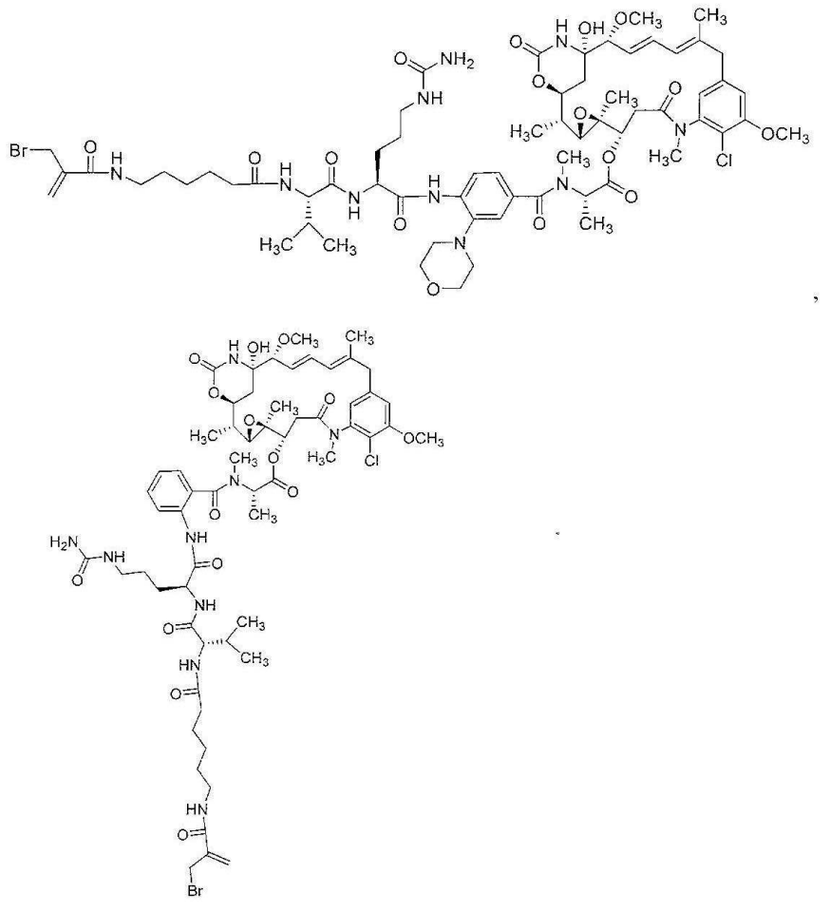
,

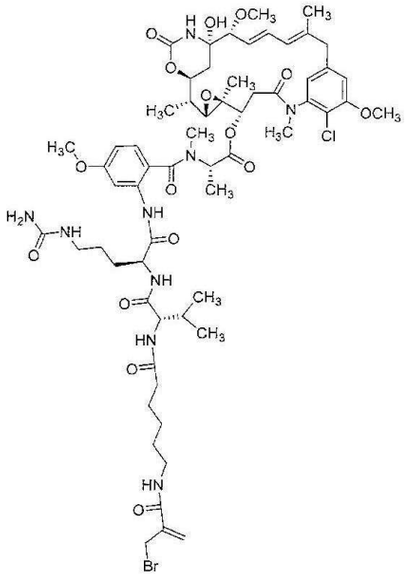


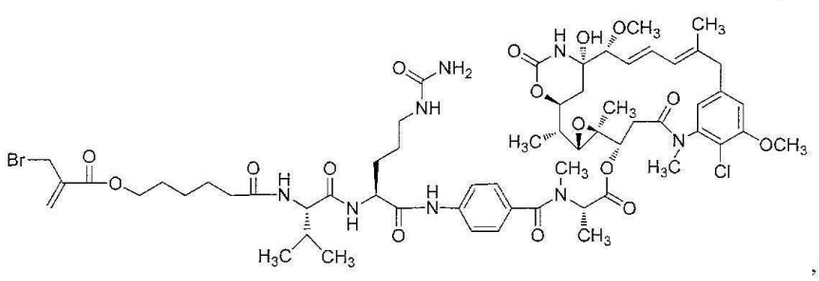
,

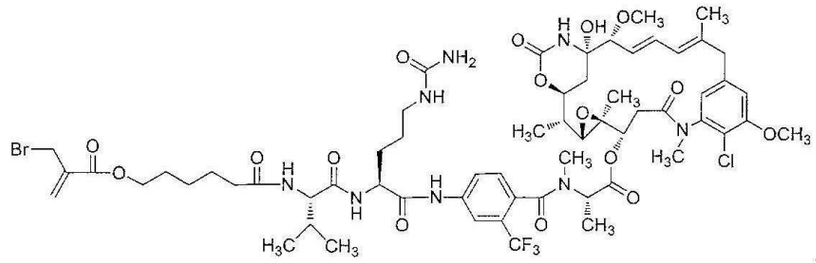


,

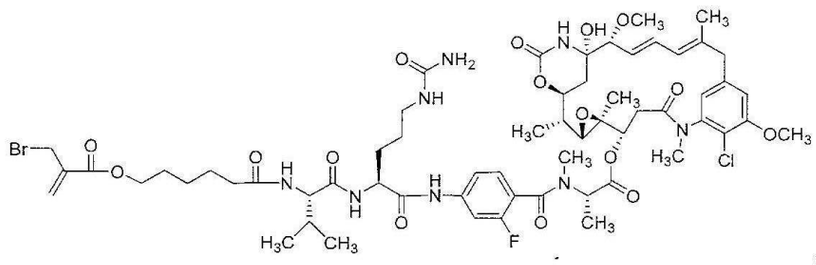




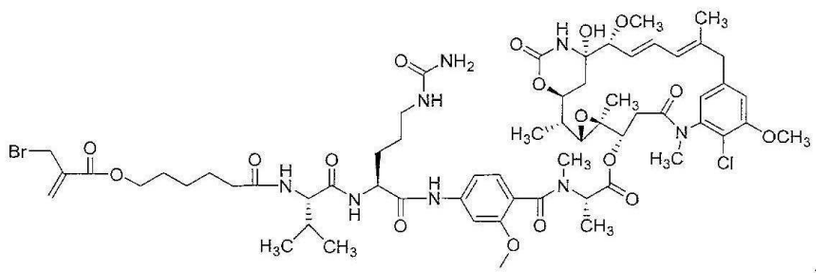




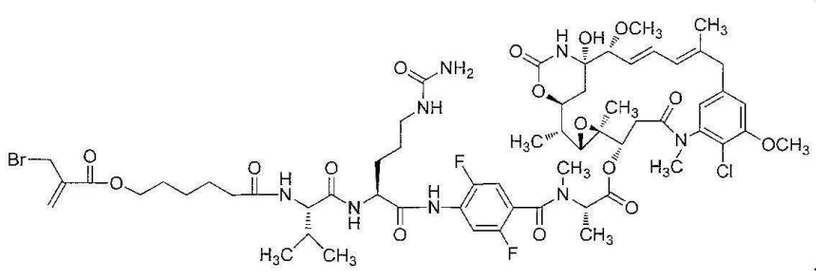
,



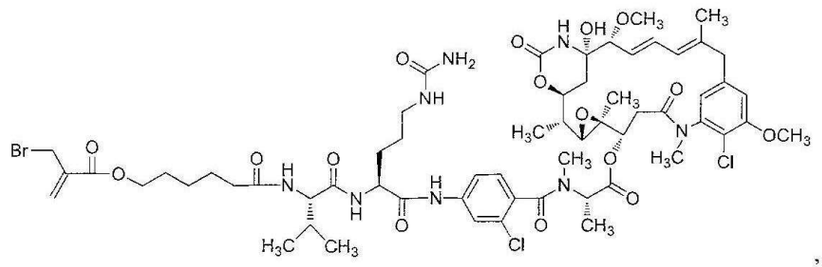
,



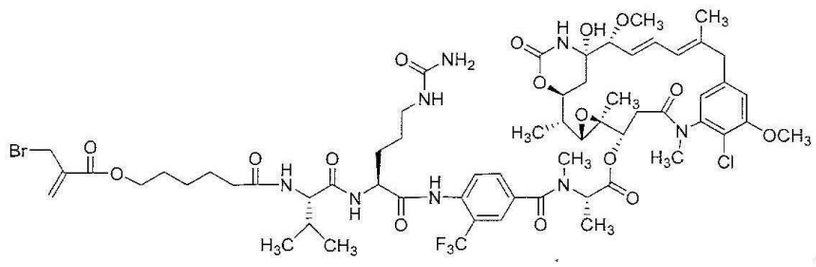
,



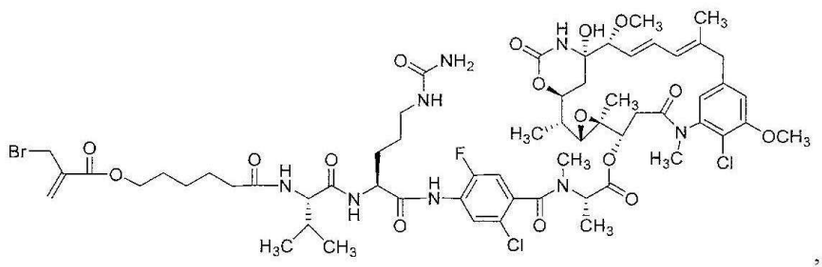
,



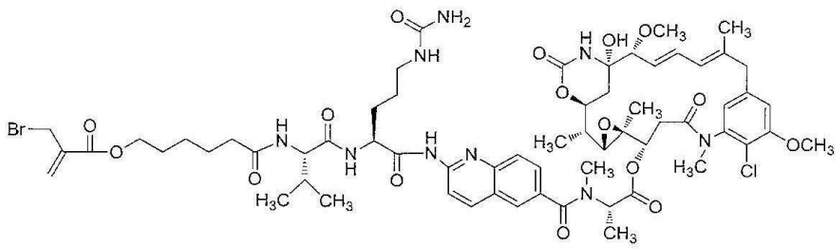
,



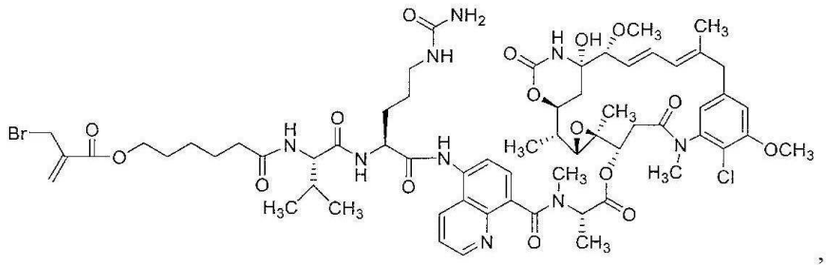
,



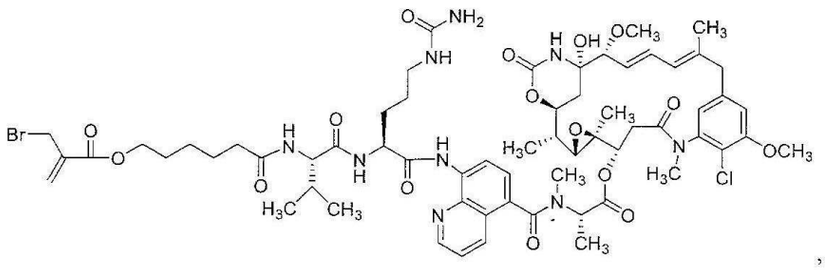
,



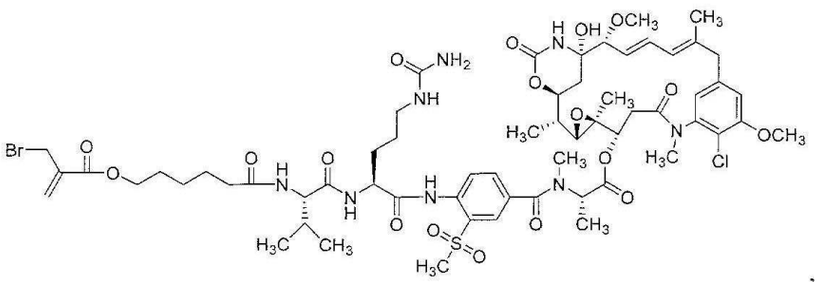
,



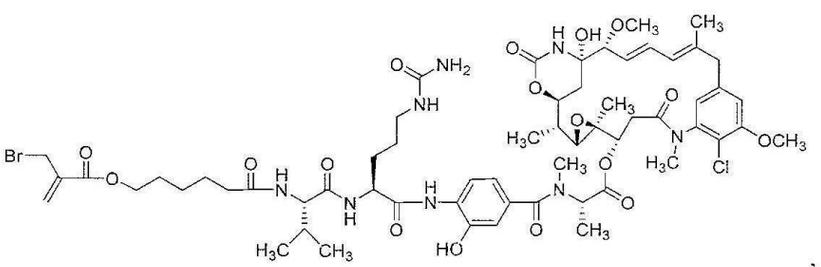
,



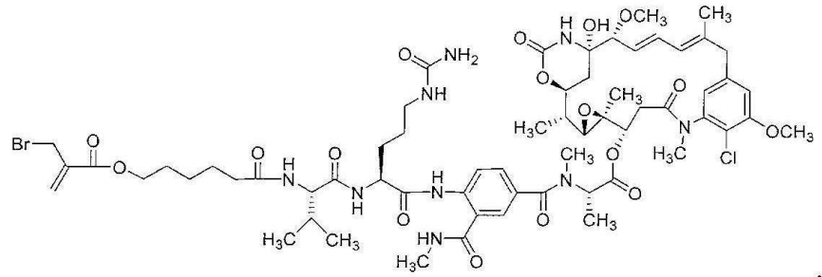
,



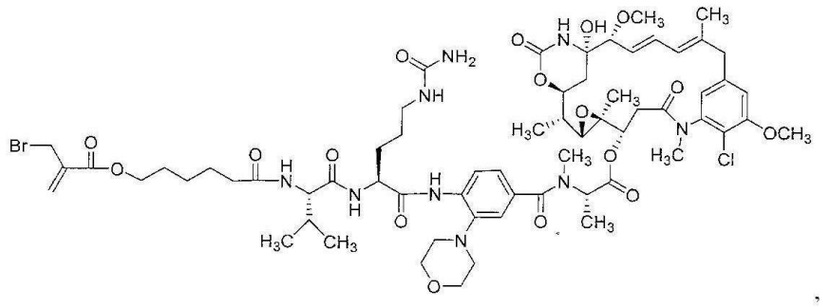
,



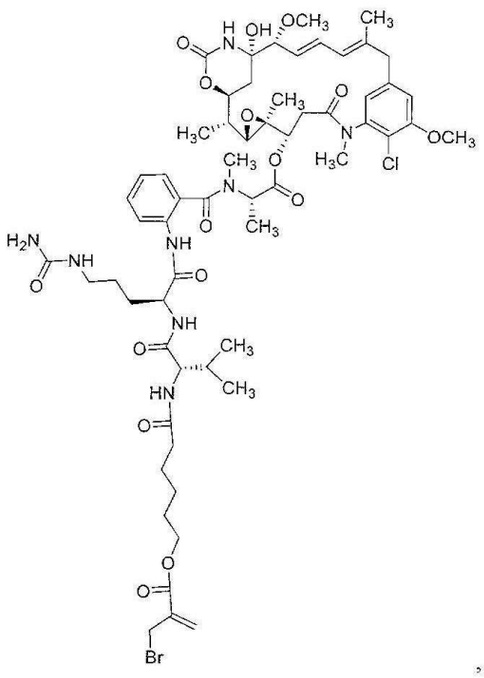
,



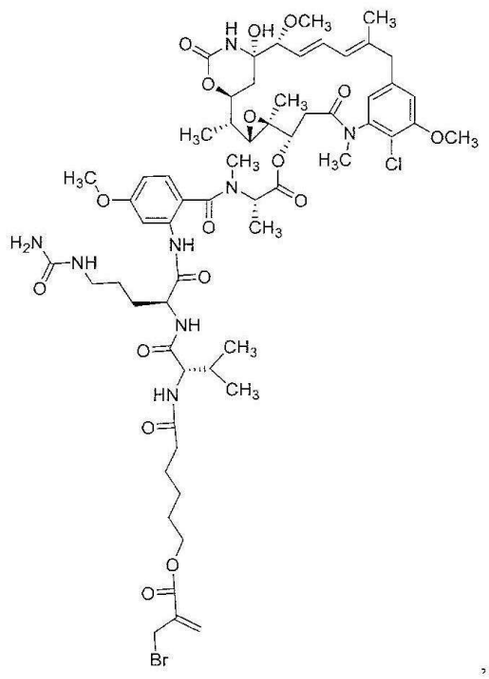
,



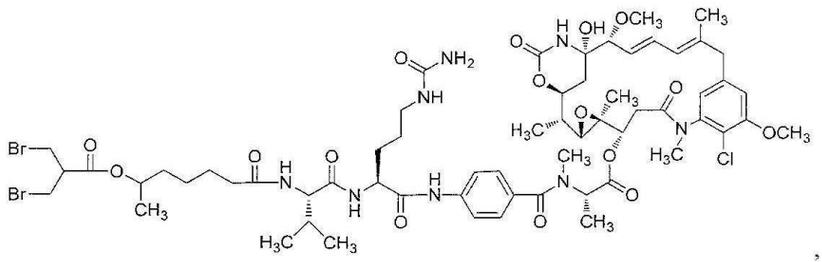
,



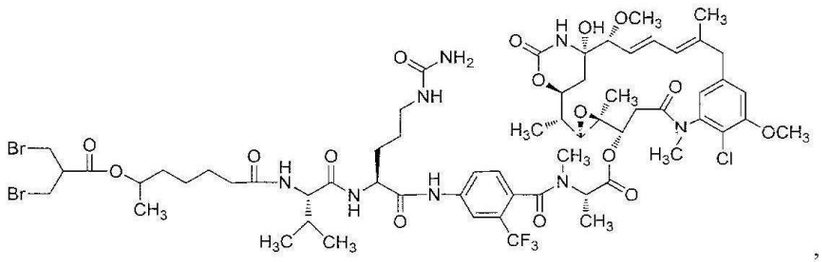
,



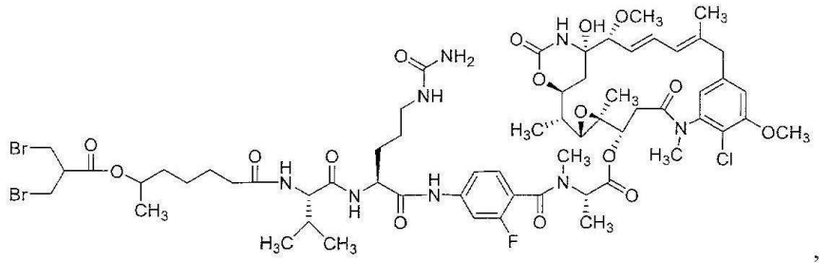
,



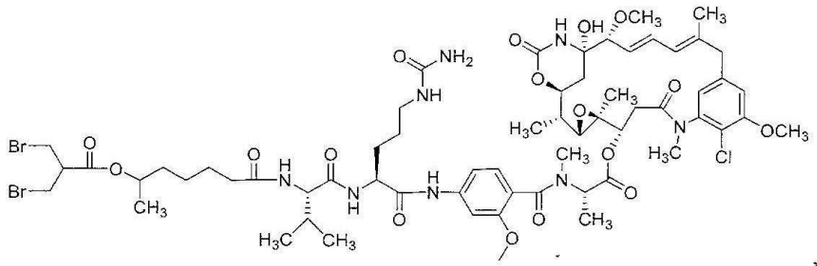
,



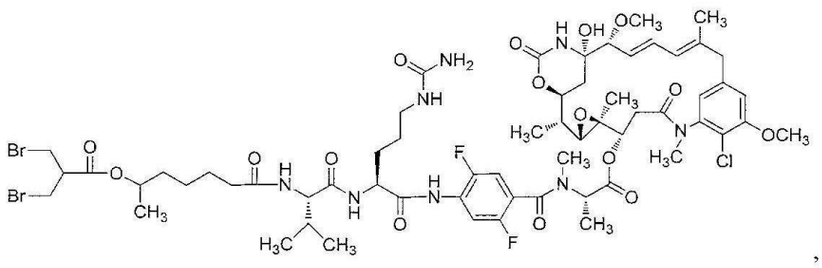
,



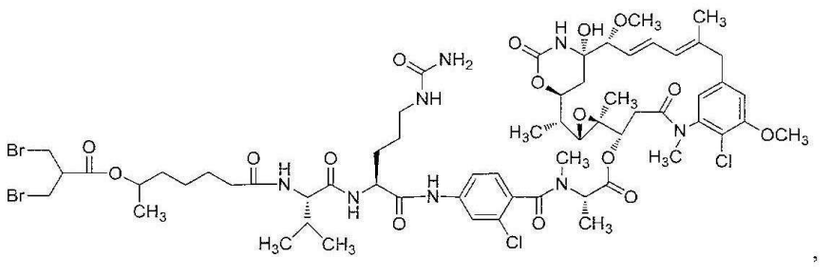
,



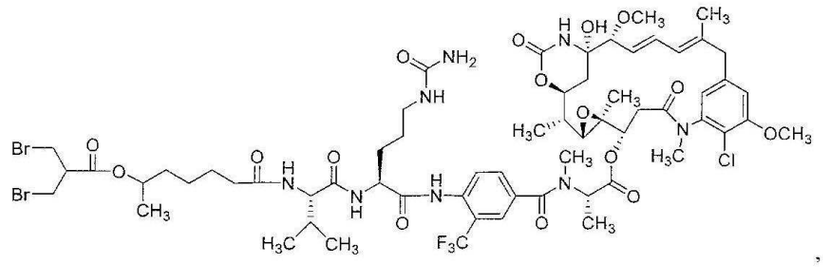
,



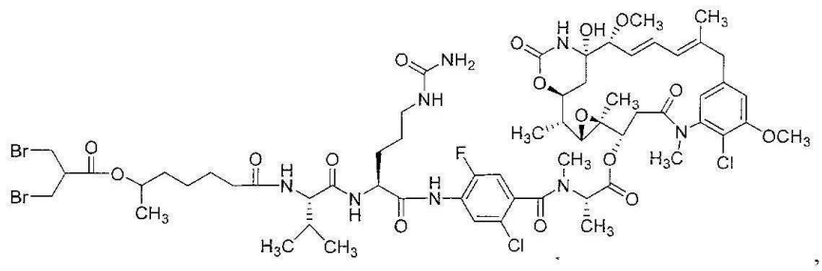
,



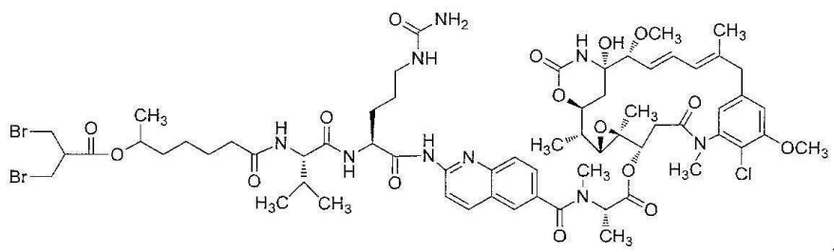
,



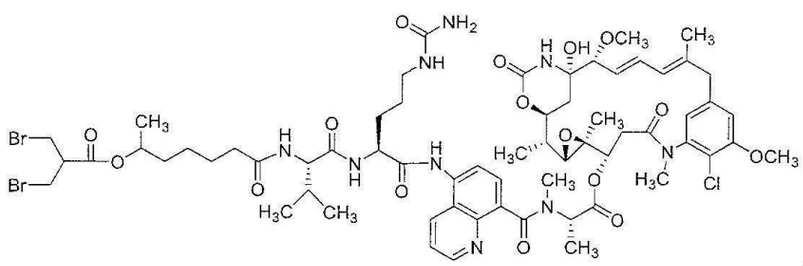
,



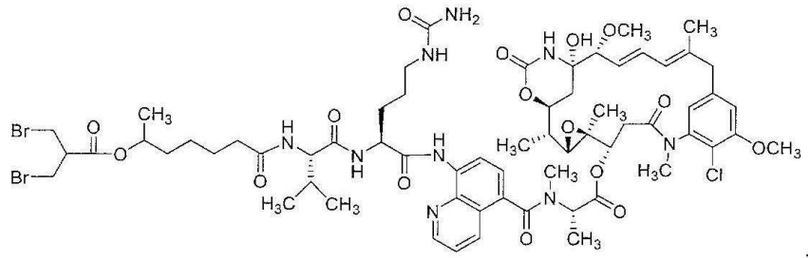
,



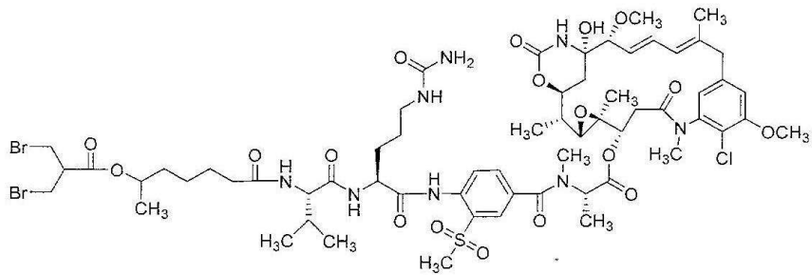
,



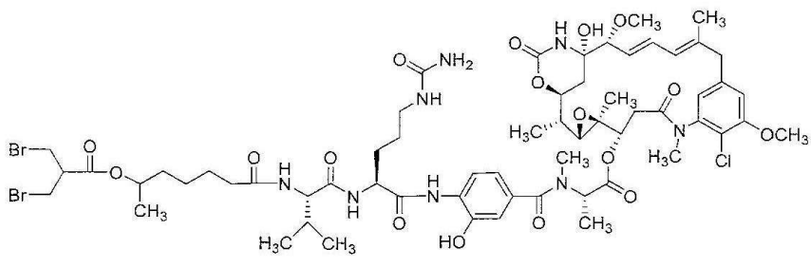
,



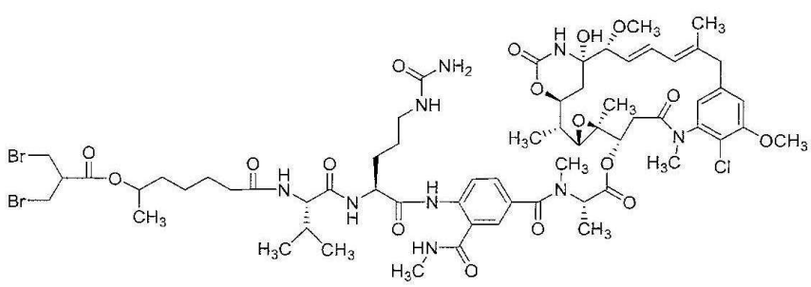
,



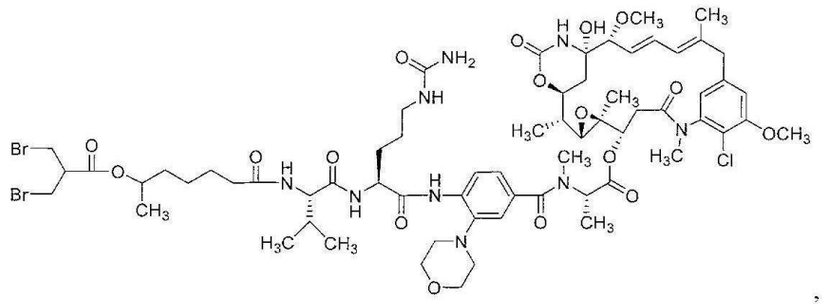
,

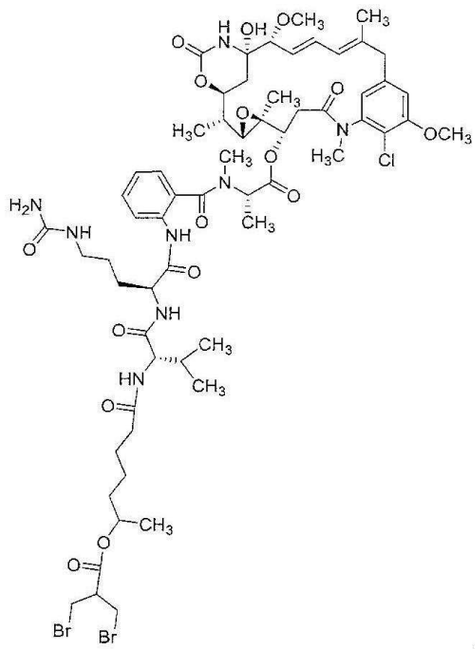


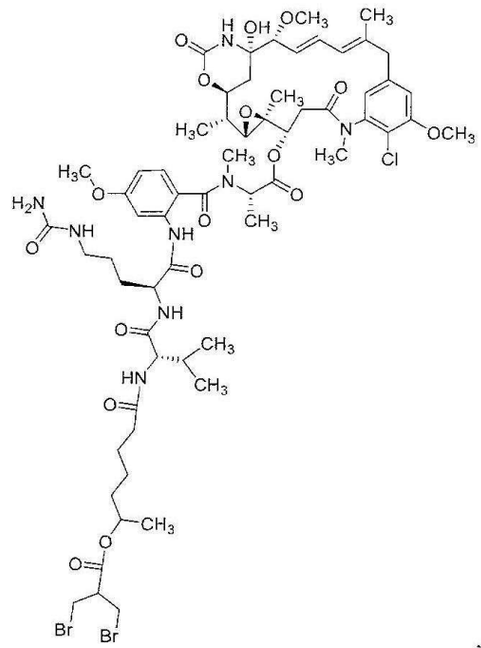
,

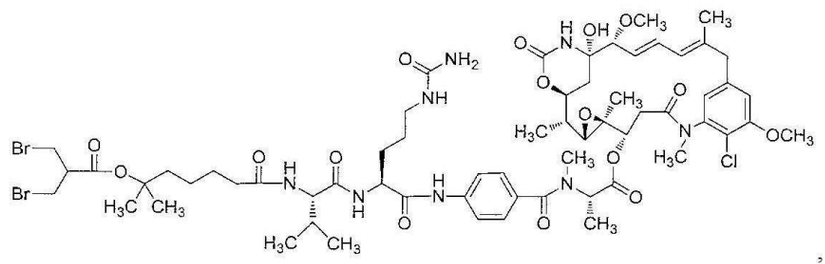


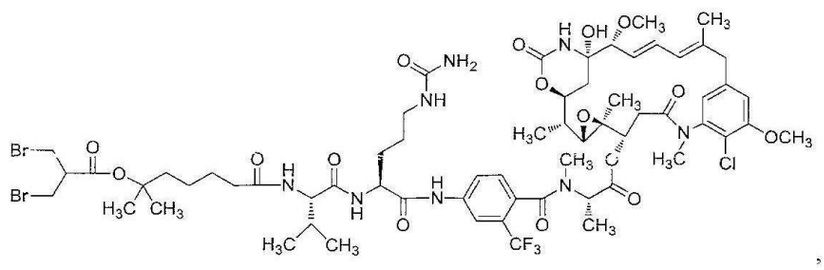
,

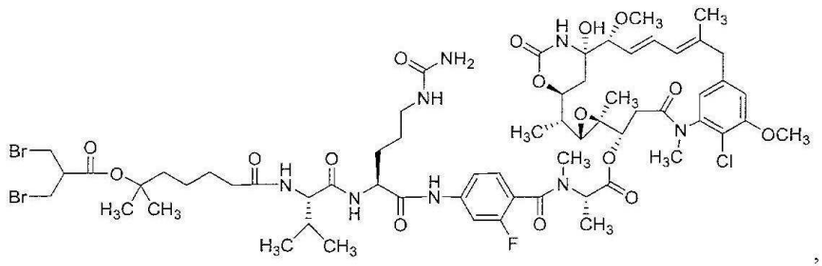




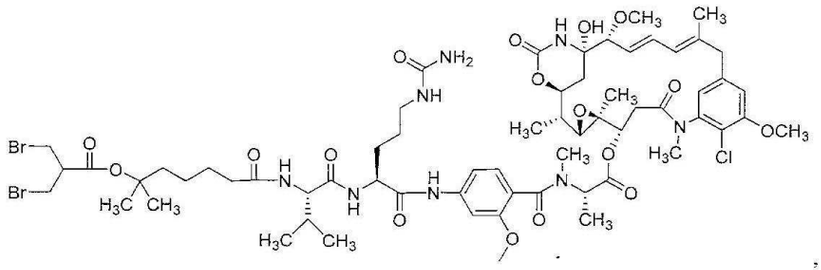




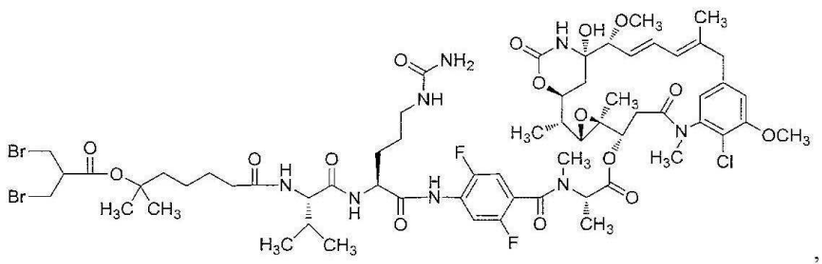




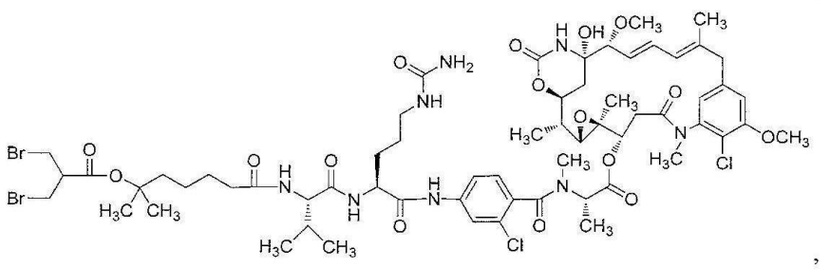
,



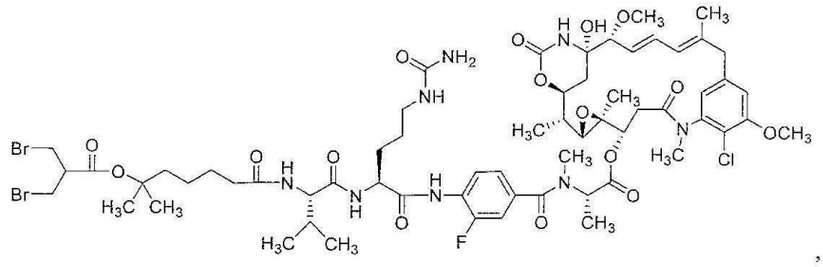
,



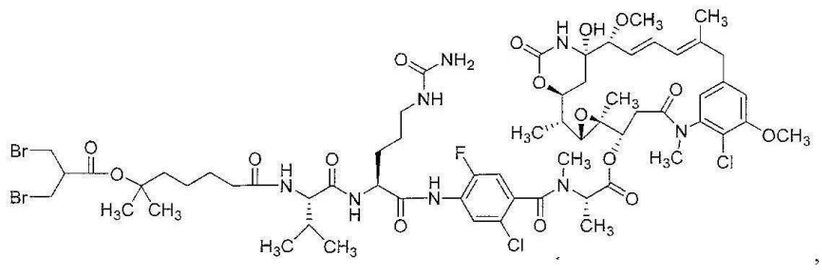
,



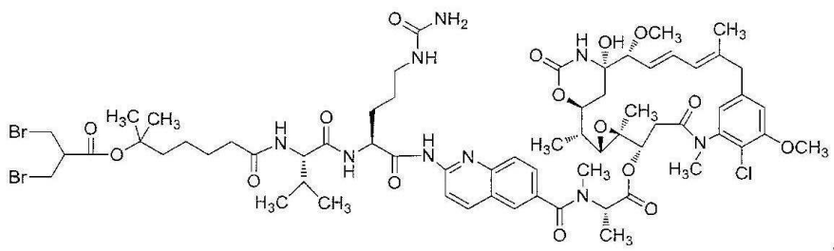
,



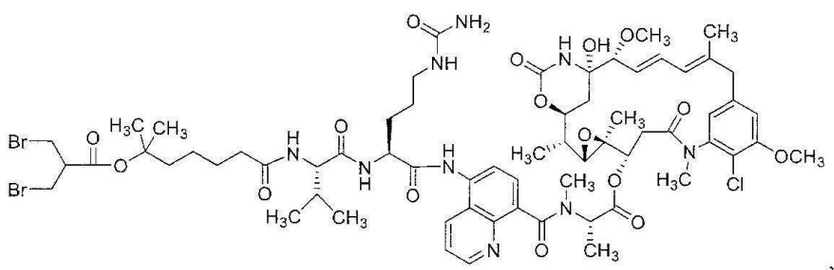
,



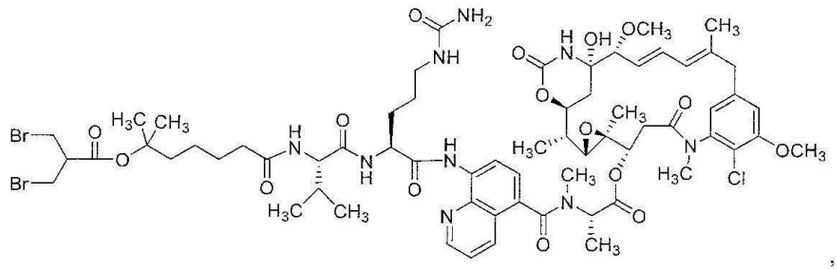
,



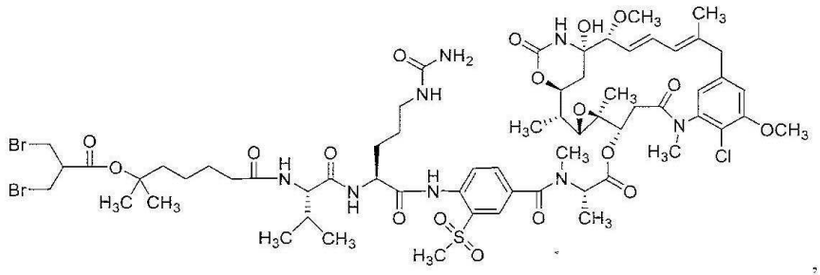
,



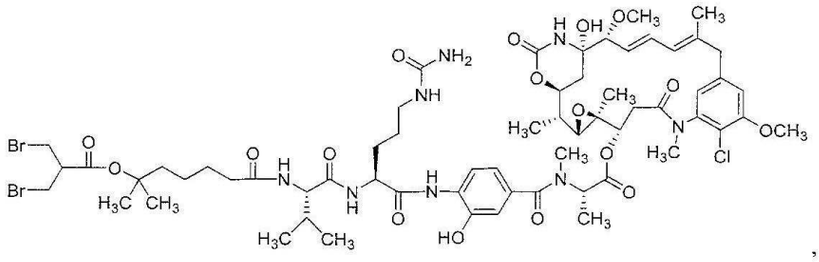
,



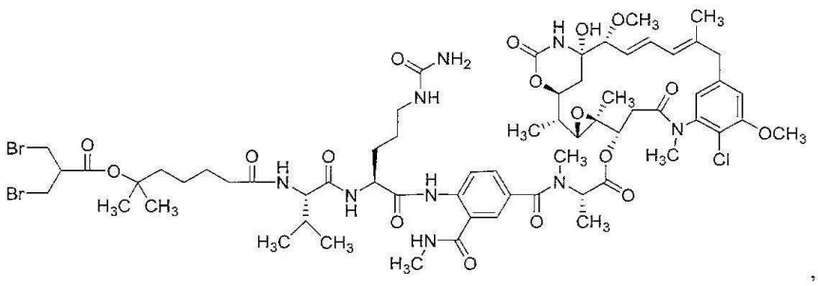
,



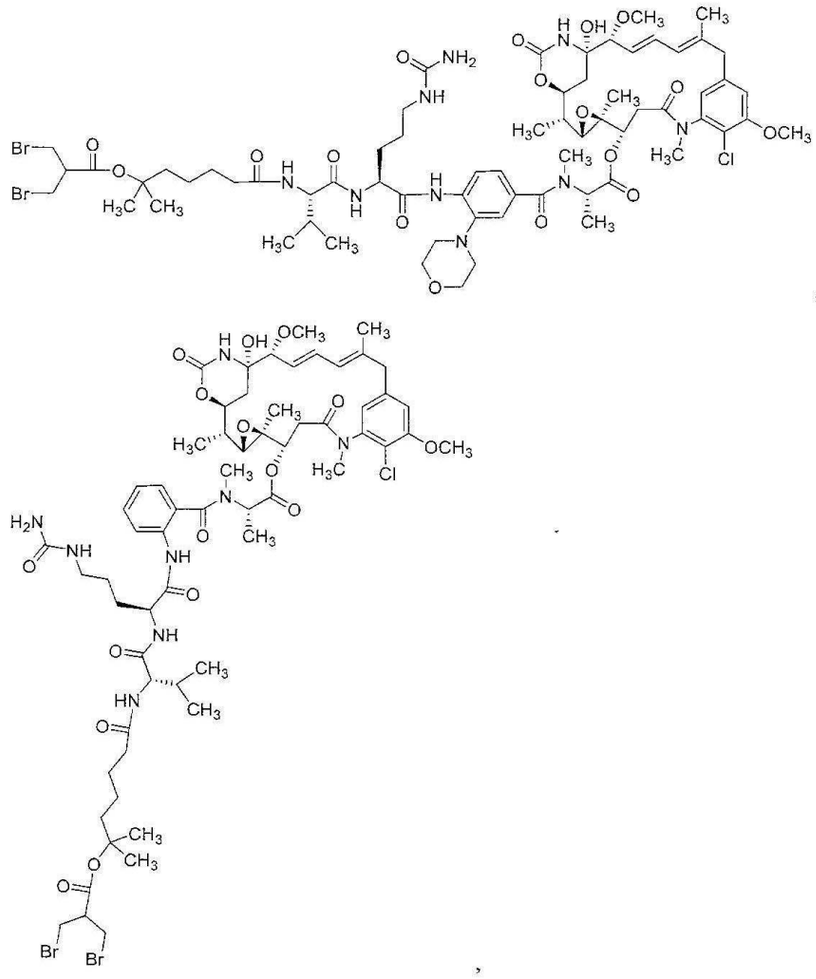
,

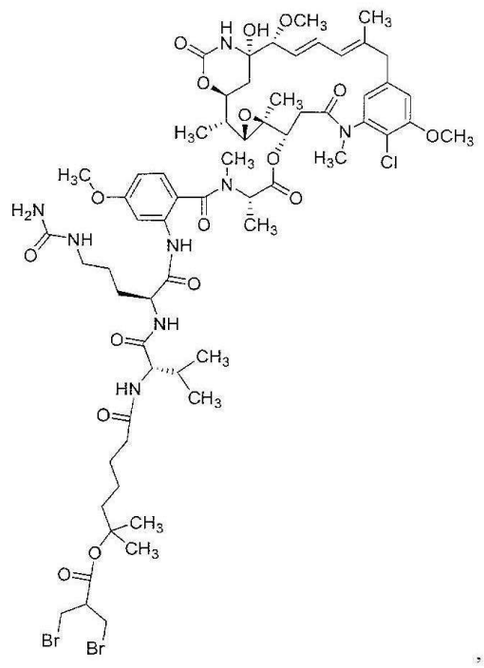


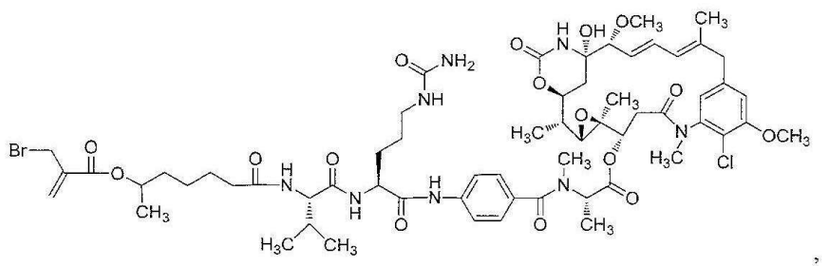
,

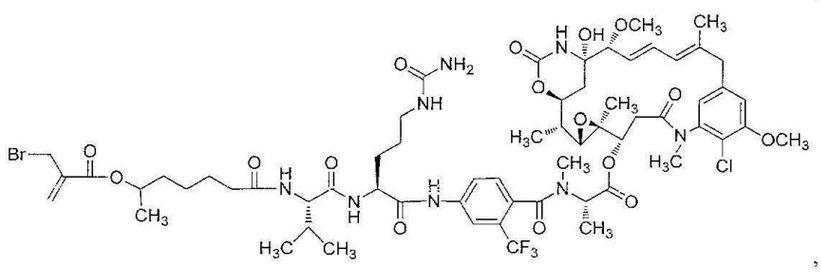


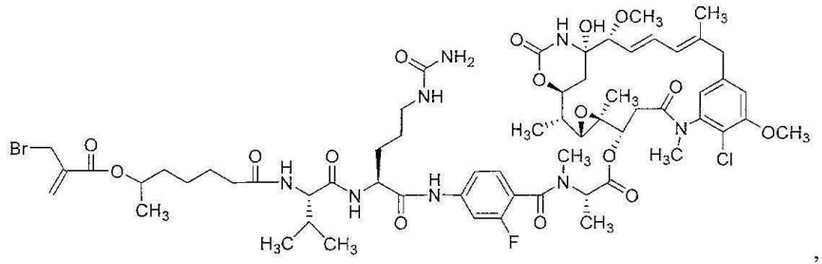
,



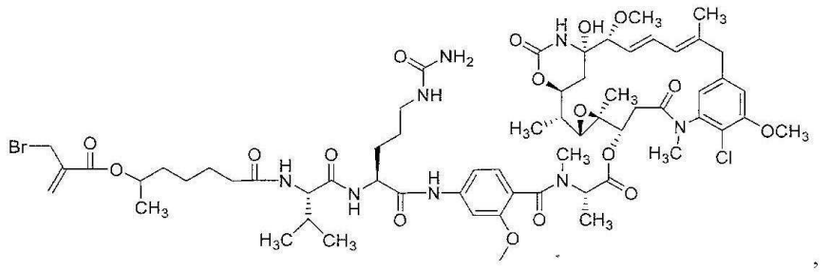




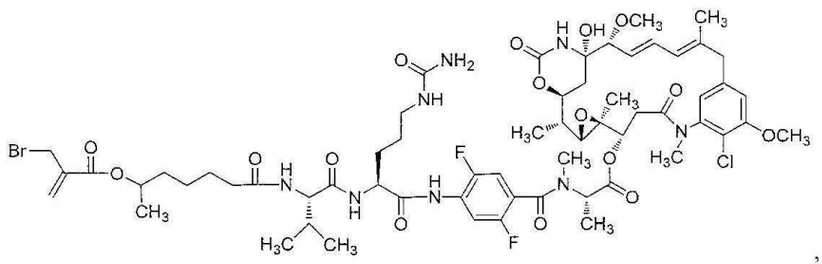




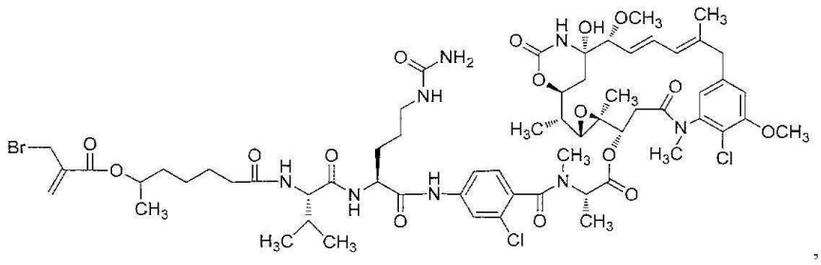
,



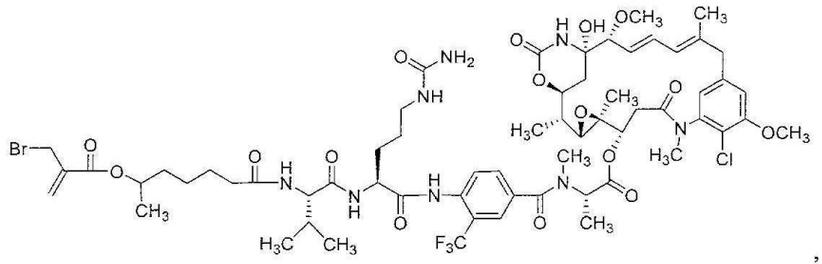
,



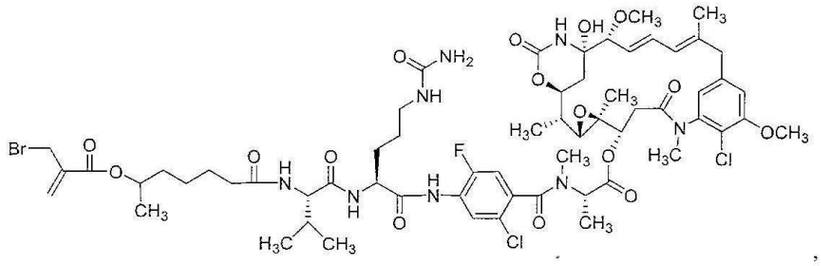
,



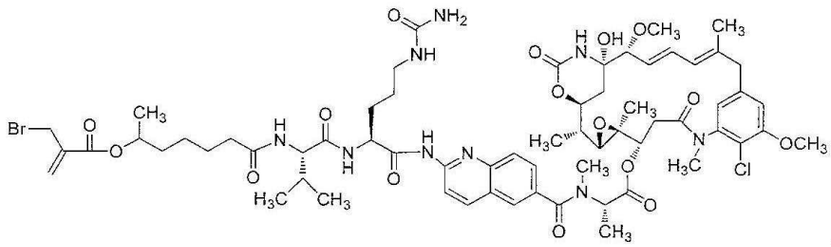
,



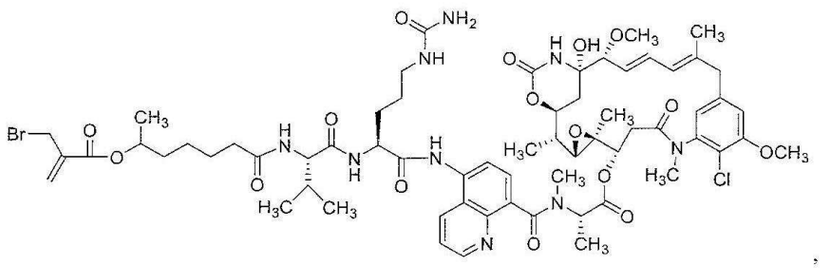
,



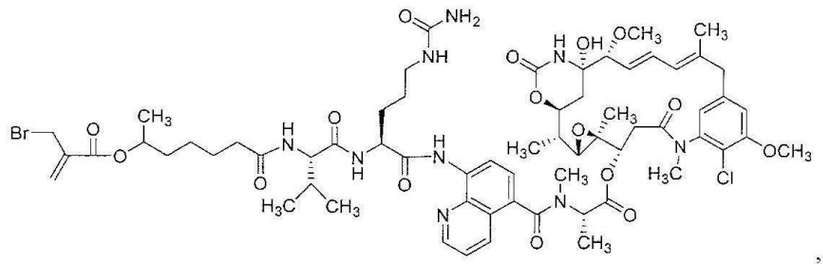
,



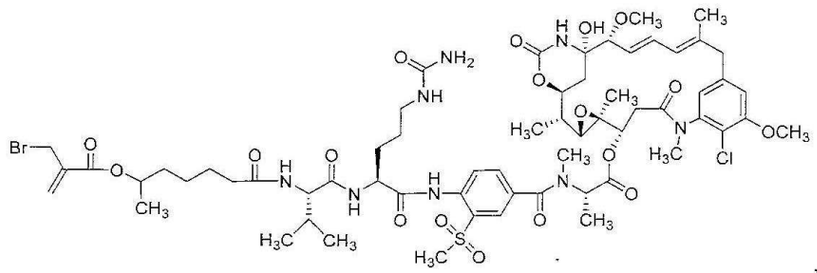
,



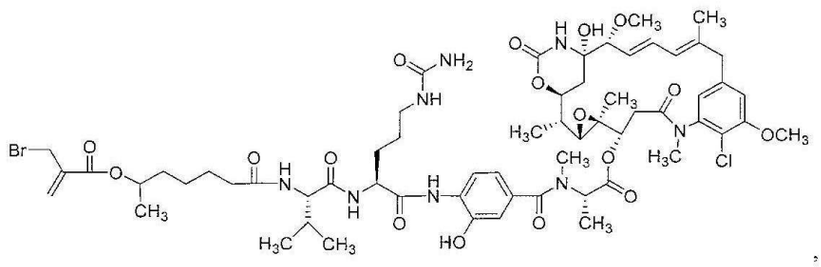
,



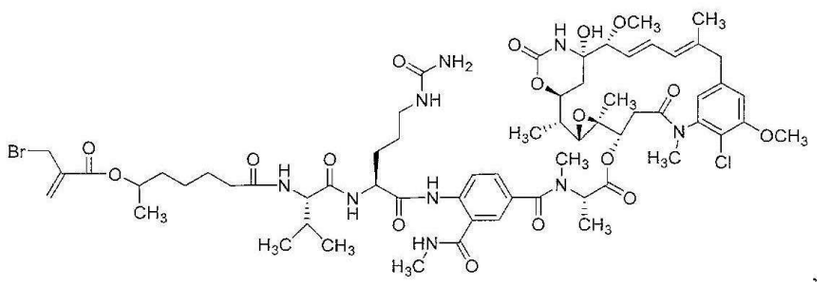
,



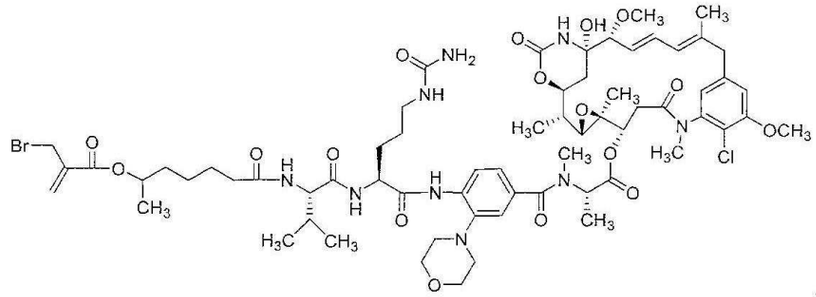
,



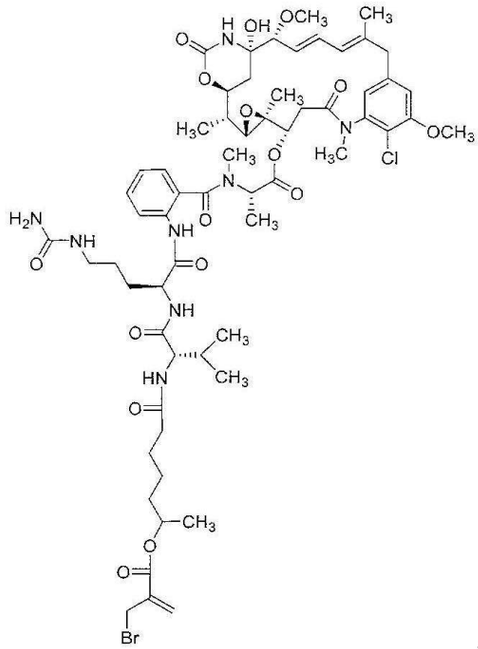
,



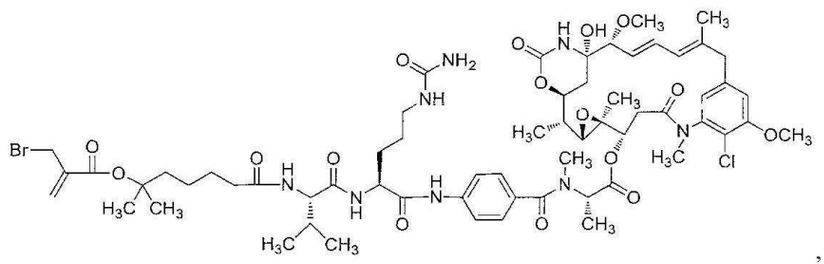
,



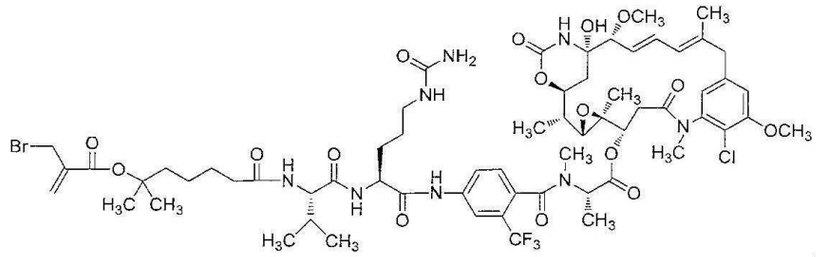
,



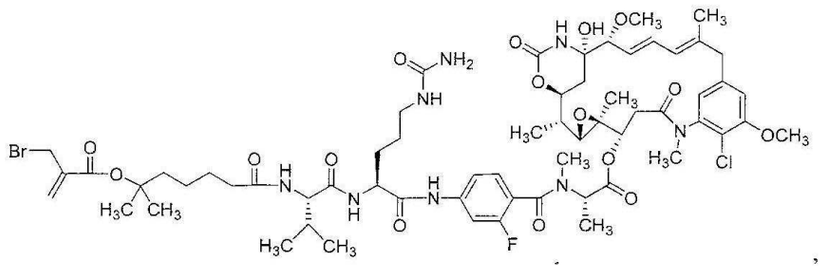
,



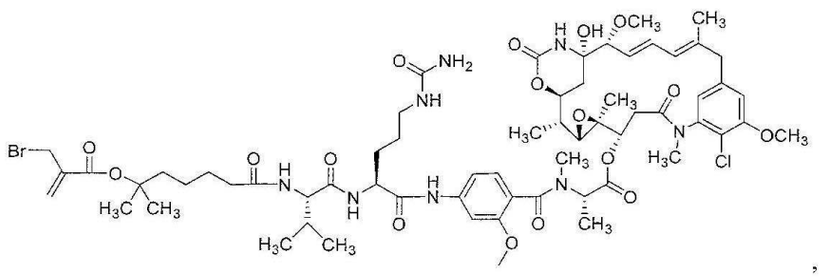
,



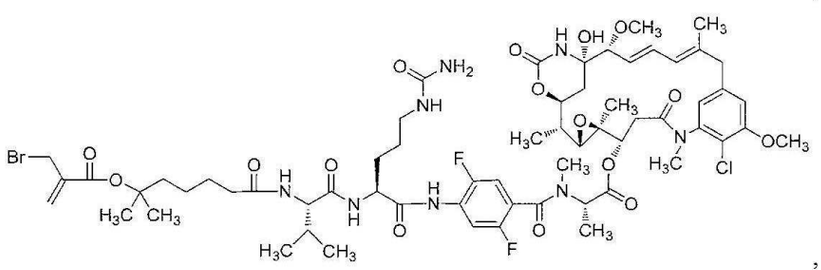
,



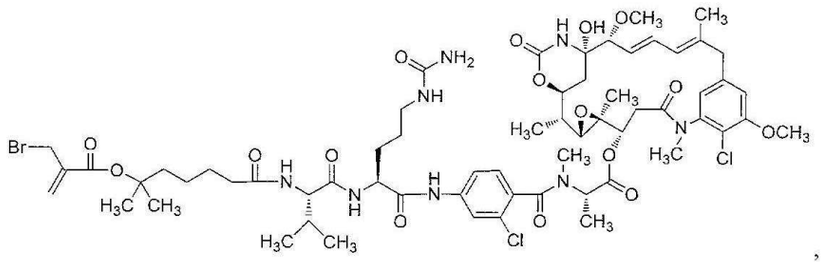
,



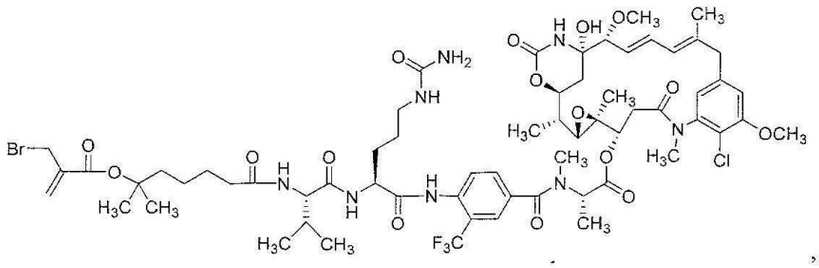
,



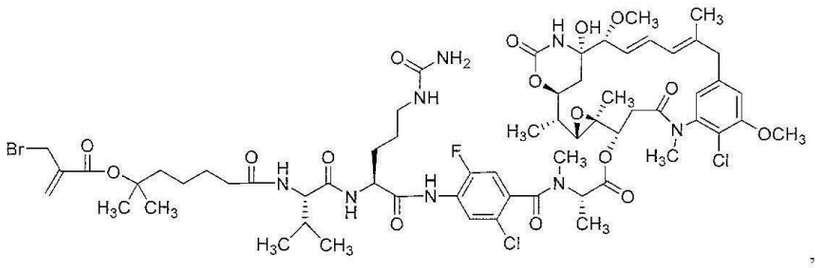
,



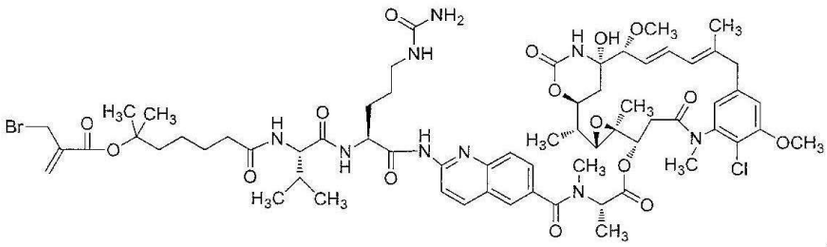
,



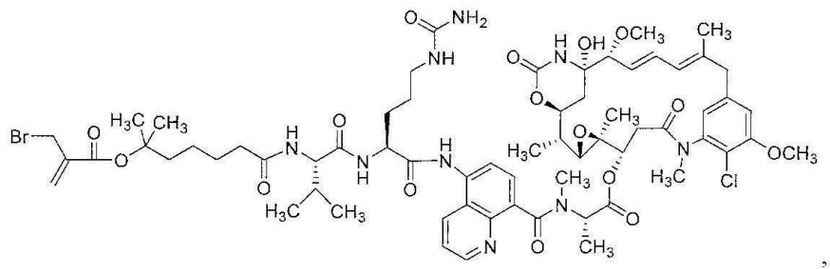
,



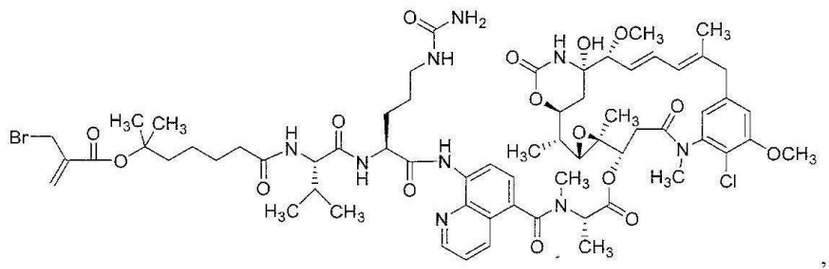
,



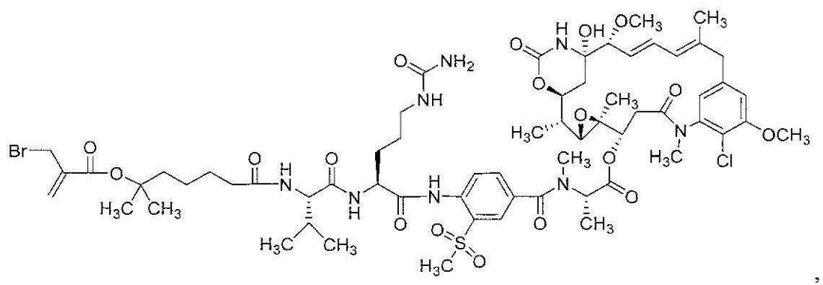
,



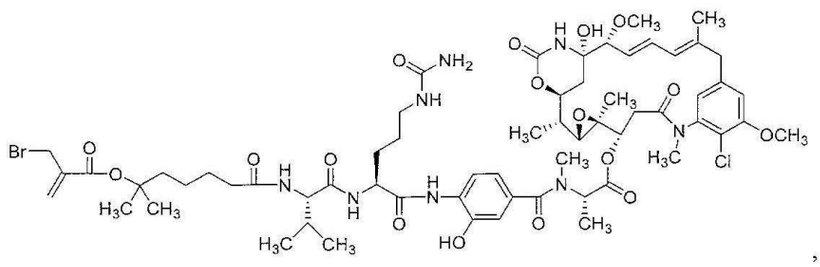
,



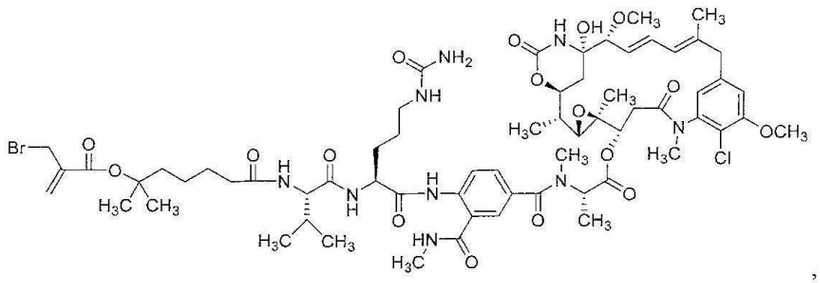
,

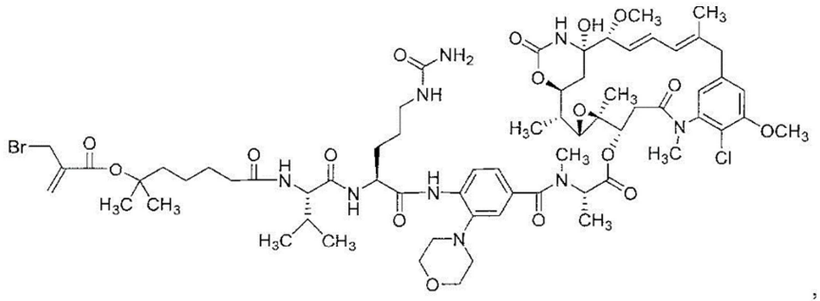


,

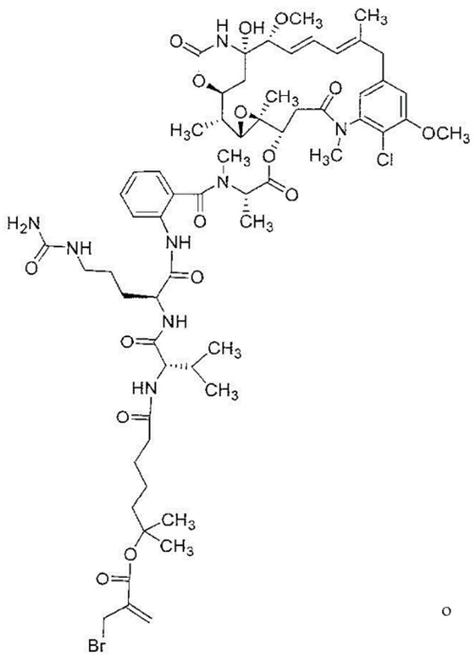


,





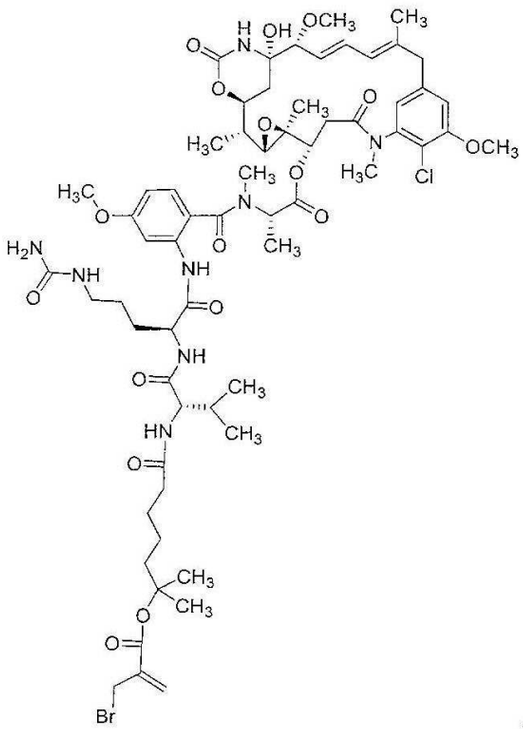
,



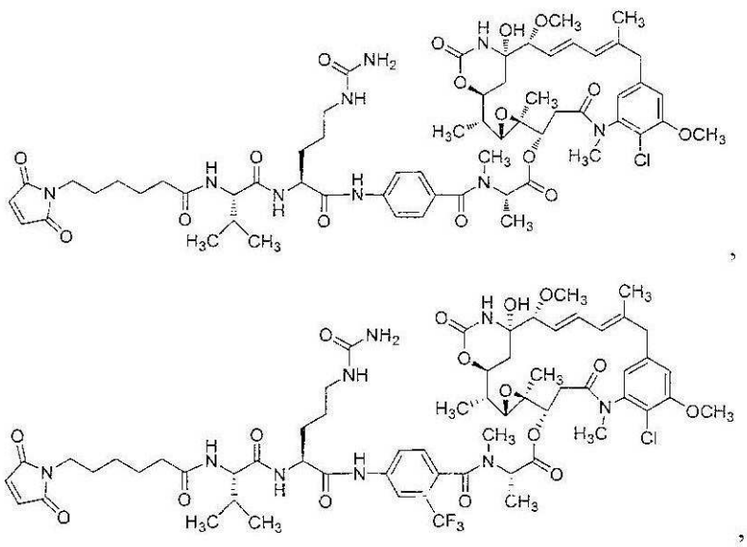
.

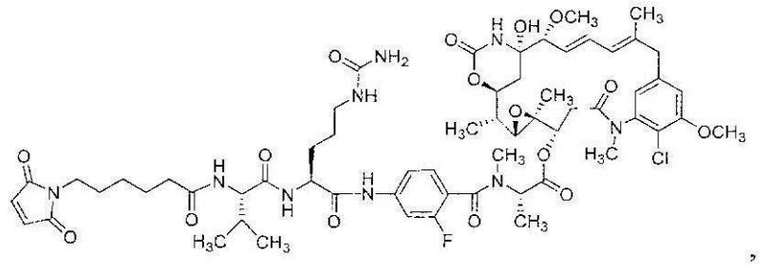
o

.

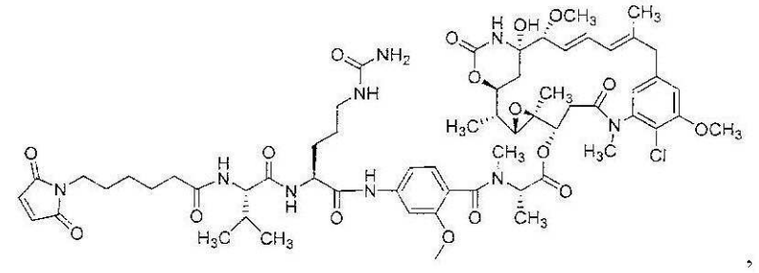


59. El compuesto de la reivindicación 58, CARACTERIZADO porque el compuesto es:

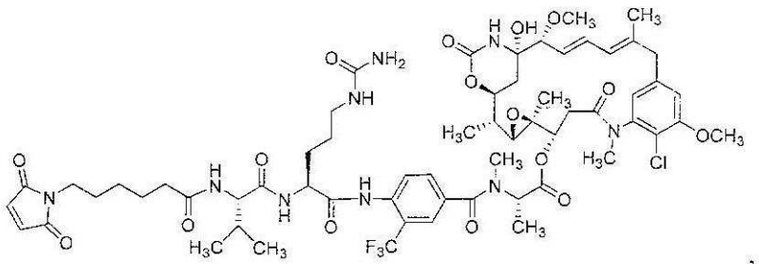




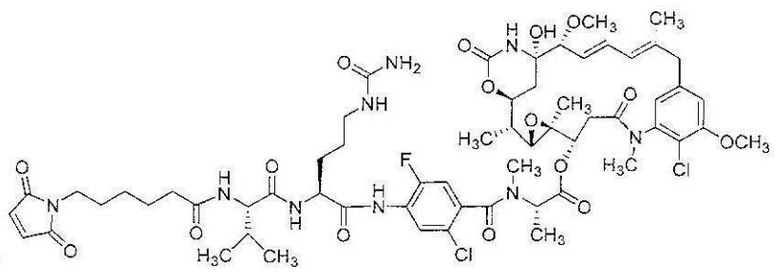
,



,

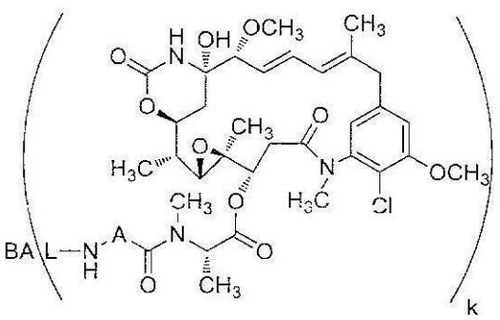


,



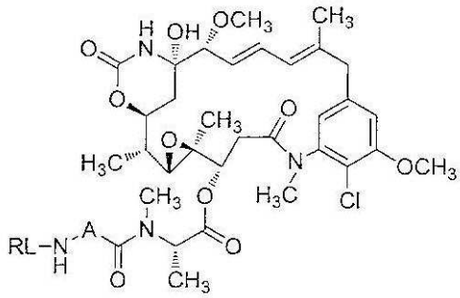
.

60. Un método para preparar un compuesto de Fórmula (I):



I

que comprende contactar un compuesto de Fórmula P1:



P1

con un agente aglutinante bajo condiciones de conjugación,

donde A es arileno o heteroarileno;

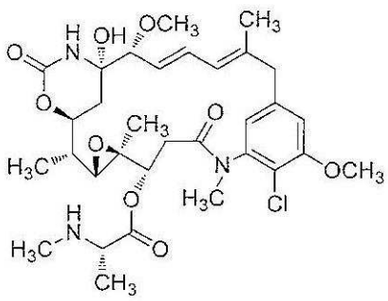
L es un enlazador;

BA es un agente aglutinante;

k es un entero desde 1 a 10;

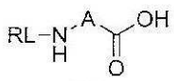
y RL es un enlazador reactivo.

61. El método de la reivindicación 60, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es preparado contactando un compuesto de Formula P2:



P2

con un compuesto de Fórmula P3:

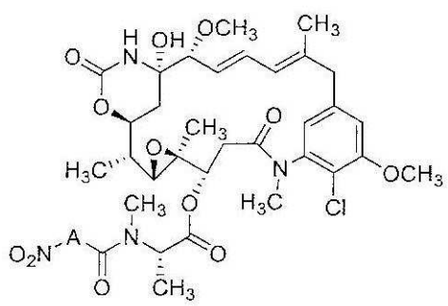


P3

bajo condiciones de síntesis de amida

donde RL es un enlazador reactivo y A es arileno o heteroarileno.

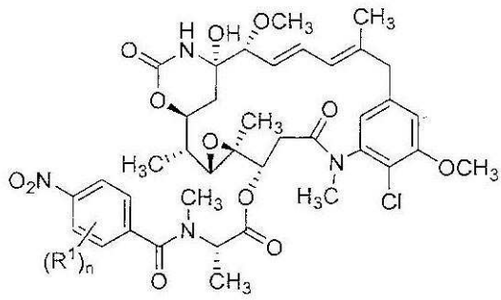
62. Un compuesto de Fórmula PP5:



PP5

o una sal de los mismos, CARACTERIZADO porque A es arileno o heteroarileno.

63. El compuesto de reivindicación 62, CARACTERIZADO porque el compuesto es un compuesto de Fórmula PP5A:



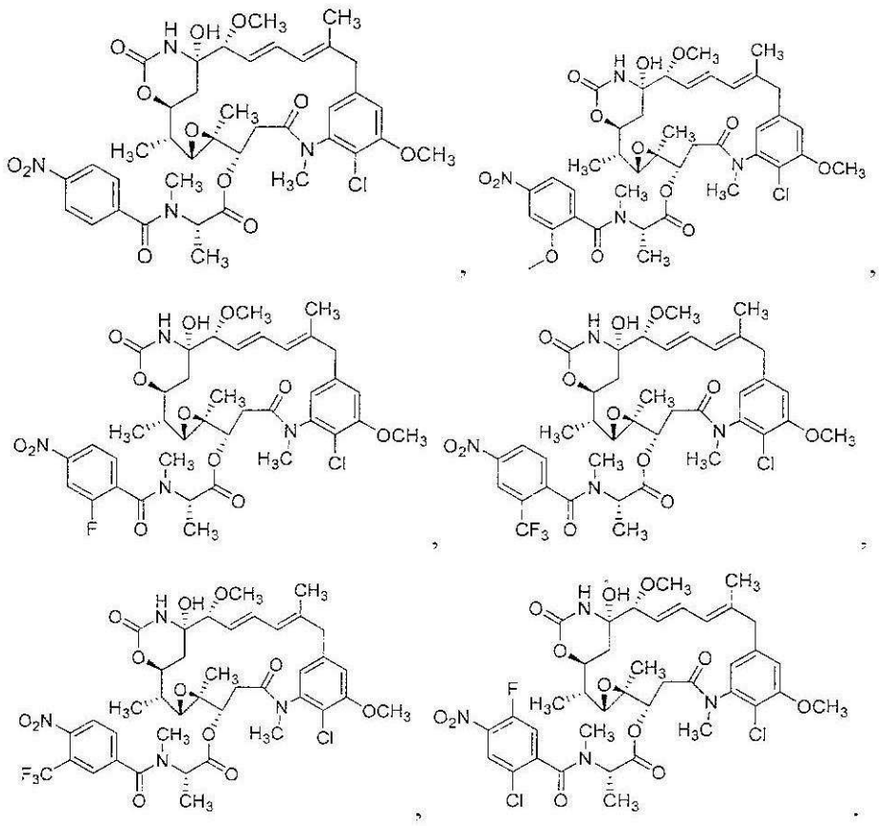
(PP5A)

donde R^1, independientemente en cada ocurrencia, es alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, haloalquilo, haloalcoxi, heteroalquilo, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, heteroarilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro,  o azido,

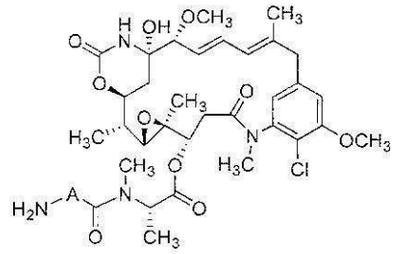
donde R^A es alquilo;

n es un entero desde 0 a 4.

64. El compuesto de reivindicación 62, CARACTERIZADO porque el compuesto es un compuesto seleccionado de:

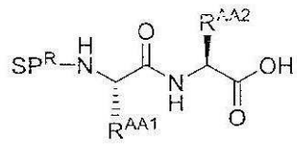


65. El método de la reivindicación 60, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula P1 es preparado contactando un compuesto de Fórmula PP3:



PP3

con un compuesto de Fórmula PP7:



PP7

bajo condiciones de síntesis de amida

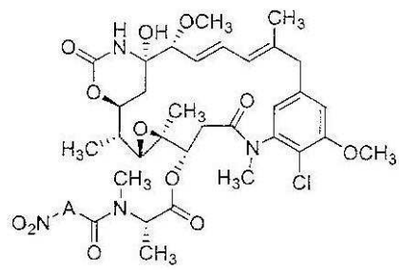
donde SP^R es un enlazador reactivo;

R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácidos;

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácidos; y

A es arileno o heteroarileno.

66. El compuesto de la reivindicación 65, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula PP3 es preparado contactando un compuesto de Fórmula PP5 con un agente reductor:

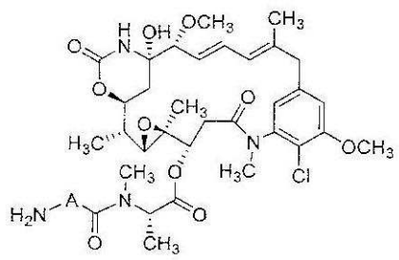


PP5

PP5.

67. El método de reivindicación 66, CARACTERIZADO porque el agente reductor es polvo de zinc.

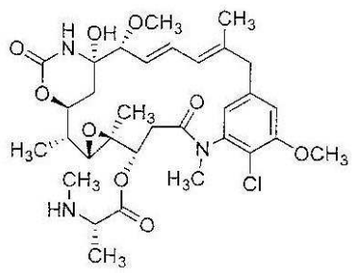
68. Un método para hacer un compuesto de Fórmula PP3:



PP3

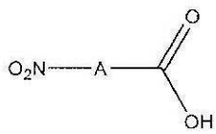
que comprende:

(a) contactar un compuesto de Fórmula P2



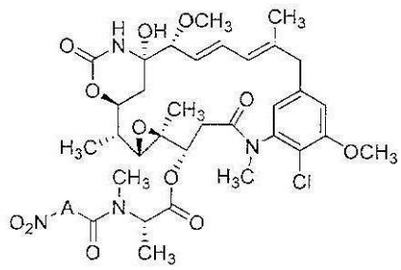
P2

con un compuesto de Fórmula PP6:



PP6

bajo condiciones de síntesis de amida para formar un compuesto de Fórmula PP5:



PP5

donde A es arileno o heteroarileno; y

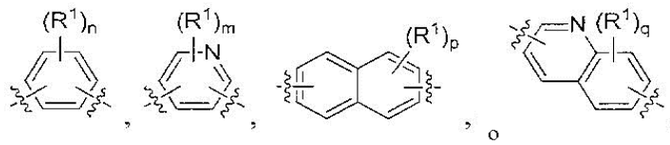
(b) reducir el compuesto de fórmula PP5 contactando el compuesto de Fórmula PP5 con un agente reductor para formar un compuesto de Fórmula PP3.

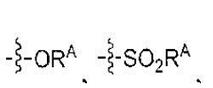
69. El método de la reivindicación 68, CARACTERIZADO porque el agente reductor es zinc.

70. El método de la reivindicación 69, CARACTERIZADO porque el zinc es polvo de zinc.

71. El método de la reivindicación 68, CARACTERIZADO porque A es:

A es:



donde R^1 es independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro,  o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

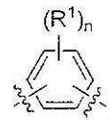
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

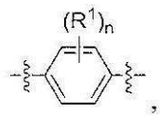
p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

72. El método de reivindicación 71, CARACTERIZADO porque A es:



73. El método de reivindicación 71 – 72, CARACTERIZADO porque A es:

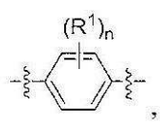


donde n es 0, 1 ó 2.

74. El método de reivindicación 71 – 73, CARACTERIZADO porque n es 0.

75. El método de reivindicación 71 – 73, CARACTERIZADO porque R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alcoxi o halo.

76. El método de reivindicación 71 -73, CARACTERIZADO porque A es:

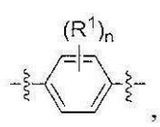


donde

n es 0, 1 ó 2; y

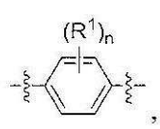
R^1 es, independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alcoxi, haloalquilo o halo.

77. El método de reivindicación 71 -73, CARACTERIZADO porque A es:



donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi, halo o haloalquilo.

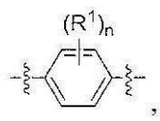
78. El método de reivindicación 71 – 73, CARACTERIZADO porque A es:



donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}.

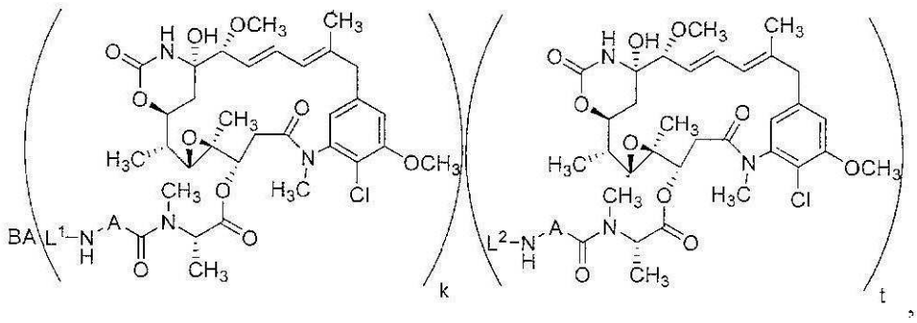
79. El método de reivindicación 71 – 73, CARACTERIZADO porque A es:

es:



donde n es 0 ó 1; y R^1 es alcoxi C_{1-6}, halo o haloalquilo C_{1-6}.

80. El método de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 68 -79, CARACTERIZADO porque reducir el compuesto de Fórmula PP5 para formar un compuesto de Fórmula PP3 comprende reducir en un ácido.
81. El método de acuerdo a la reivindicación 80, CARACTERIZADO porque el ácido es seleccionado del grupo que consiste de ácido acético, ácido fórmico, pTsOH y NH_4Cl.
82. Un compuesto que tiene la siguiente fórmula:



donde A es arileno o heteroarileno;

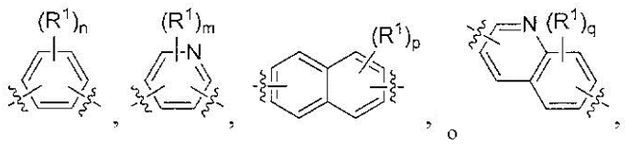
L^1 y L^2 son enlazadores,

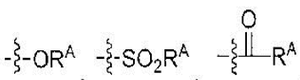
BA es un agente aglutinante,

k es un entero desde 0 a 30, y

t es un entero desde 0 a 8.

83. El compuesto de reivindicación 82, CARACTERIZADO porque la suma de k y t iguala un entero desde 1 a 8.
84. El compuesto de reivindicación 82, CARACTERIZADO porque A es:



donde R^1 es independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heteroarilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro,  o azido,

donde R^A es alquilo;

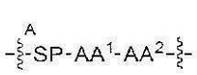
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

85. El compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 82 – 84, CARACTERIZADO porque L^1 y L^2 son:



donde

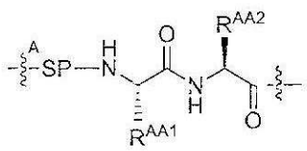
SP es un espaciador;


es uno o más enlaces al agente aglutinante;

AA^1 es aminoácido; y

AA^2 es un aminoácido.

86. El compuesto de reivindicación 84, CARACTERIZADO porque AA^1-AA^2 es:
valina-citrulina, citrulina-valina, lisina-fenilalanina, fenilalanina-lisina, valina-asparagina, asparagina-valina, treonina-asparagina, asparagina-treonina, serina-asparagina, asparagina-serina, fenilalanina-asparagina, asparagina-fenilalanina, leucina-asparagina, asparagina-leucina, isoleucina-asparagina, asparagina-isoleucina, glicina-asparagina, asparagina-glicina, ácido glutámico- asparagina, asparagina-ácido glutámico, citrulina-asparagina, asparagina-citrulina, alanina-asparagina, o asparagina-alanina.
87. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 82 -86, CARACTERIZADO porque L^1 o L^2 son:



donde

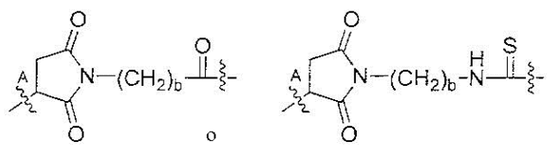
SP es un espaciador;


es uno o más enlaces al agente aglutinante;

R^{AA1} es una cadena lateral de aminoácido; y

R^{AA2} es una cadena lateral de aminoácido.

88. El compuesto de reivindicación 87, CARACTERIZADO porque SP es:

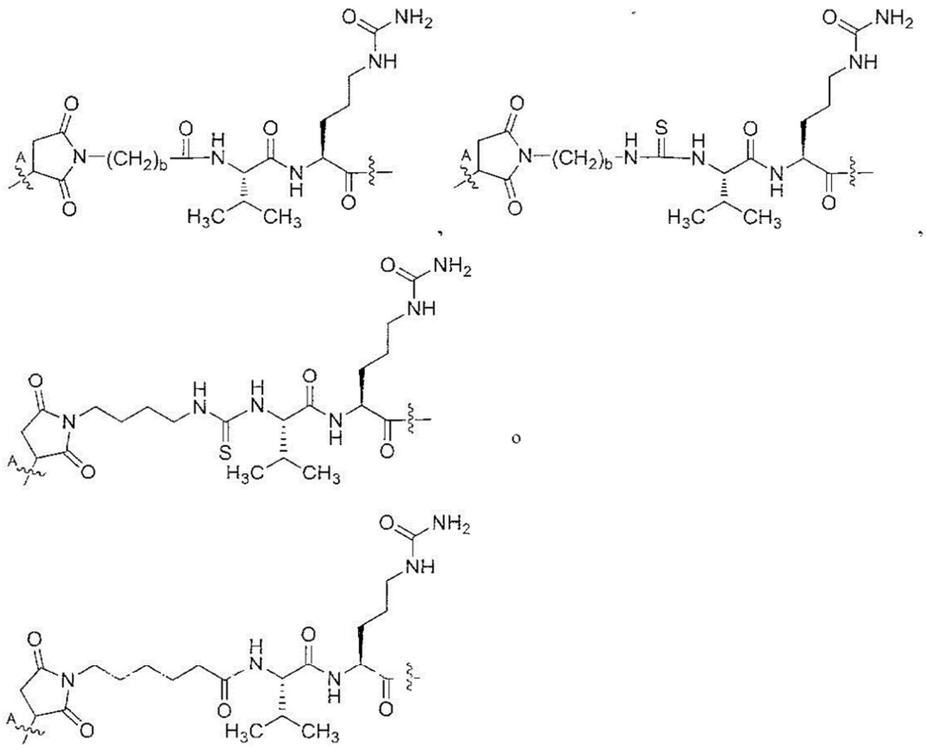


donde:


es un enlace a un agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

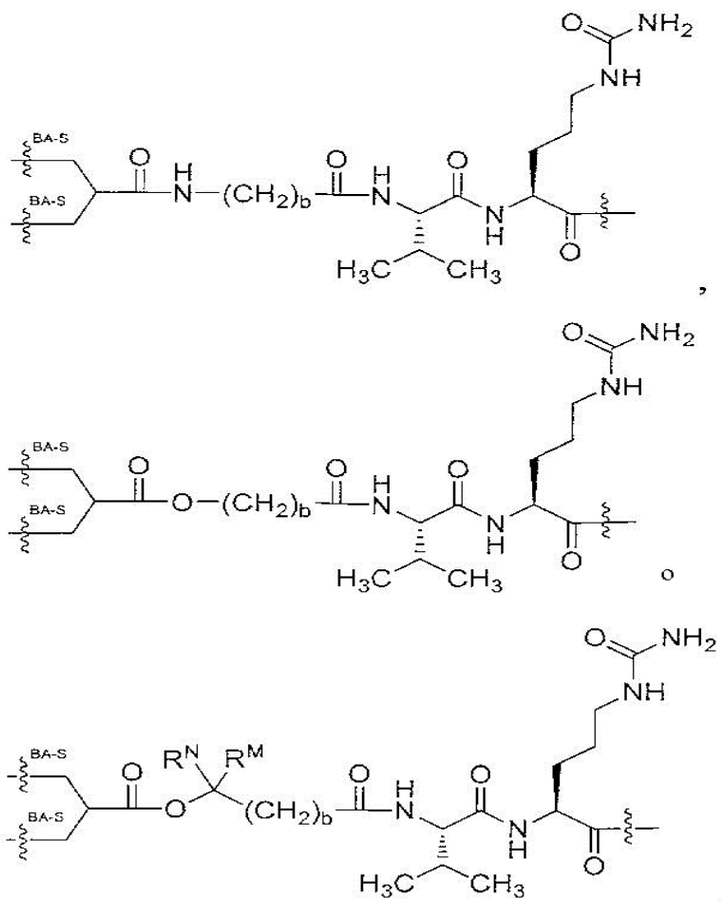
89. El compuesto de reivindicación 87, CARACTERIZADO porque L^1 es



donde:


es un enlace a un agente aglutinante; y b es un entero desde 2 a 8.

90. El compuesto de reivindicación 87, CARACTERIZADO porque L^2 es



donde

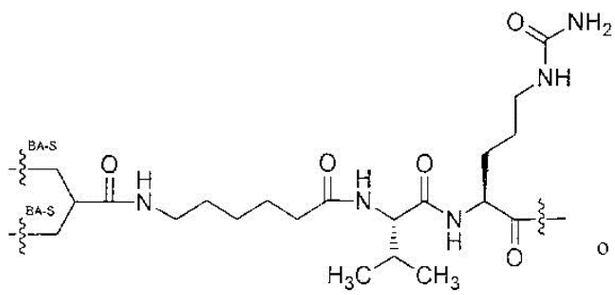
BA es un anticuerpo;

R^N es un átomo de hidrógeno o alquilo;

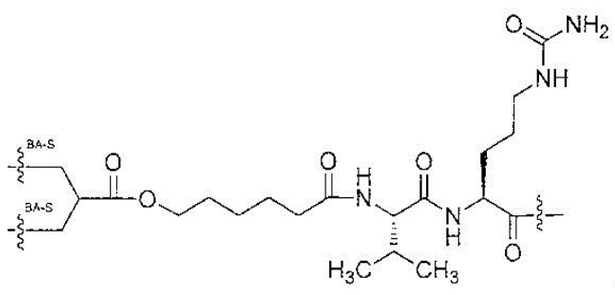
R^M es alquilo;

los dos enlaces representados por  son enlaces a cisteínas del anticuerpo; y b es un entero desde 2 a 8.

91. El compuesto de reivindicación 90, CARACTERIZADO porque L^2 es

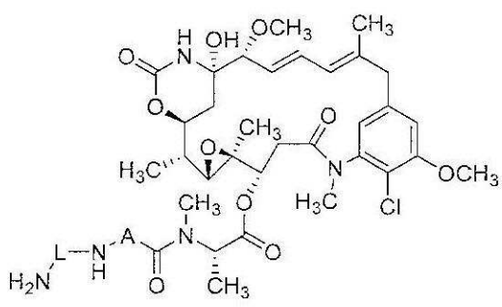


o



92. Un método para preparar un compuesto de conjugado anticuerpo-fármaco de Fórmula (I): que comprende:

(a) reaccionar un anticuerpo desglicosilado o anticuerpo aglicosilado con un compuesto de Fórmula (PT1) en la presencia de transglutaminasa:



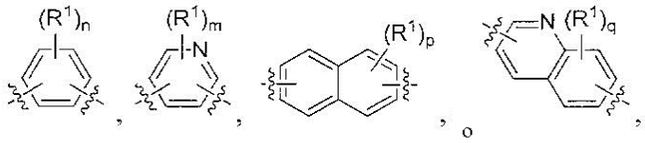
P1T

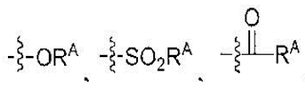
donde

A es arileno o heteroarileno; y

L es un enlazador.

93. El método de reivindicación 92, CARACTERIZADO porque A es:



donde R^1 es independientemente en cada ocurrencia, halo, haloalquilo, haloalcoxi, hidroxilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, heteroarilo, heteroalquilo, heterocicloalquilo, ciano, nitro,  o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

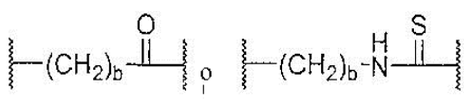
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

94. El método de reivindicación 92, CARACTERIZADO porque el enlazador es:

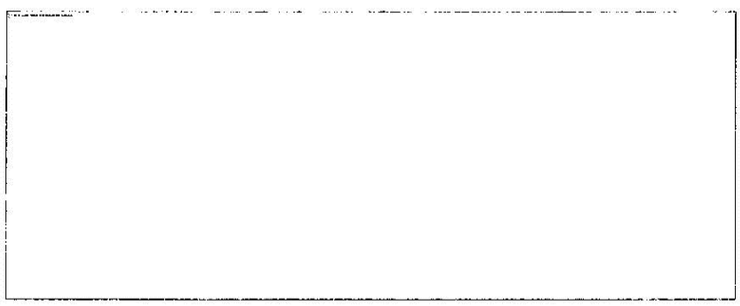


donde:

uno  es un enlace a la carga útil y el otro  es un enlace al agente aglutinante; y

b es un entero desde 2 a 8.

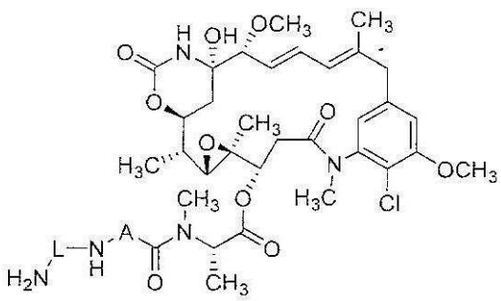
95. El método de la reivindicación 92, CARACTERIZADO porque el compeusto de Fórmula (PT1) es



96. El método de reivindicación 92, CARACTERIZADO porque la etapa (a) está a un pH entre aproximadamente 7.0 y aproximadamente 8.0 por al menos 4 horas.
97. El método de reivindicación 92, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula (PT1) de etapa (a) está en una concentración de al menos 5 equivalentes molares en comparación con el anticuerpo desglicosilado o anticuerpo aglicosilado.
98. El método de reivindicación 92, CARACTERIZADO porque la transglutaminasa de etapa (a) está presente de 1 a 30 U por milígramo de anticuerpo desglicosilado o anticuerpo aglicosilado.
99. El método de cualquiera de las reivindicaciones 92 – 95, CARACTERIZADO porque el anticuerpo es desglicosilado con péptido N-glicosidasa F (PNGase) antes de la etapa (a).

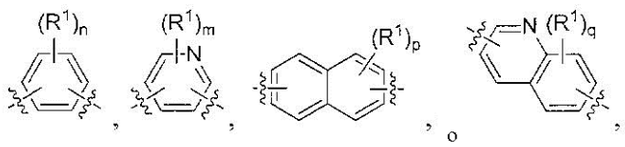
100. El método de cualquiera de las reivindicaciones 92 – 95, CARACTERIZADO porque el anticuerpo es aglicosilado.

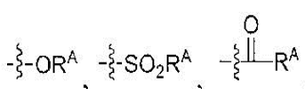
101. El método de cualquiera de las reivindicaciones 92 – 97, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula (PT1) de la etapa (a) es de acuerdo a la siguiente fórmula:



PT1

donde A es:



donde R^1 es independientemente en cada ocurrencia, alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, arilo, alcarilo, aralquilo, halo, haloalquilo, haloalcoxi, heteroarilo, heterocicloalquilo, hidroxilo, ciano, nitro,  o azido,

donde R^A es alquilo o heteroalquilo;

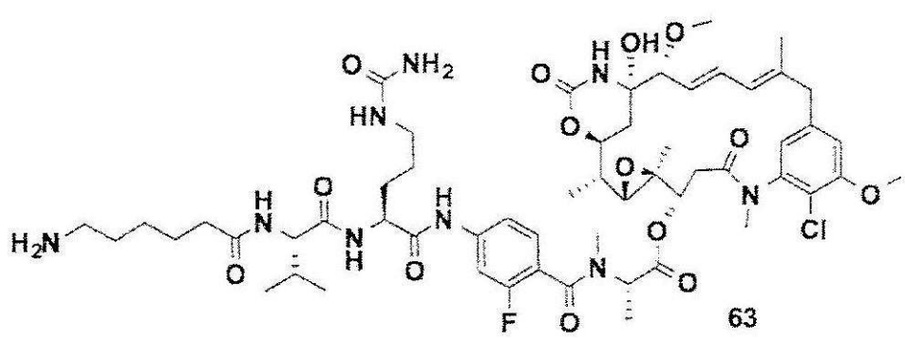
n es un entero desde 0 a 4;

m es un entero desde 0 a 3;

p es un entero desde 0 a 6; y

q es un entero desde 0 a 5.

102. El método de cualquiera de las reivindicaciones 92 -98, CARACTERIZADO porque el compuesto de Fórmula (PT1) de la etapa (a) es:



63

103. El método de cualquiera de las reivindicaciones 92 – 102, CARACTERIZADO porque la etapa (a) es llevada a cabo en uno o más solventes seleccionados del grupo consistente de agua, agua tamponada, agua salina, agua salina tamponada, y un orgánico.

104. El método de cualquiera de las reivindicaciones 92 – 103, CARACTERIZADO porque la etapa (a) es llevada a cabo en agua tamponada con fosfato, HEPES o MOPS.

105. El método de cualquiera de las reivindicaciones 92 – 104, CARACTERIZADO porque además comprende:

(b) reaccionar el anticuerpo modificado por glutaminilo con un compuesto de carga útil de reactivo para formar un conjugado de anticuerpo-carga útil.

106. El método de cualquiera de las reivindicaciones 92 – 105, CARACTERIZADO porque además comprende:

(b) reaccionar el anticuerpo modificado por glutaminilo con un compuesto de carga útil – enlazador reactivo para formar un conjugado de anticuerpo-enlazador-carga útil.

107. El método de cualquiera de las reivindicaciones 92 – 105, CARACTERIZADO porque además comprende

(b) reaccionar el anticuerpo modificado por glutaminilo con un compuesto de enlazador reactivo para formar un conjugado de anticuerpo-enlazador; y

(c) reaccionar el conjugado de anticuerpo-enlazador con un compuesto de carga útil reactiva para formar un conjugado de anticuerpo-enlazador-carga útil.

108. Un anticuerpo modificado por glutaminilo, CARACTERIZADO porque es producido por el método de cualquiera de las reivindicaciones 92 – 104.

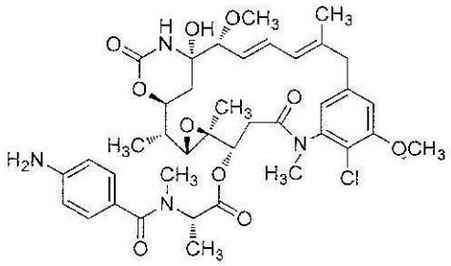
109. Una composición farmacéutica, CARACTERIZADA porque comprende el anticuerpo de reivindicación 108 y uno o más disolventes, excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

110. Un método para tratar una condición en un sujeto que necesite del mismo, CARACTERIZADO porque comprende administrar al sujeto una cantidad farmacéuticamente aceptable del anticuerpo de reivindicación 108.

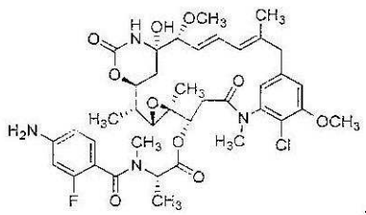
111. El anticuerpo modificado por glutaminilo de reivindicación 108, CARACTERIZADO porque es para terapia.

112. El anticuerpo modificado por glutaminilo de reivindicación 108, CARACTERIZADO porque es para el tratamiento de cáncer.

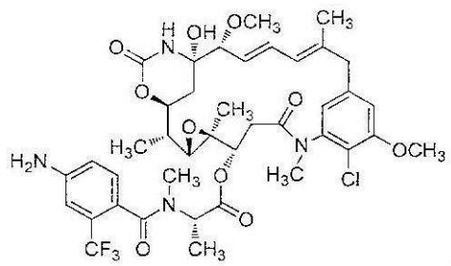
113. El compuesto de la reivindicación 27, CARACTERIZADO porque el compuesto es seleccionado de:



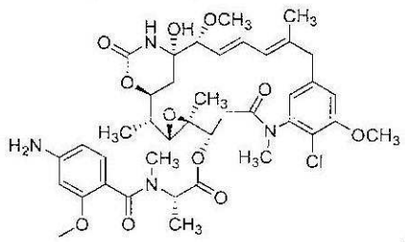
,



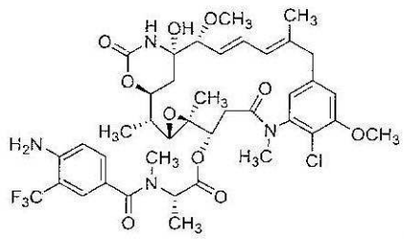
,



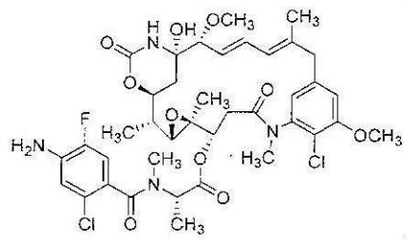
,



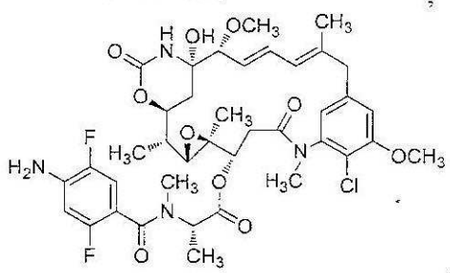
,



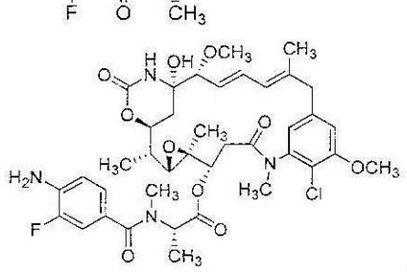
,



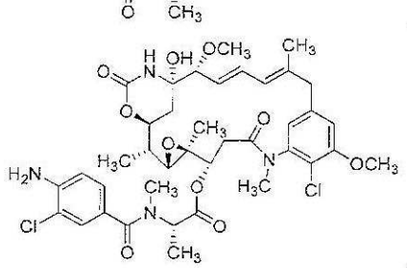
,



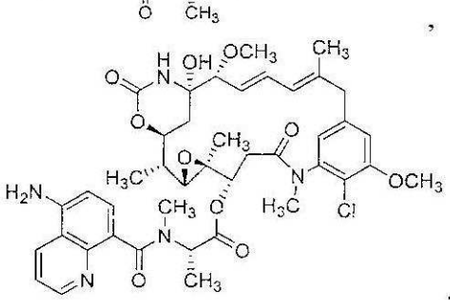
,



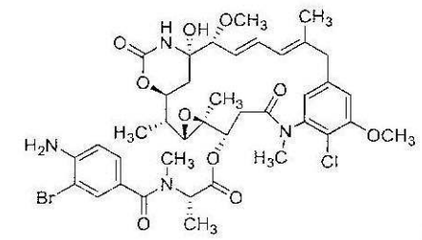
,



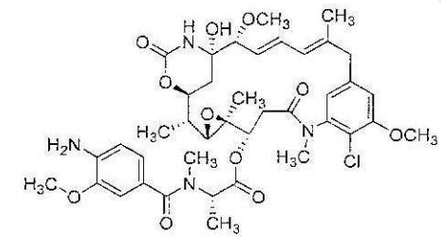
,



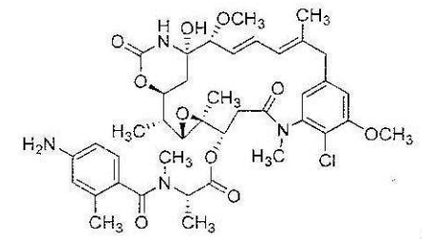
,



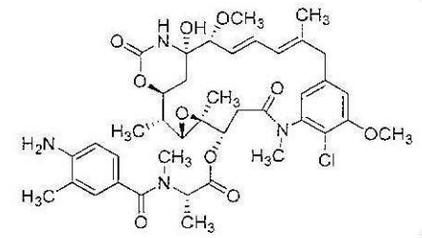
,



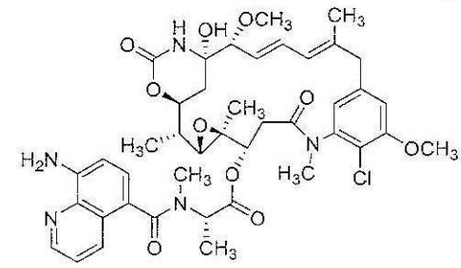
,



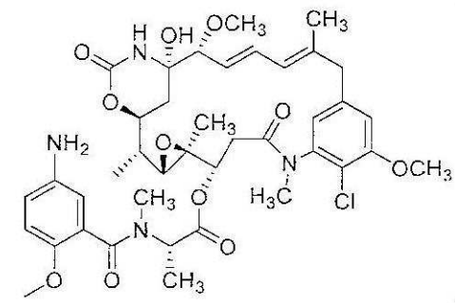
,



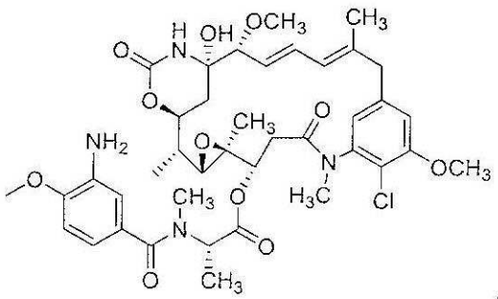
,

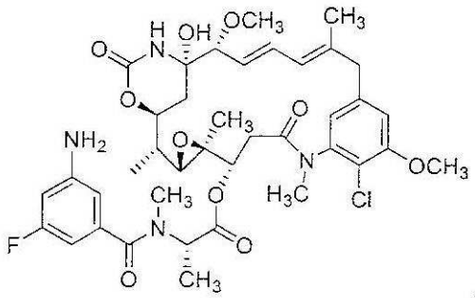


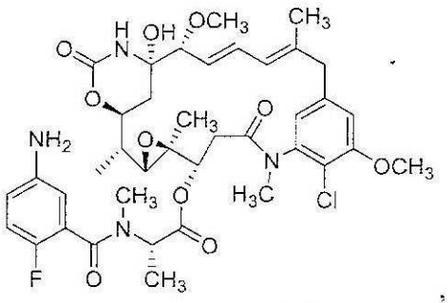
,

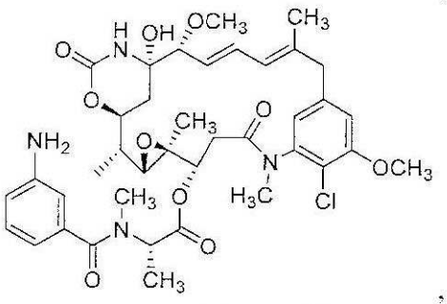


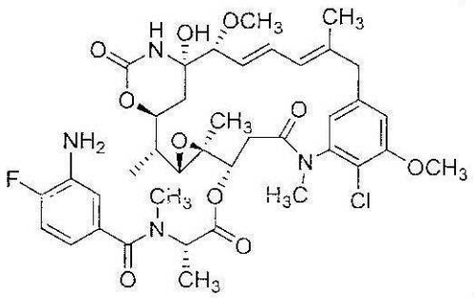
,

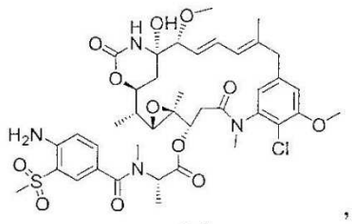


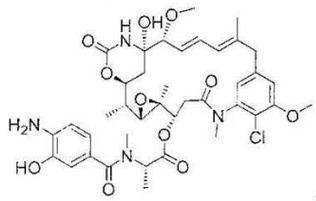


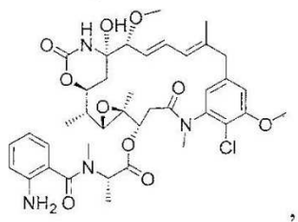


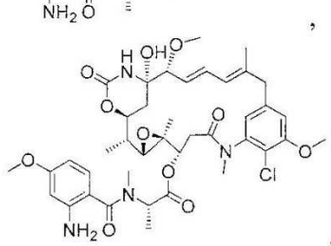


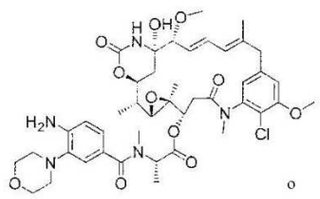


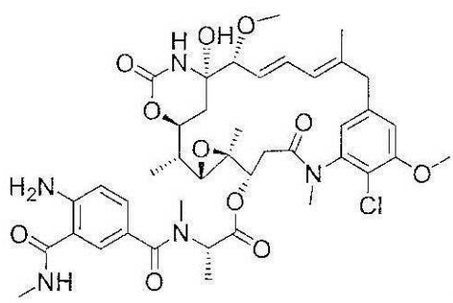




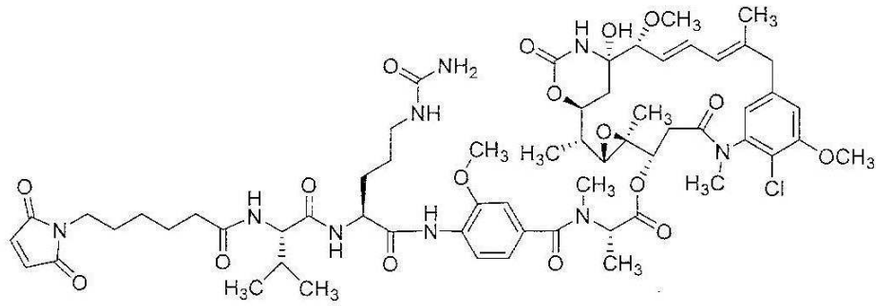


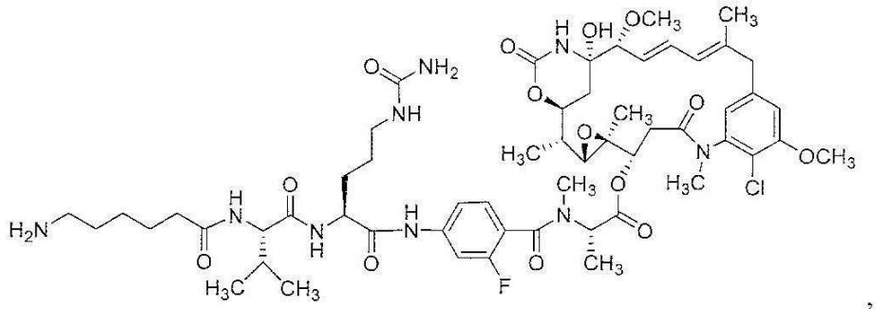


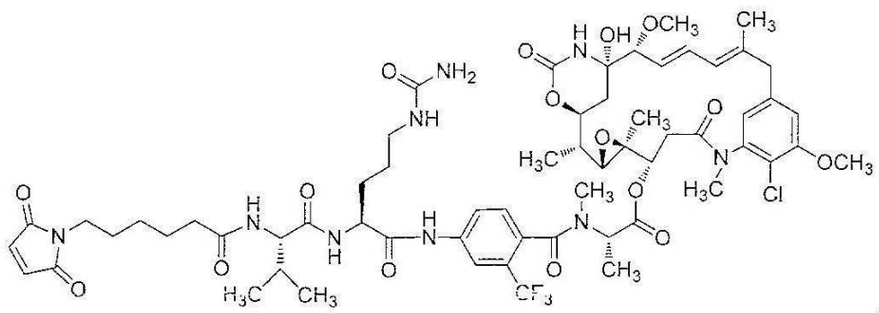


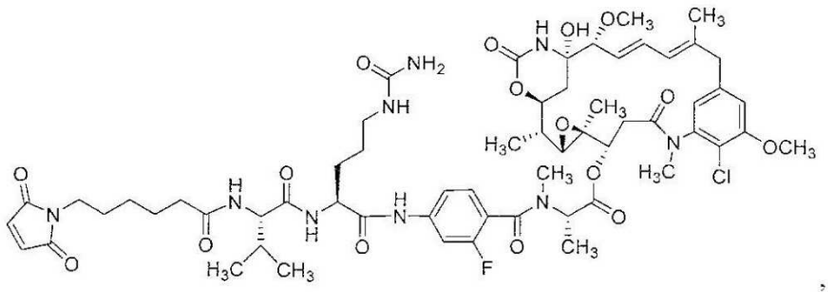


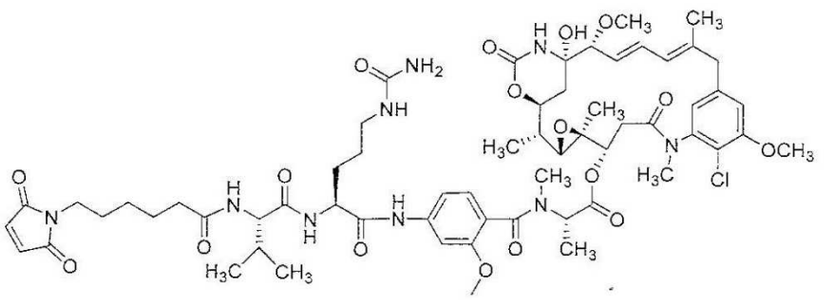
114. El compuesto de reivindicación 45, CARACTERIZADO porque el compuesto es seleccionado de

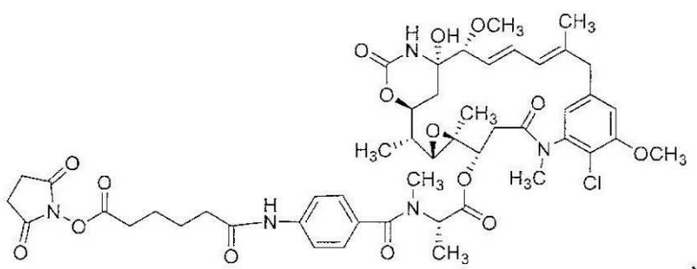


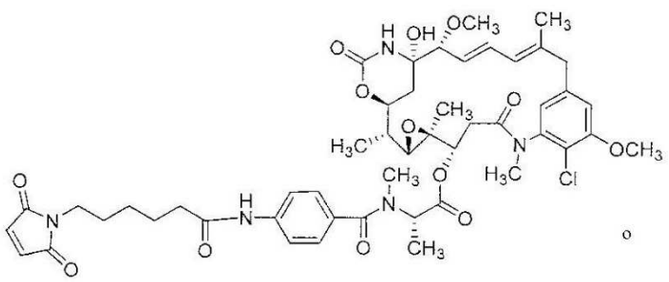


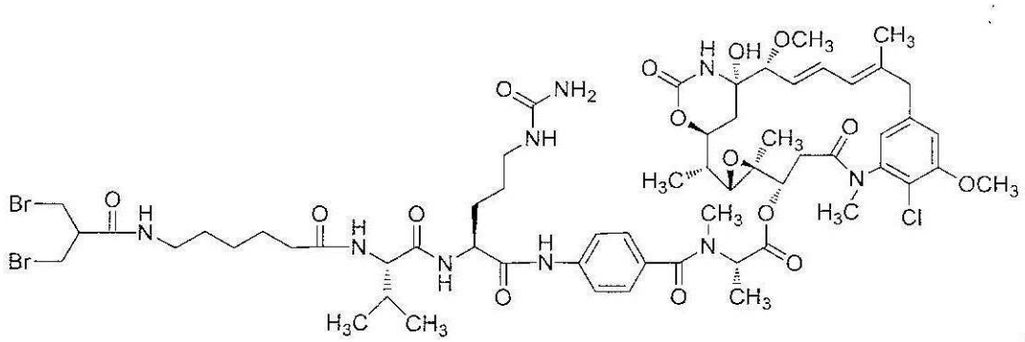




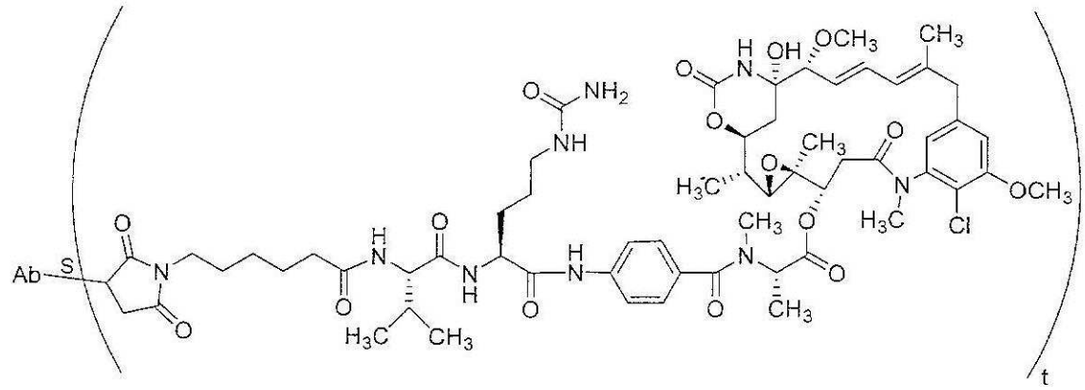




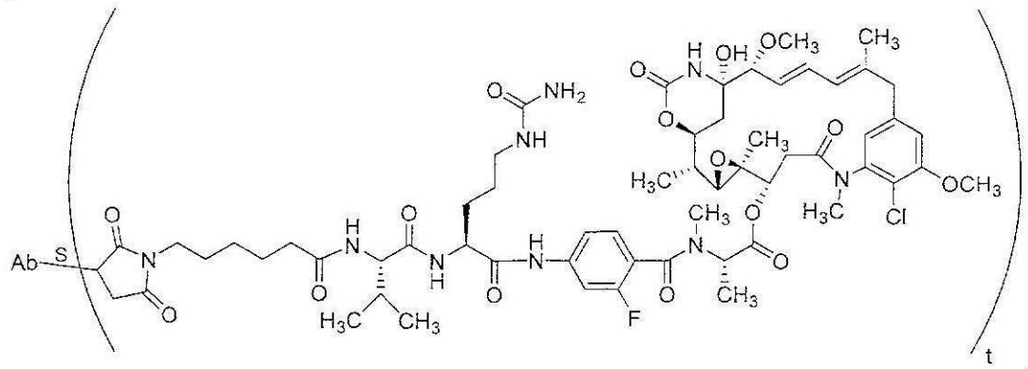




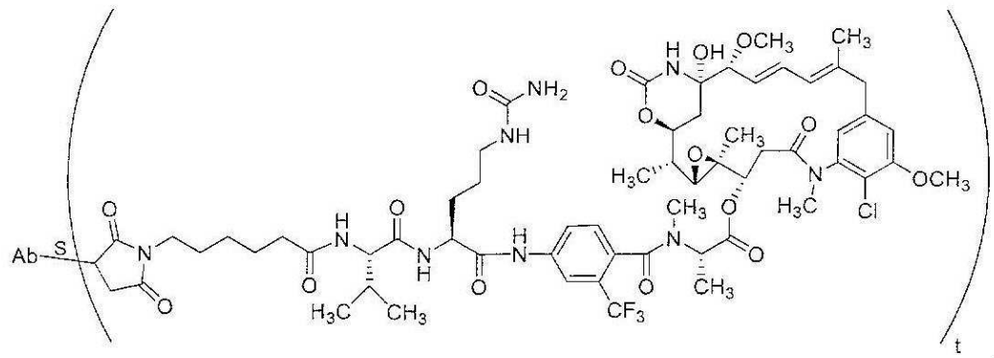
115. Un conjugado de fármaco anticuerpo, CARACTERIZADO porque es seleccionado de:

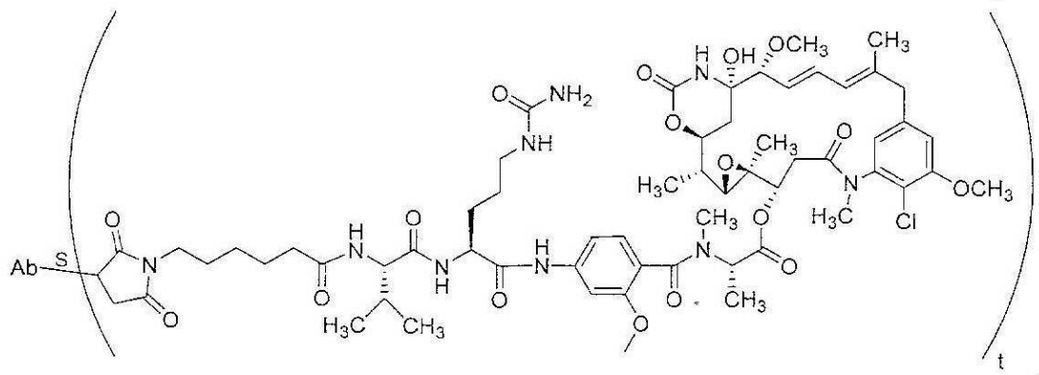


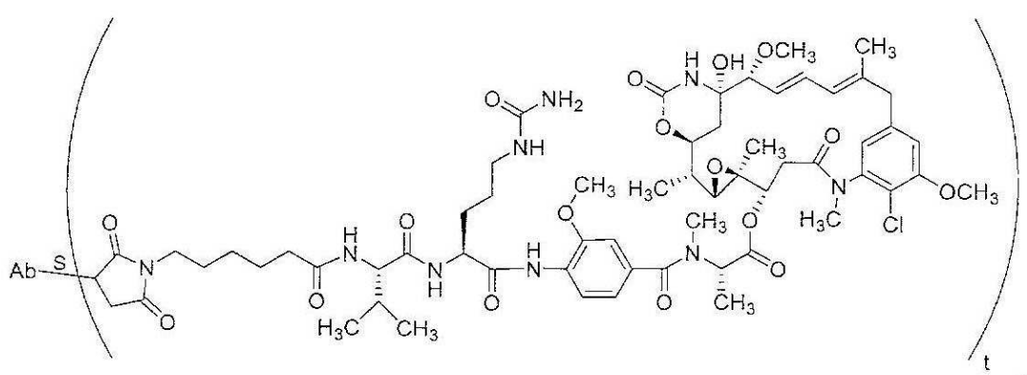
,

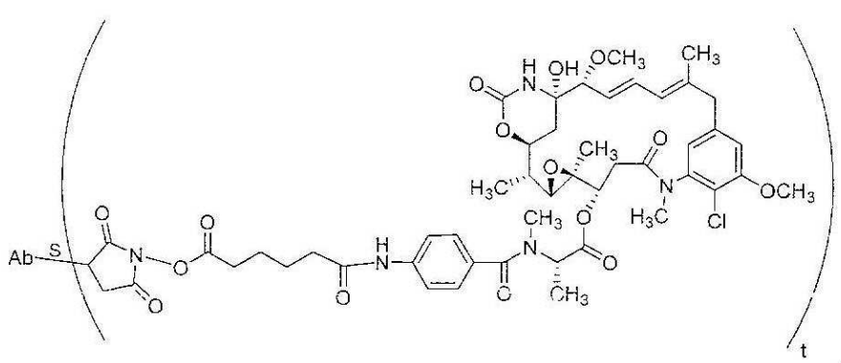


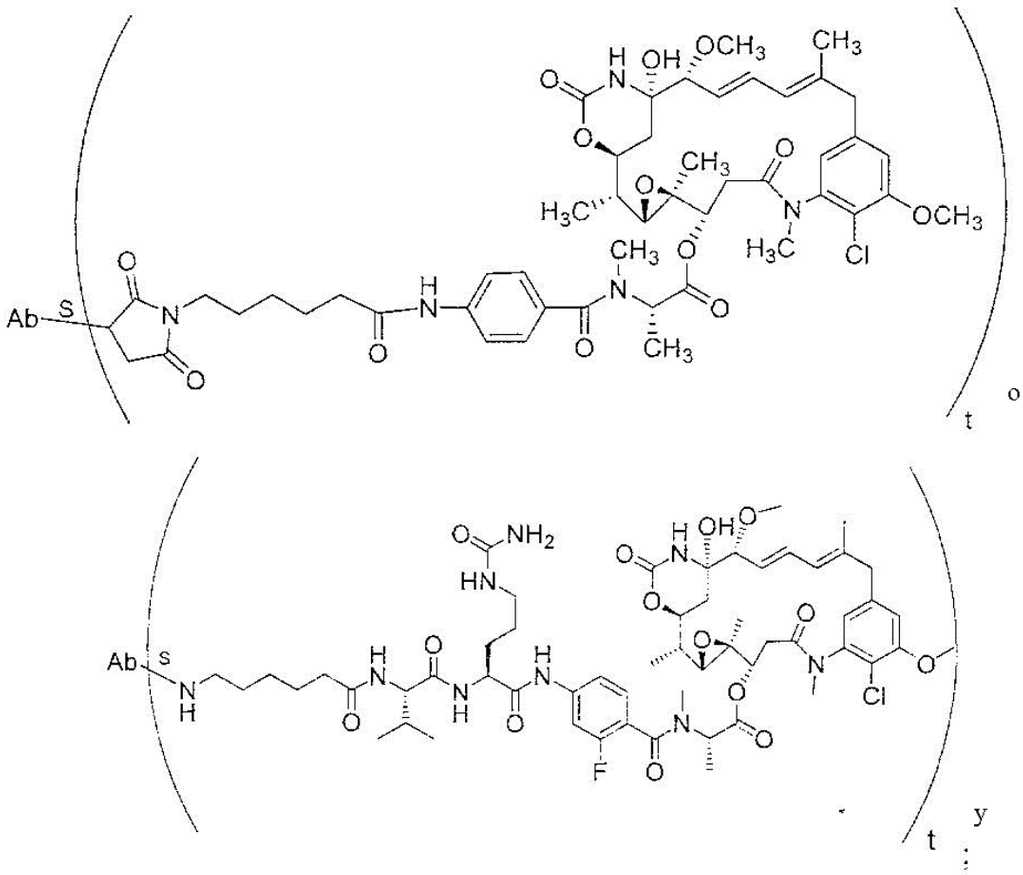
,











t es un entero desde 1 a 8.

RESUMEN

En este documento se proporcionan derivados de maitansinoides, conjugados de los mismos y métodos para tratar o evitar enfermedades proliferativas con los mismos.

TITULO

DERIVADOS DE MAITANSINOIDE, CONJUGADOS DE LOS MISMOS, Y METODOS DE USO.