Señores
DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Bogotá, D.C.

Re.: Expediente No. NC2019/0014286
Fase nacional de Solicitud PCT
REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

En relación con el expediente de la referencia y dando cumplimiento a la última providencia recaída sobre este asunto por medio del presente escrito me permito manifestarles lo siguiente:

1. De conformidad con instrucciones recibidas de mi representada, se adjunta un nuevo capítulo reivindicatorio, revisado y corregido.

   Las reivindicaciones 1-3 y 15 y las reivindicaciones renumeradas 26-31, 47, 56 y 57 se modifican para que reivindiquen de manera más clara y distinta el objeto. El respaldo para la reivindicación 28 renumerada se encuentra en la solicitud tal como fue presentada en los párrafos [0016], [0061], [00111], [00138], [00152], [00557], [00582], Tablas 2, 6 y 14, y FIG. 11. La reivindicación 28 renumerada se modifica nuevamente para que las variables citadas “X-Y-Z” y “n” tengan una fuente en negrita (p. ej., “**X**-**Y**-**Z**” y “**n**”). Estas modificaciones no están marcadas y se actualizan dentro de todas las reivindicaciones en este documento para fines de concordancia. El respaldo para la reivindicación 30 modificada se encuentra en la solicitud en el párrafo [00152]. La reivindicación 30 renumerada se modifica de nuevo para que la “Fórmula (B)” citada tenga una fuente en negrita (p. ej., “Fórmula (**B**)”), y para actualizar la dependencia de las reivindicaciones. La solicitud tal como fue presentada en los párrafos [00146] y [00149] respalda a la nueva reivindicación 31. Las reivindicaciones 31, 47, 56 y 57 renumeradas se modifican nuevamente para actualizar la dependencia de las reivindicaciones. Las reivindicaciones 56 y 57 renumeradas encuentran respaldo en la solicitud tal

como fue presentada en los párrafos [00125] y [00198].

Las reivindicaciones renumeradas 32-46, 48-55 y 62-75 se modifican para actualizar la dependencia de las reivindicaciones.

La reivindicación 75 es nueva. El respaldo para la nueva reivindicación 75 se encuentra en la solicitud tal como fue presentada en los párrafos [00129] y [00132]. La reivindicación 76 es nueva. El respaldo para la nueva reivindicación 76 se encuentra en la solicitud tal como fue presentada en la tabla 1.

2. El Examinador sostiene que las fórmulas I y Ia de las reivindicaciones 1-3, 15, y las reivindicaciones que dependen de ellas, no son claras porque los enlaces que unen a los sustituyentes R^1 y R^7 no están representados correctamente dentro de la estructura tricíclica. El Solicitante manifiesta su desacuerdo.

La reivindicación 1 modificada cita un compuesto de Fórmula I que no comprende **R^7**. Por lo tanto, la sociedad Solicitante sostiene que la reivindicación 1 modificada es clara porque el enlace a **R^1** se representa correctamente dentro de la estructura tricíclica. Las reivindicaciones 2, 3, 15 y las reivindicaciones que dependen de ellas son claras, al menos en virtud de su dependencia.

3. El Examinador sostiene que la reivindicación 26 anterior carece de claridad porque “un enlazador-carga útil” es ambiguo y relativo. La sociedad Solicitante manifiesta su desacuerdo.

La reivindicación 26 se cancela en el presente documento; por lo tanto, el examen ulterior de la reivindicación 26 es discutible.

4. El Examinador sostiene que las reivindicaciones anteriores 28 y 30 no son claras porque las reivindicaciones 28 y 30 se refieren a un “conjugado anticuerpo-medicamento”, que como se sostiene no es claro porque la referencia a un medicamento puede incluir una indicación de un uso del mismo en el tratamiento y/o prevención de enfermedades. Mi representada manifiesta su desacuerdo.

La Solicitante sostiene que las reivindicaciones 28 y 30 son ahora la reivindicación 27 renumerada y la reivindicación 29 renumerada, respectivamente. La Solicitante

sostiene que la reivindicación 27 renumerada es clara porque está dirigida a un compuesto. Mi representada sostiene que la reivindicación 29 renumerada también es clara porque se dirige a un compuesto o enlazador-carga útil, en donde el(los) enlazador(es)-carga(s) útil(es) está(n) claramente definido(s) mediante una estructura química como se solicitó anteriormente.

5. El Examinador sostiene que la reivindicación 29 (ahora 28) no es clara se refiere a expresiones tales como “anticuerpo”, “enlazador”, “un grupo reactivo de des-desdoblamiento enzimático”, “un grupo autoinmolante”, “un grupo reactivo ácido-lábil”, “un grupo reactivo al azúcar”, “un grupo de mejora” y “un enlazador de agentes aglutinantes” para caracterizar la Fórmula A, que son términos presuntamente funcionales e imprecisos. La Solicitante manifiesta su desacuerdo.

El Solicitante sostiene que la ahora reivindicación 28 es clara porque “enlazador”, “un grupo reactivo de des-desdoblamiento enzimático”, “un grupo autoinmolante”, “un grupo reactivo ácido-lábil”, “un grupo reactivo del azúcar”, “un grupo de mejora” y “un enlazador de agentes aglutinantes” no se citan en la reivindicación 28 renumerada modificada. Con respecto al “anticuerpo”, mi representada sostiene que la reivindicación 28 renumerada modificada cita que **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de este seleccionado entre anti-MSR1, anti-HER2 y anti-PRLR, lo cual arroja suficiente claridad como se evidencia en la reivindicación 28 renumerada.

6. Se adjunta una nueva versión de la descripción en la cual se han corregido todos los errores de transcripción y las fórmulas se encuentran correctamente plasmadas.

7. El Examinador sostiene que hay diferentes conceptos técnicos inventivos incorporados en las reivindicaciones pendientes. El examinador señala lo siguiente:

- Grupo inventivo 1: Un compuesto de fórmula I (reivindicaciones 1 a 25 y 30, 59 a 62);
- Grupo inventivo 2: Un enlazador-carga útil (reivindicaciones 26 a 27, 63, 64 a 66);
- Grupo inventivo 3: Un conjugado anticuerpo-medicamento (reivindicación 28); y
- Grupo inventivo 4: Un compuesto de fórmula A (reivindicaciones 29, 31 a 58, 67 a 75).

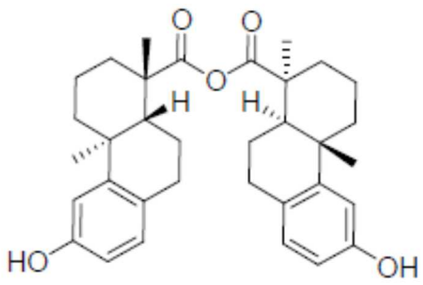
La sociedad solicitante manifiesta no estar de acuerdo con la supuesta falta de unidad argumentada por el Examinador.

En vista de las reivindicaciones renumeradas en este documento, la sociedad Solicitante sostiene que las reivindicaciones modificadas y/o renumeradas en este documento poseen unidad de invención porque (1) la reivindicación 1 modificada está dirigida a compuestos de carga útil; 2) la reivindicación 26 renumerada modificada está dirigida a enlazadores-cargas útiles específicos (es decir, compuestos de carga útil unidos a enlazadores); y (3) los enlazadores-cargas útiles de la reivindicación 26 renumerada modificada están dentro del alcance de la reivindicación 28 renumerada modificada en donde los compuestos citados en la reivindicación 28 renumerada enmendada son compuestos conjugados anticuerpo-medicamento que transportan los enlazadores-cargas útiles dentro de la reivindicación 26 renumerada modificada. Las reivindicaciones restantes dependen directa o indirectamente de las reivindicaciones modificadas renumeradas 26 o 28 y, por consiguiente, poseen unidad al menos en virtud de su dependencia.

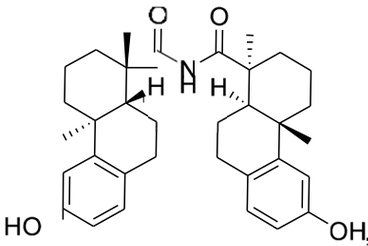
8. <u>Presunta falta de nivel inventivo</u>

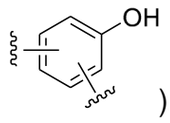
El Examinador sostiene que el grupo inventivo 1 carece de nivel inventivo en vista de D1 a Adams y D3 a Patani. El Solicitante manifiesta su desacuerdo.

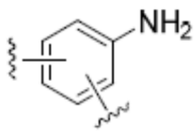
La reivindicación 1 modificada cita compuestos de Fórmula I que comprenden compuestos de carga útil.

D1 se refiere a compuestos de carga útil dirigidos a condiciones dislipidémicas. D1 enseña la síntesis y uso de ciertos anhídridos de bis-octahidrofenantreno o imidas de bis-octahidrofenantreno como, por ejemplo, 

o

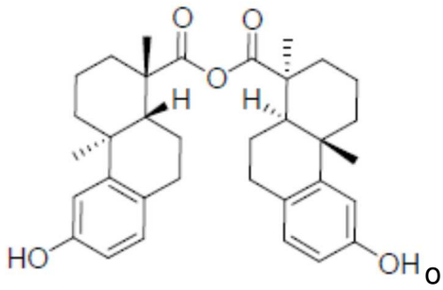
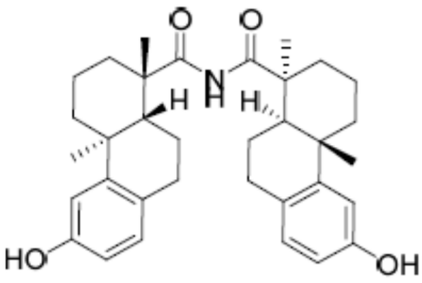


, respectivamente, como agonistas de LXR. Cabe destacar que D1 Fórmula I en **R¹** y/o **R⁷** solo ejemplifica los grupos funcionales arilo dentro de los anhídridos de bis-octahidrofenantreno o imidas de bis-octahidrofenantreno con oxígeno fenólico (es decir, 

). Otros grupos funcionales revelados en D1 en **R¹** y/o **R⁷** dentro de los anhídridos de bis-octahidrofenantreno, o las imidas de bis-octahidrofenantreno incluyen –OC(O)CH_3 (D1, 3:40; 4:31), y –OBn como grupo funcional dentro de un sintón intermedio. D1 no contiene ejemplos de grupos funcionales arilo en **R¹** y/o **R⁷** dentro de los anhídridos de bis-octahidrofenantreno o imidas de bis-octahidrofenantreno con nitrógeno de anilina (es decir, 

). Además, D1 sugiere que las modificaciones en **R¹** y/o **R⁷** dentro de los anhídridos de bis-octahidrofenantreno o las imidas de bis-octahidrofenantreno solo pueden incluir hidrógeno (ver D1, 11:34 y Esquema 3). Las pruebas biológicas en D1 solo se realizaron utilizando grupos funcionales arilo que contenían oxígeno fenólico.

D3 está dirigido al concepto de bioisosterismo. D3 enseña ***Ejemplos bioisostéricos específicos*** de la bibliografía (que en ese momento eran actuales) para cuantificar y correlacionar, en casos específicos, los efectos fisicoquímicos con la actividad biológica. D3, página 3148. En particular, (1) Patani sugiere específicamente que una sustitución bioisostérica específica de 3-aminobencilo **9a** a 3- hidroxibencilo **9b** produce valores similares de IC_{50} de unión al receptor de benzodiazepinas; y (2) Patani sugiere específicamente la sustitución de hidroxi a amino en derivados de folato (p. ej., folato a aminopterina; *infra*). Patani advierte además que la mera retención de los valores de IC_{50} *in vitro* (p. ej., relacionados con la unión al receptor de benzodiazepinas) a través del bioisosterismo de amino a hidroxilo no siempre dan lugar a eficacia favorable *in vivo* (es decir, ADME/PK/PD), en donde la eficacia *in vivo* puede diferir dramáticamente de los valores IC_{50} *in vitro* pertinentes. Patani, página 3151, primera columna, antes de la Sección 3. Patani no

considera anhídridos de bis-octahidrofenantreno o imidas de bis-octahidrofenantreno como, por ejemplo,  o  , respectivamente, por no hablar de las sustituciones bioisostéricas relacionadas con estos.

El estado de la técnica advierte claramente contra cualquier previsibilidad o seguridad relacionada con las sustituciones bioisostéricas.

El Examinador sugiere que una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente estaría motivada para aplicar una sustitución bioisostérica –OH a –NH2 a un anhídrido de bis-octahidrofenantreno o carboxamida de bis-octahidrofenantreno. El Solicitante manifiesta respetuosamente su desacuerdo con dicha estrategia y señala las siguientes contribuciones más recientes a la técnica como respaldo contra dicha estrategia:

- *Current Medicinal Chemistry* 2005, 12, 23 a Barreiro *et al*. (en lo sucesivo “Barreiro”); y

- *Chem* 2019, 5, 215 a Staveness *et al*. (en lo sucesivo “Staveness”).

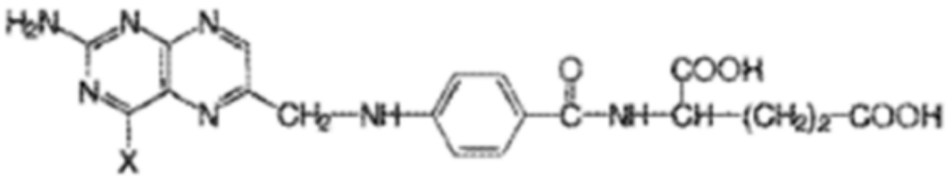
Inicialmente, D3 advierte que la mera retención de los valores de IC_{50} *in vitro* a través del bioisosterismo de amino a hidroxilo no siempre da lugar a eficacia favorable *in vivo* (es decir, ADME/PK/PD), en donde la eficacia *in vivo* puede diferir dramáticamente de los valores de IC_{50} *in vitro* pertinentes. La persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente encontraría más

enseñanzas de precaución en Barreiro. Barreiro advierte que “el uso correcto del bioisosterismo exige parámetros físicos, químicos, electrónicos y conformacionales involucrados en la sustitución bioisostérica planificada, cuidadosamente analizados para predecir, así sea teóricamente, cualquier alteración eventual en términos de las propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas que presenta la nueva sustancia bioisostérica”. (Barreiro, § 4, página 25). Además, Barreiro advierte que “el reemplazo bioisostérico que se produce con éxito en una serie de compuestos que actúan como un tipo de biorreceptor, no será necesariamente exitoso en otra serie terapéutica, actuando a través de otros receptores.” (Barreiro, § 4.1, página 27; *el subrayado es nuestro.*). En otras palabras, una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente no estaría incentivada a aplicar ciega y únicamente D3, que solo considera sustituciones bioisostéricas particulares, al considerar una sustitución bioisostérica en una clase estructural no relacionada como anhídridos de bis-octahidrofenantreno o imidas de bis-octahidrofenantreno como se reivindica. Una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente entendería que “algunos grupos bioisostéricos alteran drásticamente las propiedades fisicoquímicas de las sustancias [por ejemplo, solubilidad acuosa y/o reactividad química] y, por lo tanto, sus actividades [biológicas]”. (Barreiro, § 4.1, página 25). Por ejemplo, el Solicitante sostiene que la sustitución de oxígeno fenólico (pKa ~ 10) por nitrógeno de anilina (pKa ~ 30) o viceversa, que da lugar a un cambio significativo en las propiedades ácido-base o la reactividad química, y probablemente de los perfiles ADME/PK/PD, le daría a una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente una pausa incluso cuando se aplica a purinas 6,9-disustituidas como en D3 o los anhídridos de bis-octahidrofenantreno o las imidas de bis-octahidrofenantreno como se reivindica. La ausencia de otra enseñanza en la técnica pertinente sobre un intercambio bioisostérico similar en anhídridos de bis-octahidrofenantreno o imidas de bis-octahidrofenantreno ciertamente disuadiría a una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente de ejecutar tal intercambio.

El Solicitante sostiene además que las propiedades fisicoquímicas y los perfiles ADME/PK/PD son solo algunas de las propiedades que dan a la persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente una pausa al hacer sustituciones bioisostéricas. Por ejemplo, la toxicidad puede ser un problema que proyecta una sombra mucho más grande cuando se pretende optimizar compuestos biológicamente activos. En consecuencia, Barreiro también analizó los peligros de

la toxicidad de las “comparaciones simplistas” entre compuestos basados en “grupos isostéricos funcionales”. (Barreiro, § 4.1, páginas 25, 26). Staveness aconseja además que “[las] anilinas prevalecen en la generación de bibliotecas modernas debido a su facilidad de síntesis, a pesar de su reputación como el más “notorio” de todas las [alertas] estructurales (grupos funcionales conocidos porque predisponen a un compuesto líder hacia toxicidades derivadas del metabolismo o hacia el riesgo de interacciones adversas entre medicamentos). Esta propensión a la susceptibilidad metabólica perjudicial aumenta la importancia de administrar [otros sistemas] que puedan reemplazar [a las anilinas]”. (Staveness, página 216; *el subrayado es nuestro.*). En vista de Staveness, el Solicitante sostiene respetuosamente que una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente se vería disuadida de una sustitución bioisostérica de –OH a –NH2 debido a tal propensión resultante a la susceptibilidad metabólica nociva, especialmente dentro de los anhídridos de bis-octahidrofenantreno o las imidas de bis-octahidrofenantreno. Por lo tanto, en vista de Barreiro y Staveness, la persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente se alejaría de las sustituciones bioisostéricas de hidrógeno a nitrógeno de anilina debido a la toxicidad conocida de los nitrógenos de anilina.

En particular, D3 en sí mismo describe un intercambio bioisostérico de hidroxilo a nitrógeno de anilina que finalmente da lugar a los escenarios nocivos posiblemente esperados descritos en Barreiro y Staveness. Esto significa que una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente habría sabido en o alrededor de 1996, por el propio D3, que los intercambios bioisostéricos de hidrógeno a nitrógeno de anilina eran problemáticos debido a los atributos funcionales físicos, químicos, electrónicos, conformacionales y tóxicos resultantes vinculados a dicho cambio estructural de hidrógeno a nitrógeno de anilina. Más específicamente, el Solicitante dirige respetuosamente la atención del Examinador a D3, página 3150, y a la discusión relacionada con el folato (benigno) y la sustitución bioisostérica a la aminopterina (tóxica). La figura 5 de D3 se reproduce a continuación como referencia.



8a X = OH ácido fólico

8b X = NH_2 aminopterina

Figura 5.

El Solicitante sostiene que **8a** de D3, ácido fólico, también conocido como vitamina B9, es una de las vitaminas del complejo B. El folato es necesario en muchos procesos celulares y para la división celular. No obstante, D3 sugiere que quizás el ejemplo “más conocido” de sustitución bioisostérica clásica se relaciona con un intercambio del hidroxilo en **8 bis** (ácido fólico) de D3 a amino en **8b** (aminopterina) de D3. El Solicitante sostiene que la aminopterina es un medicamento antineoplásico que bloquea la síntesis de tetrahidrofolato y que a menudo resulta útil en quimioterapia. Por lo tanto, en contraposición con los beneficios del ácido fólico, el nitrógeno similar a la anilina en la aminopterina afecta negativamente a las células al agotar los precursores de nucleótidos necesarios para la división celular. El Solicitante sostiene que el intercambio “más conocido” del hidroxilo del ácido fólico por el grupo amino en la aminopterina es bien conocido debido a los escollos tóxicos inherentes a las sustituciones bioisostéricas sin precedente de hidrógeno a nitrógeno de anilina, como lo enseña la propia D3 junto con Barreiro y Staveness. Si bien las sustituciones bioisostéricas son bien conocidas, una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente estaría particularmente adversa a las sustituciones bioisostéricas de hidrógeno a nitrógeno anilina por las razones de toxicidad “más conocidas” discutidas en D3 (es decir, folato a aminopterina). Por lo tanto, el Solicitante sostiene que D3 (1996) enseña a evitar la sustitución bioisostérica del hidrógeno por nitrógeno de anilina debido al potencial comúnmente conocido de efectos tóxicos adversos de tal intercambio. Este conocimiento de la sustitución bioisostérica perjudicial de hidroxilo a nitrógeno de anilina claramente sigue a la vanguardia en las mentes de las personas medianamente versadas como se describe en Barreiro (2005) y Staveness (2019).

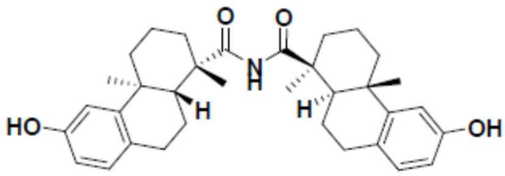
En resumen, una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente ciertamente apreciaría las enseñanzas bioisostéricas de D3, pero

no sustituiría ciegamente el hidrógeno por nitrógeno de anilina sin reconocer los problemas de toxicidad conocidos relacionados con la funcionalidad de la anilina. D3 es una buena referencia para el concepto de bioisosterismo general, pero D3 no es la "última palabra" sobre una certeza asegurada para un intercambio de hidrógeno a nitrógeno de anilina sugerido por el Examinador. En el mejor de los casos, el Examinador está utilizando un análisis retrospectivo inadecuado con respecto a la puesta en práctica del intercambio bioisostérico de hidroxilo por nitrógeno de anilina enseñado en D3 como una solución segura para generar compuestos presuntamente obvios. En contraposición, como se enseña en D3 y más recientemente en Barreiro y Staveness, la persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente se lo pensaría dos veces antes de vagar por el camino bioisostérico sugerido por el Examinador.

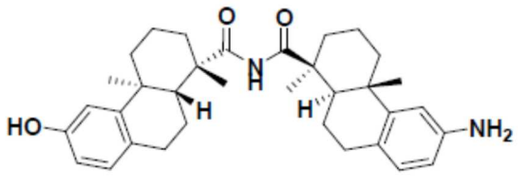
El compuesto 9d posee propiedades inesperadas que refutan cualquier afirmación de falta de nivel inventivo

El compuesto **9d** exhibe propiedades inesperadas suficientes para refutar cualquier presunción de falta de nivel inventivo. D1 divulga (4β,5α)-12-Hidroxi-N-[(4β,5α)-12-hidroxi-16-oxopodocarpa- 8,11,13-trien-16-il]podocarpa-8,11,13-trien-16-amida (D1, 13; Ejemplo 11) que corresponde al compuesto **9a** del Solicitante. El Solicitante llama la atención de la Oficina al ejemplo 65, párrafos [00571]-[00574], y/o a la tabla 8 de la solicitud tal como fue presentada. El Solicitante sostiene que el ejemplo 65 de la tabla 8 muestra que el compuesto **9a** posee un > 1 nM, pero ≤ 10 nM EC_{50} para la actividad funcional basada en células THP1/LXR-Luc. En virtud de la presunta teoría "D1 D3" expuesta por el examinador, el Solicitante sostiene que una persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente debe esperar que la sustitución de un oxígeno fenólico como en el compuesto **9a** por un nitrógeno de anilina (p. ej., como en el compuesto **9d** del Solicitante), daría lugar a que **9d** tuviera una actividad similar al compuesto **9a** en las mismas condiciones de ensayo.

En contraposición con la expectativa anterior, el Solicitante señala respetuosamente que el compuesto **9d** posee una ≤ 1 nM EC_{50} en las mismas condiciones de ensayo; en otras palabras, mayor potencia en comparación con el compuesto **9a**. El compuesto conocido **9a**, compuesto del Solicitante **9d**, y la tabla 8 del Solicitante se reproducen a continuación.



Compuesto **9a**



Compuesto **9d**

Tabla 8. Enlace libre de células y actividad funcional basada en células a las 48 horas

Cpd #	Enlace libre de células		Activación de células THP1/LXR-Luc	
	LXRα IC50	LXRβ IC50	Magnitud de la activación	EC50 (nM)
9a	+++	+++	Activación completa	+++
9b	+++	+++	Activación completa	+++
9c	++	+++	Activación completa	++
9d	+++	+++	Activación completa	++++
9e	+++	+++	Activación completa	+++
9f	+++	+++	Activación completa	+++
9h	++++	++++	Activación completa	++++
9i	+++	+++	Activación parcial	++
9j	+++	+++	Activación completa	++++
9k	++	+++	Activación completa	+++
9l	++	++	Activación completa	+++
9m	++	+++	Activación completa	+++
9n	++	+++	Activación completa	++++
9o	++	+++	Activación completa	++++
9p	++	+++	Activación completa	+++
9q	+++	+++	Activación completa	++
9r	+++	+++	Activación completa	++
9t	+	+	Activación parcial	++
9u	++	++	Activación parcial	+++

Cpd #	Enlace libre de células		Activación de células THP1/LXR-Luc	
	LXRα IC50	LXRβ IC50	Magnitud de la activación	EC50 (nM)
17b	++	+++	Activación completa	++
17c	+	+++	Activación completa	++++
31	+++	+++	Activación parcial	++
GW3965	+++	+++	Activación completa	+
T0901317	++++	+++	Activación completa	++

IC_{50}: ++++: ≤ 1 nM; +++: ≤10 nM> 1 nM; ++: ≤100 nM > 10 nM; +: >100nM. NT: no probado. EC_{50}: ++++: ≤ 1 nM; +++: ≤10 nM> 1 nM; ++: ≤100 nM > 10 nM; +: >100nM. NT: no probado.

Por lo tanto, la Solicitante presenta respetuosamente que los resultados inesperados anteriores para el compuesto **9d** en comparación con el compuesto **9a** demuestran que la sustitución del oxígeno fenólico del compuesto **9a** por un nitrógeno de anilina como es el caso en el compuesto **9d** da como resultado una actividad inesperadamente diferente.

Además, las reivindicaciones 26 y 28 modificadas se refieren a los enlazadores-cargas útiles y a los conjugados anticuerpo-medicamento de estos, respectivamente. El Solicitante sostiene que no hay nada en D1, D3 o en su combinación que enseñe o sugiera cómo modificar los compuestos descritos en D1 y/o D3 para llegar a los enlazadores-cargas útiles o a los conjugados anticuerpo-medicamento reivindicados. Por lo tanto, en ausencia de tal enseñanza o sugerencia, la materia reivindicada posee nivel inventivo. Mi representada sostiene que las restantes reivindicaciones pendientes dependen, directa o indirectamente, de la reivindicación modificada 1 o de las reivindicaciones modificadas renumeradas 26 y 28 y, en este sentido, estas reivindicaciones poseen nivel inventivo al menos en virtud de su dependencia. Por consiguiente, el Solicitante solicita respetuosamente que se retire el rechazo contra al menos el Grupo Inventivo 1.

En resumen, el Solicitante sostiene que los resultados inesperados relacionados con el compuesto **9d** en del Solicitante vista del compuesto **9a**, y la enseñanza adversa descrita en D3 (es decir, de folato beneficioso a aminopterina perjudicial a

través de la sustitución bioisostérica) hace que el objeto del Grupo Inventivo 1 posea nivel inventivo. La reivindicación 28 renumerada es una reivindicación ADC que lleva el objeto de la reivindicación 1 modificada. Las reivindicaciones 2-25 y las reivindicaciones renumeradas 57-61 dependen, directa o indirectamente, de la reivindicación 1 modificada o de la reivindicación 28 renumerada modificada y poseen nivel inventivo al menos en virtud de su dependencia.

En consecuencia, de las modificaciones introducidas al capítulo reivindicatorio y los argumentos arriba expuestas se puede concluir que la materia aquí reclamada cumple con los requisitos de patentabilidad exigidos por la Decisión 486.

Renuncio al término faltante de traslado, y les solicito otorgar el privilegio de patente de invención aquí tramitado.

De Ustedes Atentamente,

LUIS FELIPE CASTILLO GIBSONE
T.P. No. 68.995 del C.S.J.

BIS-OCTAHIDROFENANTRENO CARBOXAMIDAS Y CONJUGADOS DE PROTEÍNAS DE LAS MISMAS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] Esta solicitud reclama el beneficio bajo 35 U.S.C. § 119 de la solicitud provisional de EE.UU. No. 62/508,327, presentada el 18 de mayo de 2017, cuyo contenido se incorpora por referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0002] En el presente documento se proporcionan nuevas bis-octahidrofenantrenocarboxamidasy conjugados de proteínas de las mismas, y métodos para tratar una variedad de enfermedades, trastornos y afecciones que incluyen la administración de las bis-octahidrofenantrenocarboxamidas, y sus conjugados de proteínas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0003] Los conjugados de fármaco-anticuerpo (ADC) son anticuerpos que se unen a fármacos de molécula pequeña biológicamente activos, combinando así la especificidad de direccionamiento de anticuerpos con el modo de acción y la potencia de fármacos de molécula pequeña. La utilidad terapéutica de los ADCs ha sido validada en el tratamiento del cáncer y es un foco principal de estudio en curso. ADCETRIS® (bentruximabvedotin) y KADCYLA® (ado-trastuzumabemtansina) son dos ADCs aprobados para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer, y al menos cuarenta ADCs se encuentran actualmente en desarrollo clínico.

[0004] El receptor de hígado X (LXR) incluye LXRα y LXRβ que son factores de transcripción dependientes de ligandos que controlan la expresión de genes implicados en la homeostasis del colesterol, los lípidos y la glucosa, la inflamación y la inmunidad innata. LXRα se expresa altamente en el hígado, el intestino, el tejido adiposo y los macrófagos diferenciados; y LXRβ se expresa de forma ubicua. Los LXRs tienen varias funciones biológicas que incluyen (i) estimular la expresión de transportadores de colesterol, por

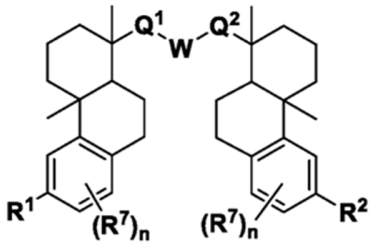
ejemplo, ABCA1 y ABCG1, ambos de los cuales median la salida de colesterol celular; y (ii) regular negativamente la expresión del gen inflamatorio de macrófagos mediante la represión de la activación de NF-kB. Los LXRs también se han implicado en aterosclerosis, trastornos proliferativos, trastornos neurodegenerativos e inflamación. Los trastornos proliferativos incluyen melanomas, cáncer de pulmón, carcinoma escamoso oral y cáncer de próstata. (Penchevaet al.2004; Wu et al.2015; Kaneko et al.2015; Chuuet al.2006). Los trastornos neurodegenerativos incluyen la enfermedad de Alzheimer y la expresión del gen de mielina. (Terwelet al.2011; Sandoval-Hernandezet al.2016; Meffreet al.2014). La inflamación incluye enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn y artritis. (Anderson et al.2011; Huang et al.2015; Cui et al.2012). Se sabe que los LXRs de macrófagos incluyen actividad antiaterogénica. Se cree que los agonistas de LXRs son capaces de (i) inhibir el inicio y retrasar la progresión de la aterosclerosis; (ii)mitigar la aterosclerosis y estabilizar las lesiones ateroscleróticas establecidas; y (iii) reducir el contenido de macrófagos de la lesión por apoptosis.

[0005] El potencial terapéutico de los moduladores de LXR de molécula pequeña está limitado, por ejemplo, por una modulación no deseada de LXR en células no objetivo y/o baja biodisponibilidad. La modulación de LXR en células no diana puede conducir a efectos secundarios indeseables, y la baja biodisponibilidad puede manifestarse por innumerables razones que incluyen, entre otras, la baja solubilidad que exacerba aún más las ventanas terapéuticas deficientes para el tratamiento. El desarrollo de ADCs que comprendan moduladores de LXR permitiría una modulación específica de destino de LXR, evitando así los efectos secundarios causados por la modulación fuera de objetivo de LXR. Además, tales ADCs proporcionarían una modulación mejorada de objetivos biológicos, una biodisponibilidad mejorada y una ventana terapéutica mejorada. Por lo tanto, existe una continua necesidad de tratamientos efectivos de, por ejemplo, enfermedades metabólicas usando ADCs de molécula pequeña de moduladores de LXR.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

[0006] En el presente documento se proporcionan compuestos útiles, por ejemplo, para el tratamiento de enfermedades metabólicas que incluyen, sin limitación, dislipidemia. También se proporcionan en el presente documento compuestos útiles, por ejemplo, para el tratamiento de inflamación o una enfermedad neurodegenerativa. Los compuestos proporcionados aquí están de acuerdo con la Fórmula I.

[0007] En una modalidad, en este documento se proporcionan compuestos de acuerdo con la Fórmula I:



(I)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

cada uno de Q1 y Q2 incluye, independientemente, -CH2-, -C(O)-, -C(H)(OH)-, -C(OH)2-, -SO2-, -SO-, -PO(OR11)-, -PO(NR11NR12)-, -NR11-, o -N=;

W incluye -CH2-, -N(H)- u -O-;

R1 incluye -H, -OR6, -OH, -NH2, alquilo o -OP(O)(OR6)2;

R2 incluye -H, -OH, -OR11, haluro, -SO2NR11R12, -CONR11R12, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5, en donde R1 y R2 no son simultáneamente -H;

R3 incluye -N(R6)2;

R4 incluye -X-Y-Z;

X incluye el grupo formado por -O- y -N(H)-;

Y incluye el grupo que consiste en alquileno, alquileno sustituido (que incluye oxo, es decir, =O), heteroalquileno y heteroalquileno sustituido (que incluye oxo, es decir, =O);

Z incluye el grupo que consiste en -OH y -NH2;

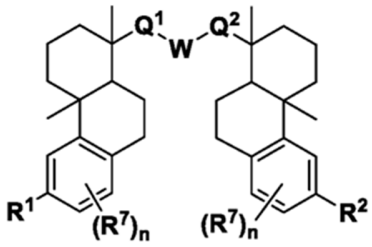
R5 incluye alquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, e incluye al menos un -OH o -CH2OH, o al menos un nitrógeno primario o secundario;

cada R6 incluye, independientemente en cada caso, -H, un residuo de aminoácido, un residuo de N-alquil aminoácido, un péptido, un resto biodegradable o alquilo;

cada R7 incluye independientemente halo, alquilo de C1-6, alcoxi de C1-6, -CN, O-glucosa, residuo de O-aminoácido y O-PEGn, en donde cada n es un número entero de 0-3; y

cada R11 y R12 se seleccionan independientemente de -H, alquilo y arilo.

[0008] En una modalidad, en este documento se proporcionan compuestos de acuerdo con la Fórmula I:



(I)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable delos mismos, en donde

cada uno de Q1 y Q2 incluye, independientemente, -CH2-, -C(O)-, -C(H)(OH)-,o -C(OH)2-;

W incluye -CH2-, -N(H)- u -O-;

R1 incluye -H, -OH, -NH2, alquilo o -OP(O)(OR6)2;

R2 incluye -H, -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5, en donde R1 y R2 no son simultáneamente -H;

R3 incluye -N(R6)2;

R4 incluye -X-Y-Z;

X incluye el grupo formado por -O- y -N(H)-;

Y incluye el grupo que consiste en alquileno, alquileno sustituido (incluyendo, sin limitación, sustitución oxo (es decir, =O)), heteroalquileno y heteroalquileno sustituido (incluyendo, sin limitación, sustitución oxo (es decir, =O));

Z incluye el grupo que consiste en -OH y -NH2;

R5 incluye alquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido incluye uno, dos o tres heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno, e incluye al menos un sustituyente -OH o CH2OH, o al menos un nitrógeno primario o secundario, por ejemplo,O-glucosa;

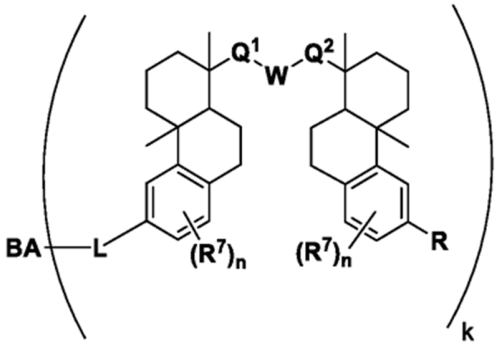
cada R6 incluye, independientemente en cada caso, -H, un residuo de aminoácido, un residuo de N-alquil aminoácido, un péptido o alquilo; y

cada R7 incluye independientemente halo, alquilo de C1-6, alcoxi de C1-6, -CN, O-glucosa, residuo de O-aminoácido y O-PEGn, en donde cada n es un número entero de 0-3.

[0009] En otra modalidad, se expone en el presente documento un enlazador-carga útil que tiene un compuesto de acuerdo con la Fórmula I anterior.

[0010] En otra modalidad, se expone en el presente documento un conjugado anticuerpo-fármaco que tiene un compuesto de la Fórmula I o enlazador-carga útil, anteriormente, unido a un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

[0011] En otra modalidad, se exponen en el presente documento compuestos de acuerdo con la Fórmula A:



(A)

o una sal farmacéuticamente aceptable, o una forma estereoisomérica de los mismos, en donde

L es un enlazador;

BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

cada uno de Q1 y Q2 es independientemente -CH2-, -C(O)-, -C(H)(OH)- o -C(OH)2-;

W es -CH2-, -N(H)- u -O-;

R es independientemente -H, -OH o -OP(O)(OR6)2; y

cada R6 es, independientemente en cada caso, -H, un residuo de aminoácido, un residuo de N-alquil aminoácido, un péptido o alquilo; y

cada R7 es independientemente halo, alquilo de C1-6, alcoxi de C1-6, -CN, O-glucosa, residuo de O-aminoácido y O-PEGn, en donde cada n es un número entero de 0-3.

[0012] En otra modalidad, se expone en el presente documento una composición farmacéutica, que incluye un compuesto, enlazador-carga útil o conjugado de anticuerpo-fármaco descrito en el presente documento y un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[0013] En otra modalidad, se expone en el presente documento un método para el tratamiento de dislipidemia, una enfermedad metabólica, inflamación o una enfermedad neurodegenerativa en un sujeto que incluye la administración al sujeto de una cantidad de tratamiento eficaz de un compuesto, enlazador-carga útil, o conjugado anticuerpo-fármaco, o composición farmacéutica descrita en el presente documento.

[0014] En otra modalidad, se exponen en el presente documento métodos para preparar los compuestos, los enlazadores-cargas útiles o los conjugados de anticuerpo-fármaco, y las composiciones descritas en el presente documento.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0015] Las figuras 1, 1a-1i, 2, 3a-3e y 4-10 muestran esquemas de química sintética para las bis-octahidrofenantrenocarboxamidas, los enlazadores-cargas útilesa base de ciclodextrina y sus conjugados de proteínas.

[0016] La figura 11 muestra el gel SDS-PAGE teñido con Coomassie de anticuerpo anti-Her2, anti-Her2-PEG3-N3 y anti-Her2-LP8.

[0017] La figura 12 muestra SEC de anti-Her2 Ab, anti-Her2-PEG3-N3 y anti-Her2-LP8.

[0018] La figura 13 muestra la activación de los genes ABCA1 y ABCG1 por los agonistas de LXR.

[0019] La figura 14 muestra los valores de EC50 usando una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva de respuesta a la dosis de 10 puntos.

[0020] La figura 15 es una gráfica que ilustra el porcentaje de flujo de salida de colesterol dependiente de la dosis en macrófagos THP 1 para un conjugado ejemplar de anticuerpo MSR1-LXR, su contraparte no conjugada, un conjugado de control de isotipo-LXR y la carga útil libre correspondiente.

[0021] La figura 16 proporciona una serie de gráficas de barras que ilustran el efecto de un ejemplo de conjugado de anticuerpo MSR1-agonista de LXR y su contraparte no conjugada en los niveles de lípidos en suero en un modelo de ratón de aterosclerosis.

[0022] La figura 17 proporciona una serie de gráficas de barras que ilustran el efecto de un ejemplo de conjugado de anticuerpo MSR1-agonista de LXR y su contraparte no conjugada en el área de lípidos de la lesión y el contenido de macrófagos (CD68) en un modelo de ratón de aterosclerosis.

[0023] La figura 18 proporciona una serie de gráficas de barras que ilustran el efecto de un ejemplo de conjugado de anticuerpo MSR1-agonista de LXR y su contraparte no conjugada en los niveles de triglicéridos y colesterol hepáticos en un modelo de aterosclerosis en ratón.

[0024] La figura 19 proporciona una serie de gráficas de barras que ilustran el efecto de un ejemplo de conjugado de anticuerpo MSR1-agonista de LXR y su contraparte no conjugada en la lipogénesis de novo en un modelo de aterosclerosis en ratón.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

[0025] En este documento se proporcionan compuestos, composiciones y métodos útiles para tratar, por ejemplo, dislipidemia, una enfermedad metabólica, inflamación o una enfermedad neurodegenerativa, en un sujeto.

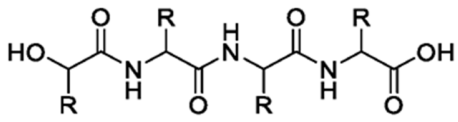
Definiciones

[0026] Cuando se hace referencia a los compuestos proporcionados aquí, los siguientes términos tienen los siguientes significados a menos que se indique lo contrario. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la materia. En el caso de que haya una pluralidad de definiciones para un término provisto aquí, estas definiciones prevalecen a menos que se indique lo contrario.

[0027] Según se usa en el presente documento, "alquilo" se refiere a un radical radical hidrocarbonado monovalente y saturado. Alquilo está opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado o cíclico, es decir, cicloalquilo. Alquilo incluye, pero no se limita a, los radicales que tienen 1-20 átomos de carbono, es decir, alquilo de C1-20; 1-12 átomos de carbono, es decir, alquilo de C1-12; 1-8 átomos de carbono, es decir, alquilo de C1-8; 1-6 átomos de carbono, es decir, alquilo de C1-6; y 1-3 átomos de carbono, es decir, alquilo de C1-3. Ejemplos de restos alquilo incluyen, pero no se limitan a metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, s-butilo, t-butilo, i-butilo, un resto pentilo, un resto hexilo, ciclopropilo, ciclobutilo,ciclopentilo y ciclohexilo. Un resto pentilo incluye, pero sin limitación, n-pentilo e i-pentilo. Un resto hexilo incluye, pero no se limita a, n-hexilo.

[0028] Según se usa en el presente documento, "alquileno" se refiere a un grupo alquilo divalente. A menos que se especifique lo contrario, el alquileno incluye, pero no se limita a, 1-20 átomos de carbono. El grupo alquileno está opcionalmente sustituido como se describe en el presente documento por alquilo. En algunas modalidades, el alquileno no está sustituido.

[0029] Según se usa en el presente documento, el término "O-aminoácido" o "HO-aminoácido" designa un aminoácido en el que el grupo amino nativo en el extremo N de un aminoácido o una secuencia de aminoácidos ha sido reemplazado por un oxígeno o grupo hidroxilo, respectivamente. Por ejemplo, "O-AAAA" o "HO-AAAA" está destinado a designar una secuencia de aminoácidos (AAAA) en la que el grupo amino nativo en el extremo N ha sido reemplazado con un grupo oxígeno o hidroxilo, respectivamente (por ejemplo,



, en donde cada R es una cadena lateral de aminoácidos). De manera similar, los términos "residuo de O-aminoácido" o "residuo de HO-aminoácido" se refieren al resto químico dentro de un compuesto que permanece después de una reacción química. Por ejemplo, "residuo de O-aminoácido" o "residuo de HO-aminoácido" se refiere al producto de un acoplamiento de amida o acoplamiento de péptido de un O-aminoácido o un HO-aminoácido a un compañero de acoplamiento adecuado; en donde, por ejemplo, se expulsa una molécula de agua después del acoplamiento de amida o péptido del O-aminoácido o un HO-aminoácido, lo que da como resultado que el producto tenga el residuo de O-aminoácido o un residuo de HO-aminoácido incorporado en el mismo.

[0030] La designación de un aminoácido o residuo de aminoácido sin especificar su estereoquímica pretende abarcar la forma L del aminoácido, la forma D del aminoácido o una mezcla racémica de los mismos.

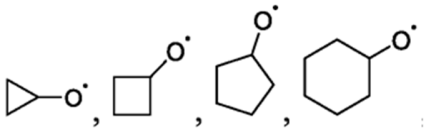
[0031] Según se usa en el presente documento, "haloalquilo" se refiere a alquilo, como se definió anteriormente, en donde el alquilo incluye al menos un sustituyente seleccionado de un halógeno, por ejemplo, flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I). Ejemplos dehaloalquilo incluyen, pero no se limitan a, CF3, CH2CF3, -CCl2F y -CCl3.

[0032] Como se usa en este documento, "alquenilo" se refiere a un resto radical hidrocarbonado monovalente que contiene al menos dos átomos de carbono y uno o más dobles enlaces carbono-carbono no aromáticos. Alquenilo está opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado o cíclico. Alquenilo incluye, pero no se limita a, los radicales que tienen 2-20 átomos de carbono, es decir, alquenilo de C2-20; 2-12 átomos de carbono, es decir, alquenilo de C2-12; 2-8 átomos de carbono, es decir, alquenilo de C2-8; 2-6 átomos de carbono, es decir, alquenilo de C2-6; y 2-4 átomos de carbono, es decir, alquenilo de C2-4. Ejemplos de restos alquenilo incluyen, pero sin limitación, vinilo, propenilo, butenilo y ciclohexenilo.

[0033] Según se usa en el presente documento, "alquinilo" se refiere a un radical radical hidrocarbonado monovalente que contiene al menos dos átomos de carbono y uno o más triples enlaces carbono-carbono. Alquinilo está opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado o cíclico. Alquinilo incluye, pero no se limita a, los radicales que tienen 2-20

átomos de carbono, es decir, alquinilo de C2-20; 2-12 átomos de carbono, es decir, alquinilo de C2-12; 2-8 átomos de carbono, es decir, alquinilo de C2-8; 2-6 átomos de carbono, es decir, alquinilo de C2-6; y 2-4 átomos de carbono, es decir, alquinilo de C2-4. Ejemplos de restos alquinilo incluyen, pero sin limitación, etinilo, propinilo y butinilo.

[0034] Según se usa en el presente documento, "alcoxi" se refiere a un resto radical hidrocarbonado monovalente y saturado en el que el hidrocarburo incluye un enlace sencillo a un átomo de oxígeno y en donde el radical está localizado en el átomo de oxígeno, por ejemplo, CH3CH2-O • para etoxi. Los sustituyentes alcoxi se unen al compuesto que sustituyen a través de este átomo de oxígeno del sustituyente alcoxi. El alcoxi está opcionalmente sustituido y puede ser lineal, ramificado o cíclico, es decir, cicloalcoxi. Alcoxi incluye, pero no se limita a, aquellos que tienen 1-20 átomos de carbono, es decir, alcoxi de C1-20; 1-12 átomos de carbono, es decir, alcoxi de C1-12; 1-8 átomos de carbono, es decir, alcoxi de C1-8; 1-6 átomos de carbono, es decir, alcoxi de C1-6; y 1-3 átomos de carbono, es decir, alcoxi de C1-3. Ejemplos de restos alcoxi incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, n-propoxi, i-propoxi, n-butoxi, s-butoxi, t-butoxi, i-butoxi, un resto pentoxi y un resto hexoxi, ciclopropoxi, ciclobutoxi, ciclopentoxi y ciclohexoxi (es decir

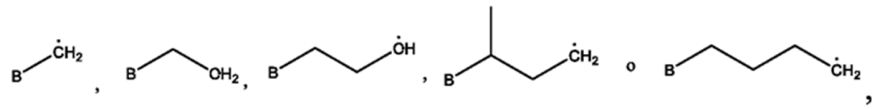


, respectivamente).

[0035] Según se usa en el presente documento, "haloalcoxi" se refiere a alcoxi, como se definió anteriormente, en donde el alcoxi incluye al menos un sustituyente seleccionado de un halógeno, por ejemplo, F, Cl, Br o I.

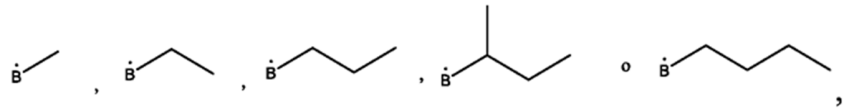
[0036] Según se usa en el presente documento, "arilo" se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto aromático en el que los átomos del anillo son átomos de carbono. Arilo está opcionalmente sustituido y puede ser monocíclico o policíclico, por ejemplo, bicíclico o tricíclico. Ejemplos de restos arilo incluyen, pero no se limitan a, aquellos que tienen de 6 a 20 átomos de carbono en el anillo, es decir, arilo de C6-20; 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, es decir, arilo de C6-15, y 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, es decir, arilo de C6-10. Ejemplos de restos arilo incluyen, pero no se limitan a fenilo, naftilo, fluorenilo, azulenilo, antrilo, fenantrilo y pirenilo.

[0037] Según se usa en el presente documento, "arilalquilo" se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto alquilo, en donde el compuesto alquilo está sustituido con un sustituyente aromático, es decir, el compuesto aromático incluye un enlace sencillo a un grupo alquilo y en donde el radical está localizado en el grupo alquilo. Un grupo arilalquilo se une a la estructura química ilustrada a través del grupo alquilo. Un arilalquilo puede estar representado por la estructura, por ejemplo,



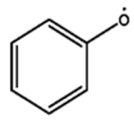
en la que B es un resto aromático, por ejemplo, fenilo. El arilalquilo está opcionalmente sustituido, es decir, el grupo arilo y/o el grupo alquilo, pueden estar sustituidos como se describe en el presente documento. Ejemplos dearilalquilo incluyen, pero no se limitan a, bencilo.

[0038] Según se usa en el presente documento, "alquilarilo" se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto arilo, en donde el compuesto arilo está sustituido con un sustituyente alquilo, es decir, el compuesto arilo incluye un enlace sencillo a un grupo alquilo y en donde el radical se localiza en el grupo arilo. Un grupo alquilarilo se une a la estructura química ilustrada a través del grupo arilo. Un alquilarilo puede estar representado por la estructura, por ejemplo,



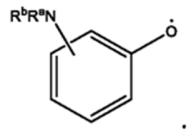
en la que B es un resto aromático, por ejemplo, fenilo. Alquilarilo está opcionalmente sustituido, es decir, el grupo arilo y/o el grupo alquilo, pueden estar sustituidos como se describe en este documento. Ejemplos dealquilarilo incluyen, pero no se limitan a, toluilo.

[0039] Según se usa en el presente documento, "ariloxi" se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto aromático en el que los átomos del anillo son átomos de carbono y en donde el anillo está sustituido con un radical oxígeno, es decir, el compuesto aromático incluye un enlace sencillo a un átomo de oxígeno y en donde el radical está localizado en el átomo de oxígeno, por ejemplo,

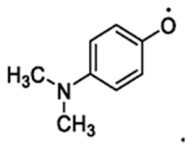


para fenoxi. Los sustituyentes ariloxi se unen al compuesto que sustituyen a través de este átomo de oxígeno. Ariloxi está opcionalmente sustituido. Ariloxi incluye, pero no se limita a, los radicales que tienen de 6 a 20 átomos de carbono en el anillo, es decir, ariloxi de C6-20; 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, es decir, ariloxi de C6-15, y 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, es decir, ariloxi de C6-10. Ejemplos de restos ariloxi incluyen, pero no se limitan a fenoxi, naftoxi y antroxi.

[0040] Como se usa en este documento, "RaRbN-ariloxi" se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto aromático en el que los átomos del anillo son átomos de carbono y en donde el anillo está sustituido con al menos un sustituyente RaRbN- y al menos un oxígeno radical, es decir, el compuesto aromático incluye un enlace simple a un sustituyente RaRbN- y un enlace simple a un átomo de oxígeno y en donde el radical está localizado en el átomo de oxígeno, por ejemplo,



Los sustituyentes RaRbN-ariloxi se unen al compuesto que sustituyen a través de este átomo de oxígeno. RaRbN-ariloxi está opcionalmente sustituido. RaRbN-ariloxi incluye, pero no se limita a, aquellos que tienen 6 a 20 átomos de carbono en el anillo, por ejemplo, (RaRbN)n-ariloxi de C6-20, 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, por ejemplo, (RaRbN)n-ariloxi de C6-15 y 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, por ejemplo, (RaRbN)n-ariloxi de C6-10, en donde n representa el número de sustituyentes RaRbN-. Un ejemplo de un resto RaRbN-ariloxi incluye, pero no se limita a 4-(dimetilamino)-fenoxi,



[0041] Según se usa en el presente documento, "arileno" se refiere a un resto divalente de un compuesto aromático en el que los átomos del anillo son solo átomos de carbono. El arileno está opcionalmente sustituido y puede ser monocíclico o policíclico, por ejemplo, bicíclico o tricíclico. Ejemplos de restos arileno incluyen, pero no se limitan a aquellos que tienen de 6 a 20 átomos de carbono en el anillo, es decir, arileno de C6-20; 6 a 15 átomos de carbono en el anillo, es decir, arileno de C6-15, y 6 a 10 átomos de carbono en el anillo, es decir, arileno de C6-10.

[0042] Según se usa en el presente documento, "heteroalquilo" se refiere a un alquilo en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos. Según se usa en el presente documento, "heteroalquenilo" se refiere a un alquenilo en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos. Según se usa en el presente documento, "heteroalquinilo" se refiere a un alquinilo en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos. Los heteroátomos adecuados incluyen, pero no se limitan a, átomos de nitrógeno, oxígeno y azufre. El heteroalquilo está opcionalmente sustituido. Ejemplos de restos heteroalquilo incluyen, pero sin limitación, aminoalquilo, sulfonilalquilo y sulfinilalquilo. Ejemplos de restos heteroalquilo también incluyen, pero sin limitación, metilamino, metilsulfonilo y metilsulfinilo.

[0043] Según se usa en el presente documento, "heteroarilo" se refiere a un resto monovalente que es un radical de un compuesto aromático en el que los átomos del anillo contienen átomos de carbono y al menos un átomo de oxígeno, azufre, nitrógeno o fósforo. Ejemplos de restos heteroarilo incluyen, pero no se limitan a aquellos que tienen de 5 a 20 átomos en el anillo; 5 a 15 átomos en el anillo; y de 5 a 10 átomos en el anillo. El heteroarilo está opcionalmente sustituido.

[0044] Como se usa en este documento, "heteroarileno" se refiere a un arileno en el que uno o más átomos del anillo del anillo aromático se reemplazan con un átomo de oxígeno, azufre, nitrógeno o fósforo. El heteroarileno está opcionalmente sustituido.

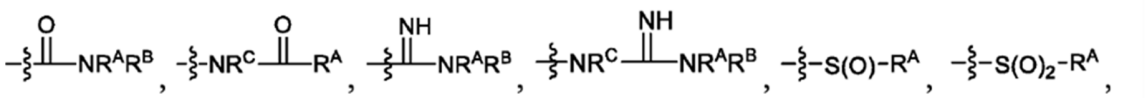
[0045] Según se usa en el presente documento, "heterocicloalquilo" se refiere a un cicloalquilo en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos. Los heteroátomos adecuados incluyen, pero no se limitan a, átomos de nitrógeno, oxígeno y azufre. El heterocicloalquilo está opcionalmente sustituido. Ejemplos de restos heterocicloalquilo incluyen, pero sin limitación, morfolinilo, piperidinilo, tetrahidropiranilo,

pirrolidinilo, imidazolidinilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, dioxolanilo, ditiolanilo, oxanilo o tianilo.

[0046] Según se usa en el presente documento, "ácido de Lewis" se refiere a una molécula o ion que acepta un par solitario de electrones. Los ácidos de Lewis usados en los métodos descritos en el presente documento son distintos de los protones. Los ácidos de Lewis incluyen, pero no se limitan a, ácidos no metálicos, ácidos metálicos, ácidos de Lewis duros y ácidos de Lewis blandos. Los ácidos de Lewis incluyen, pero no se limitan a, ácidos de Lewis de aluminio, boro, hierro, estaño, titanio, magnesio, cobre, antimonio, fósforo, plata, iterbio, escandio, níquel y zinc. Los ácidos ilustrativos de Lewis incluyen, pero no se limitan a, AlBr3, AlCl3, BCl3, tricloruro de boro, sulfuro de metilo, BF3, trifluoruro de boro, eterato de metilo, trifluoruro de boro, sulfuro de metilo, trifluoruro de boro, tetrahidrofurano, trifluorometansulfonato de diciclohexilboro, bromuro de hierro (III), cloruro de hierro (III), cloruro de estaño (IV), cloruro de titanio (IV), isopropóxido de titanio (IV), Cu(OTf)2, CuCl2, CuBr2, cloruro de zinc, haluros de alquilaluminio (RnAlX3-n, en donde R es hidrocarbilo), Zn(OTf)2, ZnCl2, Yb(OTf)3, SC(OTf)3, MgBr2, NiCl2, Sn(OTf)2, Ni(OTf)2 y Mg(OTf)2.

[0047] Según se usa en el presente documento, "heterocicloalquilo que contiene N" se refiere a un cicloalquilo en el que uno o más átomos de carbono están reemplazados por heteroátomos y en donde al menos un heteroátomo es un átomo de nitrógeno. Los heteroátomos adecuados además del nitrógeno incluyen, pero sin limitación, átomos de oxígeno y azufre. El heterocicloalquilo que contiene N está opcionalmente sustituido. Ejemplos de restos heterocicloalquilo que contienen N incluyen, pero sin limitación, morfolinilo, piperidinilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, oxazolidinilo o tiazolidinilo.

[0048] Según se usa en el presente documento, "opcionalmente sustituido", cuando se usa para describir un resto radical, por ejemplo, alquilo opcionalmente sustituido, significa que dicho resto está opcionalmente unido a uno o más sustituyentes. Ejemplos de tales sustituyentes incluyen, pero no se limitan a, halo, ciano, nitro, haloalquilo opcionalmente sustituido, azido, epoxi, heteroarilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, 





en donde RA, RB y RC son, independientemente cada vez que aparece, un átomo de hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo o heterocicloalquilo, o RA y RB junto con los átomos en los que están unidos, forman un anillo carbocíclico saturado o insaturado, en donde el anillo está opcionalmente sustituido y en donde uno o más átomos del anillo están opcionalmente reemplazados con un heteroátomo. En ciertas modalidades, cuando un resto radical está opcionalmente sustituido con un heteroarilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o anillo carbocíclico saturado o insaturado opcionalmente sustituido, los sustituyentes en el heteroarilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido o anillo carbocíclico saturado o insaturado opcionalmente sustituido, si están sustituidos, no están sustituidos con sustituyentes que además están opcionalmente sustituidos con sustituyentes adicionales. En algunas modalidades, cuando un grupo descrito en el presente documento está opcionalmente sustituido, el sustituyente unido al grupo no está sustituido a menos que se especifique lo contrario.

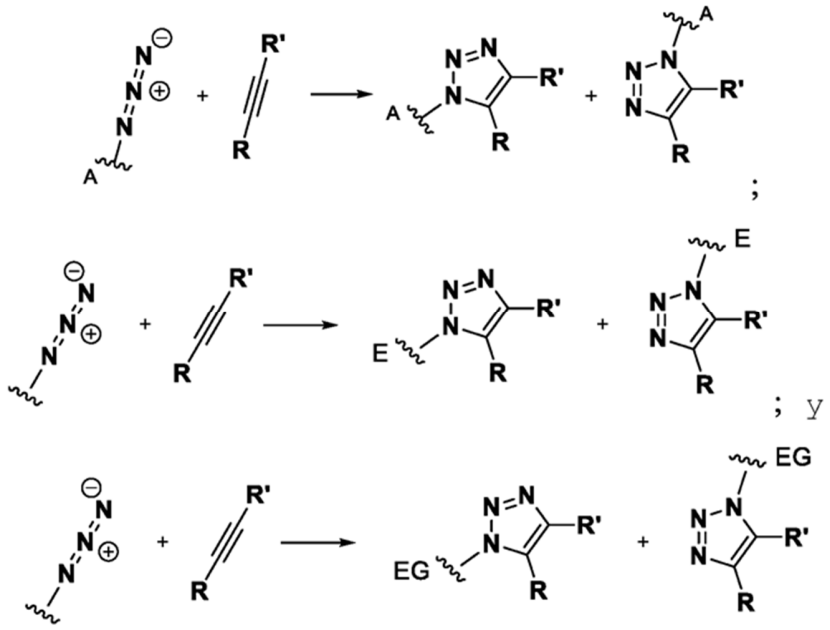
[0049] Según se usa en el presente documento, "agente de unión" se refiere a cualquier molécula, por ejemplo, proteína, capaz de unirse con especificidad a una pareja de unión dada, por ejemplo, antígeno.

[0050] Como se usa en este documento, "enlazador" se refiere a un resto divalente, trivalente o multivalente que une covalentemente el agente de unión a uno o más compuestos descritos en este documento, por ejemplo compuestos de carga útil y agentes potenciadores.

[0051] Según se usa en el presente documento, "condiciones de síntesis de amida" se refiere a 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 amida entre un ácido carboxílico y una amina. En algunos de estos ejemplos, el ácido carboxílico se convierte primero en un ácido carboxílico activado antes de que el ácido carboxílico activado reaccione con una amina para formar una amida. Las condiciones adecuadas para efectuar la formación de una amida incluyen, pero no se limitan a, aquellos que usan reactivos para efectuar la reacción entre un ácido carboxílico y una amina, que

incluyen, pero no se limitan a, diciclohexilcarbodiimida (DCC), diisopropilcarbodiimida (DIC),hexafluorofosfato de(benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio (BOP), hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio (PyBOP), hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio (PyAOP), hexafluorofosfato de bromotripirrolidinofosfonio (PyBrOP), hexafluorofosfato de (O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HBTU), tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU), 3-óxido hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio (HATU), N-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), hexafluorofosfato de 2-cloro-1,3-dimetilimidazolidinio (CIP), 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (CDMT) y carbonildiimidazol (CDI). En algunos ejemplos, un ácido carboxílico se convierte primero en un éster carboxílico activado antes de tratar el éster carboxílico activado con una amina para formar un enlace amida. En ciertas modalidades, el ácido carboxílico se trata 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 resultado del ataque nucleófilo del ácido carboxílico desprotonado sobre el reactivo protonado. Los ésteres carboxílicos activados para ciertos ácidos carboxílicos son posteriormente más susceptibles al ataque nucleofílico por una amina que el ácido carboxílico antes de que se active. Esto da como resultado la formación de enlaces amida. Como tal, el ácido carboxílico se describe como activado. Los reactivos ejemplares incluyen DCC y DIC.

[0052] Según se usa en el presente documento, "regioisómero", "regioisómeros" o "mezcla de regioisómeros" se refiere al producto (s) de 1,3-cicloadiciones o cicloadiciones de alquino-azida promocionadas por cepa (SPAAC)- también conocido como reacciones click: que se derivan de azidas adecuadas (por ejemplo, anticuerpos derivados de -N3 o PEG-N3) tratadas con alquinos adecuados. En ciertas modalidades, por ejemplo, los regioisómeros y las mezclas de regioisómeros se caracterizan por los productos de reacción de click que se muestran a continuación:



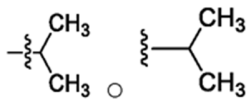
En ciertas modalidades, se puede usar más de una azida adecuada y más de un alquino adecuado dentro de un esquema sintético en ruta a un producto, en donde cada par de azida-alquino puede participar en una o más reacciones de click independientes para generar una mezcla de productos de reacción de click regioisoméricos. Por ejemplo, una persona experta reconocerá que una primera azida adecuada puede reaccionar independientemente con un primer alquino adecuado, y una segunda azida adecuada puede reaccionar independientemente con un segundo alquino adecuado, en ruta a un producto, lo que resulta en la generación de cuatro posibles regioisómeros de reacción de click o una mezcla de los cuatro regioisómeros de reacción de click posibles en una muestra de un ADC descrito en este documento. A modo de ejemplo adicional, una persona experta reconocerá que una primera azida adecuada puede reaccionar independientemente con un primer alquino adecuado, y una segunda azida adecuada puede reaccionar independientemente con un segundo alquino adecuado, en el camino hacia un producto, dando como resultado la generación de cuatro posibles regioisómeros de reacción de click o una mezcla de los cuatro posibles regioisómeros de reacción de click en una muestra de un LP descrito aquí.

[0053] Según se usa en el presente documento, el término "residuo" se refiere al resto químico dentro de un compuesto que permanece después de una reacción química. Por ejemplo, el término "residuo de aminoácido" o "residuo deN-alquil aminoácido" se refiere al producto de un acoplamiento de amida o acoplamiento de péptido de un aminoácido o un

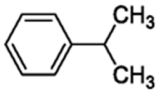
N-alquil aminoácido a un compañero de acoplamiento adecuado; en donde, por ejemplo, se expulsa una molécula de agua después del acoplamiento de amida o péptido del aminoácido o el N-alquilaminoácido, lo que da como resultado que el producto tenga el residuo de aminoácido o el residuo de N-alquil aminoácido incorporado en el mismo.

[0054] Según se usa en el presente documento, "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad (por ejemplo, de un compuesto) que es suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico a un paciente en el tratamiento o manejo de una enfermedad o trastorno, o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o trastorno.

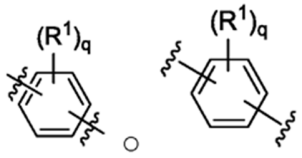
[0055] Ciertos grupos, restos, sustituyentes y átomos se representan con una línea ondulada que interseca un enlace o enlaces para indicar el átomo a través del cual se unen los grupos, restos, sustituyentes, átomos. Por ejemplo, un grupo fenilo que está sustituido con un grupo propilo representado como:



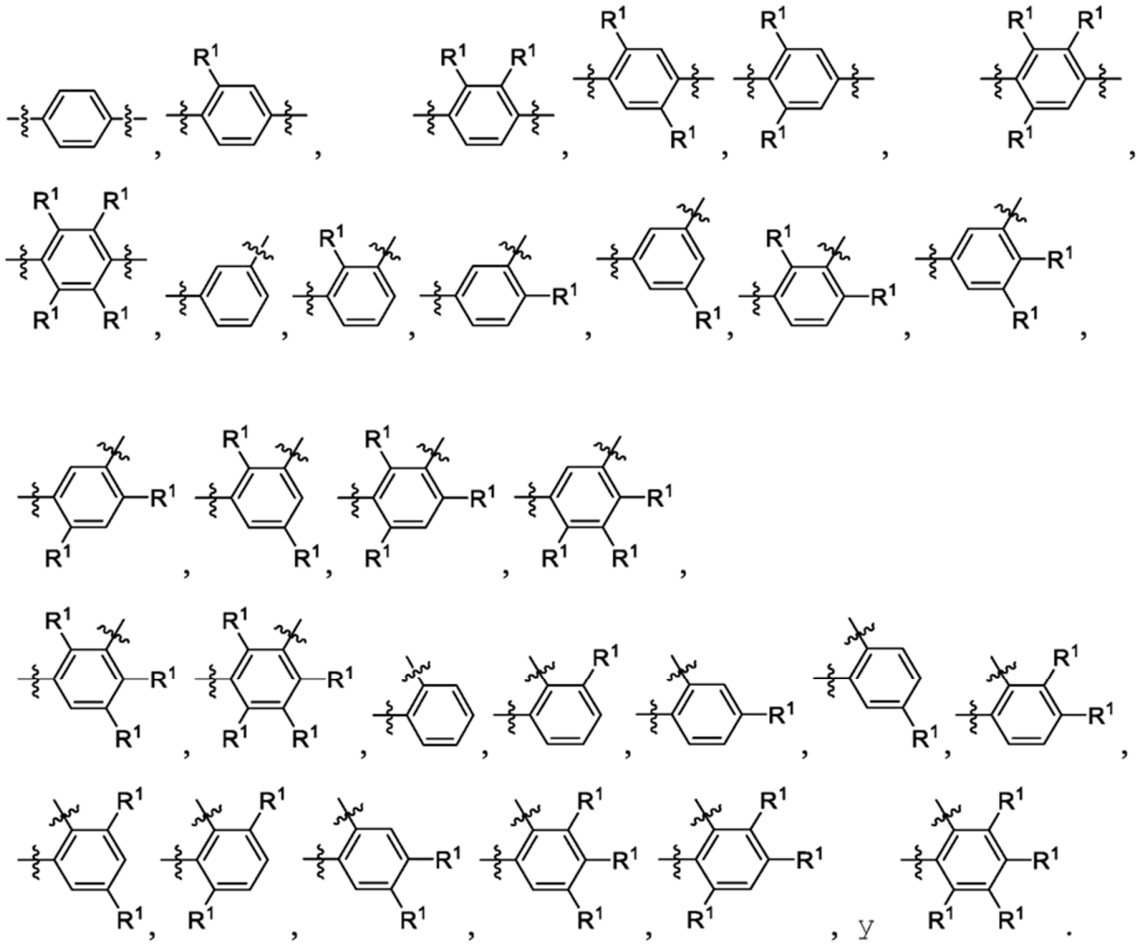
tiene la siguiente estructura:

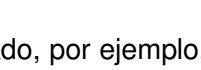


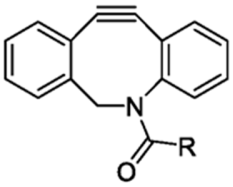
.Según se usa en el presente documento, las ilustraciones que muestran sustituyentes unidos a un grupo cíclico (por ejemplo, anillo aromático, heteroaromático, fusionado y cicloalquilo o heterocicloalquilo saturado o insaturado) a través de un enlace entre los átomos del anillo deben indicar, a menos 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 anillos condensados, de acuerdo con las técnicas expuestas en el presente documento o que se conocen en el campo al que pertenece la presente invención. Por ejemplo, el grupo



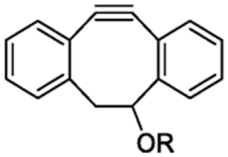
, en donde el subíndice q es un número entero de 0 a 4 y en donde las posiciones del sustituyente R1 se describen genéricamente, es decir, no directamente unidas a ningún vértice de la estructura de la línea de enlace, es decir, un átomo de carbono del anillo específico, incluye los siguientes ejemplos no limitativos de grupos en los que el sustituyente R1 está unido a un átomo de carbono del anillo específico:



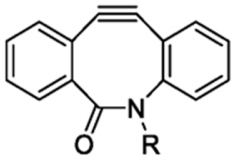
[0056] Como se usa en este documento, la frase "enlazador reactivo", o la abreviatura "RL" se refiere a un grupo monovalente que incluye un grupo reactivo y un grupo separador, representado, por ejemplo, como  , en donde RG es el grupo reactivo y SP es el grupo separador. Como se describe en el presente documento, un enlazador reactivo puede incluir más de un grupo reactivo y más de un grupo separador. El grupo separador es cualquier resto divalente que une el grupo reactivo a otro grupo, como una carga útil. Los enlazadores reactivos (RL), junto con las cargas útiles a las que están unidos, proporcionan intermedios ("enlazador-cargas útiles") útiles como precursores sintéticos para la preparación de los conjugados de anticuerpos descritos en el presente documento. El enlazador reactivo incluye un grupo reactivo ("RG"), que es un grupo funcional o resto que es capaz de reaccionar con una porción reactiva de otro grupo, por ejemplo, un anticuerpo, anticuerpo modificado o fragmento de unión a antígeno del mismo, o un grupo potenciador. El resto resultante de la reacción del grupo reactivo con el anticuerpo, anticuerpo modificado o fragmento de unión a antígeno del mismo, junto con el grupo de unión, incluye la porción de "enlazador de agente de unión" ("BL") del conjugado, descrito aquí. En ciertas modalidades, el "grupo reactivo" es un grupo funcional o fracción (por ejemplo, éster de maleimida o N-hidroxisuccinimida (NHS)) que reacciona con un residuo de cisteína o lisina de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertas modalidades, el "grupo reactivo" es un grupo funcional o resto que es capaz de experimentar una reacción química de clic (véase, por ejemplo, química de click, HuisgenProc. Chem. Soc.1961, Wang et al.J. Am. Chem Soc.2003, y Agardet al.J. Am. Chem. Soc.2004). En algunas modalidades de dicha reacción química de click, el grupo reactivo es un alquino que es capaz de experimentar una reacción de 1,3-cicloadición con una azida. Dichos grupos reactivos adecuados incluyen, pero no se limitan a, alquinos tensos, por ejemplo, aquellos adecuados para cicloadiciones de alquino-azida promovidas por cepa (SPAAC), cicloalquinos, por ejemplo, ciclooctinos, alquinos benzanillados y alquinos capaces de experimentar reacciones de 1,3-cicloadición con alquinos en ausencia de catalizadores de cobre. Los alquinos adecuados también incluyen, pero no se limitan a, dibenzoazaciclooctino o



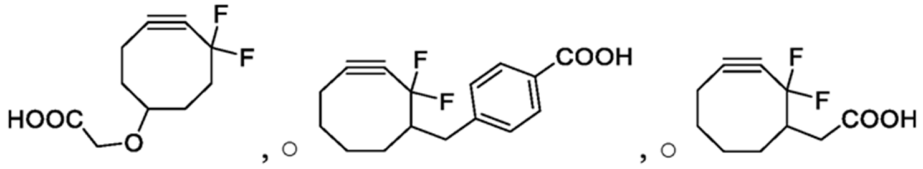
(DIBAC), dibenzociclooctino o



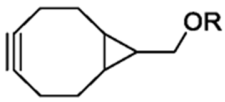
(DIBO), biarilazaciclooctinona o



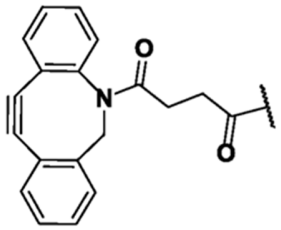
(BARAC), ciclooctinodifluorado o



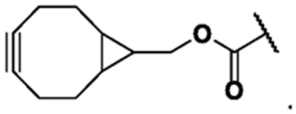
(DIFO), alquinos sustituidos, por ejemplo, fluorados, aza-alquinos, biciclo[6.1.0]nononio o



(BCN, en donde R es alquilo, alcoxi o acilo), y sus derivados. Los alquinos particularmente útiles incluyen



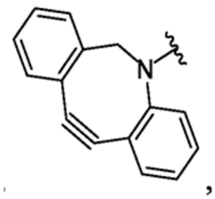
y



.

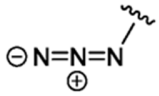
Los enlazadores-cargas útiles que incluyen tales grupos reactivos son útiles para conjugar anticuerpos que se han funcionalizado con grupos azido. Dichos anticuerpos funcionalizados incluyen anticuerpos funcionalizados con grupos azido-polietilenglicol. En ciertas modalidades, dicho anticuerpo funcionalizado se obtiene tratando un anticuerpo que tiene al menos un residuo de glutamina, por ejemplo, Gln295 de cadena pesada, con un compuesto que lleva un grupo amino y un grupo azida, en presencia de la enzima transglutaminasa.

[0057] En algunos ejemplos, el grupo reactivo es un alquino, por ejemplo,

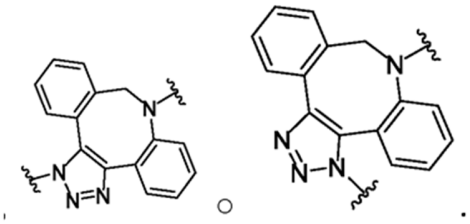


,

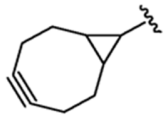
que puede reaccionar mediante química de click con una azida, por ejemplo,



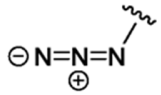
, para formar un producto de química de click, por ejemplo,



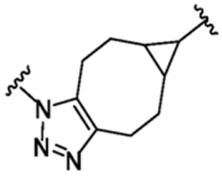
En algunos ejemplos, el grupo reacciona con una azida en un anticuerpo modificado o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos ejemplos, el grupo reactivo es un alquino, por ejemplo,



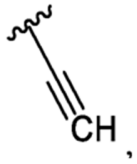
, que puede reaccionar mediante la química de click con una azida, por ejemplo,



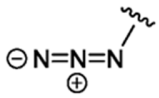
para formar un producto de química de click, por ejemplo,

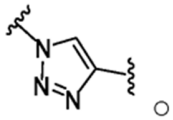


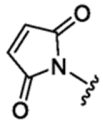
. En algunos ejemplos, el grupo reactivo es un alquino, por ejemplo,

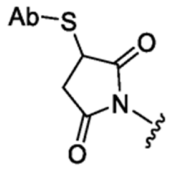


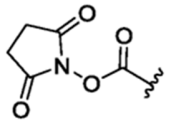
, que puede reaccionar mediante la química de click con una azida, por ejemplo,

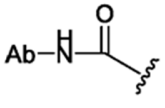

, para formar un producto de química de clic, por ejemplo,


. En algunos ejemplos, el grupo reactivo es un grupo funcional, por ejemplo,


que reacciona con un residuo de cisteína en un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, para formar un enlace al mismo, por ejemplo,


, en donde Ab se refiere a un anticuerpo o unión a antígeno fragmento del mismo y S se refiere al átomo S en un residuo de cisteína a través del cual el grupo funcional se une al Ab. En algunos ejemplos, el grupo reactivo es un grupo funcional, por ejemplo,


, que reacciona con un residuo de lisina en un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, para formar un enlace al mismo, por ejemplo,


, en donde Ab se refiere a un anticuerpo o unión a antígeno fragmento del mismo y NH se refiere al átomo de NH en un residuo de cadena lateral de lisina a través del cual el grupo funcional se une al Ab.

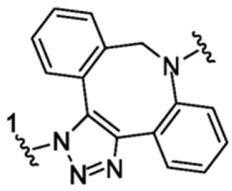
[0058] Según se usa en el presente documento, la frase "fracción biodegradable" se refiere a una fracción que se degrada in vivo a componentes biocompatibles no tóxicos que pueden eliminarse del cuerpo mediante procesos biológicos ordinarios. En algunas modalidades, un resto biodegradable se degrada completa o sustancialmente in vivo en el transcurso de aproximadamente 90 días o menos, aproximadamente 60 días o menos, o aproximadamente 30 días o menos, en donde el grado de degradación se basa en el porcentaje de pérdida de masa del resto biodegradable, y en donde la degradación completa corresponde a una pérdida de masa del 100%. Los restos biodegradables ejemplares incluyen, sin limitación, poliésteres alifáticos tales como poli (ε-caprolactona) (PCL), poli(3-hidroxibutirato) (PHB), ácido poli(glicólico) (PGA), ácido poli(láctico) (PLA) y sus copolímeros con ácido glicólico (es decir, poli(D,L-lacturo-coglicólido) (PLGA) (Vert M, Schwach G, Engel R y Coudane J (1998) J Control Release 53 (1-3):85-92; Jain RA (2000) Biomaterials 21(23):2475-2490; Uhrich KE, Cannizzaro SM, Langer RS y Shakesheff KM (1999) Chemical Reviews 99(11):3181-3198; y Park TG (1995) Biomaterials 16(15):1123-1130, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad).

[0059] Según se usa en el presente documento, las frases "cantidad efectiva", "cantidad fisiológicamente efectiva" o "cantidad profilácticamente efectiva" se refieren a esa cantidad de compuesto que es suficiente para efectuar el tratamiento, cuando se administre a un sujeto que necesite dicho tratamiento. Una "cantidad fisiológicamente efectiva" de una sustancia activa indica que una cantidad eficaz de las sustancias activas tiene un efecto significativo, observable externamente en el paciente. Por lo tanto, una cantidad fisiológicamente efectiva afecta una o más de las características (por ejemplo, fenotipo) en el paciente sin la necesidad de un equipo especial para determinar el efecto. Por ejemplo, una cantidad fisiológicamente efectiva de un compuesto descrito en este documento tiene un efecto significativo, observable externamente, sobre el comportamiento del paciente al reducir uno o más de los síntomas de la afección a tratar. En consecuencia, se puede determinar si se ha administrado una cantidad eficaz de la sustancia activa observando al paciente y observando si se han producido cambios en el paciente debido a la sustancia activa.

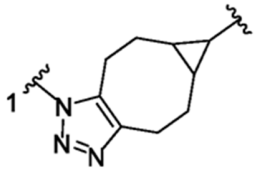
[0060] Como se usa en este documento, la frase "enlazador de agente de unión" o "BL" se refiere a cualquier grupo o resto divalente, trivalente o multivalente que une, conecta o une un agente de unión (por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo) con un compuesto de carga útil expuesto aquí (por ejemplo, bis-

octahidrofenantrenocarboxamidas) y, opcionalmente, con uno o más compuestos de cadena lateral. Generalmente, los enlazadores de agente de unión adecuados para los conjugados de anticuerpos descritos en el presente documento son aquellos que son suficientemente estables para explotar la vida media circulante del anticuerpo y, al mismo tiempo, capaces de liberar su carga útil después de la internalización mediada por antígeno del conjugado. Los enlazadores pueden ser escindibles o no escindibles. Los enlazadores escindibles son enlazadores que se escinden por metabolismo intracelular después de la internalización, por ejemplo, escisión por hidrólisis, reducción o reacción enzimática. Los enlazadores no escindibles son enlazadores que liberan una carga útil unida a través de la degradación lisosómica del anticuerpo después de la internalización. Los enlazadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, enlazadores inestables a los ácidos, enlazadores inestables a la hidrólisis, enlazadores escindibles enzimáticamente, enlazadores lábiles de reducción, enlazadores autoinmolantes y enlazadores no escindibles. Los enlazadores adecuados también incluyen, pero no se limitan a, aquellos que son o comprenden péptidos, glucurónidos, succinimida-tioéteres, unidades de polietilenglicol (PEG), hidrazonas, unidades de mal-caproilo, unidades de dipéptidos, unidades de valina-citrulina y unidades de para-aminobencilo (PAB). En algunas modalidades, el enlazador de agente de unión (BL) incluye un resto que se forma por la reacción del grupo reactivo (RG) de un enlazador reactivo (RL) y una porción reactiva del agente de unión, por ejemplo, anticuerpo, anticuerpo modificado o fragmento de unión a antígeno del mismo.

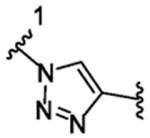
[0061] En algunos ejemplos, el BL incluye el siguiente resto:



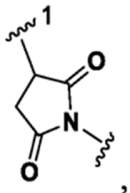
, o el regioisómerotriazolilo, en dondees el enlace al agente de unión. En algunos ejemplos, el BL incluye el siguiente resto:



, en el que es el enlace al agente de unión. En algunos ejemplos, el BL incluye el siguiente resto:



, o el regioisómero de triazolilo, en dondees el enlace al agente de unión. En algunos ejemplos, el BL incluye el siguiente resto:



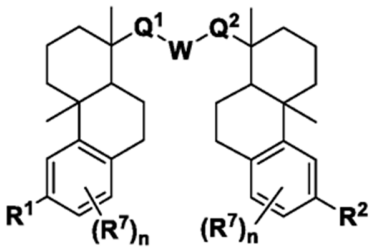
en donde es el enlace a la cisteína del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunos ejemplos, el BL incluye el siguiente resto:



en donde es el enlace a la lisina del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

Compuestos y cargas útiles

[0062] En algunos ejemplos, se expone aquí un compuesto que tiene la estructura de la



Fórmula (I): (I)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable en donde

cada uno de Q1 y Q2 es, independientemente, -CH2-, -C(O)-, -C(H)(OH)- o -C(OH)2-;

W es -CH2-, -N(H)- u -O-;

R1 es -H, -OH, -NH2, alquilo o -OP(O)(OR6)2;

R2 es -H, -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5, en donde R1 y R2 no son simultáneamente -H;

R3 es -N(R6)2;

R4 es -X-Y-Z;

X se selecciona del grupo que consiste en -O- y -N(H)-;

Y se selecciona del grupo que consiste en alquileno, alquileno sustituido (incluyendo, sin limitación, sustitución oxo, es decir, =O), heteroalquileno y heteroalquileno sustituido (incluyendo, sin limitación, sustitución oxo (es decir, =O));

Z se selecciona del grupo que consiste en -OH y -NH2;

R5 es alquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido incluye uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, e incluye al menos un sustituyente -OH y -CH2OH, o al menos un nitrógeno primario o secundario, por ejemplo, O-glucosa;

cada R6 es en cada caso, -H, un residuo de aminoácido, un residuo de N-alquil aminoácido, un péptido o alquilo; y

cada R7 es, independientemente, halo, alquilo de C1-6, alcoxi de C1-6, -CN, O-glucosa, residuo de O-aminoácido y O-PEGn, en donde cada n es un número entero de 0-3.

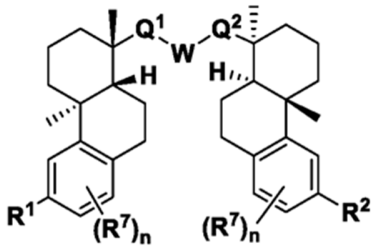
[0063] En la Fórmula I, en ciertas modalidades, R5 es heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido. Los grupos heterocicloalquilo útiles incluyen tetrahidropiranilo, glicosidilo y piperazinilo. Estos grupos pueden estar sustituidos o no sustituidos. En ciertas modalidades, no están sustituidos. En ciertas modalidades, están sustituidos. Los sustituyentes ejemplares incluyen al menos un hidroxilo, al menos un nitrógeno primario o al menos un nitrógeno secundario.

[0064] En ciertas modalidadesde la Fórmula I, R6 es independientemente en cada caso un residuo de aminoácido, un residuo de N-alquil aminoácido o un péptido. Los expertos en la materia reconocerán que el residuo de aminoácido puede ser aquiral o quiral, por ejemplo,

L-aminoácido o D-aminoácido. Los aminoácidos generalmente incluyen una cadena lateral de aminoácidos. La cadena lateral puede ser la cadena lateral de cualquier aminoácido conocido por los expertos. En ciertas modalidades, la cadena lateral es la cadena lateral de histidina, alanina, isoleucina, arginina, leucina, asparagina, lisina, ácido aspártico, metionina, cisteína, fenilalanina, ácido glutámico, treonina, glutamina, triptófano, valina, ornitina, selenocisteína, serina, glicina, homoglicina (por ejemplo, β-homoglicina) o tirosina. Los expertos en la materia reconocerán que el péptido puede ser aquiral o quiral, por ejemplo, incluyendo DL-aminoácidos racémicos o D- o L-aminoácidos no racémicos y mezclas diastereoméricas de los mismos. Las cadenas laterales de los péptidos son como se describe en el contexto de los aminoácidos, arriba. Los expertos en la materia reconocerán que el residuo de N-alquil aminoácido incluye un sustituyente alquilo, como se define aquí, en el grupo amino terminal del residuo de aminoácido o el grupo amino terminal del péptido. Los ejemplos incluyen N-metil aminoácidos y N-etil aminoácidos.

[0065] En la Fórmula I, en ciertas modalidades, cada R7 es halo, alquilo de C1-6, alcoxi de C1-6,-CN, O-glucosa, residuo de O-aminoácido u O-PEGn, en donde cada n es un número entero de 0-3. En ciertas modalidades, el residuo de O-aminoácido incluye el residuo de HO-aminoácido como se definió anteriormente. En una modalidad, O-PEGn es donde n = 0. En otra modalidad, O-PEGn es donde n = 1. En otra modalidad, O-PEGn es donde n = 2. En otra modalidad, O-PEGn es donde n = 3.

[0066] En algunos ejemplos, se expone aquí un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (Ia):



(Ia)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable, en donde

cada uno de Q1 y Q2 es, independientemente, -CH2-, -C(O)-, -C(H)(OH)- o -C(OH)2-;

W es -CH2-, -N(H)- u -O-;

R1 es -H, -OH, -NH2, alquilo o -OP(O)(OR6)(OH)-OP(O)(OR6)2;

R2 es -H, -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5, en donde R1 y R2 no son simultáneamente -H;

R3 es -N(R6)2;

R4 es -X-Y-Z;

X se selecciona del grupo que consiste en -O- y -N(H)-;

Y se selecciona del grupo que consiste en alquileno, alquileno sustituido (incluyendo, sin limitación, sustitución oxo, es decir, =O), heteroalquileno y heteroalquileno sustituido (incluyendo, sin limitación, sustitución oxo (es decir, =O));

Z se selecciona del grupo que consiste en -OH y -NH2;

R5 es alquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido incluye uno, dos o tres heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno, e incluye al menos unsustituyente -OH y CH2OH, o al menos un nitrógeno primario o secundario, por ejemplo, O-glucosa;

cada R6 es en cada caso, -H, un residuo de aminoácido, un residuo de N-alquil aminoácido, un péptido o alquilo; y

cada R7 es, independientemente, halo, alquilo de C1-6, alcoxi de C1-6, -CN, O-glucosa, residuo de O-aminoácido y O-PEGn, en donde cada n es un número entero de 0-3.

[0067] En la Fórmula Ia, en ciertas modalidades, R5 es heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido. Los grupos heterocicloalquilo útiles incluyen tetrahidropiranilo, glicosidilo y piperazinilo. Estos grupos pueden estar sustituidos o no sustituidos. En ciertas modalidades, no están sustituidos. En ciertas modalidades, están sustituidos. Los sustituyentes ejemplares incluyen al menos un hidroxilo, al menos un nitrógeno primario o al menos un nitrógeno secundario.

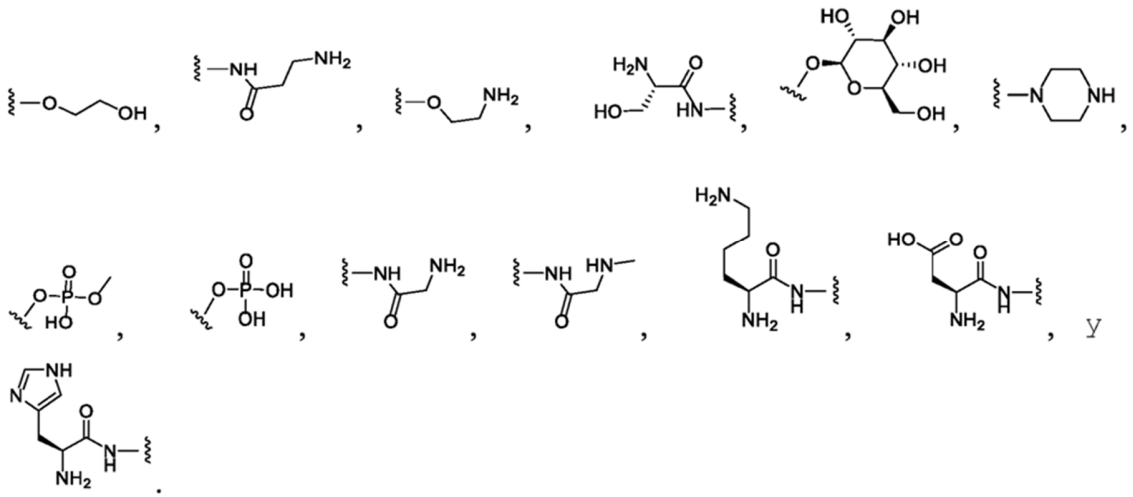
[0068] En ciertas modalidadesde la FórmulaIa, R6 es independientemente en cada caso un residuo de aminoácido, un residuo de N-alquil aminoácido o un péptido. Los expertos en la materia reconocerán que el residuo de aminoácido puede ser aquiral o quiral, por ejemplo, L-aminoácido o D-aminoácido. Los aminoácidos generalmente incluyen una

cadena lateral de aminoácidos. La cadena lateral puede ser la cadena lateral de cualquier aminoácido conocido por los expertos. En ciertas modalidades, la cadena lateral es la cadena lateral de histidina, alanina, isoleucina, arginina, leucina, asparagina, lisina, ácido aspártico, metionina, cisteína, fenilalanina, ácido glutámico, treonina, glutamina, triptófano, valina, ornitina, selenocisteína, serina, glicina, homoglicina (por ejemplo, β-homoglicina) o tirosina. Los expertos en la materia reconocerán que el péptido puede ser aquiral o quiral, por ejemplo, incluyendo DL-aminoácidos racémicos o D- o L-aminoácidos no racémicos y mezclas diastereoméricas de los mismos. Las cadenas laterales de los péptidos son como se describe en el contexto de los aminoácidos, arriba. Los expertos en la materia reconocerán que el residuo de N-alquil aminoácido incluye un sustituyente alquilo, como se define en el presente documento, en el grupo amino terminal del aminoácido o el grupo amino terminal del péptido.

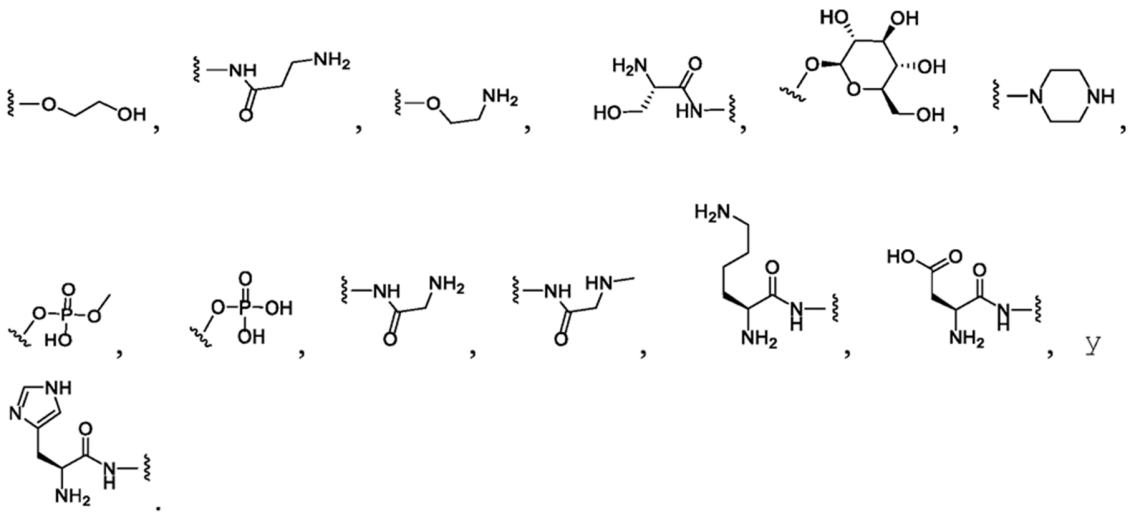
[0069] En la Fórmula Ia, en ciertas modalidades, R7 es halo, alquilo de C1-6, alcoxi de C1-6, -CN, O-glucosa, residuo de O-aminoácido u O-PEGn, en donde cada n es un número entero de 0-3. En ciertas modalidades, el residuo de O-aminoácido incluye el residuo de HO-aminoácido como se definió anteriormente. En una modalidad, O-PEGn es donde n = 0. En otra modalidad, O-PEGn es donde n = 1. En otra modalidad, O-PEGn es donde n = 2. En otra modalidad más, O-PEGn es donde n = 3.

[0070] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -CH2- y Q2 es -C(O)-. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)- y Q2 es -C(O)-. En otra modalidad, Q1 es-C(O)- y Q2 es -C(O)-. En otra modalidad más, Q1 es -C(O)- y Q2 es -CH2-. En otra modalidad más, Q1 es -C(O)- y Q2 es -C(H)(OH)-.

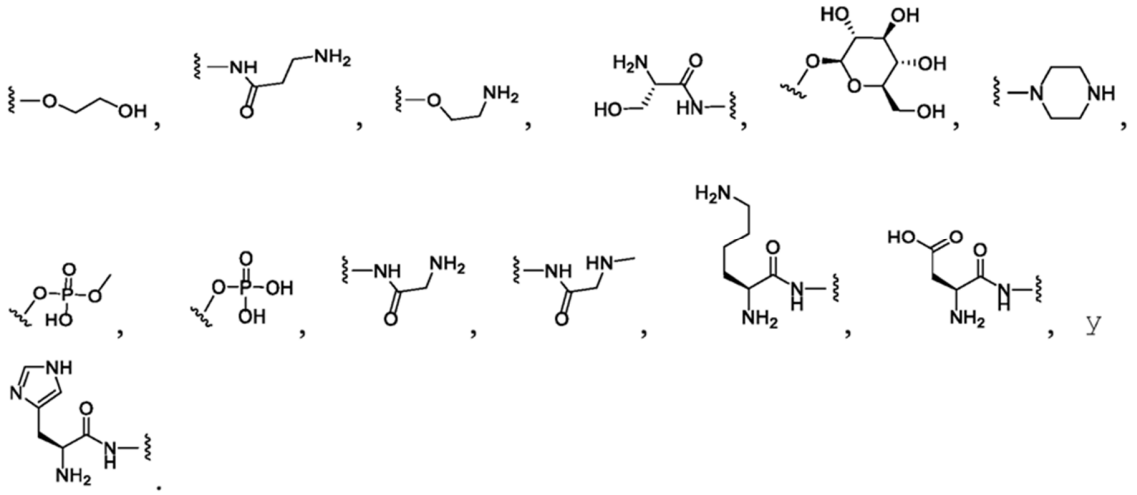
[0071] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, y W es-CH2-. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



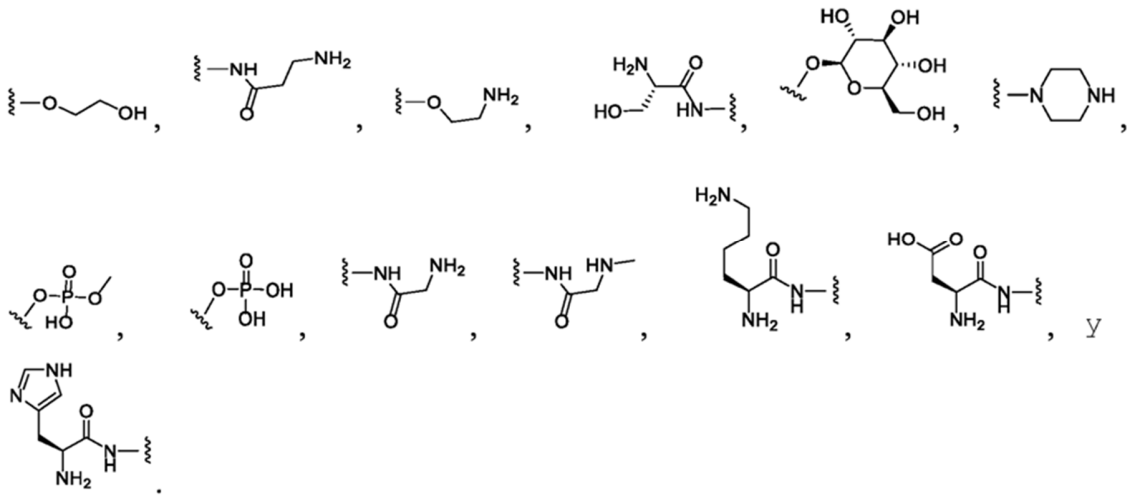
En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2- y R1 es-OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo

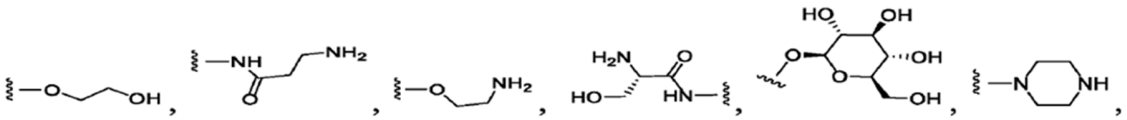


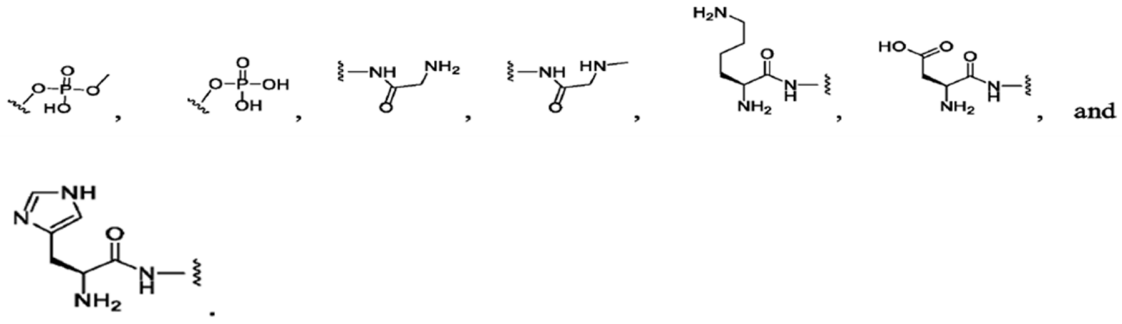
En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo



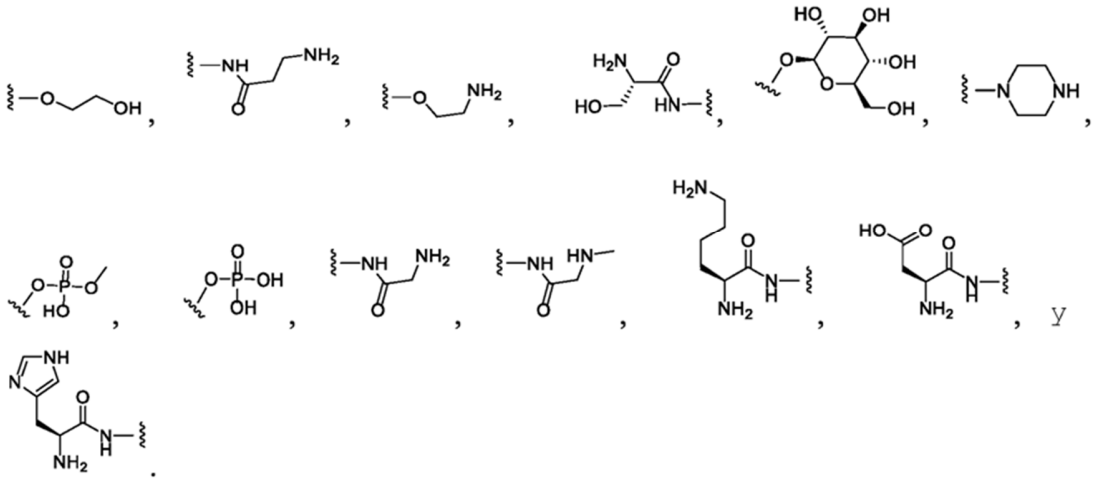
[0072] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

[0073] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, y W es-O-. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es-OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-O-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



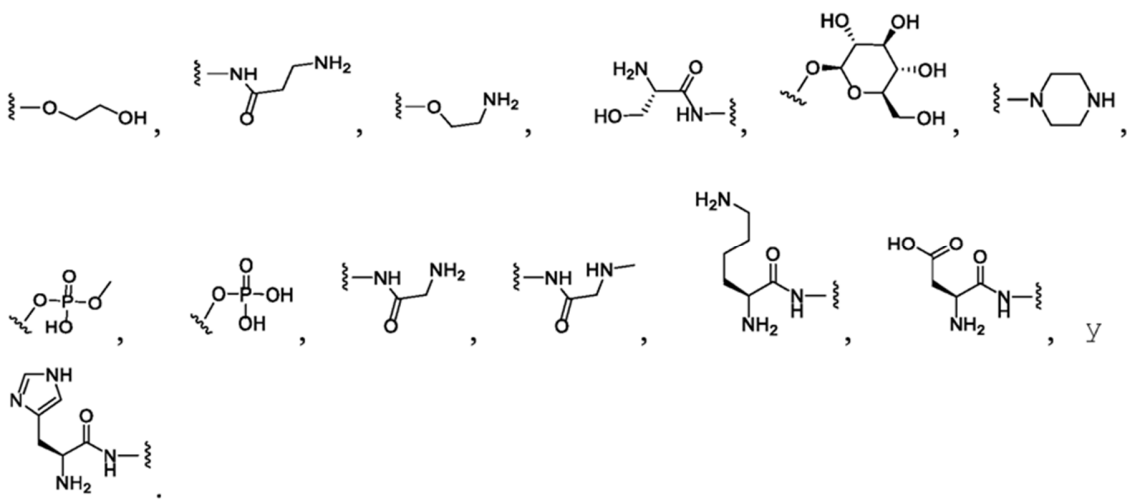


En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es-CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

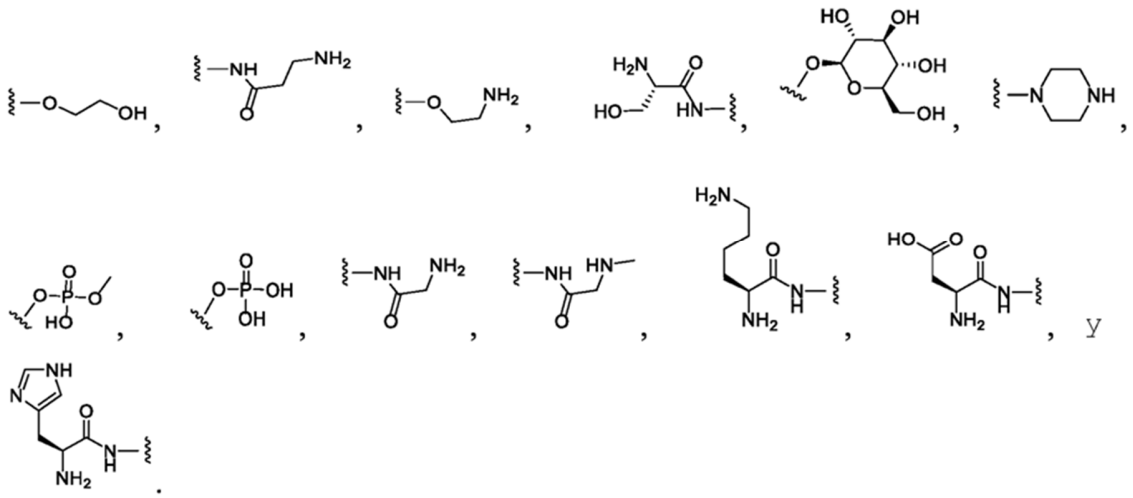


En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2

y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2- y R1 es-NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

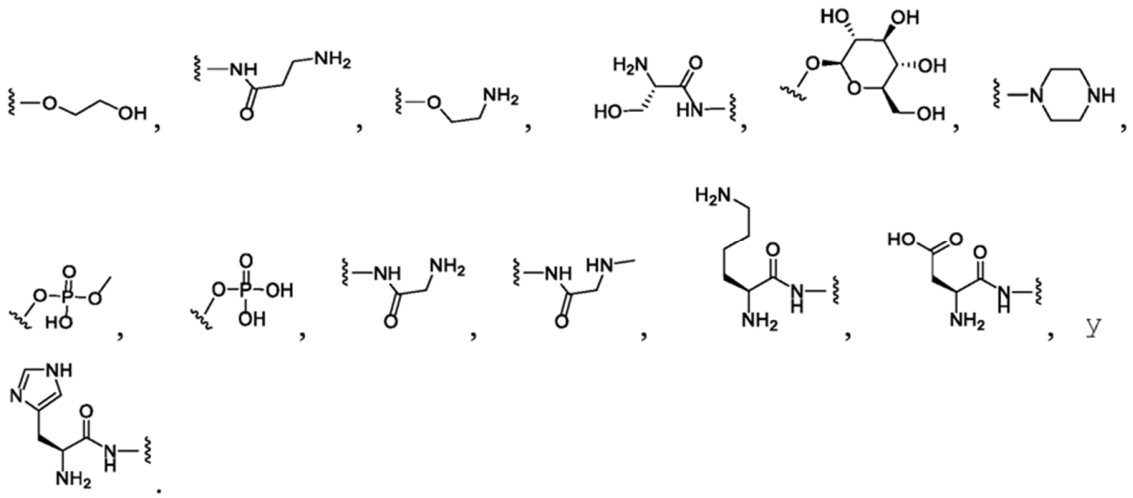


En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo

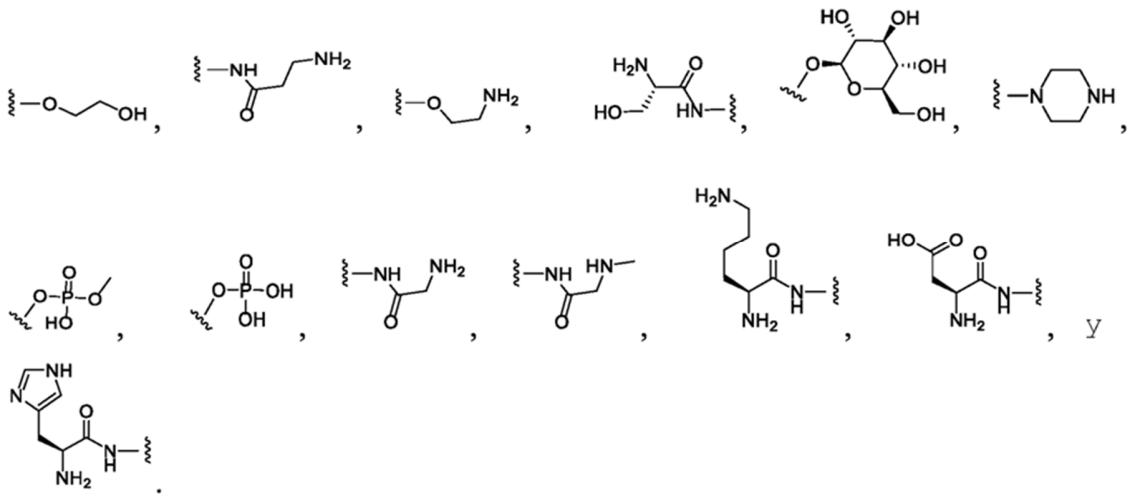


[0074] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-O-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

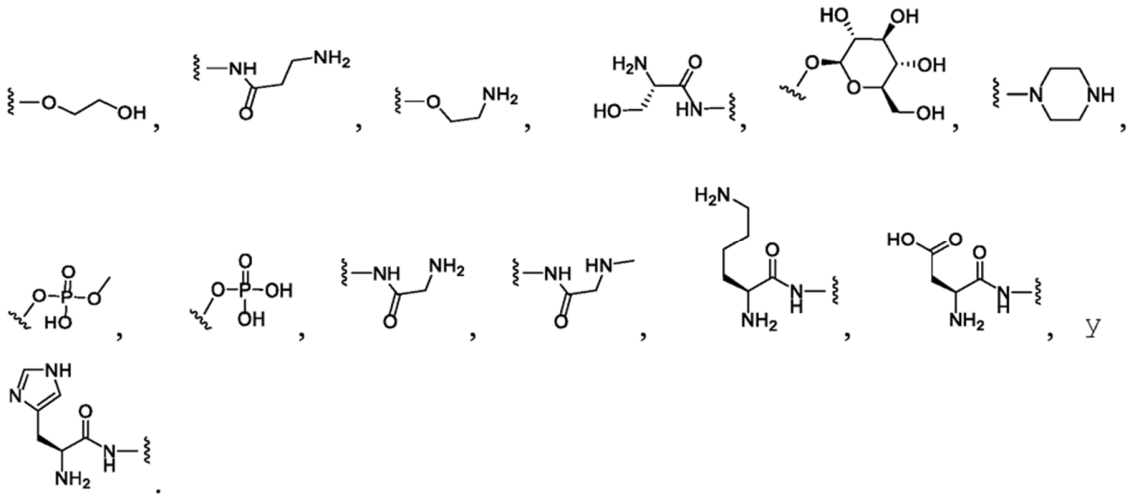
[0075] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, y W es -NH-. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



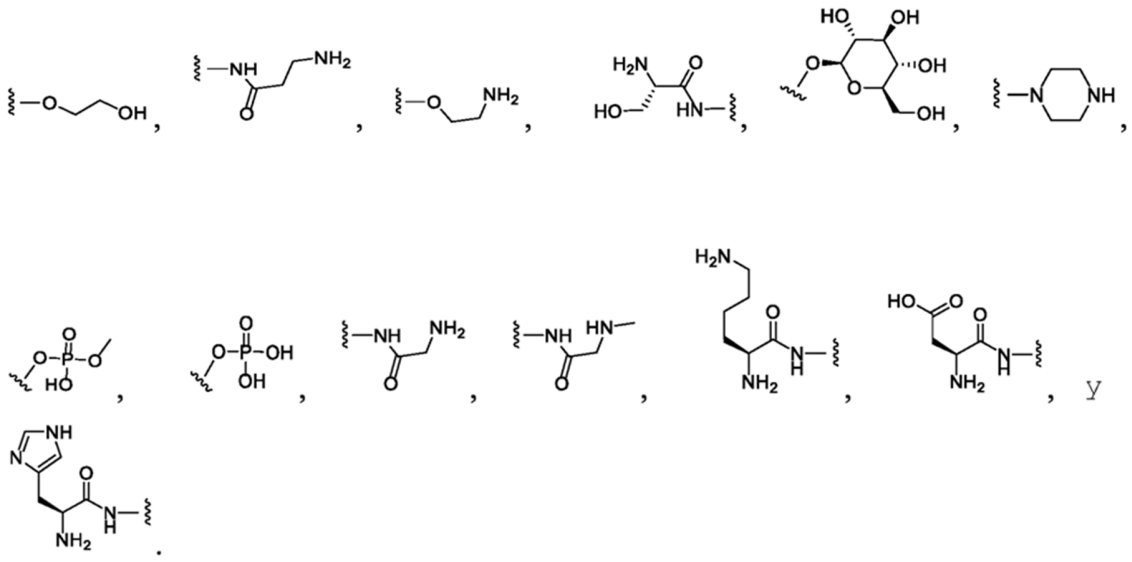
En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-NH-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

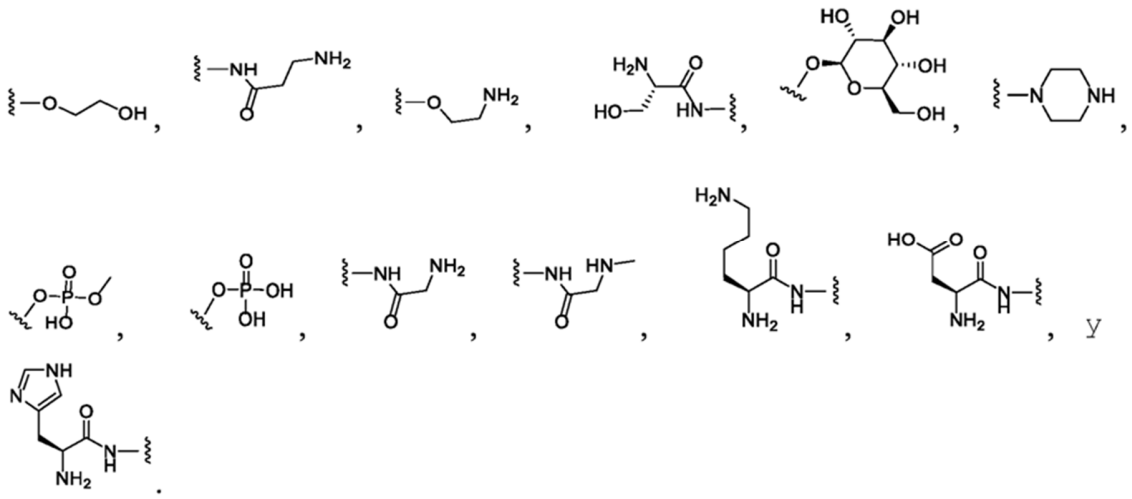


En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-NH-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

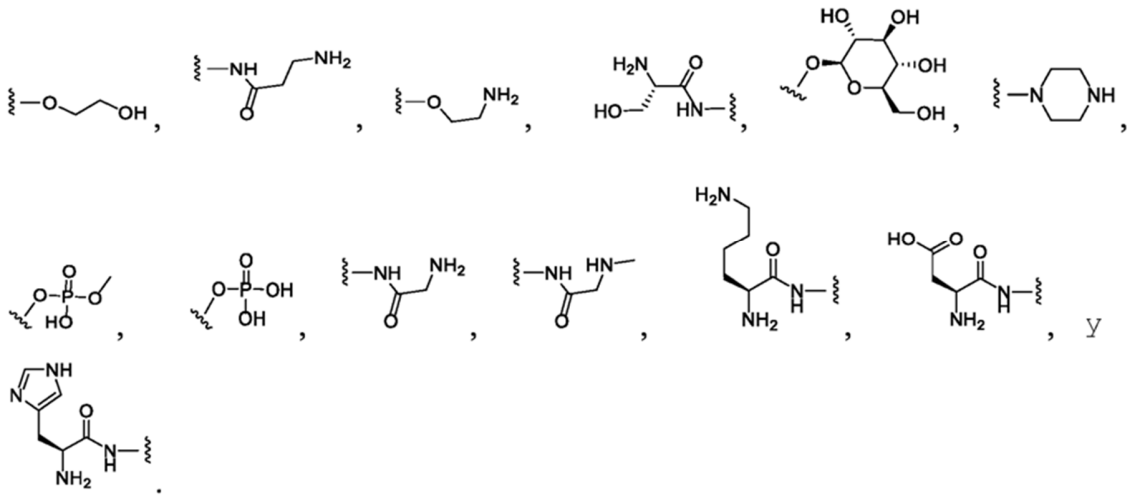


[0076] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es-NH-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6) (OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

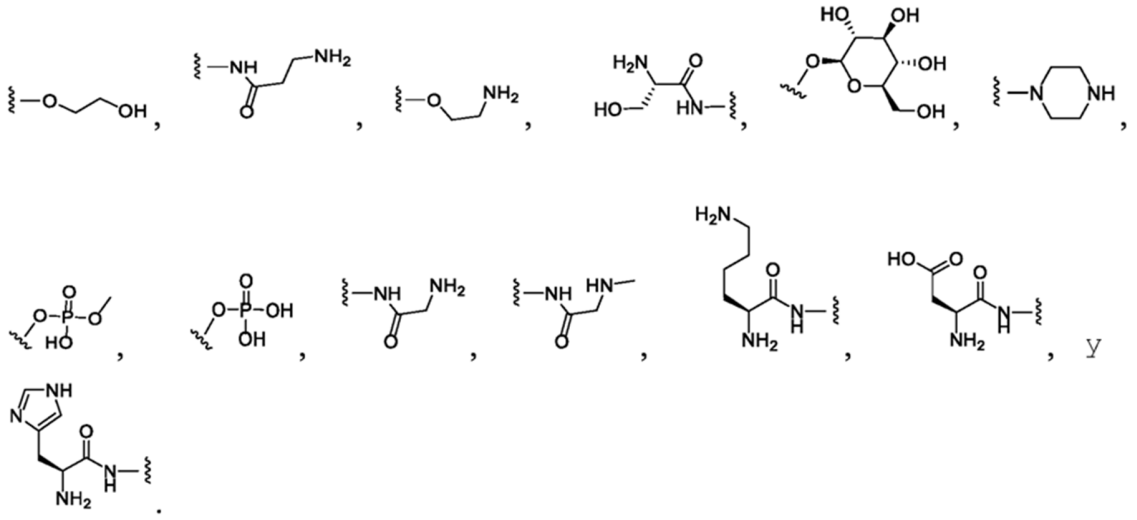
[0077] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)- y W es -CH2-. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2- y R1 es-H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es-C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



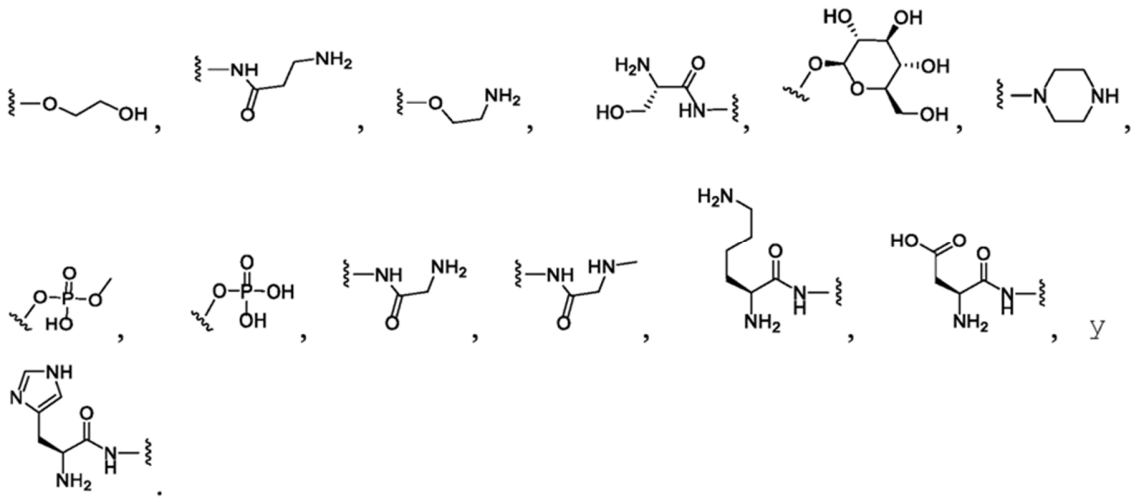
En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O -R5. En otra modalidad, Q1 es-C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2- y R1 es-OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo



En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es-C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es-C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

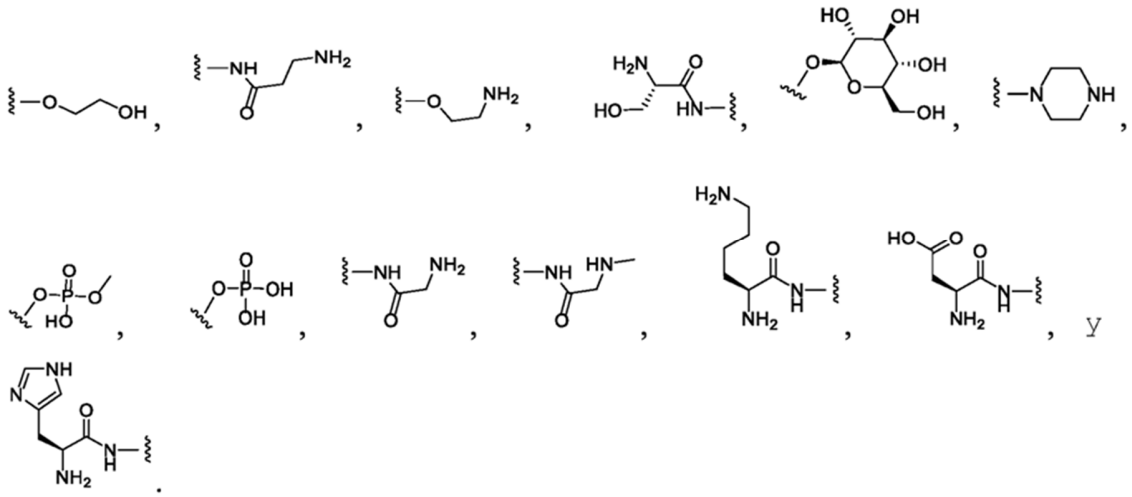


En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es-C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es-C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

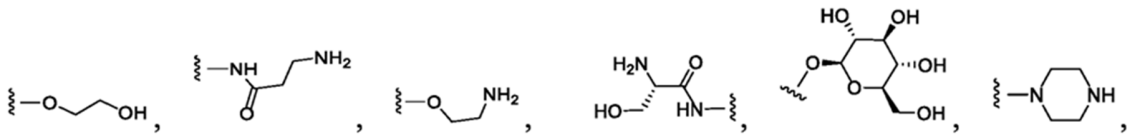


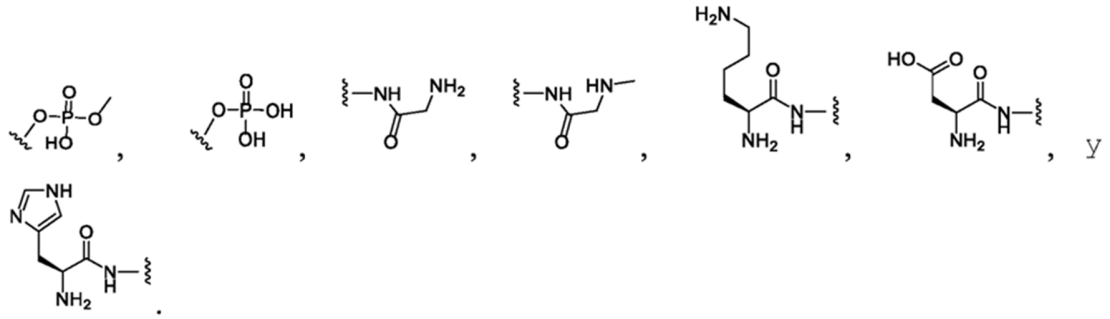
[0078] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6) (OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

[0079] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)- y W es -O-. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H,OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H,OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H,OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H,OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H,OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H,OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -CH2-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

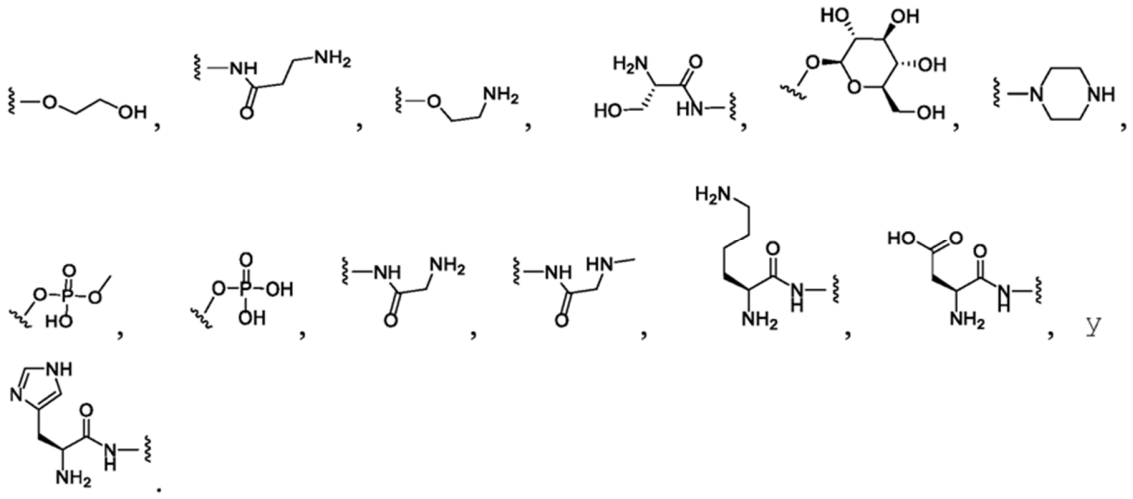


En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es-OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es-O-, y R1 es -OH y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es-C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



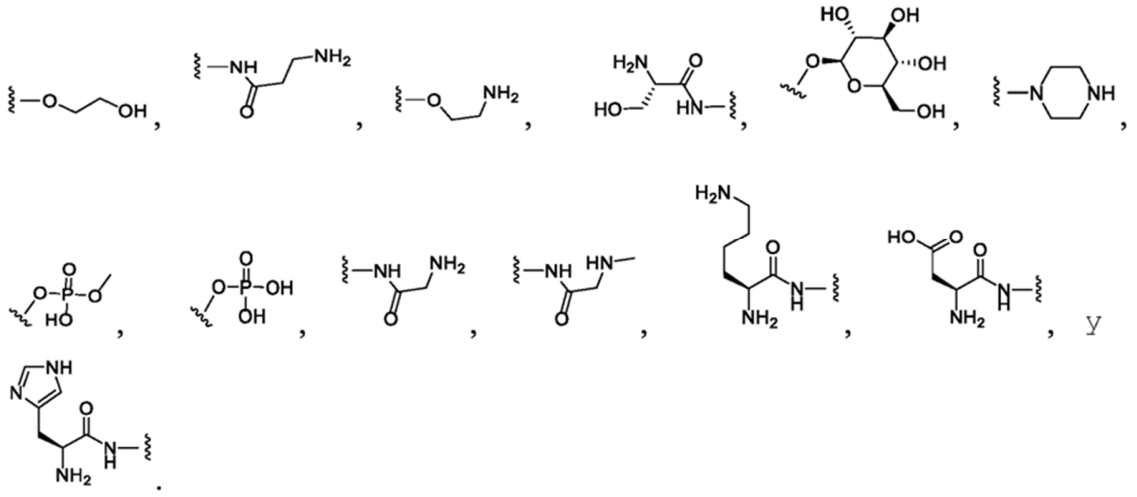


En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O- y R1 es-NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es-O-, y R1 es -NH2 y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es-C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -

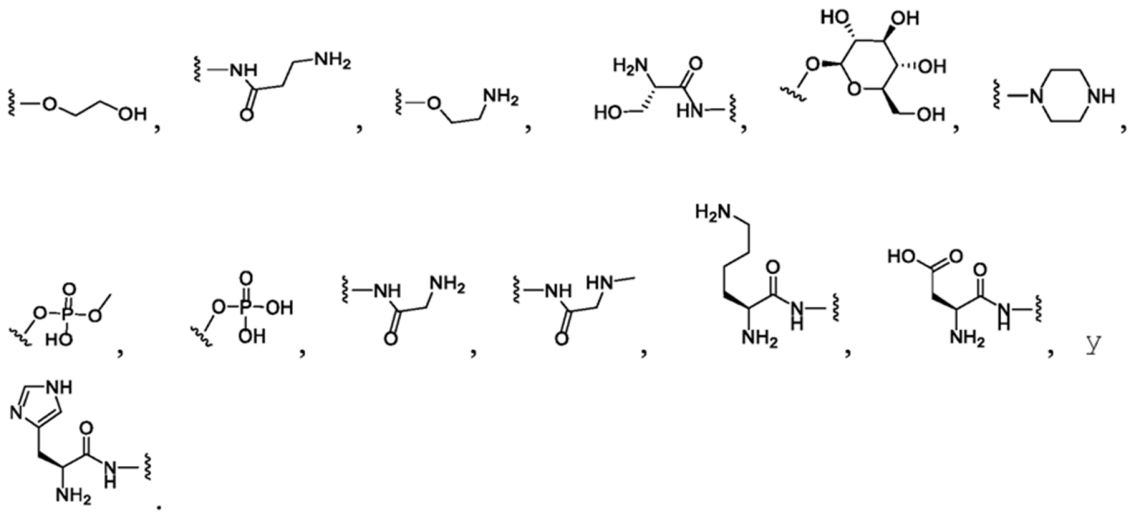
C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es-O-, y R1 es alquilo y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es-C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



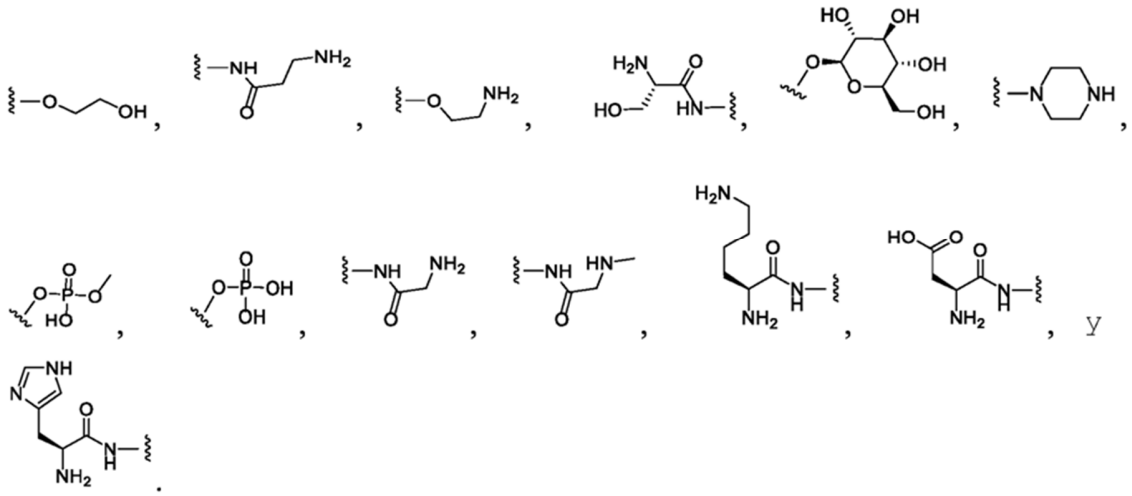
[0080] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

[0081] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)- y W es -NH-. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es-C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es

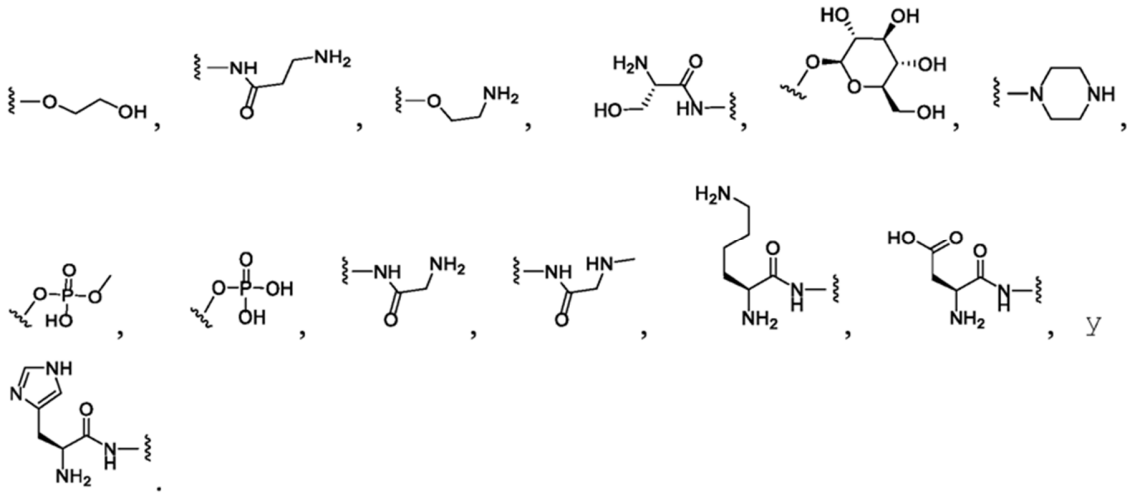
-NH-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH- y R1 es-OH y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo

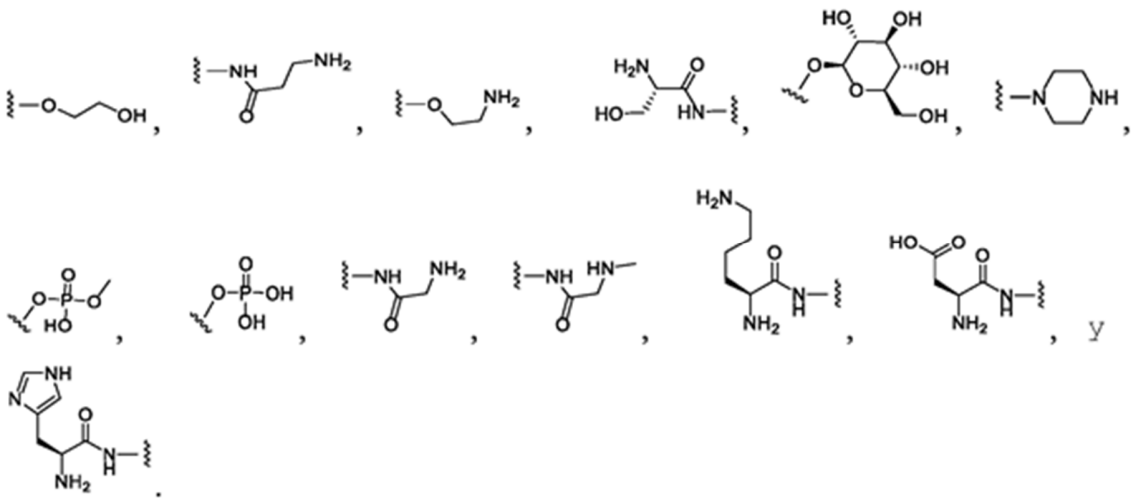


En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es-C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH- y R1 es-NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es-NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo



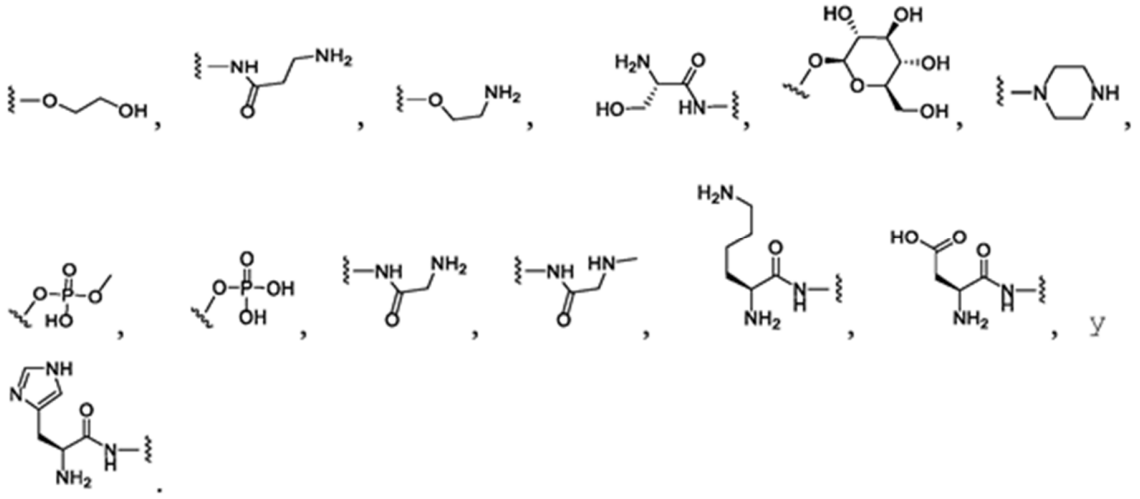
En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

[0082] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(H)(OH)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

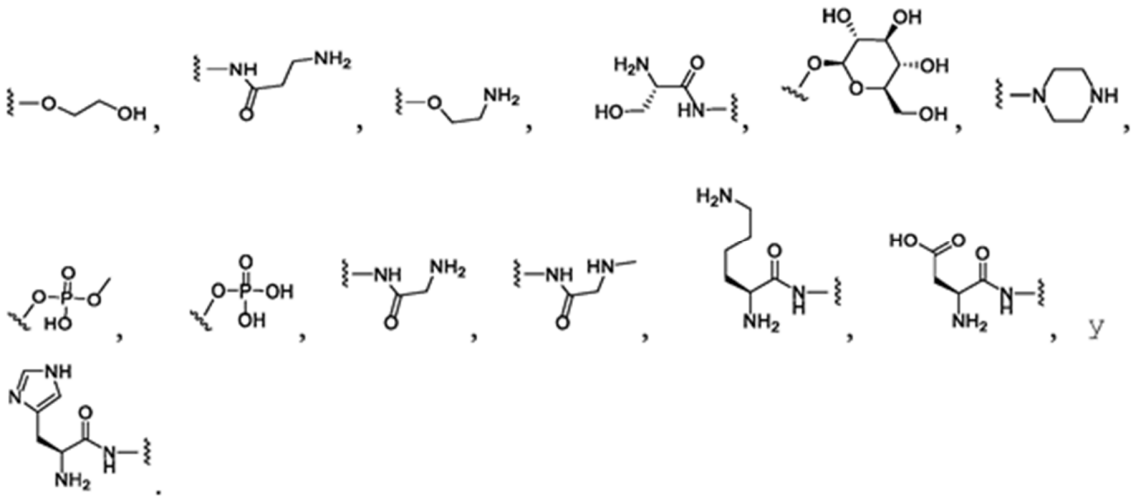


[0083] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, y W es-CH2-. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y

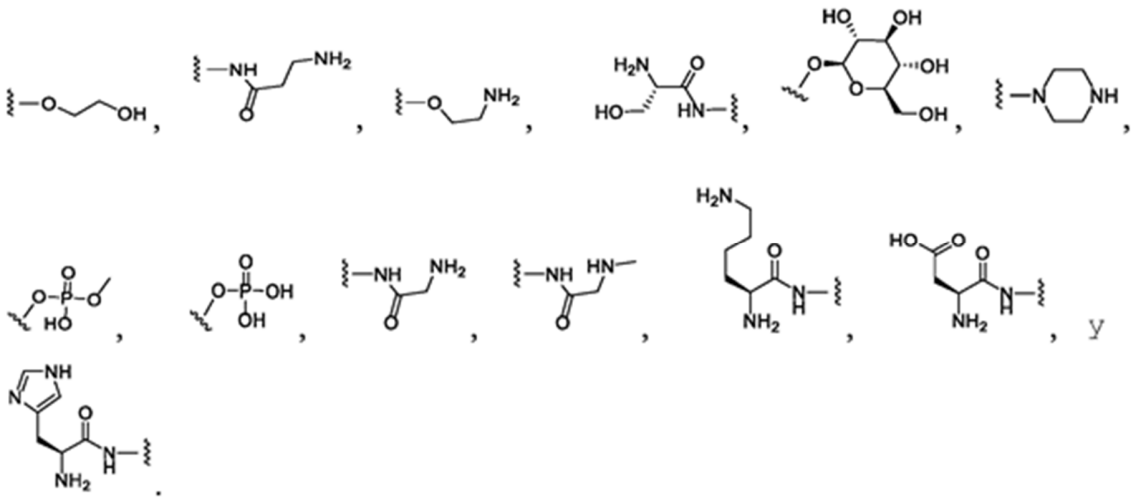
R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



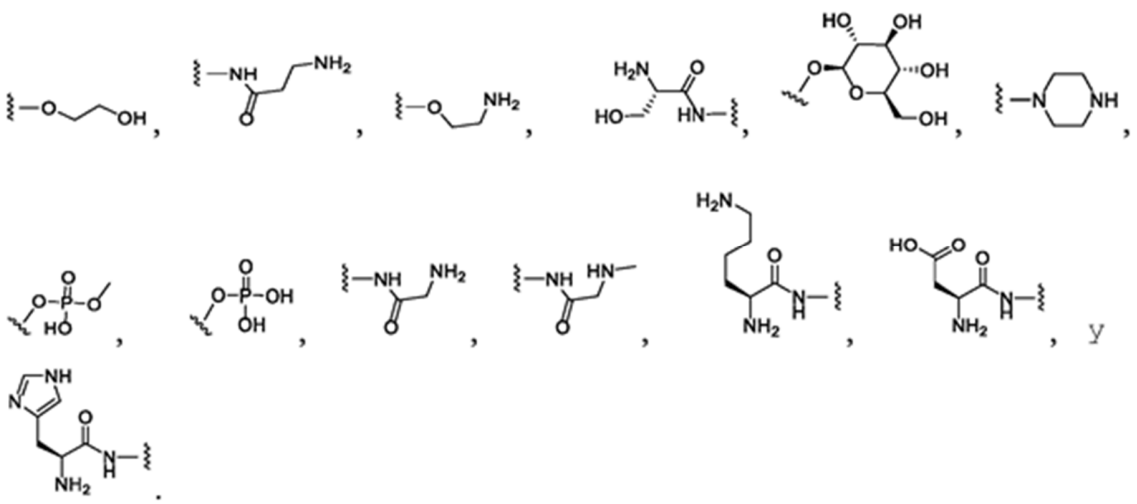
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es-OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo



En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y

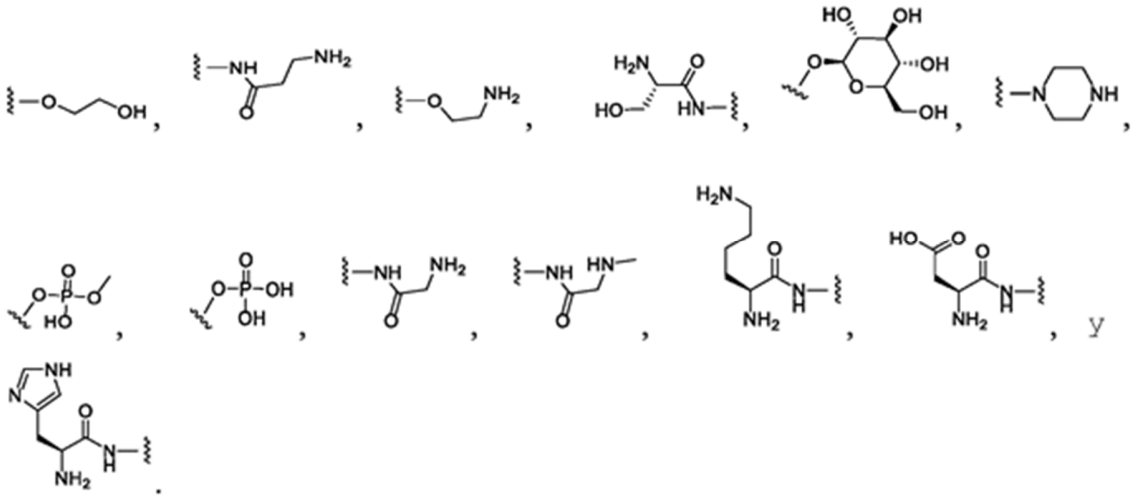


R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

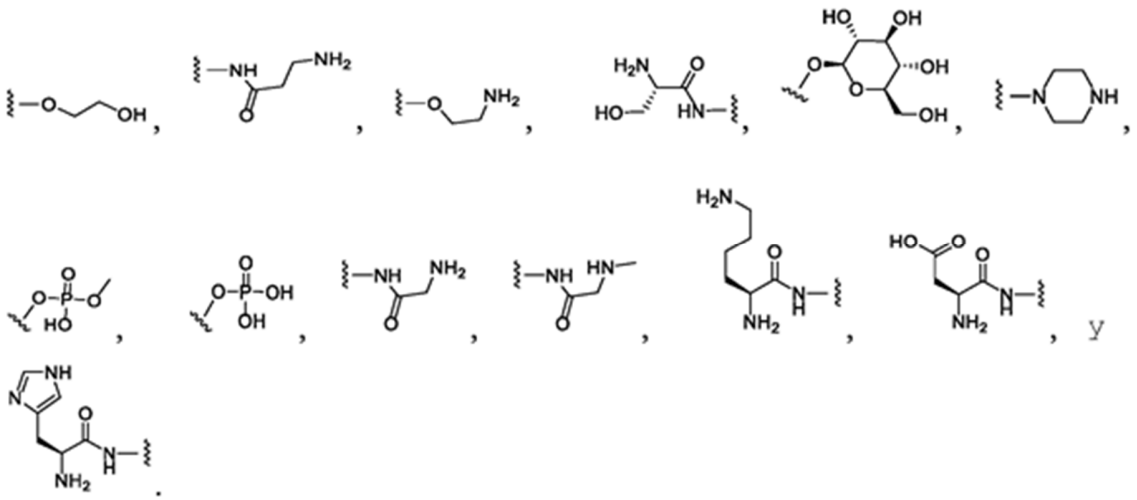
[0084] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es-CH2-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -CH2-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

[0085] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, y W es-O-. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es-OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es

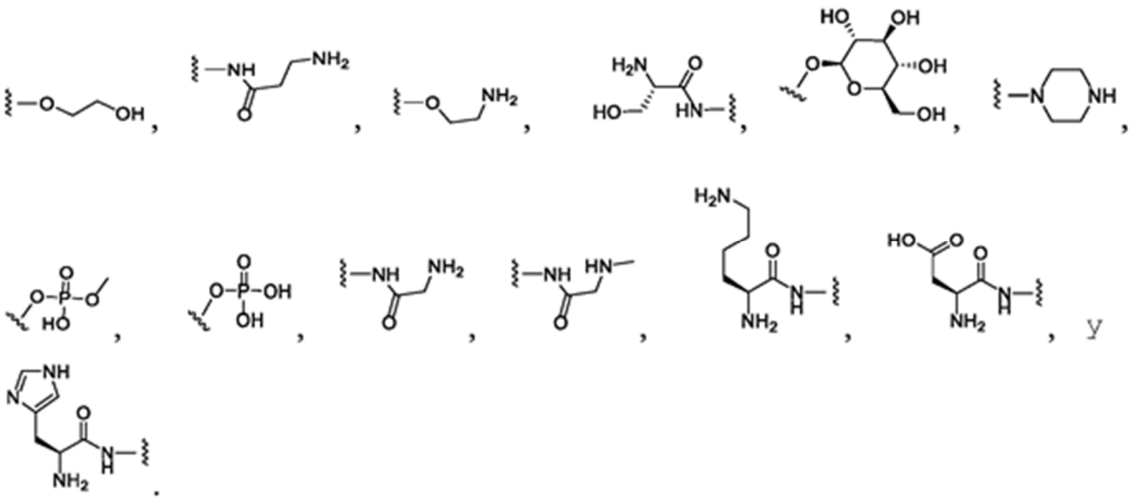
-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



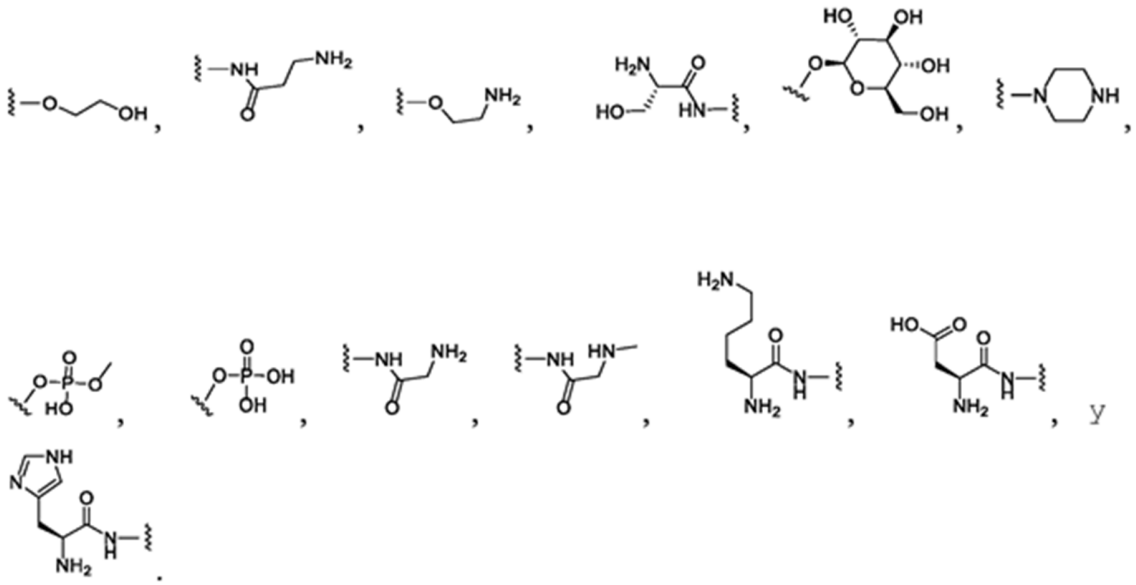
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es-O-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o-O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



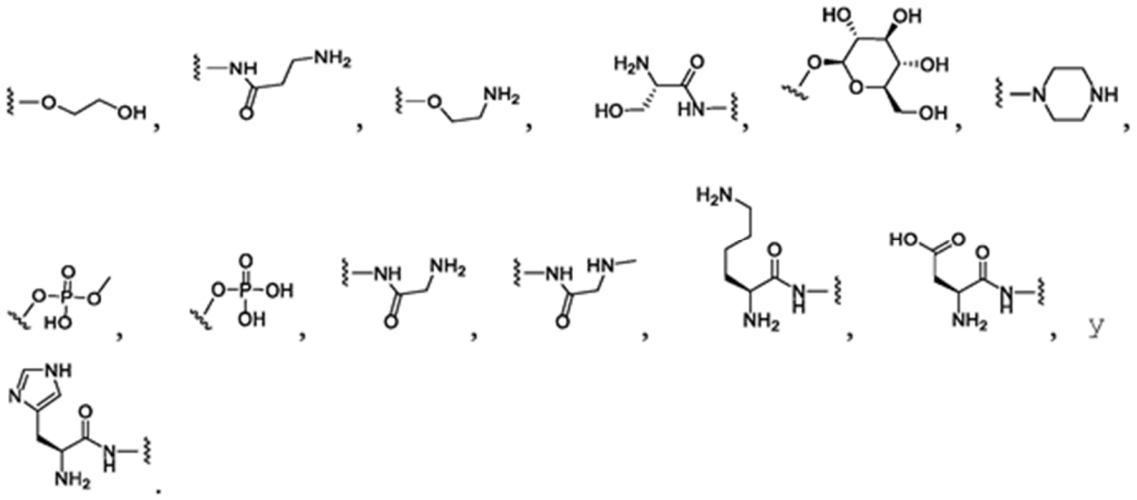
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es-O-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



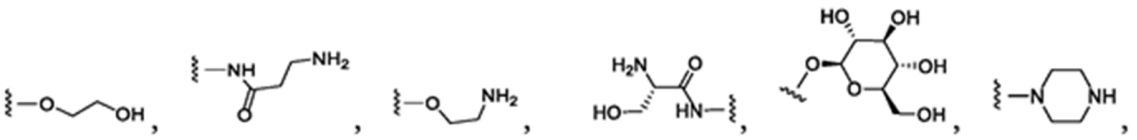
[0086] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es-O-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -O-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

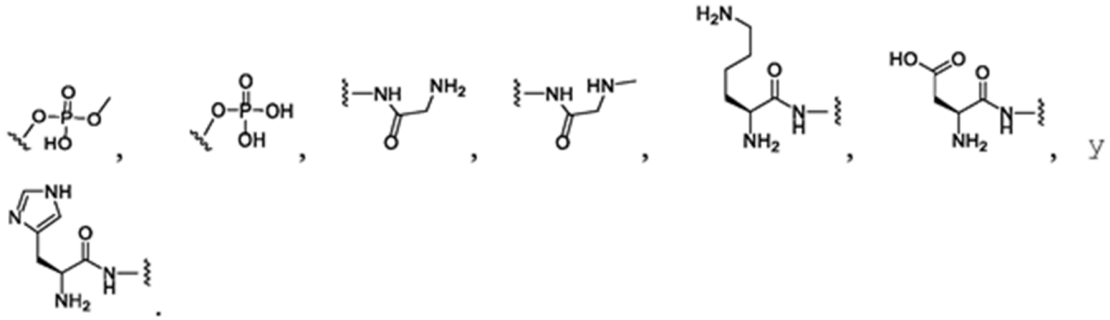
[0087] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)- y W es-NH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o - O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es

R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

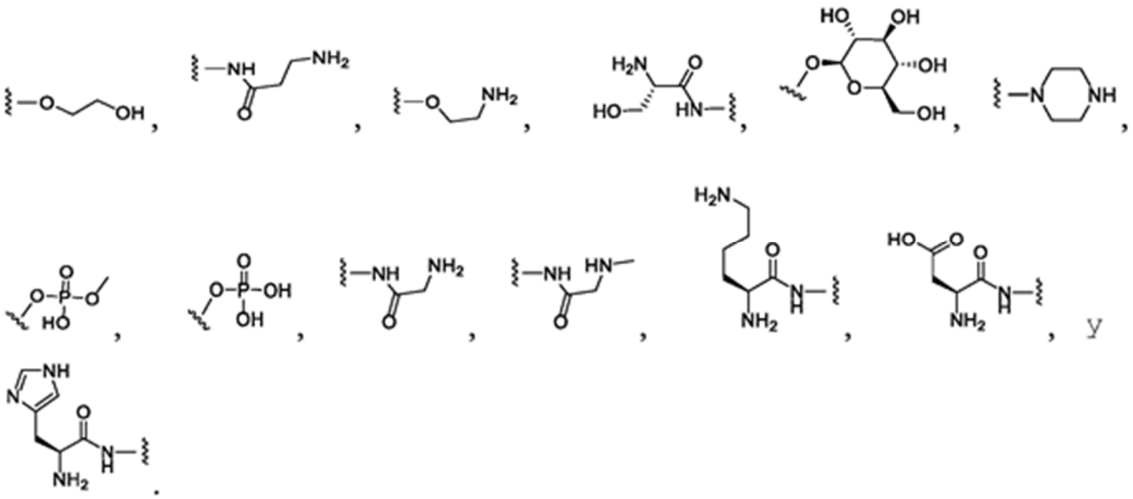


En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es-NH-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH- y R1 es-OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

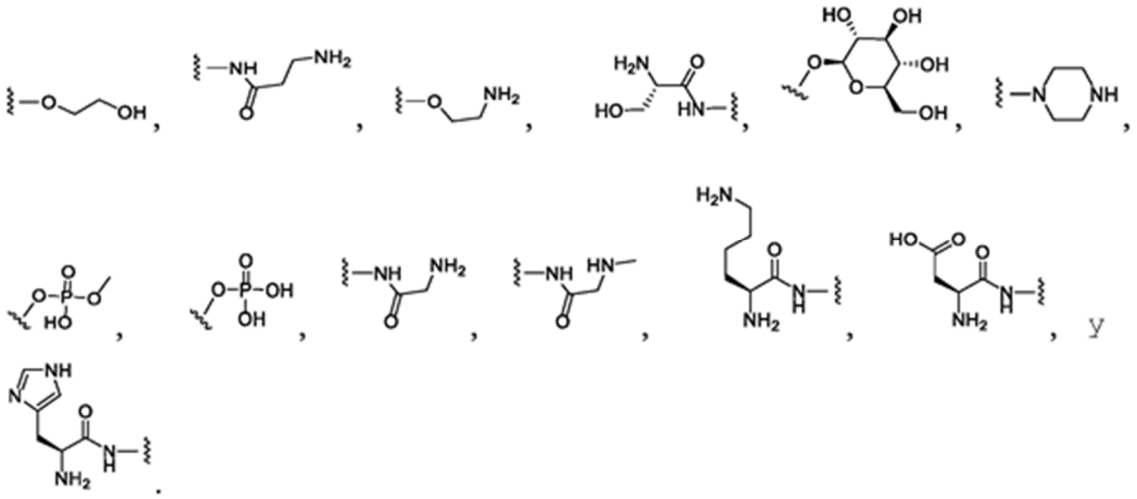




En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es-OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



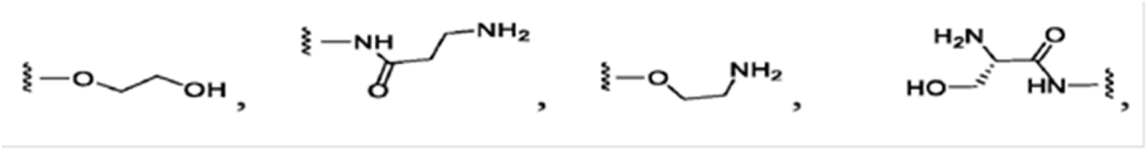
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es-NH-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

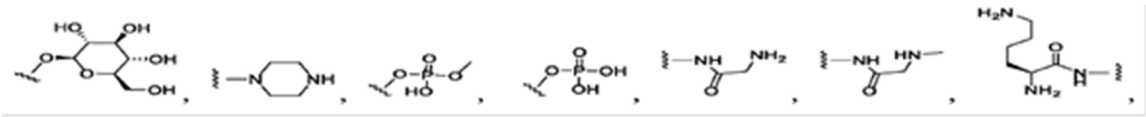


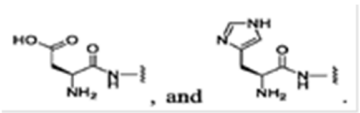
[0088] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es-NH-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(O)-, W es -NH-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

[0089] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2- y W es-CH2-. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-CH2-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-CH2-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es

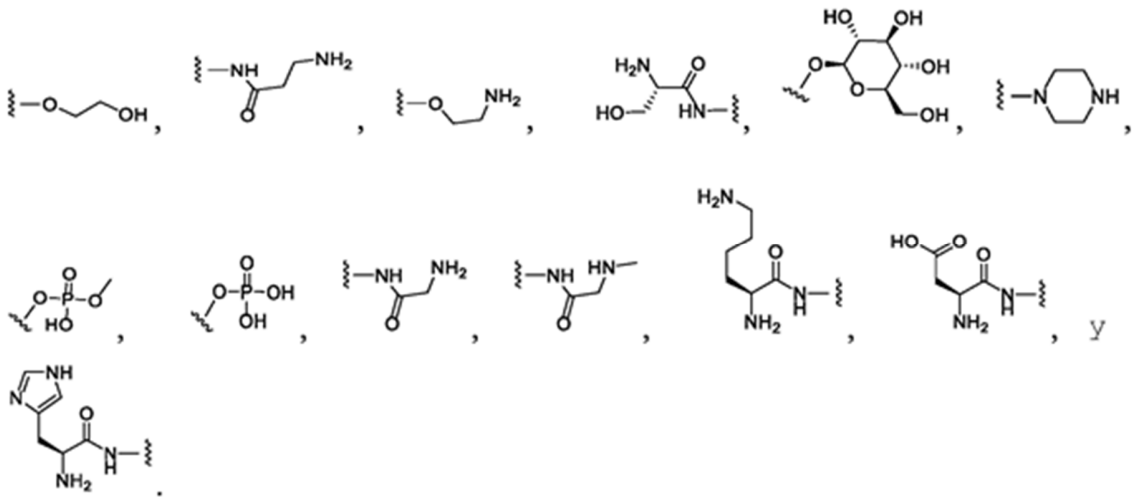
R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-CH2-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-CH2-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



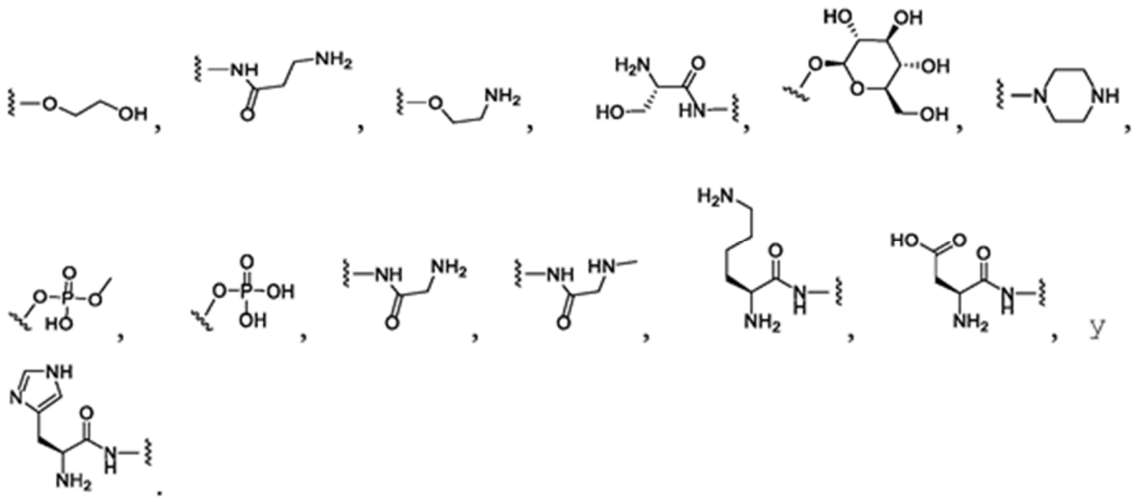




En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-CH2-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2- y R1 es-OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

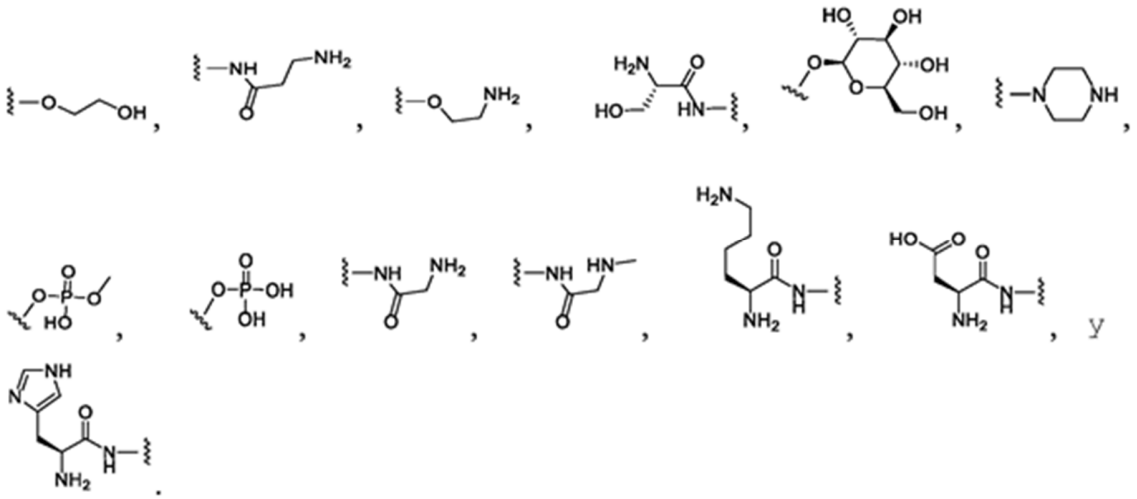


En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es-OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

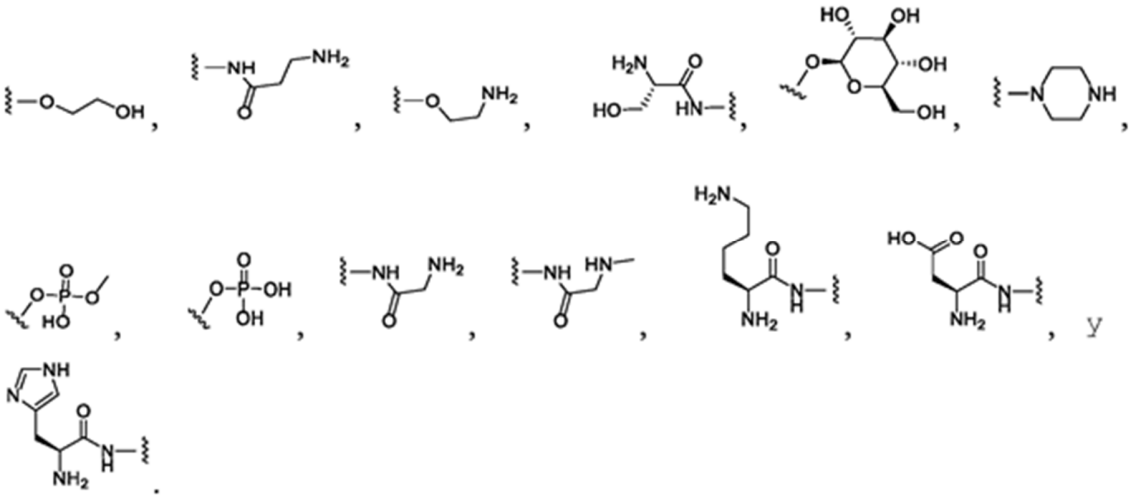
[0090] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-CH2-, y R1



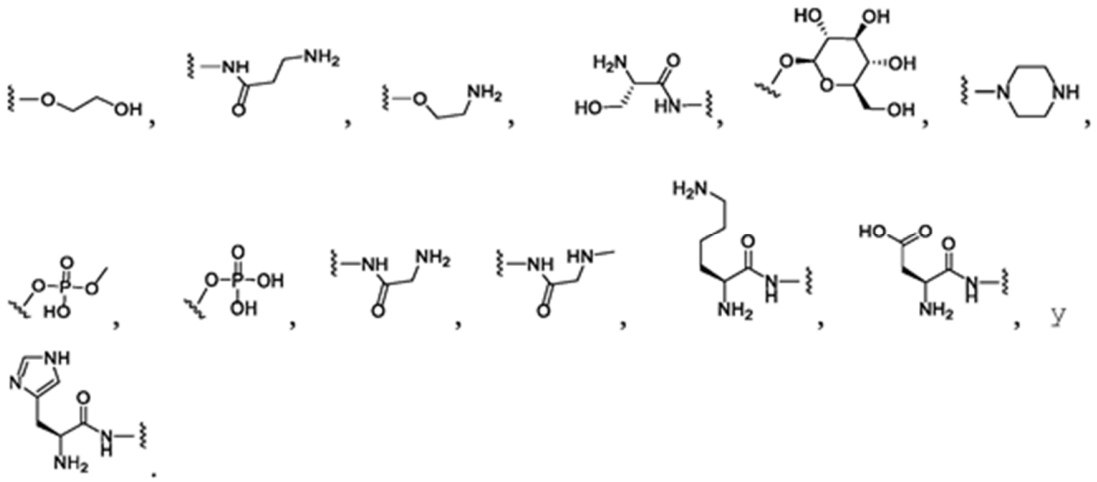
es -OH o -OP(O)(OR6) (OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -CH2-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

[0091] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, y W es-O-. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es-OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es

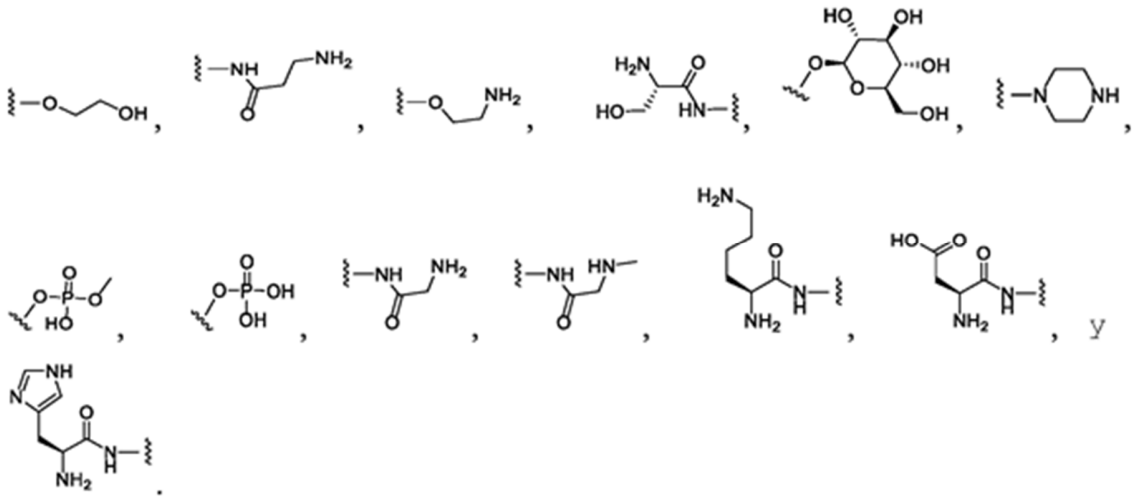
R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-O-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-O-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-O-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



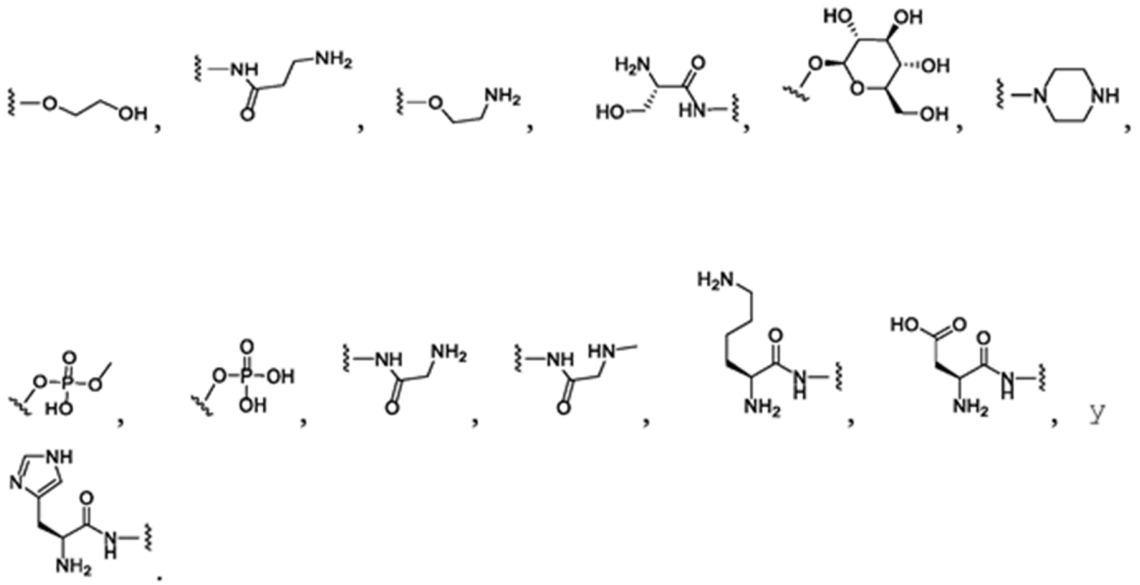
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-O-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-O-, y R1 es -OH y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



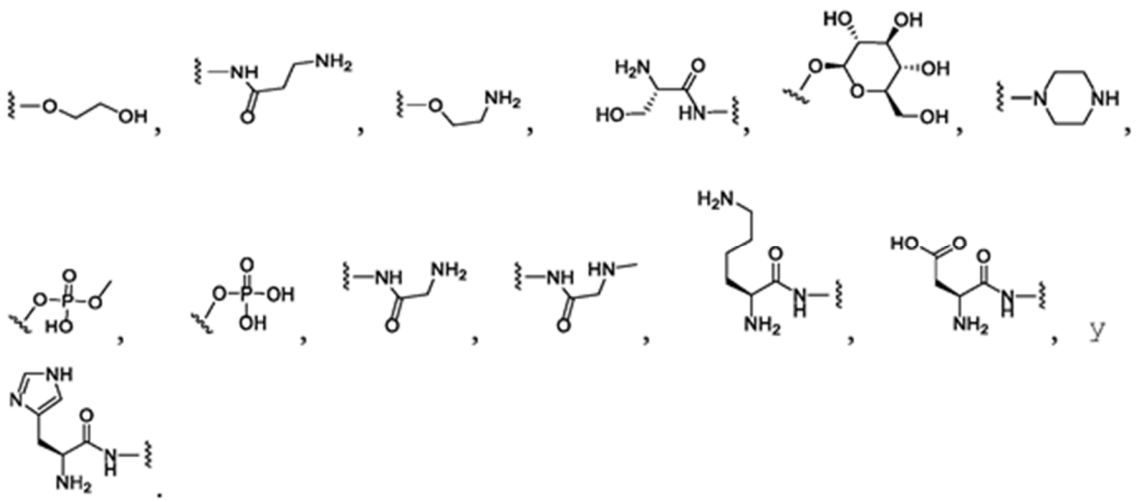
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-O-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



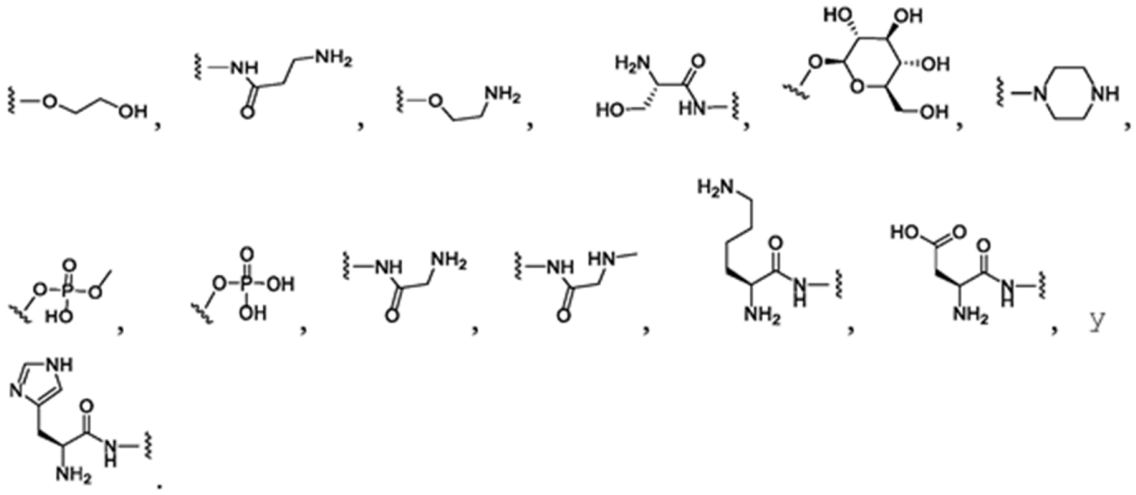
[0092] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-O-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -O-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

[0093] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, y W es -NH-. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-CH2-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-CH2-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es

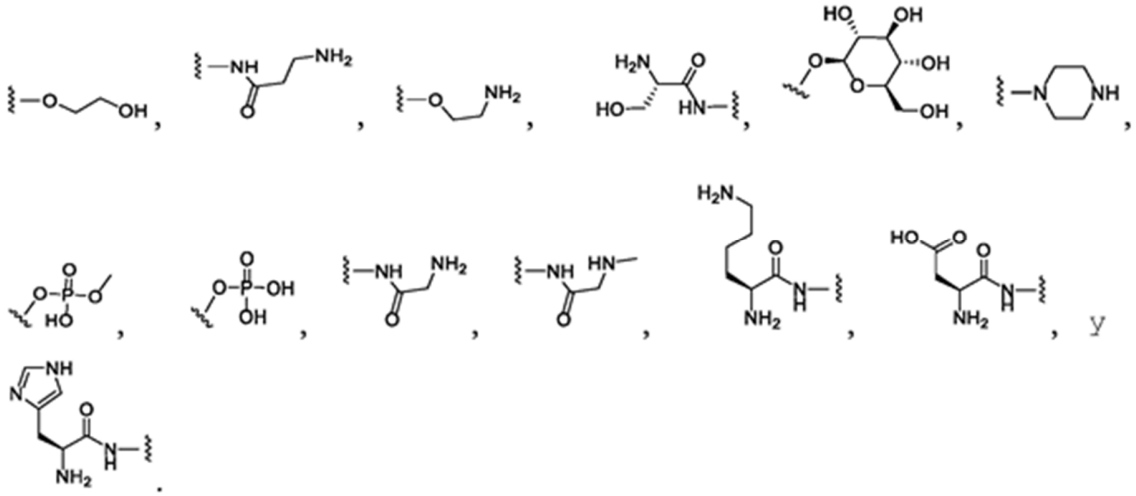
R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-CH2-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-CH2-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



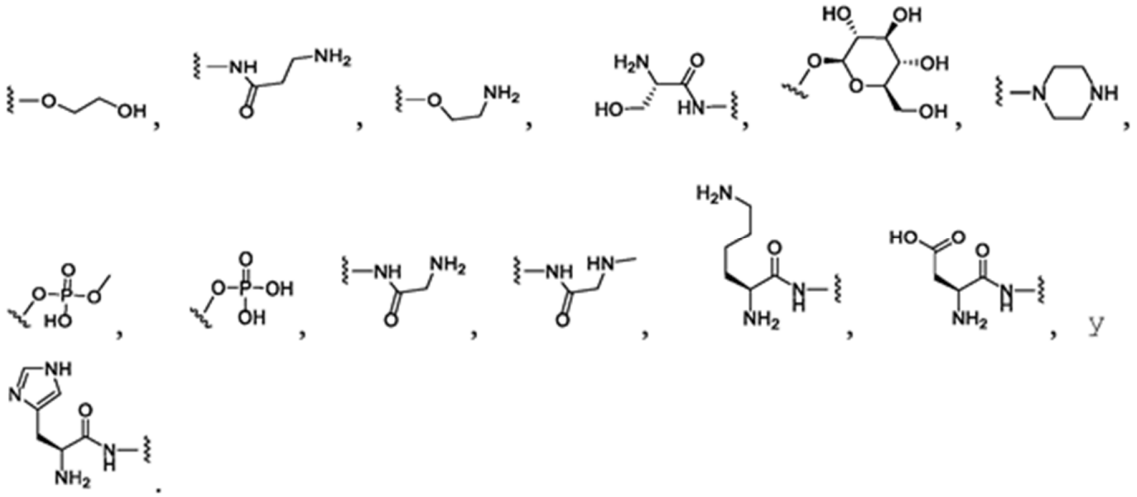
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-NH-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH- y R1 es-OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-CH2-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



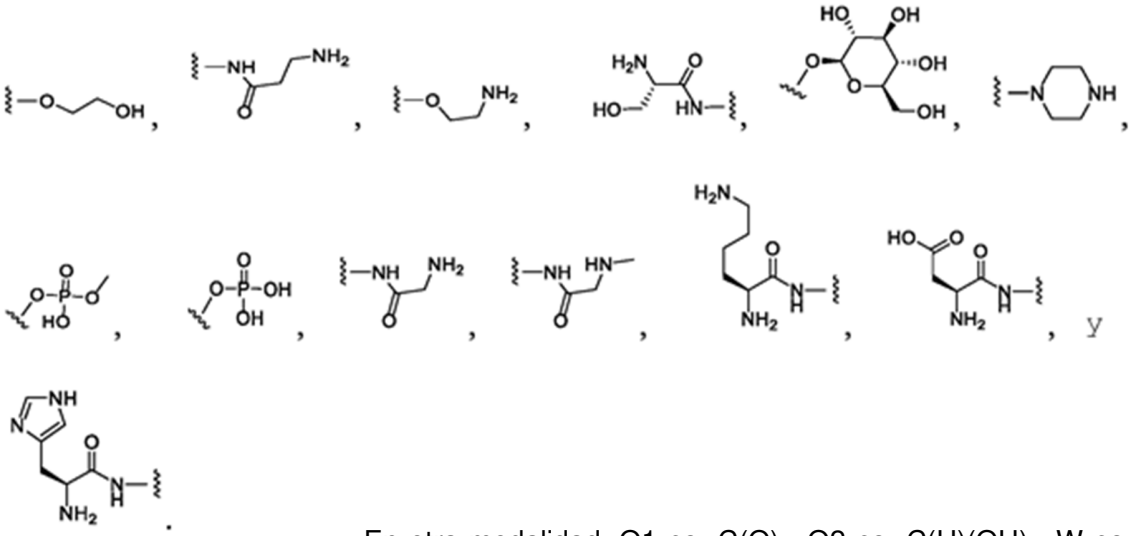
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-NH-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



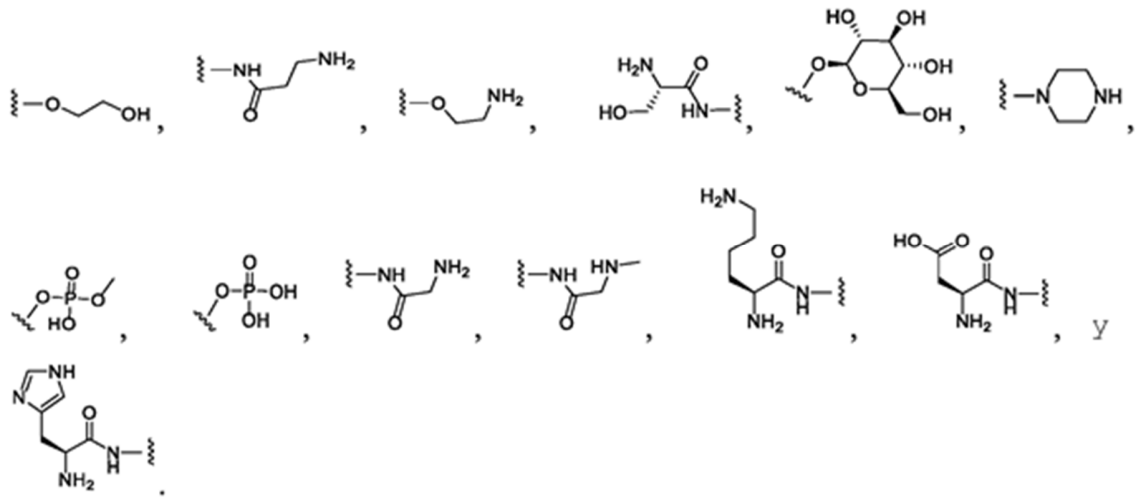
[0094] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es-NH-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -CH2-, W es -NH-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

[0095] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)- y W es -CH2-. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2- y R1 es-H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -

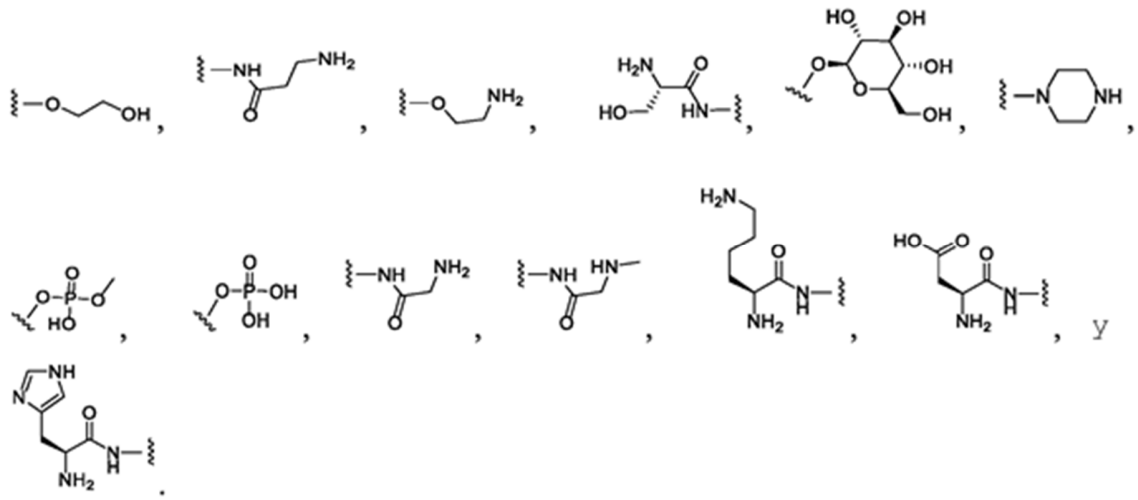
C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo



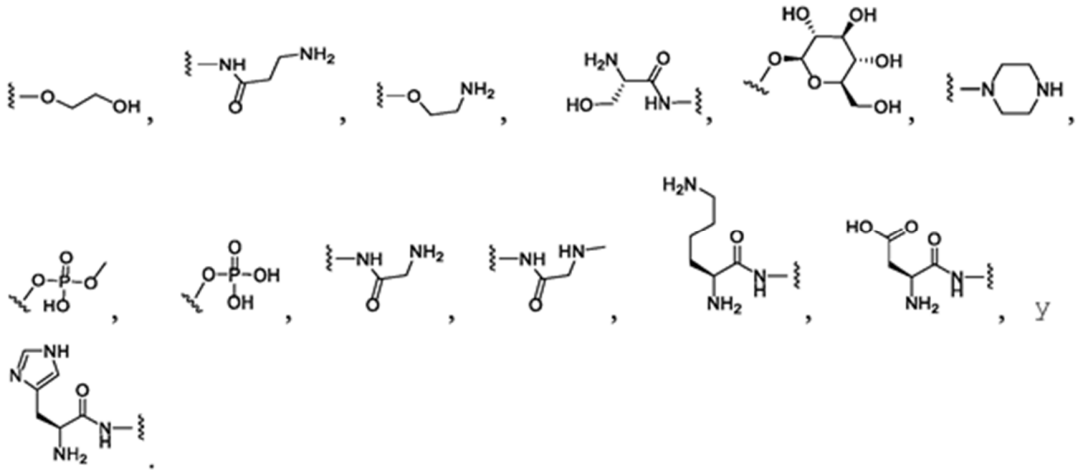
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2- y R1 es-OH y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es-CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2- y R1 es-NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es-CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 es -O -R5. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

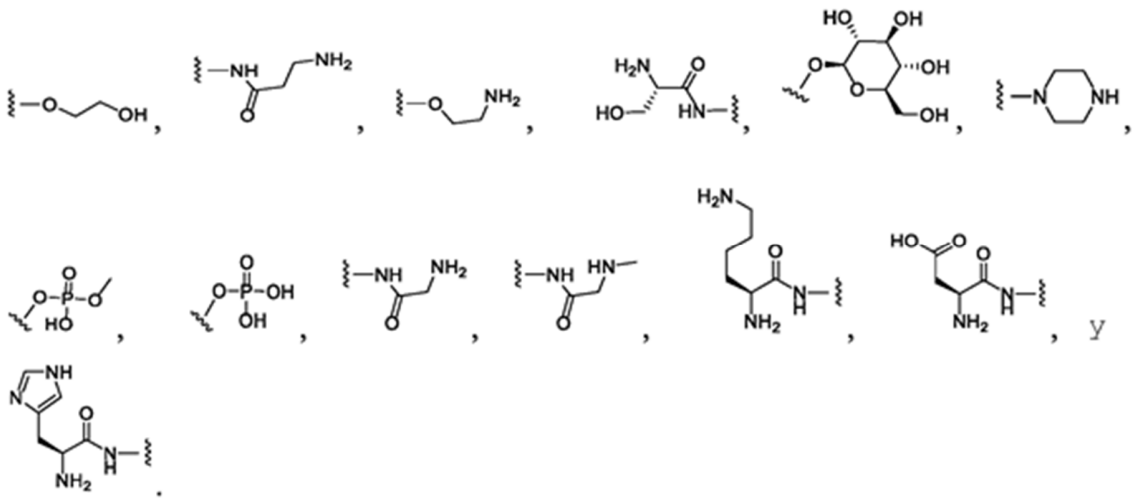


En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es-CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



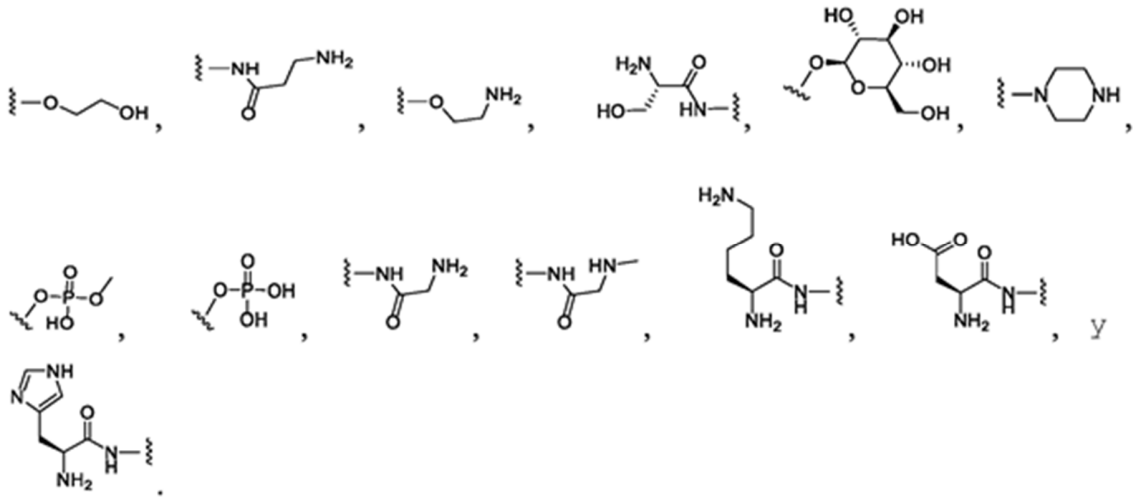
En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -CH2-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

[0097] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, y W es -O-. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo

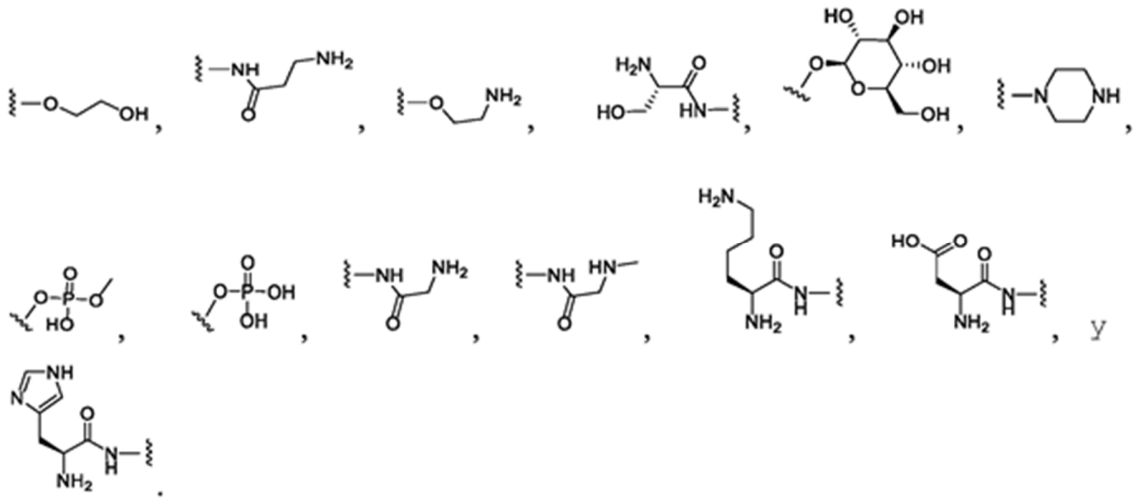


En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -

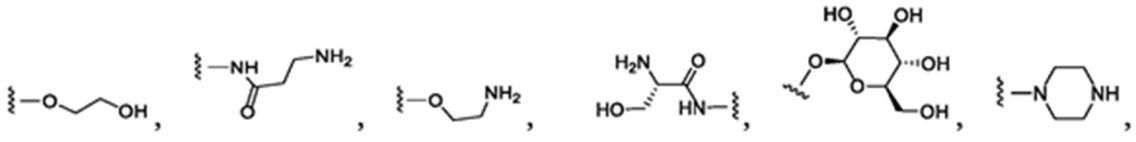
O-, y R1 es -OH y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es-O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

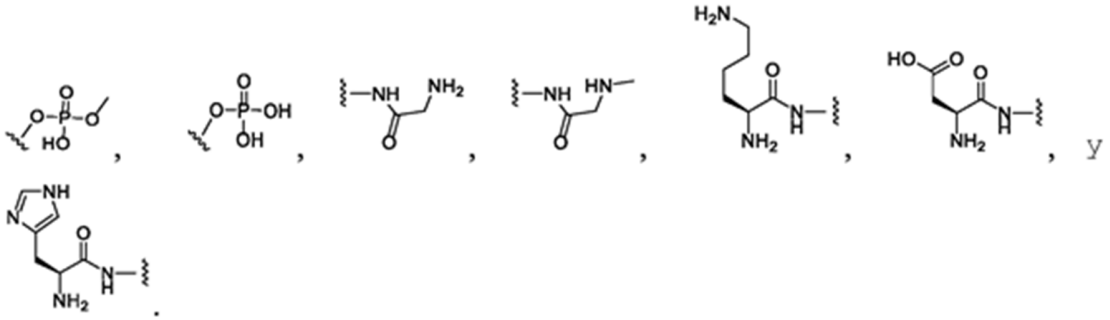


En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es-O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -NH2 y R2 es selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



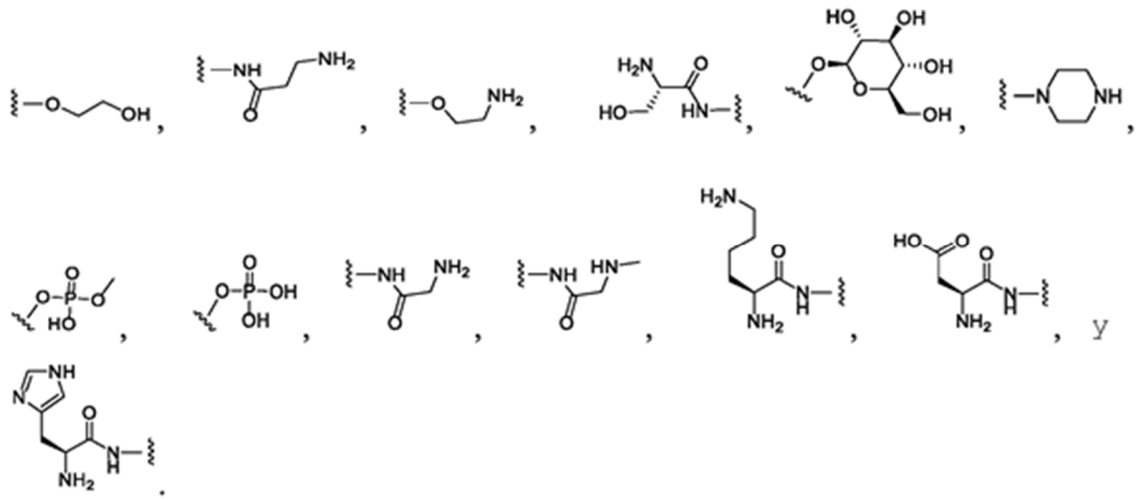
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 es-O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



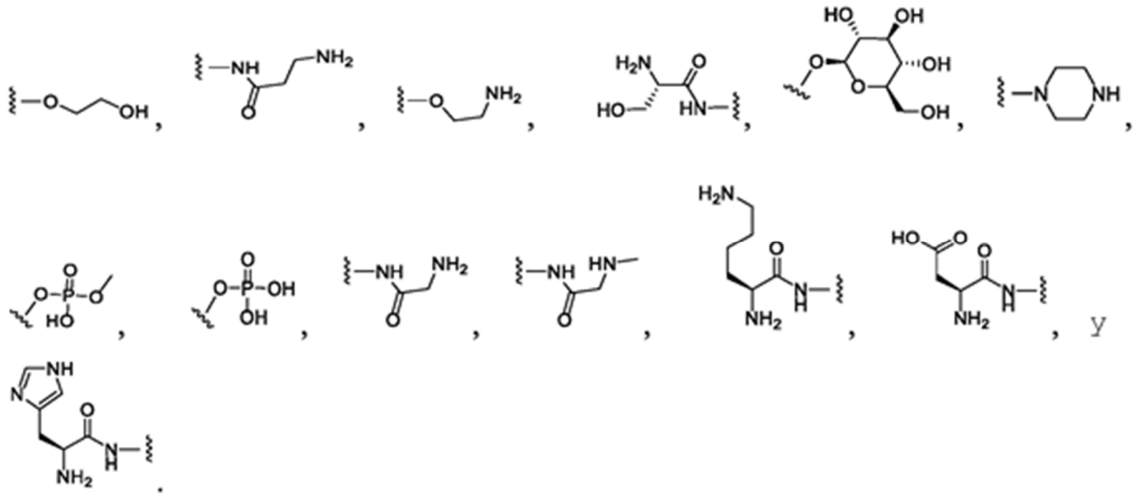


[0098] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -O-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

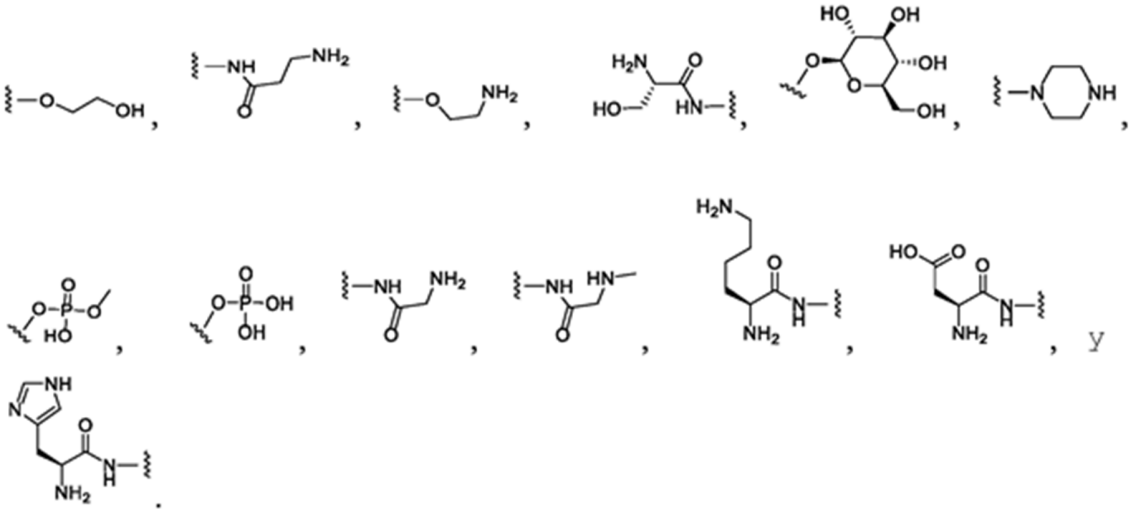
[0099] En una modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, y W es -NH-. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5, o -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 es-O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -H y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



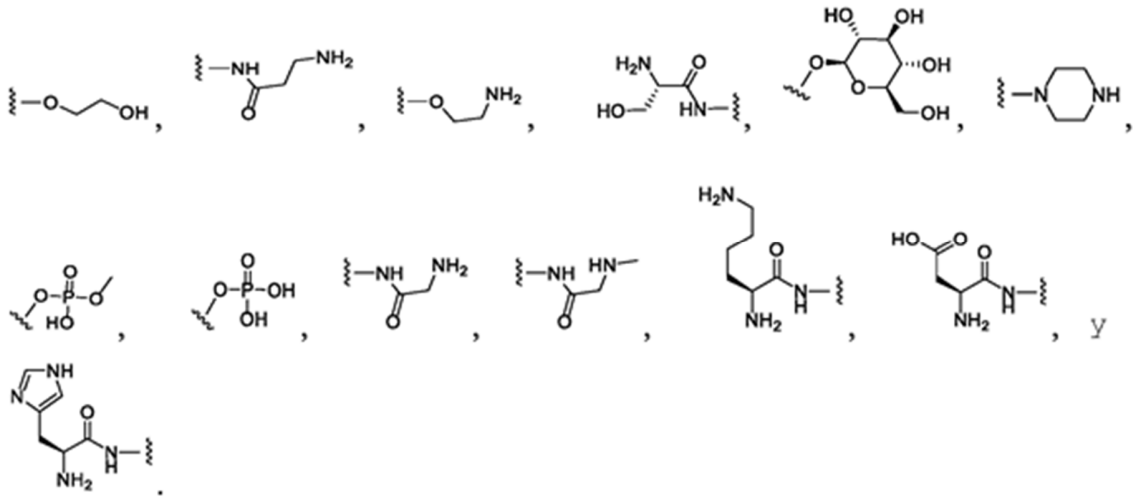
En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es-O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 es -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -NH2 y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,

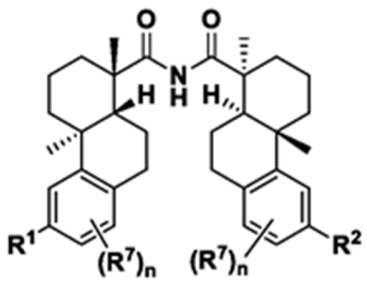


En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -OH,-CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -OH. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es-C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es -CH2NH2. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R3. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R4. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 es-O-R5. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es alquilo y R2 se selecciona del grupo que consiste en amino, dimetilamino, hidroxilo,



[00100] En otra modalidad de la Fórmula I o Ia, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OH o -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es-C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OH y R2 es -H. En otra modalidad, Q1 es -C(O)-, Q2 es -C(H)(OH)-, W es -NH-, y R1 es -OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -H. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, R6 puede seleccionarse del grupo que consiste en hidroxilo y metilo.

[00101] En algunos ejemplos, se expone aquí un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (Ib):



(Ib)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable, en donde

W es -CH2-, -N(H)- u -O-;

R1 es -H, -OH, -NH2, alquilo o -OP(O)(OR6)2;

R2 es -H, -OH, -CH2NH2, R3, R4, R5 u -O-R5, en donde R1 y R2 no son simultáneamente -H;

R3 es -N(R6)2;

R4 es -X-Y-Z;

X se selecciona del grupo que consiste en -O- y -N(H)-;

Y se selecciona del grupo que consiste en alquileno, alquileno sustituido (incluyendo, sin limitación, sustitución oxo, (es decir, =O)), heteroalquileno y heteroalquileno sustituido (incluyendo, sin limitación, sustitución oxo (es decir, =O));

Z se selecciona del grupo que consiste en -OH y -NH2;

R5 es alquilo, heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido incluye uno, dos o tres heteroátomos seleccionados de nitrógeno y oxígeno, e incluye al menos un sustituyente -OH y-CH2OH, o al menos un nitrógeno primario o secundario, por ejemplo, O-glucosa;

cada R6 es en cada caso, -H, un residuo de aminoácido, un residuo de N-alquil aminoácido, un péptido o alquilo; y

cada R7 es, independientemente, halo, alquilo de C1-6, alcoxi de C1-6, -CN, O-glucosa, residuo de O-aminoácido y O-PEGn, en donde cada n es un número entero de 0-3.

[00102] En la Fórmula Ib, en ciertas modalidades, R5 es heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido. Los grupos heterocicloalquilo útiles incluyen tetrahidropiranilo, glicosidilo y piperazinilo. Estos grupos pueden estar sustituidos o no sustituidos. En ciertas modalidades, no están sustituidos. En ciertas modalidades, están sustituidos. Los sustituyentes ejemplares incluyen al menos un hidroxilo, al menos un nitrógeno primario o al menos un nitrógeno secundario.

[00103] En ciertas modalidades de la Fórmula Ib, R6 es independientemente en cada caso un residuo de aminoácido, un residuo de N-alquil aminoácido o un péptido. Los expertos en la materia reconocerán que el residuo de aminoácido puede ser aquiral o quiral, por ejemplo, L-aminoácido o D-aminoácido. Los aminoácidos generalmente incluyen una cadena lateral de aminoácidos. La cadena lateral puede ser la cadena lateral de cualquier aminoácido conocido por los expertos. En ciertas modalidades, la cadena lateral es la cadena lateral de histidina, alanina, isoleucina, arginina, leucina, asparagina, lisina, ácido aspártico, metionina, cisteína, fenilalanina, ácido glutámico, treonina, glutamina, triptófano, valina, ornitina, selenocisteína, serina, glicina, homoglicina (por ejemplo, β-homoglicina) o tirosina. Los expertos en la materia reconocerán que el péptido puede ser aquiral o quiral, por ejemplo, incluyendo DL-aminoácidos racémicos o D- o L-aminoácidos no racémicos y mezclas diastereoméricas de los mismos. Las cadenas laterales de los péptidos son como se describe en el contexto de los aminoácidos, arriba. Los expertos en la materia reconocerán que el residuo de N-alquil aminoácido incluye un sustituyente alquilo, como se define en el presente documento, en el grupo amino terminal del aminoácido o el grupo amino terminal del péptido.

[00104] En la Fórmula Ib, en ciertas modalidades, R7 es halo, alquilo de C1-6, alcoxi de C1-6, -CN, O-glucosa, residuo de O-aminoácido u O-PEGn, en donde cada n es un número entero de 0-3. En ciertas modalidades, el residuo de O-aminoácido incluye el residuo de HO-aminoácido como se definió anteriormente. En una modalidad, O-PEGn es donde n = 0. En otra modalidad, O-PEGn es donde n = 1. En otra modalidad, O-PEGn es donde n = 2. En otra modalidad más, O-PEGn es donde n = 3.

[00105] En una modalidad de la FórmulaIb, R1 es -OH. En otra modalidad, R1 es-OH y R2 es -O-(CH2)n-Z, en donde n es un número entero de uno a cuatro. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es -O-(CH2)n-Z, yn es uno. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es -O-(CH2)n-Z, yn es dos. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es -O-(CH2)n-Z, yn es tres. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es -O-(CH2)n-Z, yn es cuatro.

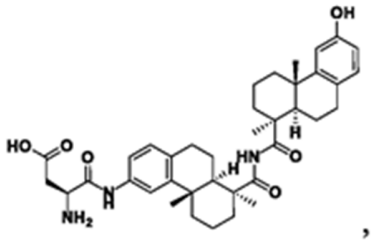
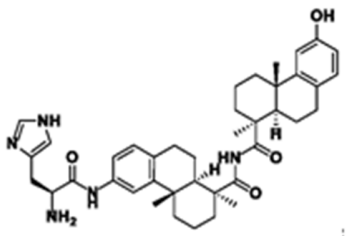
[00106] En una modalidad de la FórmulaIb, R1 es -OH y R2 es-N(H)C(O)-(CH2)n-NH2, en donde n es un número entero de uno a cuatro. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es -N(H)C(O)-(CH2)n-NH2, yn es uno. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es -N(H)C(O)-(CH2)n-NH2, yn es dos. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es-N(H)C(O)-(CH2)n-NH2, yn es tres. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es-N(H)C(O)-(CH2)n-NH2, yn es cuatro.

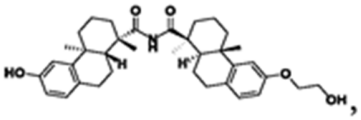
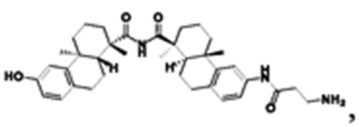
[00107] En una modalidad de la FórmulaIb, R1 es -OH y R2 es-N(H)C(O)-(CRR)n-NH2, en donde cada R es -H, -OH o -CH2OH, y donde n es un número entero de uno a cuatro. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es -N(H)C(O)-(CRR)n-NH2, cada R es -H, yn es un número entero de uno a cuatro. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es-N(H)C(O)-(CRR)n-NH2, cada R es -OH yn es un número entero de uno a cuatro. En ciertas modalidades, R1 es -OH, R2 es -N(H)C(O)-(CRR)n-NH2, cada R es -CH2OH yn es un número entero de uno a cuatro. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, n es uno. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, n es dos. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, n es tres. En cualquiera de las modalidades anteriores en este párrafo, n es cuatro.

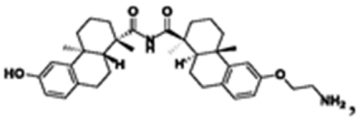
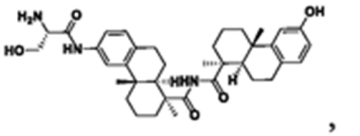
[00108] En una modalidad de la FórmulaIb, R1 es -OH y R2 es N-piperazinilo. En otra modalidad, R1 es -OH y R2 es -N(R6)2. En otra modalidad, R1 es-OH y R2 es N-serinilo. En otra modalidad más, R1 es -OH y R2 es O-glicosilo.

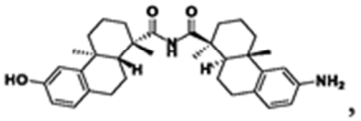
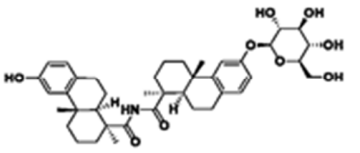
[00109] En una modalidad de la FórmulaIb, R1 es-OP(O)(OR6)(OH) y R2 es -NH2.

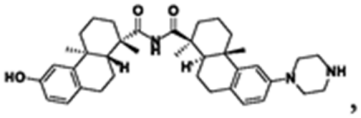
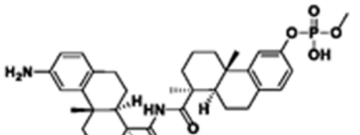
[00110] En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan compuestos de acuerdo con cualquiera de las Fórmulas I, Ia e Ib que se pueden seleccionar del grupo que consiste en:

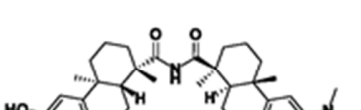
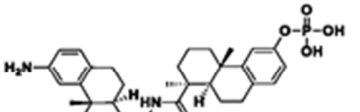

, y

;


,

,


,

,

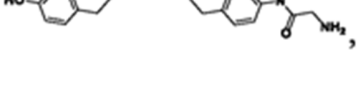

,

,


,

,


,

,

,

,

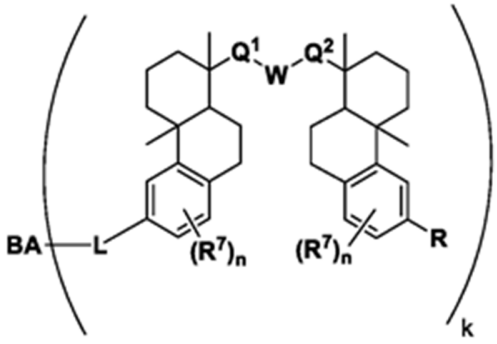

,

,

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable delos mismos.

Conjugados/conjugados fármaco-anticuerpo (ADCs)

[00111] En este documento se proporcionan conjugados de la Fórmula A:



(A)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable delos mismos, en donde

L es un enlazador o X-Y-Z, en donde X es -NH- u -O-; Y es un resto enzimáticamente escindible, un grupo de auto-inmolación, un resto ácido lábil, PEGn, un resto de azúcar o un grupo potenciador; y Z es un enlazador de agente de unión (BL) en el que Z está unido covalentemente a BA;

BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

cada uno de Q1 y Q2 es independientemente -CH2-, -C(O)-, -C(H)(OH)- o -C(OH)2-;

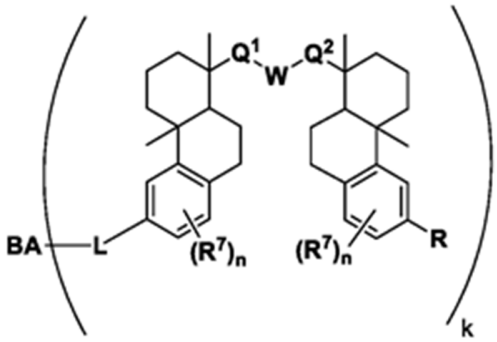
W es -CH2-, -N(H)- u -O-;

R es -H, -OR6, -OH, -NH2, alquilo o -OP(O)(OR6)2;

cada R6 es, independientemente en cada caso, -H, un residuo de aminoácido, un péptido o alquilo; y

en donde R1, R2, R3, R4 y R5 son como se describen en el contexto de la Fórmula I.Ejemplos de restos escindibles enzimáticamente incluyen, pero no se limitan a, cualquier dipéptido o tripéptido (por ejemplo, VC-PAB y VA, como se describe en otra parte del presente documento). Ejemplos de grupos de auto-inmolación se describen en otra parte del presente documento. Ejemplos de restos lábiles a los ácidos incluyen, pero sin limitación, alcoxaminas, cetoxaminas, carbonatos o fosfonatos. Ejemplos de grupos de mejora se describen en otra parte del presente documento. Ejemplos de restos reactivos se describen en otra parte del presente documento. En ciertas modalidades, Y no incluye PEGn. En ciertas modalidades, se puede usar un aminoácido para conectar la carga útil, el grupo potenciador y el anticuerpo (cada uno como se describe en otro lugar en este documento) entre sí, como se describe y es evidente en otro lugar en este documento. La conexión de la carga útil, el grupo potenciador y el anticuerpo a través del aminoácido se puede llevar a cabo mediante reacciones de acoplamiento de amida, adiciones de tio-Michael o alquilaciones de fenol-O como apreciarían los expertos en la materia. Por ejemplo, el aminoácido que conecta la carga útil, el grupo potenciador y el anticuerpo es la lisina. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, el aminoácido que conecta la carga útil, el grupo potenciador y el anticuerpo es D-lisina. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, el aminoácido que conecta la carga útil, el grupo potenciador y el anticuerpo es ácido aspártico. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, el aminoácido que conecta la carga útil, el grupo potenciador y el anticuerpo es el ácido glutámico. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, el aminoácido que conecta la carga útil, el grupo potenciador y el anticuerpo es la serina. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, el aminoácido que conecta la carga útil, el grupo potenciador y el anticuerpo es la cisteína. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, el aminoácido que conecta la carga útil, el grupo potenciador y el anticuerpo es la tirosina.

[00112] En el presente documento se proporcionan conjugados de la Fórmula (A):



(A)

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable delos mismos,

en donde

L es un enlazador;

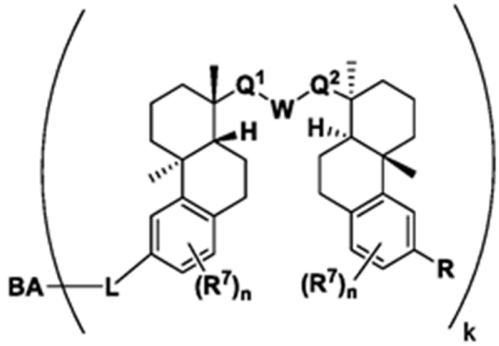
BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, YyZ son como se describen en el contexto de la Fórmula I. En ciertas modalidades, R es R1.

[00113] En el presente documento se proporcionan compuestos de la Fórmula (Aa):



(Aa)

o una sal farmacéuticamente aceptable delos mismos,

en donde

L es un enlazador;

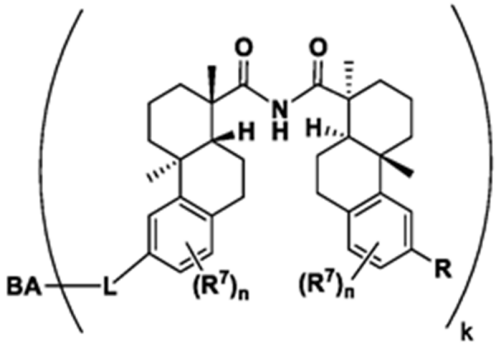
BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, YyZ son como se describen en el contexto de la Fórmula Ia. En ciertas modalidades, R es R1.

[00114] En el presente documento se proporcionan compuestos de la Fórmula (Ab):



(Ab)

o una sal farmacéuticamente aceptable delos mismos,

en donde

L es un enlazador;

BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, YyZ son como se describen en el contexto de la Fórmula Ib.

En ciertas modalidades, R es R1.

Agentes de unión

[00115] Los agentes de unión adecuados para cualquiera de los conjugados proporcionados en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos, linfocinas, hormonas, factores de crecimiento, receptores virales, interleucinas o cualquier otra molécula o sustancia de unión a células o a péptidos.

[00116] En algunas modalidades, el agente de unión es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. El anticuerpo puede estar en cualquier forma conocida por los expertos en la materia. El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier molécula de unión a antígeno o complejo molecular que comprende al menos una región determinante de complementariedad (CDR) que se une específicamente o interactúa con un antígeno particular. El término "anticuerpo" incluye moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas de polipéptidos, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de las mismas (por ejemplo, IgM). Cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada aquí como HCVR o VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de la cadena pesada comprende tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada aquí como LCVR o VL) y una región constante de cadena ligera. La región constante de la cadena ligera comprende un dominio (CL1). Las regiones VH y VL se pueden subdividir en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDRs), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada VH y VL está compuesto por tres CDRs y cuatro FRs, dispuestas del extremo amino terminal al extremo carboxilo terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En diferentes modalidades de la invención, las FRs de los anticuerpos (o la porción de unión a antígeno de los mismos) adecuadas para los compuestos de la presente invención pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana, o pueden modificarse de forma natural o artificial. Se puede definir una secuencia consenso de aminoácidos en base a un análisis de dos o más CDRs. El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, también incluye fragmentos de moléculas de anticuerpos completos que se unen a antígeno. Los términos "porción de unión a antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo y similares, como se usa en el presente documento, incluyen cualquier polipéptido o glicoproteína de origen natural, obtenible enzimáticamente, sintético o

genéticamente modificado que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Los fragmentos de unión a antígeno de un anticuerpo pueden derivarse, por ejemplo, de moléculas de anticuerpo completas usando cualquier técnica (s) estándar adecuada (s) tal como digestión proteolítica o técnica (s) de ingeniería genética recombinante que implica la manipulación y expresión de ADN que codifica la variable del anticuerpo y opcionalmente dominios constantes. Tal ADN es conocido y/o está fácilmente disponible en, por ejemplo, fuentes comerciales, bibliotecas de ADN (que incluyen, por ejemplo, bibliotecas de fago-anticuerpo), o puede sintetizarse. El ADN puede secuenciarse y manipularse químicamente o usando técnicas de biología molecular, por ejemplo, para organizar uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o para introducir codones, crear residuos de cisteína, modificar, agregar o eliminar amino ácidos, etc. Los ejemplos no limitantes de fragmentos de unión a antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')2; (iii) fragmentos de Fd; (iv) fragmentos Fv; (v)moléculas de Fv de cadena sencilla (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades de reconocimiento mínimas que consisten en los residuos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una CDR aislada como un péptido CDR3), o un péptido FR3-CDR3-FR4 restringido. Otras moléculas de ingeniería, como anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de dominio único, anticuerpos con dominio eliminado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos injertados con CDR, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (por ejemplo, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIPs) y dominios IgNAR variables de tiburón, también están incluidos en la expresión "fragmento de unión a antígeno", como se usa en el presente documento. Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo típicamente comprenderá al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR que está adyacente o en marco con una o más secuencias marco. En los fragmentos de unión a antígeno que tienen un dominio VH asociado con un dominio VL, los dominios VH y VL pueden estar situados entre sí en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimérica y contener dímeros VH-VH, VH-VL o VL-VL. Como alternativa, el fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio VH o VL monomérico. En ciertas modalidades, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido covalentemente a al menos un dominio constante. Las configuraciones ejemplares no limitantes de dominios variables y constantes que se pueden

encontrar dentro de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente invención incluyen: (i) VH-CH1; (ii) VH-CH2; (iii) VH-CH3; (iv) VH-CH1-CH2; (v) VH-CH1-CH2-CH3; (vi) VH-CH2-CH3; (vii) VH-CL; (viii) VL-CH1; (ix) VL-CH2; (x) VL-CH3; (xi) VL-CH1-CH2; (xii) VL-CH1-CH2-CH3; (xiii) VL-CH2-CH3; y (xiv) VL-CL. En cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluida cualquiera de las configuraciones ejemplares enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar directamente enlazados entre sí o pueden estar enlazados por una bisagra completa o parcial o región de enlace. Una región bisagra puede consistir en al menos 2 (por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos que den como resultado un enlace flexible o semiflexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una solamolécula de polipéptido. Al igual que con las moléculas de anticuerpos completas, los fragmentos de unión a antígeno pueden ser monoespecíficos o multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un fragmento de unión a antígeno multiespecífico de un anticuerpo típicamente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en donde cada dominio variable es capaz de unirse específicamente a un antígeno separado o a un epítopo diferente en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico, incluidos los formatos de anticuerpos biespecíficos ejemplares descritos en este documento, se puede adaptar para su uso en el contexto de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente invención usando técnicas de rutina disponibles en la técnica. En ciertas modalidades descritas aquí, los anticuerpos descritos aquí son anticuerpos humanos. El término "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica del sitio in vitro o por mutación somática in vivo), por ejemplo, en las CDRs y en particular CDR3. Sin embargo, el término "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que las secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, como un ratón, se hayan injertado en secuencias marco humanas. El término "anticuerpo humano" no incluye moléculas de origen natural que normalmente existen sin modificación o intervención/manipulación humana, en un organismo vivo de origen natural, no modificado. Los anticuerpos de la invención pueden, en algunas modalidades, ser anticuerpos humanos recombinantes. El término "anticuerpo humano recombinante", como se usa en el presente

documento, pretende incluir todos los anticuerpos humanos que se preparen, expresen, creen o aíslen por medios recombinantes, tales como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula hospedera (descrito adicionalmente a continuación), anticuerpos aislados de una biblioteca recombinante, combinatoria de anticuerpos humanos (descritos más adelante), anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que sea transgénico para los genes de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, Taylor et al.(1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique la unión de secuencias de genes de inmunoglobulina humana a otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana. Sin embargo, en ciertas modalidades, tales anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis in vitro (o, cuando se usa un animal transgénico para secuencias de Ig humana, mutagénesis somática in vivo) y, por lo tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones VH y VL del recombinante. Los anticuerpos son secuencias que, aunque derivadas y relacionadas con las secuencias VH y VL de la línea germinal humana, pueden no existir naturalmente dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos in vivo. Los anticuerpos humanos pueden existir en dos formas que están asociadas con la heterogeneidad de la bisagra. En una forma, una molécula de inmunoglobulina comprende una construcción estable de cuatro cadenas de aproximadamente 150-160 kDa en la que los dímeros se mantienen unidos por un enlace disulfuro de cadena pesada entre cadenas. En una segunda forma, los dímeros no están unidos a través de enlaces disulfuro entre cadenas y se forma una molécula de aproximadamente 75-80 kDa compuesta de una cadena ligera y pesada (medio anticuerpo) acoplada covalentemente. Estas formas han sido extremadamente difíciles de separar, incluso después de la purificación por afinidad. La frecuencia de aparición de la segunda forma en varios isotipos de IgG intactos se debe, pero no se limita a, diferencias estructurales asociadas con el isotipo de la región bisagra del anticuerpo. Una única sustitución de aminoácidos en la región bisagra de la bisagra IgG4 humana puede reducir significativamente la apariencia de la segunda forma (Angalet al.(1993) Molecular Immunology 30:105) a niveles típicamente observados usando una bisagra IgG1 humana. La presente invención abarca anticuerpos que tienen una o más mutaciones en la región de la bisagra, CH2 o CH3 que pueden ser deseables, por ejemplo, en producción, para mejorar el rendimiento de la forma de anticuerpo deseada. Los anticuerpos descritos en este documento pueden ser anticuerpos aislados. Un "anticuerpo

aislado", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo que se ha identificado y separado y/o recuperado de al menos un componente de su entorno natural. Por ejemplo, un anticuerpo que se ha separado o eliminado de al menos un componente de un organismo, o de un tejido o célula en el que el anticuerpo existe naturalmente o se produce naturalmente, es un "anticuerpo aislado" para los fines de la presente invención. Un anticuerpo aislado también incluye un anticuerpo in situ dentro de una célula recombinante. Los anticuerpos aislados son anticuerpos que han sido sometidos a al menos una etapa de purificación o aislamiento. De acuerdo con ciertas modalidades, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos. Los anticuerpos usados en el presente documento pueden comprender una o más sustituciones, inserciones y/o deleciones de aminoácidos en las regiones marco y/o CDR de los dominios variables de la cadena pesada y ligera en comparación con las secuencias de la línea germinal correspondientes de las cuales se derivaron los anticuerpos. Dichas mutaciones se pueden determinar fácilmente comparando las secuencias de aminoácidos descritas en el presente documento con las secuencias de línea germinal disponibles, por ejemplo, en bases de datos públicas de secuencias de anticuerpos. La presente invención incluye anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se derivan de cualquiera de las secuencias de aminoácidos descritas en el presente documento, en donde uno o más aminoácidos dentro de una o más regiones marco y/o CDR están mutados al residuo correspondiente) de la secuencia de la línea germinal a partir de la cual se derivó el anticuerpo, o al (a los) residuo (s) correspondiente (s) de otra secuencia de la línea germinal humana, o a una sustitución conservadora de aminoácidos de los residuos de la línea germinal correspondiente (tales cambios de secuencia se mencionan colectivamente en el presente documento) como "mutaciones de la línea germinal"). Un experto en la materia, comenzando con las secuencias de región variable de cadena pesada y ligera descritas en el presente documento, puede producir numerosos anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que comprendan una o más mutaciones de línea germinal individuales o combinaciones de las mismas. En ciertas modalidades, todos los residuos marco y/o CDR dentro de los dominios VH y/o VL se mutan de nuevo a los residuos encontrados en la secuencia de línea germinal original de la que se deriva el anticuerpo. En otras modalidades, solo ciertos residuos se vuelven a mutar a la secuencia de la línea germinal original, por ejemplo, solo los residuos mutados encontrados dentro de los primeros 8 aminoácidos de FR1 o dentro de los últimos 8 aminoácidos de FR4, o solo los residuos mutados encontrados dentro de CDR1, CDR2 o

CDR3. En otras modalidades, uno o más de los residuos de estructura y/o CDR están mutados a los residuos correspondientes de una secuencia de línea germinal diferente (es decir, una secuencia de línea germinal que es diferente de la secuencia de la línea germinal de la que se produjo el anticuerpo derivado originalmente). Además, los anticuerpos de la presente invención pueden contener cualquier combinación de dos o más mutaciones de la línea germinal dentro del marco y/o regiones CDR, por ejemplo, en donde ciertos residuos individuales están mutados al residuo correspondiente de una secuencia particular de la línea germinal, mientras que ciertos otros residuos que difieren de la secuencia de la línea germinal original se mantienen o se mutan al residuo correspondiente de una secuencia de la línea germinal diferente. Una vez obtenidos, los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno que contienen una o más mutaciones de la línea germinal pueden analizarse para una o más propiedades deseadas tales como, especificidad de unión mejorada, afinidad de unión aumentada, propiedades biológicas antagonistas o agonistas mejoradas o mejoradas (según sea el caso), inmunogenicidad reducida, etc. Los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno obtenidos de esta manera general están incluidos en la presente invención. Los anticuerpos útiles para los compuestos de la presente invención también incluyen anticuerpos que comprenden variantes de cualquiera de las secuencias de aminoácidos de HCVR, LCVR y/o CDR descritas en la presente memoria que tienen una o más sustituciones conservadoras. El término "epítopo" se refiere a un determinante antigénico que interactúa con un sitio de unión a antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como paratopo. Un solo antígeno puede tener más de un epítopo. Por lo tanto, diferentes anticuerpos pueden unirse a diferentes áreas en un antígeno y pueden tener diferentes efectos biológicos. Los epítopos pueden ser conformacionales o lineales. Un epítopo conformacional es producido por aminoácidos espacialmente yuxtapuestos de diferentes segmentos de la cadena polipeptídica lineal. Un epítopo lineal es uno producido por residuos de aminoácidos adyacentes en una cadena de polipéptidos. En ciertas circunstancias, un epítopo puede incluir restos de sacáridos, grupos fosforilo o grupos sulfonilo en el antígeno.

[00117] En ciertas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena ligera. En ciertas modalidades, la cadena ligera es una cadena ligera kappa. En ciertas modalidades, la cadena ligera es una cadena ligera lambda. En ciertas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada. En algunos aspectos, la cadena pesada es una IgA. En algunos aspectos, la cadena pesada es una IgD. En algunos aspectos, la cadena pesada es una IgE. En algunos aspectos, la cadena pesada es una IgG. En algunos aspectos, la

cadena pesada es una IgM. En algunos aspectos, la cadena pesada es una IgG1. En algunos aspectos, la cadena pesada es una IgG2. En algunos aspectos, la cadena pesada es una IgG3. En algunos aspectos, la cadena pesada es una IgG4. En algunos aspectos, la cadena pesada es una IgA1. En algunos aspectos, la cadena pesada es una IgA2.

[00118] En algunas modalidades, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo. En algunos aspectos, el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fv. En algunos aspectos, el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab. En algunos aspectos, el fragmento de anticuerpo es un fragmento F(ab')2. En algunos aspectos, el fragmento de anticuerpo es un fragmento Fab'. En algunos aspectos, el fragmento de anticuerpo es un fragmento scFv (sFv). En algunos aspectos, el fragmento de anticuerpo es un fragmento scFv-Fc.

[00119] En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo policlonal.

[00120] En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo humano.

[00121] El anticuerpo puede tener especificidad de unión para cualquier antígeno que se considere adecuado para los expertos en la materia. En ciertas modalidades, el antígeno es una molécula transmembrana (por ejemplo, receptor) o un factor de crecimiento. Los antígenos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, moléculas tales como receptores captadores de clase A, incluyendo el receptor captador A (SR-A o MSR1), receptor de macrófagos con estructura colágena (MARCO), receptor captador con lectina de tipo C (SRCL), y el receptor captador A-5 (SCARA5), COLEC12, receptores captadores de macrófagos de clase B que incluyen CD36, LIMPII, SRBI, SRBII, el receptor captador de clase D CD68, y la glucoproteína de membrana lisosómica (LAMP), el receptor captador de clase E que incluye receptor 1 de lipoproteína de baja densidad oxidado tipo lectrina LOX-1 y Dectin-1, receptores captadores de clase F, incluido el receptor captador expresado por las células endoteliales I (SREC-I) y SREC-II, así como dominios similares al factor de crecimiento epidérmico múltiple (EGF) (MEGF) 10, receptor de secuestrador de clase G CXC ligando de quimiocina 16 (CXCL16), receptores captadores de clase H que incluyen Fasciclin, tipo EGF, tipo EGF similar a lamina y receptor captador que contiene dominio de enlace-1 (FEEL-1) y -2 (FEEL-2), receptor captador clase I CD163, y receptor captador clase J para productos finales de glicación avanzada (RAGE), otros miembros de la

superfamilia de lectina de tipo C, incluidos DEC205, CD206, Dectin-2, Mincle, DC-SIGN y DNGR-1, y otras proteínas de membrana comomiembro relacionado con la familia B7, incluido el conjunto V y el dominio Ig que contiene 4 (VSIG4), el receptor del factor estimulante de colonias 1 (CSF1R), el receptor de asialoglicoproteína (ASGPR) y la proteína 2 precursora tipo amiloide beta (APLP-2). En algunas modalidades, el antígeno es PRLR o HER2. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo anti-PRLR o anti-HER2.

[00122] Los enlazadores de agente de unión pueden unirse al agente de unión, por ejemplo, anticuerpo o molécula de unión a antígeno, a través de una unión a un aminoácido particular dentro del anticuerpo o molécula de unión a antígeno. Ejemplos de uniones de aminoácidos que se pueden usar en el contexto de este aspecto de la invención incluyen, por ejemplo, lisina (véase, por ejemplo, US 5,208,020; US 2010/0129314; Hollanderet al., BioconjugateChem., 2008, 19:358-361; WO 2005/089808; US 5,714,586; US 2013/0101546; y US 2012/0585592), cisteína (véase, por ejemplo, US 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; US 2013/0101546; y US 7,750,116), selenocisteína (véase, por ejemplo, WO 2008/122039; y Hoferet al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2008, 105:12451-12456), formil glicina (véase, por ejemplo, Carrico et al., Nat. Chem. Biol., 2007, 3:321-322; Agarwal et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2013, 110:46-51, y Rabukaet al., Nat. Protocols, 2012, 10:1052-1067), aminoácidos no naturales (véase, por ejemplo, WO 2013/068874 y WO 2012/166559) y aminoácidos ácidos (véase, por ejemplo, WO 2012/05982). Los enlazadores también pueden conjugarse con una proteína de unión a antígeno mediante unión a carbohidratos (véase, por ejemplo, US 2008/0305497, WO 2014/065661 y Ryan et al., Food&AgricultureImmunol., 2001, 13:127-130).

[00123] En algunos ejemplos, el agente de unión es un anticuerpo o molécula de unión a antígeno, y el anticuerpo está unido al enlazador a través de un residuo de lisina. En algunas modalidades, la molécula de unión de anticuerpo o antígeno se une al enlazador a través de un residuo de cisteína.

[00124] Los enlazadores también se pueden conjugar con uno o más residuos de glutamina mediante conjugación quimioenzimática basada en transglutaminasa (véase, por ejemplo, Dennleret al., BioconjugateChem.2014, 25, 569-578 y WO 2017/147542). Por ejemplo, en presencia de transglutaminasa, uno o más residuos de glutamina de un anticuerpo se pueden acoplar a un compuesto de amina primaria. Brevemente, en algunas

modalidades, un anticuerpo que tiene un residuo de glutamina (por ejemplo, un residuo Gln295) se trata con un compuesto de amina primaria, descrito con más detalle a continuación, en presencia de la enzima transglutaminasa. Los compuestos de aminas primarias incluyen, por ejemplo, cargas útiles o enlazadores-cargas útiles, que proporcionan directamente conjugados de anticuerpo y fármaco mediante acoplamiento mediado por transglutaminasa. Los compuestos de aminas primarias también incluyen enlazadores y separadores que se funcionalizan con grupos reactivos que pueden tratarse posteriormente con compuestos adicionales hacia la síntesis de conjugados de anticuerpo y fármaco. Los anticuerpos que comprenden residuos de glutamina pueden aislarse de fuentes naturales o manipularse para comprender uno o más residuos de glutamina. Las técnicas para diseñar residuos de glutamina en una cadena de polipéptidos de anticuerpos (anticuerpos modificados con glutaminilo o moléculas de unión a antígeno) están dentro de la habilidad de los profesionales en la técnica. En ciertas modalidades, el anticuerpo está aglicosilado.

[00125] En ciertas modalidades, el anticuerpo o un anticuerpo modificado con glutaminilo o una molécula de unión a antígeno comprende al menos un residuo de glutamina en al menos una secuencia de cadena polipeptídica. En ciertas modalidades, el anticuerpo o un anticuerpo modificado con glutaminilo o una molécula de unión a antígeno comprende dos polipéptidos de cadena pesada, cada uno con un residuo Gln295. En modalidades adicionales, el anticuerpo o un anticuerpo modificado con glutaminilo o una molécula de unión a antígeno comprende uno o más residuos de glutamina en un sitio que no sea una cadena pesada 295. En el presente documento se incluyen anticuerpos de esta sección que llevan mutación (es) de Asn297Gln (N297Q) descrita en el presente documento. Se incluyen en el presente documento los anticuerpos de esta sección que llevan residuos Gln55 (Q55).

Compuestos de amina primaria

[00126] El compuesto de amina primaria útil para el acoplamiento mediado por transglutaminasa de un anticuerpo (o compuesto de unión a antígeno) que comprende una glutamina puede ser cualquier compuesto de amina primaria considerado útil por el profesional con experiencia ordinaria. Generalmente, el compuesto de amina primaria tiene la fórmula H2N-R, en donde R puede ser cualquier grupo compatible con el anticuerpo y las

condiciones de reacción. En ciertas modalidades, R es alquilo, alquilo sustituido, heteroalquilo o heteroalquilo sustituido.

[00127] En algunas modalidades, el compuesto de amina primaria comprende un grupo reactivo o un grupo reactivo protegido. Los grupos reactivos útiles incluyen azidas, alquinos, cicloalquinos, tioles, alcoholes, cetonas, aldehídos, ácidos, ésteres, hidrazidas, anilinas y aminas. En ciertas modalidades, el grupo reactivo se selecciona del grupo que consiste en azida, alquino, sulfhidrilo, cicloalquino, aldehído y carboxilo.

[00128] En ciertas modalidades, el compuesto de amina primaria está de acuerdo con la fórmula H2N-LL-X, en donde LL es un separador divalente y X es un grupo reactivo o grupo reactivo protegido. En modalidades particulares, LL es un grupo de polietilenglicol (PEG) divalente. En ciertas modalidades, X se selecciona del grupo que consiste en -SH, -N3, alquino, aldehído y tetrazol. En modalidades particulares, X es -N3.

[00129] En ciertas modalidades, el compuesto de amina primaria está de acuerdo con una de las siguientes fórmulas:

H2N-(CH2)n-X;

H2N-(CH2CH2O)n-(CH2) p-X;

H2N-(CH2)n-N(H)C(O)-(CH2)m-X;

H2N-(CH2CH2O)n-N(H)C(O)-(CH2CH2O)m-(CH2)p-X;

H2N-(CH2)n-C(O)N(H)-(CH2)m-X;

H2N-(CH2CH2O)n-C(O)N(H)-(CH2CH2O)m-(CH2)p-X;

H2N-(CH2)n-N(H)C(O)-(CH2CH2O)m-(CH2)p-X;

H2N-(CH2CH2O)n-N(H)C(O)-(CH2)m-X;

H2N-(CH2)n-C(O)N(H)-(CH2CH2O)m-(CH2)p-X; y

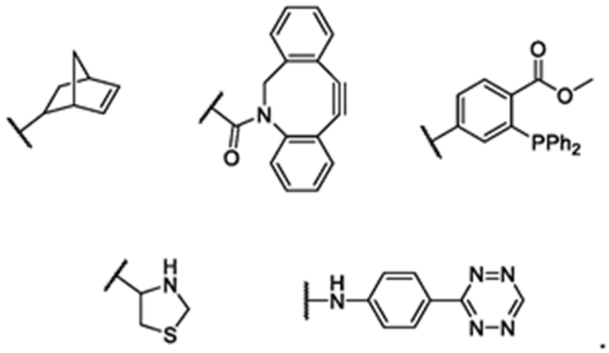
H2N-(CH2CH2O)n-C(O)N(H)-(CH2)m-X;

en donde n es un número entero seleccionado de 1 a 12;

m es un número entero seleccionado de 0 a 12;

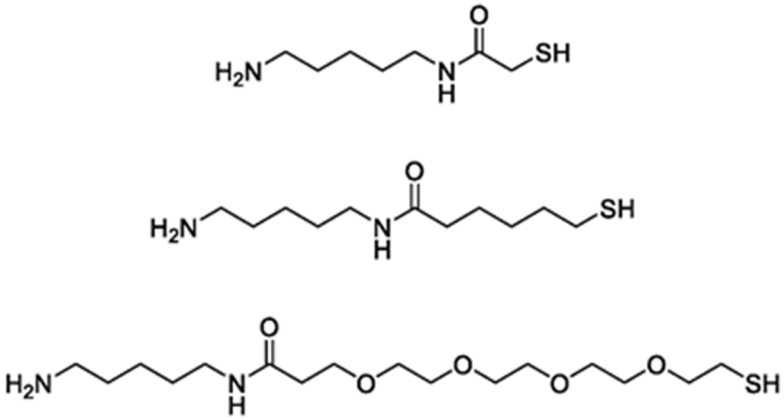
p es un número entero seleccionado de 0 a 2;

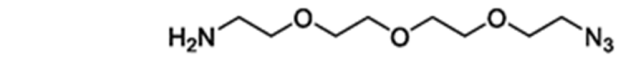
y X se selecciona del grupo que consiste en -SH, -N3, -C≡CH, -C(O) H, tetrazol y cualquiera de

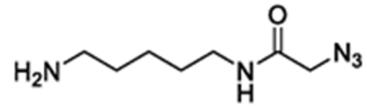


[00130] En lo anterior, cualquiera de los grupos alquilo (es decir, -CH2-) puede estar opcionalmente sustituido, por ejemplo, con alquilo de C1-8, metilformilo o -SO3H. En ciertas modalidades, los grupos alquilo no están sustituidos.

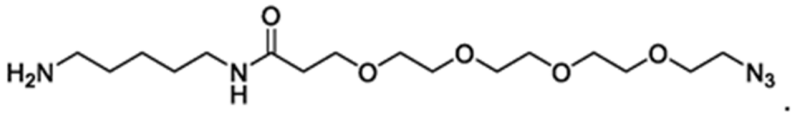
[00131] En ciertas modalidades, el compuesto de amina primaria se selecciona del grupo que consiste en:



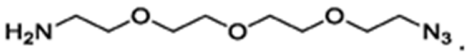




y



[00132] En modalidades particulares, el compuesto de amina primaria es



Se proporcionan condiciones ejemplares para las reacciones anteriores en los ejemplos a continuación.

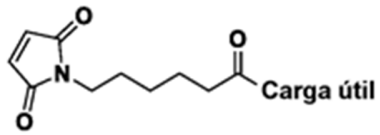
Enlazadores

[00133] La porción enlazador L de los conjugados descritos en este documento es un resto, por ejemplo, un resto divalente, que une covalentemente un agente de unión a un compuesto de carga útil descrito en este documento. En otros casos, el enlazador L es un resto trivalente o multivalente que une covalentemente un agente de unión a un compuesto de carga útil descrito aquí. Se pueden encontrar enlazadores adecuados, por ejemplo, en Antibody-DrugConjugates and Immunotoxins; Phillips, G. L., Ed.; Springer Verlag: New York, 2013; Antibody-DrugConjugates; Ducry, L., Ed.; Humana Press, 2013; Antibody-DrugConjugates; Wang, J., Shen, W.-C., y Zaro, J. L., Eds.; Springer International Publishing, 2015, los contenidos de cada uno de ellos incorporados aquí en su totalidad por referencia. Los compuestos de carga útil incluyen compuestos de la FórmulaI, Ia y Ib anteriores, y sus residuos después de la unión o incorporación con el enlazador L. Los expertos en la materia reconocerán que ciertos grupos funcionales de los restos de carga útil son convenientes para enlazar a enlazadores y/o agentes aglutinantes. Esos grupos incluyen aminas, hidroxilos, fosfatos y azúcares.

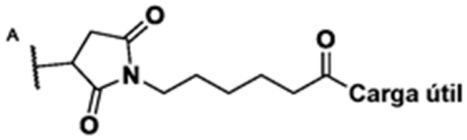
[00134] En ciertas modalidades, los enlazadores son estables en condiciones fisiológicas. En ciertas modalidades, los enlazadores son escindibles, por ejemplo, capaces de liberar al menos la porción de carga útil en presencia de una enzima o en un rango o

valor de pH particular. En algunas modalidades, un enlazador comprende un resto escindible por enzimas. Los restos ilustrativos escindibles por enzimas incluyen, pero sin limitación, enlaces peptídicos, enlaces éster, hidrazonas y enlaces disulfuro. En algunas modalidades, el enlazador comprende un enlazador escindible por catepsina.

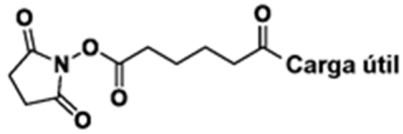
[00135] En algunas modalidades, el enlazador comprende un resto no escindible. En algunas modalidades, el enlazador-carga útil no escindible se deriva de



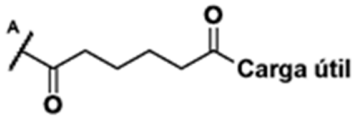
o un residuo del mismo. En algunas modalidades, el enlazador-carga útil no escindible es,



o un regioisómero del mismo. En algunas modalidades, el enlazador-carga útil no escindible se deriva de



o un residuo del mismo. En algunas modalidades, el enlazador-carga útil no escindible es



o un regioisómero del mismo. En una modalidad, el enlazador es ciclohexano carboxilato de maleimida o ácido 4-(N-maleimidometil)ciclohexanocarboxílico (MCC). En las estructuras, indica un enlace a un agente de unión. En las estructuras, en algunos ejemplos, indica un residuo químico

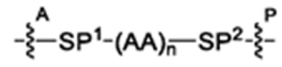
de click que resulta de la reacción de, por ejemplo, un agente de unión y una enlazador-carga útil.

[00136] En algunas modalidades, los enlazadores adecuados incluyen, pero sin limitación, aquellos que están unidos químicamente a dos restos de cisteína de un único agente de unión, por ejemplo, anticuerpo. Dichos enlazadores pueden servir para imitar los enlaces disulfuro del anticuerpo que se rompen como resultado del proceso de conjugación.

[00137] En algunas modalidades, el enlazador comprende uno o más aminoácidos. Los aminoácidos adecuados incluyen aminoácidos naturales, no naturales, estándar, no estándar, proteinógenos, no proteinógenos y L, o D- α-aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador comprende alanina, valina, glicina, leucina, isoleucina, metionina, triptófano, fenilalanina, prolina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina, glutamina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina, arginina, histidina o citrulina, un derivado de la misma, o combinación de los mismos. En ciertas modalidades, una o más cadenas laterales de los aminoácidos están unidas a un grupo de cadena lateral, que se describe a continuación. En algunas modalidades, el enlazador comprende valina y citrulina. En algunas modalidades, el enlazador comprende lisina, valina y citrulina. En algunas modalidades, el enlazador comprende lisina, valina y alanina. En algunas modalidades, el enlazador comprende valina y alanina.

[00138] En algunas modalidades, el enlazador comprende un grupo de auto-inmolación. El grupo de auto-inmolación puede ser cualquier grupo conocido por los expertos. En modalidades particulares, el grupo de auto-inmolación es p-aminobencilo (PAB), o un derivado del mismo. Los derivados útiles incluyen p-aminobenciloxicarbonilo (PABC). Los expertos reconocerán que un grupo de auto-inmolación es capaz de llevar a cabo una reacción química que libera los átomos restantes de un enlazador de una carga útil.

[00139] En algunas modalidades, el enlazador es:



en donde:

SP1 es un separador;

SP2 es un separador;


es uno o más enlaces al agente de unión;


es uno o más enlaces a la carga útil;

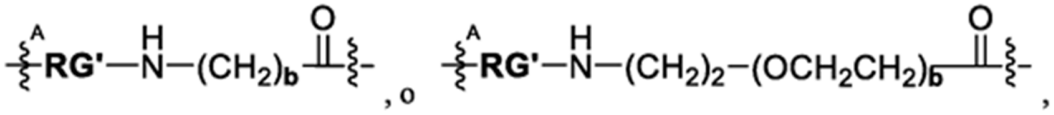
cada AA es un aminoácido; y

n es un número entero de 1 a 10.

[00140] El separadorSP1 es un resto que conecta el resto (AA) n con el agente de unión (BA) o con un resto de grupo reactivo que está unido a BA. Los separadores SP1 adecuados incluyen, pero no se limitan a, aquellos que comprenden alquileno o poliéter, o ambos. Los extremos de los separadores, por ejemplo, la porción del separador unido al agente de unión o un AA, pueden ser restos derivados de restos reactivos que se usen con el fin de acoplar el anticuerpo o un AA al separador durante la síntesis química del conjugado. . En ciertas modalidades, n es 1, 2, 3 o 4. En modalidades particulares, n es 2. En modalidades particulares, n es 3. En modalidades particulares, n es 4.

[00141] En algunas modalidades, el separador SP1 comprende un alquileno. En algunas modalidades, el separador SP1 comprende un alquileno de C5-7. En algunas modalidades, el separador SP1 comprende un poliéter. En algunas modalidades, el separador SP1 comprende un polímero de óxido de etileno tal como polietilenglicol.

[00142] En algunas modalidades, el separador SP1 es:



en donde:

RG'es un residuo de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo RG con un agente de unión;

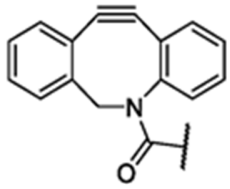

es un enlace al agente de unión;

 es un enlace a (AA)n; y

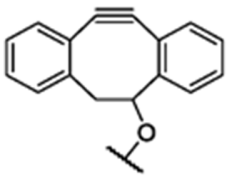
b es un número entero de 2 a 8.

[00143] El grupo reactivo RG puede ser cualquier grupo reactivo conocido por los expertos en la técnica que sea capaz de formar uno o más enlaces con el agente de unión. El grupo reactivo RG es un resto que comprende una porción en su estructura que es capaz de reaccionar con el agente de unión (por ejemplo, reaccionar con un anticuerpo en sus residuos de cisteína o lisina, o en un resto azida, por ejemplo, un PEG-N3funcionalizado anticuerpo en uno o más residuos de glutamina) para formar un compuesto de la FórmulaA, Aa o Ab. Después de la conjugación con el agente de unión, el grupo reactivo se convierte en el residuo del grupo reactivo (RG'). Los grupos reactivos ilustrativos incluyen, entre otros, aquellos que comprenden haloacetilo, isotiocianato, succinimida, N-hidroxisuccinimida o porciones de maleimida que son capaces de reaccionar con el agente de unión.

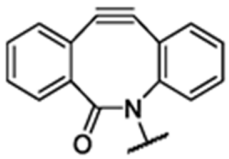
[00144] En ciertas modalidades, los grupos reactivos incluyen, pero no se limitan a, alquinos. En ciertas modalidades, los alquinos son alquinos capaces de experimentar reacciones de 1,3-cicloadición con azidas en ausencia de catalizadores de cobre tales como alquinos tensos. Los alquinos tensados son adecuados para cicloadiciones de alquino-azida promovidas por cepa (SPAAC), cicloalquinos, por ejemplo, ciclooctinos, y alquinos benzanillados. Los alquinos adecuados incluyen, pero no se limitan a, dibenzoazaciclooctino o



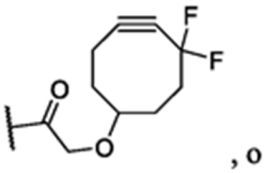
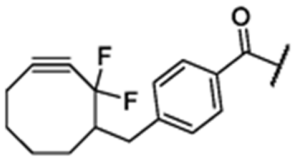
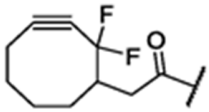
(DIBAC), dibenzociclooctino o



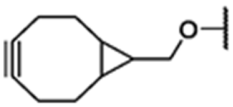
(DIBO), biarilazaciclooctinona o



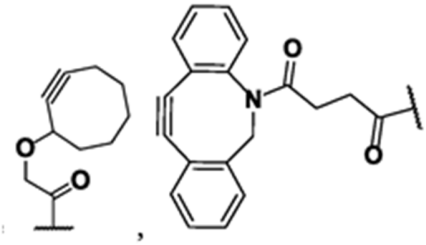
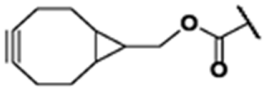
(BARAC), ciclooctinodifluorado o


, o

, o


(DIFO), alquinos sustituidos, por ejemplo, fluorados, aza-cicloalquinos, biciclo[6.1.0]nonino o



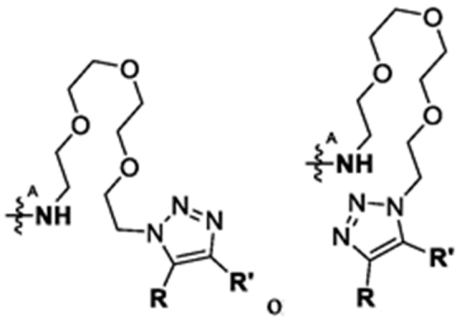
(BCN), y sus derivados. Los alquinos particularmente útiles incluyen,


,

, y .

[00145] En ciertas modalidades, el agente de unión está unido directamente a RG'. En ciertas modalidades, el agente de unión está unido a RG'a través de un separador, por ejemplo SP4, a continuación. En modalidades particulares, el agente de unión está unido a RG'a través de un separador de PEG. Como se discute en detalle a continuación, en ciertas modalidades, el agente de unión se prepara funcionalizando con uno o más grupos azido. Cada grupo azido es capaz de reaccionar con RG para formar RG'. En modalidades particulares, el agente de unión se derivatiza con -PEG-N3 unido a un residuo de glutamina. Se proporcionan ejemplos de agentes de unión derivados de -N3, métodos

para su preparación y métodos para su uso en la reacción con RG. En ciertas modalidades, RG es un alquino adecuado para participar en las 1,3-cicloadiciones, y RG'es

un resto 1,2,3-triazolilo formado a partir de la reacción de RG con un agente de unión azido-funcionalizado. A modo de ejemplo adicional, en ciertas modalidades, RG'está unido al agente de unión como se muestra en



, o una mezcla de cada regioisómero. Cada R y R'es como se describe en el presente documento.

[00146] El separadorSP2 es un resto que conecta el resto (AA) n con la carga útil. Los separadores adecuados incluyen, entre otros, los descritos anteriormente como separadores SP1. Otros separadores SP2 adecuados incluyen, pero no se limitan a, aquellos que comprenden alquileno o poliéter, o ambos. Los extremos de los separadores SP2, por ejemplo, la porción del separador directamente unida a la carga útil o un AA, pueden ser restos derivados de restos reactivos que se usan para acoplar la carga útil o AA al separadorSP2 durante la síntesis química del conjugado. En algunos ejemplos, los extremos de los separadores SP2, por ejemplo, la porción del separadorSP2 directamente unido a la carga útil o un AA, pueden ser residuos de restos reactivos que se usan para acoplar la carga útil o un AA al separador durante la síntesis química del conjugado.

[00147] En algunas modalidades, el separador SP2 se selecciona del grupo que consiste en -O-, -N(R6)-, -R4′-, -R5′-, -OR5′-, y -OP(O)(OR6)O-, en donde:

R4′ es -Z′-Y-X-;

X se selecciona del grupo que consiste en -O- y -N(H)-;

Y se selecciona del grupo que consiste en alquileno, alquileno sustituido (incluyendo, sin limitación, sustitución oxo, es decir, =O), heteroalquileno y heteroalquileno sustituido;

Z'se selecciona del grupo que consiste en -O- y -N(H)-;

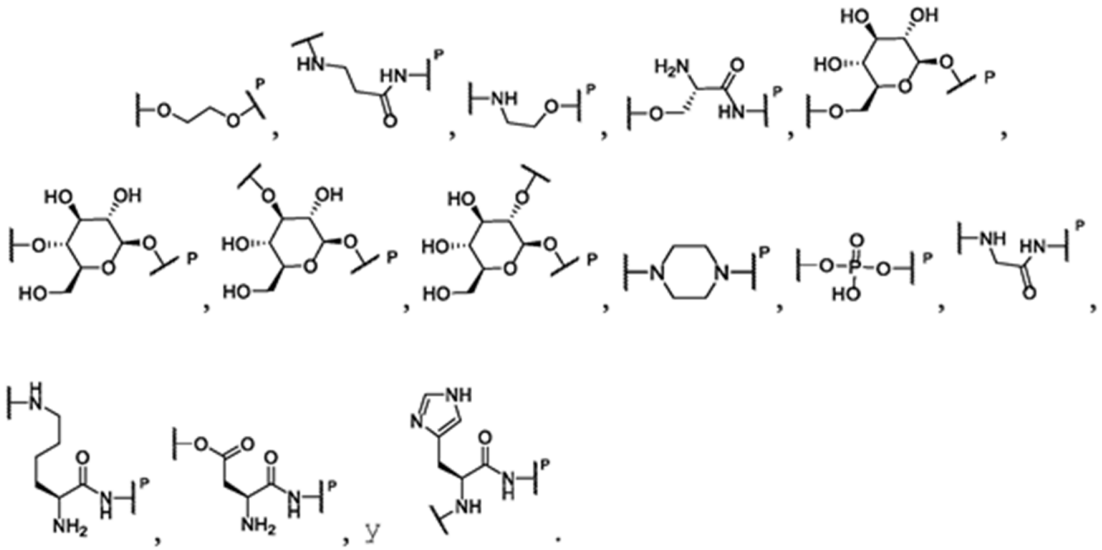
R5'es heterocicloalquileno o heterocicloalquileno sustituido, en donde cada heterocicloalquileno o heterocicloalquileno sustituido incluye uno, dos o tres heteroátomos seleccionados entre nitrógeno y oxígeno, que incluyen al menos dos restos seleccionados del grupo que consiste en -O-, -N(H)-, y



útil para unirse al resto de la molécula; y

cada R6 es -H, un residuo de aminoácido, un péptido o alquilo.

[00148] En ciertas modalidades, el separador SP2 se selecciona del grupo que consiste en -O-, -N(H)-,

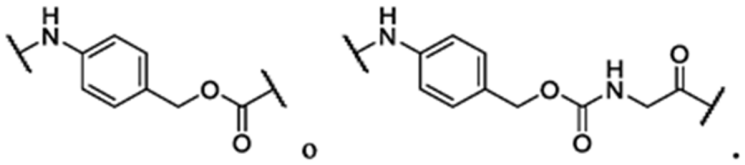


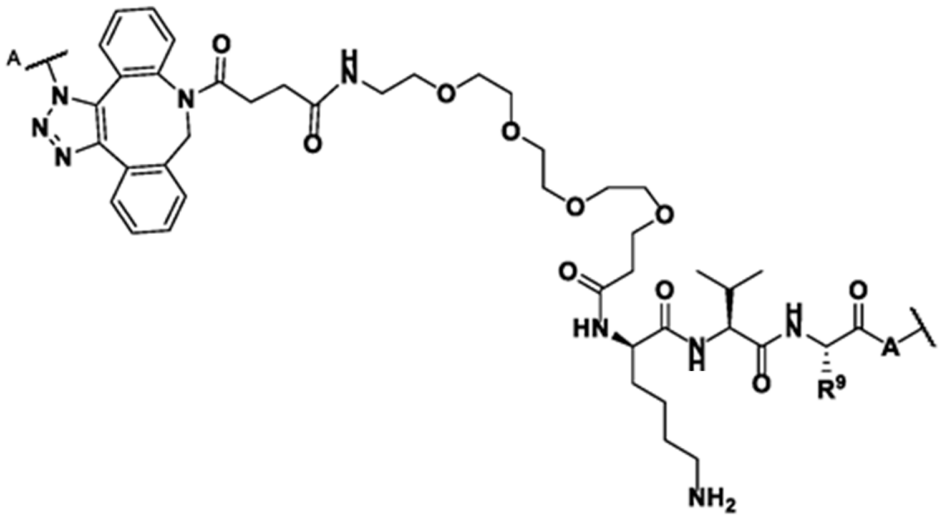
En ciertas modalidades, cada es un enlace a la carga útil, y cada es un enlace a (AA)n.

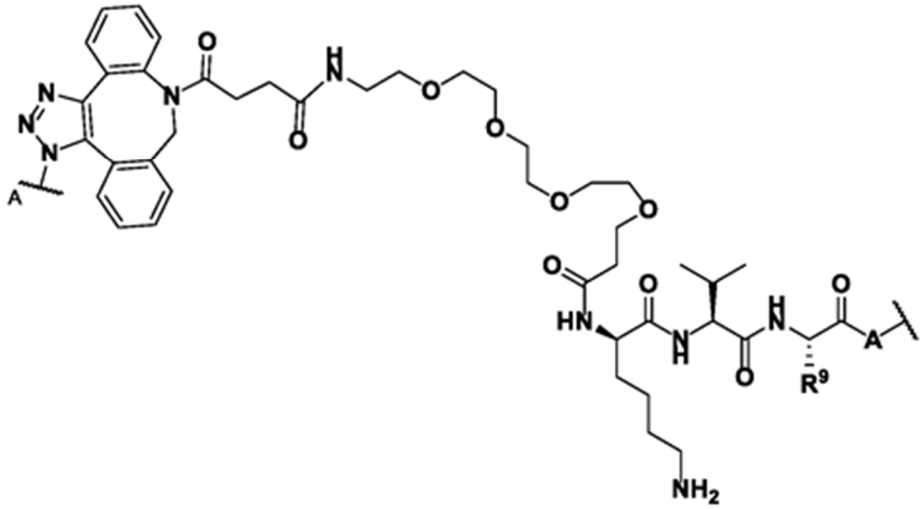
[00149] En las fórmulas anteriores, cada AA es un aminoácido u, opcionalmente, un residuo p-aminobenciloxicarbonilo (PABC). Si PABC está presente, preferiblemente solo está presente un PABC. Preferiblemente, el residuo PABC, si está presente, es un AA terminal en el grupo (AA)n, próximo a la carga útil. Los aminoácidos adecuados para cada AA incluyen aminoácidos naturales, no naturales, estándar, no estándar, proteinógenos, no proteinógenos y L, o D- α-aminoácidos. En algunas modalidades, 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, un derivado del mismo, o una combinación de los mismos. En ciertas modalidades, una o más cadenas laterales de los aminoácidos están unidas a un grupo de cadena lateral, que se describe a continuación. En algunas modalidades, n es dos. En algunas modalidades, el (AA)n es valina-citrulina. En algunas modalidades, (AA)n es citrulina-valina. En algunas modalidades, (AA)n es valina-alanina. En algunas modalidades, (AA)n es alanina-valina. En algunas modalidades, (AA)n es valina-glicina. En algunas modalidades, (AA)n es glicina-valina. En algunas modalidades, n es tres. En algunas modalidades, el (AA)n es valina-citrulina-PABC. En algunas modalidades, (AA)n es citrulina-valina-PABC. En algunas modalidades, (AA)n es glutamato-valina-citrulina. En algunas modalidades, (AA)n es glutamina-valina-citrulina. En algunas modalidades, (AA)n es lisina-valina-alanina. En algunas modalidades, (AA)n es lisina-valina-citrulina. En algunas modalidades, n es cuatro. En algunas modalidades, (AA)n es glutamato-valina-citrulina-PAB. En algunas modalidades, (AA)n es glutamina-valina-citrulina-PABC. Los expertos reconocerán PABC como un residuo de p-aminobenciloxicarbonilo con la siguiente estructura:

Se ha demostrado que el residuo de PABC facilita la escisión de ciertos enlazadores in vitro e in vivo.

[00150] En algunas modalidades, el enlazador es:







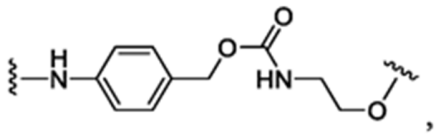
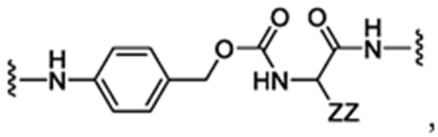
en donde:

cada  es un enlace al agente de unión;

cada  es un enlace a la carga útil;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

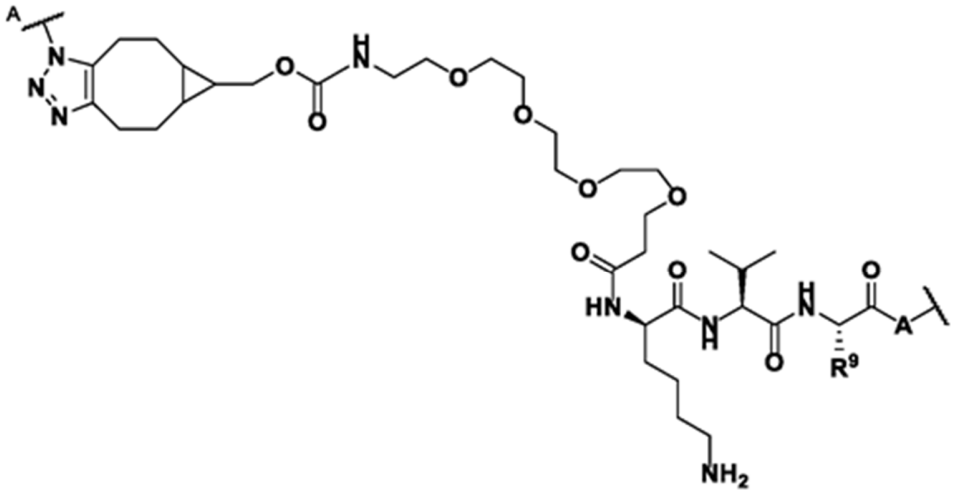
cada A es -O-, -N(H)-,

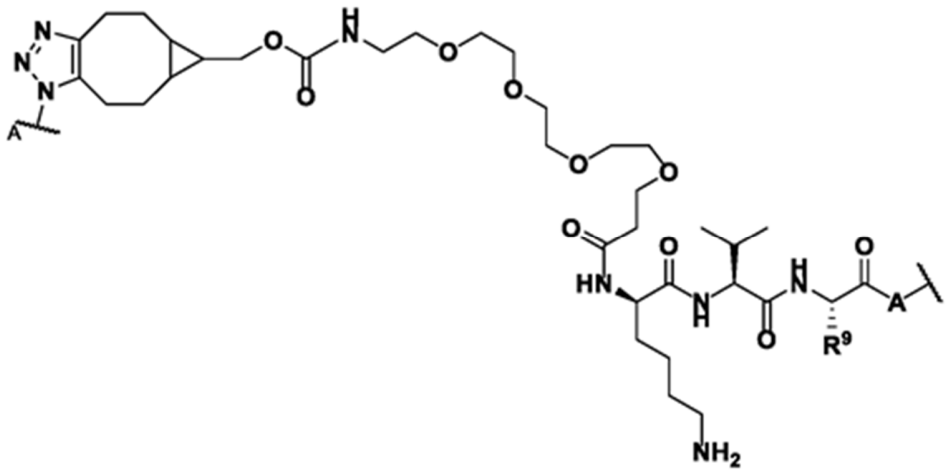

,

,

en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión.

[00151] En algunas modalidades, el enlazador es:





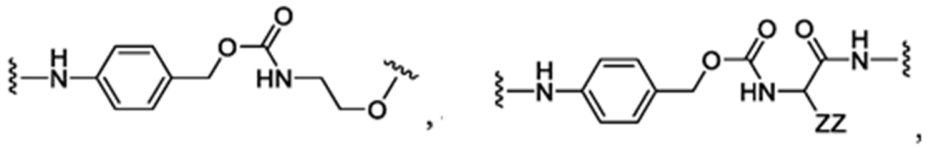
en donde:

cada  es un enlace al agente de unión;

cada  es un enlace a la carga útil;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,



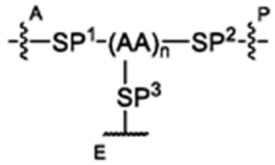
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión.

[00152] En cualquiera de las modalidades anteriores, el grupo (AA)n puede modificarse con uno o más grupos de mejora. Ventajosamente, el grupo potenciador puede

estar unido a la cadena lateral de cualquier aminoácido en (AA)n. Los aminoácidos útiles para unir grupos de mejora incluyen lisina, asparagina, aspartato, glutamina, glutamato y citrulina. El enlace al grupo potenciador puede ser un enlace directo a la cadena lateral de aminoácidos, o el enlace puede ser indirecto a través de un separador y/o grupo reactivo. Los separadores y grupos reactivos útiles incluyen cualquiera de los descritos anteriormente. El grupo potenciador puede ser cualquier grupo que los expertos en la técnica consideren útil. Por ejemplo, el grupo potenciador puede ser cualquier grupo que imparta un efecto beneficioso para el compuesto, la carga útil, el enlazador-carga útil o el conjugado de anticuerpos, incluidos, entre otros, efectos biológicos, bioquímicos, sintéticos, solubilizantes, de imagenología, de detección y de reactividad, y similares. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un grupo hidrofílico. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es una ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es capaz de mejorar la solubilidad del resto del conjugado. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico está sustituido o no sustituido. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenilsulfónico es -(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, -(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, ym es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-

5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En algunas modalidades, el enlazador es:



en donde:

SP1 es un separador;

SP2 es un separador;

SP3 es un separador, enlazado a un AA de (AA)n;



es uno o más enlaces al agente de unión;



es uno o más enlaces a la carga útil;



es uno o más enlaces con el grupo potenciadorEG;

cada AA es un aminoácido; y

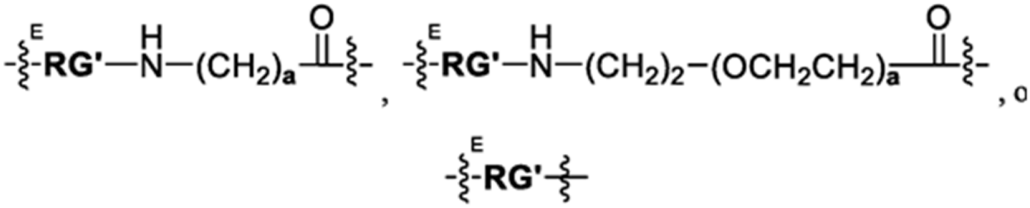
n es un número entero de 1 a 10.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión.

[00153] El grupo separadorSP1 es como se describió anteriormente. El grupo separadorSP2 es como se describió anteriormente. Cada grupo (AA)n es como se describió anteriormente.

[00154] El separadorSP3 es un resto que conecta el resto (AA)n con el grupo potenciador (EG). Los separadores SP3 adecuados incluyen, pero no se limitan a, aquellos que comprenden alquileno o poliéter, o ambos. Los extremos de los separadores SP3, es decir, la porción del separadorSP3 directamente unido al grupo potenciador o un AA, pueden ser restos derivados de restos reactivos que se usan para el acoplamiento del grupo potenciador o un AA al separadorSP3 durante la síntesis química del conjugado. En algunos ejemplos, los extremos de los separadores SP3, es decir, la porción del separador directamente unida al grupo potenciador o un AA, pueden ser residuos de restos reactivos que se usen para el acoplamiento del grupo potenciador o un AA al separador durante la síntesis química del conjugado. En ciertas modalidades, SP3 es un separador, unido a uno y solo un AA de (AA)n. En ciertas modalidades, el separador SP3 está unido a la cadena lateral de un residuo de lisina de (AA)n.

[00155] En algunas modalidades, el separador SP3 es:



en donde:

RG'es un residuo de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo RG con un agente potenciador EG;

 es un enlace al agente potenciador;

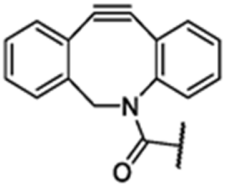
 es un enlace a (AA)n; y

a es un número entero de 2 a 8.

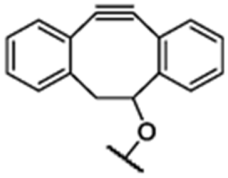
[00156] El grupo reactivo RG puede ser cualquier grupo reactivo conocido por los expertos en la técnica que sea capaz de formar uno o más enlaces con el agente potenciador. El grupo reactivo RG es un resto que comprende una porción en su estructura

que es capaz de reaccionar con el agente de unión (por ejemplo, reaccionar con un anticuerpo en sus restos cisteína o lisina, o en un resto azida) para formar un compuesto de la FórmulaA, Aa o Ab. Después de la conjugación con el agente de unión, el grupo reactivo se convierte en el residuo del grupo reactivo (RG'). El grupo reactivo RG puede ser cualquier grupo reactivo descrito anteriormente. Los grupos reactivos ilustrativos incluyen, entre otros, aquellos que comprenden haloacetilo, isotiocianato, succinimida, N-hidroxisuccinimida o porciones de maleimida que son capaces de reaccionar con el agente de unión.

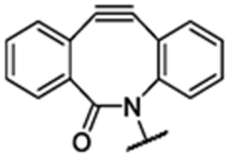
[00157] En ciertas modalidades, los grupos reactivos incluyen, pero no se limitan a, alquinos. En ciertas modalidades, los alquinos son alquinos capaces de experimentar reacciones de 1,3-cicloadición con azidas en ausencia de catalizadores de cobre tales como alquinos tensos. Los alquinos tensados son adecuados para cicloadiciones de alquino-azida promovidas por tensión (SPAAC), cicloalquinos, por ejemplo, ciclooctinos, y alquinos benzanillados. Los alquinos adecuados incluyen, pero no se limitan a, dibenzoazaciclooctino o



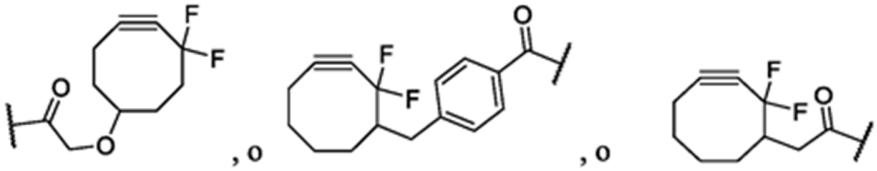
(DIBAC), dibenzociclooctino o



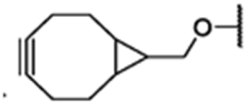
(DIBO), biarilazaciclooctinona o



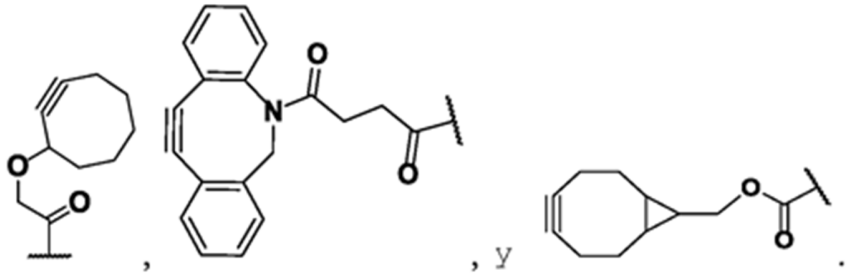
(BARAC), ciclooctinodifluorado o



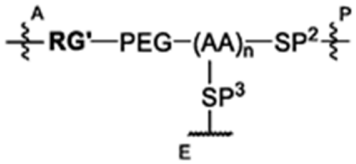
(DIFO), alquinos sustituidos, por ejemplo, fluorados, aza-cicloalquinos, biciclo[6.1.0]nonino o



(BCN), y sus derivados. Los alquinos particularmente útiles incluyen



[00158] En algunas modalidades, el enlazador es:



en donde:

RG'es un residuo de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo RG con un agente de unión;

PEG es PEG3;

SP2 es un separador;

SP3 es un separador, enlazado a un AA de (AA)n;



es uno o más enlaces al agente de unión;



es uno o más enlaces a la carga útil;



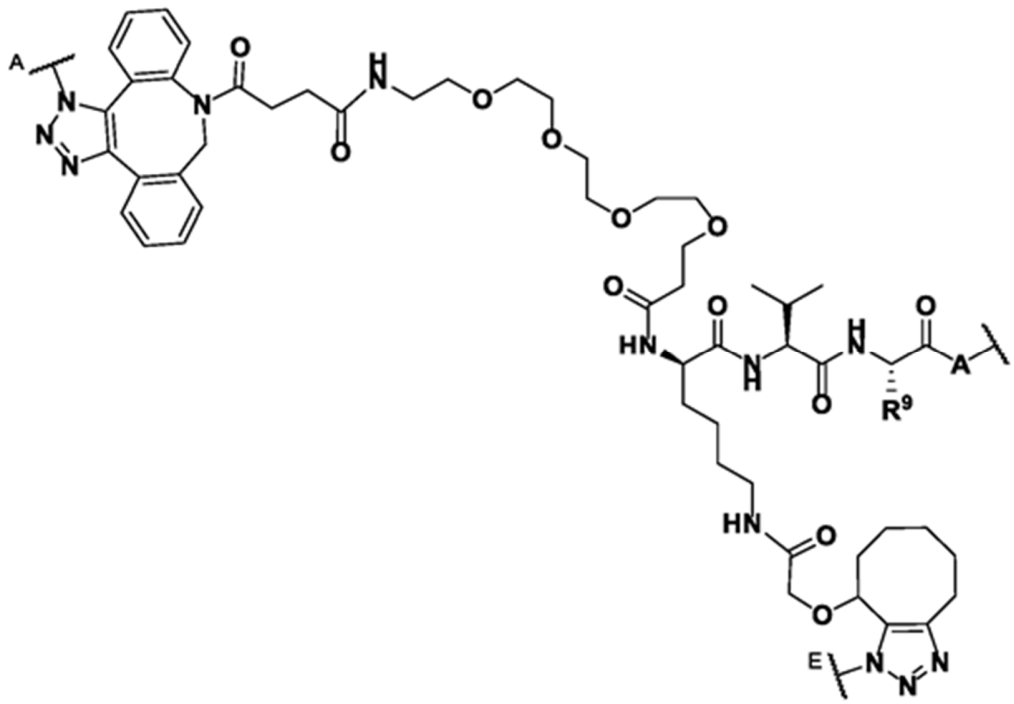
es uno o más enlaces con el grupo potenciadorEG;

cada AA es un aminoácido; y

n es un número entero de 1 a 10.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión.

[00159] En ciertas modalidades, el enlazador es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

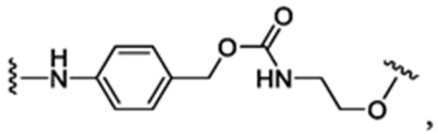
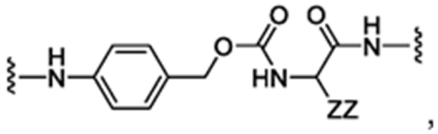
cada  es un enlace al agente de unión;

cada  es un enlace a la carga útil;

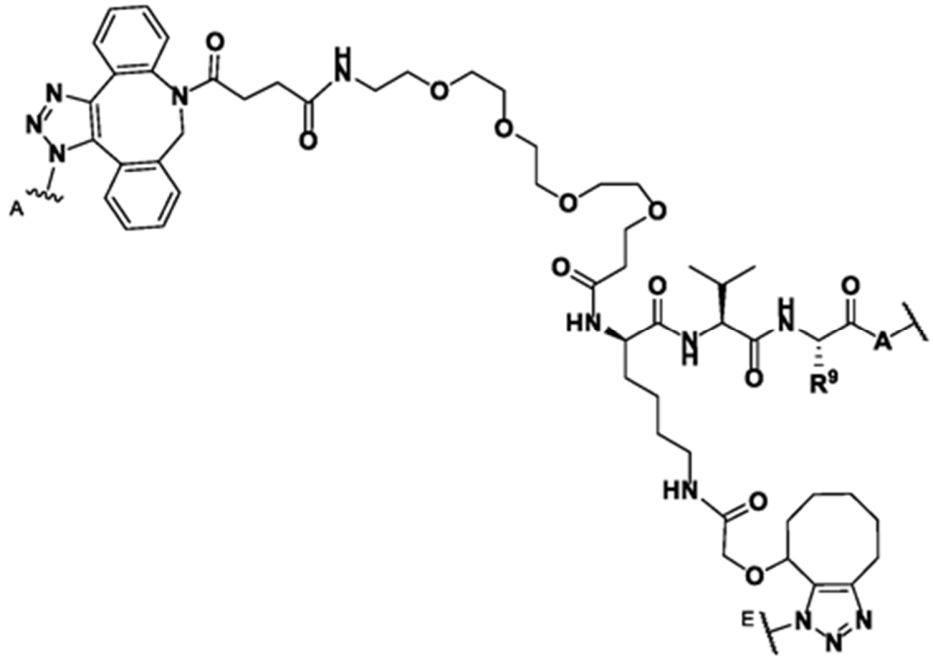
cada  es un enlace al agente potenciador;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

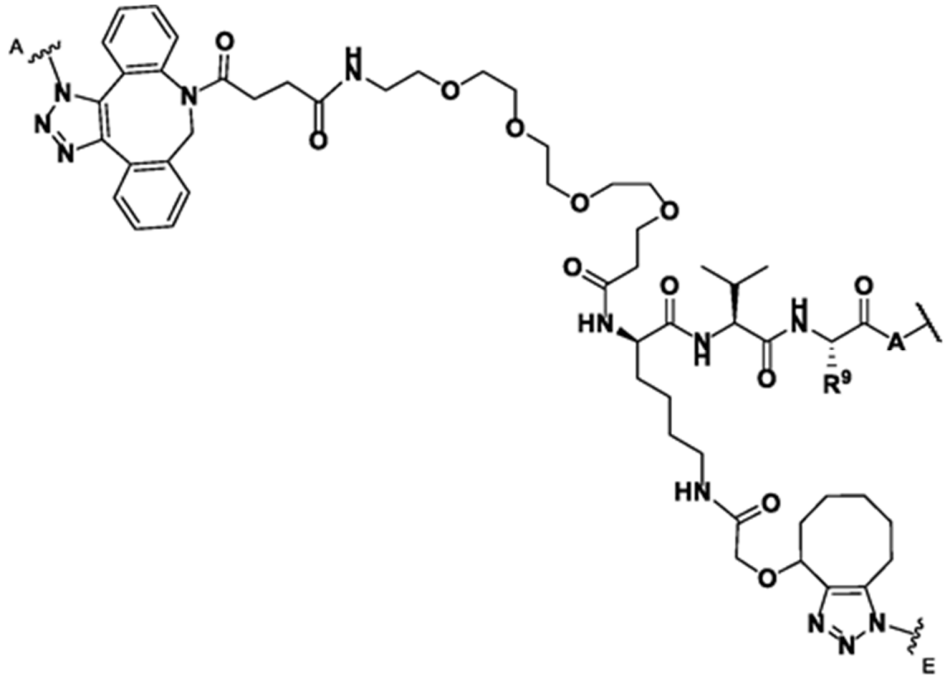
 , o  ,

en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6. En ciertas modalidades, los regioisómeros de 1,3-cicloadición o SPAAC, o una mezcla de regioisómeros, se derivan de anticuerpos derivados de PEG-N3 tratados con alquinos adecuados. Por ejemplo, en una modalidad, el enlazador es:

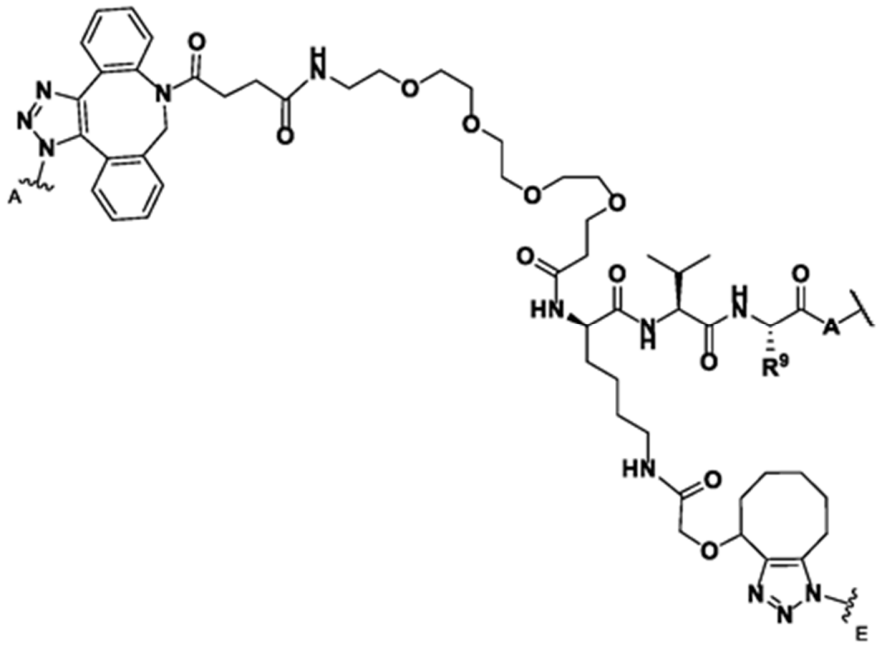


:

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo. A modo de ejemplo adicional, el enlazador es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, el enlazador es:

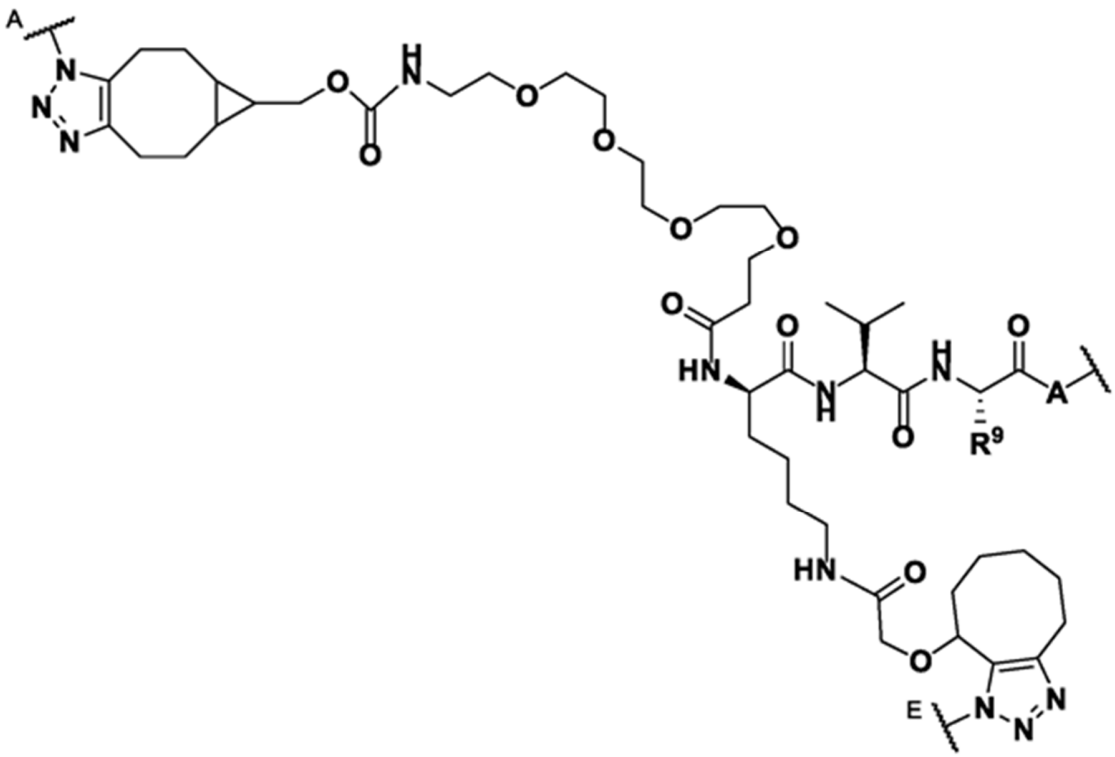


o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión. En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-

C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, ym es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5.

[00160] En algunas modalidades, el enlazador es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

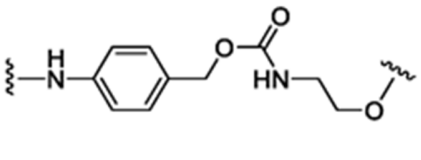
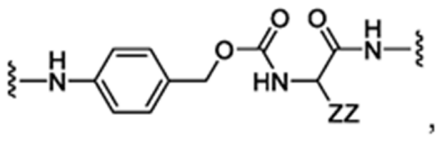
cada  es un enlace al agente de unión;

cada  es un enlace al agente potenciador;

cada  es un enlace a la carga útil;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

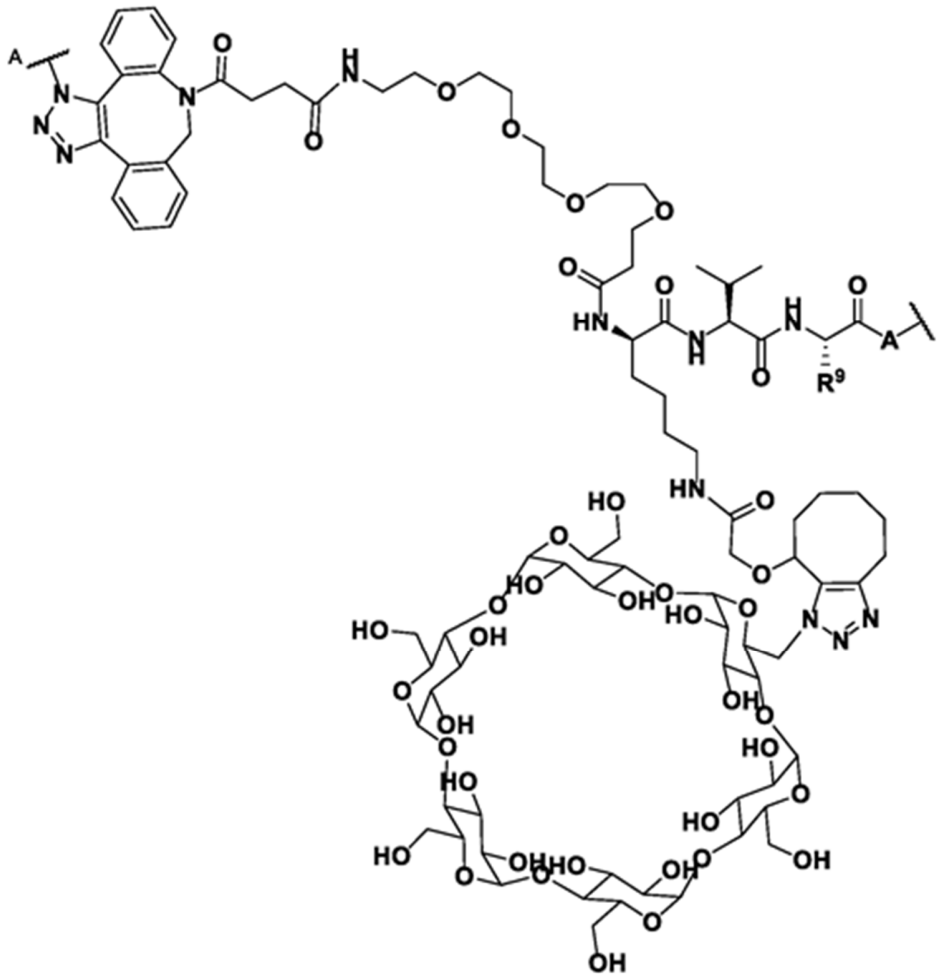
 , o  ,

en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

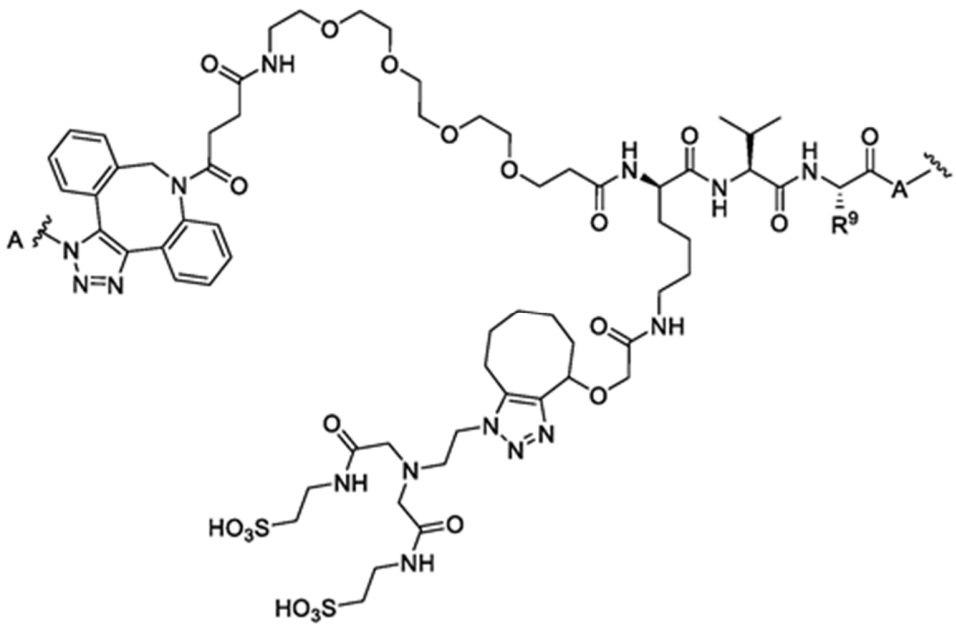
Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión. En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-

(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, y m es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5.

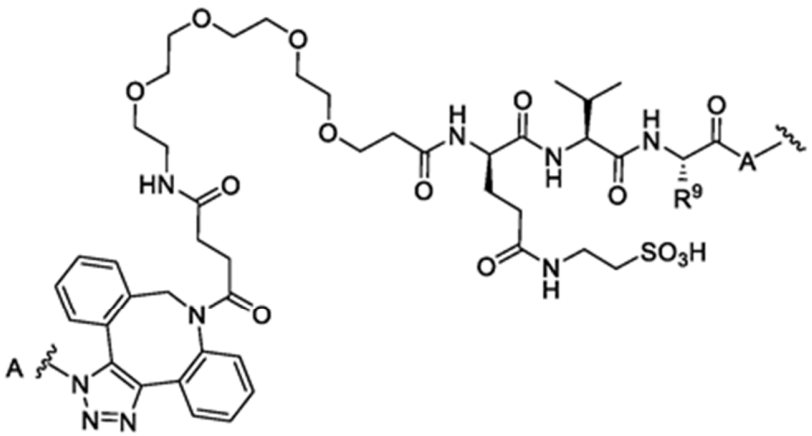
[00161] En algunas modalidades, el enlazador es:

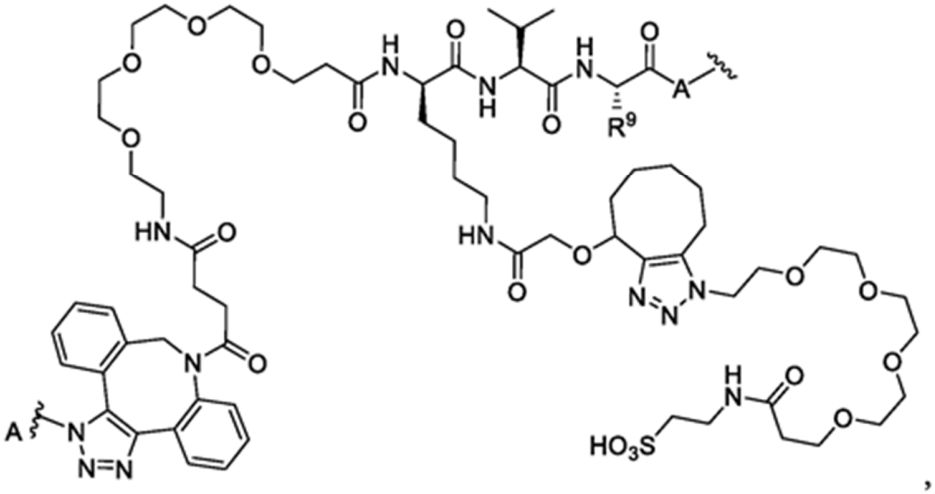


,



,





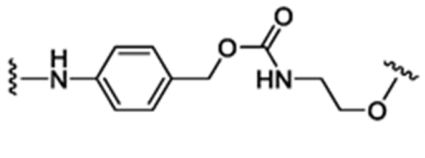
o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada  es un enlace al agente de unión;

cada  es un enlace a la carga útil;

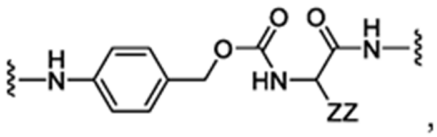
R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

A es -O-, -N(H)-, o



,

o

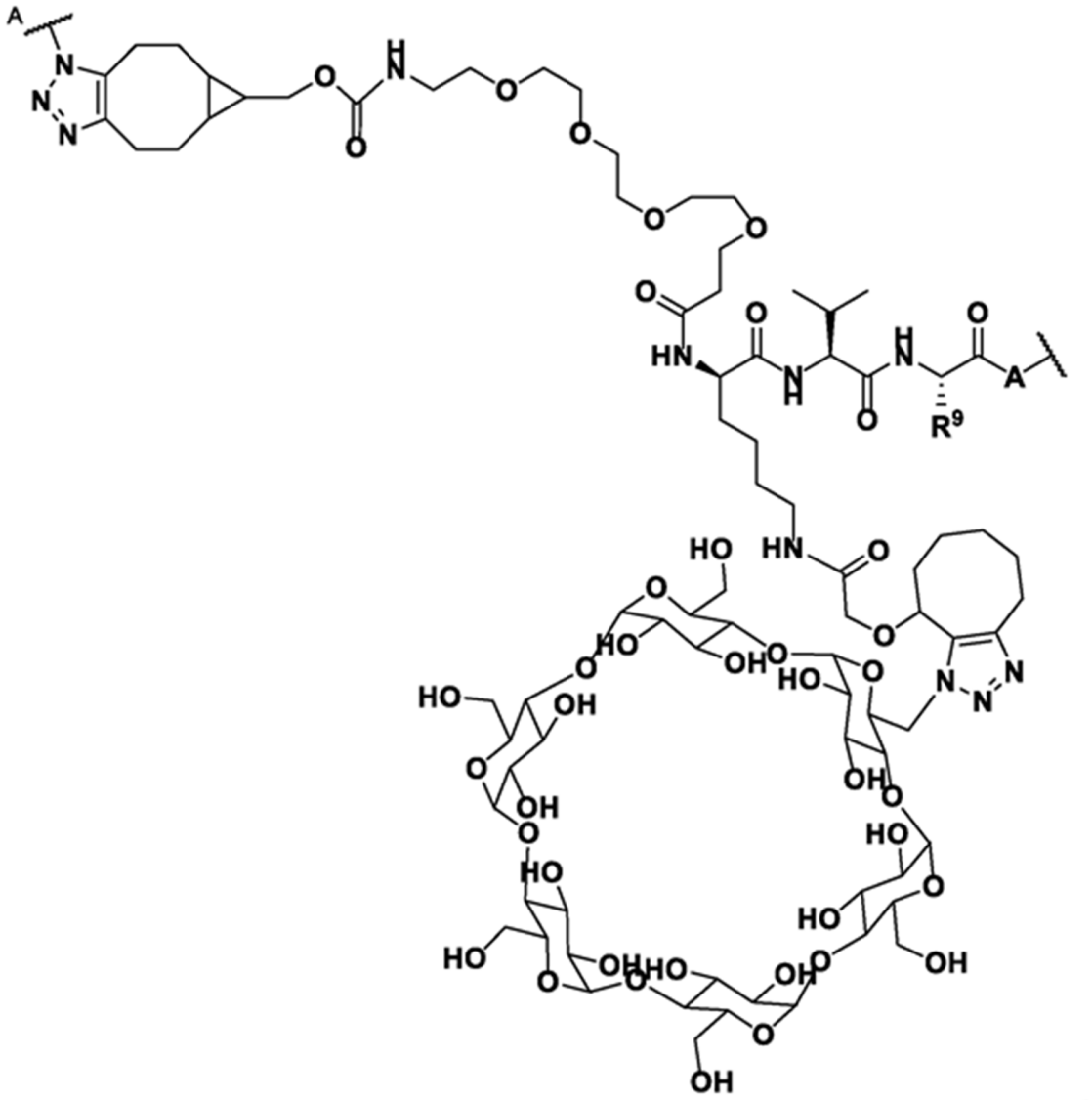


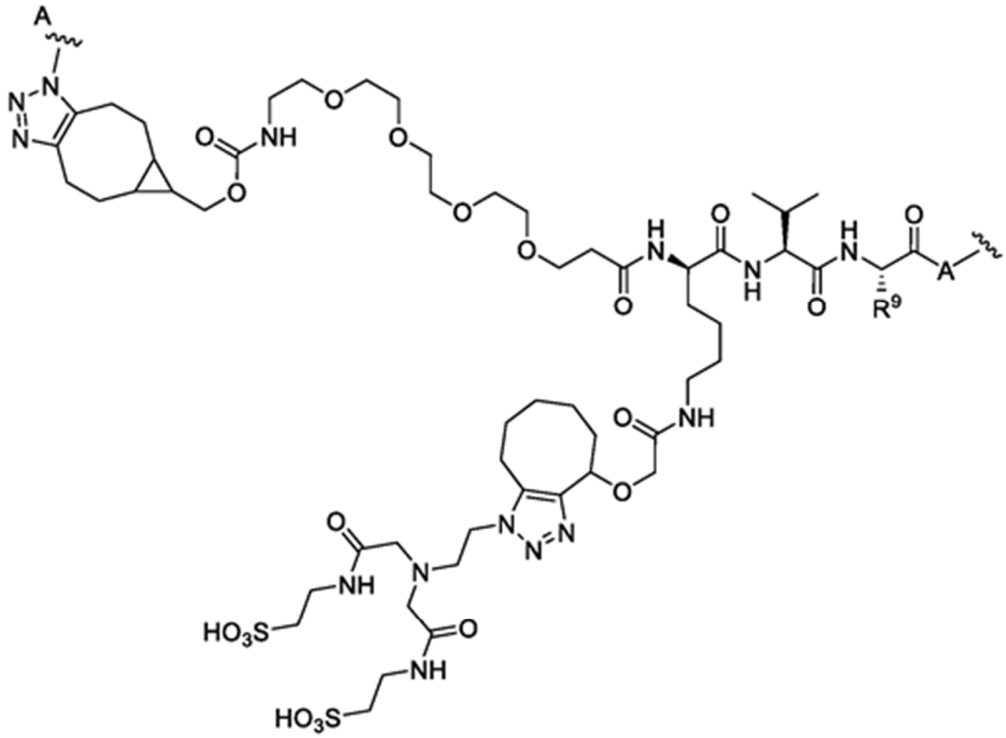
,

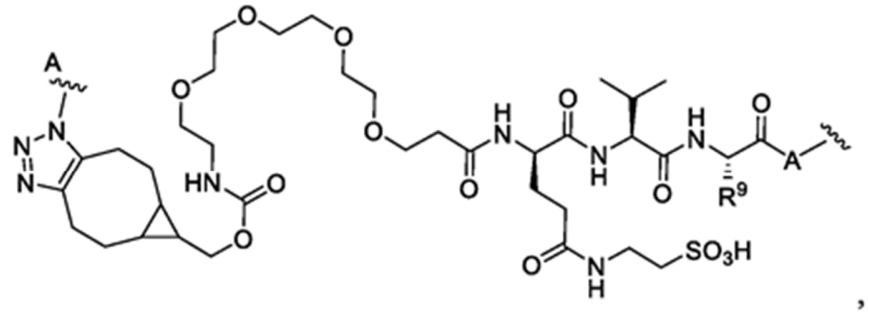
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión.

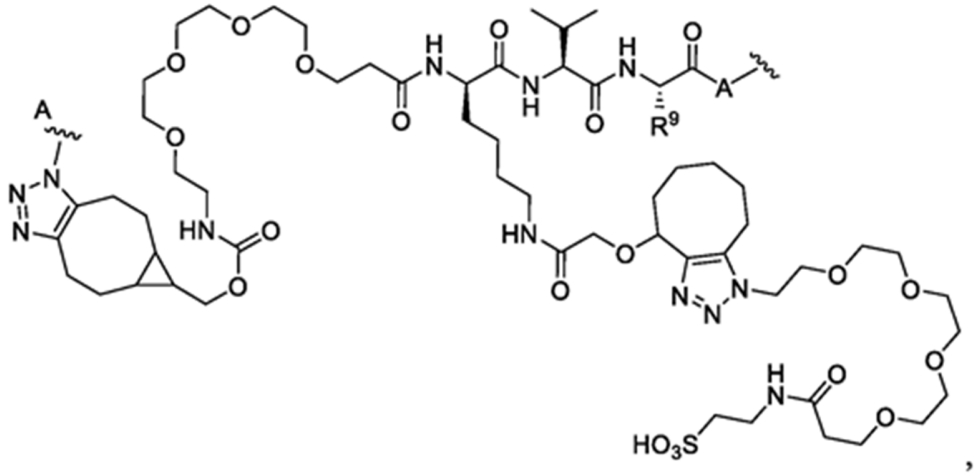
En algunas modalidades, el enlazador es:







,



,

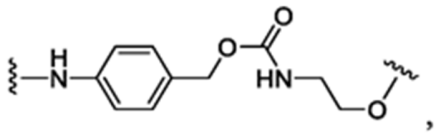
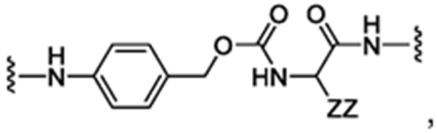
o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada  es un enlace al agente de unión;

cada  es un enlace a la carga útil;

R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

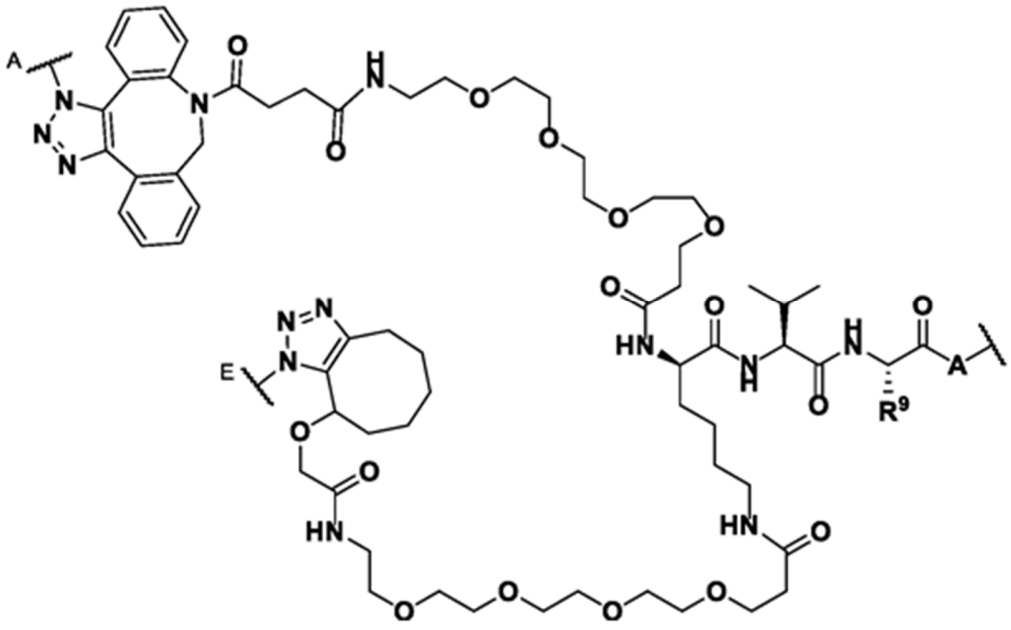
A es -O-, -N(H)-,

 , o  ,

en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión.

[00162] En algunas modalidades, el enlazador es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

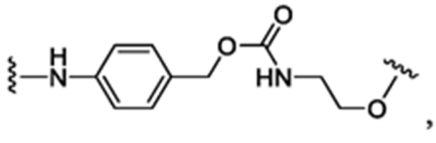
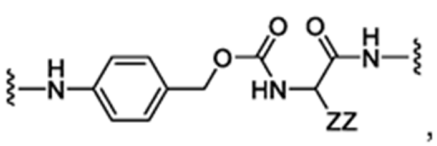
cada  es un enlace al agente de unión;

cada  es un enlace a la carga útil;

cada  es un enlace con el grupo potenciador;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

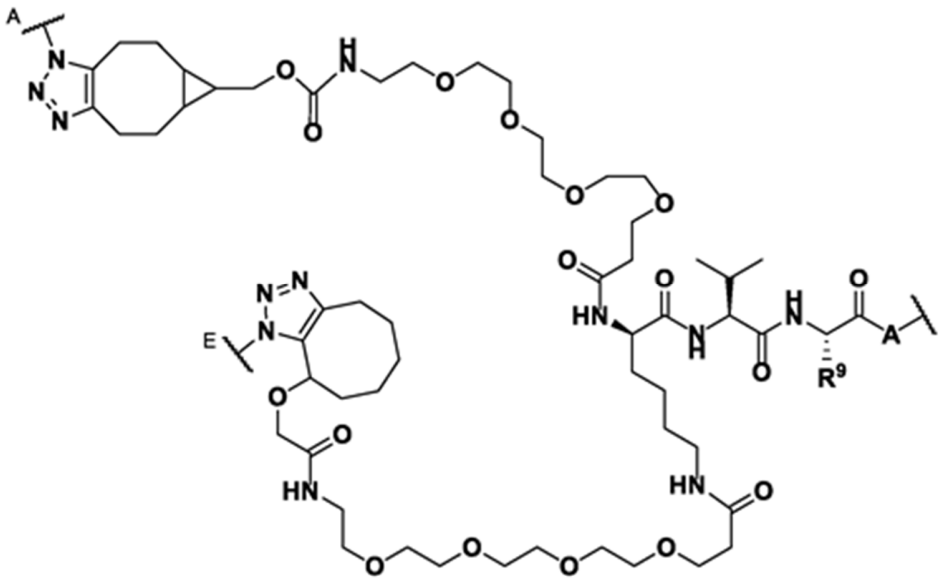
cada A es -O-, -N(H)-,

 , o  ,

en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión. En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, y m es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5.

[00163] En algunas modalidades, el enlazador es:



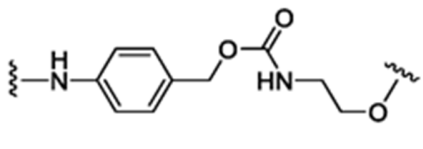
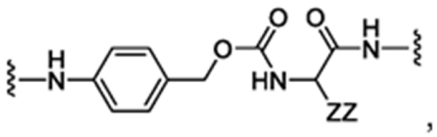
o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada  es un enlace al agente de unión;

cada  es un enlace a la carga útil;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

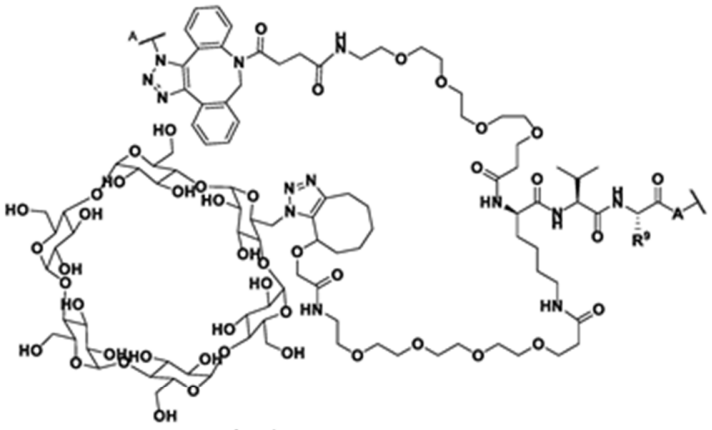
cada A es -O-, -N(H)-,

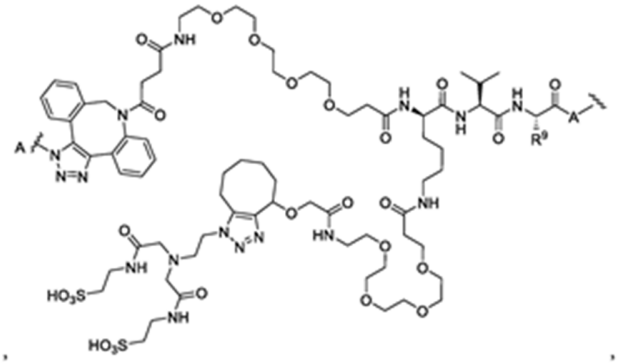
 , o  ,

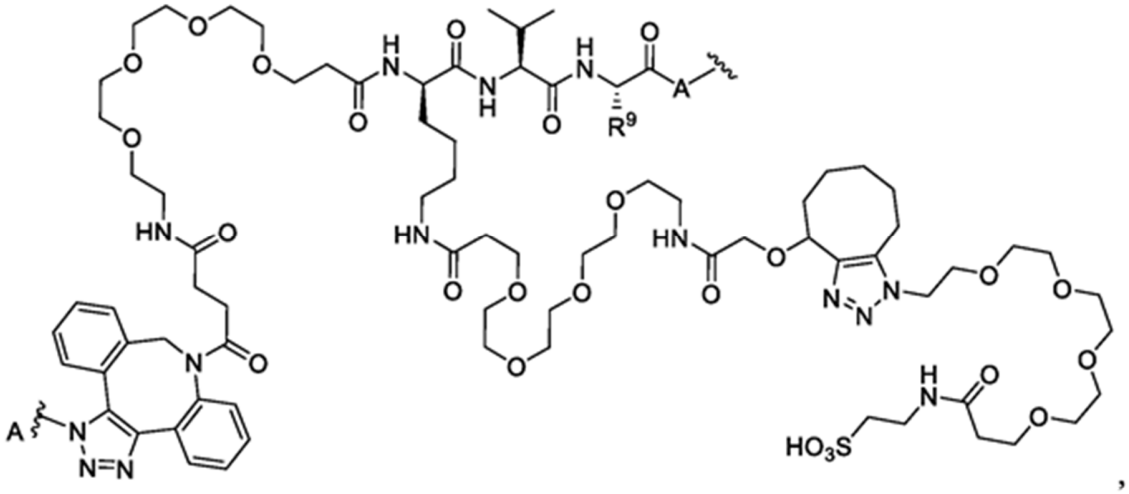
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión. En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, y m es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5.

[00164] En algunas modalidades, el enlazador es:







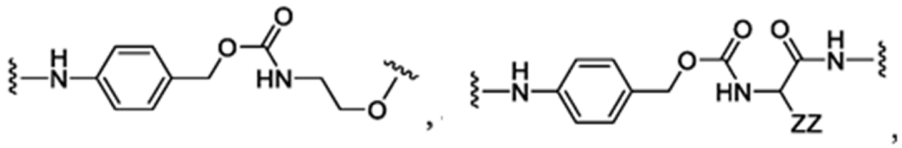
o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada  es un enlace al agente de unión;

cada  es un enlace a la carga útil;

R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

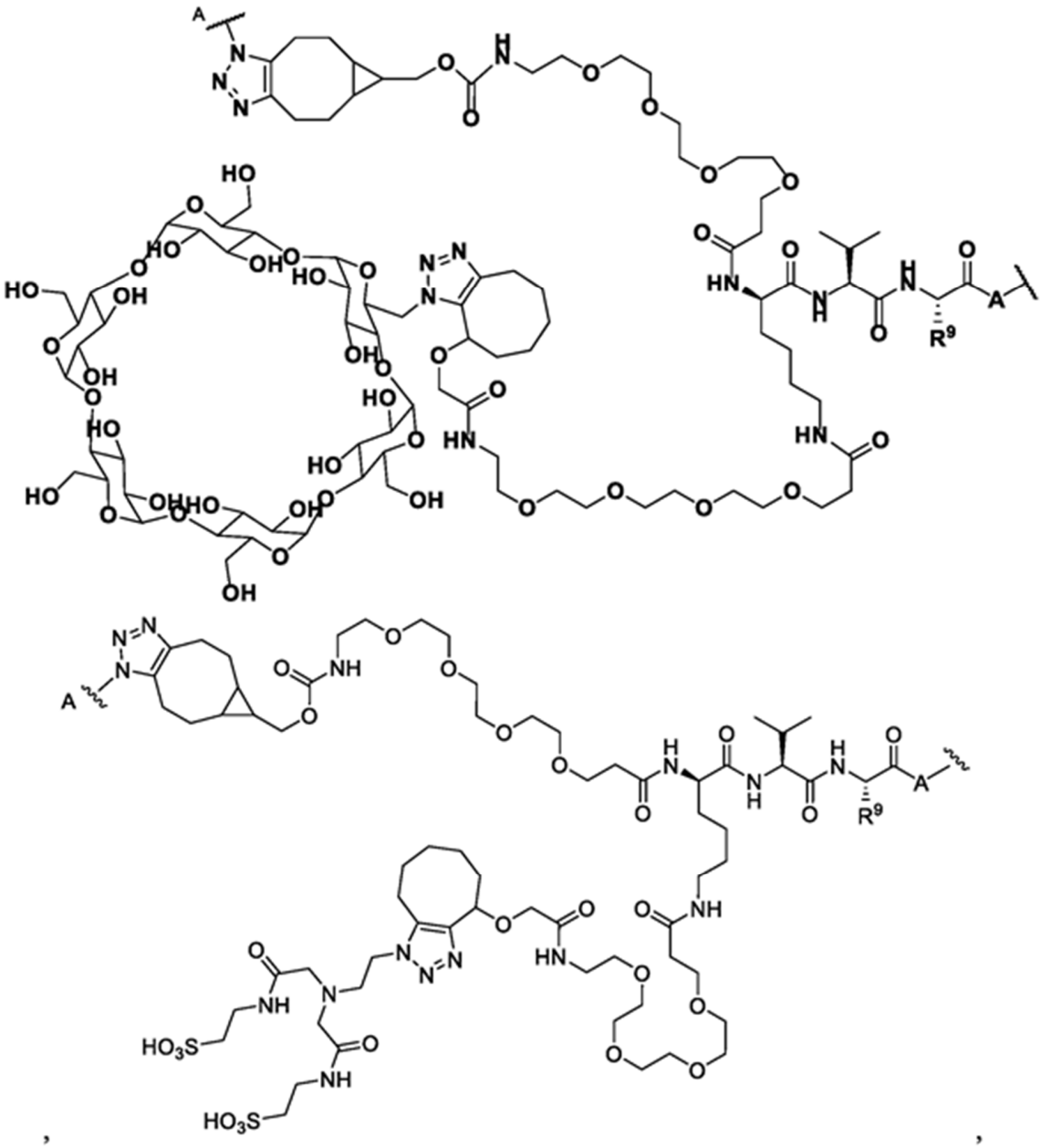
A es -O-, -N(H)-,

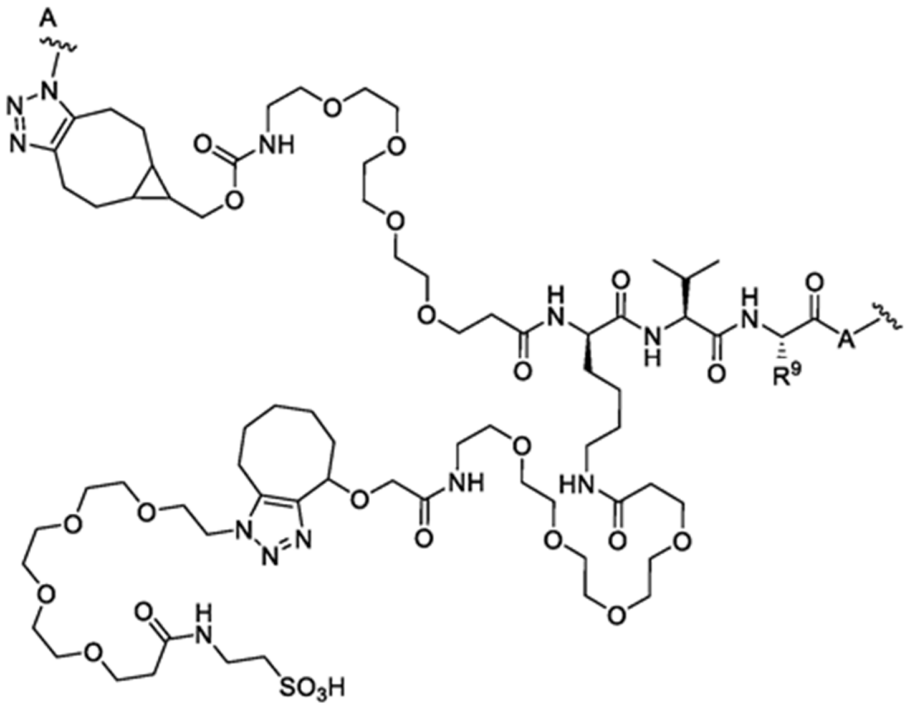


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión.

[00165] En algunas modalidades, el enlazador es:





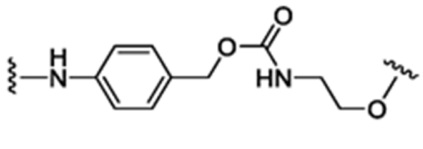
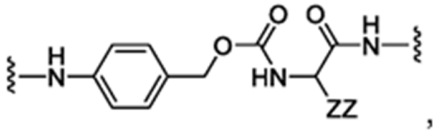
o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, o una mezcla de regioisómeros del mismo, en donde:

cada  es un enlace al agente de unión;

cada  es un enlace a la carga útil;

R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

A es -O-, -N(H)-,

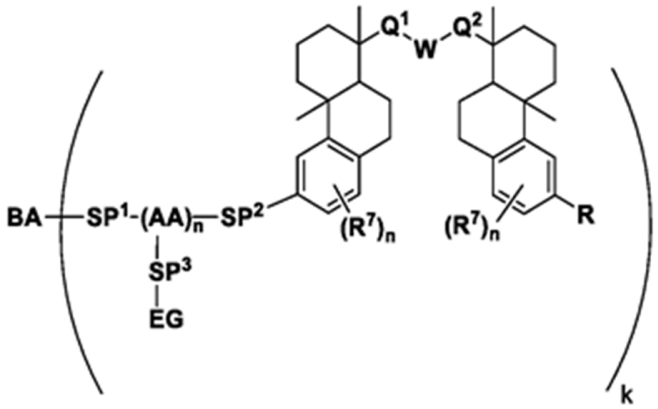
 , o  ,

en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión.

[00166] Los enlazadores anteriores son útiles para proporcionar los siguientes conjugados.

[00167] En algunas modalidades, el conjugado es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

cada SP1, SP2 y SP3 es un grupo separador como se describió anteriormente, en dondeSP3 está enlazado a un AA de (AA)n;

EG es un agente potenciador;

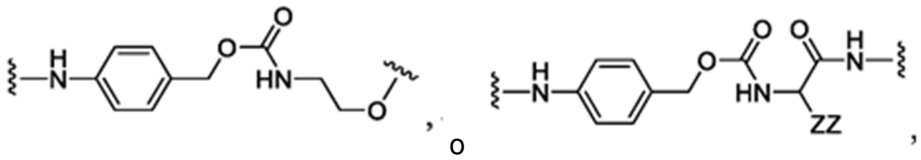
k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1,R2,R3,R4,R5,R6,R7,X, Y, Z yn son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A, independientemente en cada caso, es -O-, -N(H)-,

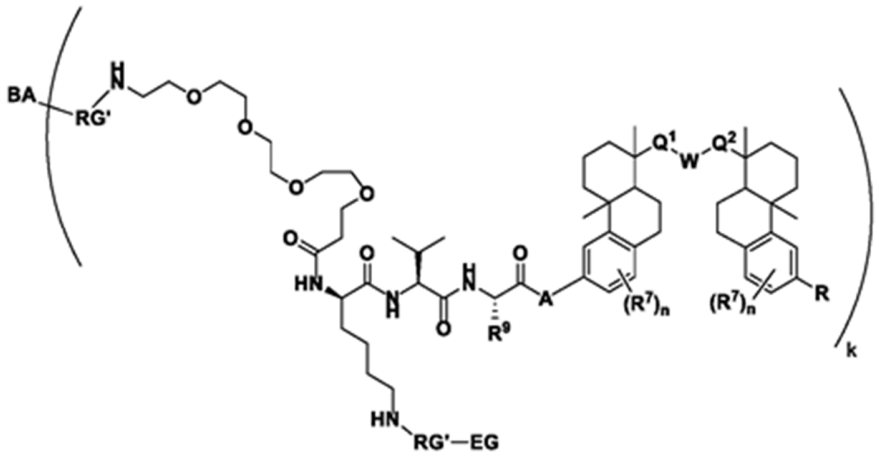


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión. En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, y m es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil

sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En ciertas modalidades, R es R1.

[00168] En algunas modalidades, el conjugado es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

cada RG'es el residuo de un grupo reactivo, como se describe en el presente documento;

EG es un agente potenciador;

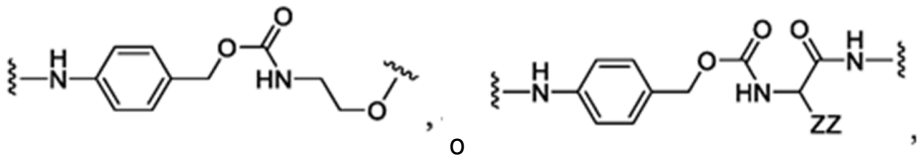
k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

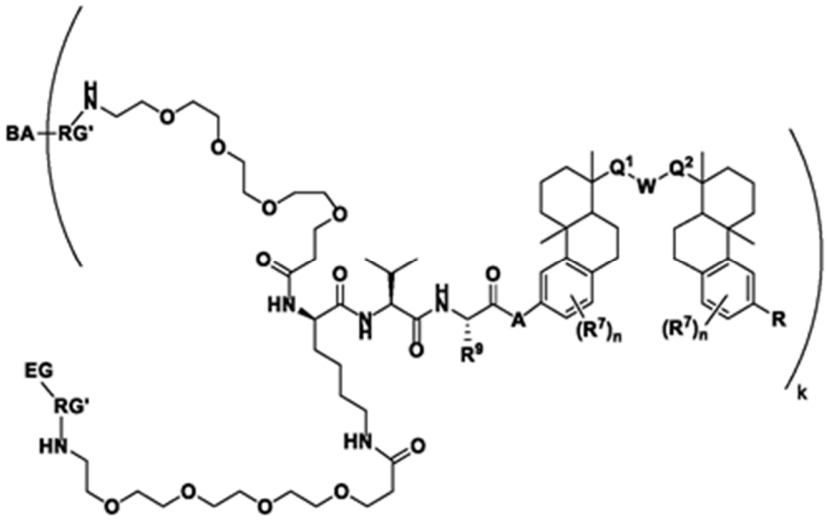


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión. En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, y m es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil

sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En ciertas modalidades, R es R1.

[00169] En algunas modalidades, el conjugado es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

cada RG'es el residuo de un grupo reactivo, como se describe en el presente documento;

EG es un agente potenciador;

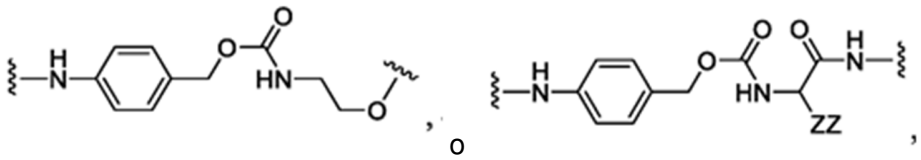
k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

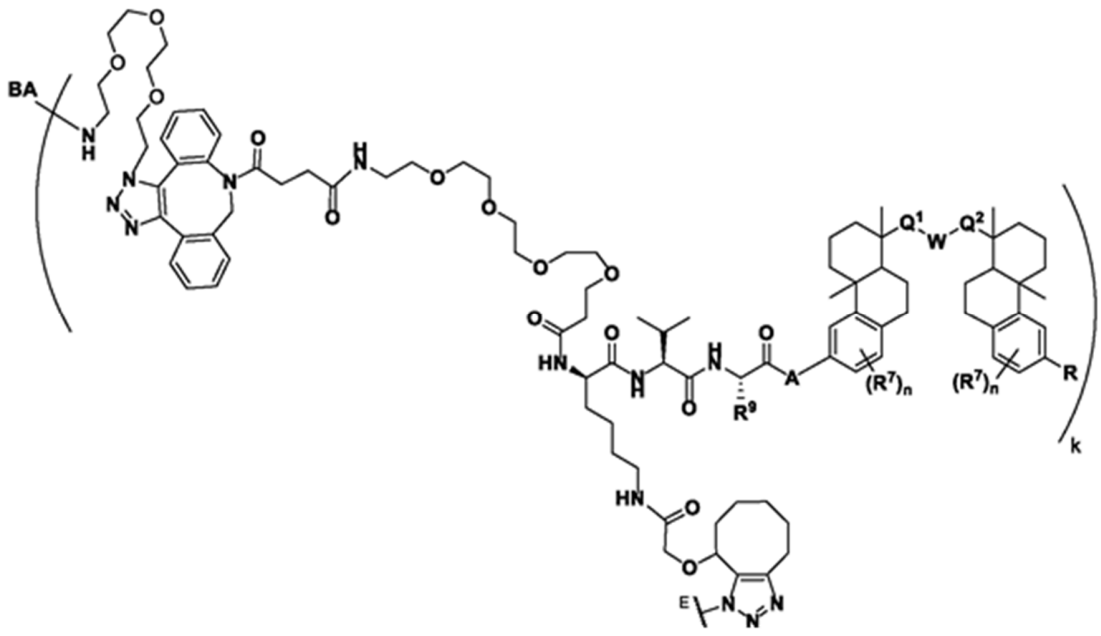


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

Como se discutió anteriormente, el enlace al agente de unión puede ser directo o mediante un separador. En ciertas modalidades, el enlace con el agente de unión es a través de un separador de PEG a un residuo de glutamina del agente de unión. En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, y m es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil

sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En ciertas modalidades, R es R1.

[00170] En algunas modalidades, el conjugado es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

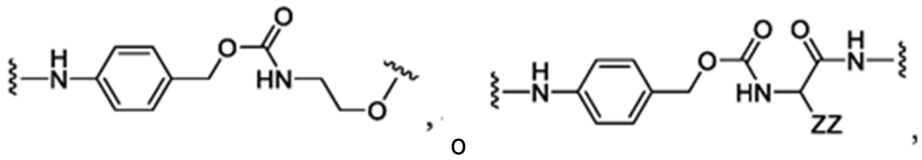
R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada  es un enlace con el grupo potenciador;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

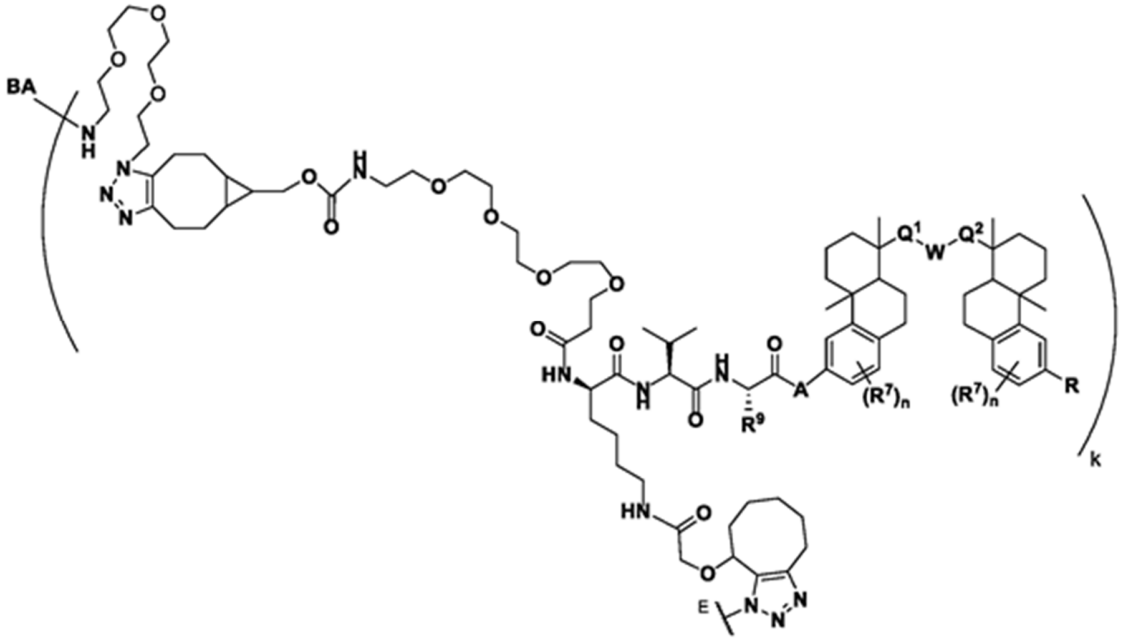
cada A es -O-, -N(H)-,



en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, y m es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En ciertas modalidades, R es R1.

[00171] En algunas modalidades, el conjugado es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

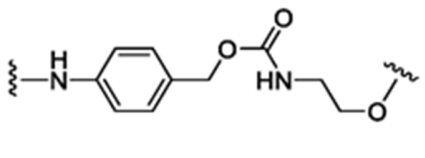
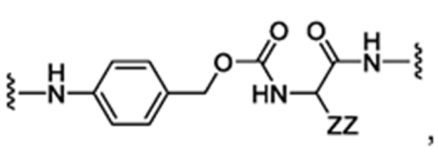
R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada  es un enlace con el grupo potenciador;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

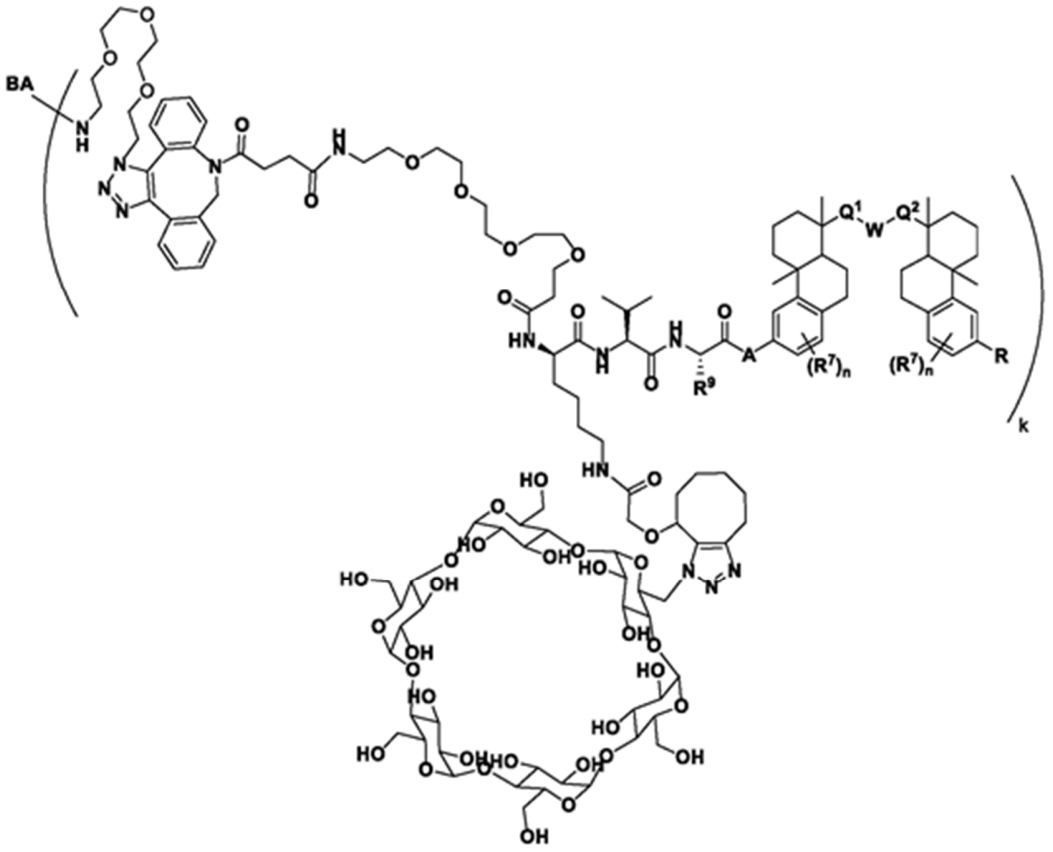
cada A es -O-, -N(H)-,

 , o  ,

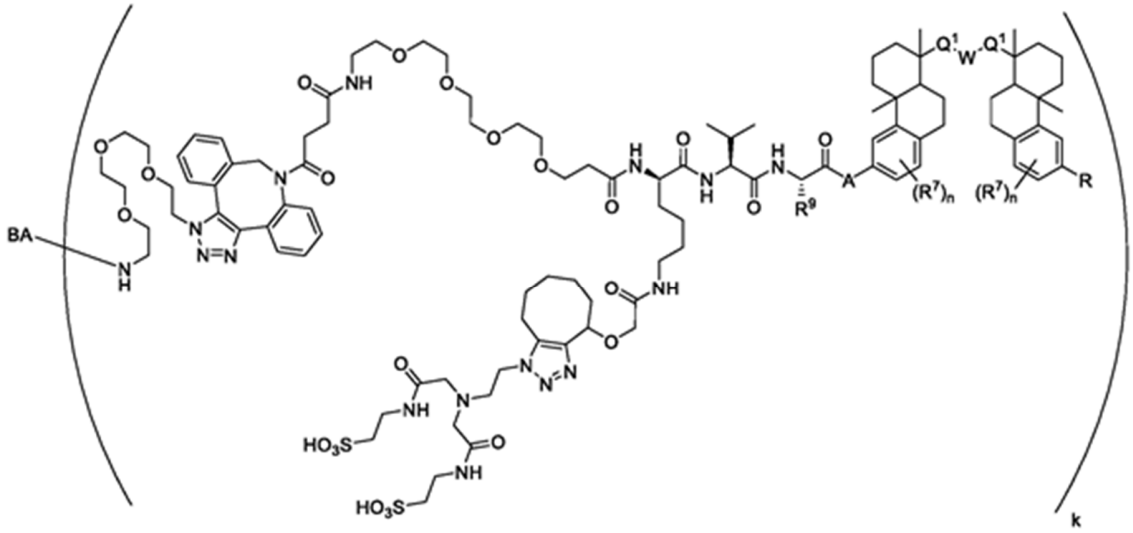
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, y m es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En ciertas modalidades, R es R1.

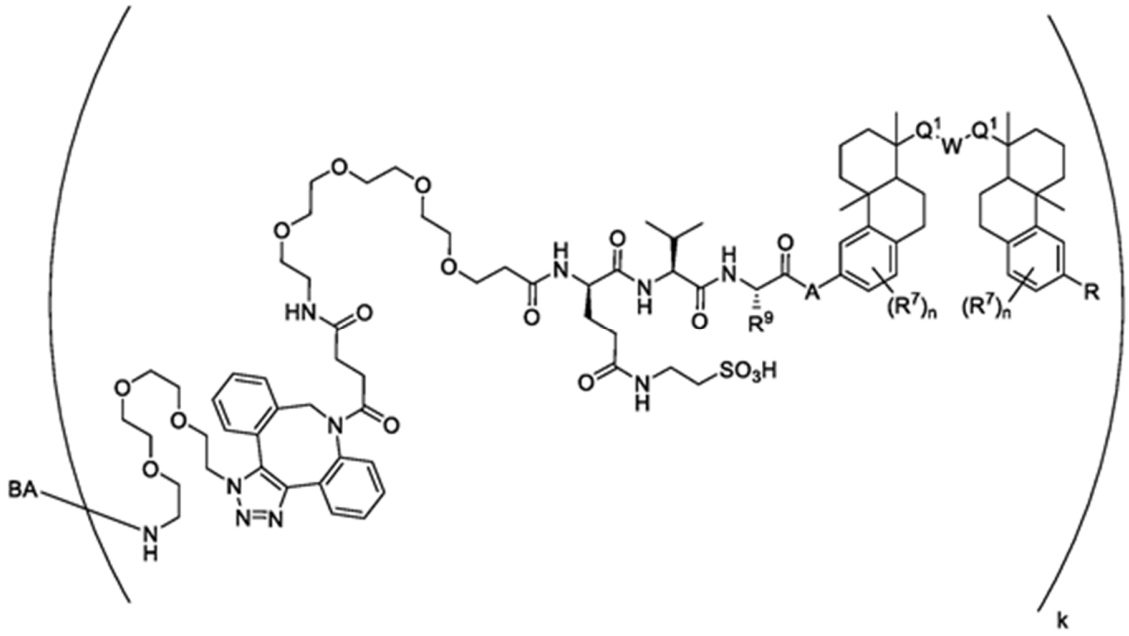
[00172] En algunas modalidades, el conjugado es:



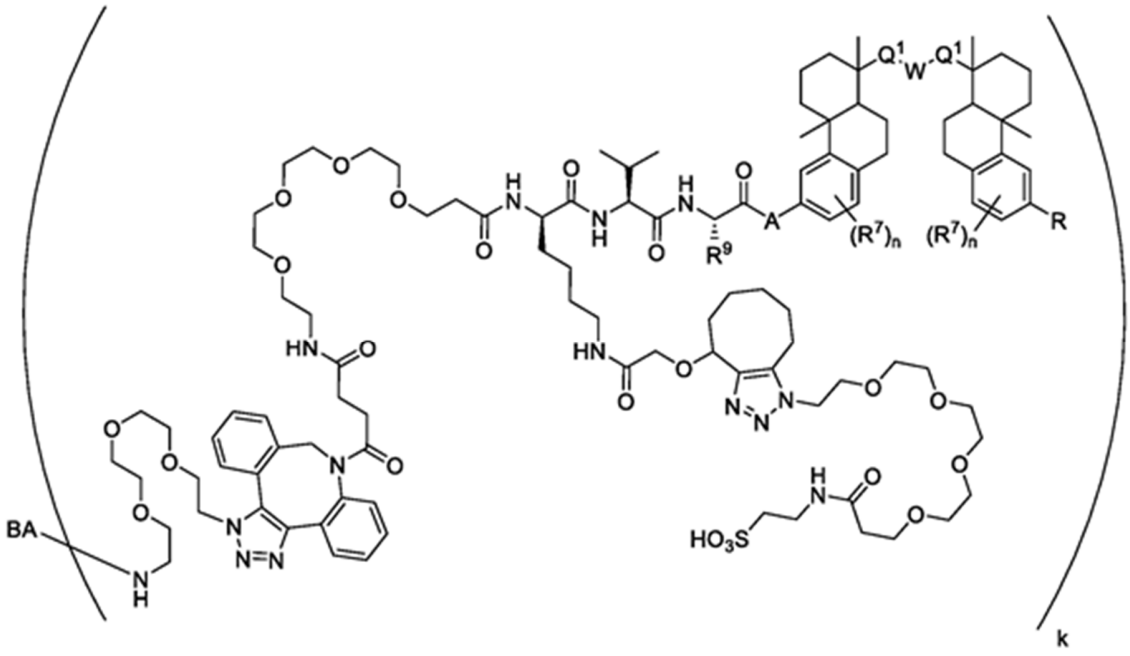
,



,



,



,

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

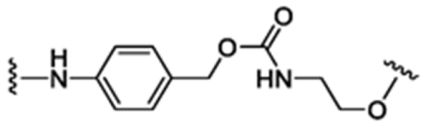
k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

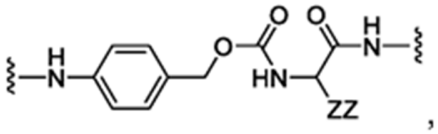
cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,



,

o

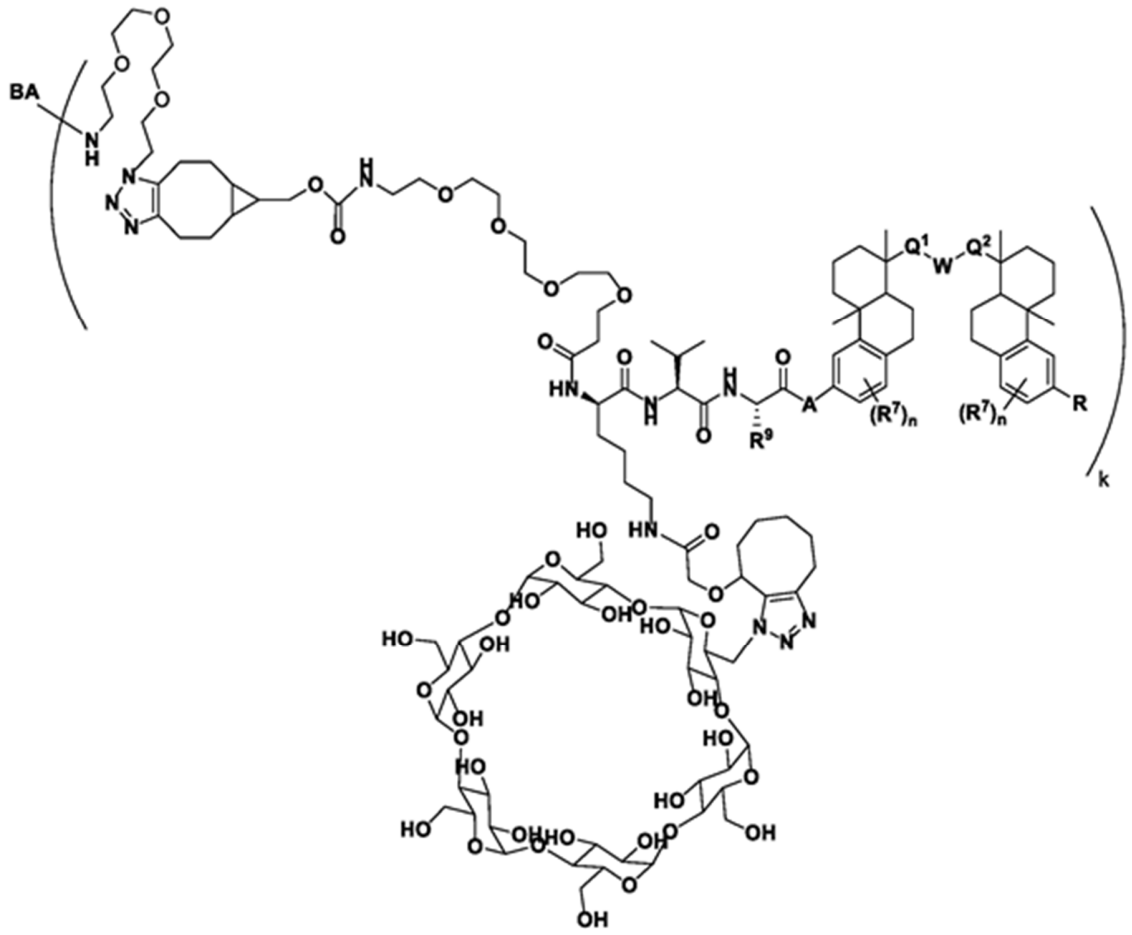


,

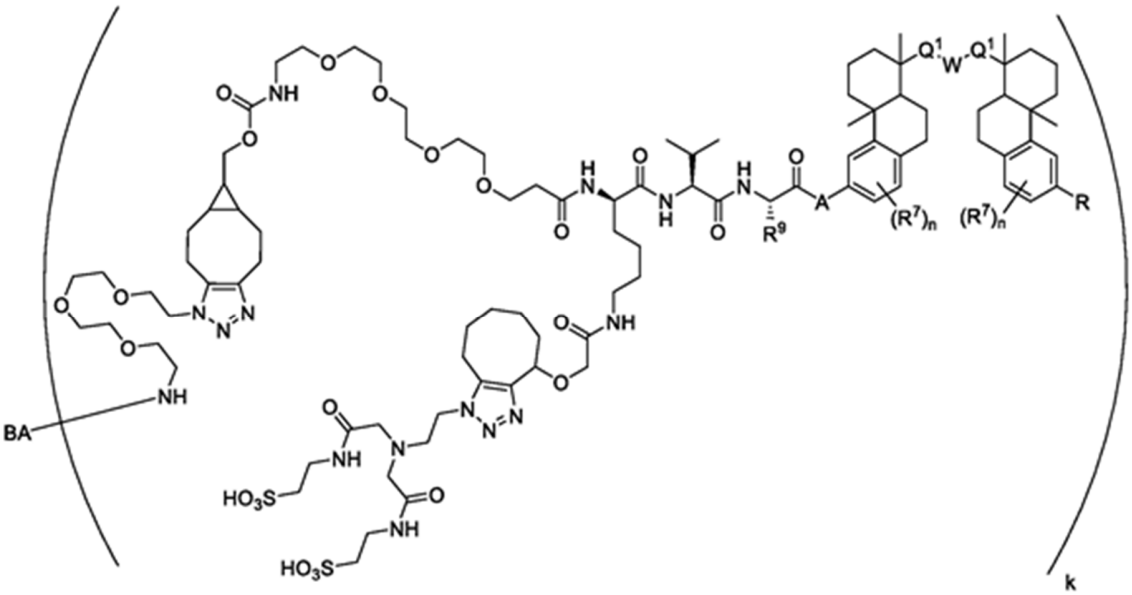
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, R es R1.

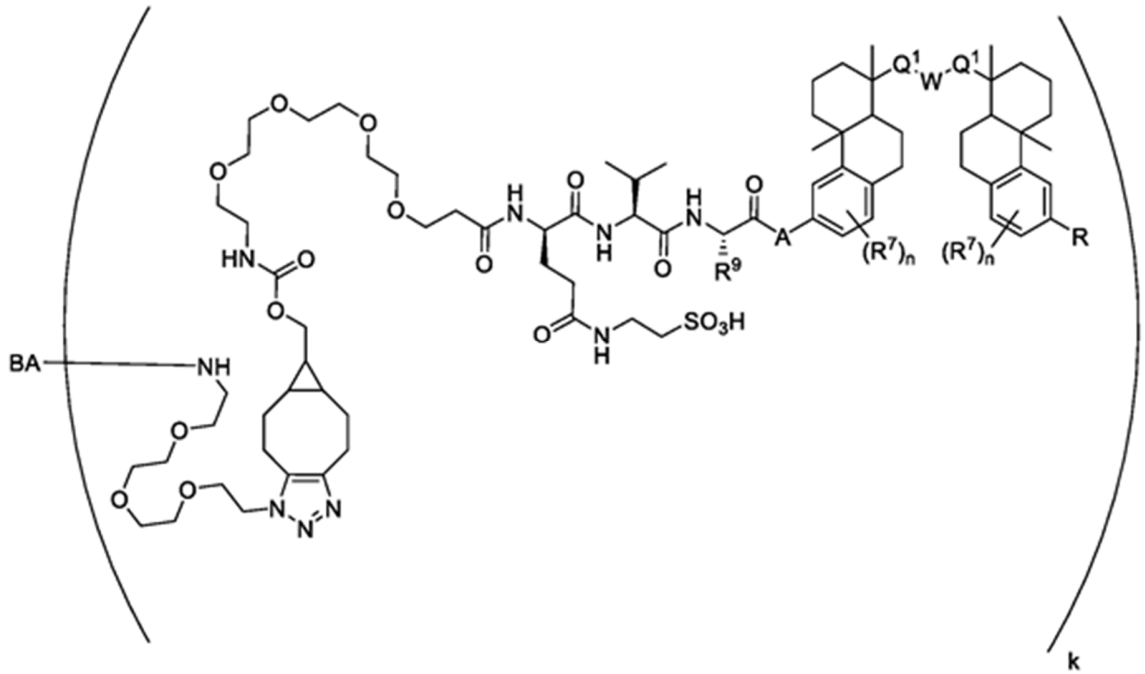
[00173] En algunas modalidades, el conjugado es:

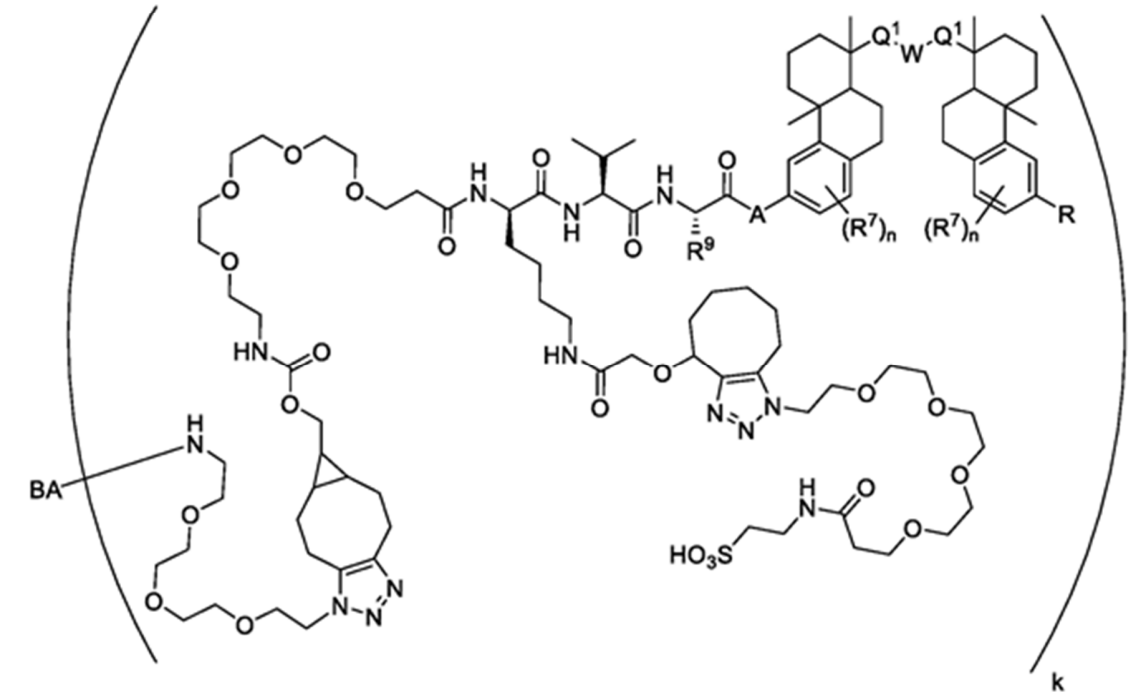


,



,





o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

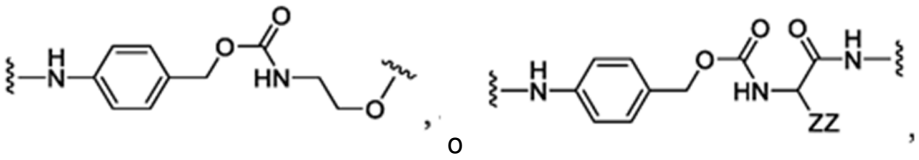
k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

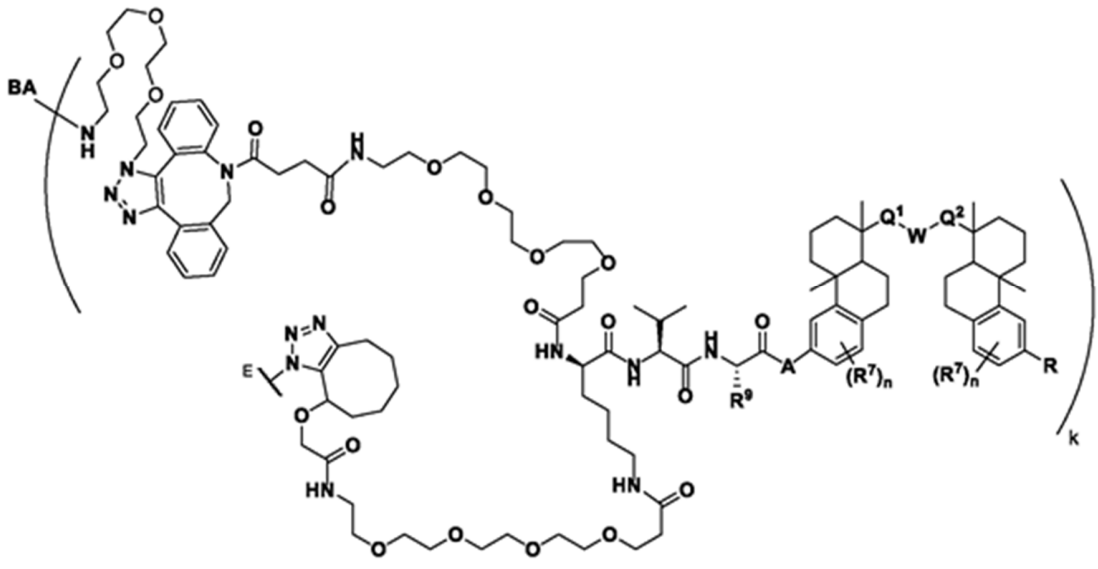
cada A es -O-, -N(H)-,



en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, R es R1.

[00174] En algunas modalidades, el conjugado es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

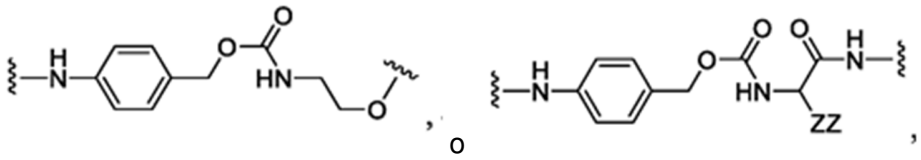
R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

Cada  es un enlace al grupo potenciador;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

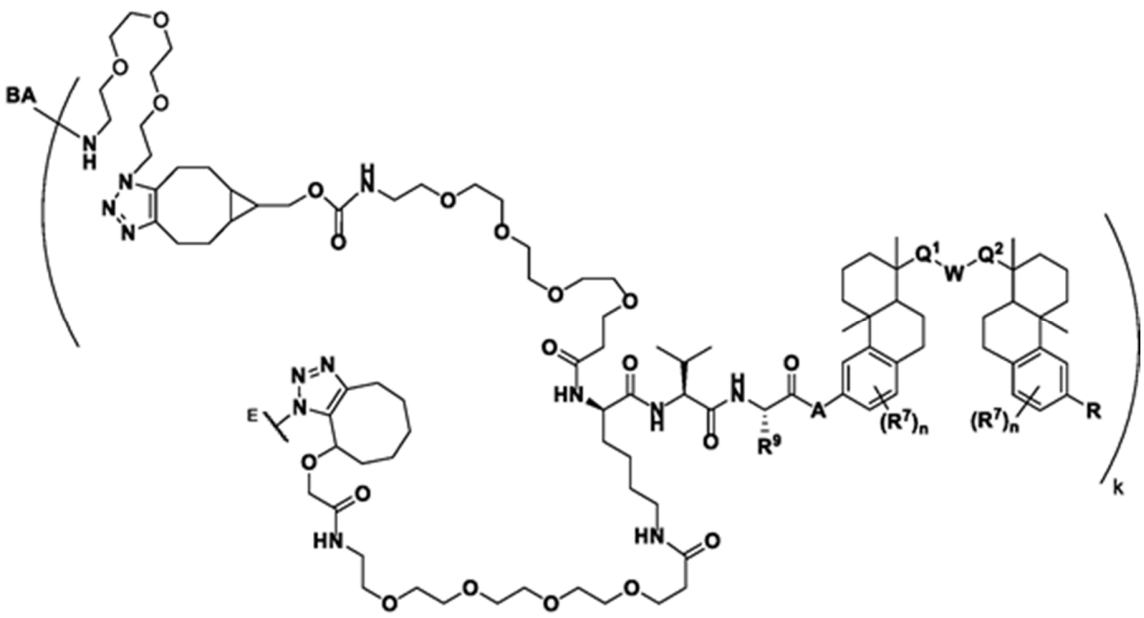


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, y m es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o

heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En ciertas modalidades, R es R1.

[00175] En algunas modalidades, el conjugado es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

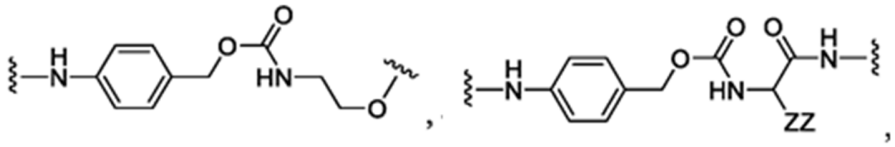
Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, , Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;



Cada es un enlace al grupo potenciador;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

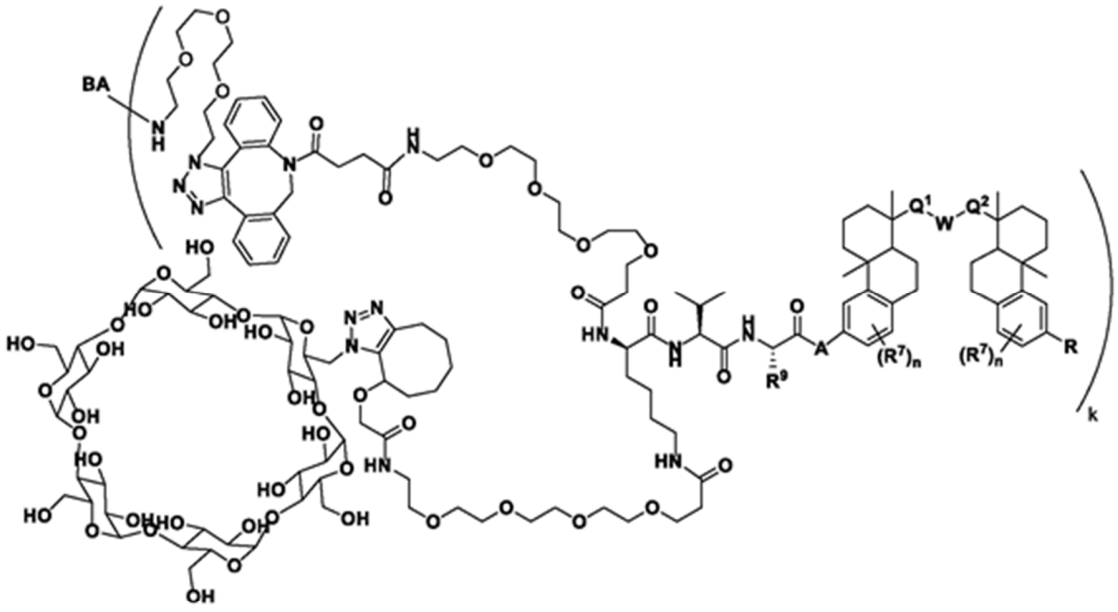


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

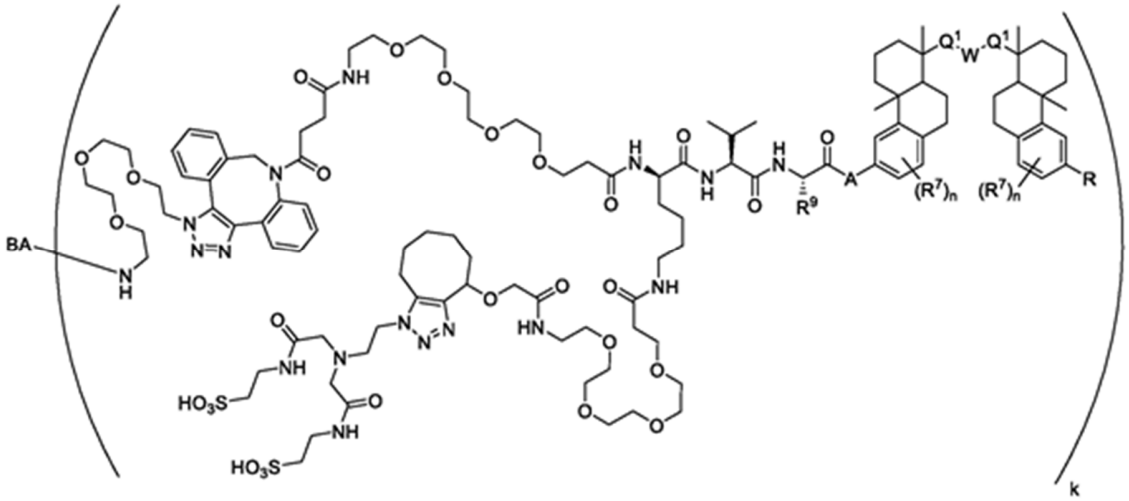
En ciertas modalidades, el agente potenciador es un grupo hidrófilo. En ciertas modalidades, el agente potenciador es ciclodextrina. En ciertas modalidades, el grupo potenciador es un ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico. La ciclodextrina puede ser cualquier ciclodextrina conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina o gamma ciclodextrina, o mezclas de las mismas. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es alfa ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es beta ciclodextrina. En ciertas modalidades, la ciclodextrina es gamma ciclodextrina. En ciertas modalidades, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H,-(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H,-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, -(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2,-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, o-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5, y m es 1, 2, 3, 4 o 5. En una modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)1-5SO3H. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es -(CH2)n-NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)NH-(CH2)1-5SO3H, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad,

el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácido alquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2)n-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde n es 1, 2, 3, 4 o 5. En otra modalidad, el ácidoalquil, heteroalquil, alquilenil o heteroalquilenil sulfónico es-(CH2CH2O)m-C(O)N((CH2)1-5C(O)NH(CH2)1-5SO3H)2, en donde m es 1, 2, 3, 4 o 5. En ciertas modalidades, R es R1.

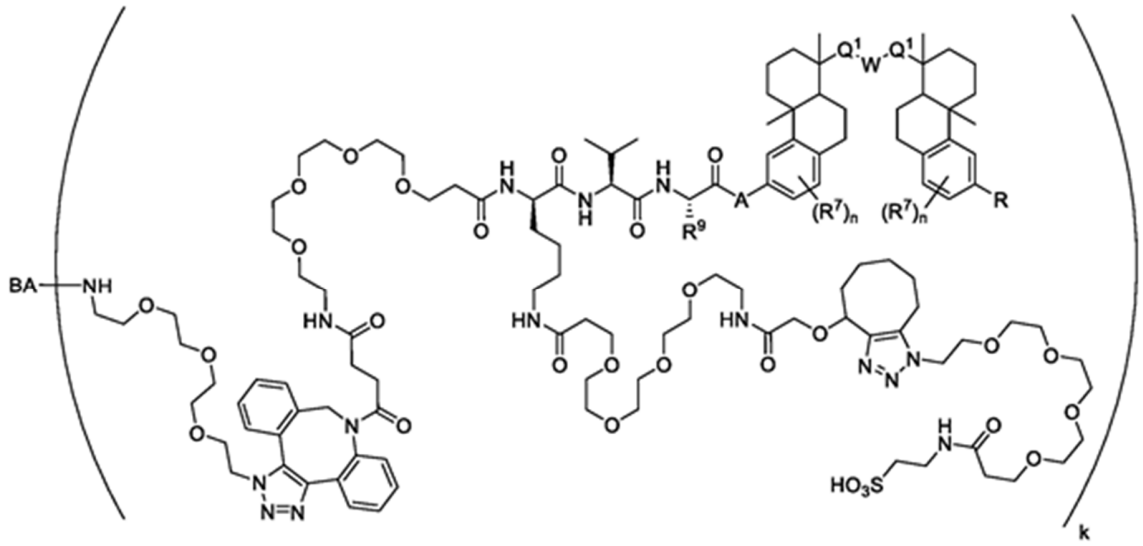
[00176] En algunas modalidades, el conjugado es:



,



,



,

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

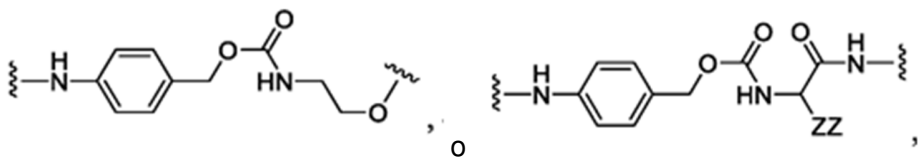
k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

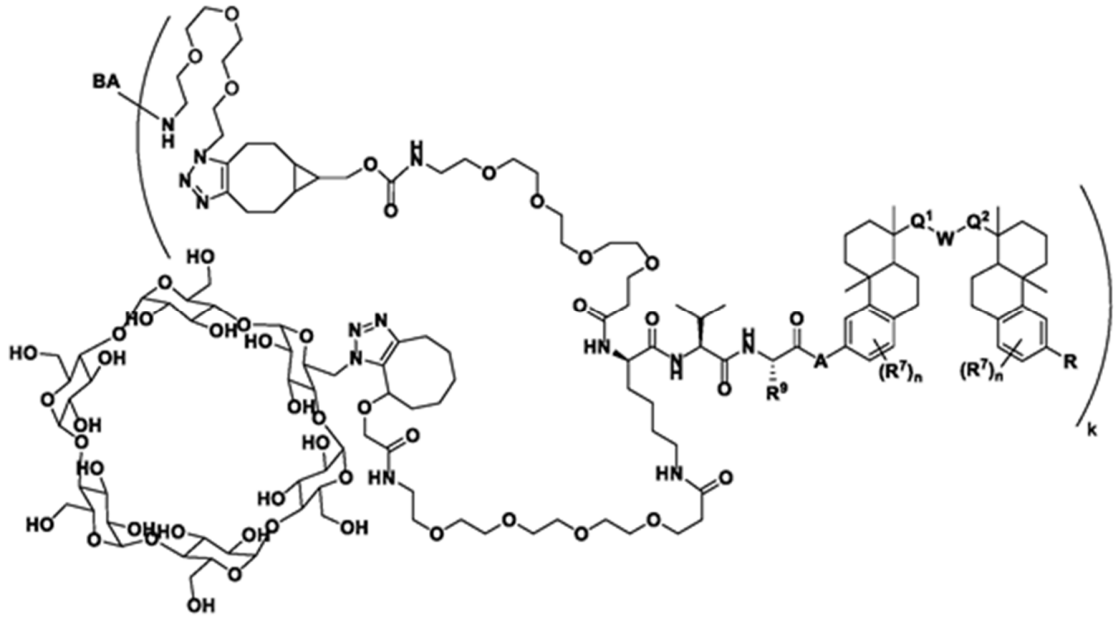
cada A es -O-, -N(H)-,



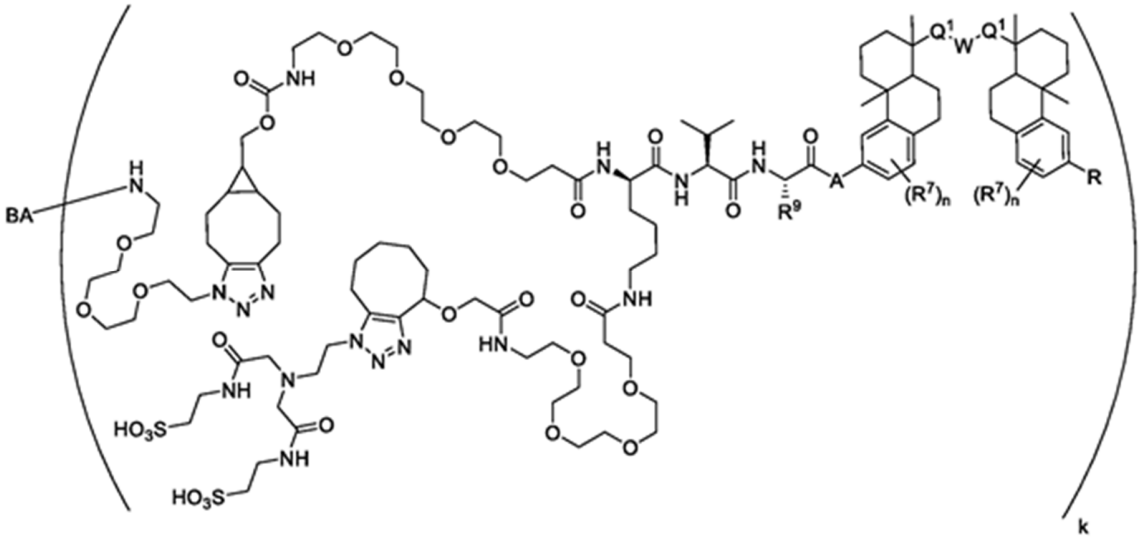
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, R es R1.

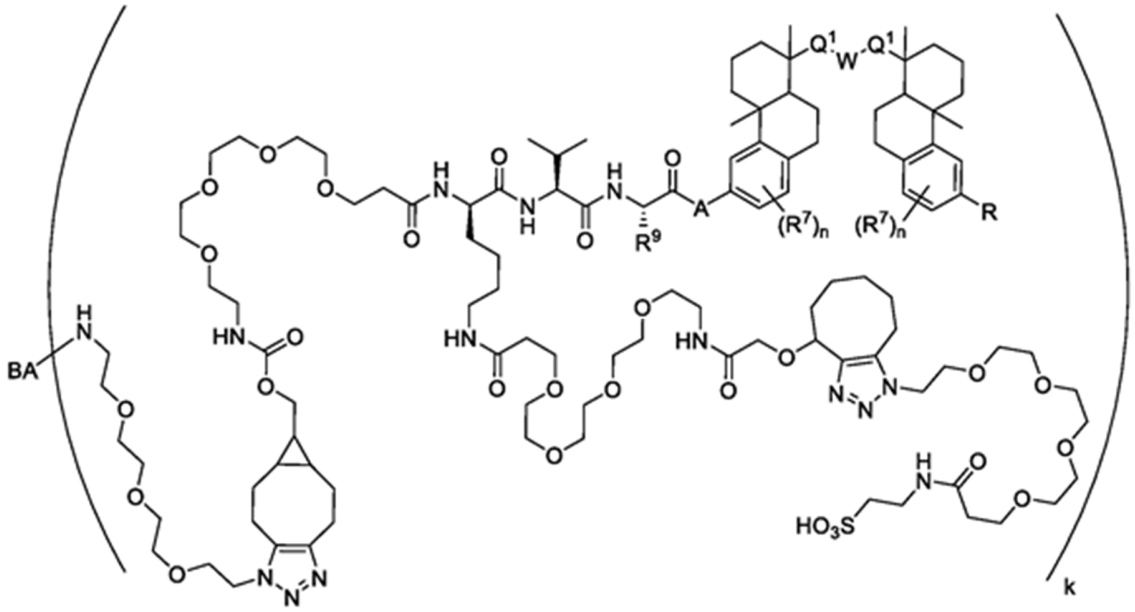
[00177] En algunas modalidades, el conjugado es:



,



,



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

BA es un agente de unión;

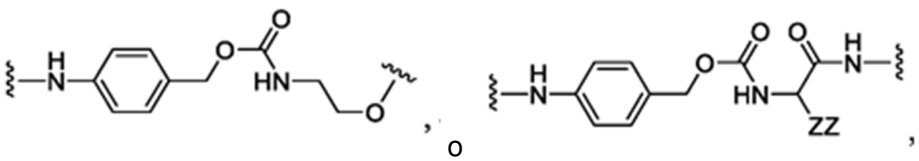
k es un número entero de 1 a 30;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

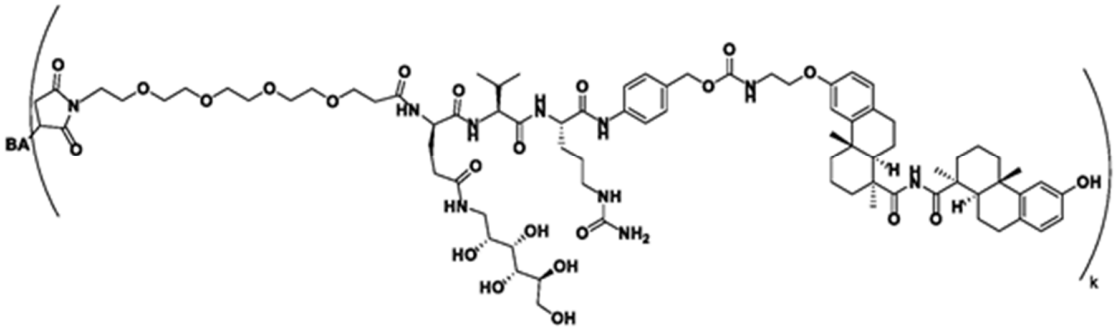


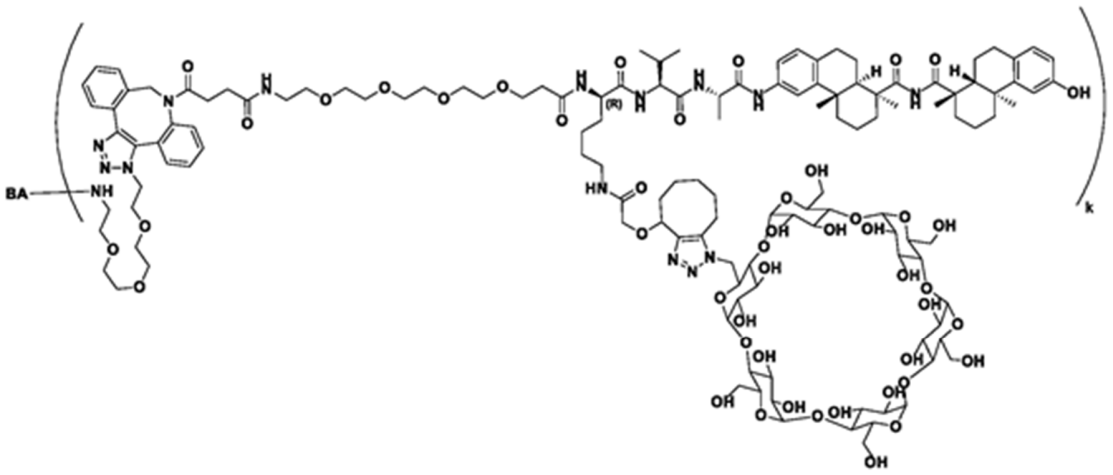
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

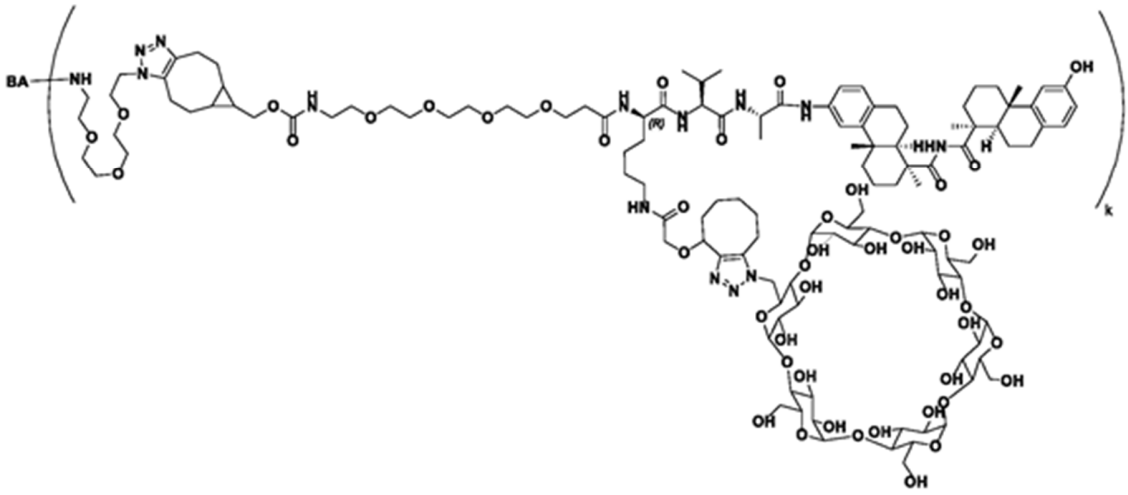
En ciertas modalidades, R es R1.

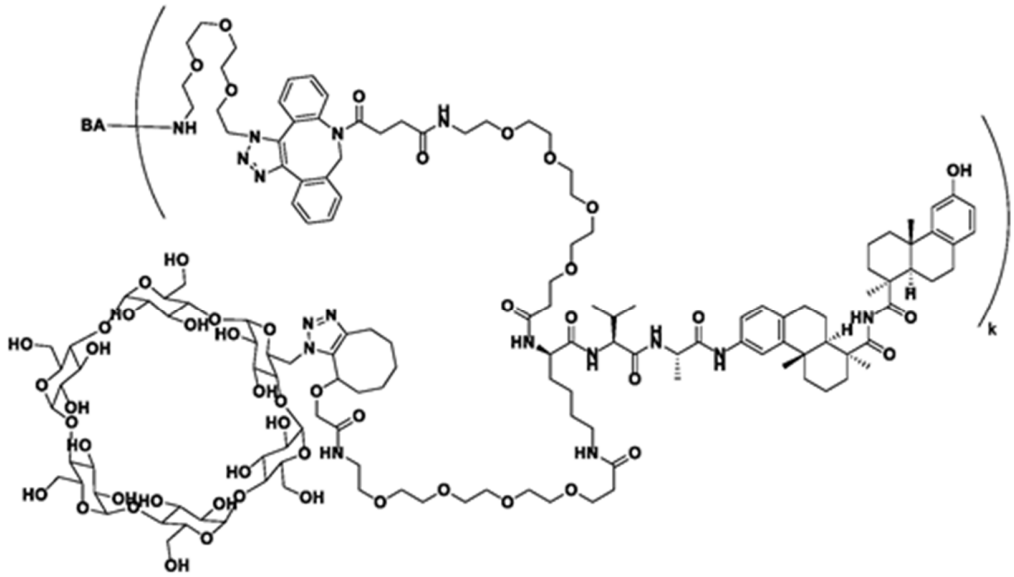
[00178] En cada una de las modalidades anteriores, los conjugados pueden prepararse a partir de agentes aglutinantes funcionalizados con grupos azida, y sus residuos, como se describe en las secciones a continuación. Por conveniencia, el residuo de triazol en varias estructuras anteriores se representa entre paréntesis. Los expertos reconocerán que el trazol puede formarse a partir de un grupo azida de un agente de unión derivado de azida y un alquino de el enlazador-carga útil L-P.

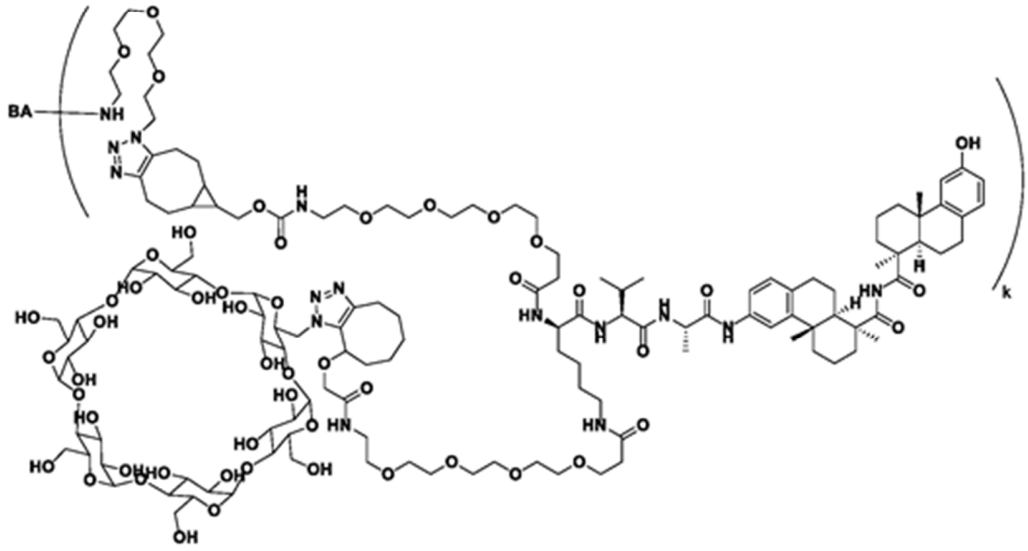
[00179] En algunas modalidades, el conjugado se selecciona de:

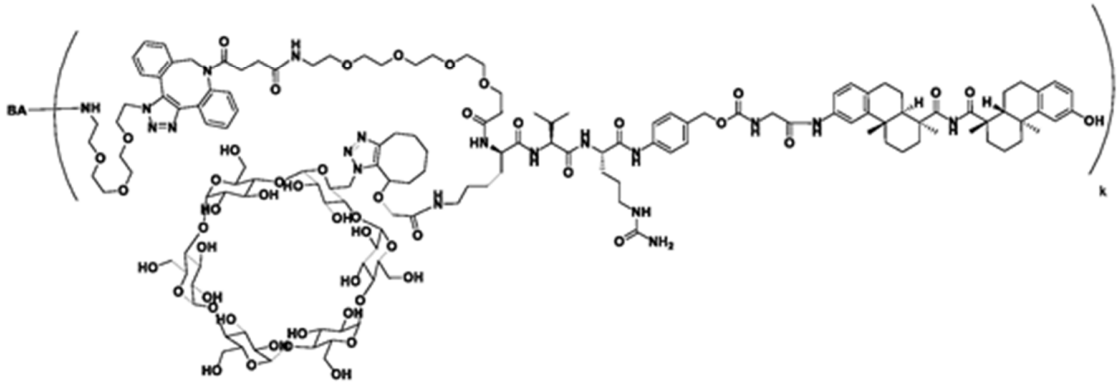


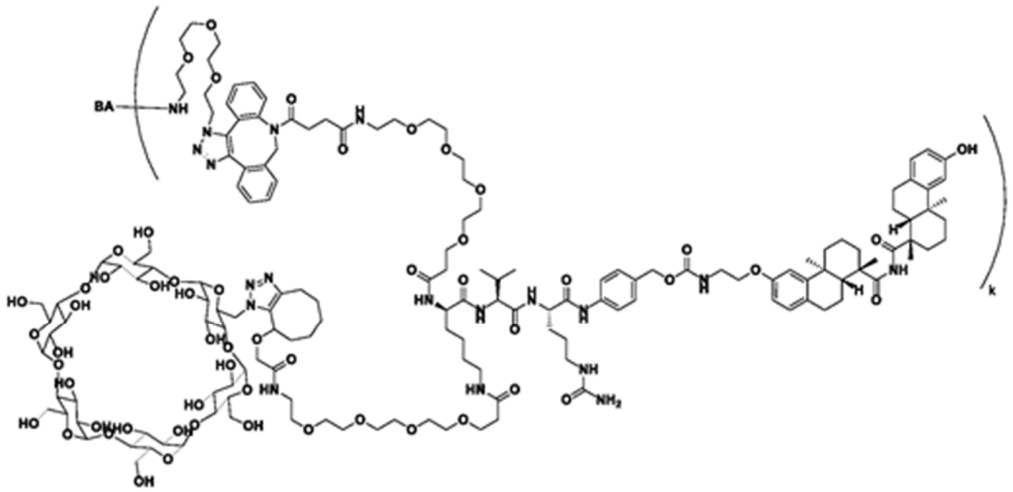

BA
NH
HN
(R)
OH
k

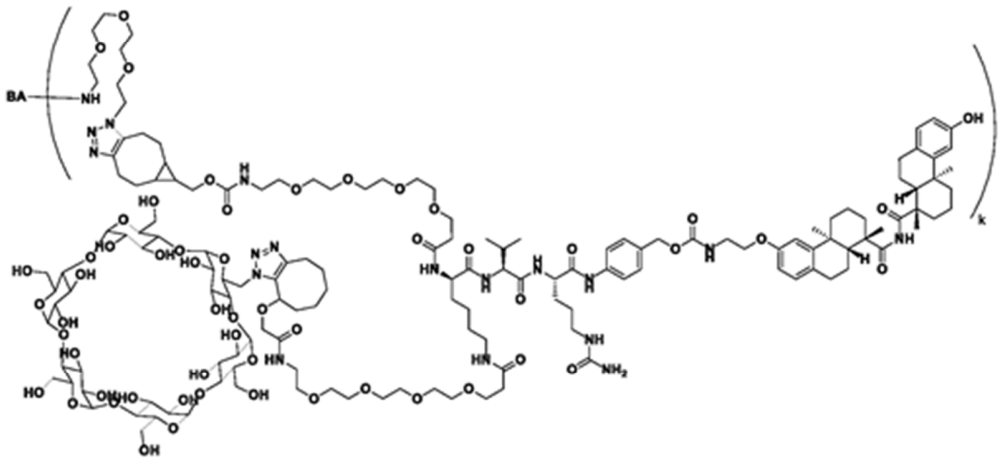

BA
NH
HN
(R)
HHN
OH
k

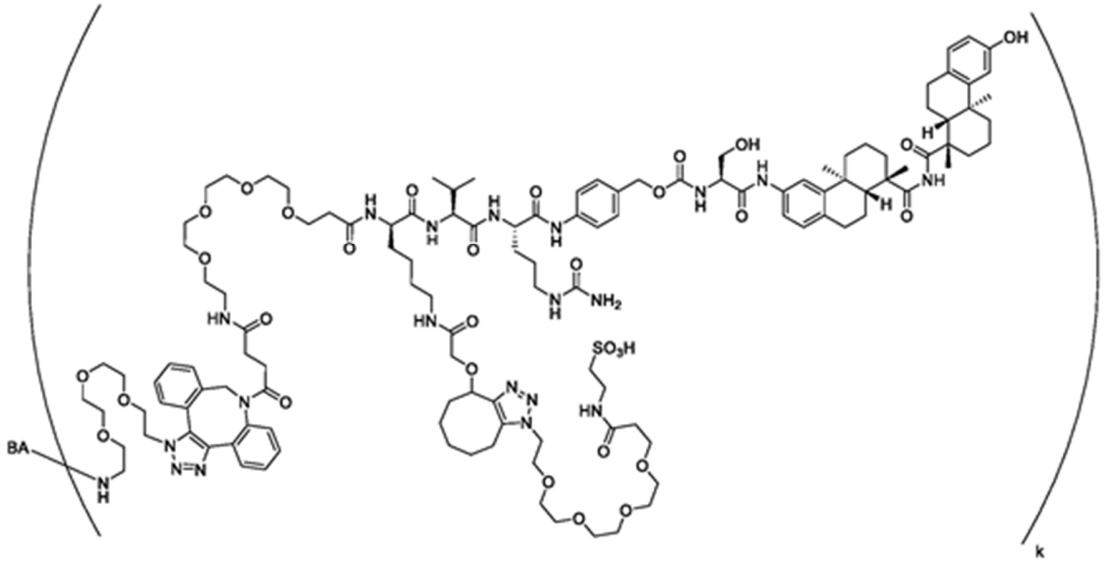

BA
NH
HO
OH
O
N
HN
H
k

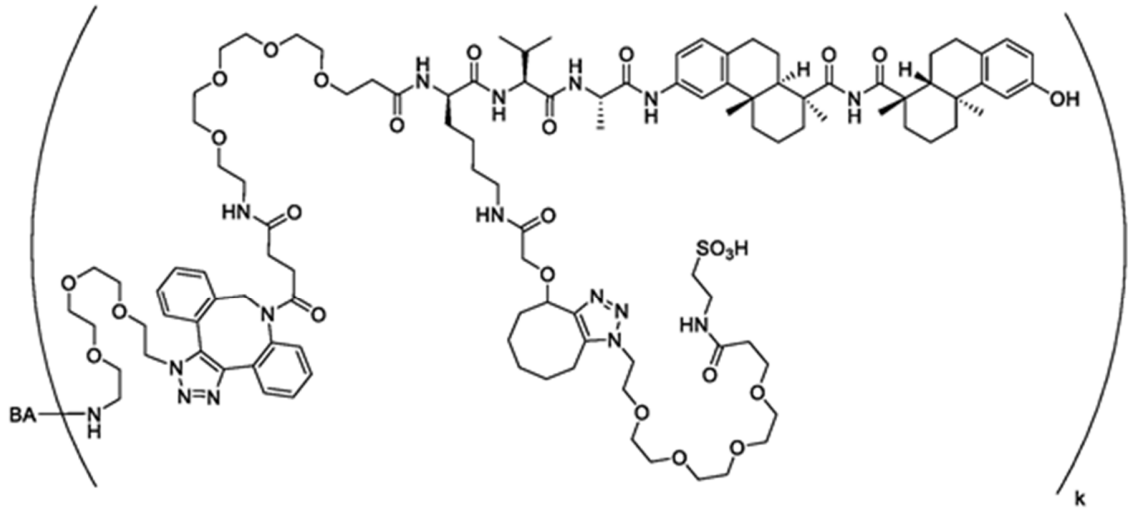

BA
NH
HO
OH
O
N
HN
H
k

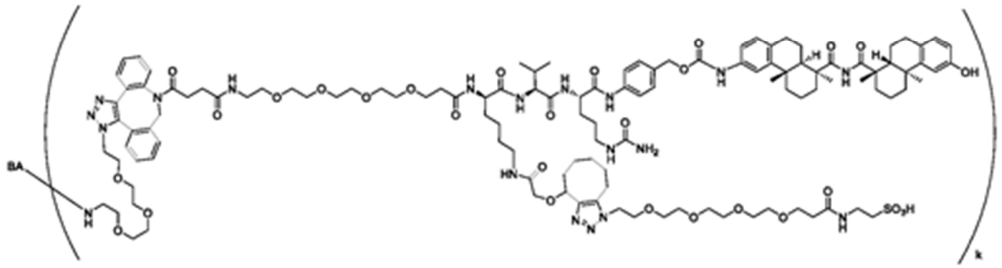

BA
NH
HO
OH
O
N
HN
H
NH2
k

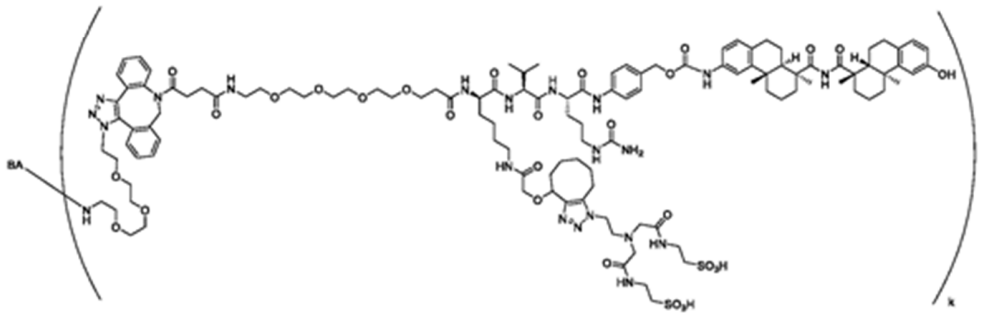


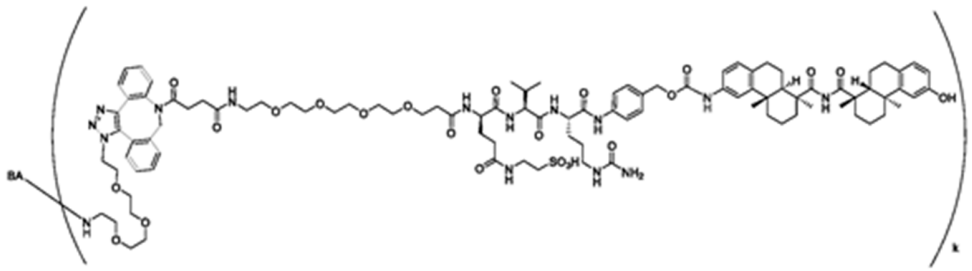


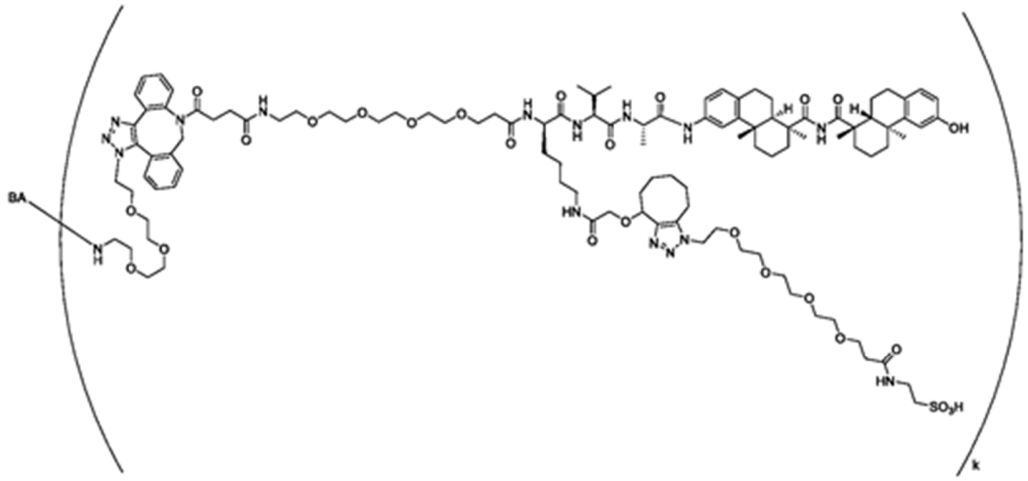


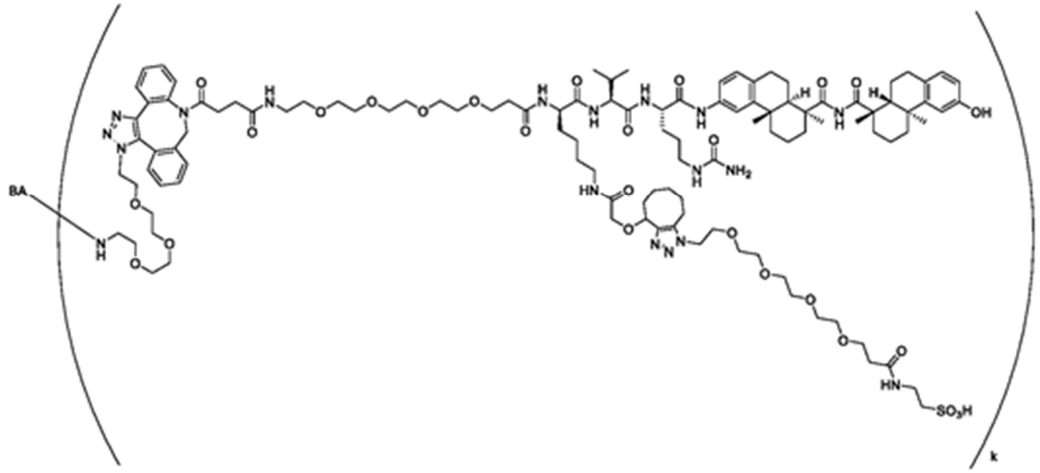

BA
HN
HN
SO3H
HN
OH
k

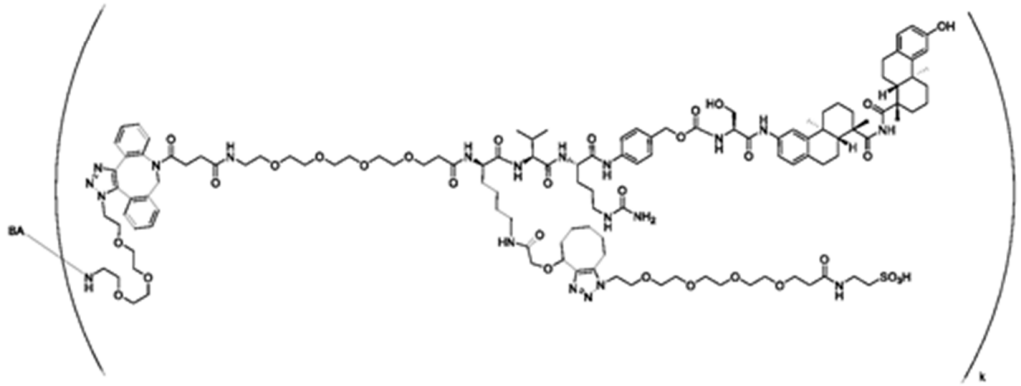

BA
NH2
SO3H
OH
k

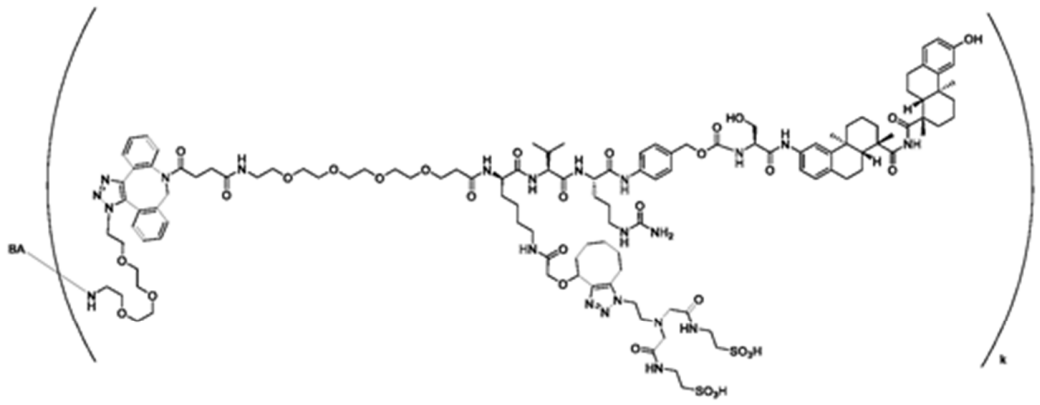

BA
NH2
SO3H
SO3H
OH
k

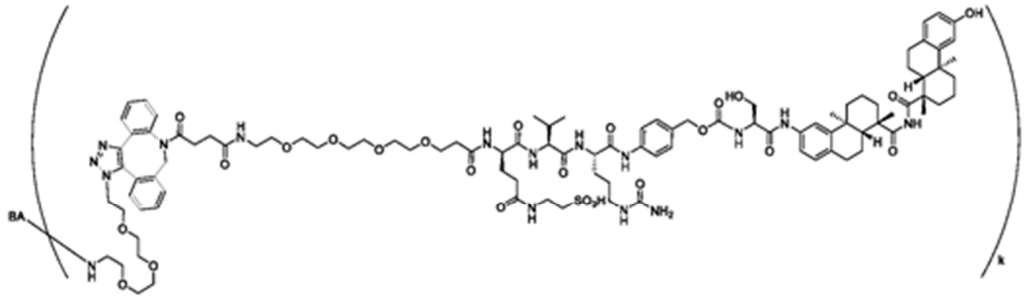

BA
SO3H
NH2
OH
k

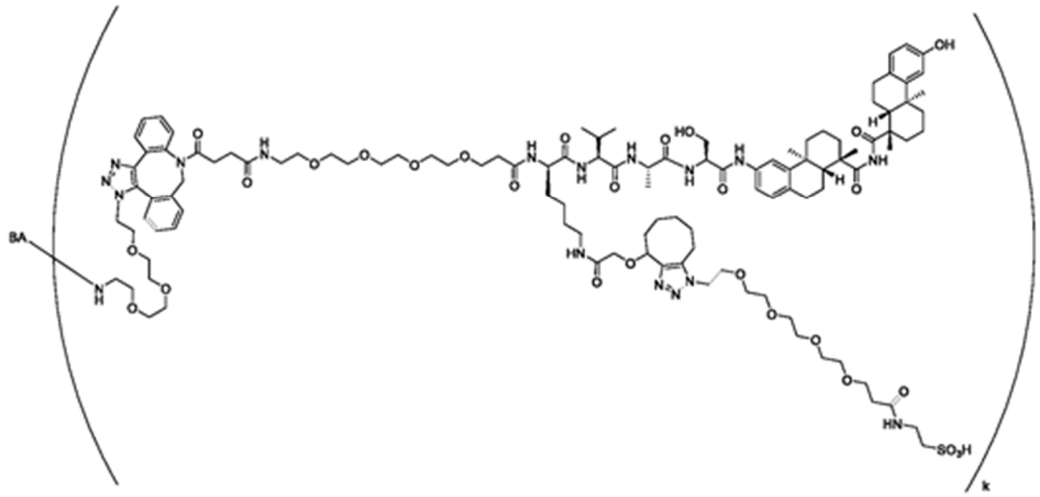

BA
k

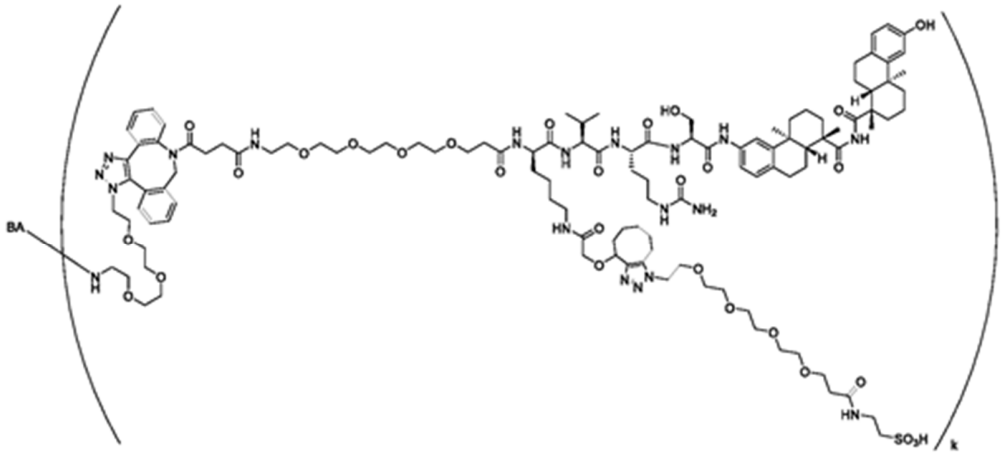

BA
k


BA
k


BA
k


BA
k


BA
k



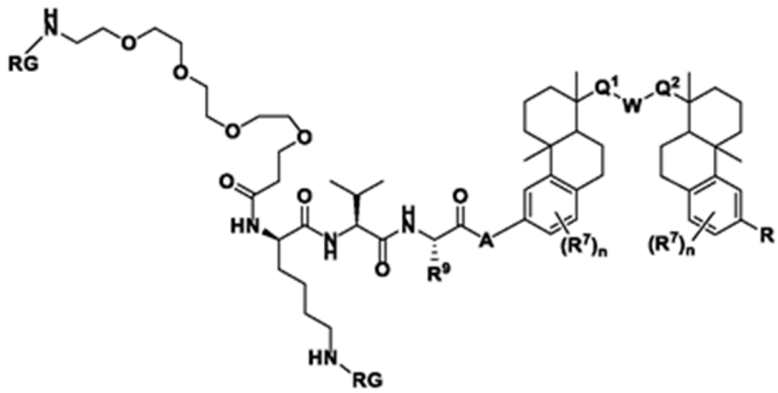
o un regioisómero, o forma estereoisomérica, sal, solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En las modalidades anteriores, k es un número entero de 1 a 30. En ciertas modalidades, k es un número entero de 1 a 8. En ciertas modalidades, k es un número entero de 1 a 4. En ciertas modalidades, k es 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1. En ciertas modalidades, k es 4. En ciertas modalidades, k es 3. En ciertas modalidades, k es 2. En ciertas modalidades, k es 1.

Enlazador-cargas útiles reactivos

[00180] Los conjugados proporcionados aquí se pueden preparar a partir de enlazador-cargas útiles reactivos con grupos reactivos RG como se describió anteriormente. Las cargas útiles del enlazador reactivo se pueden vincular a grupos de mejora y/o agentes de unión de acuerdo con los métodos descritos a continuación.

[00181] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo es:



o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

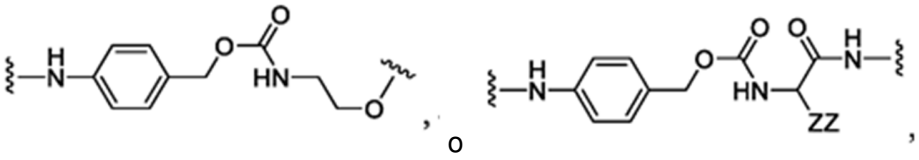
cada RG es un grupo reactivo, como se describe en el presente documento;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

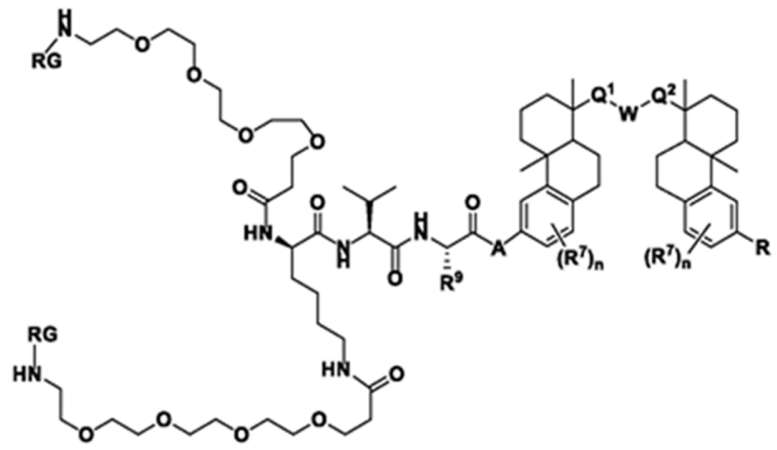


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, R es R1.

[00182] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo es:

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un



regioisómero del mismo, en donde:

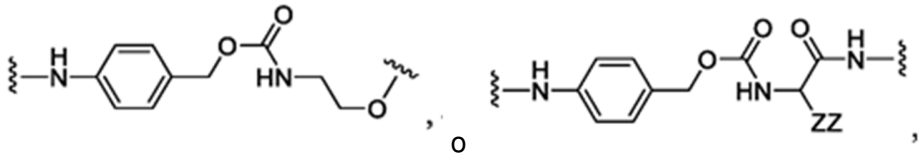
cada RG es un grupo reactivo, como se describe en el presente documento;

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

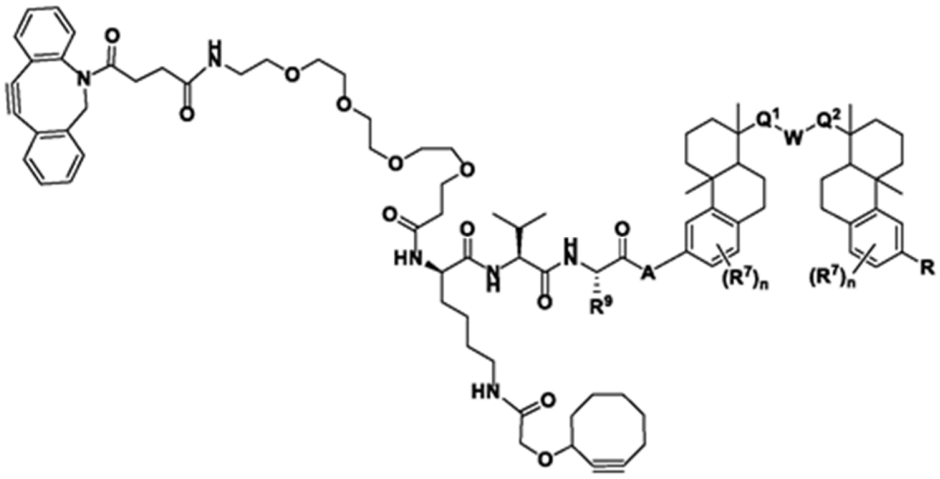


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, R es R1.

[00183] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo es:

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un



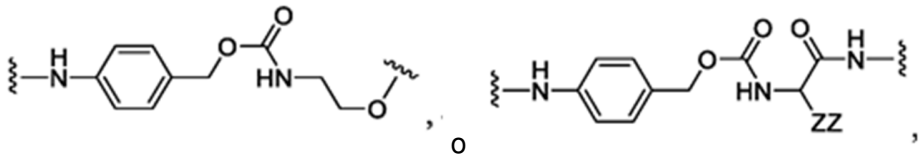
regioisómero del mismo, en donde:

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

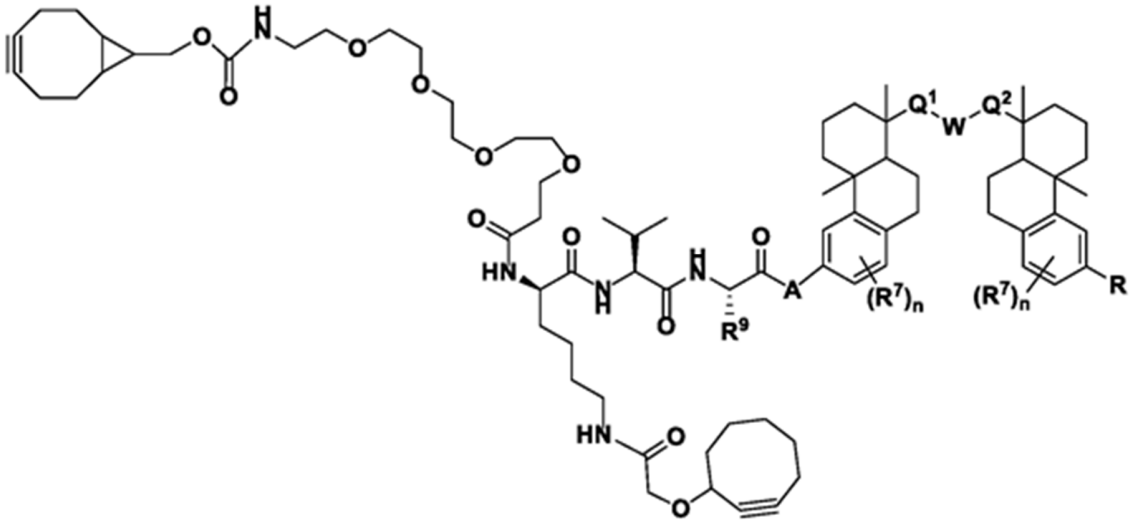


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, R es R1.

[00184] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo es:

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un



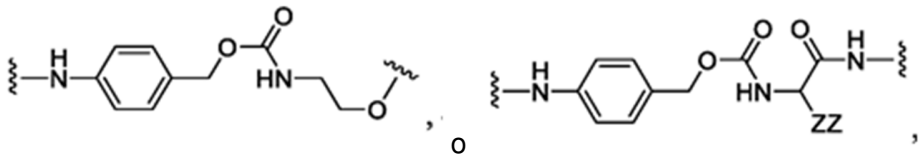
regioisómero del mismo, en donde:

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

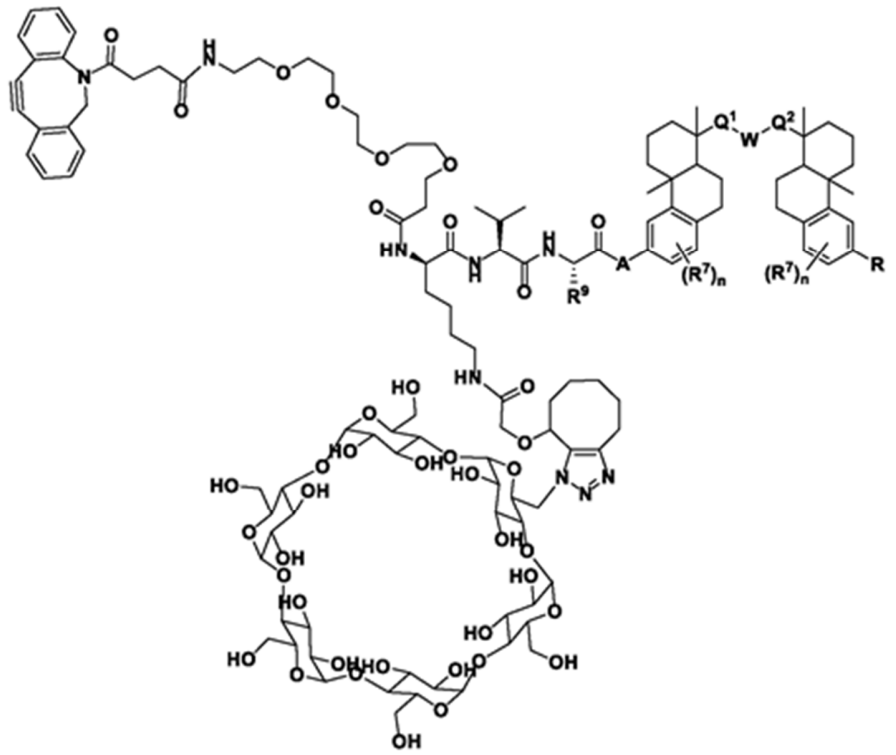
cada A es -O-, -N(H)-,



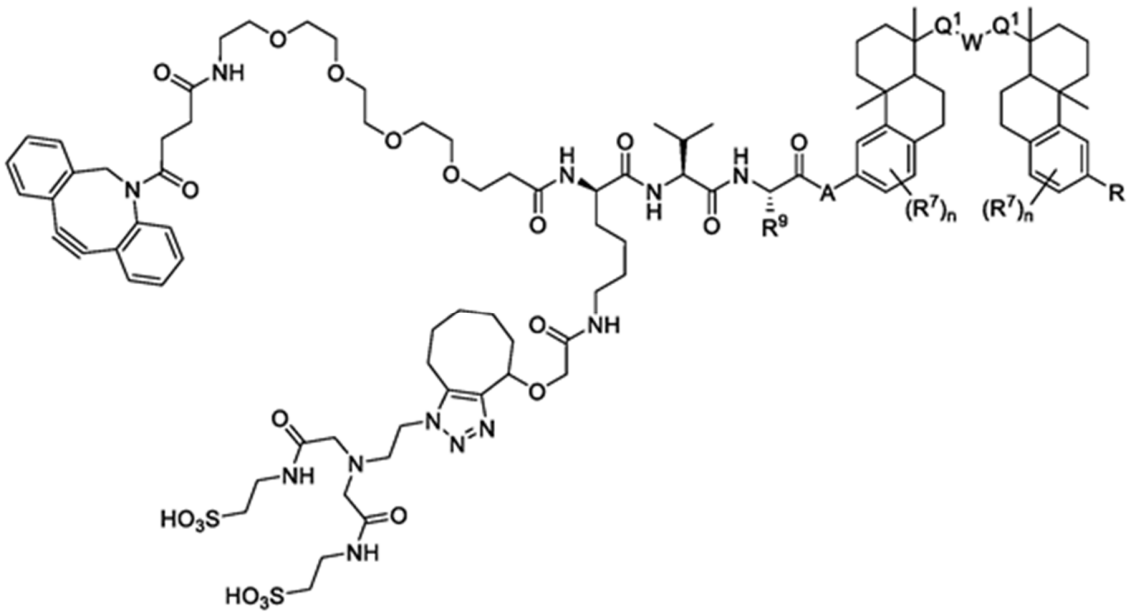
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

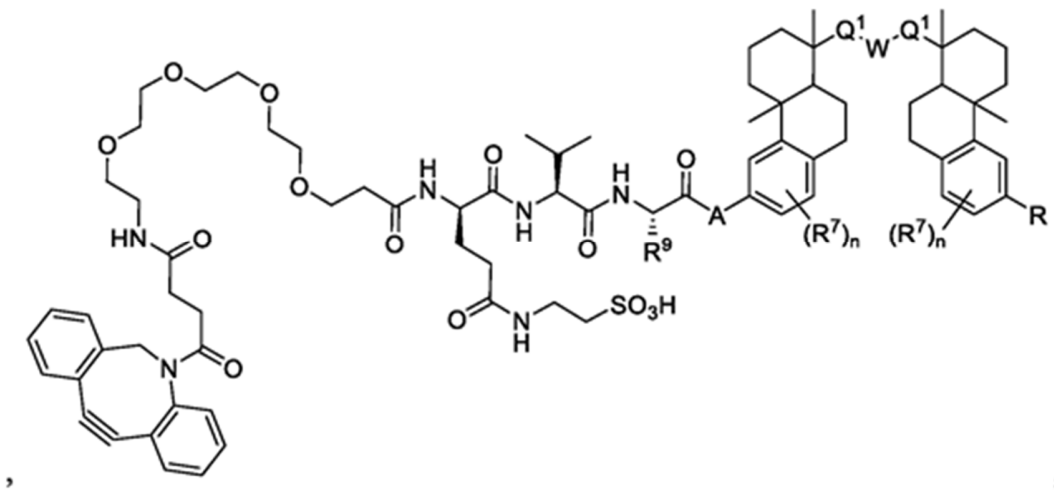
En ciertas modalidades, R es R1.

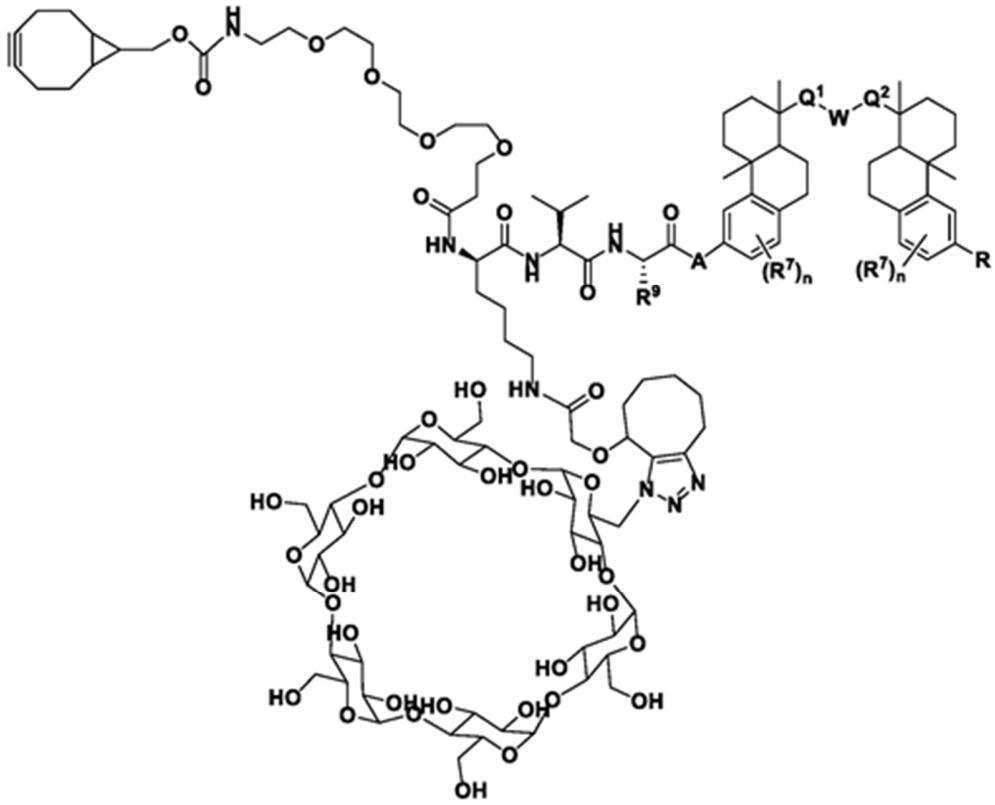
[00185] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo es:



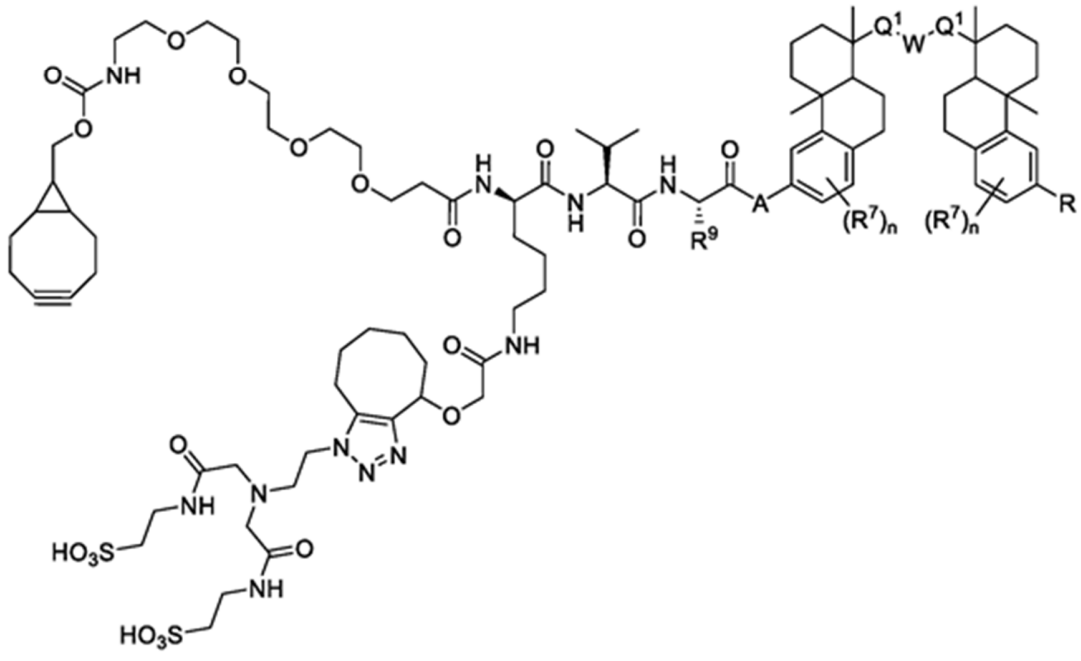
,




Q1
W
Q1
O
O
O
O
HN
O
O
H
N
O
N
H
O
H
N
O
A
R
(R7)n
(R7)n
R9
O
N
O
O
N
H
SO3H
,
,



,



,

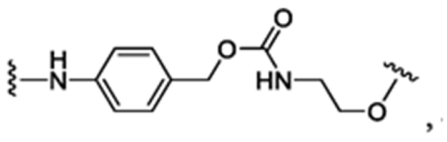
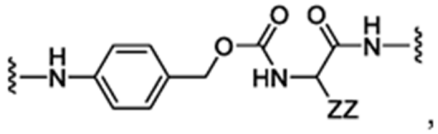
o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

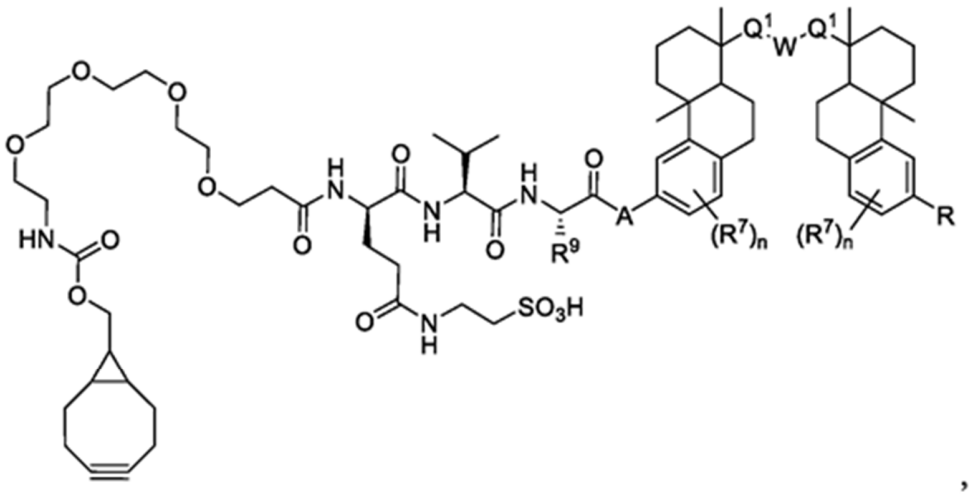
cada A es -O-, -N(H)-,


, o

,

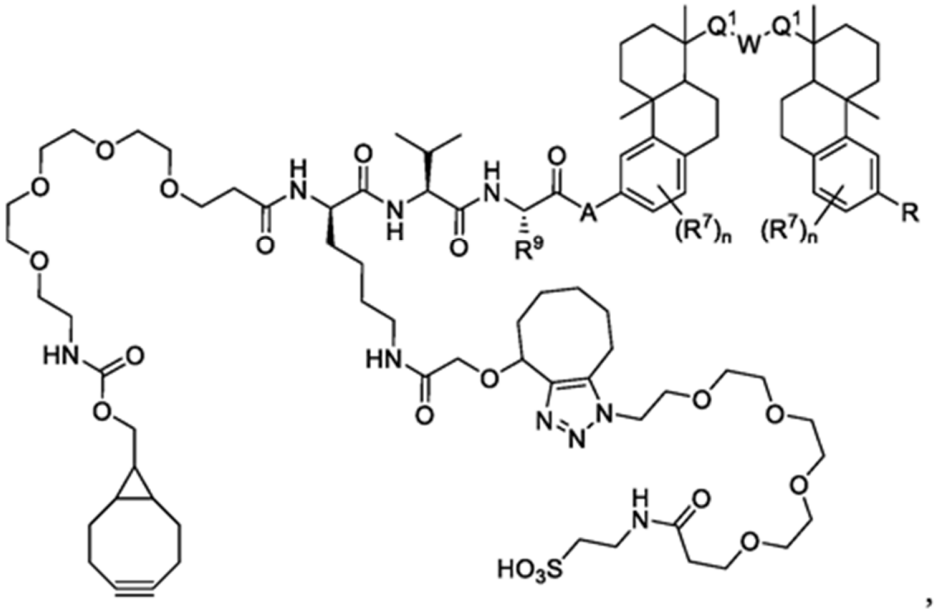
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, R es R1.

[00186] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo es:



,



,

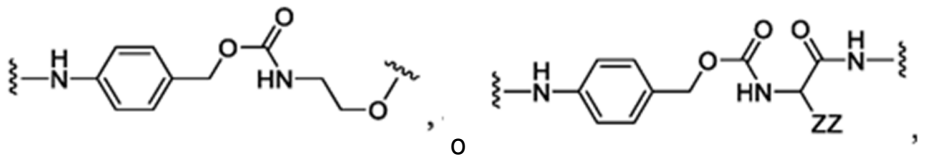
o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

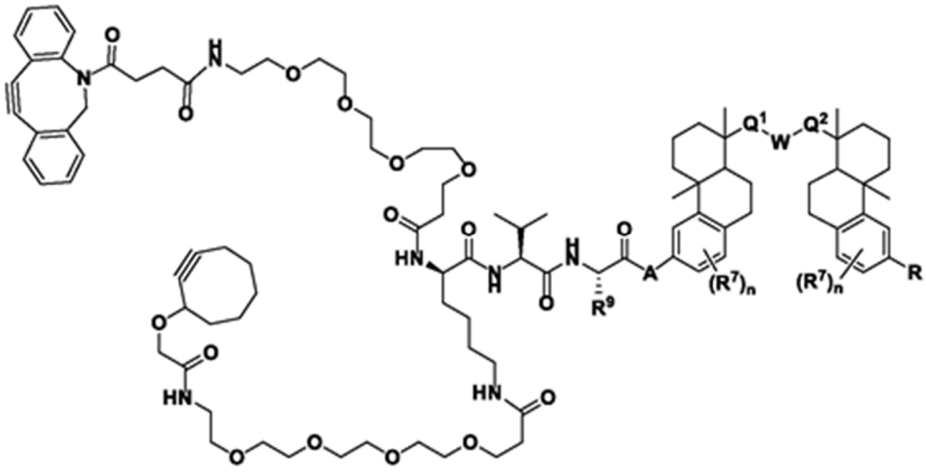


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, R es R1.

[00187] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo es:

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un



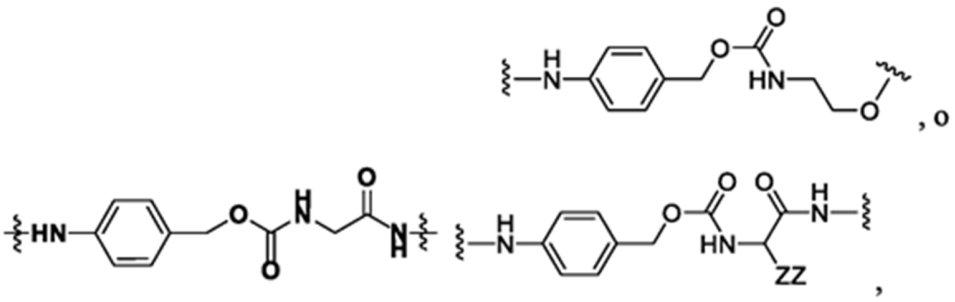
regioisómero del mismo, en donde:

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

cada A es -O-, -N(H)-,

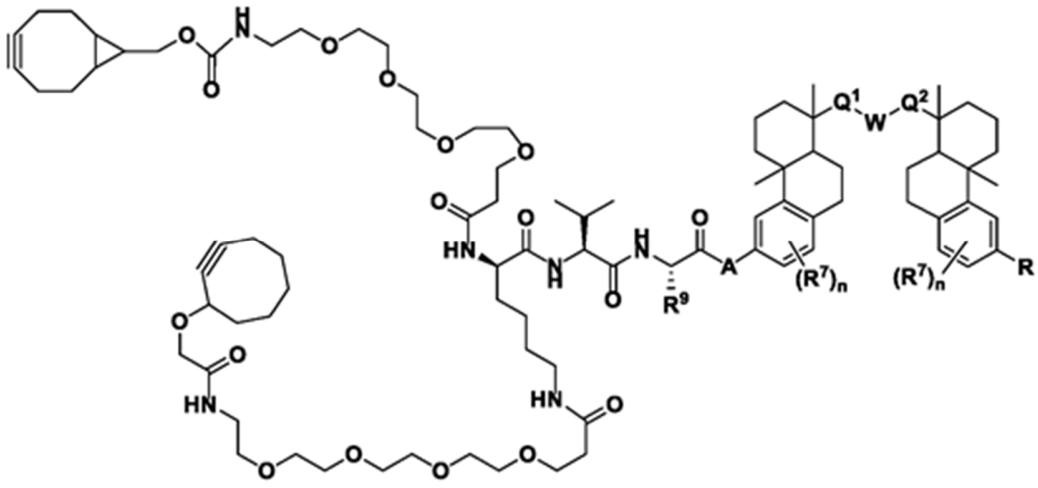


en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

En ciertas modalidades, R es R1.

[00188] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo es:

o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un



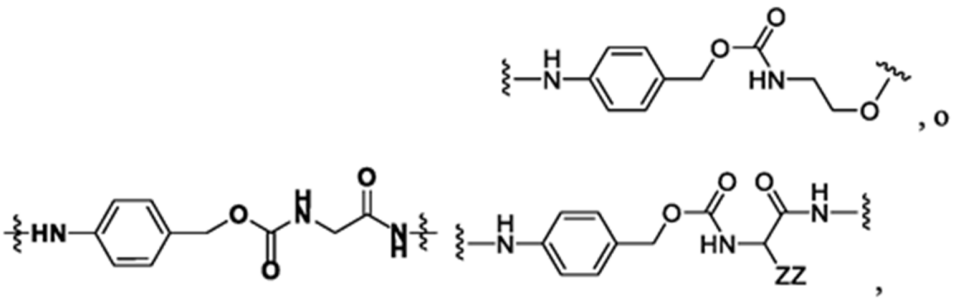
regioisómero del mismo, en donde:

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

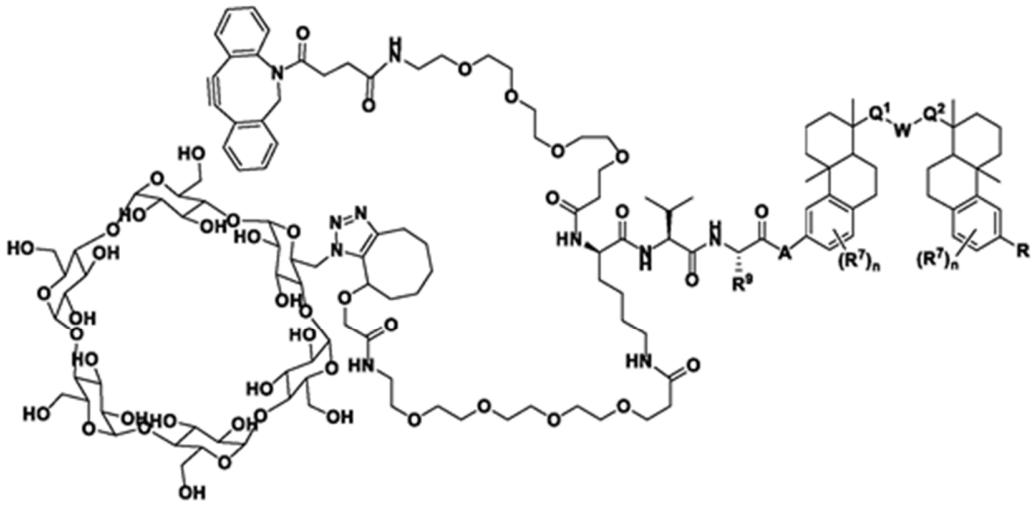
cada A es -O-, -N(H)-,



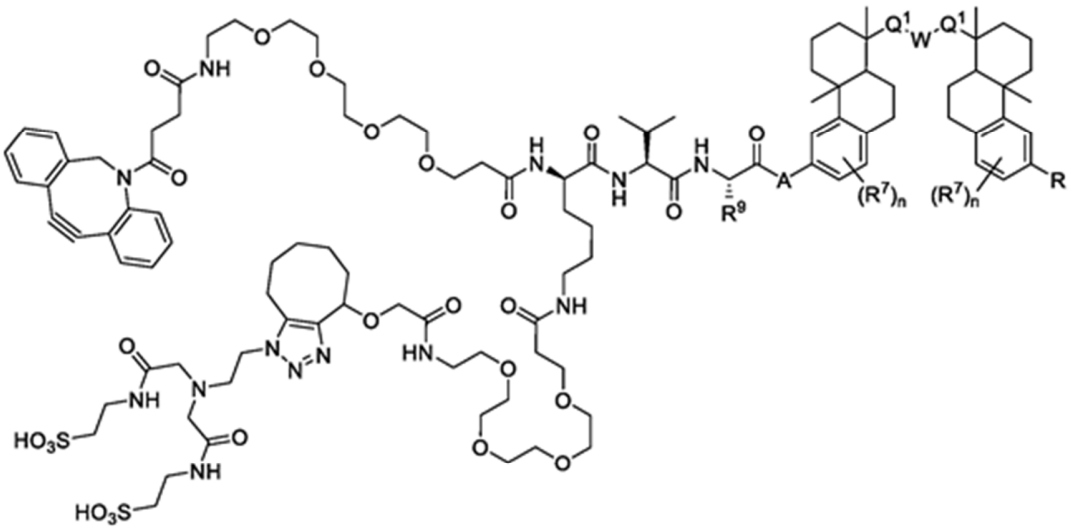
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

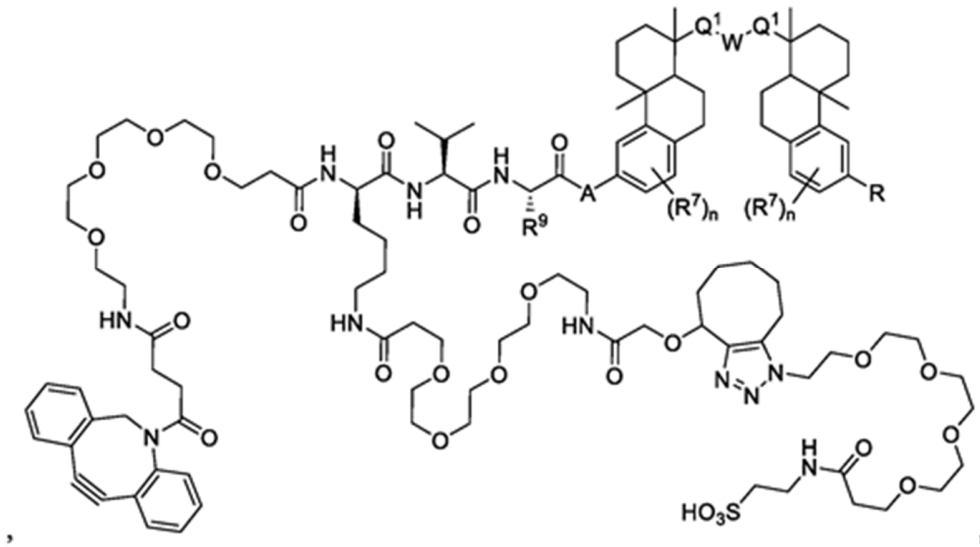
En ciertas modalidades, R es R1.

[00189] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo es:



,





,

,

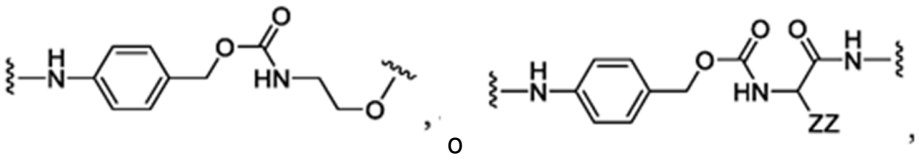
o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

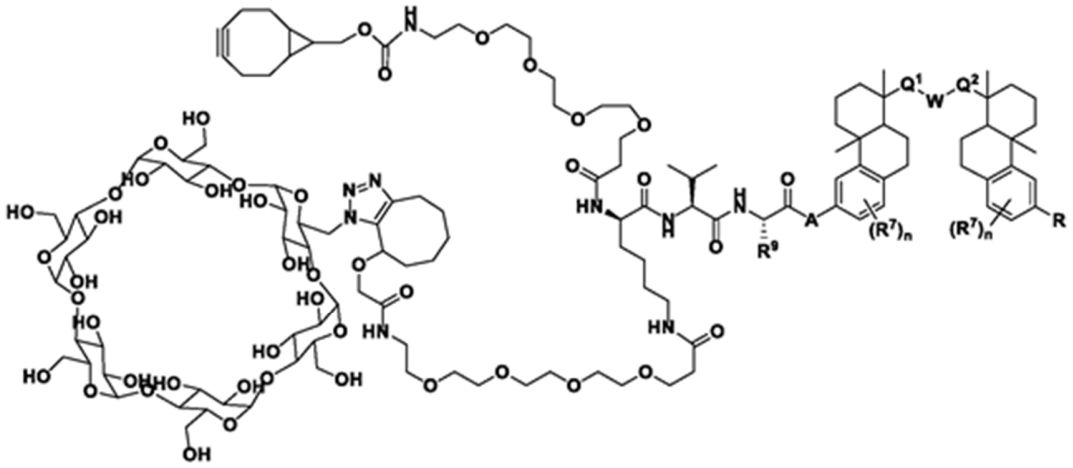
cada A es -O-, -N(H)-,



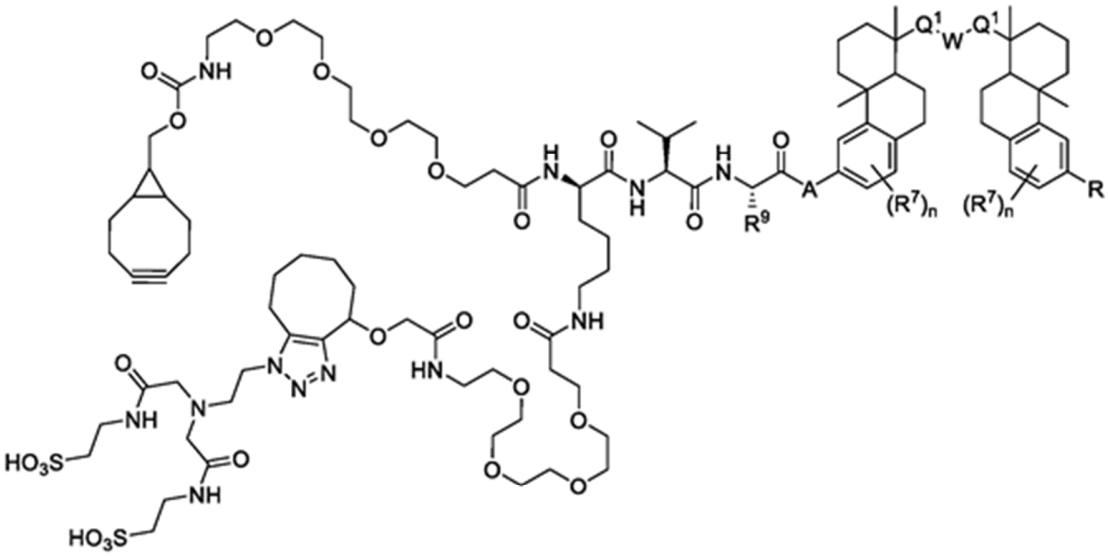
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

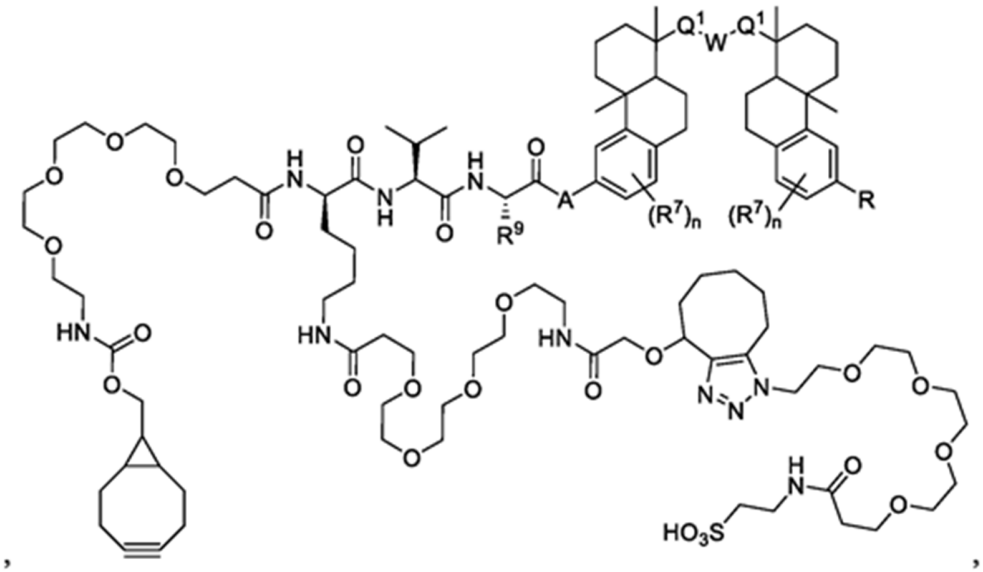
En ciertas modalidades, R es R1.

[00190] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo es:



,





, ,

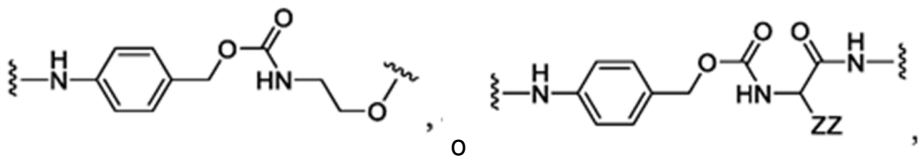
o una sal, solvato o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable del mismo, o un regioisómero del mismo, en donde:

R es -H, R1 o R2; y

Q1, Q2, W,R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, X, Y, Z y n son como se describen en el contexto de la Fórmula I;

cada R9 es -CH3 o -(CH2)3N(H)C(O)NH2; y

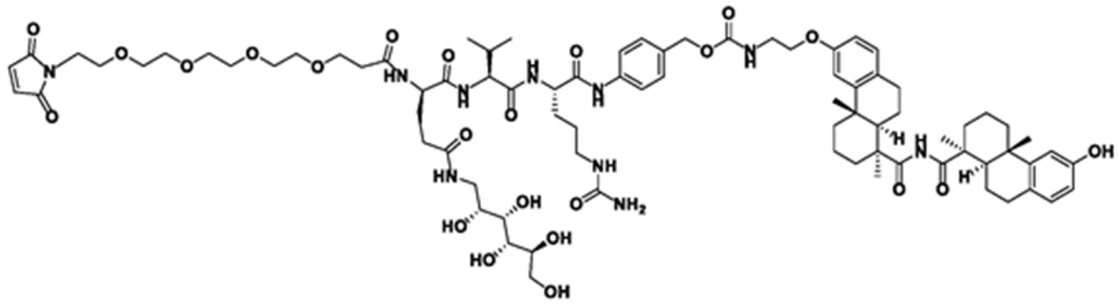
cada A es -O-, -N(H)-,

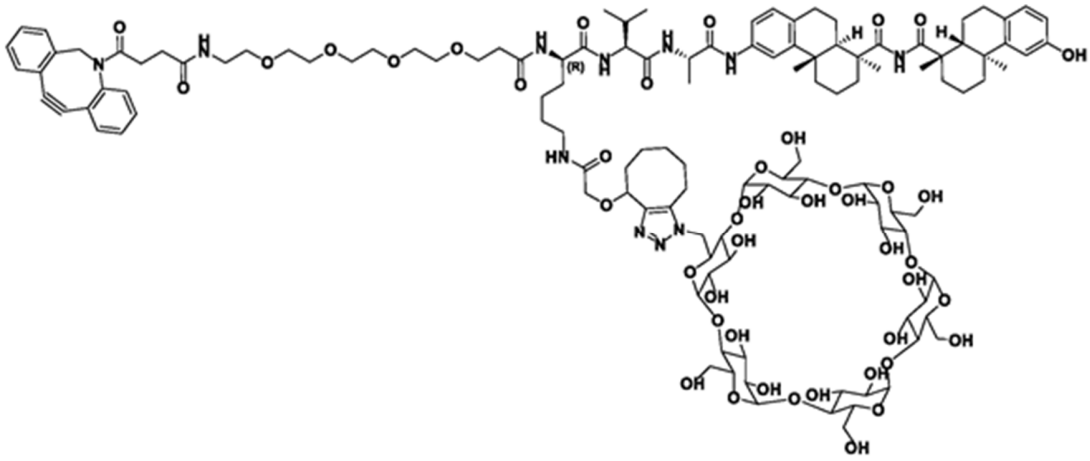


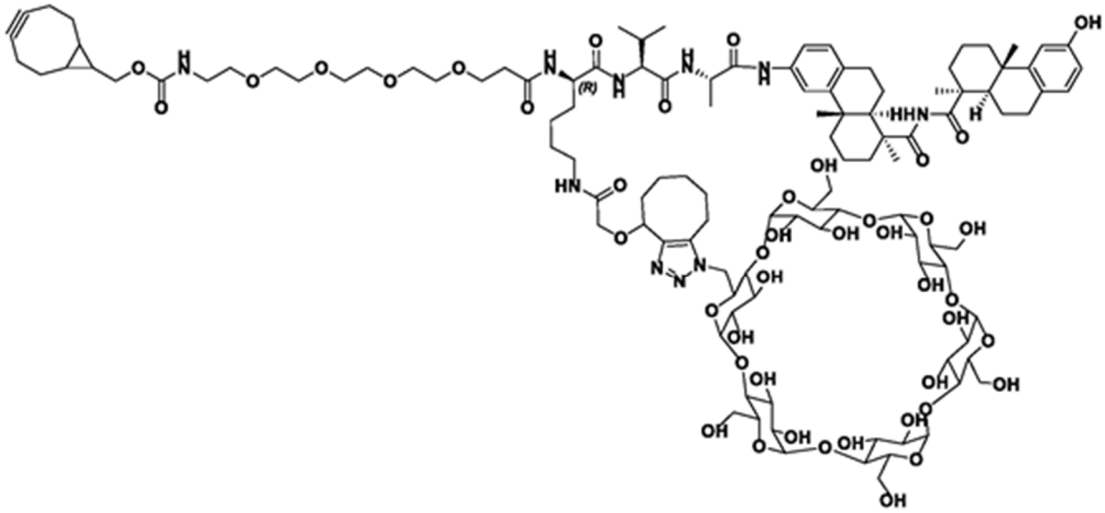
en donde ZZ es hidrógeno, o una cadena lateral para un aminoácido como se discute en otra parte del presente documento. Por ejemplo, en una modalidad, ZZ es alquilo de C1-6. A modo de ejemplo adicional, en una modalidad, ZZ es heteroalquilo de C1-6.

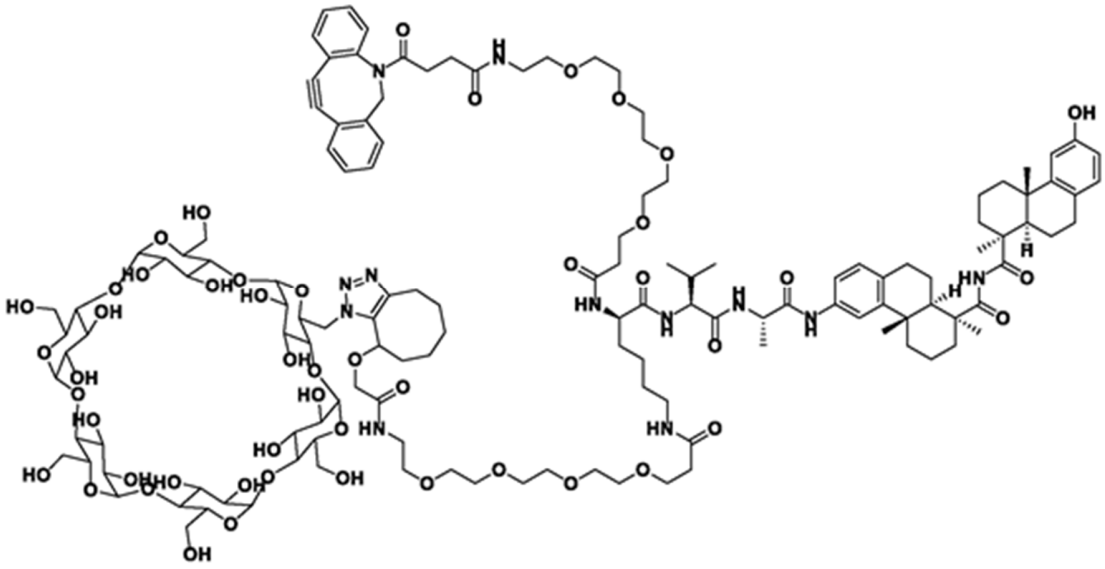
En ciertas modalidades, R es R1.

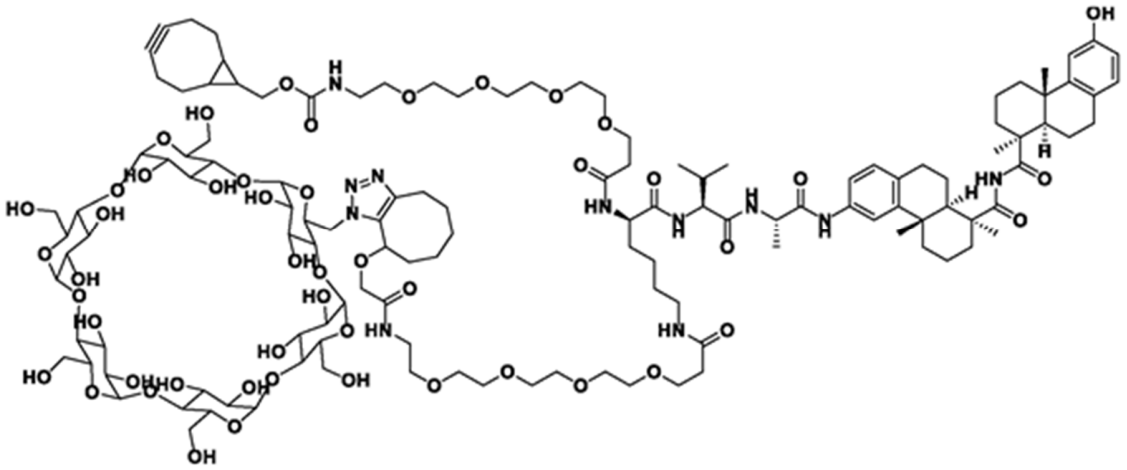
[00191] En algunas modalidades, el enlazador-carga útil reactivo se selecciona de:

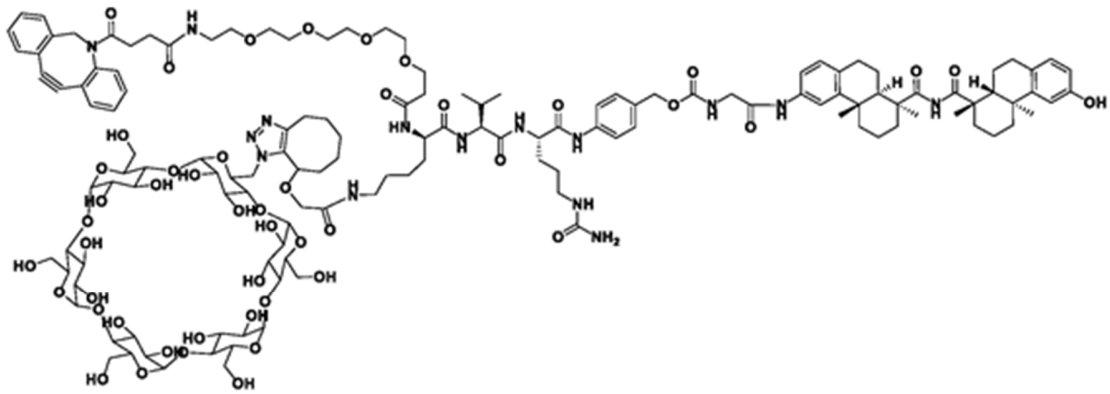


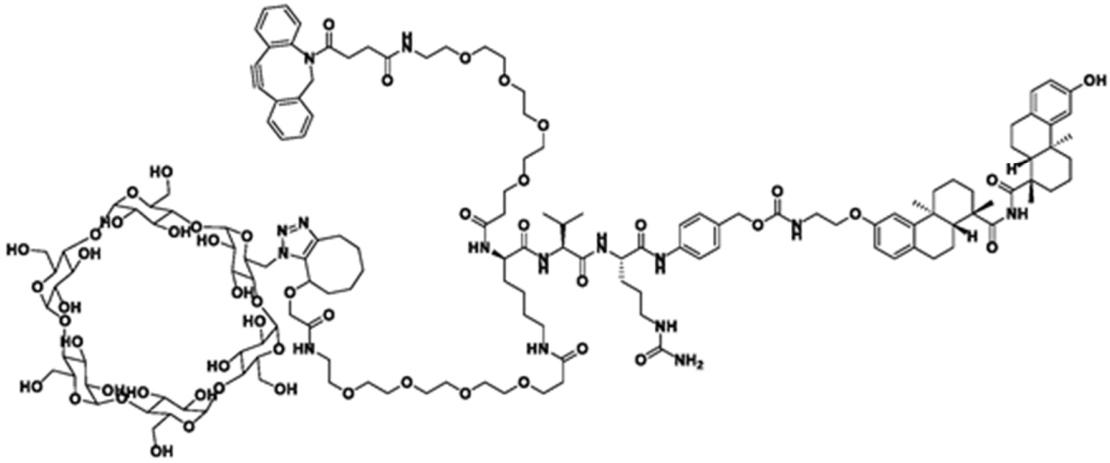


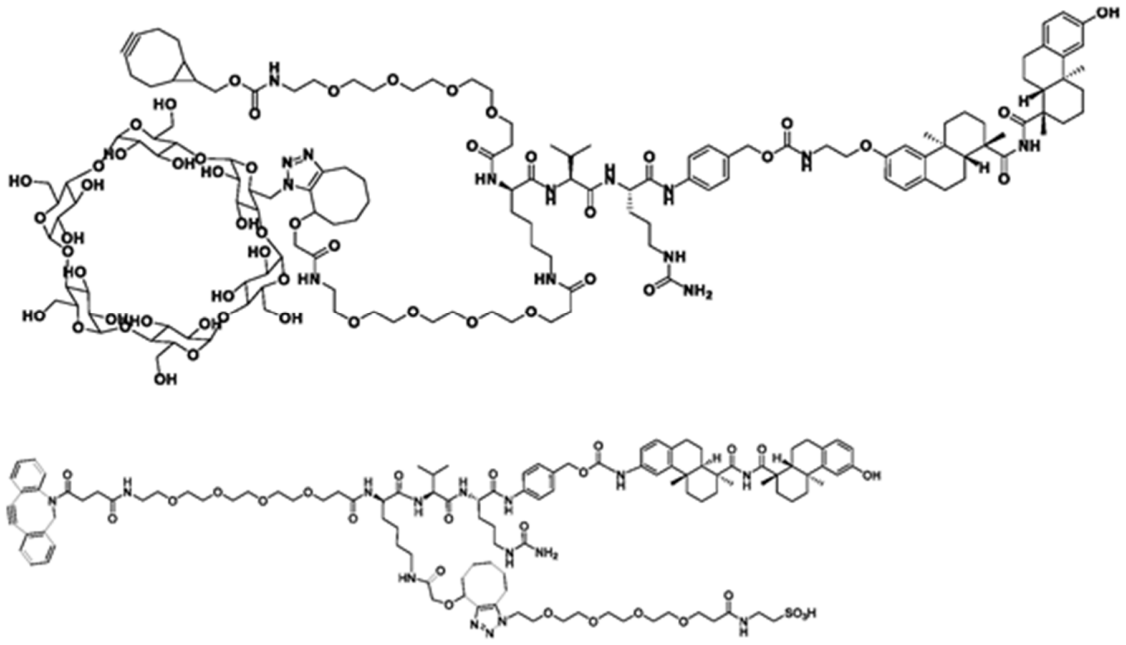


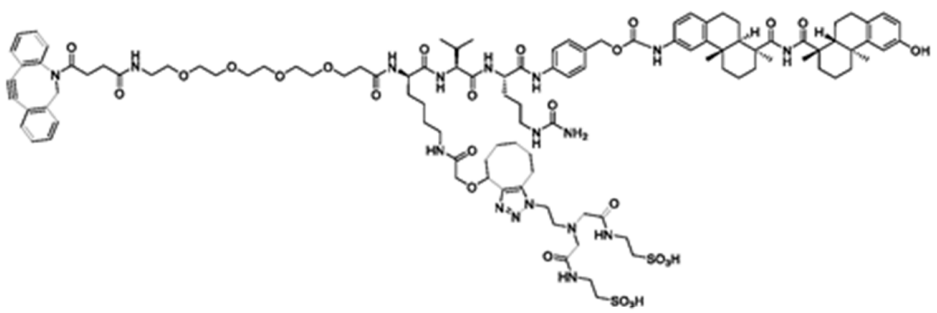


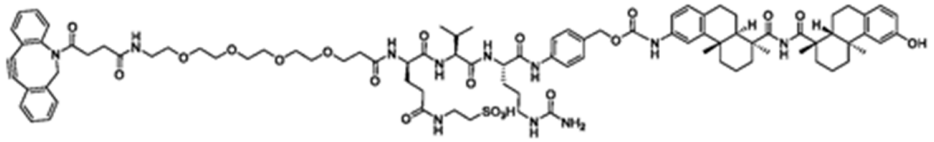


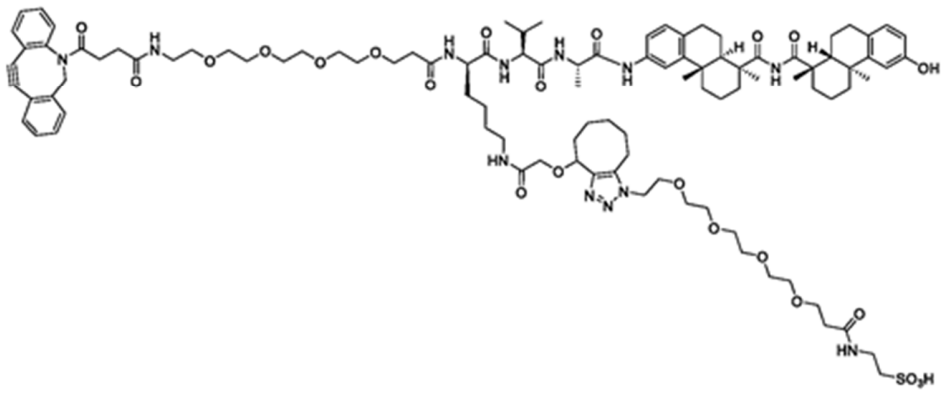


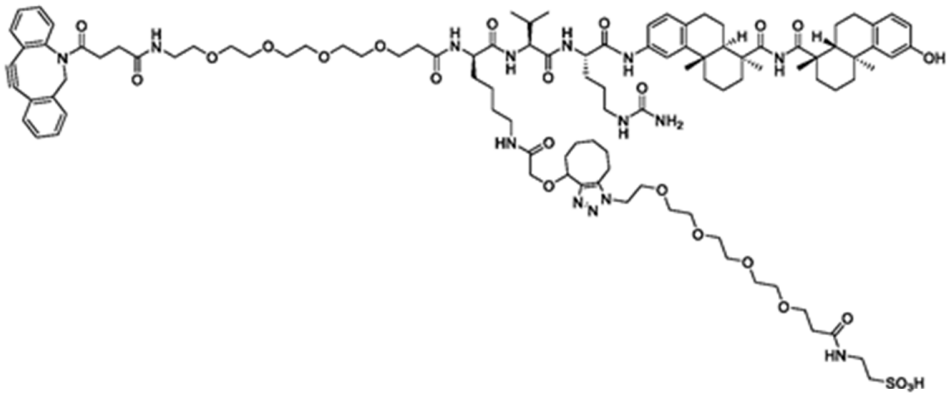


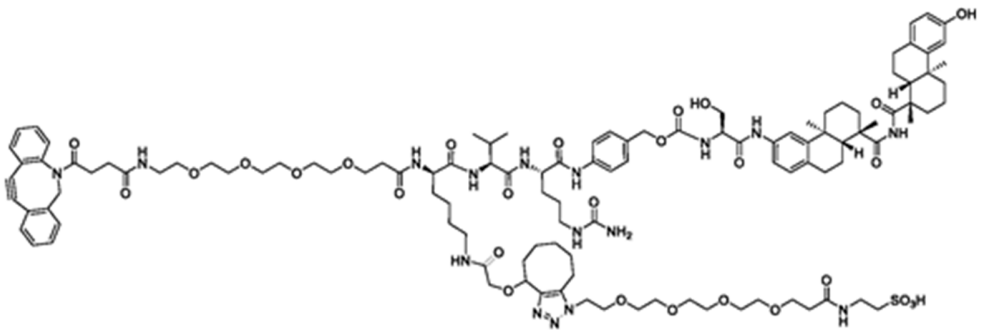


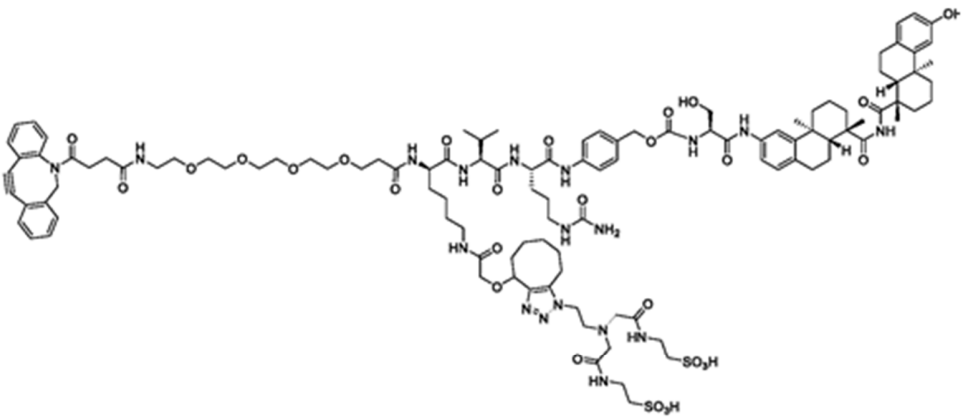


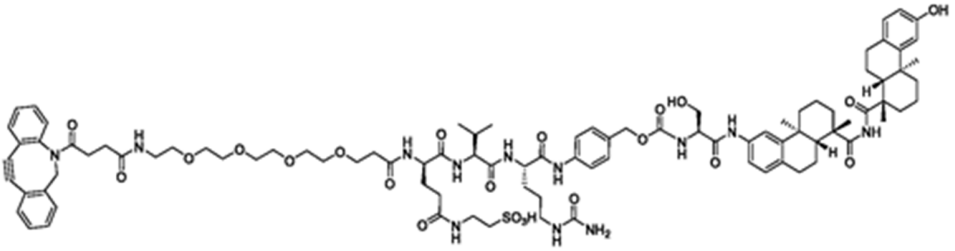


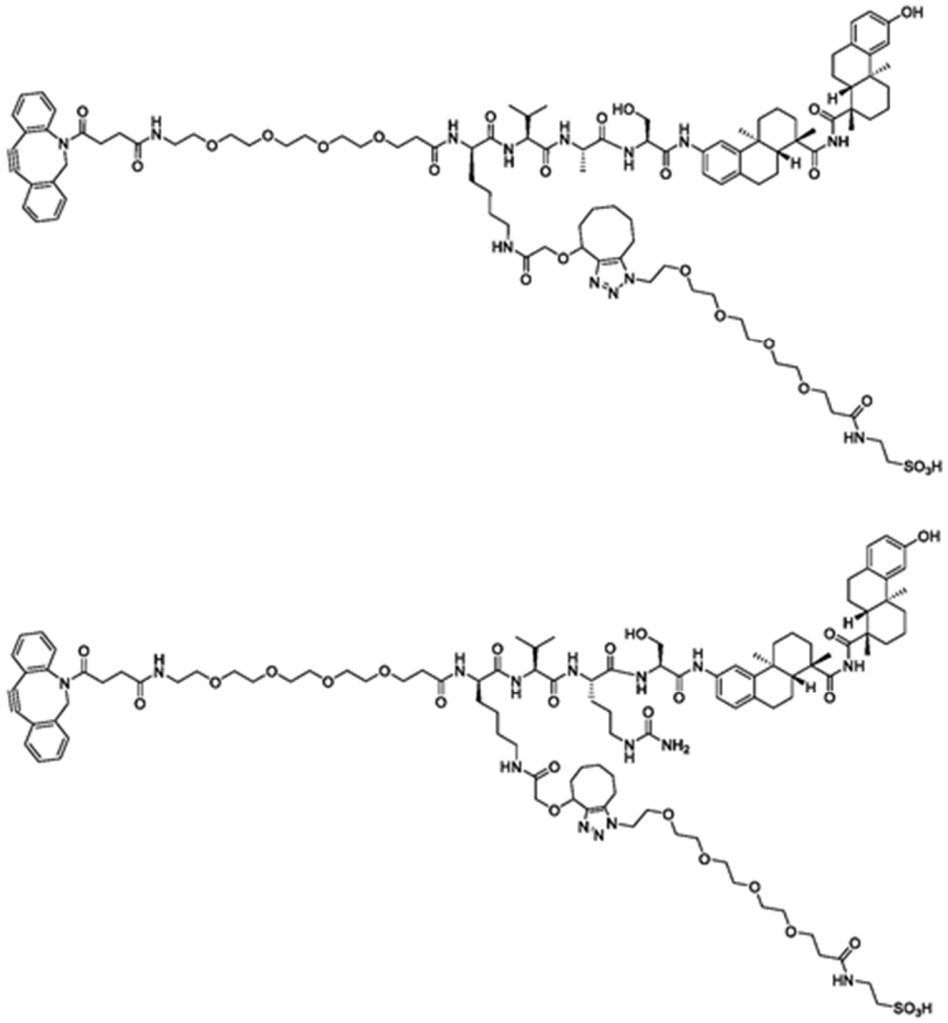










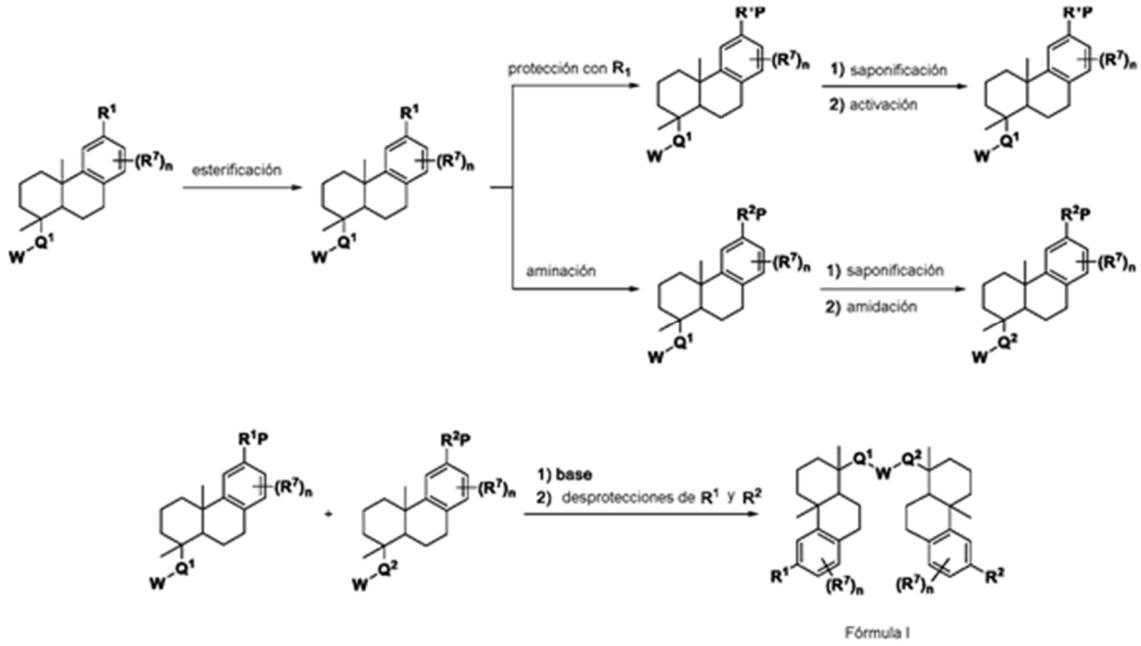


o un regioisómero, o forma estereoisomérica, sal, solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Métodos de preparación de compuestos

[00192] Los compuestos proporcionados en el presente documento pueden prepararse, aislarse u obtenerse mediante cualquier método aparente para los expertos en la materia. Métodos ejemplares de preparación se describen en detalle en los ejemplos a continuación. En ciertas modalidades, los compuestos proporcionados en el presente documento pueden prepararse de acuerdo con el Esquema A:

Esquema A. Esquema de preparación ejemplar



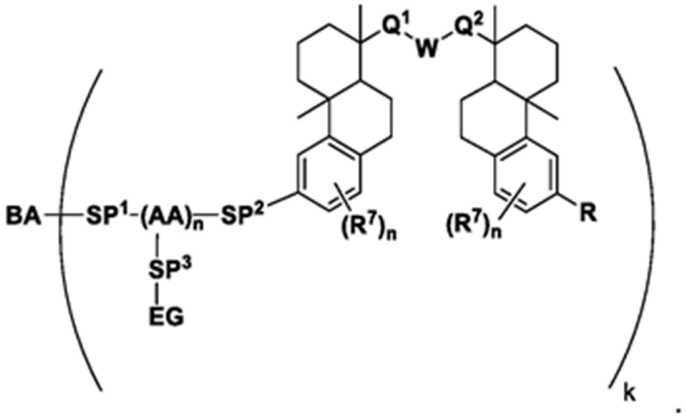
Fórmula I

[00193] En el esquema de preparación ejemplar, Q1, Q2, R1, R2, R7, W, y n se definen como se describe en el contexto de la fórmula (I). La esterificación inicial es seguida por la protección de R1 y/o la aminación de R1 para obtener R2P. Después de la protección de R1, una saponificación y activación de, por ejemplo, un resto de ácido carboxílico proporciona un primer compañero de acoplamiento que tiene Q1. Después de la aminación, saponificación y amidación de, por ejemplo, un resto de ácido carboxílico, proporciona un segundo compañero de acoplamiento que tiene Q2. La unificación de los socios de acoplamiento que tienen Q1 y Q2, respectivamente, seguido de desprotecciones de R1 y R2, respectivamente, proporciona compuestos de la Fórmula I. Ejemplos de métodos de preparación se describen en detalle en los Ejemplos más adelante.

[00194] En ciertas modalidades, uno o más pasos de protección o desprotección pueden incluirse en los métodos de preparación descritos en el Esquema A anterior.

[00195] Las cargas útiles del enlazador descritas en este documento pueden sintetizarse mediante una serie de etapas de acoplamiento.

Por ejemplo, la carga útil en el lado derecho se puede vincular a SP2 a través



de una o más reacciones de acoplamiento estándar. En modalidadesadecuadas, los compuestos de carga útil descritos en el presente documento incluyen grupos amino libres disponibles para el acoplamiento mediante condiciones de síntesis de amida, descritas en el presente documento. Los aminoácidos de (AA)n pueden agregarse mediante condiciones de síntesis de amida, por ejemplo, condiciones de síntesis de péptidos. El separadorSP2 puede unirse a (AA)n mediante una o más reacciones de acoplamiento estándar. En modalidadesadecuadas, los grupos SP2 y (AA)n descritos en el presente documento incluyen grupos amino o carboxilo libres disponibles para el acoplamiento mediante condiciones de síntesis de amida, descritas en el presente documento. Cuando está presente, el separadorSP3 puede unirse a (AA)n mediante una o más reacciones de acoplamiento estándar. En modalidadesadecuadas, los grupos SP3 y (AA)n descritos en el presente documento incluyen grupos amino o carboxilo libres disponibles para el acoplamiento mediante condiciones de síntesis de amida, descritas en el presente documento.

[00196] El separadorSP3, cuando está presente, termina con un grupo reactivo RG. Este grupo reactivo se puede unir al agente potenciadorEG a través de condiciones de acoplamiento consideradas adecuadas para los expertos en la materia. En ciertas modalidades, el separadorSP3 está unido al agente potenciador EG a través de condiciones de síntesis de amida. En ciertas modalidades, el separadorSP3 está enlazado al agente potenciadorEG a través de química de click. En estas modalidades, el separadorSP3 termina con un grupo reactivo adecuado para una reacción de clic, por ejemplo, una azida o un alquino, y el agente potenciador EG comprende un grupo reactivo complementario adecuado para una reacción de clic, por ejemplo, un alquino o una azida. En modalidades preferidas, SP3 termina con un alquino tensado y EG comprende una azida; o SP3 termina

con un ácido carboxílico y EG comprende una amina. Cuando EG es un resto de ciclodextrina, la ciclodextrina puede comprender una azida. Las ciclodextrinas de azido pueden prepararse sintéticamente u obtenerse de fuentes comerciales. Cuando EG es un resto de ácido sulfónico, uno o varios extremos del EG terminan con un grupo o grupos de ácido sulfónico, y el otro extremo termina con una amina primaria o secundaria.

[00197] Los conjugados descritos en el presente documento pueden sintetizarse acoplando el enlazador-carga útil reactivo descrito en el presente documento con un agente de unión, por ejemplo, un anticuerpo en condiciones de conjugación estándar (véase, por ejemplo, Doroninaet al.NatureBiotechnology2003, 21, 7, 778, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad). Cuando el agente de unión es un anticuerpo, el anticuerpo se puede acoplar a un enlazador-carga útil a través de uno o más residuos de cisteína o lisina del anticuerpo. Los enlazadores-cargas útiles se pueden acoplar a residuos de cisteína, por ejemplo, sometiendo el anticuerpo a un agente reductor, por ejemplo, ditioteritol, para escindir los enlaces disulfuro del anticuerpo, purificando el anticuerpo reducido, por ejemplo, por filtración en gel, y posteriormente tratar el anticuerpo con un enlazador-carga útil que contiene un resto reactivo adecuado, por ejemplo, un grupo maleimido. Los solventes adecuados incluyen, pero no se limitan a agua, DMA, DMF y DMSO. Los enlazadores-cargas útiles que contienen un grupo reactivo, por ejemplo, un éster activado o un grupo haluro de ácido, se pueden acoplar a los residuos de lisina del anticuerpo. Los solventes adecuados incluyen, pero no se limitan a agua, DMA, DMF y DMSO. Los conjugados se pueden purificar usando técnicas de proteínas conocidas, que incluyen, por ejemplo, cromatografía de exclusión por tamaño, diálisis y ultrafiltración/diafiltración.

[00198] Los agentes de unión, por ejemplo anticuerpos, también pueden conjugarse mediante reacciones químicas de click. En algunas modalidades de dichas reacciones químicas de click, el enlazador-carga útil incluye un grupo reactivo, por ejemplo un alquino, que es capaz de experimentar una reacción de 1,3-cicloadición con una azida. Dichos grupos reactivos adecuados se describen anteriormente. El anticuerpo incluye uno o más grupos azida. Dichos anticuerpos incluyen anticuerpos funcionalizados con, por ejemplo, grupos azido-polietilenglicol. En ciertas modalidades, dicho anticuerpo funcionalizado se deriva tratando un anticuerpo que tiene al menos un residuo de glutamina, por ejemplo, Gln295 o Gln55 de cadena pesada, con un compuesto de amina primaria en presencia de la enzima transglutaminasa. En ciertas modalidades, dicho anticuerpo funcionalizado se deriva tratando un anticuerpo que tiene al menos un residuo de glutamina, por ejemplo,

Gln297 de cadena pesada, con un compuesto de amina primaria en presencia de la enzima transglutaminasa. Dichos anticuerpos incluyen mutantes Asn297Gln (N297Q). En ciertas modalidades, dicho anticuerpo funcionalizado se obtiene tratando un anticuerpo que tiene al menos dos residuos de glutamina, por ejemplo, Gln295 de cadena pesada y Gln297 de cadena pesada, con un compuesto de amina primaria en presencia de la enzima transglutaminasa. Dichos anticuerpos incluyen mutantes Asn297Gln (N297Q). En ciertas modalidades, el anticuerpo tiene dos cadenas pesadas como se describe en este párrafo para un total de dos o un total de cuatro residuos de glutamina.

[00199] En ciertas modalidades, el anticuerpo comprende un residuo de glutamina en una o más posiciones de la cadena pesada numeradas 295 en el sistema de numeración de la UE. En la presente invención, esta posición se denomina glutamina 295, o Gln295, o Q295. Los expertos reconocerán que este es un residuo de glutamina conservado en la secuencia de tipo salvaje de muchos anticuerpos. En otras modalidades útiles, el anticuerpo se puede diseñar para comprender un residuo de glutamina. Las técnicas para modificar una secuencia de anticuerpos para incluir un residuo de glutamina están dentro de la habilidad de los expertos en la técnica (ver, por ejemplo, Ausubel et al.CurrentProtoc. Mol. Biol.).

[00200] En ciertas modalidades, el anticuerpo comprende dos residuos de glutamina, uno en cada cadena pesada. En modalidades particulares, el anticuerpo comprende un residuo Q295 en cada cadena pesada. En modalidades adicionales, el anticuerpo comprende uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o más residuos de glutamina. Estos residuos de glutamina pueden estar en cadenas pesadas, cadenas ligeras o en cadenas pesadas y cadenas ligeras. Ejemplos de residuos de glutamina incluyen Q55. Estos residuos de glutamina pueden ser residuos de tipo salvaje o residuos modificados genéticamente. Los anticuerpos pueden prepararse de acuerdo con técnicas estándar.

[00201] Los expertos reconocerán que los anticuerpos a menudo están glicosilados en el residuo N297, cerca del residuo Q295 en una secuencia de cadena pesada. La glucosilación en el residuo N297 puede interferir con una transglutaminasa en el residuo Q295 (Dennleret al., citado anteriormente). Por consiguiente, en modalidadesadecuadas, el anticuerpo no está glicosilado. En ciertas modalidades, el anticuerpo está desglicosilado o aglicosilado. En modalidades particulares, una cadena pesada de anticuerpo tiene una mutación N297. Como alternativa, el anticuerpo está mutado para que ya no tenga un residuo de asparagina en la posición 297. En modalidades particulares, una cadena pesada

de anticuerpo tiene una mutación N297Q. Dicho anticuerpo puede prepararse mediante mutagénesis dirigida al sitio para eliminar o deshabilitar una secuencia de glucosilación o mediante mutagénesis dirigida al sitio para insertar un residuo de glutamina en un sitio sin provocar la función o unión del anticuerpo deshabilitado. En algunas modalidades, un anticuerpo que tiene un residuo Q295 y/o una mutación N297Q contiene uno o más residuos de glutamina naturales adicionales en sus regiones variables, que pueden ser accesibles para la transglutaminasa y, por lo tanto, capaces de conjugarse con un enlazador o una enlazador-carga útil. Se puede encontrar un residuo de glutamina natural ejemplar, por ejemplo, en Q55 de la cadena ligera. En tales casos, el anticuerpo conjugado a través de la transglutaminasa puede tener un valor DAR más alto de lo esperado (por ejemplo, un DAR mayor que 4). Cualquiera de estos anticuerpos puede aislarse de fuentes naturales o artificiales.

[00202] El anticuerpo sin interferir en la glucosilación se hace reaccionar luego con un compuesto de amina primaria. En ciertas modalidades, un anticuerpo aglicosilado se hace reaccionar con un compuesto de amina primaria para producir un anticuerpo modificado con glutaminilo. En ciertas modalidades, un anticuerpo desglicosilado se hace reaccionar con un compuesto de amina primaria para producir un anticuerpo modificado con glutaminilo.

[00203] La amina primaria puede ser cualquier amina primaria que sea capaz de formar un enlace covalente con un residuo de glutamina en presencia de una transglutaminasa. Las aminas primarias útiles se describen a continuación. La transglutaminasa puede ser cualquier transglutaminasa que los expertos en la materia consideren adecuada. En ciertas modalidades, la transglutaminasa es una enzima que cataliza la formación de un enlace isopeptídico entre un grupo amina libre en el compuesto de amina primaria y el grupo acilo en la cadena lateral de un residuo de glutamina. La transglutaminasa también se conoce como proteína-glutamina-γ-glutamiltransferasa. En modalidades particulares, la transglutaminasa se clasifica como EC 2.3.2.13. La transglutaminasa puede ser de cualquier fuente que se considere adecuada. En ciertas modalidades, la transglutaminasa es microbiana. Se han aislado transglutaminasas útiles de Streptomycesmobaraense, Streptomycescinnamoneum, Streptomyces griseo-carneum, Streptomyceslavendulae y Bacillus subtilis. También se pueden usar transglutaminasas no microbianas, incluidas las transglutaminasas de mamíferos. En ciertas modalidades, la transglutaminasa puede producirse por cualquier técnica u obtenerse de cualquier fuente

considerada adecuada por el profesional experto. En modalidades particulares, la transglutaminasa se obtiene de una fuente comercial.

[00204] En modalidades particulares, el compuesto de amina primaria comprende un grupo reactivo capaz de reacción adicional después de la transglutaminación. En estas modalidades, el anticuerpo modificado con glutaminilo se puede hacer reaccionar o tratar con un compuesto reactivo de carga útil o un compuesto enlazador-carga útil reactivo para formar un conjugado anticuerpo-carga útil. En ciertas modalidades, el compuesto de amina primaria comprende una azida.

[00205] En ciertas modalidades, el anticuerpo modificado con glutaminilo se hace reaccionar o se trata con un enlazador reactivo-carga útil para formar un conjugado anticuerpo-carga útil. La reacción puede proceder en condiciones que los expertos en la materia consideren adecuadas. En ciertas modalidades, el anticuerpo modificado con glutaminilo se pone en contacto con el compuesto reactivo de enlace de carga útil en condiciones adecuadas para formar un enlace entre el anticuerpo modificado con glutaminilo y el compuesto de enlazador-carga útil. Las condiciones de reacción adecuadas son bien conocidas por los expertos en la técnica.

[00206] Se proporcionan reacciones ejemplares en los ejemplos a continuación.

Composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento

[00207] En el presente documento se proporcionan métodos para tratar y prevenir enfermedades, afecciones o trastornos que comprenden administrar una cantidad terapéutica o profilácticamente efectiva o uno o más de los compuestos descritos en el presente documento, por ejemplo, uno o más de los compuestos de una fórmula proporcionada en el presente documento. Las enfermedades, trastornos y/o afecciones incluyen, pero no se limitan a, aquellos asociados con los antígenos enumerados aquí.

[00208] Los compuestos descritos en el presente documento pueden administrarse solos o junto con uno o más agentes terapéuticos adicionales. El uno o más agentes terapéuticos adicionales se pueden administrar justo antes, simultáneamente o poco después de la administración de los compuestos descritos en el presente documento. La presente invención también incluye composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento en combinación con uno

o más agentes terapéuticos adicionales, y métodos de tratamiento que comprenden administrar tales combinaciones a sujetos que lo necesiten.

[00209] Los agentes terapéuticos adicionales adecuados incluyen, pero no se limitan a: un segundo glucocorticoide, un agente terapéutico autoinmune, una hormona, un anticuerpo biológico o monoclonal. Los agentes terapéuticos adecuados también incluyen, pero no se limitan a, cualquier sal, ácido o derivado farmacéuticamente aceptable de un compuesto expuesto aquí.

[00210] En algunas modalidades de los métodos descritos en el presente documento, se pueden administrar dosis múltiples de un compuesto descrito en el presente documento (o una composición farmacéutica que comprenda una combinación de un compuesto descrito en el presente documento y cualquiera de los agentes terapéuticos adicionales mencionados en el presente documento) a un sujeto sobre un curso de tiempo definido. Los métodos de acuerdo con este aspecto de la invención comprenden administrar secuencialmente a un sujeto dosis múltiples de un compuesto descrito aquí. Como se usa en este documento, "administrar secuencialmente" significa que cada dosis del compuesto se administra al sujeto en un momento diferente, por ejemplo, en diferentes días separados por un intervalo predeterminado (por ejemplo, horas, días, semanas o meses). La presente invención incluye métodos que comprenden administrar secuencialmente al paciente una dosis inicial única de un compuesto descrito en este documento, seguido de una o más dosis secundarias del compuesto, y opcionalmente seguido de una o más dosis terciarias del compuesto.

[00211] Los términos "dosis inicial", "dosis secundarias" y "dosis terciarias" se refieren a la secuencia temporal de administración de los compuestos descritos en este documento. Por lo tanto, la "dosis inicial" es la dosis que se administra al comienzo del régimen de tratamiento (también conocida como "dosis inicial"); las "dosis secundarias" son las dosis que se administran después de la dosis inicial; y las "dosis terciarias" son las dosis que se administran después de las dosis secundarias. Las dosis iniciales, secundarias y terciarias pueden incluir la misma cantidad que el compuesto descrito aquí, pero generalmente pueden diferir entre sí en términos de frecuencia de administración. En ciertas modalidades, la cantidad del compuesto incluida en las dosis iniciales, secundarias y/o terciarias varía entre sí (por ejemplo, ajustada hacia arriba o hacia abajo según sea apropiado) durante el curso del tratamiento. En ciertas modalidades, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4 o 5) dosis al comienzo del régimen de tratamiento como "dosis de

carga" seguidas de dosis posteriores que se administran con una frecuencia menos frecuente (por ejemplo, "dosis de mantenimiento").

[00212] En ciertas modalidades ejemplares de la presente invención, cada dosis secundaria y/o terciaria se administra de 1 a 26 (por ejemplo, 1, 1½, 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 anterior. La frase "la dosis inmediatamente anterior", como se usa en este documento, significa, en una secuencia de administraciones múltiples, la dosis del compuesto que se administra a un paciente antes de la administración de la siguiente dosis en la secuencia sin dosis intermedias.

[00213] Los métodos de acuerdo con este aspecto de la invención pueden comprender administrar a un paciente cualquier cantidad de dosis secundarias y/o terciarias del compuesto. Por ejemplo, en ciertas modalidades, solo se administra una dosis secundaria única al paciente. En otras modalidades, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis secundarias al paciente. Asimismo, en ciertas modalidades, solo se administra una dosis terciaria única al paciente. En otras modalidades, se administran dos o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis terciarias al paciente. El régimen de administración puede llevarse a cabo indefinidamente durante la vida útil de un sujeto en particular, o hasta que dicho tratamiento ya no sea terapéuticamente necesario o adecuado.

[00214] En modalidades que implican varias dosis secundarias, cada dosis secundaria puede administrarse con la misma frecuencia que las otras dosis secundarias. Por ejemplo, cada dosis secundaria puede administrarse al paciente 1 a 2 semanas o 1 a 2 meses después de la dosis inmediatamente anterior. De forma similar, en modalidades que impliquen varias dosis terciarias, cada dosis terciaria puede administrarse con la misma frecuencia que las otras dosis terciarias. Por ejemplo, cada dosis terciaria puede administrarse al paciente 2 a 12 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. En ciertas modalidades de la invención, la frecuencia a la que se administren las dosis secundarias y/o terciarias a un paciente puede variar durante el transcurso del régimen de tratamiento. La frecuencia de administración también puede ser ajustada durante el curso del tratamiento por un médico dependiendo de las necesidades del paciente individual después del examen clínico.

[00215] La presente invención incluye regímenes de administración en los que se administran de 2 a 6 dosis de carga 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 al mes, una vez cada dos meses, etc.), seguido de la administración de dos o más dosis de mantenimiento al paciente con menos frecuencia. Por ejemplo, de acuerdo con este aspecto de la invención, si las dosis de carga se administran con una frecuencia de una vez al mes, las dosis de mantenimiento se pueden administrar al paciente una vez cada seis semanas, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, etc.

[00216] La presente invención incluye composiciones farmacéuticas de los compuestos y/o conjugados descritos aquí, por ejemplo, los compuestos de la Fórmula I, Ia, Ib A, Aa o Ab, por ejemplo, composiciones que comprenden un compuesto descrito aquí, una sal, estereoisómero, polimorfo del mismo y un portador, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. Ejemplos deportadores, diluyentes y excipientes adecuados incluyen, pero no se limitan a, reguladores de pH para mantener el pH de la composición adecuada (por ejemplo, reguladores de pH de citrato, reguladores de pH de succinato, reguladores de pH de acetato, reguladores de pH de fosfato, reguladores de pH de lactato, reguladores de pH de oxalato y similares), proteínas portadoras (por ejemplo, albúmina sérica humana), solución salina, polioles (por ejemplo, trehalosa, sacarosa, xilitol, sorbitol y similares), tensioactivos (por ejemplo, polisorbato 20, polisorbato 80, polioxolato y similares), antimicrobianos y antioxidantes.

[00217] En algunos ejemplos, se expone en el presente documento un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección que comprende administrar a un paciente que tiene dicho trastorno una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula I, Ia, Ib A, Aa o Ab o una composición farmacéutica del mismo.

[00218] En algunos ejemplos, se expone aquí un método para prevenir una enfermedad, trastorno o afección que comprende administrar a un paciente que tiene dicho trastorno una cantidad profilácticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula I, Ia, Ib A, Aa o Ab o una composición farmacéutica del mismo.

[00219] En algunos ejemplos, se exponen en el presente documento métodos para tratar o prevenir cualquier enfermedad, trastorno o afección que responda a la modulación de la señalización de LXR. En algunos ejemplos, la enfermedad o trastorno está asociado con la función de LXR, los polimorfismos de LXR, la actividad agonista de LXR o la actividad

antagonista de LXR. En algunos ejemplos, se expone aquí un método para tratar o prevenir una enfermedad, trastorno o afección seleccionada del grupo que consiste en un trastorno proliferativo, un trastorno neurodegenerativo, un trastorno inmunológico, una enfermedad autoinmune, un trastorno inflamatorio, una enfermedad dermatológica, una enfermedad metabólica, enfermedad cardiovascular y una enfermedad gastrointestinal.

[00220] El trastorno proliferativo puede ser cualquier trastorno proliferativo conocido por los expertos. En ciertas modalidades, los trastornos proliferativos incluyen, sin limitación, trastornos oncológicos, en donde el trastorno oncológico puede ser cualquier trastorno canceroso conocido por los expertos. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir un melanoma. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el melanoma metastásico. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el cáncer de pulmón. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el cáncer de pulmón resistente al inhibidor de EGFR-tirosina cinasa. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el cáncer oral. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el carcinoma oral de células escamosas. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el cáncer de próstata. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el linfoma de Hodgkin. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el cáncer de mama.

[00221] El trastorno neurodegenerativo puede ser cualquier trastorno neurodegenerativo conocido por los expertos. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad de Alzheimer. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad de Parkinson. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad de Huntington. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la esclerosis lateral amiotrófica. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la expresión del gen de mielina. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir condiciones, enfermedades o trastornos de mielinización y remielinización.

[00222] El trastorno inmunológico puede ser cualquier trastorno inmunológico conocido por los expertos. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad inflamatoria intestinal. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la colitis ulcerosa. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad de Crohn.

[00223] El trastorno inflamatorio puede ser cualquier trastorno inflamatorio conocido por los expertos. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la artritis. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la artritis reumatoide.

[00224] La enfermedad metabólica puede ser cualquier enfermedad metabólica conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la enfermedad metabólica es la dislipidemia. La dislipidemia puede ser cualquier dislipidemia conocida por los expertos. En ciertas modalidades, la dislipidemia se selecciona del grupo que consiste en hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperlipoproteinemia, deficiencia de HDL, deficiencia de ApoA-I y enfermedad cardiovascular tal como enfermedad de la arteria coronaria (incluyendo, por ejemplo, tratamiento y prevención de angina, infarto de miocardio y muerte súbita cardíaca); aterosclerosis (incluyendo, por ejemplo, tratamiento y prevención de aterosclerosis); y reestenosis(incluyendo, por ejemplo, prevenir o tratar las placas ateroscleróticas que se desarrollan como consecuencia de procedimientos médicos como la angioplastia con balón). En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la diabetes.

[00225] La enfermedad cardiovascular puede ser cualquier enfermedad cardiovascular conocida por los expertos. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la aterosclerosis. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la aterosclerosis derivada del procesamiento anormal de macrófagos. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la aterosclerosis derivada de la formación de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (oxLDLs), en donde los macrófagos no procesan las oxLDLs. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la cardiopatía isquémica. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir un accidente cerebrovascular. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la

enfermedad cardíaca hipertensiva. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir el aneurisma aórtico. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la endocarditis. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la enfermedad arterial periférica. En ciertas modalidades, en este documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir combinaciones de cualquiera de las enfermedades proporcionadas en este párrafo.

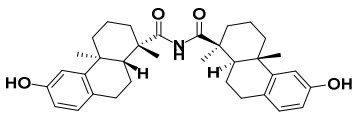
[00226] En algunos ejemplos, se expone aquí un método para modular la función de un receptor nuclear. A modo de ejemplo no limitativo, la función puede seleccionarse de la expresión/secreción de mediadores inflamatorios (por ejemplo, citocinas, quimiocinas), regulación del colesterol, ingesta de colesterol, flujo de colesterol, oxidación del colesterol, migración, quimiotaxis, apoptosis y necrosis, una actividad inflamatoria, regulación de lípidos, apoptosis, migración, quimiotaxis, transcripción génica y expresión de proteínas.

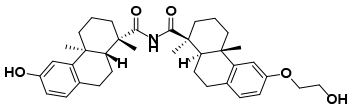
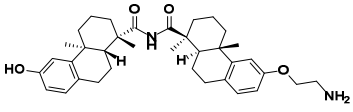
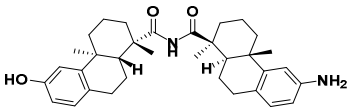
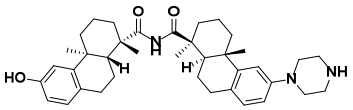
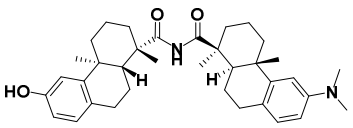
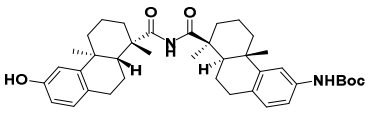
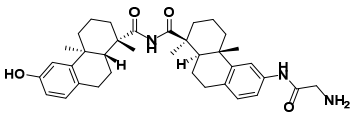
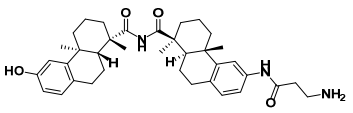
EJEMPLOS

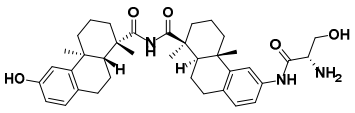
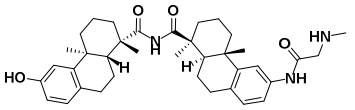
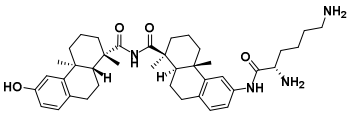
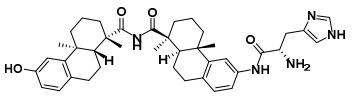
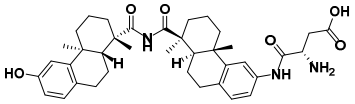
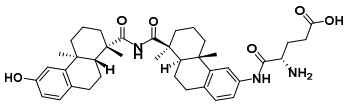
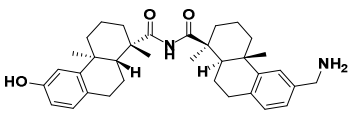
[00227] En el presente documento se proporcionan nuevas bis-octahidrofenantrenocarboxamidas, conjugados de proteínas de las mismas y métodos para tratar enfermedades, trastornos y afecciones que incluyen la administración de bis-octahidrofenantrenocarboxamidas y conjugados.

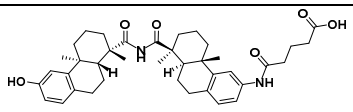
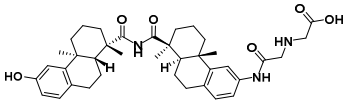
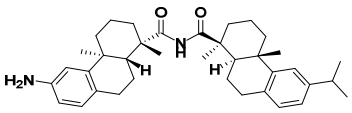
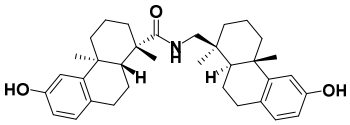
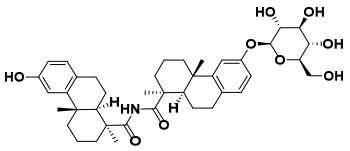
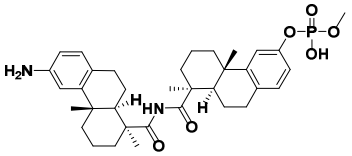
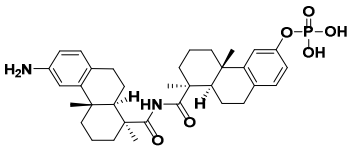
[00228] En algunos ejemplos, el compuesto de la Fórmula (I) es un compuesto identificado en la Tabla 1.

Tabla 1. Lista de cargas útiles

Comp#	**Estructura**	**FM**	**PM**
9a		$C_{34}H_{43}NO_4$	529.71

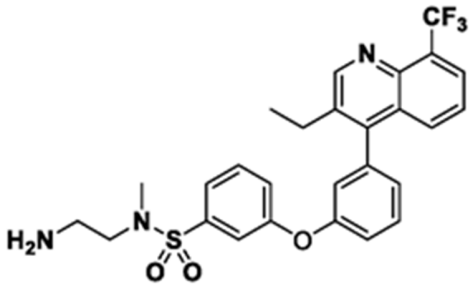
Comp#	Estructura	FM	PM
9b		$C_{36}H_{47}NO_5$	573.76
9c		$C_{36}H_{48}N_2O_4$	695.85
9d		$C_{34}H_{44}N_2O_3$	528.72
9e		$C_{38}H_{51}N_3O_3$	694.85
9f		$C_{36}H_{48}N_2O_3$	556.78
9g		$C_{39}H_{52}N_2O_5$	628.85
9h		$C_{36}H_{47}N_3O_4$	585.78
9i		$C_{37}H_{49}N_3O_4$	599.80
9j		$C_{37}H_{49}N_3O_4$	615.80

Comp#	Estructura	FM	PM
			
9k		$C_{37}H_{49}N_3O_4$	599.37
9l		$C_{40}H_{56}N_4O_4$	656.43
9m		$C_{40}H_{51}N_5O_4$	665.39
9n		$C_{38}H_{49}N_3O_6$	643.81
9o		$C_{39}H_{51}N_3O_6$	657.38
9p		$C_{35}H_{46}N_2O_3$	542.35

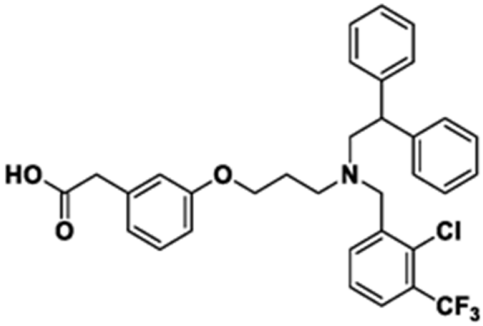
Comp#	Estructura	FM	PM
9q		$C_{39}H_{50}N_2O_6$	642.82
9r		$C_{38}H_{49}N_3O_6$	643.83
9t		$C_{37}H_{50}N_2O_2$	554.81
9u		$C_{34}H_{45}NO_3$	515.73
15b		$C_{40}H_{53}NO_9$	691.85
17b		$C_{34}H_{45}N_2O_6P$	608.70
17c		$C_{35}H_{47}N_2O_6P$	622.73

[00229] Referencias:

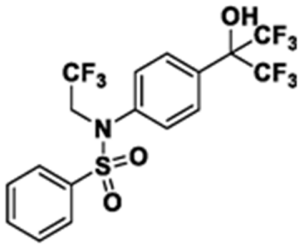
Estructura del compuesto 31



Estructura de GW3965

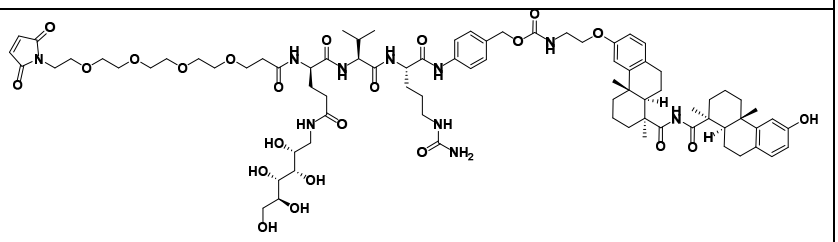
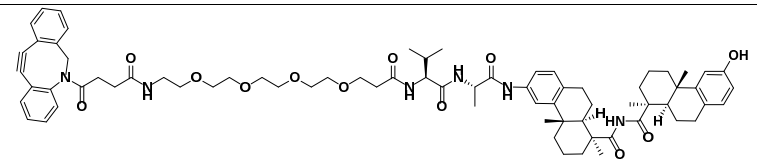
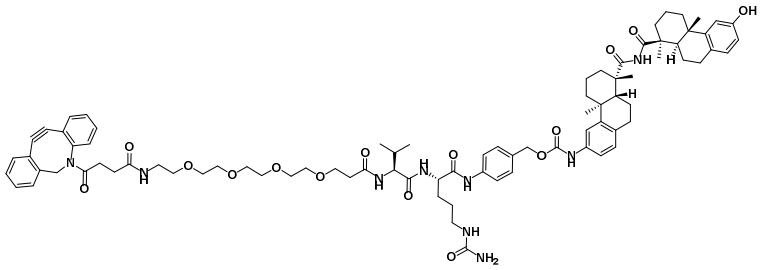
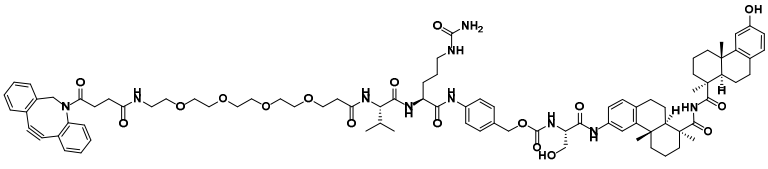
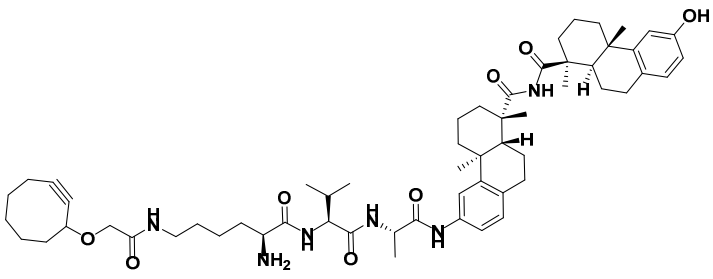


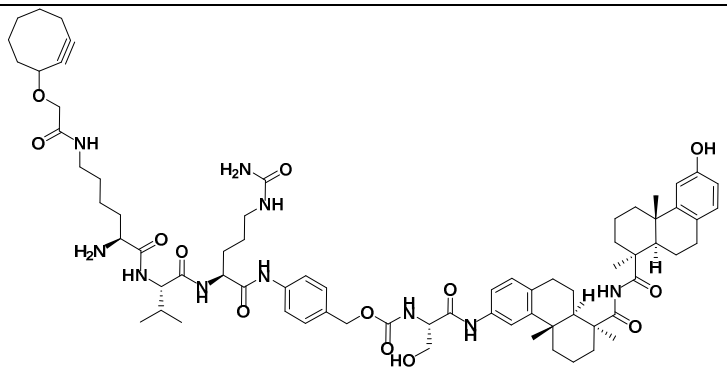
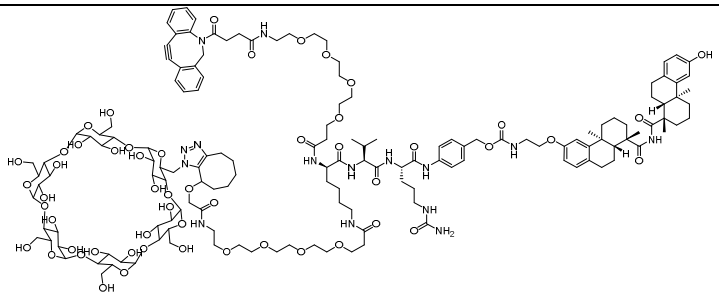
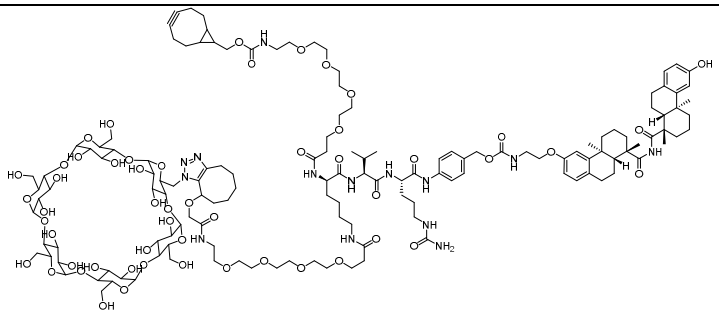
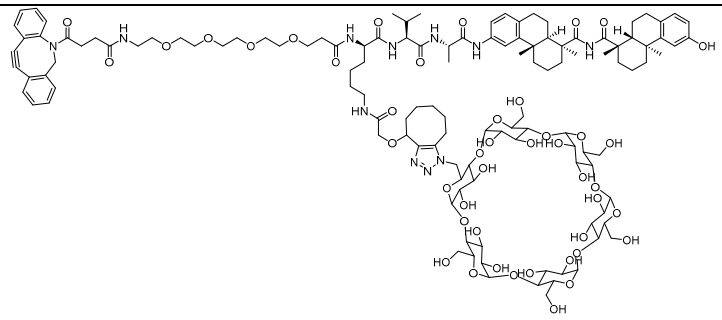
Estructura de T0901317

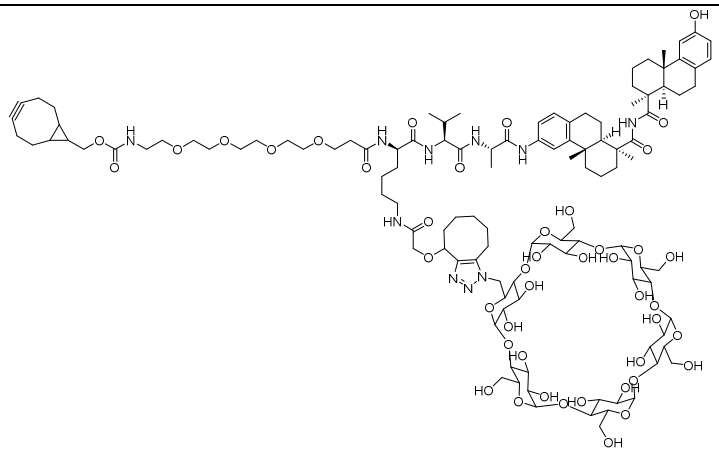
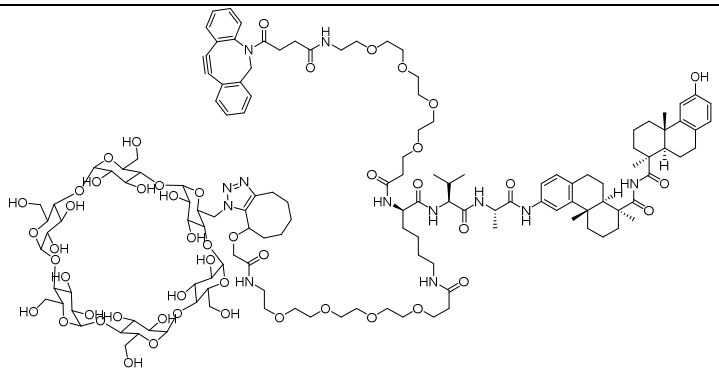
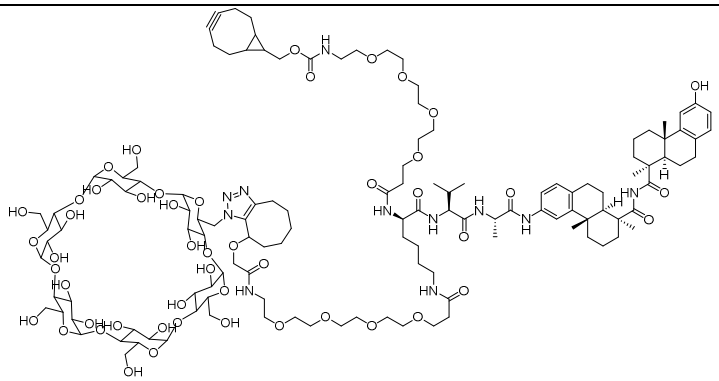


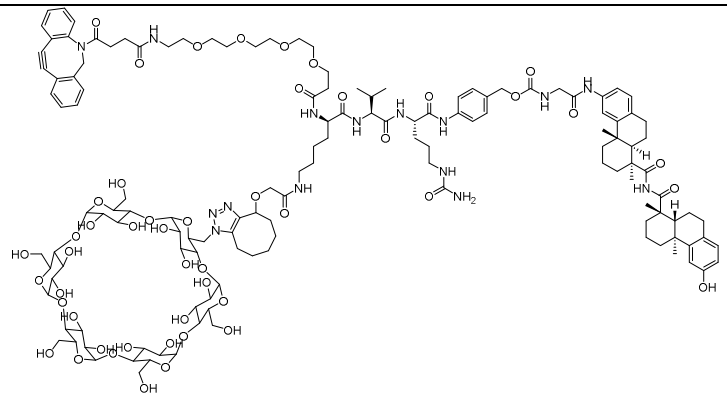
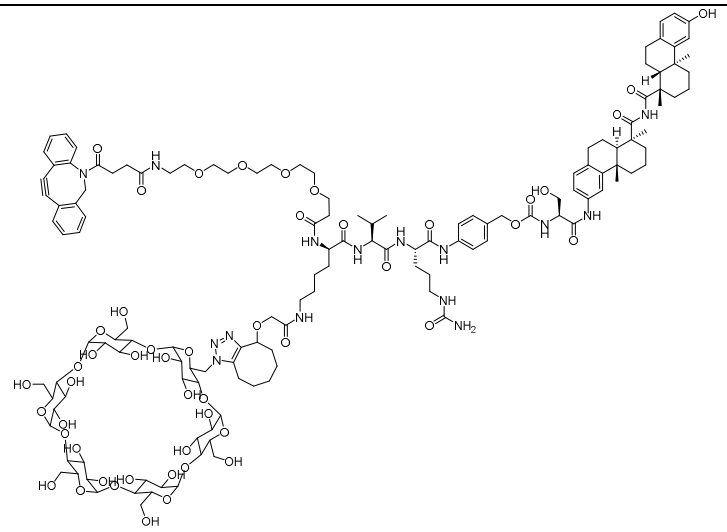
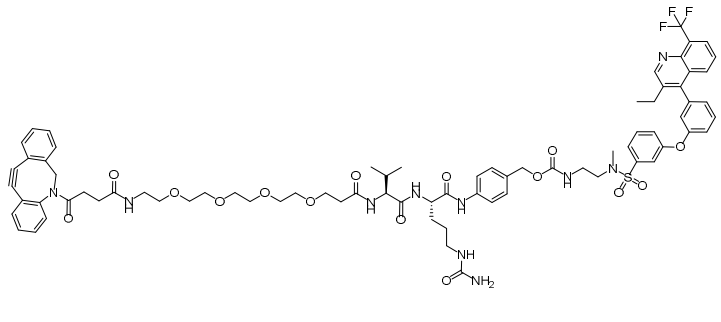
[00230] Ejemplos de enlazadores-cargas útiles de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, los descritos en la Tabla 2 a continuación.

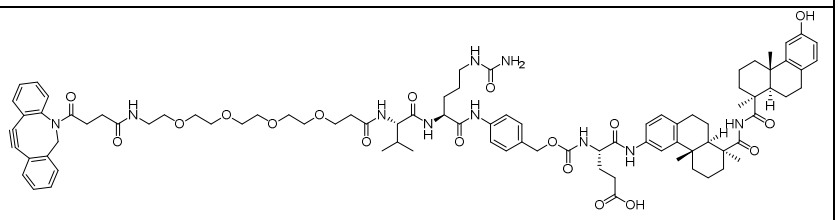
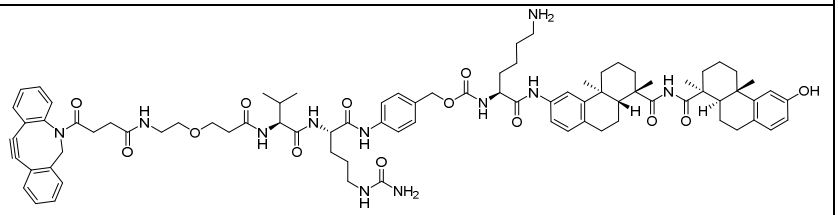
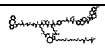
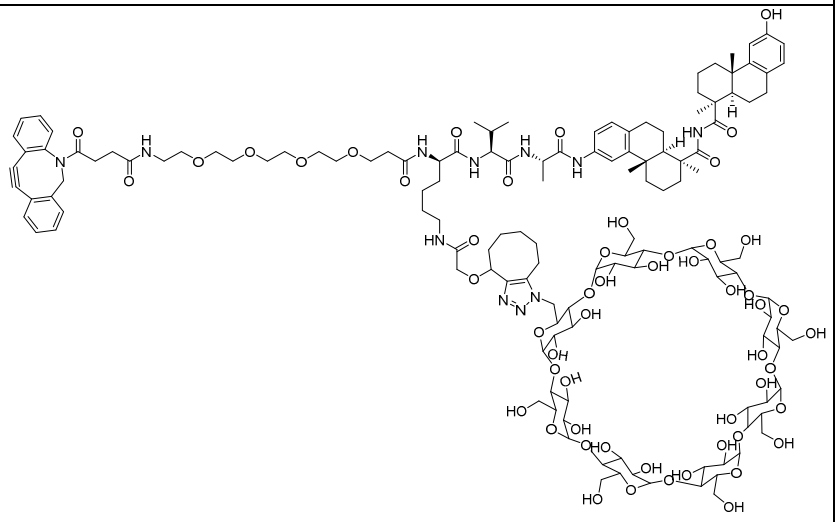
Tabla 2. Lista de enlazadores-cargas útiles

	Comp #	Estructura
LP1	24c	
LP2	22d1	
LP3	22d2	
LP4	22j	
LP5	27d1	

	Comp #	Estructura
LP15	27j	
LP6	29c1	
LP7	29c2	
LP8	29d1	

	Comp #	Estructura
LP9	29d2	
LP10	29d3	
LP11	29d4	

	Comp #	Estructura
LP12	29h	
LP13	29j	
LP14	33	

	Comp #	Estructura
LP39	–	
LP311	–	
LP18	–	
LP36	–	
LP32	–	

[00231] Ciertas modalidades de la invención se ilustran mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

[00232] Los reactivos y solventes se obtuvieron de fuentes comerciales tales como Sinopharm Chemical Reagent Co. (SCRC), Sigma-Aldrich, Alfa u otros proveedores, a menos que se indique explícitamente lo contrario.

[00233] Los espectros de RMN 1H y otros espectros de RMN se registraron en un Bruker AVIII 400 o Bruker AVIII 500. Los datos se procesaron con el software Nuts o el software MestReNova, midiendo los desplazamientos de protones en partes por millón (ppm) campo abajo desde un tetrametilsilano estándar interno (TMS).

[00234] Las mediciones de HPLC-MS se llevaron a cabo en un sistema Agilent 1200 HPLC/6100 SQ usando las siguientes condiciones:

[00235] El método A para mediciones de HPLC-MS incluyó, como la fase móvil: A: agua (0.01% de ácido trifluoroacético (TFA)), B: acetonitrilo (0.01% de TFA); Fase de gradiente: 5% de B aumentó a 95% de B en 15 minutos (min); Velocidad de flujo: 1.0mL/min; Columna: SunFire C18, 4.6x50 mm, 3.5 µm; Temperatura de la columna: 50ºC. Detectores: convertidor analógico a digital (ADC) Detector de dispersión de luz por evaporación (ELSD), detector de matriz de diodos (DAD) (214 nm y 254 nm), ionización por electroaspersión-ionización atmosférica (ES-API).

[00236] El método B para mediciones de HPLC-MS incluyó, como la fase móvil: A: agua (NH4HCO3 10 mM), B: acetonitrilo; Fase de gradiente: 5% a 95% de B en 15 min; Velocidad de flujo: 1.0mL/min; Columna: XBridge C18, 4.6x50 mm, 3.5 µm; Temperatura de la columna: 50ºC. Detectores: ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm), detector de masa selectiva (MSD) (ES-API).

[00237] Se llevaron a cabo mediciones de LC-MS en un sistema Agilent 1200 HPLC/6100 SQ usando las siguientes condiciones:

[00238] El Método A para la medición de LC-MS incluyó, como el Instrumento: WATERS 2767; columna: ShimadzuShim-Pack, PRC-ODS, 20x250 mm, 15 µm, dos conectados en serie; Fase móvil: A: agua (0.01% TFA), B: acetonitrilo (0.01% TFA); Fase de gradiente: 5% de B aumentó a 95% de B en 3 min; Velocidad de flujo: 1.8-2.3 mL/min; Columna: SunFire C18, 4.6x50 mm, 3.5 µm; Temperatura de la columna: 50ºC. Detectores: ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm), ES-API.

[00239] El Método B para la medición de LC-MS incluyó, como el Instrumento: Gilson GX-281; columna: XbridgePrep C18 10 um OBD, 19x250 mm; Fase móvil: A: agua

(NH4HCO3 10 mM), B: acetonitrilo; Fase de gradiente: 5% a 95% de B en 3 min; Velocidad de flujo: 1.8-2.3 mL/min; Columna: XBridge C18, 4.6x50 mm, 3.5 µm; Temperatura de la columna: 50ºC. Detectores: ADC ELSD, DAD (214 nm y 254 nm), MSD (ES-API).

[00240] La cromatografía líquida preparativa de alta presión (Prep-HPLC) en un sistema de solvente ácido o básico se usó en un instrumento Gilson GX-281. El sistema de solvente ácido usó una columna Waters SunFire C18 de 10 µm (100 Å, 250x19 mm), y el solvente A para HPLC preparativo fue agua/TFA al 0.05% y el solvente B fue acetonitrilo. Las condiciones de elución fueron un aumento de gradiente lineal del solvente B de 5% a100% durante un período de tiempo de 20 min a una velocidad de flujo de 30 mL/min. El sistema solvente básico incluía una columna Waters Xbridge 10 µm C18 (100 Å, 250x19 mm), y el solvente A usado para la HPLC preparativa era agua/bicarbonato de amonio 10 mM (NH4HCO3) y el solvente B era acetonitrilo. Las condiciones de elución fueron un aumento de gradiente lineal del solvente B de 5% a 100% durante un período de tiempo de 20 min a una velocidad de flujo de 30 mL/min.

[00241] La cromatografía instantánea se llevó a cabo en un instrumento Biotage, con cartuchos de sílice-CS para columnaAgela Flash; la cromatografía instantánea de fase inversa se llevó a cabo en un instrumento Biotage, con cartuchos Boston ODS o Agela C18.

[00242] Según se usa en el presente documento, los símbolos y convenciones usados en estos procesos, esquemas y ejemplos, independientemente de si una abreviatura particular se define específicamente, son consistentes con los usados en la literatura científica contemporánea, por ejemplo, el Journal of the American Chemical Society o el Journal of BiologicalChemistry. Específicamente, pero sin limitación, se pueden usar las siguientes abreviaturas en los Ejemplos y en toda la descripción:

Abreviatura	**Término**
ADC	Conjugadoanticuerpo-fármaco
Anticuerpoaglicosilado	El anticuerpo no tiene ningún glucano
API	Ionización a presiónatmosférica
ac	Acuoso
Boc	N-terc-butoxicarbonilo

Abreviatura	Término
BupH™	ThermoScientificProd # 28372, que contiene fosfato de sodio 100 mM y cloruro de sodio 150 mM, libre de potasio, el pH se ajustó de 7.2 a 7.6-7.8 MQ, a menos que se indique lo contrario.
CD	Ciclodextrina
COT	Ciclooctinol
Da	Dalton
DAD	Detector de red de diodos
DAR	Proporción de fármaco a anticuerpo
DCM	Diclorometano
DIBAC	11,12-dideshidro-5,6-dihidro-Dibenz[b,f]azocina
DIBAC-Suc	11,12-dideshidro-5,6-dihidro-Dibenz[b,f]azocina ácido succinámico
DIBAC-Suc-PEG4-VC-pAB-PNP	4-nitrofenilcarbonato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexano-10-y-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo
DIBACT	3H-Benzo[c]-1,2,3-triazolo[4,5-e][1]benzazocina, 8,9-dihidro-
DIPEA	Diisopropiletilamina
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	Sulfóxido de dimetilo
EC	Comisión de enzimas
ELSD	Detector evaporativo de dispersión de luz

Abreviatura	Término
ESI	Ionización por electroaspersión
Fmoc	N-(9-fluorenilmetiloxicarbonilo)
Fmoc-vcPAB-PNP	N-Fmoc-L-valina-L-citrulina-alcohol p-aminobencílico carbonato de p-nitrofenilo
g	Gramo
HATU	2-(7-Aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-hexafluorofosfato de tetrametiluronio
HC	Cadena pesada de inmunoglobulina
HEK	Riñónembrionariohumano (células)
HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
hr, h, o hrs	Horas
LC	Cadena ligera de inmunoglobulina
LCh	Cromatografíalíquida
MALDI	Desorción/ionización láser asistida por matriz
MC	Maleimidocaproilo
mg	miligramos
min	minutos
mL	mililitros
mmh	etiquetamyc-myc-hexahistidina
µL	microlitros
mM	milimolar
µM	micromolar

Abreviatura	Término
MMAE	Monometilauristatina E
MS	Espectrometría de masas
MsCl	Cloruro de metansulfonilo
MSD	Detector de masasselectivo
MTG	Transglutaminasa microbiana (MTG EC 2.3.2.13, Zedira, Darmstadt, Alemania)
MW o PM	Peso molecular
ncADC	Conjugado de drogas de anticuerpos no citotóxicos
NHS	N-hidroxi succinimida
nM	nanomolar
RMN	Resonanciamagnética nuclear
NOESY	Espectroscopía de efecto nuclear de Overhauser
PAB	Para-aminobenciloxi (carbonilo)
PBS	Regulador de pH de fosfato de sodio 10 mM y cloruro de sodio 150 mM
PBSg	Fosfato 10 mM, cloruro de sodio 150 mM, glicerol al 5%
PEG	Polietilenglicol
PNP	p-nitrofenilo
MC-VC-PAB-PNP	Maleimidocaproil-L-valina-L-citrulina-alcohol p-aminobencílico carbonato de p-nitrofenilo
ppm	Partes por millón (desplazamiento químico, δ)
RP	Faseinvertida
rt o TA	Temperaturaambiente

Abreviatura	Término
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio
SEC	Cromatografía de exclusión por tamaño.
Suc	Ácidosuccínico
TCEP	Clorhidrato de tris(2-carboxietil)fosfina
TEA	Trietilamina
TMS	tetrametilsilano
TFA	Ácidotrifluoroacético
TG	Transglutaminasa
THF	Tetrahidrofurano
TOF	Tiempo de vuelo
UPLC	Cromatografía líquida de ultra rendimiento
UV	Ultravioleta
VA	Valina-alanina
VC	Valina-citrulina
VC-PAB	Valina-citrulina-para-aminobenciloxi (carbonilo)

MÉTODOS DE PREPARACIÓN

EJEMPLO 1

[00243] Este ejemplo demuestra métodos generales para la síntesis de los derivados podocárpicos, 9a a 9r, 9t y 9u en la Tabla 1, arriba. Este ejemplo se refiere a los compuestos numerados de 1 a 9a-p en la figura 1)

[00244] En la figura 1, el material de partida ácido podocárpico1 se descubrió originalmente en resinas vegetales en 1873, y luego se reportó de varias especies de

Podocarpus (véase, por ejemplo, J. Chem. Soc.1938, 1006-1013). La síntesis del compuesto 4 a partir del ácido podocárpico1 se reportó previamente (véase, por ejemplo, Bioorg. Med. Chem. Lett.2005, 15, 2824; Bioorg. Med. Chem. Lett. 2005, 15, 4574). El cloruro de acilo 6a se preparó a partir del tratamiento de 4 con cloruro de tionilo; y el éster activo 6b se preparó a partir del tratamiento de 4 con 5. La imida simétrica 8a se sintetizó a partir del tratamiento de la amida 7a con cloruro de ácido 6a o el éster activado 6b, y luego se sometió a desbencilación por hidrogenación para proporcionar la imida9a. De forma similar, las imidas asimétricas 8b-e y 8g se sintetizaron a partir de reacciones de acoplamiento de amidas 7b-g con éster activado 6b o cloruro de ácido 6a. Los rendimientos para imidas asimétricas 8b-e y 8g de 6a fueron menores en comparación con los rendimientos para imida simétrica 8a, pero los rendimientos para 8b-e y 8g usando el éster 6b activado se incrementaron de ~40% a 50-85%.

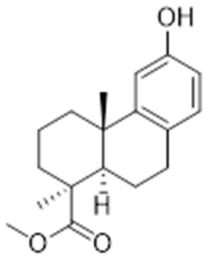
[00245] Las imidas9a-e se obtuvieron de 8a-e mediante desprotecciones de los grupos protectores correspondientes: Bn en 8a, TBS en 8b o Boc en 8c, 8d y 8e, respectivamente. El análogo N,N-dimetilado9f se obtuvo de la hidrogenación de 8d en metanol para eliminar el grupo bencilo mientras que concomitantemente N,N-dimetilación del nitrógeno de anilina; el análogo de N-Boc9g se obtuvo a partir de la desbencilación de 8d. Los compuestos 9h-o se obtuvieron a partir de reacciones de acoplamiento de amida de 9d con los derivados de aminoácidos en presencia de HATU y DIPEA, seguido por la desprotección de los grupos Boc con TFA al 10-25% en DCM o desprotección de grupos Fmoc con piperidina al 20% en un solvente orgánico. Las reacciones de acoplamiento de amida de 9d con Fmoc-Gly-OH seguidas de la desprotección de Fmoc proporcionaron 9h; Boc-beta-Ala-OH seguido por la desprotección de Boc proporcionó 9i; Boc-Ser-OH seguido por la desprotección de Boc proporcionó 9j; Boc-Sar-OH seguido por la desprotección de Boc proporcionó 9k; Boc-Lys(Boc)-OH seguido por la desprotección de Boc proporcionó 9l; Boc-His-OH seguido por la desprotección de Boc proporcionó 9m; Boc-Asp-OtBuseguido por la desprotección de Boc y -OtBu proporcionó 9n en una olla; y Boc-Glu-OtBuseguido por la desprotección de Boc y -OtBu proporcionó 9o en una olla, respectivamente. El compuesto 9p se sintetizó a partir de la reacción de acoplamiento de amida de 7g con 6b en presencia de LiHMDS para formar 8g, seguido de reducción catalizada por Raney Nickel del nitrilo a la amina y desbencilación con tribromuro de boro (BBr3). El compuesto 9q se obtuvo de la reacción de acoplamiento de amida de 9d con anhídrido glutárico. El compuesto 9r se obtuvo a partir de la reacción de acoplamiento de amida de 9d con ácido boc-iminodiacéticoseguido por la desprotección de Boc. El compuesto 9t se obtuvo a partir

de la reacción de acoplamiento de amida de 7d con un éster activado de ácido deshidroabiético (Cas No. 1740-19-8)seguido por la desprotección de Boc.

EJEMPLO 1a

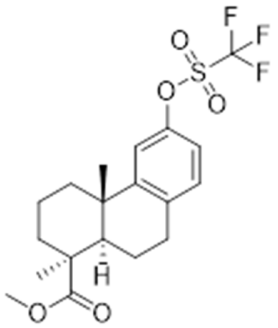
Síntesis de la carga útil 9d (figura 1a)

(1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato de metilo (P1-2)



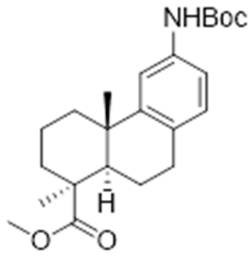
[00246] A una solución de ácido podocárpico (P1-1, 90 g, 0.33 mol) en metanol (200 mL) y tolueno (600 mL) se le añadió (trimetilsilil)diazometano (2 M en hexano, 200 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. El ácido podocárpico se consumió totalmente de acuerdo con LCMS. Los volátiles se eliminaron a vacío y el residuo se trituró a partir de éter de petróleo (2 L) para dar el compuesto P1-2 (91 g, 96% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 289 (M + H)+. RMN 1H (400 MHz, DMSOd6) δ 8.95 (s, 1H), 6.79 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.48 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.80-2.55 (m, 2H), 2.20-2.02 (m, 3H), 1.96-1.71 (m, 2H), 1.56-1.45 (m, 2H), 1.27 (t,J = 13.5 Hz, 1H), 1.21 (s, 3H), 1.09 (td, J = 13.5, 4.1 Hz, 1H), 0.91 (s, 3H) ppm.

(1S,4aS,10aR)-1,4a-dimetil-6-(trifluorometanosulfoniloxi)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato de metilo (P1-3)



[00247] A una solución del compuesto P1-2 (10 g, 35 mmol) en cloruro de metileno (200 mL) se le añadieron piridina (3.3 g, 42 mmol) y DMAP (0.84 g, 6.9 mmol) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió a -78°C y se añadió anhídrido tríflico (12 g, 42 mmol), y la mezcla resultante se dejó calentar a 25°C y se agitó a 25°C durante otras 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (500 mL), se lavó con agua (100 mL), clorhidrato acuoso (1 N, 150 mL) y salmuera (100 mL), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío para dar el compuesto bruto P1-3 (14 g, 97% de rendimiento bruto) como un aceite viscoso, que fue lo suficientemente puro para el siguiente paso. El compuesto bruto P1-3 podría purificarse por cromatografía instantánea (acetato de etilo al 0-10% en éter de petróleo) para dar un producto puro como un aceite viscoso. ESI m/z: 421.2 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, CDCl3) δ 7.12 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.97 (dd, J = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 3.67 (s,J = 3.4 Hz, 3H), 2.93 (dd, J = 17.2, 4.4 Hz, 1H), 2.85-2.71 (m, 1H), 2.29 (d, J = 13.5 Hz, 1H), 2.25-2.14 (m, 2H), 2.03-1.89 (m, 2H), 1.71-1.61 (m, 1H), 1.56-1.48 (m, 1H), 1.40 (td, J = 13.4, 4.2 Hz, 1H), 1.30-1.22 (m, 3H), 1.09 (td, J = 13,6, 4,2 Hz, 1H), 1.02 (s, 3H) ppm.

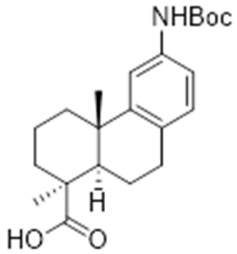
(1S,4aS,10aR)-6-((terc-butoxicarbonil)amino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato de metilo (P1-4)



[00248] A una solución del compuesto P1-3 (14 g, 34 mmol) y carbamato de terc-butilo (BocNH2, 7.9 g, 68 mmol) en terc-butanol (100 mL) se le añadieron, sucesivamente, carbonato de cesio (22 g, 68 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (Pd2(dba)3, 1.8

g, 2.0 mmol) y X-Phos (1.8 g, 4.0 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se desgasificó y se purgó con argón 3 veces y luego se agitó a 80°C bajo argón (globo) durante la noche hasta que el compuesto P1-3 se consumió totalmente, de acuerdo con se monitoreó por TLC. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se filtró a través de Celite. El sólido se lavó con acetato de etilo durante 3 veces. El filtrado combinado se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo al 0-6.25% en éter de petróleo) para dar el compuesto P1-4 (11 g, rendimiento del 82%) como un sólido blanco. ESI m/z: 410 (M + 23)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.07 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.13 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 3.59 (s, 3H), 2.76 (dd, J = 16.4, 4.5 Hz, 1H), 2.70-2.61 (m, 1H), 2.16-2.05 (m, 3H), 2.00-1.75 (m, 2H), 1.65-1.50 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.31-1.25 (m, 1H), 1.21 (s, 3H), 1.10 (td, J = 13.5, 4.1 Hz, 1H), 0.92 (s, 3H) ppm.

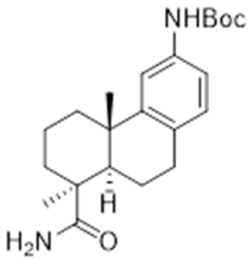
ácido (1S,4aS,10aR)-6-{[(terc-butoxi)carbonil]amino}-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico (P1-5)



[00249] A una solución del compuesto P1-4 (4,9 g, 13 mmol) en DMSO se le añadió terc-butóxido de potasio (15 g, 0.13 mol) en una porción a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 60°C durante 3 horas bajo argón hasta que la reacción se completó de acuerdo con LCMS. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió en hielo y se acidificó lentamente con clorhidrato acuoso (0.5 M) a pH 5, durante el cual la temperatura no excedió los 25°C. Los precipitados se recogieron por filtración y se lavaron con agua varias veces. El producto bruto se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo al 0-20% en éter de petróleo) para dar el compuesto P1-5 (4.5 g, rendimiento del 93%) como un sólido blanco. ESI m/z: 318 (M - 55)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 12.08 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.87 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 2.79-2.68 (m, 1H), 2.65 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 2.17-2.03

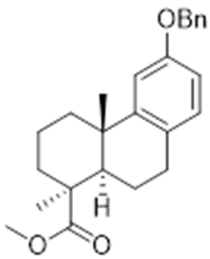
(m, 4H), 1.94-1.76 (m, 2H), 1.53 (d, J = 13.7 Hz, 1H), 1.46 (d, J = 7.4 Hz, 9H), 1.29-1.14 (m, 5H), 1.04 (s, 3H) ppm.

N-[(4bS,8S,8aR)-8-carbamoil-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de terc-butilo (P1-6)



[00250] A una solución de P1-5 (4.5 g, 12 mmol) y HATU (4.9 g, 13 mmol) en DMF (50 mL) se añadió diisopropiletilamina (20 mL, 0.12 mol), y la mezcla se agitó a 25°C por una hora. Luego se añadió a la mezcla cloruro de amonio (16 g, 0.30 mol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla resultante se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-20% en éter de petróleo) para dar el compuesto P1-6 (4.2 g, rendimiento del 94%) como un sólido blanco. ESI m/z: 373,3 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 7.20 (s, 1H), 6.97 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 2.77-2.68 (m, 2H), 2.66 -2.55 (m, 1H), 2.20 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 2.13 (dd, J = 13.2, 5.3 Hz, 1H), 2.08 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 2.03-1.86 (m, 2H), 1.54 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.26 (t, J = 26.7Hz, 1H), 1.18 (s, 3H), 1.14-1.03 (m, 4H) ppm.

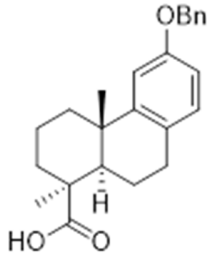
(1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato de metilo (P1-8)



[00251] Una mezcla de compuesto P1-2 (12 g, 40 mmol) y carbonato de cesio (14 g, 44 mmol) en DMF (100 mL) se agitó a 20-25°C durante 15 minutos. A la mezcla se le

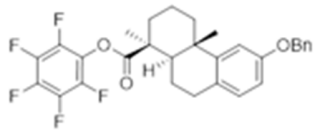
añadió bromuro de bencilo (7.1 mL, 60 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 4 horas, la mezcla resultante se vertió en agua fría y se extrajo con acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-10% en éter de petróleo) para dar el compuesto del título P1-8 (13 g, rendimiento del 89%) como un sólido blanco. ESI m/z: 379 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 7.60-7.20 (m, 5H), 7.00-6.82 (m, 2H), 6.73 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 5.03 (s, 2H), 3.66 (s, 3H), 2.95-2.58 (m, 2H), 2.36-2.10 (m, 3H), 2.10-1.85 (m, 2H), 1.70-1.48 (m, 2H), 1.44-1.21 (m, 4H), 1.15 (t, J = 17,2 Hz, 1H), 1.01 (s, 3H) ppm.

Ácido 1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico (P1-9)



[00252] Una mezcla de compuesto P1-8 (11 g, 29 mmol) y terc-butóxido de potasio (33 g, 0.29 mol) en DMSO (0.19 L) se agitó a 100°C durante una hora hasta que el grupo metilo estuvo totalmente eliminado, como se controla por LCMS y TLC. Después de enfriar a 25ºC, la mezcla se inactivó con clorhidrato acuoso (1 N) y se extrajo con acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo al 0-24% en éter de petróleo) para dar el compuesto P1-9 (7.5 g, rendimiento del 71%) como un sólido blanco. ESI m/z: 365 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 7.42 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.36 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.30 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.72 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 2.82 (dd, J = 16.3, 4.4 Hz, 1H), 2.77-2.65 (m, 1H), 2.24 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 2.19 (dd, J = 13.8, 6.0 Hz, 1H), 2.11-1.96 (m, 2H), 1.64- 1.56 (m, 1H), 1.53 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 1.35 (td, J = 13.3, 3.7 Hz, 1H), 1.30 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.11-1.05 (m, 1H) ppm.

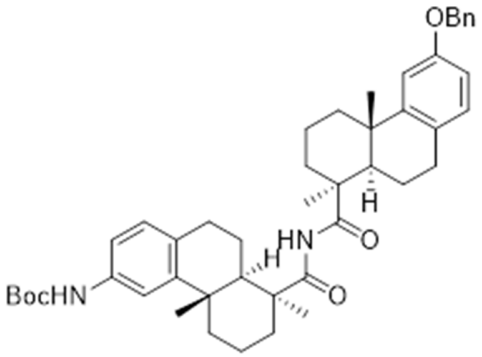
(1S,4aS,10aR)-6-(Benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-



octahidrofenantreno-1-carboxilato de pentafluorofenilo (P1-10)

[00253] A una solución de P1-9 (9.6 g, 26 mmol) en DMF (100 mL) se le agregó DIPEA (14 mL, 79 mmol) y 2,2,2-trifluoroacetato de perfluorofenilo (15 g, 53 mmol). Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se controló por LCMS. La mezcla de reacción se diluyó luego con éter (200 mL) y se lavó con agua (300 mL) y salmuera (200 mL). La solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (acetato de etilo al 0-10% en éter de petróleo) para dar el compuesto P1-10 (12 g, rendimiento del 88%) como un sólido blanco. ESI m/z: 531 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 7.43 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.38 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.31 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.93 (dd, J = 10.2, 5.5 Hz, 2H), 6.76 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 5.05 (s, 2H), 2.81 (dd, J = 16.3, 4.5 Hz, 1H), 2.77-2.68 (m, 1H), 2.28-2.19 (m, 2H), 2.18 (dd, J = 13.4, 5.6 Hz, 1H), 2.00-1.83 (m, 2H), 1.74 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 1.65 (d,J = 14.1 Hz, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.38-1.27 (m, 2H), 1.08 (s, 3H) ppm.

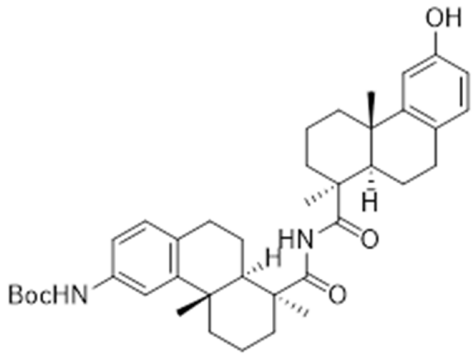
N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de terc-butilo (P1-11)



[00254] A una solución del compuesto P1-6 (2.3 g, 6.2 mmol) en THF (20 mL) se le añadiópor goteon-BuLi (2.5 M en hexano, 5.5 mL, 14 mmol) a -78°C. La reacción se agitó a esta temperatura durante 1 hora. A la mezcla se le añadió una solución de P1-10 (3.0 g, 5.6 mmol) en THF (20 mL), y la mezcla resultante se agitó a 10-20°C durante la noche hasta que se consumió el compuesto P1-10. tal como se monitoreó por LCMS. La reacción fue

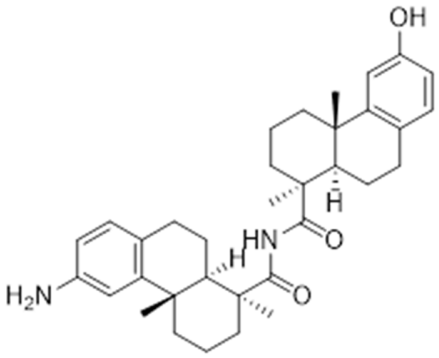
apagada con cloruro de amonio acuoso saturado y extraída con acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (acetato de etilo al 0-30% en éter de petróleo) para dar el compuesto P1-11 (1.59 g, rendimiento del 51%) como un sólido blanco. ESI m/z: 719 (M + 1)+.

N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de terc-butilo (P1-12)



[00255] A una solución de P1-11 (2.0 g, 2.78 mmol) en acetato de etilo (40 mL) se le añadió paladio húmedo sobre carbono (Pd al 10%, 0.9 g) bajo protección de nitrógeno. La mezcla se desgasificó y se purgó con hidrógeno y se agitó a temperatura ambiente bajo un globo de hidrógeno durante la noche hasta que se consumió totalmente P1-11, que se controló por LCMS. La mezcla se filtró a través de Celite y la filtración se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo al 0-55% en éter de petróleo) para dar P1-12 (1.06 g, rendimiento del 61%) como un sólido blanco. ESI m/z: 629 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.10 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.15 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 2.84 (td, J = 16.3, 3.8 Hz, 2H), 2.77-2.64 (m, 2H), 2.30-2.22 (m, 2H), 2.14 (t, J = 10.9 Hz, 4H), 2.00-1.80 (m, 4H), 1.65-1.54 (m, 4H), 1.45 (s, 9H), 1.34-1.28 (m, 2H), 1.27 (d, J = 2.5 Hz, 6H), 1.15-1.08 (m, 2H), 0.99 (s, 6H) ppm.

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-Amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9d)



[00256] A la solución del compuesto P1-12 (0.17 g, 0.27 mmol) en DCM (10 mL) se le añadiópor goteo TFA (3 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una hora hasta que se eliminó Boc de acuerdo con LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC preparativo (método B) para dar 9d (0.10 g, 70% de rendimiento) como un sólido blanco.

[00257] ESI m/z: 529,3 (M + 1)+.

[00258] RMN 1H (400 MHz, CDCl3) δ 8.14 (s, 1H), 6.92 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.65-6.57 (m, 2H), 6.50 (dd, J = 8.1, 2.3 Hz, 1H), 4.75 (s, 1H), 3.49 (s, 1H), 2.99-2.85 (m, 2H), 2.79 (tt, J = 11.6, 5.8 Hz, 2H), 2.34-2.14 (m, 6H), 2.15-1.95 (m, 4H), 1.74-1.51 (m, 5H), 1.46-1.34 (m, 2H), 1.30 (s, 6H), 1.21-1.06 (m, 8H) ppm.

[00259] RMN 1H (400 MHz, DMSOd6) δ 8.99 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.0.2.5 Hz, 1H), 6.48 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 8.0. 2.5 Hz, 1H), 4.69 (s, 2H), 2.86-2.60 (m, 4H), 2.28-2.10 (m, 6H), 1.94-1.75 (m, 4H), 1.65-1.53 (m, 4H), 1.35-1.20 (m, 8H), 1.20-1.06 (m, 2H), 0.98 (s, 6H) ppm.

[00260] RMN13C (100 MHz, DMSOd6) δ 174.03, 173.92, 155.34, 148.39, 147.63, 146.43, 129.56, 129.09, 124.60.121.65, 113.23, 112.58, 111.81, 110.77, 52.32, 52.09, 45.56, 45.52, 39.20, 39.36, 38.23, 38.17, 37.18, 37.12, 31.08, 31.00, 27.65, 27.64, 23.08, 23.03, 21.43, 21.27, 19.64, 19.61 ppm.

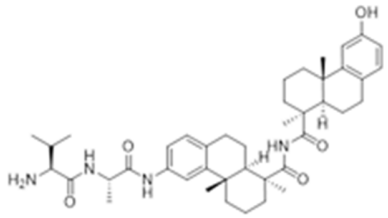
[00261] HPLC (método B): Tiempo de retención: 8.92 min, pureza: 99.4%. HPLC quiral:>99.9% (en la columna AD, AS, OD y OJ).

[00262] Rotación óptica (α): + 2.53° (1.7 g/100 mL THF, 25°C).

EJEMPLO 1b

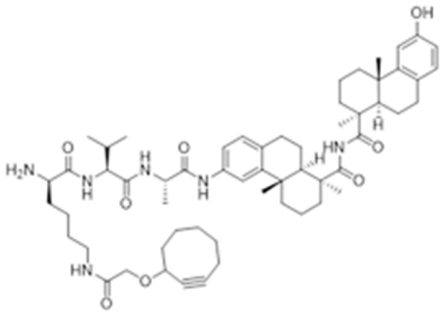
Síntesis de LP8 (figura 1b)

(1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-((S)-2-Amino-3-metilbutanamido)propanamido)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (LP1-2)



[00263] A una solución de 9d (53 mg, 0.10 mmol) en DMF (1 mL) se le añadieronFmoc-Val-Ala-OH (41 mg, 0.10 mmol), HATU (38 mg, 0.1 mmol) y diisopropiletilamina (26 mg, 0.20 mmol) sucesivamente. Después de agitar a 25°C durante 24 horas hasta que se consumiera el 9d de acuerdo con LCMS, a la mezcla se le añadió piperidina (0.1 mL) y la solución resultante se agitó a 25°C durante otras 3 horas. Después de la filtración, el filtrado se purificó directamente por HPLC prep (método B) para dar el compuesto LP1-2 (45 mg, 64% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 699 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 8.40 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.32 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.88 (d,J = 8.2 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 4.60-4.48 (m, 1H), 3.22-3.11 (m, 1H), 3.02-2.93 (m, 1H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.74-2.70 (m, 1H), 2.43-2.31 (m, 3H), 2.28 (d, J = 14.1 Hz, 3H), 2.16-1.96 (m, 3H), 1.81 (s, 1H), 1.78-1.65 (m, 4H), 1.53-1.42 (m, 4H), 1.38 (d, J = 5.3 Hz, 6H), 1.33-1.22 (m, 2H), 1.14 (d, J = 6.6 Hz, 6H), 1.09 (d, J = 18.6 Hz, 6H) ppm.

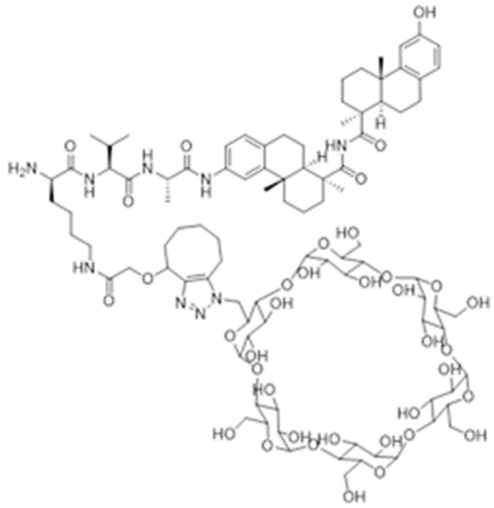
(1S,4aS,10aR)-6-((2S)-2-((2S)-2-((2R)-2-Amino-6-(2-(ciclooct-2-iniloxi)acetamido)hexanamido)-3-metilbutanamido)propanamido)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilo)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (LP1-4)



[00264] A una solución de compuesto LP1-3 (35 mg, 0.064 mmol) en DMF (1 mL) se le añadieron HATU (24 mg, 0.064 mmol) y compuesto LP1-2 (45 mg, 0.064 mmol) en sucesión a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante unos minutos a temperatura ambiente hasta que la mezcla fuera homogénea. A esta mezcla se le añadiódiisopropiletilamina (41 mg, 0.32 mmol) a temperatura ambiente con una jeringa. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche (16 horas) hasta que LP1-2 se consumiera principalmente de acuerdo con LCMS. A esta mezcla de reacción se le añadió luego piperidina (0.1 mL, exceso) por goteo a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante otras 3 horas hasta que se eliminó Fmoc, tal como se monitoreó por LCMS. La mezcla de reacción se purificó directamente por cromatografía instantánea de fase inversa o HPLC prep. (método B, condición básica) para dar el compuesto LP1-4 (30 mg, 47% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 991 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 7.51 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.37 (dd, J = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.89 (d,J = 8.4 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.3, 2.5 Hz, 1H), 4.64-4.57 (m, 1H), 4.48 (q, J = 7.1 Hz, 1H), 4.33-4.27 (m, 1H), 4.20 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 3.93 (m, 2H), 3.43 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 3.24 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 3.02-2.93 (m, 2H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.40-2.32 (m, 2H), 2.33-2.23 (m, 4H), 2.22-2.12 (m, 3H), 2.12-2.00 (m, 5H), 1.99-1.91 (m, 1H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.78-1.66 (m, 6H), 1.66-1.58 (m, 1H), 1.58- 1.49 (m, 2H), 1.45 (d, J = 7.1 Hz, 6H), 1.38 (d, J = 4.0 Hz, 6H), 1.34-1.22 (m, 4H), 1.14 (d, J = 7.0 Hz, 6H), 1.06-0.98 (m, 6H) ppm.

(1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-Amino-6-{2-2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]propanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-

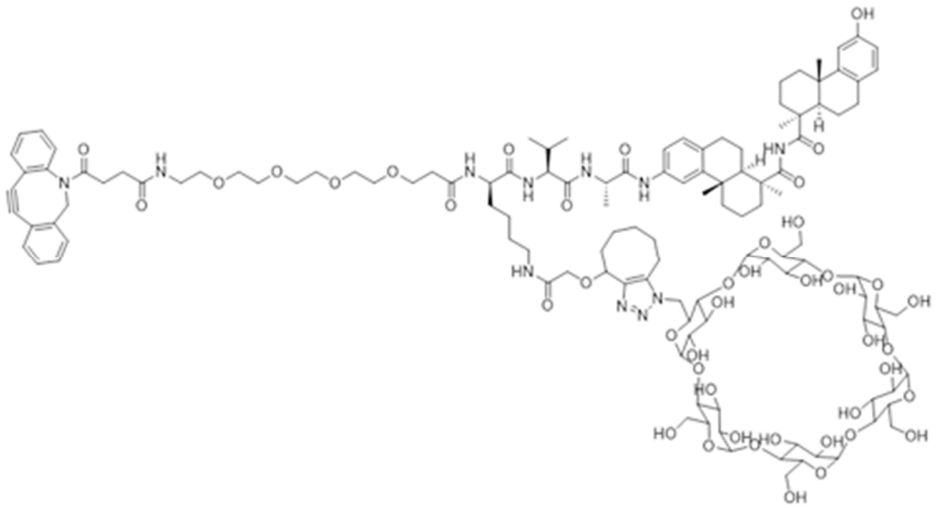
il]carbonil}-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (LP1-5)



[00265] A una solución del compuesto LP1-4 (30 mg, 30 µmol) en DMF (0.5 mL) se le añadió una solución de CD-N3 (60 mg, 60 µmol) en DMF (0.5 mL) a temperatura ambiente con una jeringa. La mezcla se agitó a 20-25°C durante 3 días. El compuesto LP1-4 se consumió principalmente de acuerdo con LCMS. La mezcla de reacción se purificó directamente por prep-HPLC (método B) para dar el compuesto LP1-5 (14 mg, 23% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 995 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 8.40 (s, 1H), 7.56-7.52 (m, 1H), 7.32 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 5.24-5.16 (m, 1H), 5.01-4.95 (m, 6H), 4.65-4.59 (m, 1H), 4.52-4.44 (m, 1H), 4.31-4.22 (m, 2H), 4.13-3.73 (m, 22H), 3.63-3.43 (m, 14H), 3.14-2.72 (m, 7H), 2.45-2.32 (m, 3H), 2.28 (d, J = 13.8 Hz, 3H), 2.22-1.85 (m, 11H), 1.82-1.59 (m, 9H), 1.55- 1.41 (m, 8H), 1.38 (d, J = 5.3 Hz, 6H), 1.31-1.26 (m, 3H), 1.14 (d, J = 7.2 Hz, 6H), 1.06-0.93 (m, 6H) ppm.

1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.04,9]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26]dotetracontan-5-il]metil}-

1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}pentil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (LP8)



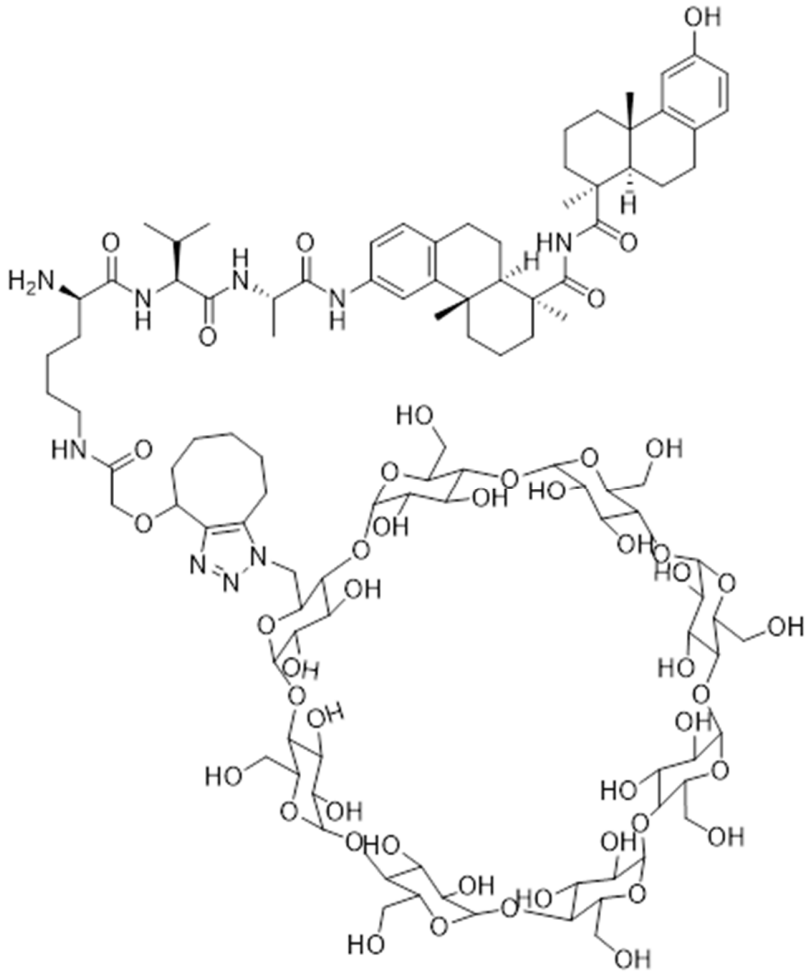
[00266] A una solución de compuesto LP1-5 (14 mg, 7.4 µmol) y DIBAC-Suc-PEG4-OSu (6.5 mg, 10 µmol) en DMF (1 mL) se le añadió trietilamina (2.0 mg, 20 µmol) y la mezcla se agitó a 20-25°C durante 16 horas. La mayoría de los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC preparativo (método B) para dar el compuesto LP8 (5,0 mg, rendimiento del 27%) como un sólido blanco. ESI m/z: 1261 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 7.69-7.44 (m, 6H), 7.41-7.30 (m, 3H), 7.26 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.04-6.96 (m, 1H), 6.88 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 5.25-5.18 (m, 1H), 5.17-5.08 (m, 1H), 5.01-4.94 (m, 4H), 4.61 (s, 16H), 4.53-4.13 (m, 5H), 4.03-3.80 (m, 18H), 3.74-3.64 (m, 3H), 3.63-3.41 (m, 23H), 3.28-2.76 (m, 12H), 2.76-2.65 (m, 1H), 2.56-2.44 (m, 2H), 2.42-2.31 (m, 4H), 2.30-2.23 (m, 4H), 2.18-1.92 (m, 9H), 1.79-1.55 (m, 9H), 1.49-1.34 (m, 9H), 1.33-1.22 (m, 3H), 1.18-1.10 (m, 6H), 1.06-0.94 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 1c

Síntesis de LP32 (figura 1c)

(1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-Amino-6-{2-[(1-{[41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56-hexadecahidroxi-10,15,20,25,30,35,40-heptakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29,32,34,37,39-hexadecaoxanonaciclo[36.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26.228,31.233,36]hexapenta

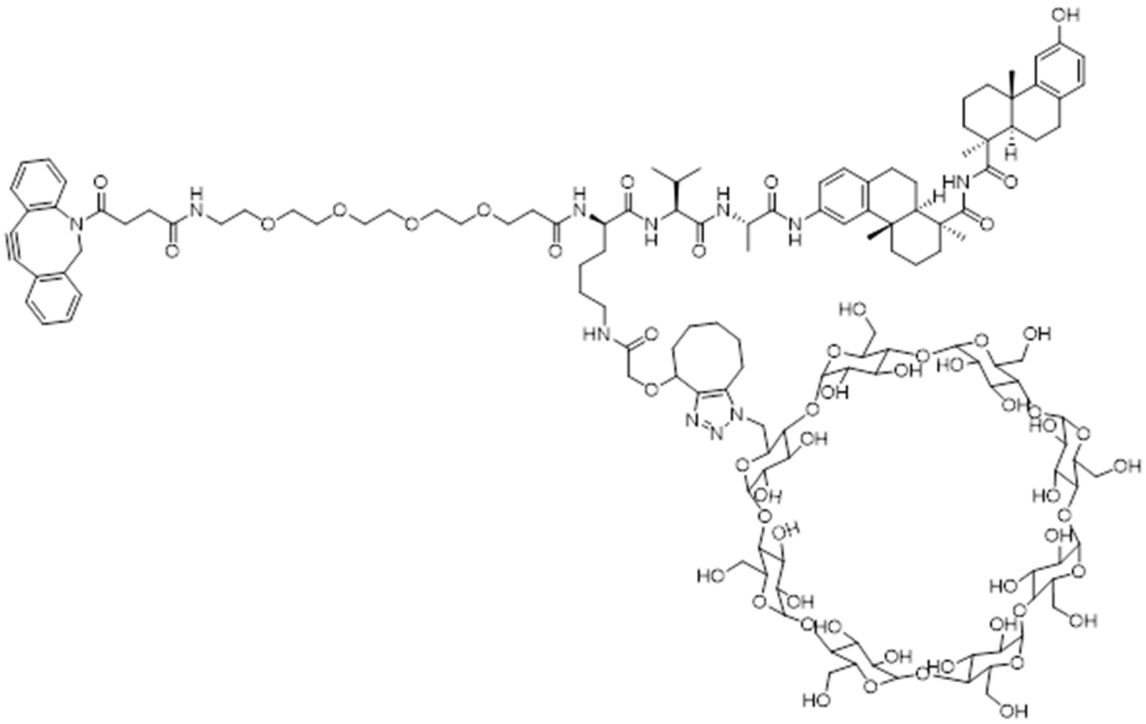
contan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]propanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]carbonil}-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (LP2-5)



[00267] A una solución del compuesto LP1-4 (30 mg, 0.030 mmol) en DMF (2 mL) se le añadió γCD-N3 (0.12 mg, 0.091 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 16 horas, que se controló por LCMS. La mezcla se filtró a través de la membrana y el filtrado se purificó luego por HPLC prep. (método A) para dar el compuesto LP2-5 (40 mg, 57% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 1157.6 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.82 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.55 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.39 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 8.11-8.04 (m, 4H), 7.93-7.88 (m, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.50 (d, J = 11 Hz, 1H), 5.89-5.68 (m, 16H),

5.16-4.32 (m, 19H), 3.94-3.80 (m, 4H), 3.69-3.51 (m, 50H), 3.18-2.64 (m, 8H), 2.33-1.85 (m, 12H), 1.65-1.11 (m, 25H), 0.99 (d, J = 9.5 Hz, 6H), 0.89-0.83 (m, 6H) ppm.

1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.04,9]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-5-{2-[(1-{[41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56-hexadecahidroxi-10,15,20,25,30,35,40-heptakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29,32,34,37,39-hexadecaoxanonaciclo[36.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26.228,31.233,36]hexapentacontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}pentil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (LP32)



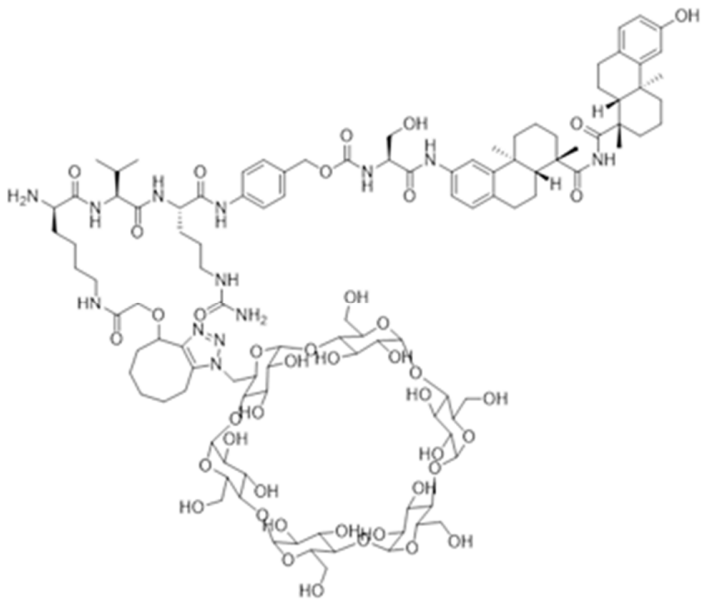
[00268] A una solución del compuesto LP2-6 (4.3 mg, 7.8 µmol) en DMF anhidro (1 mL) se le añadió HATU (3.0 mg, 7.8 µmol). La mezcla se agitó a 10°C durante 10 minutos antes de que se añadiera el compuesto LP2-5 (15 mg, 6.5 µmol) y DIPEA (1.7 mg, 13 µmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que LP2-5 se consumiera

totalmente, de acuerdo con lo controlado por LCMS. La mezcla se filtró a través de una membrana y el filtrado se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar el compuesto LP32 (6.0 mg, 32% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 1424,2 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.26 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.24-7.98 (m, 4H), 7.81 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.72 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 7,67 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,61 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,53-7,25 (m, 7H), 6,95 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.1 Hz, 1H), 5.94-5.58 (m, 15H), 5.39-4.43 (m, 17H), 4.37-4.24 (m, 3H), 4.13-4.08 (m, 1H), 3.98-3.33 (m, 52H), 3.26-2.52 (m, 18H), 2.40-1.18 (m, 48H), 1.18-0.63 (m, 19H) ppm. Solubilidad: 0.075 mg/mL H2O.

EJEMPLO 1d

Síntesis de LP13 (figura 1d)

N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-amino-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (LP5-1)

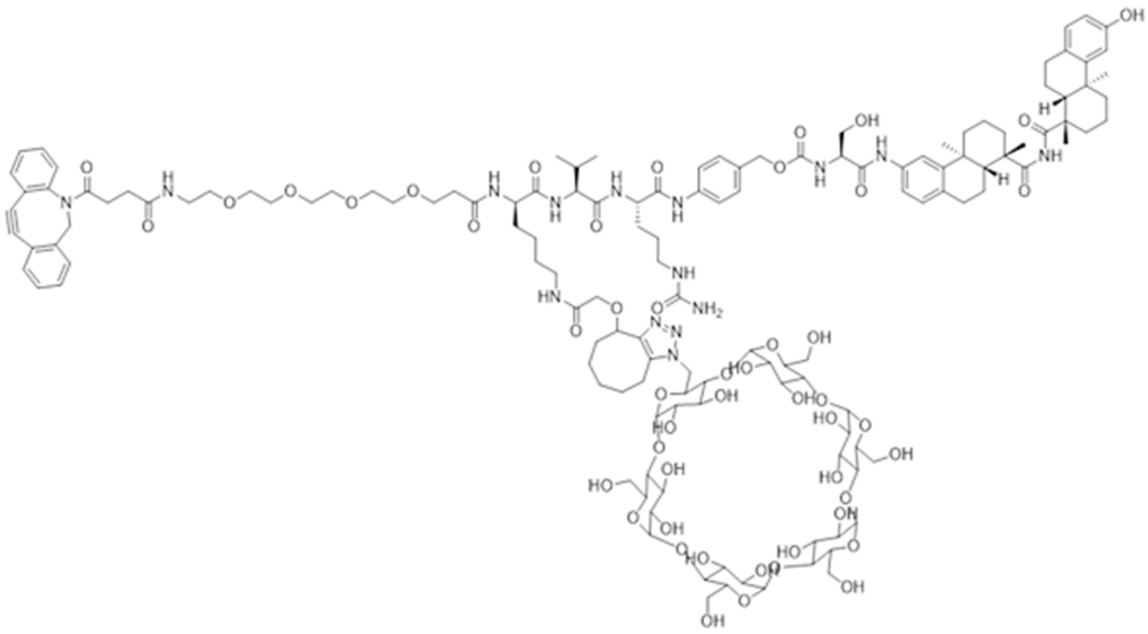


[00269] A una solución del compuesto LP15 (20 mg, 15 µmol) en DMF (1 mL) se le añadió CD-N3 (46 mg, 45 µmol) en acetonitrilo (2 mL) y agua (2 mL) aTA. La mezcla se agitó a 30°C durante 16 horas. El compuesto LP15 se consumió principalmente de acuerdo con LCMS. La mezcla de reacción se purificó directamente por prep-HPLC (método B) para dar el compuesto LP5-1 (20 mg, 57% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 1156.0 (M/2 + 1)+.

N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (LP13)

[00270] A una solución de DIBAC-PEG4-ácidoLP5-2 (4.3 mg, 7.8 µmol) en DMF (1 mL) se le añadieron HATU (3.0 mg, 3.6 µmol) y DIPEA (1.7 mg, 13 µmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a TA durante 10 minutos. Luego, a la mezcla se

le añadió LP5-1 (15 mg, 6,5 µmol). La mezcla de reacción se agitó a 30°C durante 2 horas hasta que se completara la reacción, tal como se monitoreó por LCMS. La mezcla de reacción se filtró y se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar LP13 (10 mg, 42% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 1424.3 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz,

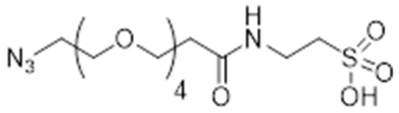


DMSOd6) δ 9.81-9.67 (m, 2H), 8.99 (s, 1H), 8.20-8.06 (m, 5H), 7.85-7.22 (m, 18H), 6.97-6.49 (m, 2H), 5.98 (s, 1H), 5.65-5.33 (m, 15H), 5.14-4.92 (m, 5H), 4.82-4.72 (m, 6H), 4.60-4.54 (m, 4H), 4.36-4.28 (m, 3H), 4.18-3.96 (m, 3H), 3.85-3.55 (m, 27H), 3.49-3.39 (m, 23H), 3.28-3.08 (m, 8H), 2.94-2.57 (m, 4H), 2.42 -2.07 (m, 8H), 1.99-1.45 (m, 22H), 1.28-1.11 (m, 23H), 1.05-0.95 (m, 6H), 0.89-0.79 (m, 7H) ppm.

EJEMPLO 1e

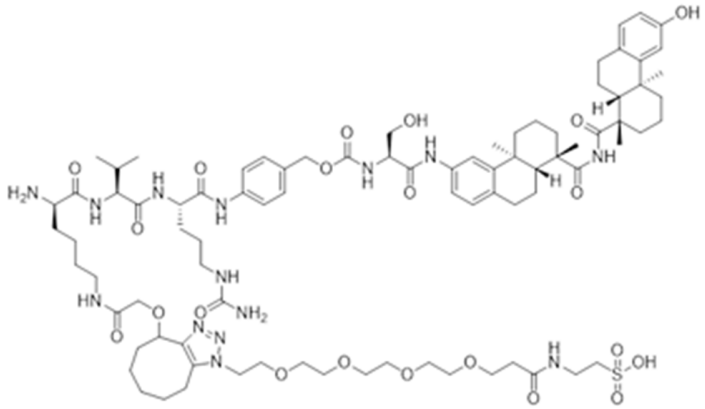
Síntesis de LP36 (figura 1e)

Ácido 1-azido-15-oxo-3,6,9,12-tetraoxa-16-azaoctadecano-18-sulfónico (L6-2)



[00271] A una solución de azido-PEG4-NHS (L6-1, 0.10 g, 0.26 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se le añadieron taurina (39 mg, 0.31 mmol) y DIPEA (15 mg, 0.52 mmol). La mezcla se agitó a 25°C durante la noche. La mezcla se filtró y el filtrado se purificó por HPLC prep. (Método A) para dar el compuesto LP6-2 (80 mg, 78% de rendimiento) como un aceite incoloro. ESI m/z: 399,1 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, D2O) δ 3.69 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.64-3.59 (m, 14H), 3.49 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.41 (t, J = 4.5 Hz, 2H), 3.00 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.45 (t, J = 6.0 Hz, 2H) ppm.

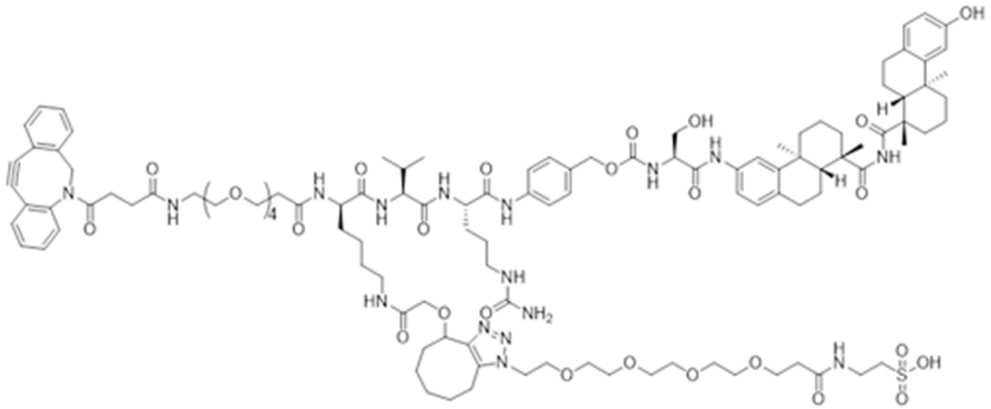
Ácido 2-{1-[4-({[(5R)-5-amino-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-({4-[({[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamoil}oxi)metil]fenil}carbamoil)-4-(carbamoilamino)butil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}pentil]carbamoil}metoxi)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-1-il]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido}etan-1-sulfónico (LP6-3)



[00272] A una solución de compuesto LP6-2 (20 mg, 50 µmol) en agua (1 mL) se le añadió por goteo solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio a 0°C hasta pH ~7. A la solución agitada se le añadió luego una solución de compuesto LP15 (28 mg, 21 µmol) en acetontrilo (1 mL) con una jeringa. La mezcla se agitó a 25°C durante la noche. La mezcla de reacción se controló por LCMS hasta que el compuesto LP15 se consumiera totalmente. La mezcla de reacción se filtró y se purificó por HPLC prep. (Método A) para dar el compuesto LP6-3 (15 mg, 41% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 856.5 (M/2 + 1)+.

Ácido 2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-

15-amido]-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-({4-[({[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamoil}oxi)metil]fenil}carbamoil)-4-(carbamoilamino)butil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}pentil]carbamoil}metoxi)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-1-il]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido}etan-1-sulfónico (LP36)

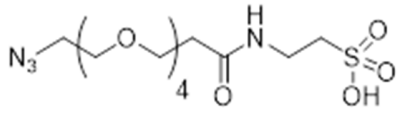


[00273] A una solución de compuesto LP6-3 (15 mg, 8.8 µmol) y DIBAC-Suc-PEG4-OSu LP6-4 (5.7 mg, 8.8 µmol, CAS 1427004-19-0) disponible en el mercado en DMF (1 mL) se le añadió DIPEA (2.3 mg, 18 µmol) y la mezcla se agitó a TA durante 2 horas. La mayoría de los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC preparativo (método B) para dar LP36 (6.0 mg, 30% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 1123.8 (M/2 + H)+, 749.5 (M/3 + H)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 7.76-7.16 (m, 14H), 7.06-7.00 (m, 1H), 6.88 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.56- 6.55 (m, 1H), 5.39-5.33 (m, 1H), 5.14-5.09 (m, 5H), 4.61 (s, 18H), 4.50-4.43 (m, 2H), 4.33-4.30 (m, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.89-3.85 (m, 3H), 3.73-3.42 (m, 28H), 3.25-2.72 (m, 8H), 2.45 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.36-1.96 (m, 18H), 1.81-1.51 (m, 12H), 1.45-1.32 (m, 15H), 1.12-0.89 (m, 12H) ppm.

EJEMPLO 1f

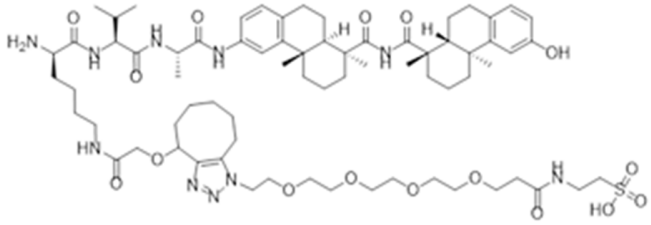
Síntesis de LP18 (figura 1f)

Ácido 1-azido-15-oxo-3,6,9,12-tetraoxa-16-azaoctadecano-18-sulfónico (L18-2)



[00274] A una solución de azido-PEG4-NHS (L18-1, 0.10 g, 0.26 mmol) en DMF anhidro (4 mL) se le añadieron taurina (39 mg, 0.31 mmol) y DIPEA (15 mg, 0.52 mmol). La mezcla se agitó a 25°C durante la noche. La mezcla se filtró y el filtrado se purificó por HPLC prep. (Método A) para dar el compuesto LP18-2 (80 mg, 78% de rendimiento) como un aceite incoloro. ESI m/z: 399,1 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, D2O) δ 3.69 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.64-3.59 (m, 14H), 3.49 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.41 (t, J = 4.5 Hz, 2H), 3.00 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.45 (t, J = 6.0 Hz, 2H) ppm.

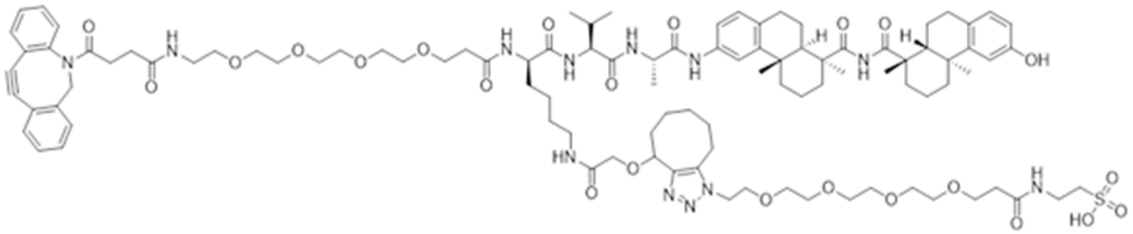
Ácido 1-(4-(2-((R)-5-amino-6-((S)-1-((S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilamino)-1-oxopropan-2-ilamino)-3-metil-1-oxobutan-2-ilamino)-6-oxohexilamino)-2-oxoetoxi)-4,5,6,7,8,9-hexahidro-1H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-1-il)-15-oxo-3,6,9,12-tetraoxa-16-azaoctadecan-18-sulfónico (LP18-3)



[00275] A una solución del compuesto LP1-4 (40 mg, 40 µmol) en DMF (1 mL) se le añadió azida LP18-2 (40 mg, 0.10 mmol) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a TA durante 16 horas, hasta que LCMS mostró una reacción completa. La mezcla de reacción se purificó directamente por prep-HPLC para dar el compuesto LP18-3 (43 mg, 77% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 695.4 (M/2 + H)+.

Ácido 2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.04,9]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}pentil]carbamoil}metoxi)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-

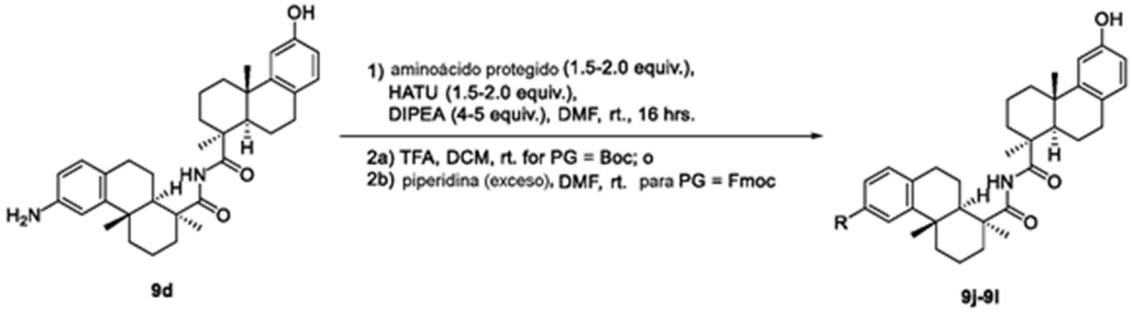
ciclooctа[d][1,2,3]triazol-1-il]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido}etan-1-sulfónico (LP18)



[00276] A una solución del compuesto LP18-3 (30 mg, 22 µmol) en DMF (1 mL) se le añadió una solución de DIBAC-suc-PEG4-OSu (LP18-4, 14 mg, 22 µmol) en DMF (1 mL) y DIPEA (4 mg, 32 µmol) sucesivamente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 horas. La mezcla de reacción se purificó directamente por HPLC prep. (Método B) para dar el compuesto LP18 (15 mg, 37% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 642 (M/3 + H)+. RMN 1H (400 MHz, DMSOd6) δ 9.68-9.27 (m, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.23-7.85 (m, 4H), 7.79-7.71 (m, 2H), 7.76-7.42 (m, 6H), 7.39-7.28 (m, 3H), 7.21 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.96-6.93 (m, 2H), 6.81 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 5.02 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 4.93-4.72 (m, 1H), 4.53-4.09 (m, 5H), 3.82-3.75 (m, 4H), 3.62-3.53 (m, 3H), 3.51-3.38 (m, 23H), 3.30-3.27 (m, 6H), 3.12-2.67 (m, 10H), 2.61- 2.54 (m, 4H), 2.39-1.52 (m, 31H), 1.45-1.08 (m, 18H), 1.01-0.98 (m, 6H), 0.90-0.82 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 1g

Síntesis de la carga útil 9j, la carga útil 9o y la carga útil 9l

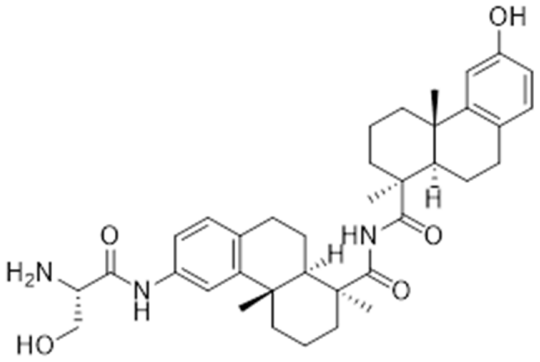


Comp	R	PG	Rend.

9j	NHC(O)(*S*)-CH(CH_2OH)NH_2 (Ser)	Fmoc	51%
9o	NHC(O)(*S*)-CH(CH_2CH_2COOH)NH_2 (Glu)	tBu, Boc	46%
9l	NHC(O)(*S*)-CH($(CH_2)_4NH_2$)NH_2 (Lys)	Boc, Boc	49%

Carga útil 9j

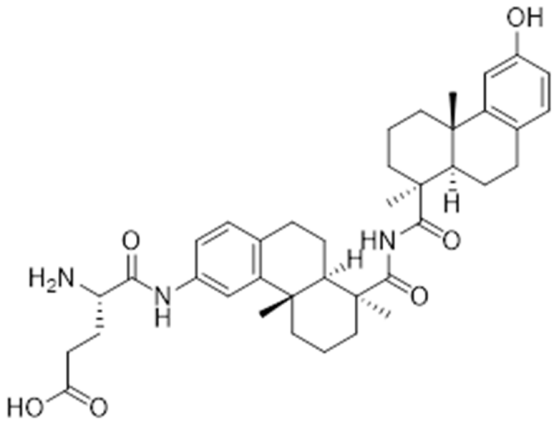
(1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-Amino-3-hidroxipropanamido)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9j)



[00277] A una solución de Fmoc-Ser-OH (33 mg, 0.1 mmol) en DMF (1 mL) se le añadieron HATU (38 mg, 0.1 mmol) y DIPEA (39 mg, 0.3 mmol) a 25°C. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante una hora. Luego se añadió a la mezcla 9d (30 mg, 0.06 mmol). Después de que la mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 16 horas y se consumió totalmente 9d (controlado por LCMS), se le añadió piperidina (0.2 mL) a la mezcla, que se agitó durante otros 30 minutos a temperatura ambiente. El residuo se purificó directamente por prep-HPLC (método B) para dar 9j (18 mg, 51% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 616 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.74 (br s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.11 (s, 1H,), 7.58 (s, 1H), 7.41 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 4.82 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 3.62-3.45 (m, 2H), 2.97-2.67 (m, 4H), 2.67-2.61 (m, 2H), 2.33-2.21 (m, 2H), 2.21-2.03 (m, 4H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.43-1.37 (m, 1H), 1.36-1.20 (m, 8H), 1.23-1.06 (m, 2H), 1.06-0.93 (m, 6H) ppm.

Carga útil 9o

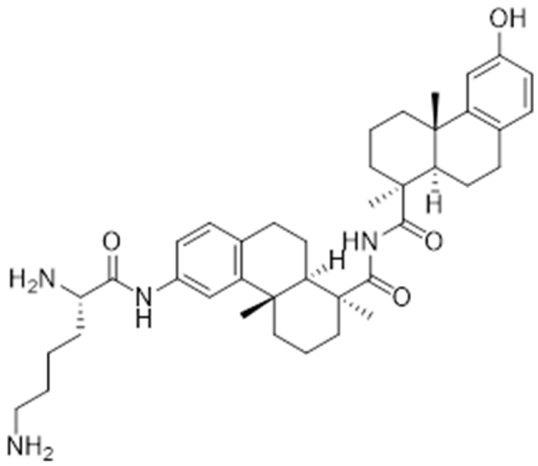
Ácido (4S)-4-amino-4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}butanoico; sal de ácido trifluoroacético (9o)



[00278] A una solución de OtBu-N-Boc-Glu-OH (15 mg, 0.05 mmol) en DMF (1 mL) se le añadieron HATU (19 mg, 0.05 mmol) y DIPEA (13 mg, 0.1 mmol)a25°C. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante una hora. Luego se le añadió a la mezcla 9d (14 mg, 0.026 mmol). Después de agitar a 25°C durante 16 horas y de que9d se consumiera totalmente (controlado por LCMS), la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. La solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en DCM (1 mL) y a la solución se le añadió TFA (0.1 mL) lentamente a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC prep. (Método A) para dar 9o (8 mg, 46% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 658.3 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, DMSOd6) δ 10.32 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 3.87 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 2.97-2.67 (m, 4H), 2.41-2.22 (m, 4H), 2.22-2.08 (m, 4H), 2.05-1.97 (m, 2H), 1.94-1.80 (m, 4H), 1.69-1.52 (m, 4H), 1.42-1.22 (m, 8H), 1.22-1.06 (m, 2H), 1.02 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. RMN 19F (376 MHz, DMSOd6) δ -73.50 ppm.

Carga útil 9l

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-[(2S)-2,6-diaminohexanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida; sal de ácido trifluoroacético (9l)

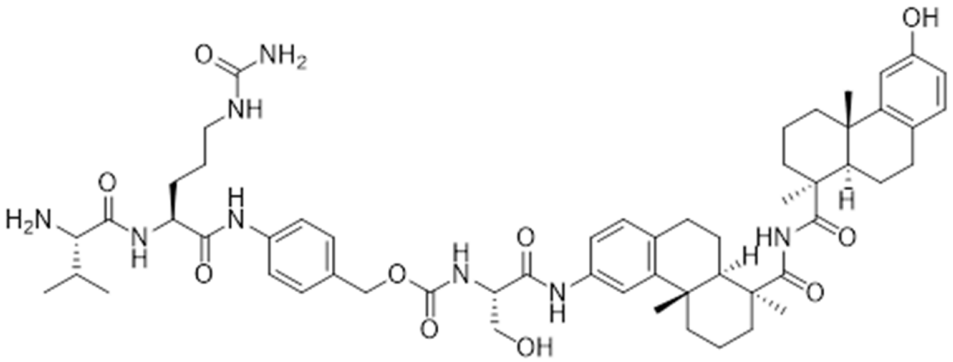


[00279] A una solución de Boc-Lys-OH (15 mg, 0.05 mmol) en DMF (1 mL) se le añadieron HATU (19 mg, 0.05 mmol) y DIPEA (13 mg, 0.1 mmol) a 25°C. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante una hora. Luego se añadió a la mezcla 9d (15 mg, 0.028 mmol). Después de agitar a 25°C durante 16 horas y de que 9d se consumiera totalmente (controlado por LCMS), la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. La solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo (Boc-9l) se disolvió en DCM (1 mL) y a la solución se le añadió TFA (0.1 mL) lentamente a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC prep. (Método A) para dar 9l (9 mg, 49% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 657.5 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, DMSOd6) δ 10.33 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.78 (br s, 6H), 7.51 (s, 1H), 7.34 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.51 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 3.82 (s, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.82-2.67 (m, 5H), 2.29 (s, 2H), 2.15 (s, 4H), 1.85 (s, 6H), 1.64-1.51 (m, 6H), 1.28 (d, J = 6.8 Hz, 10H), 1.13 (s, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. RMN de 19F (376 MHz, DMSOd6) δ -73,53 ppm.

EJEMPLO 1h

Síntesis de LP15 (figura 1g)

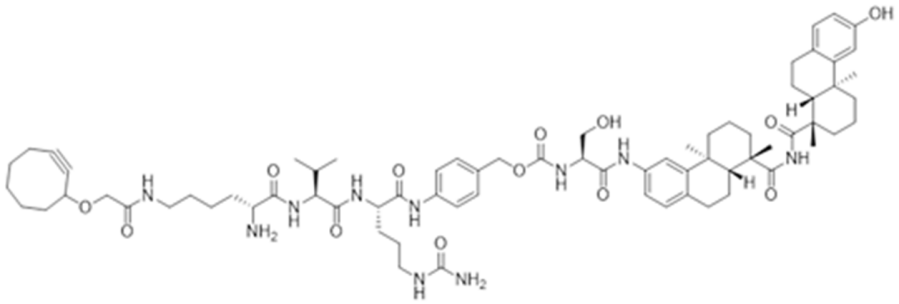
N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-amino-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (LP4-2)



[00280] A una solución de Fmoc-vc-PAB-PNP (LP4-1, 58 mg, 76 µmol) y 9j (36 mg, 58 µmol) en DMF (3 mL) se le añadió HOBt (7.9 mg, 58 µmol) y DIPEA (15 mg, 0.12 mmol), y la mezcla se agitó a 30°C durante 16 horas. El compuesto 9j se consumió entonces totalmente de acuerdo con LCMS. A la mezcla resultante se le añadió dietilamina (0.1 mL) y la reacción se agitó a TA durante una hora hasta que se eliminó Fmoc, tal como se monitoreó por LCMS. Después de filtrar la reacción, el filtrado se purificó directamente por HPLC prep (método B) para dar el compuesto LP4-2 (36 mg, 48% de rendimiento) como un sólido amarillo claro. ESI m/z: 1021 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, DMSOd6) δ 10.02 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.69-8.65 (m, 1H), 8.11-8.00 (m, 4H), 7.65- 7.53 (m, 3H), 7.40-7.30 (m, 3H), 7.30-7.20 (m, 1H), 6.96 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.65 -6.61 (m, 1H), 6.50 (dd, J = 8.0 Hz, 2.0 Hz, 1H), 6.00-5.95 (m, 1H), 5.48 (s, 2H), 5.00-4.95 (m, 3H), 4.60- 4.40 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 4H), 3.15-2.55 (m, 10H), 2.40-2.20 (m, 3H), 2.20-2.00 (m, 5H), 2.00-1.80 (m, 4H), 1.86-1.55 (m, 6H), 1.27 (d, J = 4.8 Hz, 9H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.97-0.90 (m, 6H) ppm.

N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamato de {4-[(2S)-2-

[(2S)-2-[(2R)-2-amino-6-[2-(ciclooct-2-in-1-iloxi)acetamido]hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (LP15)



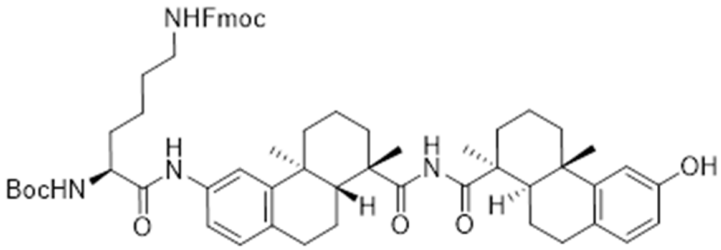
[00281] A una solución del compuesto LP4-3 (24 mg, 44 µmol) en DMF (2 mL) se le añadió HATU (17 mg, 44 µmol) y el compuesto LP4-2 (35 mg, 34 µmol) en sucesión a temperatura ambiente. . La mezcla se agitó durante unos minutos a TA hasta que la mezcla fue homogénea. A esta mezcla se le añadió DIPEA (8,8 mg, 68 µmol) a temperatura ambiente con una jeringa. La mezcla resultante se agitó a TA durante 2 horas hasta que el LP4-2 se consumiera principalmente de acuerdo con LCMS. A esta mezcla de reacción se le añadió luego dietilamina o piperidina (0.1 mL, exceso) por goteo a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante una hora hasta que se eliminó el grupo Fmoc, tal como se monitoreó por LCMS. (Nota: tanto la dietilamina como la piperidina fueron efectivas). La mezcla de reacción se purificó directamente por HPLC prep. (Método B) para dar el compuesto LP15 (15 mg, 33% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 1313,6 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 7.59 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.36-7.26 (m, 3H), 7.01 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.57-6.54 (m, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.64-4.52 (m, 1H), 4.35-4.28 (m, 2H), 4.21 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 4.01-3.98 (m, 1H), 3.88-3.84 (m, 3H), 3.43 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 3.26-3.10 (m, 4H), 3.00-2.76 (m, 3H), 2.38-2.24 (m, 7H), 2.19-2.02 (m, 9H), 1.98-1.78 (m, 4H), 1.74-1.54 (m, 12H), 1.45-1.26 (m, 14H), 1.13 (s, 6H), 1.00 (t, J = 7.5 Hz, 6H) ppm.

EJEMPLO 1i

Síntesis de LP311 (figura 1h)

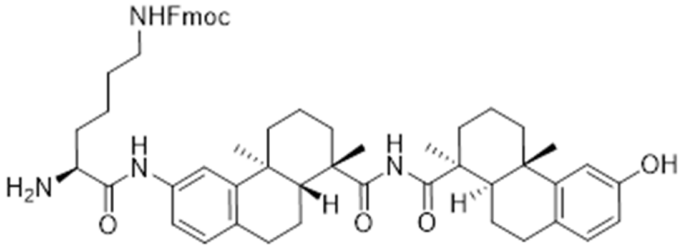
N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-

4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-5-{[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino}pentil]carbamato de terc-butilo (LP11-1)



[00282] A una solución de N-Boc-N'-Fmoc-L-lisina (0.21 g, 0.45 mmol) en DMF (2 mL) se le añadieron HATU (0.24 g, 0.64 mmol) y DIPEA (0.15 g, 1.1 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a TA durante 3 minutos. Luego se añadió a la mezcla carga útil 9d (0.20 g, 0.38 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 15 minutos hasta que se completó la reacción, tal como se monitoreó por LCMS. La mezcla de reacción se filtró y se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar el compuesto LP11-1 (0.10 g, rendimiento del 27%) como un sólido blanco. ESI m/z: 979 (M + 1)+.

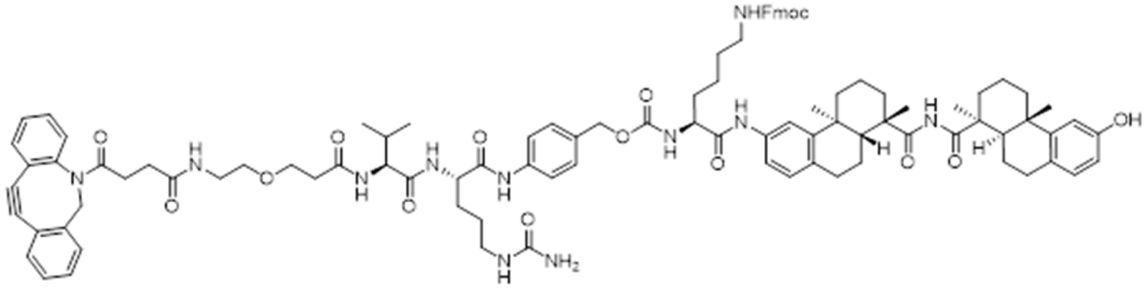
N-[(5S)-5-Amino-5-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}pentil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (LP11-2)



[00283] A una solución del compuesto LP11-1 (0.10 g, 0.10 mmol) en DCM se le añadió TFA (2 mL) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a TA durante una hora hasta que Boc se eliminara totalmente de acuerdo con LCMS. Los volátiles se eliminaron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía instantánea de fase inversa (acetonitrilo al 0-100% en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar el compuesto LP11-2 (77 mg, rendimiento del 86%) como un sólido blanco. ESI m/z: 879 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, DMSOd6) δ 9.87-9.52 (m, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.92-7.81 (m, 2H), 7.71-7.48 (m, 3H), 7.44-7.22 (m, 6H), 7.00-6.90 (m, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.66-6.60

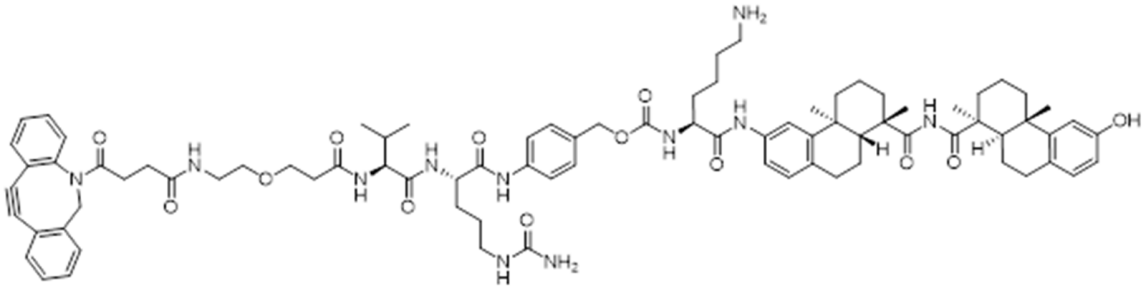
(m, 1H), 6.54-6.47 (m, 1H), 4.38- 4.14 (m, 3H), 3.27-3.17 (m, 1H), 3.01-2.93 (m, 2H), 2.90-2.66 (m, 4H), 2.33-2.06 (m, 7H), 1.94-1.78 (m, 4H), 1.67-1.51 (m, 5H), 1.48-1.07 (m, 16H), 1.03-0.92 (m, 6H) ppm.

N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-5-{[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino}pentil]carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (LP11-3)



[00284] A una mezcla de compuesto LP11-2 (57 mg, 65 µmol) y compuesto LP9-5 (0.10 g, 96 µmol) en DMF (3 mL) se le añadieron HOBt (30 mg, 0.22 mmol) y DIPEA (0.11 g, 0.81 mmol), y la mezcla se agitó a TA durante una hora, que se controló por LCMS. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía instantánea de fase inversa (acetonitrilo al 0-100% en bicarbonato de amonio acuoso (10 mM)) para dar el compuesto LP11-3 (97 mg, rendimiento del 81%) como un sólido blanco. ESI m/z: 909 (M/2 + 1)+.

N-[(1S)-5-amino-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}pentil]carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (LP311)

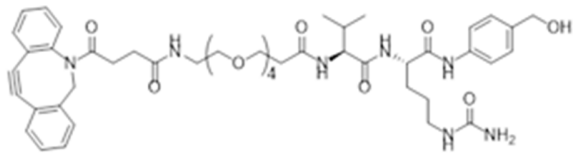


[00285] Se añadió dietilamina (45 mg, 0.62 mmol) a una solución del compuesto LP11-3 (97 mg, 53 µmol) en DMF (3 mL). La mezcla se agitó a TA durante 2 horas hasta que Fmoc se eliminara por completo de acuerdo con LCMS. La mezcla de reacción se purificó directamente por HPLC prep. (Método B) para dar el compuesto LP311 (40 mg, 47% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 798 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.99 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.21-8.10 (m, 2H), 7.88 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.82-7.59 (m, 6H), 7.55-7.43 (m, 5H), 7.41-7.29 (m, 5H), 6.98 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.53 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.06-5.96 (m, 1H), 5.50-5.38 (m, 2H), 5.09-4.92 (m, 3H), 4.45- 4.35 (m, 1H), 4.28-4.21 (m, 1H), 4.14-4.04 (m, 1H), 3.67-3.58 (m, 4H), 3.52-3.45 (m, 13H), 3.14-2.69 (m, 9H), 2.63-2.56 (m, 1H), 2.50-2.44 (m, 1H), 2.43-2.37 (m, 1H), 2.33-2.13 (m, 7H), 2.06-1.85 (m, 6H), 1.82-1.56 (m, 9H), 1.51-1.23 (m, 17H), 1.21-1.13 (m, 2H), 1.10-0.80 (m, 12H) ppm.

EJEMPLO 1j

Síntesis de LP39 (figura 1i)

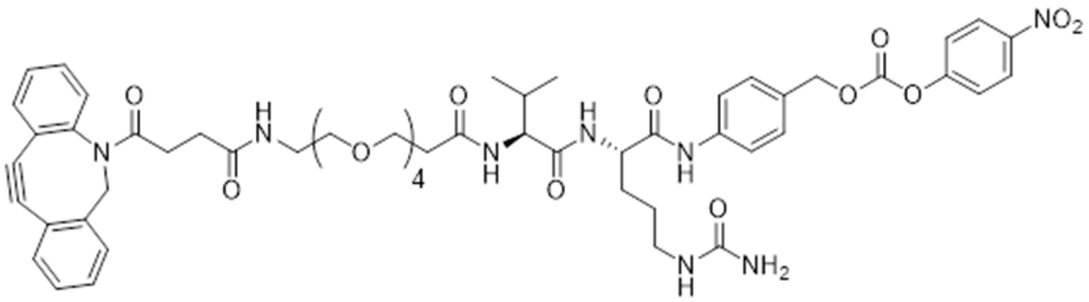
1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(carbamoilamino)-1-{[4-(hidroximetil)fenil]carbamoil}butil]carbamoil}-2-metilpropil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (LP9-3)



[00286] A una solución de compuesto LP9-2 (0.30 g, 0.54 mmol) en DMF (10 mL) se le añadieron HATU (0.31 g, 0.81 mmol) y DIPEA (0.14 g, 1.1 mmol) sucesivamente a

temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. A la solución de reacción se le añadió VC-PAB-OH (LP9-1, CAS: 159857-79-1, 0.21 g, 0.54 mmol) a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas; progreso de la reacción monitoreado por LCMS. La mezcla de reacción se filtró a través de una membrana de filtración y el filtrado se purificó directamente por cromatografía instantánea inversa (acetonitrilo al 0-100% en agua (con 10 mmol/L de bicarbonato de amonio)) para dar el compuesto LP9-2 (0.30 g, rendimiento del 60%) como un sólido blanco. ESI m/z: 617 (M + H)+.

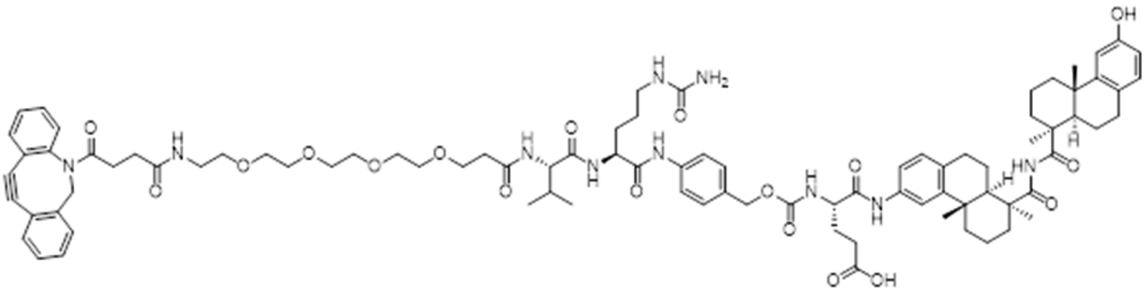
4-Nitrofenilcarbonato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (LP9-5)



[00287] A una solución del compuesto LP9-3 (0.15 g, 0.16 mmol) en DMF (10 mL) se le añadió carbonato de bis(4-nitrofenilo) (LP9-4, 0.15 g, 0.49 mmol) y DIPEA (63 mg, 0.49 mmol) sucesivamente a 0°C. La mezcla se agitó entonces a TA durante 3 horas hasta que se consumieraLP9-3 en su mayor parte, como se monitoreó por LCMS. La mezcla de reacción se filtró a través de una membrana de filtración y el filtrado se purificó directamente por cromatografía instantánea inversa (acetonitrilo al 0-100% en agua (con 10 mmol/L de bicarbonato de amonio)) para dar el compuestoLP9-5 (50 mg, 28% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 1079 (M + H)+.

Ácido (4S)-4-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaeno-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metoxi)carbonil]amino}-4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-

carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}butanoico (LP39)



[00288] A una mezcla del compuesto 9o (50 mg, 76 µmol) y el compuesto LP9-5 (0.10 g, 96 µmol) en DMF (1 mL) se le añadieron HOBt (16 mg, 0.12 mmol) y DIPEA (39 mg, 0.31 mmol), y la mezcla se agitó a TA durante una hora, que se controló por LCMS. La mezcla de reacción se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar el compuesto LP39 (40 mg, 33% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 799 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 10.02 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.20-8.07 (m, 2H), 7.94-7.87 (m, 1H), 7.82-7.76 (m, 1H), 7.70-7.57 (m, 4H), 7.54-7.42 (m, 4H), 7.40-7.26 (m, 6H), 6.99-6.91 (m, 1H), 6.85-6.79 (m, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.53-6.47 (m, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.07-4.88 (m, 3H), 4.42-4.32 (m, 1H), 4.27-4.20 (m, 1H)), 4.11-4.02 (m, 1H), 3.63-3.55 (m, 3H), 3.51-3.41 (m, 13H), 3.11-2.58 (m, 10H), 2.40-2.10 (m, 11H), 2.00-1.55 (m, 15H), 1.46-1.09 (m, 14H), 1.05-0.94 (m, 6H), 0.99-0.77 (m, 7H) ppm.

EJEMPLO 2

[00289] Este ejemplo demuestra métodos generales para hacer los intermedios clave, 7b-7f. Las síntesis químicas para preparar 7b-7e se mostraron en la figura 2.

[00290] La amida 7f se preparó a partir de una reacción de acoplamiento de amida de 1 con NH4Cl catalizada por HATU. Los intermedios 7b y 7c se prepararon a partir de fenol-O-alquilación de 7f con 10b y 10c, respectivamente. Los intermedios 7d y 7e se sintetizaron a partir de la conversión de fenol 2 en triflato11, seguido de condiciones de acoplamiento de Buchwald para introducir la funcionalidad amino enmascarada de 12d y 12e; luego la desprotección ácida de 12d y 12e seguida de hidrólisis básica para convertir los ésteres en los ácidos 13d y 13e, respectivamente; finalmente, la protección Boc de 13d y 13e proporcionó 14d y 14e, respectivamente, que se llevaron adicionalmente a las

reacciones de acoplamiento de amida con sal de amonio para proporcionar 7d y 7e, respectivamente. El intermedio 7g se preparó a partir de una reacción de acoplamiento de amida de 1 con 2,4-dimetoxibencilamina para formar 7g-1, seguido de conversión al análogo de triflato7g-2 con anhídrido tríflico. El análogo ciano7g-3 se preparó usando cianuro de zinc, y se logró una desprotección final con TFA para eliminar el resto 2,4-dimetoxi-bencilo.

[00291] Como alternativa, se preparó 13d a partir de la protección Boc del ácido podocárpico1 para formar E2, seguido de conversión a triflatoE3. El E3 intermedio era estable a la purificación mediante cromatografía en columna de fase normal, y se trató adicionalmente con difenilmetanimina en condiciones de Buchwald para proporcionar una mezcla de E4-1, E4-2, E4-3 y 13d, que se hidrolizaron en HCl ac. en THF (v/v = 1:1) en un recipiente para proporcionar 13d con un rendimiento total del 28%.

EJEMPLO 3

[00292] Este ejemplo demuestra un método para hacer el intermedio 7a. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00293] Paso 1: elaboración de(1S,4aS,10aR)-Metil-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato (2)

[00294] A una solución de ácido podocárpico (1, 0.20 g, 0.73 mmol) en metanol (1.4 mL) y tolueno (5.2 mL) se le añadió (trimetilsilil)diazometano (2 M en hexano, 0.45 mL). La mezcla de reacción se agitó a 10-25°C durante la noche. Después de que el ácido podocárpico se consumió totalmente en base a LC-MS, los volátiles se eliminaron al vacío, y el residuo se purificó por cromatografía instantánea (0-35% acetato de etilo en éter de petróleo) para proporcionar el compuesto 2 (0.21 g, 98% de rendimiento) como un sólido blanco ESI m/z: 289 (M + H)+. RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 8.95 (s, 1H), 6.79 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.48 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.80-2.55 (m, 2H), 2.20-2.02 (m, 3H), 1.96-1.71 (m, 2H), 1.56-1.45 (m, 2H), 1.27 (t, J = 13.5 Hz, 1H), 1.21 (s, 3H), 1.09 (td, J = 13.5, 4.1 Hz, 1H), 0.91 (s, 3H) ppm.

[00295] Paso 2: elaboración de 6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilatode (1S,4aS,10aR)-metilo(3)

[00296] A una solución del compuesto 2 (0.10 g, 0.35 mmol) en DMF (1.2 mL) se le añadió carbonato de cesio (0.12 g, 0.38 mmol) y la mezcla se agitó a 20-25°C durante 15 minutos. Luego se le añadió a la mezcla bromuro de bencilo (88 mg, 0.52 mmol) a temperatura ambiente, y la mezcla resultante se agitó durante 4 horas adicionales, luego se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. Los orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 10-35% en éter de petróleo) para dar el compuesto 3 (0.13 g, rendimiento del 99%) como un sólido blanco. ESI m/z: 379 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 7.60-7.20 (m, 5H), 7.00-6.82 (m, 2H), 6.73 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 5.03 (s, 2H), 3.66 (s, 3H), 2.95-2.58 (m, 2H), 2.36-2.10 (m, 3H), 2.10-1.85 (m, 2H), 1.70-1.48 (m, 2H), 1.44-1.21 (m, 4H), 1.15 (t, J = 17,2 Hz, 1H), 1.01 (s, 3H) ppm.

[00297] Paso 3: elaboración de ácido (1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico (4)

[00298] A una mezcla del compuesto 3 (0.10 g, 0.26 mmol) en DMSO (1.7 mL) se le añadióterc-butóxido de potasio (0.30 g, 2,6 mmol), y la mezcla se agitó a 100°C durante 2 horas hasta que la reacciónse completara, de acuerdo con lo controlado por LC-MS y TLC. Después de enfriar la reacción a 25°C, la mezcla se inactivó con clorhidrato acuoso (1 N) a pH 2, y se extrajo con acetato de etilo. Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (20-35% de acetato de etilo en éter de petróleo) para proporcionar el compuesto 4 (92 mg, 95% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 365 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 7.42 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.36 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.30 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.72 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 2.82 (dd, J = 16.3, 4.4 Hz, 1H), 2.77-2.65 (m, 1H), 2.24 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 2.19 (dd, J = 13.8, 6.0 Hz, 1H), 2.11-1.96 (m, 2H), 1.64- 1.56 (m, 1H), 1.53 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 1.35 (td, J = 13.3, 3.7 Hz, 1H), 1.30 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.11-1.05 (m, 1H) ppm.

[00299] Paso 4: elaboración de cloruro de (1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilo (6a)

[00300] A una solución del compuesto 4 (0.10 g, 0.27 mmol) en 1,2-dicloroetano (DCE) (2 mL) se le añadió cloruro de tionilo (0.20 mL), y la reacción se agitó a 90°C durante

3 h. . Después de que la reacción se enfrió a temperatura ambiente, los volátiles se eliminaron al vacío y el producto bruto se usó para el siguiente paso sin purificación adicional.

[00301] Paso 4 alternativo: elaboración de (1S,4aS,10aR)-perfluorofenil-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato (6b)

[00302] Se añadió DIPEA (0.51 g, 4,1 mmol) a una solución de 4 (0.50 g, 1.4 mmol) en DMF (5 mL), y luego 2,2,2-trifluoroacetato deperfluorofenilo5 (0.77 g, 2,7 mmol). Esta mezcla se agitó a 25°C durante la noche, y luego se diluyó con éter (80 mL). La mezcla orgánica se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (acetato de etilo al 0-15% en éter de petróleo) para dar el éster 6b (0.46 g, rendimiento del 63%) como un sólido blanco. RMN 1H (500 MHz, acetonad6) δ 7.33 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.24 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.17 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.86-6.80 (m, 2H), 6.63 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 4.95 (s, 2H), 2.78-2.57 (m, 3H), 2.28-2.19 (m, 2H), 2.14 (dd, J = 13.5, 5.9 Hz, 1H), 2.02-1.81 (m, 1H), 1.63 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 1.60-1.52 (m, 1H), 1.40 (s, 3H), 1.29 (td, J = 13.4, 3.8 Hz, 1H), 1.22 (td, J = 13,8, 4,1 Hz, 1H), 1.05 (s, 3H) ppm.

[00303] Paso 5: elaboración de (1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (7a)

[00304] Una solución del compuesto 4 (50 mg, 0.14 mmol) y HATU (57 mg, 0.15 mmol) en DMF se agitó a 25°C durante 15 min. A la solución se le agregaron DIPEA (89 mg, 0.69 mmol) y cloruro de amonio (25 mg, 0.48 mmol) a 25°C, y la mezcla resultante se agitó durante 4 h adicionales, se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. Los orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-35% en éter de petróleo) para dar 7a (48 mg, rendimiento del 91%) como un sólido blanco. ESI m/z: 364 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 7.63-7.22 (m, 5H), 7.02-6.82 (m, 2H), 6.78 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 2.95-2.58 (m, 2H), 2.36-2.10 (m, 3H), 2.10-1.85 (m, 2H), 1.70-1.48 (m, 2H), 1.44-1.21 (m, 4H), 1.15 (t, J = 17.2 Hz, 1H), 1.01 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 4

[00305] Este ejemplo demuestra métodos para preparar los intermedios 7b-7g. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura2.

[00306] (1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (7f)

[00307] A una solución de ácido podocárpico 1 (0.30 g, 1.1 mmol) en DMF (4 mL) se le añadieron HATU (0.46 g, 1.2 mmol), DIPEA (0.57 g, 4.4 mmol) y cloruro de amonio (0.23 g, 4.4mmol), y la solución se agitó a 10-25°C durante 16 h. La mezcla se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-35% en éter de petróleo) para dar el compuesto deseado (0.77 g, rendimiento del 100%) como un aceite. ESI m/z: 274,1 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.58-6.47 (m, 1H), 2.79 (dd, J = 16.1, 4.1 Hz, 1H), 2.71-2.60 (m, 1H), 2.29-2.13 (m, 3H), 2.13-1.95 (m, 2H), 1.67-1.56 (m, 1H), 1.48 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 1.36 (td, J = 13.2, 4.0 Hz, 1H), 1.27 (s, 3H), 1.19 (dt, J = 8.9, 4.5 Hz, 1H), 1.16 (s, 3H) ppm.

[00308] (1S,4aS,10aR)-6-(2-(terc-butildimetilsililoxi)etoxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (7b)

[00309] A una solución de 7f (0.33 g, 0.47 mmol) en DMF (2.5 mL) se le añadieron carbonato de cesio (0.60 g, 1.8 mmol) y (2-bromoetoxi)(terc-butil)dimetilsilano (10b, 0.45 g,2.1 mmol). Después de agitar la reacción durante 8 h bajo nitrógeno, la mezcla se vertió en agua (30 mL) y acetato de etilo (30 mL). Los orgánicos se separaron y se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo al 20-35% en éter de petróleo) para dar el compuesto 7b (0.21 g, rendimiento del 87%). ESI m/z: 432.2 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanold4) δ 6.79 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.69 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.53 (dd, J = 8.3, 1.5 Hz, 1H), 3.84 (dd,J = 14.3, 4.1 Hz, 4H), 2.71 (dd, J = 16.1, 4.6 Hz, 1H), 2.64-2.47 (m, 1H), 2.20-2.02 (m, 3H), 2.01-1.84 (m, 2H), 1.52 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 1.37 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 1.25 (td, J = 13.2, 3.3 Hz, 1H), 1.16 (s, 3H), 1.12-0.99 (m, 4H), 0.81 (s, 9H), 0.00 (s, 6H) ppm.

[00310] 2-((4bS,8S,8aR)-8-carbamoil-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-iloxi)etilcarbamato de terc-butilo (7c)

[00311] Siguiendo el procedimiento para preparar 7b, se obtuvo 7c (60 mg, 40% de rendimiento) como un sólido blanco a partir de 7f tratado con 10c. ESI m/z: 360.9 (M - 55)+, 438.9 (M + 23)+.

[00312] terc-butil-(4bS,8S,8aR)-8-carbamoil-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilcarbamato (7d)

[00313] Paso 1: elaboración de (1S,4aS,10aR)-metil-1,4a-dimetil-6-(trifluorometilsulfoniloxi)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilato (11)

[00314] A una solución del compuesto 2 (0.33 g, 1.1 mmol) en DCM (6 mL) se le añadieron 2,6-lutidina (0.15 g, 1.4 mmol) y DMAP (28 mg, 0.23 mmol). La mezcla se enfrió a -78°C y se añadió anhídrido tríflico (0.39 g, 1.4 mmol). La mezcla resultante se dejó calentar a 25°C y se agitó a 25°C durante 4 h adicionales. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (50 mL), y los orgánicos se lavaron con agua (6 mL), clorhidrato ac. (1 N, 10 mL) y salmuera (10 mL), luego se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (acetato de etilo al 0-10% en éter de petróleo) para dar el compuesto 11 (0.43 g, rendimiento del 89%) como un aceite viscoso. ESI m/z: 421.2 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, CDCl3) δ 7.12 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.97 (dd, J = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 3.67 (s,J = 3.4 Hz, 3H), 2.93 (dd, J = 17.2, 4.4 Hz, 1H), 2.85-2.71 (m, 1H), 2.29 (d, J = 13.5 Hz, 1H), 2.25-2.14 (m, 2H), 2.03-1.89 (m, 2H), 1.71-1.61 (m, 1H), 1.56-1.48 (m, 1H), 1.40 (td, J = 13.4, 4.2 Hz, 1H), 1.30-1.22 (m, 3H), 1.09 (td, J = 13,6, 4,2 Hz, 1H), 1.02 (s, 3H) ppm.

[00315] Paso 2: elaboración de ácido (1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico (13d)

[00316] A una mezcla de carbonato de cesio (0.62 g, 1.9 mmol), X-fos (50 mg, 0.11 mmol) y Pd2(dba)3 (50 mg, 55 µmol) en terc-butanol (5 mL) bajo una atmósfera de argón se le añadieron una solución del compuesto 11 (0.40 g, 0.95 mmol) en terc-butanol (5 mL) y luego difenilmetanimina (0.26 g, 1.4 mmol). Después de agitar la reacción a 100°C durante 30 minutos bajo argón, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con DCM y se filtró a través de Celite para eliminar los residuos insolubles. El filtrado se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío. Al residuo (12dcrudo) se le añadió clorhidrato en metanol (4 N, 2 mL) y la solución resultante se agitó a 25°C durante 5 h. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por cromatografía instantánea (acetato de etilo al 0-20% en éter de petróleo) para dar éster12d'-metílico (0.28 g) como una anilina-éster sólida blanca. ESI m/z: 288 (M + 1)+, RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.72 (s, 2H), 7.22 (s, 1H), 7.11 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.86 (dd, J = 17.0. 4.5 Hz, 1H), 2.79-2.66 (m, 1H), 2.21-2.05 (m, 3H), 1.97-

1.76 (m, 2H), 1.55 (t, J = 13.7 Hz, 2H), 1.30 (td, J = 13.2, 3.7 Hz, 1H), 1.22 (s, 3H), 1.10 (td, J = 13.4, 4,0 Hz, 1H), 0.93 (s, 3H) ppm. A una mezcla de éster 12d'-metílico (0.12 g, 0.42 mmoles) en DMF (3 mL) se le añadió etanotiolato de sodio (0.37 g, 4,2 mmoles), y la mezcla resultante se agitó a 60°C durante 16 h. Después de enfriar la reacción a temperatura ambiente, la mezcla resultante se diluyó con agua y se acidificó con ac. clorhidrato (1 N, 20 mL). La solución acuosa se extrajo con acetato de etilo y las fases orgánicas se separaron y se concentraron al vacío para dar 13d (0.14 g) en bruto, que se usó en el siguiente paso directamente. ESI m/z: 274.2 (M + 1)+.

[00317] Una forma alternativa de preparar 13d a través de E2, E3 y E4 se describe a continuación:

[00318] Paso 1: elaboración (1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-anhídrido carboxílico (terc-butilcarbónico) (E2)

[00319] A una mezcla de ácido podocárpico (1, 0.40 g, 1.5 mmol) y carbonato de sodio (0.31 g, 2.9 mmol) en t-BuOH (10 mL) se le añadiódicarbonato de di-terc-butilo (0.35 g, 1.6 mmol)) La mezcla de reacción se agitó a 10-25°C durante 16 h. La reacción se controló por TLC y LCMS hasta que se consumió el ácido podocárpico. La mezcla resultante se vertió en acetato de etilo (100 mL) y los orgánicos se lavaron con agua (20 mL x 2) y salmuera (50 mL). La solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía instantánea (acetato de etilo al 0-20% en éter de petróleo) para dar el compuesto del título E2 (0.41 g, rendimiento del 76%) como un aceite viscoso. ESI m/z: 319,2 (M - 55)+. RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 8.95 (s, 1H), 6.79 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.64 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.49 (dd, J = 8.0.2.5 Hz, 1H), 2.76-2.72 (m, 1H), 2.67-2.60 (m, 1H), 2.16-2.03 (m, 3H), 1.85-1.78 (m, 2H), 1.60-1.57 (m, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.33-1.27 (m, 4H), 1.21-1.15 (m, 1H), 1.04 (s, 3H) ppm.

[00320] Paso 2: elaboración (1S,4aS,10aR)-1,4a-dimetil-6-(trifluorometilsulfoniloxi)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-anhídrido carboxílico (terc-butilcarbónico) (E3)

[00321] A una solución del compuesto E2 (0.30 g, 0.80 mmol) en DCM (16 mL) se añadieron piridina (95 mg, 1.2 mmol) y DMAP (10 mg, 0.080 mmol) en atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió a -20°C y se le añadió anhídrido tríflico (0.27 g, 0.96 mmol) con una jeringa. La mezcla resultante se dejó calentar a 25°C y se agitó a 25°C durante 2 h adicionales. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (50 mL), y los orgánicos se lavaron con agua (6 mL),clorhidrato ac. (1 N, 10 mL) y salmuera (10 mL), luego se secó

sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-10% en éter de petróleo) para dar el compuesto E3 (0.27 g, rendimiento del 66%) como un aceite viscoso. ESI m/z: 529,2 (M + Na)+. RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 7.37 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.23-7.17 (m, 2H), 2.95-2.90 (m, 1H), 2.82-2.75 (m, 1H), 2.30-2.28 (m, 1H), 2.12-2.09 (m, 1H), 1.90-1.80 (m, 2H), 1.68-1.66 (m, 1H), 1.62-1.59 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.33-1.27 (m, 4H), 1.26-1.17 (m, 1H), 1.08 (s, 3H) ppm.

[00322] Paso 3: preparación de ácido (1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico (13d)

[00323] A una solución agitada del compuesto E3 (0.20 g, 0.40 mmol) y difenilmetanimina (0.086 g, 0.48 mmol) en terc-butanol (10 mL) se le añadieron carbonato de cesio (0.33 g, 1.0 mmol), X-fos(38 mg, 80 µmol) y Pd2(dba)3 (37 mg, 40 µmol) bajo una atmósfera de argón. La mezcla de reacción se agitó bajo argón a 90°C durante 3 h, se controló por LCMS, y E4-1, E4-2, E4-3 y 13d se detectaron en los espectros de LCMS en ese momento. La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con DCM (30 mL) y se filtró a través de Celite para eliminar inorgánicos. El filtrado se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en THF (5 mL) y se acidificó conHCl ac. (2 N, 5 mL). La reacción se agitó entonces a 25°C y se controló por LCMS. Después de 16 h, LCMS mostró que la mayoría de E4-1 y E4-2 se convirtieron en13d. La mezcla de reacción se neutralizó con solución acuosa saturada debicarbonato de sodio a pH 8 y se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 3). Los orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-50% en éter de petróleo) para dar el compuesto del título 13d (30 mg, 56% de rendimiento para 2 etapas) como un sólido blanco. ESI m/z: 274,2 (M + H)+.

[00324] Paso 4: elaboración de ácido (1S,4aS,10aR)-6-(terc-butoxicarbonilamino)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico (14d)

[00325] A una solución de 13d (0.12 g) en terc-butanol (5 mL) se le añadieron carbonato de sodio (0.12 g, 1.1 mmol), dicarbonato de di-terc-butilo (0.48 g, 2,2 mmol) y DMAP (20 mg, 0.16 mmol), y la mezcla se agitó a 60°C durante 16 h. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se diluyó con DCM (20 mL). Las capas orgánicas se separaron, se lavaron con ácido cítrico acuoso saturado, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de

etilo al 0-35% en éter de petróleo) para dar el compuesto 14d (0.11 g, rendimiento del 67% en 3 pasos de 11) como un sólido blanco. ESI m/z: 318,2 (M-tBu+1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 12.08 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.87 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 2.79-2.68 (m, 1H), 2.65 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 2.17-2.03 (m, 4H), 1.94-1.76 (m, 2H), 1.53 (d, J = 13.7 Hz, 1H), 1.46 (d, J = 7.4 Hz, 9H), 1.29-1.14 (m, 5H), 1.04 (s, 3H) ppm.

[00326] Paso 5: elaboración de terc-butil-(4bS,8S,8aR)-8-carbamoil-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilcarbamato (7d)

[00327] A una solución de 14d (0.11 g, 0.30 mmol) en DMF (2.4 mL) se le añadieron HATU (0.12 g, 0.32 mmol) y DIPEA (0.5 mL, 3,0 mmol), y la mezcla se agitó a 25°C durante una hora. Luego se añadió a la mezcla cloruro de amonio (0.40 g, 7.5 mmol), y la mezcla se agitó a 15-25°C durante 16 h adicionales. La mezcla resultante se diluyó con acetato de etilo (40 mL); los orgánicos se separaron y se lavaron con agua (10 mL) y salmuera (10 mL), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (acetato de etilo al 0-20% en éter de petróleo) para dar el compuesto 7d (84 mg, rendimiento del 75%) como un sólido blanco. ESI m/z: 373,3 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.20 (s, 1H), 6.97 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 2.77-2.68 (m, 2H), 2.66-2.55 (m, 1H), 2.20 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 2.13 (dd, J = 13.2, 5.3 Hz, 1H), 2.08 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 2.03- 1.86 (m, 2H), 1.54 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.26 (t, J = 26.7Hz, 1H), 1.18 (s, 3H), 1.14-1.03 (m, 4H) ppm.

[00328] terc-Butil-4-((4bS,8S,8aR)-8-carbamoil-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il)piperazin-1-carboxilato (7e)

[00329] Paso 1: elaboración de ácido(1S,4aS,10aR)-1,4a-dimetil-6-(piperazin-1-il)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxílico (14e)

[00330] A una solución del compuesto 11 (0.40 g, 0.95 mmol) y piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (0.29 g, 1.5 mmol) en terc-butanol (5 mL) en atmósfera de argón se le añadieron carbonato de cesio (0.62 g, 1.9 mmol), X-phos (50 mg, 0.11 mmol) y Pd2(dba)3 (50 mg, 55 µmol). Después de agitar la reacción a 100°C durante 30 minutos bajo argón, la mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con DCM y se filtró a través de Celite para eliminar los inorgánicos. El filtrado se lavó con agua, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo al 20-35% en éter de petróleo) para dar 12e (0.42 g) como un sólido amarillo. ESI m/z: 457,1 (M + 1)+. Una solución de 12e (0.23 g, 0.5 mmol) en DMSO

(5 mL) se trató con terc-butóxido de potasio (0.25 g, 2.2 mmol) a 100°C durante una hora. Después de enfriar la reacción a temperatura ambiente, a la mezcla del 13e crudo se le añadió dicarbonato de di-terc-butilo (0.92 g, 4.3 mmoles) a 20-25°C, y la mezcla resultante se agitó a 25°C durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluyó luego con acetato de etilo (100 mL), los orgánicos se lavaron con agua, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (0-35% acetato de etilo en éter de petróleo) para dar el compuesto 14e (0.15 g, 79% de rendimiento en 3 pasos a partir de 11) como un sólido amarillo. ESI m/z: 443 (M + 1)+.

[00331] Paso 2: elaboración de terc-butil-4-((4bS,8S,8aR)-8-carbamoil-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il)piperazin-1-carboxilato (7e)

[00332] A una solución de 14e (0.10 g, 0.30 mmol) y HATU (0.12 g, 0.32 mmol) en DMF (2.4 mL) se le añadió DIPEA (0.5 mL, 3.0 mmol), y la solución resultante se agitó a 25°C por una hora. Luego se le añadió a la mezcla cloruro de amonio (0.40 g, 7.5 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 15-25°C durante 16 h adicionales. La mezcla resultante se diluyó con acetato de etilo (40 mL), y los orgánicos se lavaron con agua (10 mL) y salmuera (10 mL), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-20% en éter de petróleo) para dar el compuesto 7e (96 mg, rendimiento del 87%) como un sólido blanco. ESI m/z: 442 (M + 1)+.

[00333] (1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (7g)

[00334] Paso 1: elaboración de (1S,4aS,10aR)-N-(2,4-dimetoxibencil)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (7g-1)

[00335] Siguiendo el procedimiento para preparar 7f, la reacción de acoplamiento del compuesto 1 con 2,4-dimetoxibencilamina proporcionó 7g-1 (0.57 g, 93% de rendimiento) como un sólido amarillo claro. ESI m/z: 424,1 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 8.90 (s, 1H), 7.33 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.06 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.77 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.60 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.48-6.42 (m, 2H), 4.28-4.02 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.74-2.67 (m, 1H), 2.62-2.53 (m, 1H), 2.24-2.05 (m, 3H), 2.02-1.90 (m, 1H), 1.90-1.78 (m, 1H), 1.56-1.45 (m, 1H), 1.42-1.22 (m, 2H), 1.19 (s, 3H), 1.09-1.01 (m, 1H), 0.87 (s, 3H) ppm.

[00336] Paso 2: elaboración de trifluorometansulfonato de (4bS,8S,8aR)-8-(2,4-dimetoxibencilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilo (7g-2)

[00337] Siguiendo el procedimiento de preparación de 11, se obtuvo7g-2 (0.59 g, 96% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 556.2 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 7.43 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.31 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.22-7.11 (m, 2H), 7.06 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.52 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.45 (dd, J = 8.3, 2.3 Hz, 1H), 4.17 (d, J = 5.7 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 2.92-2.82 (m, 1H), 2.78-2.65 (m, 1H), 2.27-2.15 (m, 3H), 2.03-1.86 (m, 2H), 1.57-1.48 (m, 1H), 1.42-1.17 (m, 5H), 1.10-1.05 (m, 1H), 0.91 (s, J = 5.9 Hz, 3H) ppm.

[00338] Paso 3: elaboración de (1S,4aS,10aR)-6-ciano-N-(2,4-dimetoxibencil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (7g-3)

[00339] A una solución del compuesto 7g-2 (0.20 g, 0.36 mmol) en DMF (3.6 mL) se le añadieron tetraquis(trifenilfosfina)paladio (42 mg, 36 µmol) y cianuro de zinc (84 mg, 0.72 mmol) bajo nitrógeno. . La mezcla se agitó bajo nitrógeno a 110°C durante 4 h hasta que se completó la reacción, controlada por LCMS. Después de enfriar la reacción a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (100 mL) y los orgánicos se lavaron con agua (20 mL) y salmuera (20 mL). Los orgánicos se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 10-20% en éter de petróleo) para dar el compuesto del título 7g-3 (0.13 g, rendimiento del 82%) como un sólido blanco. ESI m/z: 433,2 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 7.74 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 7.47 (dd, J = 7.9, 1.4 Hz, 1H), 7.44 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.20 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.06 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.45 (dd, J = 8.3, 2.3 Hz, 1H), 4.16 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.05-2.87 (m, 1H), 2.82-2.70 (m, 1H), 2.36-2.28 (m, 1H), 2.26-2.16 (m, 2H), 2.01-1.85 (m, 2H), 1.58-1.48 (m, 1H), 1.45-1.17 (m, 5H), 1.13-1.05 (m, 1H), 0.91 (s, 3H) ppm.

[00340] Paso 4: elaboración de (1S,4aS,10aR)-6-ciano-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (7g)

[00341] A una solución del compuesto 7g-3 (0.12 g, 0.28 mmol) en DCM (3 mL) se le añadió TFA (3 mL) por goteo a 0°C. La mezcla resultante se dejó calentar y luego se agitó a 25°C durante 48 h. La masa deseada se detectó por LCMS como pico principal. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por cromatografía instantánea (acetato de etilo al 20-40% en éter de petróleo) para dar el compuesto del título 7g (70 mg,

71% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 283.2 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 7.76 (d, J = 1.3 Hz, 1H), 7.48 (dd, J = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 11.8 Hz, 2H), 3.00-2.85 (m, 1H), 2.84-2.69 (m, 1H), 2.41-2.27 (m, 1H), 2.22-2.15 (m, 1H), 2.15-2.09 (m, 1H), 2.04-1.89 (m, 2H), 1.56-1.48 (m, 1H), 1.40-1.20 (m, 2H), 1.16 (s, 3H), 1.11-1.00 (m, 4H) ppm.

EJEMPLO 5

[00342] Este ejemplo demuestra métodos para preparar los intermedios 8a-e y 8g. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00343] Procedimientos generales para los compuestos 8a-e y 8g: se preparó una solución de uno de los intermedios 7a-g (40-100 mg) en THF (0.5-2 mL) para hacer la concentración 0.06-0.28 M. A la solución se le añadió bis(trimetilsilil)amida de litio (LiHMDS) (1 M en hexano, 1.2 equiv.) por goteo a -78°C, y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante 2 h. A la mezcla se le añadió una solución de 6a (0.9-2.2 equiv.) o6b (1.2 equiv.) en THF (1 mL), y la mezcla resultante se agitó a 10-20°C durante la noche. Después de que se consumieron 7a-g tal como se monitoreó por LCMS, la reacción se interrumpió con solución acuosa saturadadecloruro de amonio y fue extraída con acetato de etilo. Los orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-35% en éter de petróleo) para dar 8a-e y 8g como un sólido blanco.

[00344] (1S,4aS,10aR)-6-(Benciloxi)-N-((1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (8a): el procedimiento sintético de 8a fue similar a lo que fue reportado en Bioorg. Med. Chem.Lett.2005, 15, 2824-2828, pero LiHMDS fue reemplazado por NaHMDS. Se obtuvo 8a (60 mg, 31% de rendimiento) del tratamiento de 7a (0.10 g, 0.28 mmol) con 6a (0.10 g, 0.26 mmol). ESI m/z: 710 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, CDCl3) δ 8.16 (s, 1H), 7.46-7.28 (m, 10H), 6.97 (dd, J = 8.4, 3.0 Hz, 2H), 6.88 (dd, J = 5.8, 2.6 Hz, 2H), 6.75 (dt, J = 8.4, 2.9 Hz, 2H), 5.02 (s, 4H), 2.98-2.89 (m, 1H), 2.89-2.71 (m, 3H), 2.33-2.14 (m, 6H), 2.12-1.93 (m, 4H), 1.72-1.61 (m, 4H), 1.45-1.40 (m, 2H), 1.38 (s, 3H), 1.31 (s, 3H), 1.22-1.09 (m, 8H) ppm.

[00345] (1S,4aS,10aR)-6-(Benciloxi)-N-((1S,4aS,10aR)-6-(2-(terc-butildimetilsililoxi)etoxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-

1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (8b): el compuesto 8b (34 mg, 38% de rendimiento) se obtuvo del tratamiento de 7b (50 mg, 0.12 mmol) con 6a (0.10 g, 0.26 mmol). ESI m/z: 779 (M + 1)+.

[00346] 2-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(Benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-iloxi)etilcarbamato de terc-butilo (8c): el compuesto 8c (0.11 g, 60% de rendimiento) se obtuvo del tratamiento de 7c (0.10 g, 0.24 mmol) con 6b (0.15 g, 0.29 mmol). ESI m/z: 763 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, CDCl3) δ 8.14 (s, 1H), 7.37-7.33 (m, 2H), 7.32-7.28 (m, 2H), 7.26-7.22 (m, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.80 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.69 (dd, J = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 6.60 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 4.95 (s, 2H), 3.90 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 3.61 (s, 1H), 3.44 (s, 2H), 2.87 (dd, J = 16.2, 4.1 Hz, 2H), 2.80-2.67 (m, 2H), 2.25-2.11 (m, 6H), 2.06-1.89 (m, 4H), 1.67-1.54 (m, 4H), 1.45-1.29 (m, 11H), 1.24 (s, 6H), 1.14-1.03 (m, 8H) ppm.

[00347] terc-Butil-(4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilcarbamato (8d): el compuesto 8d (37 mg, 46% rendimiento) se obtuvo del tratamiento de 7d (42 mg, 0.11 mmol) con 6b (72 mg, 0.14 mmol). ESI m/z: 719 (M + 1)+.

[00348] terc-Butil-4-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il)piperazin-1-carboxilato (8e):el compuesto 8e (80 mg, 99% de rendimiento) se obtuvo del tratamiento de 7e (45 mg, 0.10 mmol) con 6b (65 mg, 0.12 mmol). ESI m/z: 788,4 (M + 1)+.

[00349] (1S,4aS,10aR)-6-(Benciloxi)-N-((1S,4aS,10aR)-6-ciano-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (8g): el compuesto 8g (83 mg, 67% rendimiento) se obtuvo del tratamiento de 7g (56 mg, 0.20 mmol) con 6b (0.16 g, 0.30 mmol). ESI m/z: 629,2 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 8.14 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.51 (dd, J = 7.9, 1.4 Hz, 1H), 7.44-7.40 (m, 2H), 7.40- 7.35 (m, 2H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.25 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.78-6.71 (m, 1H), 5.04 (s, 2H), 3.20-2.98 (m, 1H), 2.92-2.80 (m, 2H), 2.78-2.68 (m, 1H), 2.39-2.21 (m, 5H), 2.22-2.11 (m,

2H), 1.95-1.79 (m, 4H), 1.69-1.53 (m, 4H), 1.31-1.22 (m, 7H), 1.21-1.08 (m, 2H), 1.02 (s, 3H), 1.01 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 6

[00350] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9a en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00351] (1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9a) se reportó en Bioorg. Med.ChemLett.2005, 15, 2824-2828; el procedimiento sintético fue similar al reportado, y la hidrogenación fue bajo presión atmosférica en lugar de 3.16 kg/cm2 (45 psi). A una solución de 8a (50 mg, 70 µmol) en acetato de etilo (2 mL) se le añadió Pd/C húmedo (10%, 20 mg) bajo nitrógeno. La mezcla se purgó con hidrógeno 3 veces y se agitó a 15-25°C bajo una atmósfera de hidrógeno durante 16 h. La mezcla se filtró a través de Celite para eliminar Pd/C, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (acetato de etilo al 0-20% en éter de petróleo) para dar 9a (10 mg, rendimiento del 27%) como un sólido blanco. ESI m/z: 530 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, CDCl3) δ 8.16 (s, 1H), 6.93 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.73 (d, J = 2.6 Hz, 2H), 6.64-6.59 (m, 2H), 3.00 -2.85 (m, 2H), 2.88-2.71 (m, 2H), 2.34-2.16 (m, 6H), 2.15-1.96 (m, 4H), 1.49-1.35 (m, 4H), 1.31 (s, 6H), 1.30-1.08 (m, 4H), 1.08 (s, 6H) ppm.

EJEMPLO 7

[00352] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9b en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00353] (1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-N-((1S,4aS,10aR)-6-(2-hidroxietoxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9b)

[00354] Paso 1: A una solución de 8b (37 mg, 44 µmol) en THF (1.4 mL) se le añadió TBAF (1 M en THF, 0.09 mL) y la mezcla se agitó a 25°C durante 2 h. La eliminación de THF al vacío proporcionó el intermedio hidroxilo bruto, que se usó en la siguiente etapa sin

purificación. ESI m/z: 664 (M + 1). RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.42 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.36 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.29 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.97 (d,J = 2.3 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.87 (dd, J = 4.4, 2.6 Hz, 2H), 6.75 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 6.72 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 5.03 (s, 2H), 4.02-3.98 (m, 2H), 3.87-3.83 (m, 2H), 2.94 (d, J = 16.3 Hz, 2H), 2.82 (dd, J = 18.2, 8.2 Hz, 2H), 2.40-2.20 (m, 5H), 2.16-1.95 (m, 4H), 1.77-1.62 (m, 3H), 1.59-1.49 (m, 1H), 1.48-1.32 (m, 8H), 1.25 (tt, J = 13.8, 3.8 Hz, 2H), 1.12 (d, J = 13.3 Hz, 6H), 0.98 (t, J = 7.4 Hz, 1H) ppm.

[00355] Paso 2: A una solución del intermedio hidroxilo bruto (20 mg, 30 µmol) en acetato de etilo (2 mL) se le añadió Pd/C húmedo (10%, 20 mg) bajo nitrógeno. Esta mezcla se purgó con hidrógeno 3 veces y se agitó a 20-25°C bajo una atmósfera de hidrógeno durante 16 h. La mezcla se filtró a través de Celite para eliminar Pd/C y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 0-35% en éter de petróleo) para dar 9b (4 mg, rendimiento del 23%) como un sólido blanco. ESI m/z: 574,2 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, CDCl3) δ 8.16 (s, 1H), 7.02-6.87 (m, 2H), 6.85-6.72 (m, 2H), 6.72-6.57 (m, 2H), 4.08-4.01 (m, 2H), 3.99-3.89 (m, 2H), 3.01-2.87 (m, 2H), 2.87-2.68 (m, 2H), 2.33-2.15 (m, 6H), 2.14-1.97 (m, 4H), 1.78-1.58 (m, 5H), 1.50-1.35 (m, 2H), 1.36-1.25 (m, 7H), 1.22-1.07 (m, 8H) ppm.

EJEMPLO 8

[00356] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9c en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00357] (1S,4aS,10aR)-6-(2-Aminoetoxi)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9c)

[00358] Método 1: a una solución de 8c (0.11 g, 0.16 mmol) en acetato de etilo (5 mL) se le añadió Pd/C húmedo (10%, 30 mg) bajo nitrógeno. La mezcla se purgó con hidrógeno 3 veces y se agitó a 15-25°C durante 16 h. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío para dar el intermedio desbencilado (94 mg) como un sólido blanco. ESI m/z: 673 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, metanol-d4) δ 6.95 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.90-6.82 (m, 2H), 6.72-6.66 (m, 2H), 6.54 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 3.94 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.43-3.34 (m, 2H), 2.98-2.86 (m, 2H), 2.86-2.72 (m, 2H), 2.38-2.30 (m, 3H), 2.26 (d, J = 13.8 Hz, 3H), 2.15-1.94 (m, 4H), 1.75-1.63 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.39-1.32 (m, 8H),

1.31-1.20 (m, 2H), 1.12 (d, J = 5,0 Hz, 6H) ppm. Una mezcla del intermedio desbencilado (90 mg) en metanol (0.5 mL) se trató con HCl en dioxano (4 M, 0.5 mL) a 15-25°C durante 16 h. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar 9c (40 mg, 52% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 573,3 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, metanol-d4) δ 8.41 (s, 1H, NH de imidina), 6.99 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.76 (dd, J = 8.3, 2.5 Hz, 1H), 6.69 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.54 (dd, J = 8.3, 2.5 Hz, 1H), 4.17 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 3.40-3.22 (m, 2H), 2.99-2.71 (m, 4H), 2.41-2.21 (m, 6H), 2.15-1.93 (m, 4H), 1.75-1.64 (m, 4H), 1.47-1.33 (m, 8H), 1.27-1.25 (m, 2H), 1.12 (s, 3H), 1.09 (s, 3H) ppm.

[00359] Método 2: a una solución de 9b (25 mg, 44 µmol) en tolueno (1 mL) se le añadieron ftalimida (10 mg, 65 µmol), trifenilfosfina (23 mg, 88 µmol) y azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD, 18 mg, 88 µmol). Después de agitar la reacción a 20-25°C durante 24 h, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (40 mL), los orgánicos se lavaron con agua (20 mL), se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se disolvió en etanol (5 mL) y la solución etanólica se trató luego con hidrazina (0.3 mL). Esta mezcla se agitó a 90°C durante 3 h. Después de enfriar la reacción, los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se trituró con acetonitrilo (10 mL). La mezcla se agitó a 25°C durante 10 minutos y se filtró. Los sólidos se lavaron con acetonitrilo (10 mL) y el filtrado combinado se concentró al vacío. El producto bruto se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar 9c (11 mg, 44% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 573,4 (M + 1)+.

EJEMPLO 9

[00360] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9d en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00361] (1S,4aS,10aR)-6-Amino-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9d)

[00362] Paso 1: a una solución de 8d (0.84 g, 1.3 mmol) en acetato de etilo (50 mL) se le añadió Pd/C húmedo (10%, 0.15 g) bajo nitrógeno. La mezcla se purgó con hidrógeno y se agitó a 15-25°C bajo un globo de hidrógeno durante 16 h. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en

columna de gel de sílice (acetato de etilo al 0-50% en éter de petróleo) para dar 9g (0.66 g, rendimiento del 90%) como un sólido blanco. ESI m/z: 629 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 9.12 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.39 (d, J = 17.8 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.64 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.51 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 2.85 (td, J = 16.3, 3.8 Hz, 2H), 2.79-2.64 (m, 2H), 2.33-2.22 (m, 2H), 2.21-2.09 (m, 4H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.68-1.54 (m, 4H), 1.46 (s, 9H), 1.34-1.24 (m, 8H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.99 (s, 6H) ppm.

[00363] Paso 2: a una solución de 9g en metanol (0.5 mL) se le añadió HCl en dioxano (4 M, 0.5 mL) a 0°C, y la solución resultante se agitó a 15-25°C durante 16 h. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC preparativo (método B) para dar 9d (1.3 mg, 44% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 529.3 (M + 1)+.

[00364] Los datos de RMN de 500 MHz en DMSO-d6 (ppm) para 9d se resumieron en la Tabla 3 como sigue.

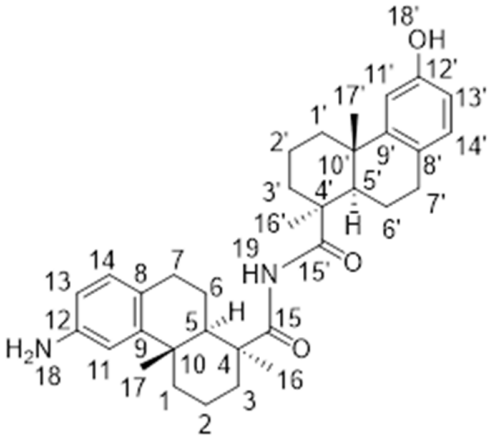


Tabla 3.

Átomo #	RMN ^{1}H	RMN ^{13}C	Átomo #	RMN ^{1}H	RMN ^{13}C
1	1.30 (Ha), 2.14 (He)	39.2	1’	1.30 (Ha), 2.14 (He)	39.36
2	1.54 (Ha), 1.84 (He)	19.61	2’	1.54 (Ha), 1.84 (He)	19.64
3	1.13 (Ha), 2.14 (He)	37.12	3’	1.13 (Ha), 2.14 (He)	37.18
4	-	45.52	4’	-	45.56

Átomo #	RMN ^{1}H	RMN ^{13}C	Átomo #	RMN ^{1}H	RMN ^{13}C
5	1.6	52.09	5’	1.6	52.32
6	1.84 (Ha), 2.23 (He)	21.27	6’	1.84 (Ha), 2.23 (He)	21.43
7	2.75	31	7’	2.75	31.08
8	-	121.65	8’	-	124.6
9	-	147.63	9’	-	148.39
10	-	38.17	10’	-	38.23
11	6.48	110.77	11’	6.63	111.81
12	-	146.43	12’	-	155.34
13	6.34	112.58	13’	6.5	113.23
14	6.68	129.09	14’	6.81	129.56
15	-	173.92	15’	-	174.03
16	1.26	27.65	16’	1.26	27.64
17	0.98	23.03	17’	0.98	23.08
18 (N)	4.69		18’ (O)	8.99	
19 (N)	8.09				

[00365] RMN 1H (500 MHz, CDCl3) δ 8.14 (s, 1H), 6.92 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.65-6.57 (m, 2H), 6.50 (dd, J = 8.1, 2.3 Hz, 1H), 4.75 (s, 1H), 3.49 (s, 1H), 2.99-2.85 (m, 2H), 2.79 (tt, J = 11.6, 5.8 Hz, 2H), 2.34-2.14 (m, 6H), 2.15-1.95 (m, 4H), 1.74-1.51 (m, 5H), 1.46-1.34 (m, 2H), 1.30 (s, 6H), 1.21-1.06 (m, 8H) ppm.

[00366] RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 8.99 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.0.2.5 Hz, 1H), 6.48 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 8.0. 2.5 Hz, 1H), 4.69 (s, 2H), 2.86-2.60 (m, 4H), 2.28-2.10

(m, 6H), 1.94-1.75 (m, 4H), 1.65-1.53 (m, 4H), 1.35-1.20 (m, 8H), 1.20-1.06 (m, 2H), 0.98 (s, 6H) ppm.

[00367] RMN13C (100 MHz, DMSO-d6) δ 174.03, 173.92, 155.34, 148.39, 147.63, 146.43, 129.56, 129.09, 124.60, 121.65, 113.23, 112.58, 111.81, 110.77, 52.32, 52.09, 45.56, 45.52, 39.20, 39.36, 38.23, 38.17, 37.18, 37.12, 31.08, 31.00, 27.65, 27.64, 23.08, 23.03, 21.43, 21.27, 19.64, 19.61 ppm.

[00368] HPLC (método B): Tiempo de retención (Rt): 8.92 min, pureza: 99.4%. HPLC quiral:>99.9% (en la columna AD, AS, OD y OJ). Rotación óptica [α]25: +2.53° (1.7 g/100 mLdfe THF).

EJEMPLO 10

[00369] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9e en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00370] (1S,4aS,10aR)-N-((1S,4aS,10aR)-1,4a-Dimetil-6-(piperazin-1-il)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9e)

[00371] A una solución de 8e (61 mg, 77 µmol) en acetato de etilo (1 mL) se le añadió Pd/C húmedo (10%, 5 mg) bajo nitrógeno. La mezcla se purgó con hidrógeno 3 veces y se agitó bajo hidrógeno a 30°C durante 16 h. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío para dar el intermedio desbencilado (54 mg, ESI m/z: 698 (M + 1)+), que se disolvió en metanol (0.5 mL) y se trató con HCl en dioxano (4 M, 0.5 mL) a 15-25°C durante 16 h. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar 9e (10 mg, 22% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 598 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, metanol-d4) δ 8.40 (s, 1H, NH), 7.00 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.80 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 6.70 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.54 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 3.36 (m, 8H), 3.02-2.71 (m, 4H), 2.42-2.20 (m, 6H), 2.15-1.92 (m, 4H), 1.79-1.59 (m, 4H), 1.52-1.18 (m, 10H), 1.12 (d, J = 9,1 Hz, 6H) ppm.

EJEMPLO 11

[00372] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9f en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00373] (1S,4aS,10aR)-6-(Dimetilamino)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9f)

[00374] A una solución del compuesto 8d (36 mg, 50 µmol) en metanol (0.5 mL) se le añadió HCl en dioxano (4 N, 0.5 mL, 2 mmol) a 0°C, y la mezcla resultante se agitó a 20-25°C durante 16 h. La reacción se controló por LC-MS hasta que se consumió el compuesto 8d. Los volátiles se eliminaron al vacío para dar 27 mg del intermedio de amina libre, que se disolvió en metanol (2 mL), seguido de la adición de Pd/C (10%, 5 mg) bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se purgó con hidrógeno y se agitó a 20-25°C bajo un globo de hidrógeno durante 16 h. La N-metilación se produjo con metanol en condiciones ácidas. La mezcla se filtró a través de Celite, y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por prep-HPLC (método B) para dar 9f (10 mg, 36% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 557 (M + H)+. RMN 1H (400 MHz, CDCl3) δ 8.15 (s, 1H), 6.99-6.90 (m, 2H), 6.73 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.68-6.58 (m, 3H), 4.69 (s, 1H), 2.98-2-2.85 (m, 8H), 2.87-2.72 (m, 2H), 2.35-2.16 (m, 6H), 2.15-1.98 (m, 4H), 1.66 (d, J = 14.5 Hz, 4H), 1.5-1.34 (m, 2H), 1.31 (s, 3H), 1.31 (s, 3H) 1.19 (s, 3H), 1.17-1.08 (m, 5H) ppm.

EJEMPLO 12

[00375] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9g en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00376] (4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilcarbamato de terc-butilo (9g)

[00377] A una solución de 8d (0.84 g, 1.3 mmol) en acetato de etilo (50 mL) se le añadió Pd/C húmedo (10%, 0.15 g) bajo nitrógeno. La mezcla se purgó con hidrógeno y se agitó a 15-25°C bajo un globo de hidrógeno durante 16 h hasta que 8d se consumiera totalmente, lo que se controló por LCMS. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo al 0-50% en éter de petróleo) para dar 9g (0.66 g, rendimiento del 90%)

como un sólido blanco. ESI m/z: 629 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 9.12 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.39 (d, J = 17.8 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.64 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.51 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 2.85 (td, J = 16.3, 3.8 Hz, 2H), 2.79-2.64 (m, 2H), 2.33-2.22 (m, 2H), 2.21-2.09 (m, 4H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.68-1.54 (m, 4H), 1.46 (s, 9H), 1.34-1.24 (m, 8H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.99 (s, 6H) ppm.

EJEMPLO 13

[00378] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9h en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00379] (1S,4aS,10aR)-6-(2-Aminoacetamido)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9h)

[00380] A una solución de Fmoc-Gly-OH (30 mg, 0.1 mmol) en DMF (1 mL) se le añadieron HATU (38 mg, 0.1 mmol) y DIPEA (39 mg, 0.3 mmol) a 25°C. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante una hora. Luego se añadió a la mezcla 9d (30 mg, 0.06 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 16 h hasta que 9d se consumió por completo (de acuerdo con lo controlado por LCMS). A la mezcla se le añadió piperidina (0.2 mL), y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos adicionales a temperatura ambiente. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó directamente por HPLC preparativo (método B) para dar 9h (17 mg, 51% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 586 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 9.70 (br s, 1H, CONH-Ph), 9.03 (s, 1H, OH), 8.12 (s, 1H, NH de imidina), 7.52 (s, 1H), 7.41 (dd, J = 8.3, 1.8 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.64 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.51 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 3.22 (s, 2H), 2.95-2.63 (m, 4H), 2.33-2.23 (m, 2H), 2.23-2.08 (m, 4H), 1.98- 1.77 (m, 4H), 1.71-1.51 (m, 4H), 1.37-1.23 (m, 8H), 1.20-1.09 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 14

[00381] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9i en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00382] (1S,4aS,10aR)-6-(3-Aminopropanamido)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9i)

[00383] A una solución de Boc-β-Ala-OH (38 mg, 0.2 mmol) en DMF (1 mL) se le añadieron HATU (76 mg, 0.2 mmol) y DIPEA (52 mg, 0.4 mmol) a 25°C. La solución resultante se agitó a esta temperatura durante una hora. Luego, a la solución se le añadió 9d (53 mg, 0.1 mmol), y la mezcla resultante se agitó a 25°C durante 16 h hasta que 9d se consumiera por completo (de acuerdo con lo controlado por LCMS). La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera. Los orgánicos se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en DCM (2 mL) y a la solución se le añadió lentamente TFA (0.2 mL) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, y los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar 9i (30 mg, 50% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 600 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.38 (s, 1H), 7.20 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.76 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.60 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.43 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 2.93 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.90-2.80 (m, 2H), 2.80-2.63 (m, 2H), 2.47 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.30-2.12 (m, 6H), 2.02-1.85 (m, 4H), 1.65-1.54 (m, 4H), 1.37-1.28 (m, 2H), 1.26 (s, 3H), 1.25 (s, 3H), 1.21-1.11 (m, 2H), 1.02 (s, 3H), 1.01 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 15

[00384] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9j en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00385] (1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-Amino-3-hidroxipropanamido)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9j)

[00386] Usando el mismo procedimiento para preparar 9h excepto que se reemplazó Fmoc-Gly-OH con Fmoc-Ser-OH, se obtuvo 9j (18 mg, 51% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 616 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 9.74 (br s, 1H, CONH-Ph), 9.00 (s, 1H, OH), 8.11 (s, 1H, NH de imidina), 7.58 (s, 1H), 7.41 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 4.82 (t, J = 5.5 Hz, 1H, OH en Ser), 3.62-3.45 (m, 3H), 2.97-2.61 (m, 4H), 2.33- 2,21 (m, 2H), 2,21-2,03 (m, 4H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.36-1.20 (m, 8H), 1.23-1.06 (m, 2H), 1.06-0.93 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 16

[00387] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9k en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00388] (1S,4aS,10aR)-N-((1S,4aS,10aR)-1,4a-Dimetil-6-(2-(metilamino)acetamido)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida; sal de ácido trifluoroacético (9k)

[00389] Siguiendo los procedimientos para preparar 9i excepto que reemplazandoBoc-β-Ala-OH con N-Boc-Sar-OH, se obtuvieron 9k (27 mg, 28% de rendimiento, sal de TFA) como un sólido blanco después de la purificación por preparación. HPLC (método A). ESI m/z: 600.5 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.33 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.74 (s, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.32 (dd, J = 8.3, 1.6 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 2.97-2.66 (m, 4H), 2.62 (s, 3H), 2.37-2.23 (m, 2H), 2.21-2.06 (m, 4H), 2.00-1.77 (m, 4H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.38-1.23 (m, 8H), 1.21-1.08 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm.19F RMN (376 MHz, DMSO-d6) δ -73.43 ppm.

EJEMPLO 17

[00390] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9l en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00391] (1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-[(2S)-2,6-diaminohexanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida; sal de ácido trifluoroacético (9l)

[00392] Siguiendo los procedimientos para preparar 9i, excepto que sustituyendoBoc-β-Ala-OH con Boc-Lys-OH, se obtuvo el compuesto 9l (9 mg, 49% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 657.5 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.33 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.78 (br s, 6H), 7.51 (s, 1H), 7.34 (d,J = 8.1 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.51 (d, J = 8.3 Hz,

1H), 3.82 (s, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.82-2.67 (m, 5H), 2.29 (s, 2H), 2.15 (s, 4H), 1.85 (s, 6H), 1.64-1.51 (m, 6H), 1.28 (d, J = 6.8 Hz, 10H), 1.13 (s, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. RMN de 19F (376 MHz, DMSO d6) δ -73,53 ppm.

EJEMPLO 18

[00393] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9m en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00394] (1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]-6-[(2S)-2-amino-3-(1H-imidazol-4-il)propanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida; sal de ácido trifluoroacético (9m).

[00395] Siguiendo los procedimientos para preparar 9iexcepto que reemplazandoBoc-β-Ala-OH con Boc-His-OH, se obtuvo9m (11 mg, 60% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 666.3 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 10.39 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.45 (br s, 2H), 8.13 (s, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.31-7.27 (dd, J = 8.3 Hz, 1.7 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.51 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 4.20 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 3.28-3.13 (m, 2H), 2.95-2.63 (m, 4H), 2.34-2.22 (m, 2H), 2.22-2.08 (m, 4H), 1.93-1.81 (m, 4H), 1.66-1.56 (m, 4H), 1.37-1.22 (m, 8H), 1.22-1.08 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. RMN de 19F (376 MHz, DMSOd6) δ -73.64 ppm.

EJEMPLO 19

[00396] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9n en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00397] Ácido (3S)-3-amino-3-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}propanoico(9n)

[00398] Siguiendo los procedimientos para preparar 9iexcepto que reemplazandoBoc-β-Ala-OH con OtBu-N-Boc-Asp-OH, se obtuvo 9n (11 mg, 62% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 644,3 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-

d6) δ 10.34 (br s, 1H), 9.03 (br s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.34 (dd, J = 8.3, 1.8 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 3.79-3.74 (m, 1H), 2.93-2.69 (m, 5H), 2.37-2.23 (m, 3H), 2.22-2.08 (m, 4H), 1.95-1.78 (m, 4H), 1.66-1.54 (m, 4H), 1.42-1.22 (m, 8H), 1.19-1.09 (m, 2H), 1.00 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 20

[00399] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9o en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00400] Ácido (4S)-4-amino-4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}butanoico; sal de ácido trifluoroacético (9o)

[00401] Siguiendo los procedimientos para preparar 9iexcepto que reemplazandoBoc-β-Ala-OH con OtBu-N-Boc-Glu-OH, se obtuvo 9o (8 mg, 46% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 658,3 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.32 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 3.87 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 2.97-2.67 (m, 4H), 2.41-2.22 (m, 4H), 2.22-2.08 (m, 4H), 2.05-1.97 (m, 2H), 1.94-1.80 (m, 4H), 1.69-1.52 (m, 4H), 1.42-1.22 (m, 8H), 1.22-1.06 (m, 2H), 1.02 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. RMN de 19F (376 MHz, DMSO-d6) δ -73.50 ppm.

EJEMPLO 21

[00402] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9p en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura1 y la síntesis se mostró en la figura 3a.

[00403] Paso 1: Elaboración de (1S,4aS,10aR)-6-(aminometil)-N-((1S,4aS,10aR)-6-(benciloxi)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida; sal de ácido trifluoroacético (9p')

[00404] A una solución de 8 g (70 mg, 0.11 mmol) en etanol (15 mL) en nitrógeno, se le añadió Ni Raney (0.10 g) a 0°C, seguido de la adición de solución ac. conc. de amoniaco (1.5 mL). La mezcla resultante se purgó con hidrógeno y se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno a través de un globo durante 18 h. La reducción se consideró completa por LCMS. La solución se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío para dar un material bruto (67 mg, 95% de rendimiento) como un sólido blanco, 7 mg de los cuales se purificaron por HPLC prep. (método A) para proporcionar 9p'(4 mg, sal de TFA) para análisis de RMN. ESI m/z: 633,4 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 9.21 (s, 2H), 9.01 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.52-7.34 (m, 6H), 7.18 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.51 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 4.19-4.03 (m, 4H), 3.00-2.93 (m, 1H), 2.87-2.77 (m, 2H), 2.75-2.64 (m, 1H), 2.35-2.24 (m, 3H), 2.22- 2.09 (m, 3H), 1.96-1.74 (m, 4H), 1.71-1.51 (m, 4H), 1.38-1.22 (m, 8H), 1.21-1.08 (m, 2H), 1.03 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. RMN de 19F (376 MHz, DMSO-d6) δ -73.53 ppm.

[00405] Paso 2: elaboración de (1S,4aS,10aR)-6-(aminometil)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida; sal de ácido trifluoroacético (9p)

[00406] A una solución del compuesto 9p'(60 mg, 95 µmol) en DCM (5 mL) se le añadiópor goteotribromuro de boro (1 M en DCM, 1 mL) en una atmósfera de argón a -78°C. La mezcla resultante se agitó a -78°C durante una hora hasta que el grupo bencilo se eliminó totalmente de acuerdo con LCMS. La mezcla se apagó luego con metanol (5 mL) por goteo a -78°C y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. La solución se diluyó con DCM (50 mL) y se lavó con solución sat. conc. debicarbonato de sodio (20 mL x 2). Los orgánicos se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por HPLC prep. (Método A) para dar el compuesto del título 9p (15 mg, 30% de rendimiento, sal de TFA) como un sólido blanco. ESI m/z: 543.2 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 9.02 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 8.09 (br s, 3H), 7.40 (s, 1H), 7.15 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.64 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.51 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 3.96 (d, J = 4.7 Hz, 2H), 3.00-2.91 (m, 1H), 2.87-2.76 (m, 2H), 2.75-2.66 (m, 1H), 2.36-2.24 (m, 3H), 2.22-2.10 (m, 3H), 1.97-1.78 (m, 4H), 1.68-1.53 (m, 4H), 1.35-1.23 (m, 8H), 1.16 (qd, J = 14.0.3.6 Hz, 2H), 1.03 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. RMN de 19F (376 MHz, DMSOd6) δ -73,53 ppm.

EJEMPLO 22

[00407] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9q en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura 1.

[00408] Ácido 4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}butanoico (9q)

[00409] A un vial de 4 mL con tapón de rosca se le añadieron compuesto 9d (15 mg, 28 µmol) y anhídrido glutárico (5.0 mg, 43 µmol). Los sólidos mezclados se disolvieron en THF (0.2 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas hasta que se completó la reacción, tal como se monitoreó por LCMS. La mezcla se diluyó con metanol (2 mL). La solución se filtró y el filtrado se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar el compuesto 9q (10 mg, 56% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 643.3 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.73 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.33 (dd, J = 8.3, 1.7 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 2.94-2.60 (m, 4H), 2.33-2.07 (m, 10H), 1.96-1.51 (m, 10H), 1.37-1.21 (m, 8H), 1.14 (t, J = 14.1 Hz, 2H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 23

[00410] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9r en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura1 y la síntesis se mostró en la figura 3b.

[00411] Ácido 2-[({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}metil)amino]acético; sal de ácido trifluoroacético (9r)

[00412] A una solución de ácido boc-iminodiacético (30 mg, 0.13 mmol) en DMF (0.5 mL) se le añadieron HATU (60 mg, 0.16 mmol) y DIPEA (72 mg, 0.56 mmol) a 25°C. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante una hora. La mezcla de reacción se enfrió a 10-15ºC y luego se le añadió a la mezcla 9d (30 mg, 57 µmol). Después de que la reacción se agitó a 10-15°C durante 3 horas, 9d se consumió totalmente (de acuerdo con lo controlado por LCMS). A la mezcla de reacción se le añadióhidróxido de litio ac. (1 M,

0.5 mL). La mezcla se agitó luego a 70°C durante 2 horas. Después de que la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a través de una membrana de filtro de jeringa, el filtrado se separó directamente por cromatografía instantánea de fase inversa (acetonitrilo al 5-90% en agua (con TFA al 0.1%) para proporcionar sólidos blancos. Los sólidos se disolvieron en DCM (0.4 mL) y a la solución se le añadió TFA (0.1 mL) lentamente a temperatura ambiente, y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC prep. (Método B) a dar 9r (10 mg, 28% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 644.4 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 10.24 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.32 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.67-6.60 (m, 1H), 6.51 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 3.88-3.76 (m, 4H), 2.96-2.61 (m, 5H), 2.32-2.22 (m, 2H), 2.19 -2.08 (m, 4H), 1.97-1.78 (m, 4H), 1.69-1.54 (m, 4H), 1.39-1.20 (m, 8H), 1.22-1.08 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. RMN19F (376 MHz, DMSOd6) δ -73.44 ppm.

EJEMPLO 24

[00413] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9t en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura1, y la síntesis se muestra en la figura 3c.

[00414] (1S,4aS,10aR)-6-Amino-N-((1R,4aS,10aR)-7-isopropil-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9t)

[00415] Paso 1: elaboración de 7-isopropil-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxilatode (1R,4aS,10aR)-perfluorofenilo (6d).

[00416] Usando el mismo procedimiento para preparar 6b, excepto que reemplazando4 con 14f (ácido deshidroabiético, CAS No. 1740-19-8, 0.50 g, 1.7 mmol), se obtuvo el compuesto 6d (0.30 g, 39% de rendimiento) como aceite incoloro. después de la cromatografía instantánea (acetato de etilo al 5% en éter de petróleo). RMN1H (500 MHz, DMSOd6) δ 7.2 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.00-6.99 (m, 1H), 6.88 (s, 1H), 2.94-2.78 (m, 3H), 2.38-2.36 (m, 1H), 2.25-2.23 (m, 1H), 2.02-1.73 (m, 5H), 1.46-1.40 (m, 2H), 1.36 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.15 (d, J = 7,0 Hz, 6H) ppm.

[00417] Paso 2: preparación de (4bS,8S,8aR)-8-((1R,4aS,10aR)-7-isopropil-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilcarbamatodeterc-butilo (8t)

[00418] Usando el mismo procedimiento para preparar 8d, una reacción de acoplamiento de amida de 7d (40 mg, 0.11 mmol) con 6d (60 mg, 0.13 mmol) proporcionó 8t puro (10 mg, 14% de rendimiento). ESI m/z: 655 (M + 1)+.

[00419] Paso 3: elaboración de (1S,4aS,10aR)-6-Amino-N-((1R,4aS,10aR)-7-isopropil-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9t)

[00420] A una solución del compuesto 8t (10 mg, 15 µmol) en DCM (2 mL) se le añadió por goteo TFA (0.2 mL) a 0°C. La reacción se agitó a 0°C durante una hora hasta que se eliminó Boc, que se controló por LCMS. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 mL) y se lavó con solución sat. ac. debicarbonato de sodio, agua y salmuera. La solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se concentró al vacío para dar el compuesto 9t (5 mg, 59% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 555,2 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.19 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.81 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.55-6.53 (m, 1H), 2.88-2.74 (m, 5H), 2.43-2.40 (m, 1H), 2.31-2.28 (m, 3H), 2.11-1.99 (m, 2H), 1.94-1.86 (m, 2H), 1.81-1.67 (m, 4H), 1.52-1.46 (m, 2H), 1.42 (s, 4H), 1.35 (s, 3H), 1.32-1.30 (m, 3H), 1.26 (s, 3H), 1.23 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 1.13 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 25

[00421] Este ejemplo demuestra métodos para preparar el compuesto final 9u en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura1, y la síntesis se muestra en la figura 3d.

[00422] Paso 1: elaboración de (4bS,8S,8aR)-8-(Aminometil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ol (7f')

[00423] A una solución del compuesto 7f (0.10 g, 0.37 mmol) en THF (10 mL) se le añadió complejo de borano-sulfuro de metilo (2 M en THF, 1.9 mL, 3.7 mmol)mediante una jeringa a temperatura ambiente. La mezcla se agitó luego a 70°C durante 48 horas hasta que se completó la reacción, tal como se monitoreó por LC-MS. Después de enfriar la reacción, la mezcla de reacción se vertió en metanol frío (50 mL) a 0-5°C. Los volátiles se eliminaron al vacío. El residuo se purificó por HPLC prep. (Método B) para proporcionar el compuesto 7f'(45 mg, 47% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 260.2 (M + 1)+.

[00424] Paso 2: elaboración de (1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]metil}-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (9u)

[00425] A una solución de ácido podocárpico 1 (10 mg, 36 µmol) en DMF (0.5 mL) se le añadieron HATU (21 mg, 55 µmol) y DIPEA (14 mg, 0.11 mmol) a 25°C. La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 16 horas. Luego se le añadió a la mezcla el compuesto 7f'(10 mg, 39 µmol). Después de agitar la reacción a 25°C durante 40 horas, que se controló por LCMS, la mezcla de reacción se purificó directamente por HPLC prep. (Método A) para dar el compuesto 9u (9 mg, 48% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 516,3 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 8.93 (br s, 2H), 6.77 (dd, J = 8.2, 5.3 Hz, 2H), 6.70 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 6.62 (s, 2H), 6.47 (dt, J = 8.2, 2.1 Hz, 2H), 3.70-3.62 (m, 1H), 2.87-2.55 (m, 5H), 2.22-2.09 (m, 4H), 2.02-1.80 (m, 4H), 1.72-1.13 (m, 14H), 1.10-1.04 (m, 1H), 1.01 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.87-0.81 (m, 1H) ppm.

EJEMPLO 26

[00426] Este ejemplo demuestra un método para preparar el compuesto 15b en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura1, y la síntesis se muestra en la figura 3e.

[00427] El análogo de glucosa 15b se obtuvo de la hidrólisis básica del éster acetílico 15a, en donde se formó 15a tratando el bis-fenol 9a con bromo-glucosa 16.

[00428] (1S,4aS,10aR)-N-((1S,4aS,10aR)-1,4a-dimetil-6-((2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahidro-2H-piran-2-iloxi)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (15b)

[00429] A una solución de 9a (10 mg, 19 µmol) en acetonitrilo (0.2 mL) se le añadió [(2R,3R,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-bromooxan-2-il]acetato de metilo (16, 10 mg, 24 µmol) y óxido de plata (I) (15 mg, 64 µmol). La mezcla resultante se agitó a 10-20°C durante 48 h. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío. El residuo (15a bruto) se disolvió en THF/agua (v/v = 4, 1 mL) y a la solución se le añadió hidróxido de litio (0.50 mg, 0.021 mmol). Después de agitar la reacción a 18°C durante 2 h, la mezcla se filtró y el filtrado se purificó directamente por HPLC prep. (método B) para dar 15b (2 mg,

15% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 692 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 9.01 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 6.96-6.89 (m, 2H), 6.85-6.75 (m, 2H), 6.66-6.61 (m, 1H), 6.57 (s, 1H), 5.26 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 5.07 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 4.99 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 4.80 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.52-4.49 (m, 1H), 2.32-2.22 (m, 4H), 2.21-2.09 (m, 4H), 1.93-1.78 (m, 5H), 1.66-1.54 (m, 4H), 1.32-1.22 (m, 14H), 1.15 (s, 3H), 1.00 (d, J = 7,7 Hz, 6H) ppm.

EJEMPLO 27

[00430] Este ejemplo demuestra un método para preparar los compuestos 17b y 17c en la Tabla 1 anterior. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura4.

[00431] El análogo de ácido fosfórico 17a se obtuvo del tratamiento de fenol 9g con cloruro de difosforilo18. Los compuestos 17b y 17c se obtuvieron a partir de la desprotección ácida de 17a con TFA. El análogo de ácido fosfórico 17c era soluble en agua en condiciones básicas y neutras, pero no estable a pH 5, y se convirtió en metoxifosfato17b en presencia de metanol; se encontró que este último era estable a pH 5-8.

[00432] Metil hidrogenfosfato de (4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilo (17b); fosfato diácido de (4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-amino-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoilo)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-ilo (17c)

[00433] A una solución agitada de 9g (10 mg, 16 µmol) en THF (0.1 mL) a -40°C se le añadió cloruro de difosforilo18 (10 mg, 40 µmol) y TEA (16 mg, 0.16 mmol). Después de agitar la reacción a -40°C durante una hora, la mezcla de reacción se inactivó con agua y el pH se ajustó con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio a pH 8. La solución se acidificó con clorhidrato acuoso (1 N) a pH 2 y se extrae con acetato de etilo. Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para proporcionar un 17a bruto. A una solución de 17a (11 mg) en aproximadamente 1% de metanol en cloruro de metileno (1 mL) se le añadió TFA (0.1 mL), y la mezcla resultante se agitó a 25°C durante una hora. Los volátiles se eliminaron y el residuo se purificó por HPLC preparativa (método B) para proporcionar 17b (3 mg, 31% de rendimiento) como un sólido blanco y 17c (2 mg, 20% de rendimiento) como un sólido blanco.

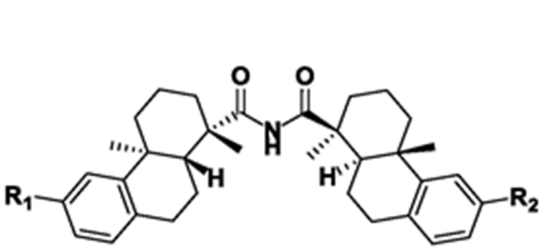
[00434] Para 17b: ESI m/z: 623 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 8.13 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.00 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.96-6.89 (m, 1H), 6.89-6.84 (m, 2H), 6.76-6.67 (m, 1H), 3.60 (d, J = 11.4 Hz, 3H), 2.89 (t, J = 17.0 Hz, 2H), 2.81-2.68 (m, 1H), 2.56-2.50 (m, 4H), 2.33-2.23 (m, 2H), 2.16 (d, J = 12.3 Hz, 4H), 1.93-1.80 (m, 4H), 1.67-1.55 (m, 4H), 1.33-1.20 (m, 8H), 1.15 (t, J = 10.4 Hz, 2H), 1.00 (s, 6H) ppm.

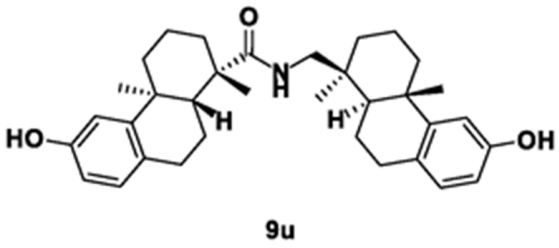
[00435] Para 17c: ESI m/z: 609 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 8.11 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.00-6.91 (m, 2H), 6.86 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 6.34 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 2.87 (d, J = 14.4 Hz, 2H), 2.80-2.57 (m, 5H), 2.31- 2.22 (m, 2H), 2.19-2.07 (m, 4H), 1.95-1.73 (m, 4H), 1.69-1.48 (m, 4H), 1.27 (d, J = 5.9 Hz, 8H), 1.21-1.06 (m, 2H), 0.99 (s, 6H) ppm.

EJEMPLO 28

[00436] Las estructuras, los valores de LogP calculados, los resultados de MS y HPLC para los compuestos anteriores se resumieron en la Tabla 4.

Tabla 4. Propiedades químico-físicas de la carga útil





9u

	R1	R2	CLogP	MS M+H (100%)	HPLC	
					Pureza (%)	R_t (min)
9a	OH	OH	+++	530.3	100	2.01
9b	OH	OCH_2CH_2OH	+++	574.2	100	2.00
9c	OH	$OCH_2CH_2NH_2$	+++	572.4	100	8.72
9d	OH	NH_2	+++	529.3	95	8.66

	R1	R2	CLogP	MS M+H (100%)	HPLC	
					Pureza (%)	R_t (min)
9e	OH	N-Piperazina	+++	598.4	100	8.99
9f	OH	$N(CH_3)_2$	+++	557.4	95	10.07
9h	OH	NH-Gly	+++	586.2	100	7.51
9i	OH	NH-β-Ala	+++	600.3	97	8.43
9j	OH	NH-Ser	++	616.3	92	6.38
9k	OH	NH-Sar	+++	599.4	99	7.55
9l	OH	NH-Lys	+++	657.5	96	6.82
9m	OH	NH-His	+++	666.3	99	6.85
9n	OH	NH-Asp	++	644.3	99	6.69
9o	OH	NH-Glu	++	658.3	100	7.41
9p	OH	CH_2 NH_2	+++	526.2	99	7.48
9q	OH	$NHCO(CH_2)_3CO_2H$	+++	643.3	100	9.35
9r	OH	$NHCOCH_2NH_2CH_2CO_2H$	+	644.4	100	7.7
9t	NH_2	iPr	+++	555.2	98	11.4
9u	OH	OH	+++	516.3	100	10.6
15b	OH	Glucose	++	692.2	90	7.24
17b	NH_2	OPO_3HMe	+++	623.2	99	6.42
17c	NH_2	OPO_3H_2	+++	609.1	98	5.83

EJEMPLO 29

[00437] Este ejemplo demuestra métodos generales para hacer cargas útiles VA, cargas útiles VC y cargas útiles VC-PAB, representadas por los compuestos 21c, 21d, 21h y 21j. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura5.

[00438] El compuesto 21d se obtuvo a partir de una reacción de acoplamiento de amida de 9d con ácido Fmoc-VA (20) seguido de condiciones estándar de desprotección de Fmoc. Los compuestos 21c, 21d, 21h y 21j se obtuvieron del tratamiento de 9c, 9d, 9h o 9j con Fmoc-L-valina-L-citrulina-alcoholp-aminobencílico carbonato de p-nitrofenilo (Fmoc-VC-PAB-PNP, 19) seguido de las condiciones estándar de desprotección de Fmoc, respectivamente.

[00439] 2-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-Hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilcarbamoil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-iloxi)etilcarbamato de 4-((S)-2-((S)-2-amino-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencilo (21c)

[00440] Se añadieronFmoc-VC-PAB-PNP 19 (16 mg, 21 µmol) y DIPEA (20 mg, 0.16 mmol) a una solución de 9c (18 mg, 31 µmol) en DMF, y la mezcla se agitó a 20-25°C por 24 h. A la mezcla resultante se le añadió piperidina (0.1 mL), y la mezcla se agitó a 25°C durante 2 h adicionales hasta que se eliminó Fmoc del intermedio tal como se monitoreó por LC-MS. La mezcla se filtró a través de una membrana, y el filtrado se purificó directamente por HPLC prep. (método B) para dar 21c (14 mg, 50% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 978 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 10.22 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.71 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.12 (s, 2H), 7.59 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.42 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 6.94 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.84-6.76 (m, 2H), 6.67 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.51 (dd, J = 8.1, 2.0 Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.52 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 4.51 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.66 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 3.32 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 3.13- 2.93 (m, 2H), 2.85 (t, J = 18.0 Hz, 2H), 2.77-2.63 (m, 2H), 2.26 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 2.22-2.03 (m, 4H), 1.89 -1.82 (m, 4H), 1.79-1.69 (m, 1H), 1.68-1.53 (m, 4H), 1.46-1.40 (m, 2H), 1.27 (d, J = 3.3 Hz, 8H), 1.19-1.08 (m, 4H), 1.03-0.89 (m, 12H) ppm.

[00441] (1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-((S)-2-Amino-3-metilbutanamido)propanamido)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonilo)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (21d)

[00442] A una solución de 9d (53 mg, 0.10 mmol) en DMF (1 mL) se le añadieronFmoc-Val-Ala-OH 20 (41 mg, 0.10 mmol), HATU (38 mg, 0.1 mmol) y DIPEA (26

mg, 0.20 mmol). Después de agitar la reacción a 25°C durante 24 h, se consumió 9d de acuerdo con LC-MS. Luego se le añadió a la mezcla piperidina (0.1 mL) y la solución resultante se agitó a 25°C durante otras 3 h. La mezcla se filtró, y el filtrado se concentró al vacío y el residuo se purificó directamente por HPLC prep. (Método B) para dar el compuesto 21d (45 mg, 64% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 699 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 8.40 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.32 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 4.60-4.48 (m, 1H), 3.22-3.11 (m, 1H), 3.02-2.93 (m, 1H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.74-2.70 (m, 1H), 2.43-2.31 (m, 3H), 2.28 (d, J = 14.1 Hz, 3H), 2.16-1.96 (m, 3H), 1.81 (s, 1H), 1.78-1.65 (m, 4H), 1.53-1.42 (m, 4H), 1.38 (d, J = 5.3 Hz, 6H), 1.33-1.22 (m, 2H), 1.14 (d, J = 6,6 Hz, 6H), 1.09 (d, J = 18,6 Hz, 6H) ppm.

[00443] N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}metil)carbamato de [4-[(2S)-2-[(2S)-2-amino-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (21h)

[00444] Usando el mismo procedimiento para hacer 21c, excepto que se usó 9h en lugar de 9c. Se obtuvieron 21 h (85 mg, 32% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 990 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 8.40 (s, 1H, NH de imidina), 7.58 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.50 (s, 1H), 7.37 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.2, 2.5 Hz, 1H), 5.10 (s, 2H), 4.66-4.52 (m, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.75 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 3.26-3.03 (m, 3H), 3.02-2.75 (m, 4H), 2.42-2.22 (m, 7H), 2.14-1.98 (m, 5H), 1.97-1.87 (m, 1H), 1.85-1.59 (m, 6H), 1.40 (t, J = 15.9 Hz, 8H), 1.34-1.27 (m, 3H), 1.16-1.12 (m, 6H), 1.10 (d, J = 6.9 Hz, 3H), 1.07 (d, J = 6,9 Hz, 3H) ppm.

[00445] N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamato de [4-[(2S)-2-[(2S)-2-amino-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (21j)

[00446] Usando el mismo procedimiento para hacer 21c, excepto que se usó 9j en lugar de 9c,se obtuvo 21j (22 mg, 40% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 1021 (M + 1)+. RMN 1H (400 MHz, DMSO-d6) δ 10.02 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.69-8.65 (m, 1H), 8.11-8.00 (m, 4H), 7.65-7.53 (m, 3H), 7.40-7.30 (m, 3H), 7.30-7.20 (m,

1H), 6.96 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.65-6.61 (m, 1H), 6.50 (dd, J = 8.0 Hz, 2.0 Hz, 1H), 6.00-5.95 (m, 1H), 5.48 (s, 2H), 5.00-4.95 (m, 3H), 4.60-4.40 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 4H), 3.15-2.55 (m, 10H), 2.40-2.20 (m, 3H), 2.20-2.00 (m, 5H), 2.00-1.80 (m, 4H), 1.86-1.55 (m, 6H), 1.27 (d, J = 4.8 Hz, 9H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.97-0.90 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 30

[00447] Este ejemplo demuestra métodos generales para hacer los enlazadores-cargas útiles22d1, 22d2 y 22j. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura5.

[00448] Procedimiento general para preparar enlazador-carga útil 22: A una solución del compuesto 21 (5-30 mg, 1 equiv.) en DMF (0.5 mL) se le añadió una solución de DIBAC-Suc-PEG4-COOSu o DIBAC-Suc-PEG4-COOH, o BCN-PEG4-COOSu disponible comercialmente (1.2 equiv.) en THF (0.5 mL) y luego TEA (2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que se consumiera21, como se monitoreó por LC-MS. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó directamente por HPLC prep. para producir 22 como un sólido blanco.

EJEMPLO 31

[00449] Este ejemplo demuestra métodos generales para hacer el enlazador-carga útil22d1. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura5.

[00450] 1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (22d1)

[00451] Usando el procedimiento general para hacer el enlazador-carga útil 22, se obtuvo 22d1 (10 mg, 28% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 1234 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.65 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.62-7.51 (m, 2H), 7.48-7.43 (m, 3H), 7.39-7.30 (m, 2H), 7.27-7.23 (m, 1H), 7.00 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H),

6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.57-6.54 (m, 1H), 5.15-5.10 (m, 1H), 4.62 (s, 6H), 4.52-4.45 (m, 1H), 4.22-4.02 (m, 1H), 3.77-3.64 (m, 3H), 3.60 -3.51 (m, 11H), 3.46-3.41 (m, 2H), 3.24 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 2.99-2.66 (m, 5H), 2.57 -2.51 (m, 1H), 2.37-2.24 (m, 6H), 2.21-2.12 (m, 1H), 2.09-1.95 (m, 5H), 1.74-1.65 (m, 4H), 1.47-1.41 (m, 4H), 1.39-1.35 (m, 6H), 1.31-1.22 (m, 2H), 1.14-1.10 (m, 6H), 1.05-0.97 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 32

[00452] Este ejemplo demuestra métodos generales para hacer el enlazador-carga útil22d2. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura5.

[00453] N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamato de [4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.04,9]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (22d2)

[00454] Usando el procedimiento general para hacer el enlazador-carga útil 22, se obtuvo 22d2 (7 mg, 44% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 735.0 (M/2 + H)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.65-7.62 (m, 3H), 7.59-7.57 (m, 1H), 7.44-7.42 (m, 3H), 7.39-7.18 (m, 7H), 6.96 (d,J = 8.5 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.56-6.54 (m, 1H), 5.15-5.10 (m, 3H), 4.64 (s, 5H), 4.53-4.49 (m, 1H), 4.22 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.77-3.66 (m, 3H), 3.59-3.51 (m, 11H), 3.45-3.42 (m, 2H), 3.24 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 3.15-3.08 (m, 1H), 2.96-2.90 (m, 2H), 2.84-2.68 (m, 3H), 2.55 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.40-2.33 (m, 3H), 2.28-1.91 (m, 11H), 1.75-1.58 (m, 5H), 1.36-1.22 (m, 11H), 1.12-1.11 (m, 5H), 1.01-0.98 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 33

[00455] Este ejemplo demuestra métodos generales para hacer el enlazador-carga útil22j. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura5.

[00456] N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-

4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamato de [4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (22j)

[00457] Usando el procedimiento general para hacer el enlazador-carga útil 22, se obtuvo 22j (8 mg, 26% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 778 (M/2 + H)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 10.02 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.11 (m, 2H), 7.88 (d, J = 8.5Hz, 1H), 7.80-7.75 (m, 1H), 7.70-7.66 (m, 1H), 7.65-7.53 (m, 4H), 7.53-7.45 (m, 3H), 7.40-7.25 (m, 7H), 6.96 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.0 Hz, 2.0 Hz, 1H), 6.00-5.95 (m, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.10-5.05 (m, 4H), 4.43-4.33 (m, 1H), 4.25-4.10 (m, 2H), 3.65-3.55 (m, 5H), 3.50 -3.40 (m, 12H), 3.30-3.25 (m, 2H), 3.15-2.55 (m, 10H), 2.40-2.20 (m, 5H), 2.20-2.10 (m, 4H), 2.00-1.90 (m, 2H), 1.86-1.70 (m, 5H), 1.64-1.54 (m, 6H), 1.50-1.25 (m, 9H), 1.20-1.10 (m, 2H), 1.00 (m, 6H), 0.86 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 0.82 (d, J = 6.5 Hz, 3H) ppm.

EJEMPLO 34

[00458] Este ejemplo demuestra métodos generales para preparar los enlazadores-cargas útiles que podrían conjugarse con un anticuerpo mediante conjugación de cisteína, representada por el compuesto 24c. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura6.

[00459] La reacción de acoplamiento de amida de 21c con Glu-ácido sustituido (23c1) proporcionó 23c, que se trató con éster MC-PEG4-CO2Su (23c2) para proporcionar el enlazador-carga útil24c.

[00460] N-(2-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]oxi}etil)carbamato de [4-[(2S)-5-(carbamoilamino)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-4-{[(2R,3S,4S,5S)-2,3,4,5,6-pentahidroxihexil]carbamoilo}butanamido]-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil}metilo (24c)

[00461] Paso 1: a una solución de 23c1 (15 mg, 25 µmol) en DMF (1 mL) se le añadieron el compuesto 21c (14 mg, 14 µmol), HATU (9.5 mg, 25 µmoL) y NMM (4.9 mg, 49 µmoL). Después de agitar la reacción a 25°C durante 4 h, se consumió21c de acuerdo

con LC-MS. La mezcla resultante se trató con piperidina (0.1 mL) y se dejó agitar durante 2 h. La mezcla se purificó directamente por HPLC prep. para dar 23c (8.0 mg, 45% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 675 (M/2 + 1)+.

[00462] Paso 2: a una solución de 23c (10 mg, 7.4 µmol) en DMF (1 mL) se le añadieron 23c2 (7 mg, 22 µmol) y N-metilmorfolina (2.0 mg, 20 µmol), y la mezcla resultante se agitó a 25°C durante 4 h. Después de eliminar los volátiles al vacío, el residuo se disolvió en DCM (1 mL) y a la solución se le añadió TFA (0.1 mL). La mezcla resultante se agitó a 25°C durante 2 hy luego se concentró al vacío, y el residuo se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar 24c (4.0 mg, 30% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 1598 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 9.71 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.20 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 8.13-8.08 (m, 2H), 8.06 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.74 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.40 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.02 (s, 2H), 6.93 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.84-6.77 (m, 2H), 6.67 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 5.98 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 5.40 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.33 (s, 3H), 4.23-4.13 (m, 1H), 3.92 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.62-3.54 (m, 6H), 3.51-3.45 (m, 18H), 3.07-2.62 (m, 9H), 2.43-2.35 (m, 2H), 2.32-2.21 (m, 4H), 2.19-2.09 (m, 6H), 2.09-2.01 (m, 1H), 1.93-1.70 (m, 8H), 1.68-1.53 (m, 6H), 1.51-1.33 (m, 2H), 1.27 (d, J = 3.2 Hz, 9H), 1.14 (t, J = 12.4 Hz, 2H), 1.00 (d, J = 11.9 Hz, 6H), 0.87 (dd, J = 20.2, 6,8 Hz, 6H) ppm.

EJEMPLO 35

[00463] Este ejemplo demuestra métodos generales para preparar los enlazadores-cargas útiles que podrían conjugarse a un anticuerpo mediante una reacción de click de una azida con un alquino. La síntesis de los intermedios para los enlazadores se muestra en la figura 7, y la síntesis de los enlazadores-cargas útiles se muestra en la figura 8. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en las figuras7 y 8.

[00464] La figura 7 muestra la síntesis de COT-(PEG4)n-(N2-Fmoc)dLys26a y 26b. La reacción de acoplamiento de amida de N2-Fmoc-D-lisina 25a con el éster 25c disponible comercialmente proporcionó 26a. La reacción de acoplamiento de amida de N2-Fmoc-D-lisina 25a con el éster 25b1 disponible comercialmente, seguido por la desprotección de Boc, proporcionó 25b2; la reacción de acoplamiento de amida de 25b2 con 25c proporcionó 26b.

[00465] La figura 8 muestra una síntesis general de los enlazadores-cargas útiles29, tal como 29c1, 29c2, 29d1, 29d2, 29d3, 29d4, 29h y 29j. La síntesis del enlazador-carga

útil reactivo29 comenzó a partir de las reacciones de acoplamiento de amida de 26a o 26b con 21c, 21d, 21h y 21j, independientemente, seguido por la desprotección de Fmoc para formar 27c, 27d1, 27d2, 27h y 27j, independientemente, cada uno de que se sometieron a una ciclación 2+3 con ciclodextrina-azida para proporcionar 28c, 28d1, 28d2, 28h y 28j, respectivamente. Finalmente, las reacciones de acoplamiento de amida de 28c, 28d1, 28d2, 28h y 28j, con éster DIBAC-Suc-PEG4-NHS o BCN-Carbamato-PEG4-ácidocomercialmente disponibles proporcionaron 29c1, 29c2, 29d1, 29d2, 29d3, 29d4, 29h y 29j, respectivamente.

EJEMPLO 36

[00466] Este ejemplo demuestra métodos generales para la síntesis de los intermedios para los enlazadores 26a y 26b. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura7.

[00467] Ácido (2R)-6-[2-(ciclooct-2-in-1-iloxi)acetamido]-2-{[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino}hexanoico (26a)

[00468] A una solución de 25c disponible comercialmente (65 mg, 0.23 mmol) y Fmoc-D-Lys-OH (85 mg, 0.23 mmol) en DMF (2 mL) se le añadió TEA (52 mg, 0.51 mmol), y la mezcla se agitó entonces a temperatura ambiente durante 30 minutos. Luego, la mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó directamente por cromatografía instantánea de fase inversa (acetonitrilo al 0-100% en agua (TFA al 0.05%)) para dar 26a (85 mg, rendimiento 70%) como un sólido blanco. ESI m/z: 533 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4): δ 7.70 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.59 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 7.30 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.22 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 4.35-4.22 (m, 2H), 4.22-4.09 (m, 2H), 4.09-3.99 (m, 1H), 3.94-3.81 (m, 1H), 3.79-3.67 (m, 1H), 3.15 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.17-1.96 (m, 3H), 1.96-1.86 (m, 1H), 1.85-1.66 (m, 4H), 1.66-1.41 (m, 5H), 1.41-1.25 (m, 3H) ppm.

[00469] Ácido (24R)-24-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-1-(ciclooct-2-iniloxi)-2,18-dioxo-6,9,12,15-tetraoxa-3,19-diazapentacosan-25-oico (26b)

[00470] Paso 1: a una mezcla del compuesto 25b1 (4.6 g, 10 mmol) y Fmoc-(D)Lys-OH (25a, 3.6 g, 10 mmol) en DMF (10 mL) se le añadió trietilamina (2.0 g, 20 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 25°C durante una hora y luego se diluyó con DCM (100 mL) y se lavó con agua y salmuera. Los orgánicos se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y

se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (metanol al 0-5% en cloruro de metileno) para dar 25b2'como un aceite incoloro (5.5 g, 77% de rendimiento). ESI m/z: 716.2 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 7.89 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.84-7.80 (m, 1H), 7.74-7.72 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.61-7.59 (m, 1H), 7.42 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.33 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 6.76-6.74 (m, 1H), 4.28-4.21 (m, 3H), 3.93-3.85 (m, 1H), 3.58 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.48-3.47 (m, 12H), 3.16 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 3.07-2.97 (m, 3H), 2.28 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.02-1.94 (m, 1H), 1.71-1.56 (m, 2H), 1.36 (s, 9H), 1.23-1.15 (m, 6H) ppm.

[00471] Paso 2: a una solución de 25b2' (0.60 g, 0.84 mmol) en DCM (10 mL) se le añadió TFA (2,0 mL) por goteo a 0°C. La mezcla de reacción se dejó calentar y se agitó a 25°C durante la noche hasta que el compuesto 25b2' se consumiera totalmente por TLC. Los volátiles se eliminaron al vacío para proporcionar un residuo: ESI m/z: 616.3 (M + H)+.

[00472] Paso 3: a una solución del residuo anterior en DMF (10 mL) se le añadió el compuesto 25c (0.27 g, 0.98 mmol). Se probó una pequeña cantidad de la mezcla de reacción en papel de pH húmedo y el pH de la mezcla de reacción se ajustó de pH 7 a 8 mediante la adición de TEA (aproximadamente 1.0mL). La reacción se agitó a 25°C, se controló por LCMS y se completó en media hora. La mezcla de reacción se diluyó luego con DCM (100 mL) y agua (100 mL). La mezcla resultante se acidificó con clorhidrato (2 N) a pH 2. Los orgánicos se lavaron con agua (80 mL) y salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (metanol al 0-5% en cloruro de metileno) para dar el 26b como un aceite incoloro (0.38 g, rendimiento del 49%). ESI m/z: 780.3 (M + H)+. RMN 1H (400 MHz, CDCl3) δ 7.75 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.61 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.39 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.32-7.27 (m, 2H), 7.05-7.01 (m, 1H), 6.86-6.83 (m, 1H), 5.85 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.38-4.37 (m, 3H), 4.27-4.15 (m, 2H), 4.11-4.05 (m, 1H), 3.91-3.87 (m, 1H), 3.69 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.62-3.47 (m, 17 H), 3.28-3.19 (m, 2H), 2.46 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 2.27-2.01 (m, 3H), 1.91-1.72 (m, 5H), 1.66-1.55 (m, 4H), 1.42-1.34 (m, 3H) ppm.

EJEMPLO 37

[00473] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer los enlazadores-cargas útiles27c, 27d1, 27d2, 27h y 27j. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00474] Procedimientos generales para preparar el enlazador-carga útil intermedio27: A una solución del compuesto 26a o 26b (1 equiv.) en DMF (30-50 mg de 26a o 26b por mL de DMF) se le añadieron posteriormente HATU (1 equiv.) y - independientemente - compuesto 21c, 21d, 21h o 21j (1 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que la mezcla fuera homogénea. A esta mezcla se le añadió lentamente DIPEA (5 equiv.) a temperatura ambiente mediante una jeringa. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche (16 h) hasta que, independientemente, se consumieran21c, 21d, 21h o 21j de acuerdo con LC-MS. Luego, a la mezcla de reacción se le añadió piperidina (0.1 mL, exceso) por goteo a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó durante 3 h adicionales hasta que el grupo Fmoc se eliminó de acuerdo con lo controlado por LC-MS. La mezcla de reacción se purificó directamente por cromatografía instantánea de fase inversa o HPLC prep. (método B, condición básica) para dar, independientemente, los compuestos 27c, 27d1, 27d2, 27h y 27j, respectivamente, como sólidos blancos.

EJEMPLO 38

[00475] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil 27c. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00476] N-(2-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonilo)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]oxi}etil)carbamato de [4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-amino-6-{1-[2-(ciclooct-2-in-1-iloxi)acetamido]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido}hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (27c)

[00477] El compuesto 27c (40 mg, 30% de rendimiento) como un sólido blanco se obtuvo de la reacción de acoplamiento de amida de 21c (85 mg, 87 µmol) con 26b (68 mg, 87 µmol), siguiendo el procedimiento general para obtener 27. ESI m/z: 759 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 10.01 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.24-8.09 (m, 1H), 8.06-7.74 (m, 1H), 7.64-7.36 (m, 3H), 7.28 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.94 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.68 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.51 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 4.96 (s, 2H), 4.39 (s, 1H), 4.28-2.21 (m, 2H), 4.05 (s, 2H), 3.93 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 3.86-3.79 (m, 2H), 3.59 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.53-3.47 (m, 11H), 3.43 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.36 (s, 6H), 3.24 (dt, J = 12.8, 6.1 Hz, 3H), 3.10-2.91 (m, 4H), 2.85 (t,J = 17.2 Hz, 2H),

2.75-2.69 (m, 2H), 2.34-2.10 (m, 10H), 2.10-1.66 (m, 12H), 1.67-1.54 (m, 8H), 1.47-1.24 (m,16H), 1.14 (t, J = 13.3 Hz, 2H), 1.01 (d, J = 11.8 Hz, 6H), 0.88 (s, 3H) 0.84 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 39

[00478] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil27d1. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00479] (1S,4aS,10aR)-6-((2S)-2-((2S)-2-((2R)-2-Amino-6-(2-(ciclooct-2-iniloxi)acetamido)hexanamido)-3-metilbutanamido)propanamido)-N-((1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil)-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (27d1)

[00480] El compuesto 27d (30 mg, 47% de rendimiento) como un sólido blanco se obtuvo de la reacción de acoplamiento de amida de 26a (35 mg, 0.064 mmol) con 21d1 (45 mg, 0.064 mmol), siguiendo el procedimiento general para obtener 27 ESI m/z: 991 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.51 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.37 (dd, J = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.3, 2.5 Hz, 1H), 4.64-4.57 (m, 1H), 4.48 (q, J = 7.1 Hz, 1H), 4.33-4.27 (m, 1H), 4.20 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 3.93 (m, 2H), 3.43 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 3.24 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 3.02-2.93 (m, 2H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.40-2.32 (m, 2H), 2.33-2.23 (m, 4H), 2.22-2.12 (m, 3H), 2.12-2.00 (m, 5H), 1.99-1.91 (m, 1H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.78-1.66 (m, 6H), 1.66-1.58 (m, 1H), 1.58-1.49 (m, 2H), 1.45 (d, J = 7.1 Hz, 6H), 1.38 (d, J = 4.0 Hz, 6H), 1.34-1.22 (m, 4H), 1.14 (d, J = 7.0 Hz, 6H), 1.06-0.98 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 40

[00481] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil27d2. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00482] N-[(5R)-5-Amino-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}pentil]-1-[2-(ciclooct-2-in-1-iloxi)acetamido]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (27d2)

[00483] El compuesto 27d2 (54 mg, 50% de rendimiento) como un sólido blanco se obtuvo de la reacción de acoplamiento de amida de 21d (60 mg, 0.086 mmol) con 26b, siguiendo el procedimiento general para obtener 27. ESI m/z: 620 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.61-7.48 (m, 1H), 7.35-7.29 (m, 1H), 7.02 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.2, 1.7 Hz, 1H), 4.52-4.44 (m, 1H), 4.27 (dd, J = 21.9, 7.2 Hz, 2H), 4.03 (dd, J = 15.1, 2.4 Hz, 1H), 3.96 (dt, J = 22.5, 6.5 Hz, 1H), 3.89 (dd, J = 15.1, 3.1 Hz, 1H), 3.75 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 3.64 (t, J = 8.6 Hz, 12H), 3.60-3.54 (m, 3H), 3.44 (dd, J = 11.7, 5.9 Hz, 2H), 3.23 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.02-2.91 (m, 1H), 2.91-2.74 (m, 3H), 2.46 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 2.40-2.31 (m, 3H), 2.26-2.22 (m, 5H), 2.21-1.79 (m, 12H), 1.77-1.65 (m, 6H), 1.62-1.53(m, 3H), 1.47-1.43 (m, 5H), 1.38 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.33-1.22 (m, 3H), 1.14 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 1.06-0.95 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 41

[00484] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil27h. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00485] N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}metil)carbamato de [4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-amino-6-[2-(ciclooct-2-in-1-iloxi)acetamido]hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (27h)

[00486] El compuesto 27h (65 mg, 62% de rendimiento) como un sólido blanco se obtuvo de la reacción de acoplamiento de amida de 21h (80 mg, 64 µmol) con 26a (53 mg, 97 µmol), siguiendo el procedimiento general para obtener 27. ESI m/z: 1283 (M + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.53-7.33 (m, 3H), 7.28-7.14 (m, 3H), 6.89 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.76 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.60 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.43 (dd, J = 8.3, 2.5 Hz, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.53-4.46 (m, 2H), 4.41 (dd, J = 8.9, 5.0 Hz, 1H), 4.18 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.09 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 3.92-3.72 (m, 4H), 3.31 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 3.16-3.05 (m, 3H), 3.06-2.97 (m, 1H), 2.90-2.62 (m, 4H), 2.27-2.09 (m, 7H), 2.09-1.87 (m, 7H), 1.86-1.68 (m, 4H), 1.66-1.40 (m, 12H), 1.36-1.22 (m, 10H), 1.20-1.09 (m, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 0.89 (t, J = 7,0 Hz, 6H) ppm.

EJEMPLO 42

[00487] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil27j. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00488] N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamato de [4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-amino-6-[2-(ciclooct-2-in-1-iloxi)acetamido]hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (27j)

[00489] El compuesto 27j (15 mg, 33% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco, siguiendo el procedimiento general para obtener 27. ESI m/z: 1313,6 (M + H)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.59 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.36-7.26 (m, 3H), 7.01 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.57-6.54 (m, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.64-4.52 (m, 1H), 4.35-4.28 (m, 2H), 4.21 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 4.01-3.98 (m, 1H), 3.88-3.84 (m, 3H), 3.43 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 3.26- 3.10 (m, 4H), 3.00-2.76 (m, 3H), 2.38-2.24 (m, 7H), 2.19-2.02 (m, 9H), 1.98-1.78 (m, 4H), 1.74-1.54 (m, 12H), 1.45-1.26 (m, 14H), 1.13 (s, 6H), 1.00 (t, J = 7.5 Hz, 6H) ppm.

EJEMPLO 43

[00490] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer los enlazadores-cargas útiles28c, 28d1, 28d2, 28h y 28j. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00491] Procedimiento general para preparar el enlazador-carga útil intermedio 28: a una solución del compuesto 27 (30 mg, 1 equiv.) en DMF (0.5 mL) se le añadió una solución de azida de α-ciclodextrina (CD-N3, ESI m/z: 1020 (M + Na)+, 2 equiv.; ver SintheticCommunications, 2002, 32(21), 3367-3372) en DMF (0.5 mL) a temperatura ambiente a través de una jeringa. La mezcla se agitó a 20-25°C durante 3 días. El compuesto 27 se consumió en base al análisis LC-MS. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó directamente mediante HPLC prep. (Método B) o cromatografía instantánea de fase inversa (acetonitrilo al 0-100% en agua con bicarbonato de amonio al 10%) para dar el compuesto 28 como un sólido blanco.

EJEMPLO 44

[00492] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil28c. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00493] N-(2-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]oxi}etil)carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-amino-6-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3},^{6}.2^{8},^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-9-il)oxi]acetamido}-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido)hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (28c)

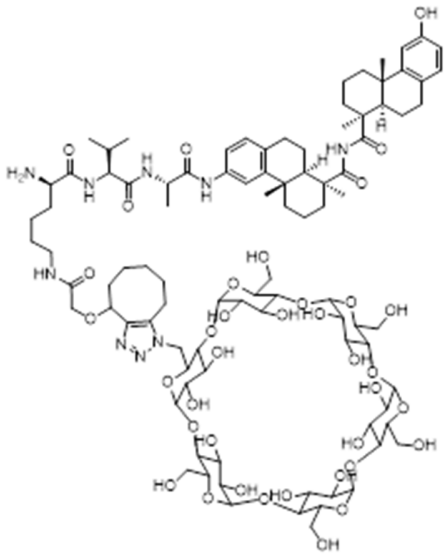
[00494] El compuesto 28c (51 mg, 78% de rendimiento) como un sólido blanco se obtuvo de la reacción de click (2+3) de 27c (40 mg, 26 µmol) con CD-N3 (52 µmol), siguiendo el procedimiento general para hacer 28. ESI m/z: 1258 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 10.08 (s, 1H), 9.09-8.91 (m, 1H), 8.56 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.39 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 7.85-7.78 (m, 2H), 7.58 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.41 (s, 1H), 7.29 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.94 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.85-6.78 (m, 2H), 6.68 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.51 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.06 (s, 1H), 5.50 (br s, 15H), 5.15 (s, 1H), 4.96 (s, 3H), 4.85-4.78 (m, 12H), 4.70 (s, 3H), 4.56 (s, 3H), 4.39 (s, 5H), 3.89-3.75 (m, 14H), 3.74-3.56 (m, 8H), 3.54-3.39 (m, 8H), 3.38-3.29 (m, 7H)), 3.14 (s, 2H), 3.01 (d, J = 5.5 Hz, 5H), 2.86-2.8 (m, 2H), 2.74 (s, 4H), 2.32-2.23 (m, 5H), 2.16 (d, J = 11.2 Hz, 3H), 2.00 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 1.93-1.86 (m, 5H), 1.77-1.54 (m, 10H), 1.46-1.42 (m, 6H), 1.30-1.27 (m 11H), 1.14 (s, 3H), 1.00 (d, J = 12.5 Hz, 6H), 0.88 (s, 3H) 0.84 (s, 3H) ppm.

EJEMPLO 45

[00495] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil28d1. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00496] (1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-amino-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10.15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-

dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]propanamido]-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]carbonil}-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carboxamida (28d1)



[00497] El compuesto 28d1 (14 mg, 23% de rendimiento) como un sólido blanco se obtuvo de la reacción de click (2+3) de 27d1 (30 mg, 30 µmol) con CD-N3 (60 µmol), siguiendo el procedimiento general para hacer 28.ESI m/z: 995 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 8.40 (s, 1H, imida-H), 7.56-7.52 (m, 1H), 7.32 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 5.24-5.16 (m, 1H), 5.01-4.95 (m, 6H), 4.65-3.43 (m, 40H), 3.14-2.72 (m, 7H), 2.55-1.26 (m, 44H), 1.16 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.09-0.93 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 46

[00498] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil28d2. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00499] N-[(5R)-5-Amino-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}pentil]-1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-

10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3},^{6}.2^{8},^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-9-il)oxi]acetamido}-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (28d2)

[00500] El compuesto 28d2 (30 mg, 72% de rendimiento) como un sólido blanco se obtuvo de la reacción de click (2+3) de 27d2 (23 mg, 19 µmol) con CD-N3 (38 µmol), siguiendo el procedimiento general hacer 28. ESI m/z: 1118 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSO-d6) δ 9.91-9.85 (m, 1H), 9.13-8.90 (m, 1H), 8.58 (t, J = 9.3 Hz, 2H), 8.50-8.47 (m, 1H), 8.17-8.00 (m, 6H), 7.88-7.78 (m, 2H), 7.53-7.49 (m, 1H), 7.36-7.30 (m, 1H), 6.97 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.51 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 5.52-5.50 (m, 11H), 5.14 (s, 1H), 4.86-4.67 (m,10H), 4.54 (d, J = 12.9 Hz, 2H), 4.46-4.32 (m, 5H), 4.06-3.94 (m, 3H), 3.89-3.76 (m, 4H), 3.73-3.61 (m, 5H), 3.57 (t, J = 6.5 Hz, 3H), 3.53-3.34 (m, 12H), 3.33-3.19 (m, 4H), 3.17-3.08 (m, 3H), 3.00 (dd, J = 12.6, 6.2 Hz, 3H), 2.91-2.68 (m, 8H), 2.31-2.22 (m, 5H), 2.18-2.07 (m, 6H), 1.93-1.78 (m, 6H), 1.74-1.35 (m, 15H), 1.28 (d, J = 6.6 Hz, 17H), 1.19-1.06 (m, 5H), 1.01-0.94 (m, 9H), 0.89-0.79 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 47

[00501] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil28h. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00502] N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}metil)carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-amino-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3},^{6}.2^{8},^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,2H,3H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (28h)

[00503] El compuesto 28h (67 mg, 76% de rendimiento) como un sólido blanco se obtuvo de la reacción de click (2+3) de 27h (60 mg, 47 µmol) con CD-N3 (94 µmol), siguiendo el procedimiento general hacer 28. ESI m/z: 1141 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 8.40 (s, 1H), 7.65-7.45 (m, 3H), 7.40-7.26 (m, 3H), 7.02 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 5.24-

5.16 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 5.02-4.93 (m, 4H), 4.66-4.51 (m, 2H), 4.43-4.22 (m, 2H), 4.15-3.73 (m, 22H), 3.64-3.42 (m, 12H), 3.37 (s, 3H), 3.24-3.03 (m, 4H), 3.01-2.75 (m, 6H), 2.42-2.25 (m, 6H), 2.18-1.98 (m, 8H), 1.94-1.58 (m, 15H), 1.56 -1.50 (m, 3H), 1.47-1.40 (m, 3H), 1.38 (s, 3H), 1.37 (s, 3H), 1.34-1.25 (m, 4H), 1.16-1.10 (m, 6H), 1.09 -0.93 (m, 7H) ppm.

EJEMPLO 48

[00504] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil28j. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00505] N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-Amino-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (28j)

[00506] El compuesto 28j (20 mg, 57% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco a partir de la reacción de click (2+3) de 27j con CD-N3 siguiendo el procedimiento general para obtener 28. ESI m/z: 1156.0 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.81-9.67 (m, 2H), 8.99 (s, 1H), 8.20-8.06 (m, 5H), 7.85-7.22 (m, 18H), 6.97-6.49 (m, 2H), 5.98 (s, 1H), 5.65-5.33 (m, 15H), 5.14-4.92 (m, 5H), 4.82-4.72 (m, 6H), 4.60-4.54 (m, 4H), 4.36-4.28 (m, 3H), 4.18-3.96 (m, 3H), 3.85-3.55 (m, 27H), 3.49-3.39 (m, 23H), 3.28-3.08 (m, 8H), 2.94-2.57 (m, 4H), 2.42 -2.07 (m, 8H), 1.99-1.45 (m, 22H), 1.28-1.11 (m, 23H), 1.05-0.95 (m, 6H), 0.89-0.79 (m, 7H) ppm.

EJEMPLO 49

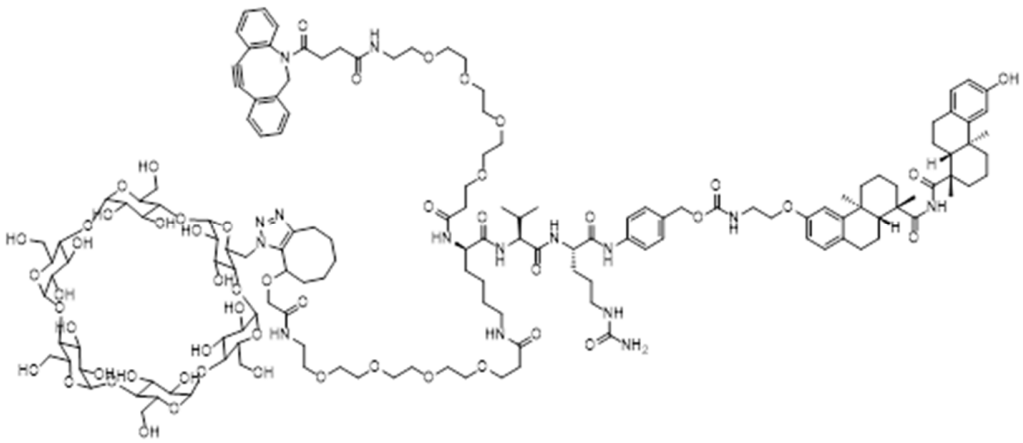
[00507] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil reactivo29c1, 29c2, 29d1, 29d2, 29d3, 29d4, 29h y 29j. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00508] Procedimiento general para preparar el enlazador-carga útil 29: a una solución del compuesto 28 (5-30 mg, 1 equiv.) en DMF (0.5 mL) se le añadió una solución de DIBAC-Suc-PEG4-OSu o BCN-PEG4-NHS éster disponible comercialmente (1.2 equiv.) en THF (0.5 mL) y luego TEA (2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que se consumiera28, tal como se monitoreó por LC-MS. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó directamente por HPLC prep. para producir 29 como un sólido blanco.

EJEMPLO 50

[00509] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil29c1. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00510] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0⁴,⁹]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-6-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2³,⁶.2⁸,¹¹.2¹³,¹⁶.2¹⁸,²¹.2²³,²⁶]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooocta[d][1,2,3]triazol-9-il)oxi]acetamido}-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido)hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metil-N-(2-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]oxi}etil)carbamato (29c1)



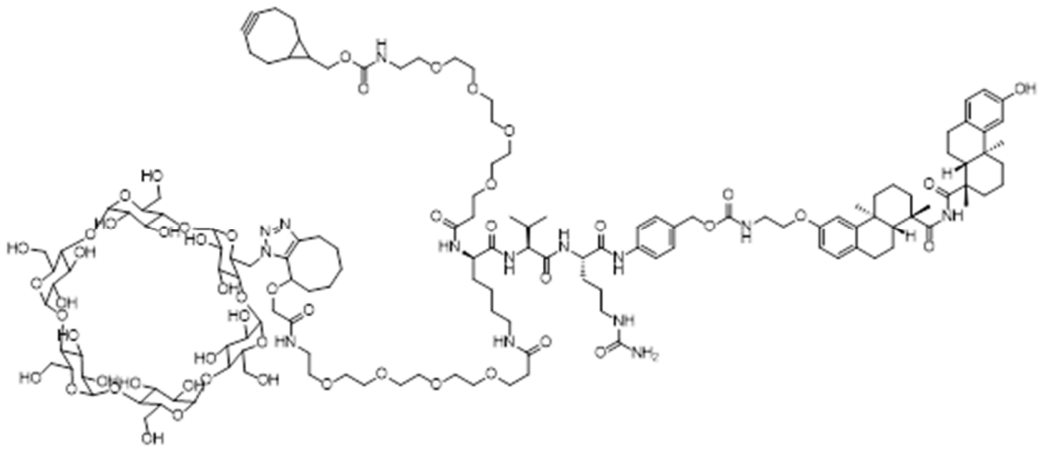
[00511] El compuesto 29c1 (12 mg, 39% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco siguiendo el procedimiento general para obtener 29.

[00512] C148H213N15O53, masa exacta: 3048.4. ESI m/z: 1017 (M/3 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.68 (s, 1H), 8.21-8.04 (m, 3H), 7.88-7.74 (m, 2H), 7.71-7.56 (m, 3H), 7.52-7.21 (m, 8H), 6.93 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.84-6.77 (m, 1H), 6.70-6.58 (m, 2H), 6.51 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 5.78-5.33 (m, 12H), 5.22-4.51 (m, 14H), 4.43-4.12 (m, 4H), 4.07-3.55 (m, 35H), 3.53-3.33 (m, 38H), 3.33-2.52 (m, 32H), 2,43-1,21 (m, 41H), 1,20-0.77 (m, 14H) ppm.

EJEMPLO 51

[00513] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil 29c2. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00514] N-(14-{[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[4-({[(2-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]oxi}etil)carbamoil]oxi}metil)fenil]carbamoil}-4-(carbamoilamino)butil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-5-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3},^{6}.2^{8},^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-9-il)oxi]acetamido}-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido)pentil]carbamoil}-3,6,9,12-tetraoxatetradecan-1-il)carbamato de {biciclo[6.1.0]non-4-in-9-il}metilo (29c2)



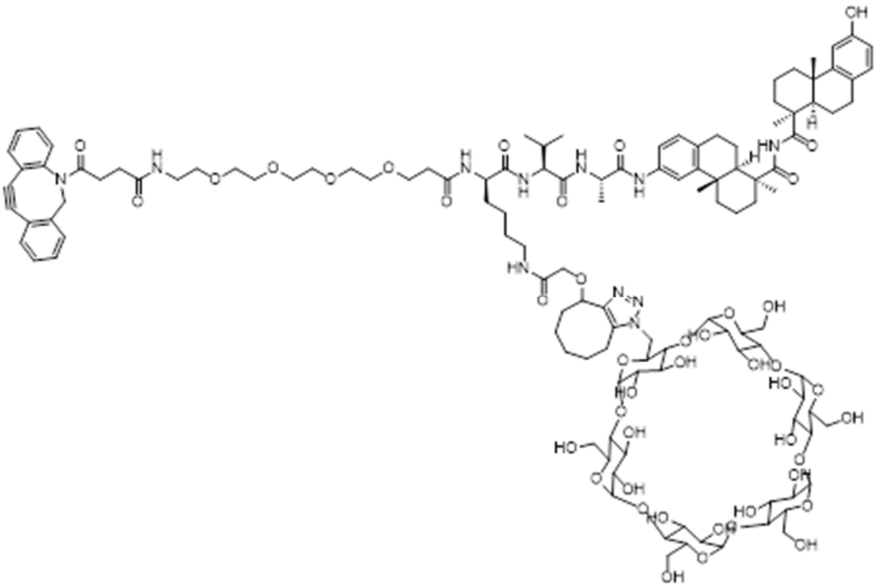
[00515] El compuesto 29c2 (5 mg, 21% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco siguiendo el procedimiento general para obtener 29.

[00516] C140H212N14O53, masa exacta: 2937.4. ESI m/z: 1470 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.68 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.21-8.03 (m, 2H), 7.62 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.93 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.67 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.50 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.64-5.37 (m, 12H), 5.14 (s, 1H), 5.00-4.50 (m, 13H), 4.38-4.29 (m, 3H), 4.20-4.13 (m, 1H), 4.09-3.97 (m, 10H), 3.95-3.89 (m, 2H), 3.86-3.54 (m, 23H), 3.52-3.33 (m,28H), 3.16-2.61 (m, 17H), 2.45-1.20 (m, 66H), 1.18-0.80 (m, 21H) ppm.

EJEMPLO 52

[00517] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil 29d1. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00518] 1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.04,9]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}pentil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (29d1)



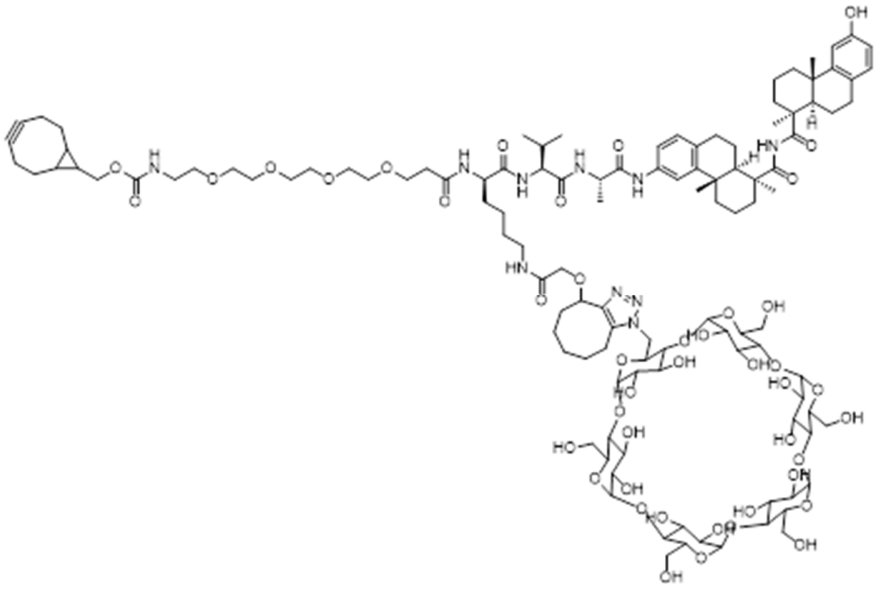
[00519] El compuesto 29d1 (5.0 mg, 27% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco siguiendo el procedimiento general para obtener 29.

[00520] C124H175N11O44, Masa exacta: 2522.2. ESI m/z: 1261 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.69-7.44 (m, 6H), 7.41-7.30 (m, 3H), 7.26 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.04-6.96 (m, 1H), 6.88 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 5.25-4.94 (m, 6H), 4.75-4.55 (m, 16H), 4.53-3.41 (m, 49H), 3.33-1.20 (m, 53H), 1.18-1.10 (m, 6H), 1.06-0.94 (m, 6H) ppm.

EJEMPLO 53

[00521] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil 29d2. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00522] N-(14-{[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3},^{6}.2^{8},^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}pentil]carbamoil}-3,6,9,12-tetraoxatetradecan-1-il)carbamato de {biciclo[6.1.0]non-4-in-9-il}metilo (29d2)



[00523] El compuesto 29d2 (16 mg, 43% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco siguiendo el procedimiento general para obtener 29.

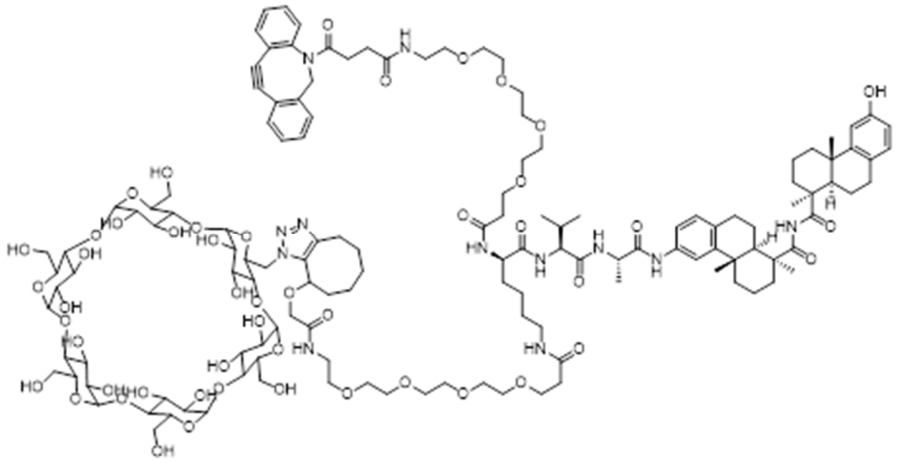
[00524] C116H174N10O44, Masa exacta: 2411.2. ESI m/z: 1206 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, metanol-d4) δ 7.62 (s, 1H), 7.39 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 5.21 (t, J = 2.8 Hz, 1H), 4.99-4.95 (m, 4H), 4.65-3.43 (m, 57H), 3.31-2.74 (m, 11H), 2.55-1.22 (m, 55H), 1.16 (s, 3H), 1,13 (s, 3H), 1.06-0.87 (m, 9H) ppm.

EJEMPLO 54

[00525] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil 29d3. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00526] 1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantreno-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-5-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]dotetracontan-5-il]metil}-

1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-9-il)oxi]acetamido}-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido)pentil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (29d3)



[00527] El compuesto 29d3 se obtuvo como un sólido blanco (8 mg, 32% de rendimiento) siguiendo el procedimiento general para obtener 29.

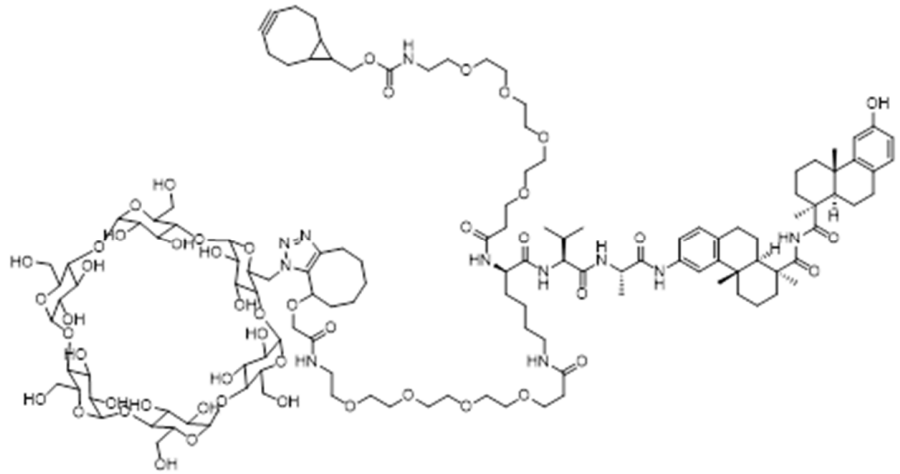
[00528] C135H196N12O49, Masa exacta: 2769.3. ESI m/z: 1385.9 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.71-9.30 (br s, 0.6H), 9.01 (s, 1H), 8.29-7.99 (m, 4H), 7.89-7.76 (m, 3H), 7.74-7.60 (m, 2H), 7.58-7.27 (m, 7H), 7.01-6.92 (m, 1H), 6.82 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.68-6.48 (m, 2H), 5.71-5.45 (m, 12H), 5.17-4.69 (m, 2H), 4.90-4.50 (m, 12H), 4.44-3.54 (m, 33H), 3.54-3.41 (m, 38H), 3.33-2.54 (m, 15H), 2.43-1.19 (m, 44H), 1,18-0.66 (m, 18H) ppm.

EJEMPLO 55

[00529] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil29d4. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00530] N-(14-{[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-carbonil]carbamoil}-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-5-(1-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.2^{3},^{6}.2^{8},^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-9-il)oxi]acetamido}-3,6,9,12-

tetraoxapentadecan-15-amido)pentil]carbamoil}-3,6,9,12-tetraoxatetradecan-1-il)carbamato de {biciclo[6.1.0]non-4-in-9-il}metilo (29d4)



[00531] El compuesto 29d4 (2 mg, 14% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco siguiendo el procedimiento general para obtener 29.

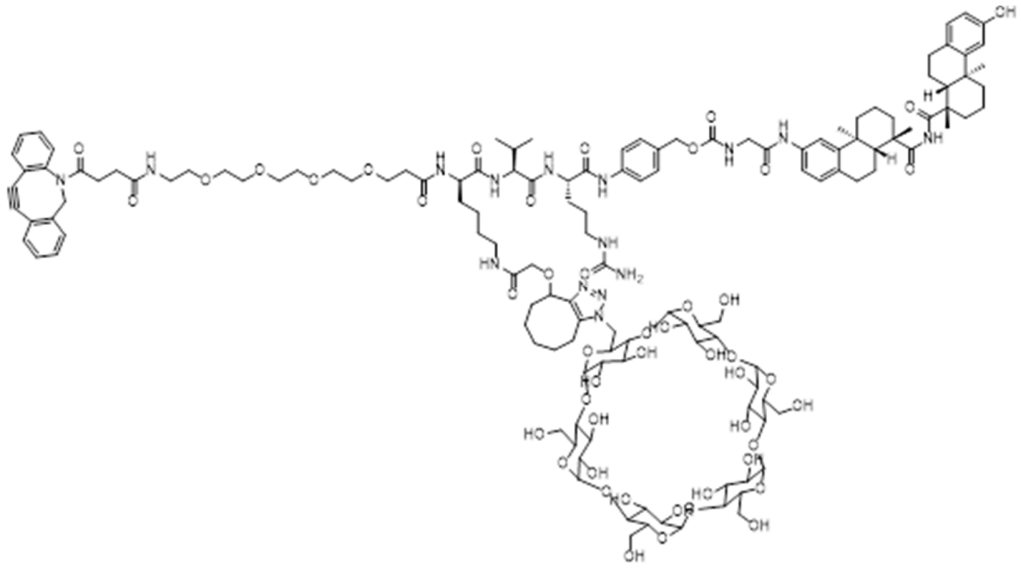
[00532] C148H213N15O53, masa exacta: 3048.4. ESI m/z: 1017 (M/3 + 1)+, RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.68 (s, 1H), 8.21-8.04 (m, 3H), 7.88-7.74 (m, 2H), 7.71 -7.56 (m, 3H), 7.52-7.21 (m, 8H), 6.93 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.84-6.77 (m, 1H), 6.70-6.58 (m, 2H), 6.51 (d,J = 8.1 Hz, 1H), 6.01 (s, 1H), 5.78-5.33 (m, 12H), 5.22-4.51 (m, 14H), 4.43-4.12 (m, 4H), 4.07-3.55 (m, 35H), 3.53-3.33 (m, 38H), 3.33-2.52 (m, 32H), 2.43-1.21 (m, 41H), 1.20-0.77 (m, 14H) ppm.

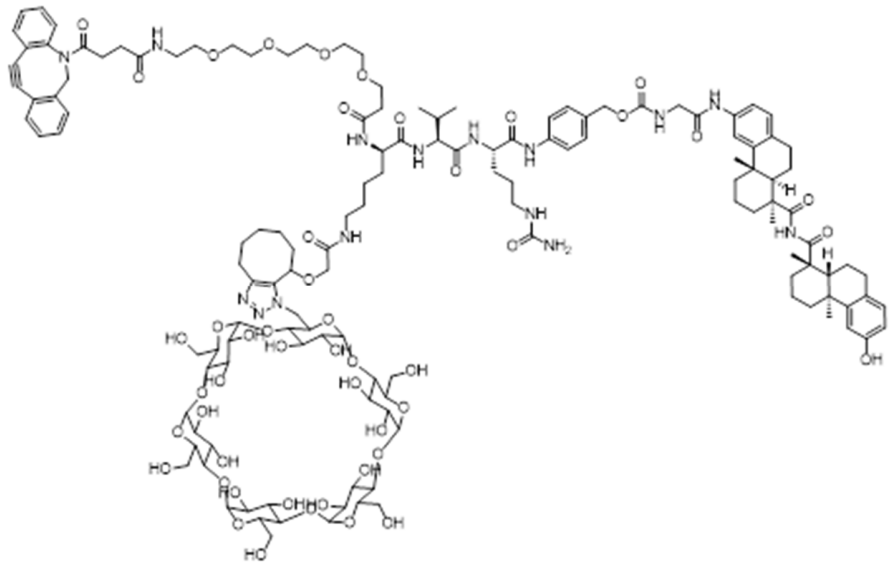
EJEMPLO 56

[00533] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil29h. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00534] 1-(4-{2-Azatriciclo[10.4.0.04,9]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}etil]carbamoil}-2-metilpropil]carbamoil}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo[26.2.2.23,6.28,11.213,16.218,21.223,26]dotetracontan-5-il]metil}-

1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}pentil]-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amida (29h)





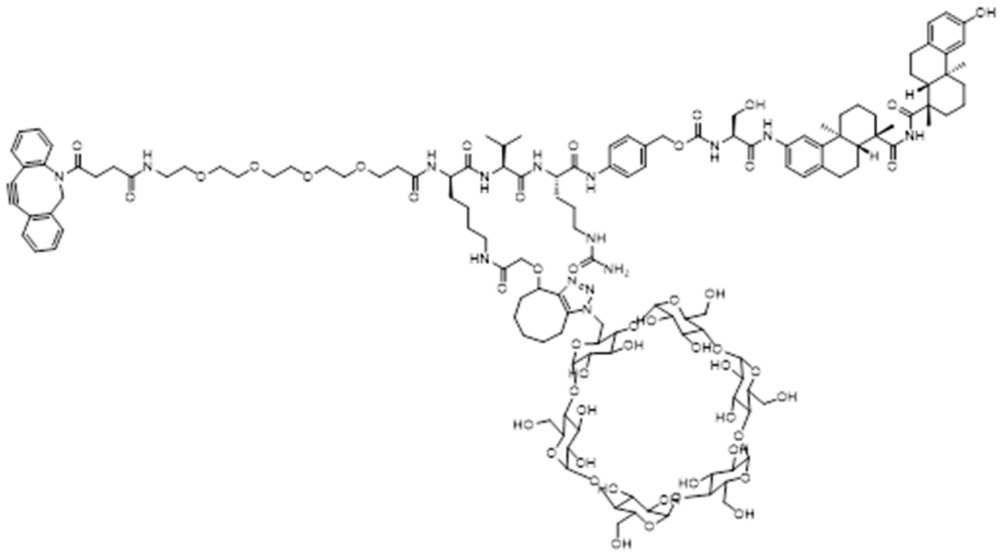
[00535] El compuesto 29h (28 mg, 35% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco (mezcla de regioisómeros en el triazol) siguiendo el procedimiento general para obtener 29.

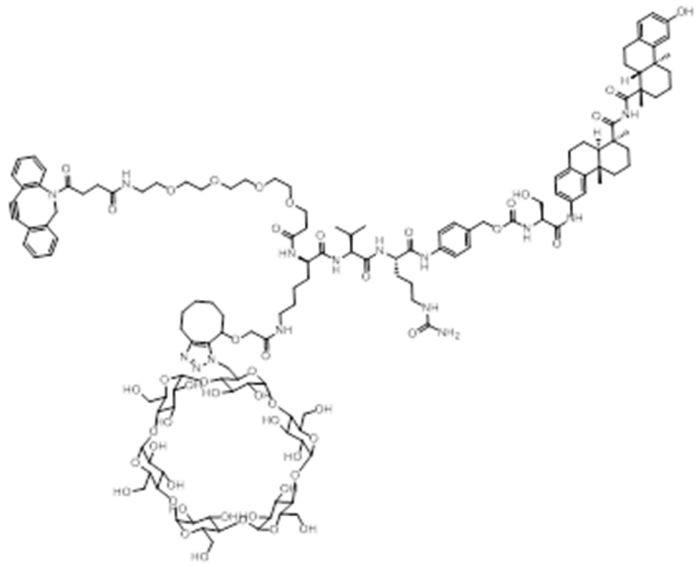
[00536] C137H191N15O48, masa exacta: 2814.3. ESI m/z: 1409 (M/2 + 1)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.79 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.24-8.05 (m, 3H), 7.86-7.73 (m, 2H), 7.71- 7.58 (m, 3H), 7.54-7.42 (m, 4H), 7.42-7.25 (m, 5H), 6.96 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.57-6.45 (m, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.69-5.31 (m, 12H), 5.17-4.49 (m, 14H), 4.39-3.95 (m, 5H), 3.90 -3.51 (m, 25H), 3.50-3.33 (m, 32H), 3.33-2.53 (m, 21H), 2.44-1.20 (m, 41H), 1.21-0.77 (m, 16H) ppm.

EJEMPLO 57

[00537] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil 29j. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura8.

[00538] N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-hidroxi-1,4a-Dimetil-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-1-il]formamido}carbonil)-4b,8-dimetil-4b,5,6,7,8,8a,9,10-octahidrofenantren-3-il]carbamoil}-2-hidroxietil]carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0^{4,9}]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-dodecahidroxi-10,15,20,25,30-pentakis(hidroximetil)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-dodecaoxaheptaciclo [26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]dotetracontan-5-il]metil}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-ciclooctа[d][1,2,3]triazol-4-il)oxi]acetamido}hexanamido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (29j)





[00539] El compuesto 29j (10 mg, 42% de rendimiento) se obtuvo como un sólido blanco (mezcla de regioisómeros en el triazol) siguiendo el procedimiento general para obtener 29.

[00540] C138H193N15O49, Masa exacta: 2844.3. ESI m/z: 1424,3 (M/2 + H)+. RMN 1H (500 MHz, DMSOd6) δ 9.81 (s, 1H), 9.65 (s, 1H), 8.97 (s, 1H), 8.28-8.04 (m, 3H), 7.91-7.73 (m, 2H), 7.73-7.16 (m, 12H), 6.95 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.73-6.59 (m, 1H), 6.59-6.44 (m, 1H), 5.98 (s, 1H), 5.71-5.27 (m, 12H), 5.23-4.48 (m, 14H), 4.43-3.93 (m, 5H), 4.09-3.50 (m, 24H), 3.51-3.33 (m, 31H), 3.33-2.53 (m, 17H), 2.42-1.08 (m, 51H), 1.06-0.67 (m, 14H) ppm.

EJEMPLO 58

[00541] Este ejemplo demuestra los métodos para hacer el enlazador-carga útil 33. Este ejemplo se refiere a la numeración de compuestos en la figura9.

[00542] N-{2-[N-Metil(3-{3-[3-etil-8-(trifluorometil)quinolin-4-il]fenoxi}bencen)sulfonamido]etil}carbamato de {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-azatriciclo[10.4.0.0(4,9)]hexadeca-1(12),4(9),5,7,13,15-hexaen-10-in-2-il}-4-

oxobutanamido)-3,6,9,12-tetraoxapentadecan-15-amido]-3-metilbutanamido]-5-(carbamoilamino)pentanamido]fenil}metilo (33)

[00542] La N-(2-aminoetil)-3-(3-(3-etil-8-(trifluorometil) quinolin-4-il)fenoxi)-N-metilbencenosulfonamida (31) se reportó como un potente agonista de LXR que tiene un afinidad de unión de 1.5 nM a LXRα y 12 nM a LXRβ (Ver, BioconjugChem. 201526(11), 2216-22).

[00543] La síntesis del enlazador-carga útil 33 a través de dos reacciones de acoplamiento de amida se muestra en la figura 9. La primera reacción de acoplamiento de amida de 31 con Fmoc-VC-PAB-PNP catalizada por HOBtseguido por la desprotección de Fmoc en condiciones básicas formó 32, y la segunda reacción de acoplamiento de amida de 32 con DIBAC-suc-PEG4-ácido disponible comercialmente formó 33.

[00544] Paso 1: a una mezcla de 31 (0.14 g, 0.26 mmol) en DMF (5 mL) se le añadieron posteriormente Fmoc-vc-PAB-PNP (0.26 g, 0.34 mmol), HOBt (46 mg, 0.34 mmol) y DIPEA (89 mg, 0.68 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar la reacción a 20-25°C durante 24 h, 31 se consumió totalmente de acuerdo con el análisis de LC-MS. A la mezcla de reacción se le añadió Et2NH (0.5 mL) y la mezcla resultante se agitó a 25°C durante 2 h adicionales. LC-MS mostró que el grupo Fmoc se eliminó totalmente en ese momento. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC prep. (Método A) para dar 32 (75 mg, 30% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 935 (M + H)+. RMN 1H (400 MHz, metanol-d4) δ 8.97 (s, 1H), 8.06 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.71-7.52 (m, 7H), 7.40-7.37 (m, 2H), 7.31- 7.27 (m, 3H), 7.18 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.06-7.04 (m, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.55-4.52 (m, 1H), 3.25-3.06 (m, 7H), 2.74 (s, 3H), 2.73-2.60 (m, 2H), 2.06-1.54 (m, 5H), 1.18 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 0.98 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.93 (d, J = 6,8 Hz, 3H) ppm.

[00545] Paso 2: a una solución de DIBAC-suc-PEG4-ácido (8.0 mg, 14 µmol) en DMF (1 mL) se le añadió HATU (8.0 mg, 20 µmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 25°C durante una hora y posteriormente se añadieron a la mezcla 32 (13 mg, 14µmol) y TEA (13 mg, 28µmol). La mezcla se agitó a 25°C durante 2 h adicionales. La reacción se controló por LC-MS hasta que se consumió 32. Los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se purificó por HPLC prep. (Método B) para dar 33 (7.0 mg, 35% de rendimiento) como un sólido blanco. ESI m/z: 735 (M/2 + H)+. RMN 1H (400 MHz, metanol-d4) δ 8.96 (s, 1H), 8.06 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.71-7.52 (m, 9H), 7.43-7.18 (m, 12H), 7.05 (s, 1H), 5.13-

5.09 (m, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.52-4.46 (m, 1H), 4.20 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 3.77-3.65 (m, 3H), 3.58-3.51 (m, 12H), 3.44-3.39 (m, 2H), 3.22 (t, J = 6.0 Hz, 4H), 3.14-3.03 (m, 3H), 2.73-2.62 (m, 6H), 2.53 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.40-2.31 (m, 1H), 2.20-1.86 (m, 5H), 1.79-1.51 (m, 3H), 1.17 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 0.97 (t, J = 6,0 Hz, 6H) ppm.

EJEMPLO 59

[00546] En la Tabla 2 se resumen las estructuras del enlazador-cargas útiles 22, 24, 27, 29 y 33. En la Tabla 5 se resumen las fórmulas moleculares, los pesos moleculares, los valores de LogP calculados, la MS y los resultados de HPLC para el enlazador-cargas útiles.

Tabla 5. Propiedades físico-químicas de enlazador-carga útil

	Comp #	**cLogP**	**FM**	**PM**	**MS m/z (100%)**	**HPLC R_t Método A o B (min)**	**HPLC Pureza (%)**
LP1	24c	+	$C_{81}H_{116}N_{10}O_{23}$	1597.8	1598.7 [M+H]	6.70 (A) 7.72 (B)	100
LP2	22d1	+++	$C_{72}H_{92}N_6O_{12}$	1233.53	617.3 [M/2+H]	9.21 (B)	100
LP3	22d2	++	$C_{38}H_{51}N_3O_3$	597.39	598.4 [M+H]	8.99 (B)	100
LP4	22j	++	$C_{86}H_{110}N_{10}O_{17}$	1555.8	778.4 [M/2+H]	7.21 (B)	96.6
LP5	27d1	++	$C_{58}H_{82}N_6O_8$	990.62	991.3 [M+H]	6.5 (B)	100

	Comp #	cLogP	FM	PM	MS m/z (100%)	HPLC R_t Método A o B (min)	HPLC Pureza (%)
LP6	29c1	+	$C_{137}H_{191}N_{15}O_{48}$	2818.1	939.5 [M/3+H]	6.62 (B)	100
LP7	29c2	+	$C_{148}H_{213}N_{15}O_{53}$	3050.3	1017.3 [M/3+H]	6.68 (B)	96
LP8	29d1	+	$C_{124}H_{175}N_{11}O_{44}$	2523.8	841.8 [M/3+H]	6.19 (B)	98
LP9	29d2	+	$C_{116}H_{174}N_{10}O_{44}$	2412.7	1215.2 [(M+H2O)/2+H]	6.37 (B)	100
LP10	29d3	+	$C_{135}H_{196}N_{12}O_{49}$	2771.1	924.5 [M/3+H]	6.42 (B)	100
LP11	29d4	+	$C_{127}H_{195}N_{11}O_{49}$	2660	837.2 [(M-BCN)/ 3+H]	6.33 (B)	100
LP12	29h	+	$C_{137}H_{191}N_{15}O_{48}$	2818.1	939.5 [M/3+H]	6.62 (B)	100
LP13	29j	+	$C_{138}H_{193}N_{15}O_{49}$	2846.08	1424.3 [M/2+H]	6.12 (B)	100
LP15	27j	++	$C_{72}H_{100}N_{10}O_{13}$	1313.62	657.5 [M/2+H] 1313.6 [M+H, 5%]	8.16 (B)	96

	Comp #	**cLogP**	**FM**	**PM**	**MS m/z (100%)**	**HPLC R_t Método A o B (min)**	**HPLC Pureza (%)**
LP14	33	++	$C_{76}H_{87}F_3N_{10}O_{15}S$	1469.6	735.3 [M/2+H]	9.34 (B)	96

9 <+++; 7 <++ <9; -2 <+ <2

EJEMPLO 60

[00547] Este ejemplo demuestra un método para preparar fármacos conjugados no específicos de sitio a un anticuerpo usando una reacción tiol-maleimida.

[00548] La conjugación a través de las cisteínas de anticuerpos se llevó a cabo en dos pasos usando los métodos similares a aquellos para hacer ADC de tipo Adcetris® (Ver, Mol. Pharm. 2015, 12(6), 1863-71).

[00549] Un anticuerpo monoclonal (mAb) se reduce con ditiotreitol o TCEP. Después de la filtración en gel, se añaden 24c en solución de DMSO al anticuerpo reducido, y la mezcla se ajusta al pH apropiado. La reacción se deja agitar. El conjugado resultante se purifica por SEC. Los valores DAR (UV) se determinan usando las absorbancias medidas de ncADC y los coeficientes de extinción del anticuerpo y 24c.

EJEMPLO 61

[00550] Este ejemplo demuestra un método para la conjugación específica del sitio, generalmente, para una carga útil a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. Este ejemplo se refiere a la figura 10.

[00551] En un ejemplo, los conjugados específicos de sitio fueron producidos por la conjugación en dos etapas con transglutaminasa microbiana (MTG EC 2.3.2.13, Zedira, Darmstadt, Alemania) (en adelante "a base de MTG") del anticuerpo N297Q. El primer paso fue una unión enzimática a base de MTG de una molécula pequeña, como azida-PEG3-amina, al anticuerpo mutado. El segundo paso empleó la unión de un enlazador-carga útil al anticuerpo azido-funcionalizado a través de una cicloadición [2+3], por ejemplo, la

cicloadición 1,3-dipolar entre las azidas y los ciclooctinos (también conocida como química de click sin cobre). Ver, Baskin, J.M.; Prescher, J.A.; Laughlin, S.T.; Agard, N.J.; Chang, P.V.; Miller, I.A.; Lo, A.; Codelli, J.A.; Bertozzi, C.R.PNAS2007, 104 (43), 16793-7.En la figura 10 se muestra un ejemplo de un enlazador-carga útil que tiene un resto DIBAC conjugado con un anticuerpo azido-funcionalizado a través de una cicloadición [2+3]. Este proceso proporcionó los conjugados específicos de sitio y estequiométricos con un rendimiento aislado de aproximadamente 50 a 80%.

EJEMPLO 62

[00552] Este ejemplo demuestra un método para hacer un conjugado de fármaco de anticuerpo con funcionalidad azido.

[00553] El anticuerpo humano IgG1 (IgG1, IgG4, etc.) aglicosilado o un isotipo IgG1 humano en BupHTM (pH 6.5-8.0) se mezcló con ≥200 equivalentes molares de azido-dPEG3-amina (MW = 218.26 g/mol). La solución resultante se mezcló con transglutaminasa (25 U/mL; 5U MTG por mg de anticuerpo, de Zedira, Darmstadt, Alemania o Ajinomoto, Japón), lo que resultó en una concentración final del anticuerpo a 0.5-5 mg/mL, y la solución se mantuvo a pH 6.5-8.0 y luego se incubó a 37°C durante 4-24 h mientras se agitaba suavemente. La reacción fue monitoreada por ESI-MS. Una vez completada la reacción, el exceso de amina y MTG se eliminaron mediante SEC (véase la figura 12) o una columna de proteína A eluyendo con regulador de pH ácido y luego neutralizando con regulador de pH Tris (pH 8), para generar el anticuerpo azidofuncionalizado. Este producto fue analizado por SDS-PAGE (ver figura 11) y ESI-MS (ver figura 13). La azido-dPEG3-amina se agregó a dos sitios -Q295 y Q297- del anticuerpo, lo que resultó en un aumento de 804 Da para el conjugado de anticuerpo aglicosilado 4DAR-PEG3-azida. Los sitios de conjugación se identificaron y confirmaron en EEQLinkerYQLinkerSTYR para el anticuerpo 4DAR azidofuncionalizado mediante el mapeo de secuencias peptídicas de cadenas pesadas digeridas con tripsina.

EJEMPLO 63

[00554] Este ejemplo demuestra un método para hacer conjugados específicos de sitio de un fármaco a un anticuerpo usando reacciones químicas de click.

[00555] Los conjugados de anticuerpo y fármacoaglicosilados específicos de sitio con una IgG humana (IgG1, IgG4, etc.) que contiene una mutación N297Q (numeración de la UE) en la Tabla 6 se prepararon mediante una reacción de click [2+3] entre anticuerpos funcionalizados con azidocon un alquino que contenía enlazador-carga útil. Como se muestra en la Tabla 6, Anti Her2-PEG3-N3 se conjugó con enlazador-cargas útiles (LPs) en la Tabla 2: LP2, LP3, LP4, LP5, LP6, LP7, LP8, LP10. LP11, LP12, LP13 y LP14. Como se muestra en la Tabla 6, Anti PRLR- PEG3-N3 se conjugó con LPs en la Tabla 2: LP5, LP6, LP7, LP8, LP10. LP11, LP12, LP13 y LP14. Como se muestra en la Tabla 6, el control de isotipo-PEG3-N3 se conjugó con LP2, LP3, LP4, LP5, LP6, LP7, LP8, LP10, LP11, LP12, LP13 y LP14 en la Tabla 2.

[00556] Para la conjugación, se preparó un anticuerpo IgG1 humano aglicosiladofuncionalizado con azido (mAb-PEG3-N3) y un conjugado enlazador-carga útil (LP) incubando mAb-PEG3-N3 (1-3 mg/mL) en un medio acuoso (por ejemplo, PBS, PBS que contenía 5% de glicerol, HBS) con ≥6 equivalentes molares de un LP disuelto en un solvente orgánico adecuado, como DMSO, DMF o DMA (es decir, la mezcla de reacción contiene 5-20% de solvente orgánico, v/v) a 24°C a 37°C durante más de 6 h. El progreso de la reacción fue monitoreado por ESI-MS y la ausencia de mAb-PEG3-N3 indicó la finalización de la conjugación. La cantidad en exceso de LP y solvente orgánico se eliminó por SEC mediante elución con PBS, o mediante una columna de proteína A eluyendo con regulador de pH ácido seguido de neutralización con Tris (pH 8). Los conjugados purificados se analizaron por SEC, SDS-PAGE y ESI-MS. En la tabla 6 se muestra una lista de conjugados de anticuerpos no citotóxicos (ncADCs) de los LPs correspondientes, sus pesos moleculares y los valores de ESI-DAR.

[00557] En la Tabla 6 se resumieron los anticuerpos desnudos (anticuerpo anti-Her2, anticuerpo anti-PRLR y anticuerpo de control de isotipo), anticuerpos con funcionalidad azido (anticuerpo anti-Her2-PEG3-N3, anticuerpo anti-PRLR-PEG3-N3, y el anticuerpo de control de isotipo-PEG3-N3, y sus conjugados de anticuerpo y fármaco. En la Tabla 6, Ab se refiere a un anticuerpo, mAb se refiere a un anticuerpo monoclonal, Ab-N3 se refiere a un anticuerpo azido-funcionalizado, Ab-PEG3-N3 se refiere a un anticuerpo azidofuncionalizado con un separador PEG3, y ncADC se refiere a un conjugado de fármaco de anticuerpo no citotóxico. Por conveniencia, la nomenclatura Anti Her2-LP(X) y Anti PRLR-LP(X)- dentro de la Tabla 6 y otras Tablas en este documento, en donde X indica que una enlazador-carga útil particular (por ejemplo, LP2 o LP10. etc.) abarca la presencia

de un separador PEG3 (por ejemplo, del anticuerpo anti-Her2-PEG3-N3 o el anticuerpo anti-PRLR-PEG3-N3), como se describe en este documento.

Tabla 6. Lista de Anticuerpo, Anticuerpo-PEG3-N3 y Agonista de LXR-ncADCs

Ab, Ab–N_3, o ncADC	**MS m/z (ncADC)**	**LP #**	**PM (LP)**	**DAR (ESI–MS)**
Anti Her2 mAb	145132			
Anti Her2–PEG_3–N_3	145930	NH_2–PEG_3–N_3	218.26	4
Anti Her2–LP2	150880	LP2	1232.7	3.8
Anti Her2–LP3	151830	LP3	1467.8	3.9
Anti Her2–LP4	152175	LP4	1554.8	3.8
Anti Her2–LP5	149925	LP5	990.0	4
Anti Her2–LP6	158153	LP6	3050.3	4
Anti Her2–LP7	157715	LP7	2939.2	3.9
Anti Her2–LP8	156047	LP8	2523.8	3.9
Anti Her2–LP10	157040	LP10	2771.1	4
Anti Her2–LP11	156602	LP11	2660.0	4
Anti Her2–LP12	157212	LP12	2818.1	4
Anti Her2–LP14	151827	LP14	1469.6	4
Anti PRLR mAb	144579			
Anti PRLR– PEG_3–N_3	145373	NH_2–PEG_3–N_3	218.26	4
Anti PRLR–LP5	149368	LP5	990.0	4
Anti PRLR–LP6	157589	LP6	3050.3	4

Ab, Ab–N_3, o ncADC	**MS m/z (ncADC)**	**LP #**	**PM (LP)**	**DAR (ESI–MS)**
Anti PRLR–LP7	157169	LP7	2939.2	3.9
Anti PRLR–LP8	155484	LP8	2523.8	4
Anti PRLR–LP10	156474	LP10	2771.1	4
Anti PRLR–LP11	156052	LP11	2660.0	4
Anti PRLR–LP14	151283	LP14	1469.6	4
control isotipo mAb	145430			
control isotipo– PEG_3–N_3	146235	NH_2–PEG_3–N_3	218.26	4
control isotipo–LP2	151176	LP2	1232.7	4
control isotipo–LP3	152120	LP3	1467.8	4
control isotipo–LP4	152472	LP4	1554.8	4
control isotipo–LP5	150218	LP5	990.0	4
control isotipo–LP8	156355	LP8	2523.8	4
control isotipo–LP10	157340	LP10	2771.1	4
control isotipo–LP11	156893	LP11	2660.0	3.4
control isotipo–LP12	157514	LP12	2818.1	3.9

EJEMPLO 64

[00558] Este ejemplo demuestra métodos para caracterizar conjugados de fármacos con anticuerpos y anticuerpos no citotóxicos (ncADC).

[00559] El anticuerpo y el ncADC se caracterizaron por SDS-PAGE, SEC y MS (ESI). El conjugado anti-Her2-LP8 en la Tabla 6 generado a partir del anticuerpo anti-Her2 a través de su anticuerpo azidofuncionalizado (anti-Her2-PEG3-N3) se caracterizó por SDS-PAGE

llevado a cabo en condiciones no reductoras y reductoras (figura 11), SEC (figura 12) y ESI-MS (figura 13), y demostraron la finalización de la formación de ncADC.

[00560] Se usó SDS-PAGE para analizar la integridad y la pureza de los ADCs.

[00561] En un método, las condiciones SDS-PAGE incluyeron muestras no reducidas y reducidas (2-4 µg) junto con la escalera de proteínaspre-teñidaBenchMark (Invitrogen, cat # 10748-010; L # 1671922.) se cargaron por carrilen (1.0 mm x 10 pocillos) Novex 4-20% Tris-Glycine Gel y se corrieron a 180 V, 300 mA, durante 80 min. Se preparó una muestra analítica usando el regulador de pH SDS Novex Tris-Glycine (2X) (Invitrogen, Cat # LC2676) y la muestra reductora se preparó con regulador de pH de muestra SDS (2X) que contenía 10% de 2-mecaptoetanol.

[00562] En la figura 11 se muestra un gel representativo, que indica el cambio de los pesos moleculares de los anticuerpos y ncADC en SDS-PAGE llevado a cabo en condiciones no reductoras y reductoras. Las masas de las cadenas pesadas se incrementaron de los anticuerpos desnudos al conjugado ncADC. No se detectó material reticulado.

[00563] Como se muestra en la figura 11, los carriles de SDS-PAGE incluyeron las siguientes especies a base de las siguientes etiquetas de carriles en la Tabla 7.

Tabla 7.

Carril	**Muestra**
1	Estándares (Referencia 10 µL)
2	Anti Her2 mAb
3	Anti Her2 mAb-NH-PEG_3-N_3
4	Anti Her2 mAb-LP8
7	Anti Her2 mAb (reducido)
8	Anti Her2 mAb-NH-PEG_3-N_3 (reducido)

9	Anti Her2 mAb-LP8 (reducido)
~ 2 µg de muestra/carril no reducido/reducido Novex 4-20% Tris-Glicina Gel; 1.0 mm x 10 pocillo; 180 V, 300 mA, 80 min. BenchMark Pre-Stained Protein Ladder, Invitrogen, cat# 10748-010; L# 1671922.	

[00564] Se analizó la pureza de los ADCs por SEC.

[00565] Para determinar la pureza de los conjugados de anticuerpo y fármaco, se llevó a cabo SEC. Los experimentos analíticos SEC se llevaron a cabousando un instrumento Waters 600. en una columna Superdex 200 HR (1.0 x30 cm), a una velocidad de flujo de 0.80 mL/min con PBS pH 7.4, y se monitorizaron a λ = 280 nm con un PDA Waters 2998. Una muestra analítica estaba compuesta de 200 µL de PBS (pH 7.4) con 30-100 µL de muestra de prueba. Las purificaciones preparativas SEC se llevaron a cabo usando un instrumento AKTA de GE Healthcare, en una columna Superdex 200 PG (2.6x60 cm), a una velocidad de flujo de 2 mL/min eluyendo con PBS pH 7.4, y monitoreado a λ = 280 nm. Los resultados SEC en la figura 12 indicaron tiempos de retención típicos para mAb monomérico y sus conjugados y no hubo agregación o degradación detectable.

[00566] El anticuerpo y ADC se analizaron mediante análisis de masa intacta por LC-ESI-MS.

[00567] La medición de la masa intacta para las muestras de ncADC por LC-ESI-MS se llevó a cabo para determinar el perfil de distribución de carga útil del fármaco y calcular el DAR promedio de las formas de ADC intactas. Cada muestra de prueba (20-50 ng, 5 uL) se cargó en una columna Acquity UPLC Protein BEH C4 (703 kg/cm2 (10K psi), 300 Å, 1.7 µm, 75µm × 100 mm; Cat No. 186003810). Después de 3 minutos de desalación, la proteína se eluyó y los espectros de masas fueron adquiridos por un espectrómetro de masas Waters Sinapt G2-Si.

[00568] Los espectros de masas desconvolucionados exhibieron un pico predominante para el anticuerpo anti-HER2 aglicosilado con un peso molecular de 145132 Da, y un pico predominante para su anticuerpo anti-PRLR funcionalizado con azido con un peso molecular de 145930Da, lo que indica un aumento de 798 Da en comparación con su

anticuerpo parental aglicosilado (es decir, correspondiente a 4 conjugaciones de amino-PEG3-azida con cada anticuerpo aglicosilado). Además, el pico predominante para el conjugado anti-HER2-LP8 tenía un peso molecular de 156047 Da, lo que indica un aumento de 10931 Da en comparación con su anticuerpo progenitoraglicosilado (es decir, correspondiente a 4 conjugaciones LP8 a cada anticuerpo aglicosilado). Como se resume en la Tabla 6, la mayoría de los ADCs específicos de sitio en este documento tienen 4DAR.

[00569] Para los conjugados de anticuerpo y fármaco no específicos de sitio, los valores de DAR se determinaron en base al análisis de masa de ESI Q-TOF. Los espectros de masas ESI Q-TOF se desconvolucionaron a espectros de masas de carga cero usando un algoritmo de entropía máxima (MassLinx). El espectro de masas resultante demostró la distribución de cada anticuerpo conjugado con el fármaco. El porcentaje de área de un pico representa la distribución relativa de la especie particular de anticuerpo cargado de fármaco. El DAR promedio se calculó usando la información del porcentaje de área pico y los números de carga de fármaco en el anticuerpo.

[00570] Para los conjugados de anticuerpo y fármaco no específicos de sitio, los valores de DAR se determinaron en base al análisis de masa de ESI Q-TOF. Los espectros de masas ESI Q-TOF se desconvolucionaron a espectros de masas de carga cero usando un algoritmo de entropía máxima (MassLinx). El espectro de masas resultante demostró la distribución de cada anticuerpo conjugado con el fármaco. El porcentaje de área de un pico representa la distribución relativa de la especie particular de anticuerpo cargado de fármaco. El DAR promedio se calculó usando la información del porcentaje de área pico y los números de carga de fármaco en el anticuerpo.

EJEMPLO 65

[00571] Este ejemplo demuestra métodos para el ensayo de unión competitiva LanthaScreen TR-FRET GR.

[00572] Para evaluar la capacidad de los nuevos agonistas de LXR para unirse al receptor alfa y beta LXR, se llevó a cabo un ensayo de unión libre de células usando un kit de ensayo de coactivador LXR alfa LanthaScreen TR-FRET (ThermoFisher, Cat # PV4655) y beta LXR Kit de ensayo de coactivador (ThermoFisher, Cat # PV4658). El ensayo se llevó a cabo de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, se preparó una dilución en serie de 3 veces de agonistas de LXR en DMSO al 100% a partir de 100 µM

(100X de final). Las diluciones en serie se diluyeron adicionalmente 50 veces en regulador de pH receptor nuclear F con DTT 5 mM, y se transfirieron a una placa de ensayo de 384 pocillos. A continuación, se le añadió secuencialmente Fluorescein-D22, LXR alfa o beta LBD-GST, y el anticuerpo anti-GST Tb a la placa de ensayo de 384 pocillos. La placa se incubó luego a temperatura ambiente durante 2,5 horas mientras se protegía de la luz. La placa se analizó en un EnvisionMultilabelPlate Reader (PerkinElmer) con excitación establecida a 340 nm y filtros de emisión a 520 nm y 486 nm. La relación FRET se calculó como 520 nm/486 nm. Los valores IC50 se determinaron usando una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva de respuesta de 12 puntos (GraphPadPrism).

[00573] Como se muestra en la Tabla 8, los agonistas de LXR de la invención se unieron en el ensayo LXR a LXRa con valores IC50 de menos de 1 nM a más de 100 nM y a LXRb con valores IC50 entre menos de 1 nM a más de 100 nM. Los compuestos de referencia unidos en el ensayo LXR a LXRa con valores IC50 menores o iguales a 10 nM y a LXRb con valores IC50de entre 1 nM y 10 nM. Bajo estas condiciones de ensayo, varios de los agonistas de LXR proporcionados en este documento mostraron una IC50 similar o mejor para unirse a LXR que los compuestos de referencia.

[00574] La unión libre de células y la actividad funcional basada en células de los compuestos en la Tabla 1 se resumen en la Tabla 8. La activación del doblez en los ensayos a base de células (como se describe en el Ejemplo 68, a continuación) se definió en base a la activación máxima de la carga útil libre9d. Los compuestos que demostraron más del 75% de la activación de la carga libre se denominan "activación completa". Los compuestos que demostraron una activación máxima del 25% a una activación máxima del 75% de la carga útil libre se denominan "activación parcial". Los compuestos que demostraron menos del 25% de la activación de la carga útil libre se denominan "sin activación".

Tabla 8. Unión libre de células y actividad funcional a base de células a las 48 horas

Comp #	Unión libre de células		Activación de células THP1/LXR-Luc	
	LXRα IC_{50}	LXRβ IC_{50}	Veces de activación	EC_{50} (nM)
9a	+++	+++	Activacióncompleta	+++
9b	+++	+++	Activacióncompleta	+++
9c	++	+++	Activacióncompleta	++
9d	+++	+++	Activacióncompleta	++++
9e	+++	+++	Activacióncompleta	+++
9f	+++	+++	Activacióncompleta	+++
9h	++++	++++	Activacióncompleta	++++
9i	+++	+++	Activaciónparcial	++
9j	+++	+++	Activacióncompleta	++++
9k	++	+++	Activacióncompleta	+++
9l	++	++	Activacióncompleta	+++
9m	++	+++	Activacióncompleta	+++
9n	++	+++	Activacióncompleta	++++
9o	++	+++	Activacióncompleta	++++
9p	++	+++	Activacióncompleta	+++
9q	+++	+++	Activacióncompleta	++
9r	+++	+++	Activacióncompleta	++
9t	+	+	Activaciónparcial	++
9u	++	++	Activaciónparcial	+++
17b	++	+++	Activacióncompleta	++

Comp #	Unión libre de células		Activación de células THP1/LXR-Luc	
	LXRα IC_{50}	LXRβ IC_{50}	Veces de activación	EC_{50} (nM)
17c	+	+++	Activacióncompleta	++++
31	+++	+++	Activaciónparcial	++
GW3965	+++	+++	Activacióncompleta	+
T0901317	++++	+++	Activacióncompleta	++

IC_{50}: ++++: ≤ 1 nM; +++: ≤10 nM> 1 nM; ++: ≤100 nM> 10 nM; +:>100nM. NT: no probado.

EC_{50}: ++++: ≤ 1 nM; +++: ≤10 nM> 1 nM; ++: ≤100 nM> 10 nM; +:>100nM. NT: no probado.

EJEMPLO 66

Para determinar la capacidad de los agonistas de LXR para activar los genes ABCA1 y ABCG1, se midieron los niveles de ARNm de estos dos genes en macrófagos diferenciados. Para el ensayo, se sembraron células de línea celular humana THP-1 en placas de 48 pocillos a 500,000 células/pocillo en medio RPMI 1640 (Irvine Scientific, # 9160) que contenía 10% de FBS (Gibco, Cat # 1043010), 10 µg/mL penicilina-estreptomicina (Gibco, Cat # 15140122) en 5% de CO2 a 37°C. Las células se diferenciaron en macrófagos por tratamiento con 100 nM de miristato de 13-acetato de Phorbol-12 (Sigma, # P8139), que se le añadió a los medios descritos anteriormente, durante 72 horas. Los macrófagos diferenciados se trataron con una dilución en serie de compuestos agonistas de LXR y el compuesto de referencia TO901317 durante un período de 24 horas, con un rango de concentración entre 5 x 10-7 M a 5 x 10-17 M. Los medios de las células se aspiraron y se agregaron0.75mL de reactivo TRIzol (Invitrogen, Cat # 15596018) para lisar las células. Luego se usó cloroformo para la separación de fases. La fase acuosa, que contiene ARN total, se purificó usando MagMAX™ -96 para el kit de aislamiento de ARN total de micromatrices (Ambion, Cat # AM1830) y se transcribió inversamente en ADNc usando la mezcla maestra SuperScript® VILO™ (Invitrogen, Cat # 11755050) de acuerdo

con Las instrucciones del fabricante. TaqMan® se llevó a cabousando la mezcla maestra de expresión génica, el sistema de detección de secuencia ABI 7900HT (AppliedBiosystems) y los cebadores y sondas indicados a continuación en la Tabla 9. El gen GAPDH se usó como gen de control interno para normalizar las diferencias de entrada de ADNc.

Tabla 9. Sondas y cebadores Taqman

Gen	Secuencia de sonda	Cebadorhaciaadelante	Cebadorhaciaatrás
ABCA1	**CTGACCAATGTGAACAGCTCCAGC**	**ACATGCGACAGGAGGTGATG**	**ATGCCCGCAGACAATACGA**
ABCG1	**AGATAATAACCTCACGGAAGCCCAGCG**	**GGACCTGCTGAATGGACATC**	**CCGAGGCAAGGAGGAGAA**
GADPH	**TCAACAGCGACACCCACTCCTC**	**CCAGGTGGTCTCCTCTGACT**	**GCTTGACAAAGTGGTCGTTGA**

Todos los compuestos demostraron la inducción de genes diana efectores endógenos LXR ABCA1 y ABCG1 en macrófagos humanos THP1 (Figura 14). Los compuestos 9d y 9h mostraron la potencia más alta, con valores EC50 de inducción ABCA1 que eran sub-picomolares, y con valores EC50 de inducción ABCG1 que eran sub-picomolares. Los otros compuestos probados mostraron niveles similares de activación del gen ABCA1 y ABCG1 en comparación con 9d y 9h, pero se activaron con valores EC50nanomolares.

EJEMPLO 67

[00575] Este ejemplo demuestra la generación de líneas celulares de bioensayo para la evaluación de los agonistas de LXR y sus conjugados de anticuerpos.

[00576] Se desarrolló un bioensayo para evaluar la actividad de los agonistas de LXR después de la internalización de un agonista o de un ncADC en las células y la unión a LXR,

un receptor nuclear, usando un reportero de LXR disponible comercialmente (denominado LXR-Luc) que contenía el gen de luciferasa de luciérnaga bajo control por un promotor mínimo de CMV y repeticiones en tándem del elemento de respuesta transcripcional LXR. Para este ensayo, se diseñó una línea celular THP1, que es una línea de leucemia monocítica humana, para expresar Her2 humana de longitud completa (que expresa los aminoácidos M1 a V1255 del número de acceso NP_004439.2). La línea celular estable posterior se transdujo adicionalmente con un Cignal LXR Luc Reporter (Qiagen, Cat # CLS-7041L). La línea celular estable resultante se denomina aquí THP1/Her2/LXR-Luc. La expresión de la superficie celular Her2 en la línea celular THP1/Her2/LXR-Luc fue confirmada por FACS (datos no mostrados).

[00577] Además, se transdujo una línea celular THP1 con un Cignal LXR Luc Reporter (Qiagen, Cat # CLS-7041L) sin la adición de Her2. La línea celular estable resultante se denomina aquí THP1/LXR-Luc. Se evaluó la capacidad de todos los anticuerpos usados en los bioensayos posteriores para internalizar y liberar una carga útil en la línea celular de bioensayo usada.

EJEMPLO 68

[00578] Este ejemplo evaluó la capacidad de los agonistas de LXR proporcionados aquí, los compuestos de referencia y el anticuerpo anti-Her2-LXR ncADC para activar LXR. Las muestras se analizaron en el bioensayo THP1/LXR-Luc/Her2. Para el ensayo, se sembraron células THP1/LXR-Luc o células THP1/LXR-Luc/Her2 en placas blancas de 96 pocillos a 30,000 células/pocillo en medios que contenían RPMI suplementado con FBS al 10% y pencilina/estreptomicina (medio completo). Posteriormente, se agregaron diluciones en serie de 3 veces de conjugados de anticuerpo y fármaco, anticuerpos no conjugados o cargas útiles libres a las células a una concentración final que varía de 100 nM a 0.01 nM. Después de una incubación de 48 o 72 horas, se determinó la actividad de luciferasa después de la adición del reactivo One-GloTM (Promega, Cat # E6130) a cada pocillo de células. Las unidades de luz relativas (RLUs) se midieron en un luminómetro Victor (PerkinElmer) y los valores EC50 se determinaron usando una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva de respuesta a la dosis de 10 puntos (GraphPadPrism) (figura 15). Los valores EC50 de los agonistas de LXR de la invención y los compuestos de referencia se muestran en la Tabla 3. Los valores EC50 de los ncADCs y los agonistas de

LXR probados simultáneamente se muestran en la Tabla 10. La activación de pliegue se calcula en función de la activación máxima de la carga útil libre 9d. Las moléculas probadas que demostraron más del 75% de la activación de la carga útil libre9d se denominan "activación completa". Las moléculas probadas que demostraron una activación máxima del 25% a una activación máxima del 75% de la carga útil libre 9d se denominan "activación parcial". Las moléculas probadas que demostraron menos del 25% de la activación de la carga útil libre9d se denominan "sin activación".

[00579] Como se muestra en la Tabla 10, en el punto de tiempo de 48 horas, la carga útil libre, 9d, indujo una activación completa de las células THP1/LXR-Luc/Her2 con un valor EC50 de 1.6 nM. Sitio de anticuerpo anti-Her2 específicamente conjugado con enlazadores-cargas útiles que contenían9destimularon la activación de células THP1/LXR-Luc/Her2 con valores EC50 que varían de 0.51 nM a 0.83 nM (Anti-Her2-LP2, LP3, LP5 y LP8). Los anticuerpos de control de isotipo negativo conjugados con enlazadores-cargas útiles que contenían 9d no mostraron activación significativa, excepto el control con LP2, que demostró una ligera activación a las concentraciones más altas probadas. La carga útil libre, 9j, indujo una activación completa de las células THP1/LXR-Luc/Her2 con un valor EC50 de 0.39 nM. Un sitio de anticuerpo anti-Her2 conjugado específicamente con un enlazador-carga útil que contenía9j (Anti-Her2-LP4) estimuló la activación de células THP1/LXR-Luc/Her2 con un valor EC50 de 0.60 nM. Un anticuerpo de control de isotipo negativo conjugado con un enlazador-carga útil que contenía9j demostró una ligera activación a las concentraciones más altas probadas. La carga útil libre, 9h, indujo una activación completa de las células THP1/LXR-Luc/Her2 con un valor EC50 de 0.50 nM. Un sitio de anticuerpo anti-Her2 conjugado específicamente con unenlazador-carga útil que contenía9h (Anti-Her2-LP12) estimuló la activación de células THP1/LXR-Luc/Her2 con un valor EC50 de 0.47 nM. Un anticuerpo de control de isotipo negativo con un enlazador-carga útil que contenía9h demostró una ligera activación a las concentraciones más altas probadas.

[00580] Como se muestra en la Tabla 10, en el punto de tiempo de 72 horas, la carga útil libre, 9d, indujo una activación completa de las células THP1/LXR-Luc/Her2 con un valor EC50 de 2.8 nM. Sitio de anticuerpo anti-Her2 específicamente conjugado con enlazadores-cargas útiles que contenían 9destimularon la activación de células THP1/LXR-Luc/Her2 con valores EC50 que varían de 0.46 nM a 0.80 nM (Anti-Her2-LP2, LP3, LP5 y LP8). Los anticuerpos de control de isotipo negativo conjugados con enlazadores-cargas

útiles que contenían 9d no mostraron activación significativa, excepto el control con LP2, que demostró una ligera activación a las concentraciones más altas probadas. La carga útil libre, 9j, indujo una activación completa de las células THP1/LXR-Luc/Her2 con un valor EC50 de 0.47 pM. Un sitio de anticuerpo anti-Her2 conjugado específicamente con un enlazador-carga útil que contenía9j (Anti-Her2-LP4) estimuló la activación de células THP1/LXR-Luc/Her2 con un valor EC50 de 0.55 pM. Un anticuerpo de control de isotipo negativo conjugado con un enlazador-carga útil que contenía9j demostró una ligera activación a las concentraciones más altas probadas. La carga útil libre, 9h, indujo una activación completa de las células THP1/LXR-Luc/Her2 con un valor EC50 de 0.65 nM. Un sitio de anticuerpo anti-Her2 conjugado específicamente con un enlazador-carga útil que contenía9h (Anti-Her2-LP12) estimuló la activación de células THP1/LXR-Luc/Her2 con un valor EC50 de 0.45 nM. Un anticuerpo de control de isotipo negativo conjugado con un enlazador-carga útil que contenía9h demostró una ligera activación a las concentraciones más altas probadas.

Tabla 10. Activación en el ensayo THP1/LXR-Luc/Her2 por agonistas de LXR y ncADCs

	48 horas		**72 horas**	
Molécula	**Nivel de activación**	**EC_{50}**	**Nivel de activación**	**EC_{50} (nM)**
Anti Her2-LP2	Activacióncompleta	8.3E-10	Activaciónompleta	8.0E-10
Isotype control-LP2	Activaciónparcial	NA	Activaciónparcial	NA
Anti Her2-LP3	Activacióncompleta	5.1E-10	Activaciónompleta	4.6E-10
Isotype control-LP3	Sin activación	NA	Sin activación	NA
Anti Her2-LP4	Activacióncompleta	6.0E-10	Activaciónompleta	5.5E-10

Isotype control-LP4	Activaciónparcial	5.7E-08	Activaciónparcial	3.8E-08
Anti Her2-LP5	Activacióncompleta	5.5E-10	Activacióncompleta	5.7E-10
Isotype control-LP5	Sin activación	NA	Sin activación	NA
Anti Her2-LP8	Activacióncompleta	6.5E-10	Activacióncompleta	7.0E-10
Isotype control-LP8	Sin activación	NA	Sin activación	NA
Anti Her2-LP12	Activacióncompleta	4.7E-10	Activacióncompleta	4.5E-10
Isotype control-LP12	Activaciónparcial	NA	Activaciónparcial	NA
9d, payload of LP2, 3, 5, & 8	Activacióncompleta	1.6E-09	Activacióncompleta	2.8E-09
9h, payload of LP12	Activacióncompleta	5.0E-10	Activacióncompleta	6.5E-10
9j, payload of LP4	Activacióncompleta	3.9E-10	Activacióncompleta	4.7E-10
Anti Her2 antibody alone	Sin activación	NA	Sin activación	NA

NA: no aplicable.

EJEMPLO 69

Conjugación de ADC

[00581] Este ejemplo demuestra otro método para la conjugación específica de sitio, generalmente, de una carga útil a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

[00582] Los anticuerpos anti-MSR1 generados se mutaron (N297Q) para incorporar un sitio de transglutaminasa para la conjugación con una carga útil terapéutica. Los anticuerpos aglicosiladosespecíficos de sitio que contienen una mutación N297Q se conjugaron con amina-PEG3-N3 para generar los conjugados de anticuerpos azido-funcionalizados (mAb-N3), incluidos los anti-MSR1 Ab-PEG3-N3.

[00583] El presente ejemplo demuestra un método para preparar los conjugados. El anticuerpo aglicosilado con un isotipo IgG1 humano en BupH™ (pH 7-8) se mezcló con ≥200 equivalentes molares de azido-dPEG3-amina (PM. 218.26 g/mol). La solución resultante se mezcló con transglutaminasa (25 U/mL; 5U MTG por mg de anticuerpo) dando como resultado una concentración final del anticuerpo a 0.5-10 mg/mL, y la solución se incubó a 37°C durante 4-24 horas mientras se agita suavemente. La reacción fue monitoreada por SDS-PAGE o ESI-MS. Una vez completado, el exceso de amina y MTG se eliminaron por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) para generar el anticuerpo azidofuncionalizado (mAb-N3). Este producto fue analizado en SDS-PAGE y ESI-MS. La azido-dPEG3-amina se agregó a dos sitios - Q295 y Q297- del anticuerpo, lo que resultó en un aumento de 804 Da para el conjugado 4DAR de anticuerpo aglicosilado-PEG3-azida. Los sitios de conjugación se identificaron y confirmaron en EEQLinkerYQLinkerSTYR para el anticuerpo 4DAR azidofuncionalizado mediante el mapeo de secuencias peptídicas de cadenas pesadas digeridas con tripsina.

[00584] Los conjugados de anticuerpo y fármacoaglicosilados específicos de sitio (ADCs) con una IgG1 o IgG4 humana que contiene una mutación N297Q se prepararon mediante una reacción de click [2+3] entre el anticuerpo funcionalizado con azido (mAb-N3) con un alquino que contiene enlazador-carga útil (LP).

[00585] Se preparó un conjugado de anticuerpo específico de sitio con enlazador-carga útil (LP) incubando mAb-PEG3-N3 (1-12 mg/mL) en un medio acuoso (por ejemplo, PBS, PBS que contenía 5% de glicerol, HBS) con ≥ 6 equivalentes molares de un LP disuelto en un solvente orgánico adecuado, como DMSO, DMF o DMA (es decir, la mezcla de reacción contiene 5-20% de solvente orgánico, v/v) a 24°C a 37°C durante 30 minutos a 24 h. El progreso de la reacción fue monitoreado por ESI-MS y la ausencia de mAb-PEG3-N3 indicó la finalización de la conjugación. La cantidad en exceso de LP y solvente orgánico se eliminó mediante SEC mediante elución con PBS, o mediante cromatografía en columna de proteína A mediante elución con regulador de pH ácido seguido de neutralización con Tris (pH 8,0). Los conjugados purificados se analizaron por SEC, SDS-PAGE y ESI-MS.

[00586] En un ejemplo específico, el anticuerpo azidofuncionalizado (1 mg) en 0.800 mL de PBSg (PBS, glicerol al 5%, pH 7.4) se trató con seis equivalentes molares de DIBAC-PEG4-D-Lys (COT-∝-CD)-VC-PABC-carga útil (conc. 10 mg/mL en DMSO) durante 2 horas a temperatura ambiente y el exceso delenlazador-carga útil (LP) se eliminó mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC, Superdex 200 HR, GE Healthcare). El producto final se concentró por ultracentrifugación y se caracterizó por UV, SEC, SDS-PAGE y ESI-MS.

EJEMPLO 70

Caracterización de los ADC por LC-ESI-MS

[00500] La medición de la masa intacta para las muestras de ADC por LC-ESI-MS se llevó a cabo para determinar el perfil de distribución de carga útil del fármaco y calcular el DAR promedio. Cada muestra de prueba (20-50 ng, 5 µl) se cargó en una columna Acquity UPLC Protein BEH C4 (703 kg/cm2 (10K psi), 300 Å, 1.7 µm, 75 µm × 100 mm; Cat No. 186003810). Después de 3 min. desalado, la proteína se eluyó y los espectros de masas fueron adquiridos por un espectrómetro de masas Waters Sinapt G2-Si. Como se resume en la Tabla 12, la mayoría de los ADCsespecíficos de sitio tienen 3.9-4 DAR para los conjugados específicos de sitio.

Tabla 11. Propiedades de enlazador-carga útil

LP	**cLogP**	**FM**	**PM**	**HPLC pureza (%)**	**HPLC R_t (min)**	**MS (m/z) 100%**	**Pico m/z más alto**
LP8	-0.38	$C_{124}H_{175}N_{11}O_{44}$	2523.76	98	6.45, 6.55 (B)	841.8 [M/3+H]	1262.4 [M/2+H] (30%)
LP32	-3.92	$C_{136}H_{195}N_{11}O_{54}$	2848.04	96	7.48 (B)	955.0 [(M+18)/3] 949.5 (M/3+H)	1424.2 (M/2+H) (30%)

LP	cLogP	FM	PM	HPLC pureza (%)	HPLC R_t (min)	MS (m/z) 100%	Pico m/z más alto
LP15	7.53	$C_{72}H_{100}N_{10}O_{13}$	1313.62	96	8.16 (B)	657.5 (M/2+H)	1313.6 (M+H) (5%)
LP13	-1.48	$C_{138}H_{193}N_{15}O_{49}$	2846.08	100	6.11, 6.21 (B)	949.0 (M/3+H)	1423.3 (M/2+H) (5%)
LP36	6.59	$C_{115}H_{160}N_{16}O_{28}S$	2246.66	100	7.24 (B)	749.5 (M/3+H)	1123.8 (M/2+H) (5%)
LP39	8.70	$C_{88}H_{112}N_{10}O_{18}$	1597.89	95	5.67 (B)	799.0 (M/2+H)	799.0 (M/2+H)
LP311	8.17	$C_{89}H_{117}N_{11}O_{16}$	1596.95	95	8.51 (B)	798.5 (M/2+H)	798.5 (M/2+H)
LP18	6.49	$C_{101}H_{142}N_{12}O_{23}S$	1924.34	97	7.57 (B)	642.2 (M/3+H)	962.5 (M/2+H) (70%)

Tabla 12. Propiedades de ADC

LP #	PM (LP)	Ab, Ab–N_3, o ncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
		H1H27729P		
		H1H27729P-N_3	144166	4
8	2523.8	H1H27729P-LP8		
		H1H27731P	144620	4
		H1H27731P-N_3		

LP #	PM (LP)	Ab, Ab–N_3, o ncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
8	2523.8	H1H27731P-LP8		
		H1H27732P	144176	5.7
		H1H27732P-N_3		
8	2523.8	H1H27732P-LP8		
		H1H27734P	145110	4.4
		H1H27734P-N_3		
8	2523.8	H1H27734P-LP8		
		H1H27736P	145940	4
		H1H27736P-N_3		
8	2523.8	H1H27736P-LP8		
		H1H27739P	145251	4
		H1H27739P-N_3		
8	2523.8	H1H27739P-LP8		
		H1H27747P	145214	5.3
		H1H27747P-N_3		
8	2523.8	H1H27747P-LP8		
		H1H27749P	143441	4
		H1H27749P-N_3		
8	2523.8	H1H27749P-LP8		
		H1H17751P	146092	3.8
		H1H17751P-N_3		
8	2523.8	H1H17751P-LP8		

LP #	PM (LP)	Ab, Ab–N_3, o ncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
		H1H27754P	145477	4.2
		H1H27754P-N_3		
8	2523.8	H1H27754P-LP8		
		H1H27756P	145503	
		H1H27756P-N_3	146310	4
8	2523.8	H1H27756P-LP8	156424	4
		H1H17759P2	145126	
		H1H17759P2-N_3	145930	4
8	2523.8	H1H17759P2-LP8	156046	4
		H1H17760P2	145611	
		H1H17760P2-N_3	146431	4
8	2523.8	H1H17760P-LP8	156533	4
		H1H17761P2	145508	
		H1H17761P2-N_3	146717	6
8	2523.8	H1H17761P2-LP8	161884 159158	5.34
		H1H27762P2	144371	
		H1H27762P2-N_3	145177	4
8	2523.8	H1H27762P2-LP8	155294	4
		H1H27766P2	146314	
		H1H27766P2-N_3	147121	4
8	2523.8	H1H27766P2-LP8	157236	4
		H1H27771P2	145966	

LP #	PM (LP)	Ab, Ab–N_3, o ncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
		H1H27771P2-N_3	146774	4
8	2523.8	H1H27771P2-LP8	156890	4
		H1H27773P2	145533	
		H1H27773P2-N_3	146337	4
8	2523.8	H1H27773P2-LP8	156453	4
		H1H27778P2	145310	
		H1H27778P2-N_3	146115	4
8	2523.8	H1H27778P2-LP8	156227	4
		H1H21231N		
		H1H21231N-N_3	Lot2	2
8	2523.8	H1H21231N-LP8	Lot4	1.9
		H1H21227N		
		H1H21227N-N_3	Lot2	4
8	2523.8	H1H21227N-LP8	Lot3	3.7
		H1H21231N		
		H1H21231N-N_3	Lot2	6
8	2523.8	H1H21231N-LP8	Lot3	5.9
		H1H21235N	145487	
		H1H21235N-N_3	146288	4
8	2523.8	H1H21235N-LP8	156390	4.1
		H1H25700N	145484	
		H1H25700N-N_3	146688	6

LP #	PM (LP)	Ab, Ab–N_3, o ncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
8	2523.8	H1H25700N-LP8	161873	6
		H1H25690N	145157	
		H1H25690N-N_3	145969	4
8	2523.8	H1H25690N-LP8	156060	4.1
		H1H25695N	145736	
		H1H25695N-N_3	146537	4
8	2523.8	H1H25695N-LP8	156637	3.9
		H1H25685N	145380	
		H1H25685N-N_3	146582	6
8	2523.8	H1H25685N-LP8	161767	5.8
		H1H21228N	144830	
		H1H21228N-N_3	145631	4
8	2523.8	H1H21228N-LP8	155732	4.2
		H1H21234N	145790	
		H1H21234N-N_3	146583	4
8	2523.8	H1H21234N-LP8	156691	4
32	2848.1	H1H21234N-LP32	157983	3.9
15	1313.7	H1H21234N-LP15	151841	3.9
13	2846.2	H1H21234N-LP13	157963	3.9
36	2246.7	H1H21234N-LP36	155570	3.9
39	1597.9	H1H21234N-LP39	152975	3.9
311	1597.0	H1H21234N-LP311	152979	3.9

LP #	PM (LP)	Ab, Ab–N_3, o ncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
Fel D1		control isotipo-N297Q		
		control isotipo-N297Q-N_3	146251	4
8	2523.8	control isotipo-N297Q-LP8	156352	3.9

EJEMPLO 71

Cinética de unión derivada de resonancia plasmática de superficie Biacore de conjugados de anticuerpo-fármaco anti-MSR1

[00588] Los anticuerpos MSR1 descritos en este documento se conjugaron con diversas cargas útiles del receptor X del hígado (LXR). Este ejemplo describe cómo se determinaron los valores de la constante de disociación de equilibrio (KD) para los reactivos de MSR1 humanos que se unen a conjugados de anticuerpo anti-MSR1 humano y sus correspondientes anticuerpos parentales no conjugados usando un biosensor Biacore T200 basado en resonancia de plasmón superficial en tiempo real.

[00589] Todos los estudios de unión se llevaron a cabo en HEPES 10 mM, NaCl 300 mM, EDTA 3 mM y tensioactivo Tween-20 al 0.05% v/v, pH 7.4 (HBS-ET) con regulador de pH a 25°C. La superficie del chip del sensor Biacore CM4 se derivatizó primero mediante el acoplamiento de amina con el anticuerpo policlonal específico de Fcγ antihumano de cabra (Jackson ImmunoResearchLaboratories, Cat # BR-1008-39) para capturar anticuerpos monoclonales anti-MSR1. Se llevaron a cabo estudios de unión en el dominio extracelular de MSR1 humano expresado con una etiqueta de nonahistidina N-terminal (His9-hMSR1; R&D Systems, Cat # 2708-MS). Primero se prepararon diferentes concentraciones de His9-hMSR1 (100 nM-3.7 nM o 30 nM-3.33 nM; dilución en serie 3 veces) en regulador de pH de ejecución HBS ET y se inyectaron sobre la superficie de anticuerpo monoclonal anti-MSR1 capturado con Fcγ antihumano para 3 minutos a una velocidad de flujo de 50 µl/minuto, mientras que la disociación del reactivo MSR1 unido al anticuerpo monoclonal se controló durante aproximadamente 8 10 minutos en regulador de pH de ejecución HBS-ET.

[00590] La tasa de asociación (ka) y la tasa de disociación (kd) se determinaron ajustando los sensogramas de unión en tiempo real a un modelo de unión 1:1 con limitación

de transporte de masa usando el software de ajuste de curvas Scrubber 2.0c. La constante de equilibrio de disociación de unión (KD) y la vida media disociativa (t½) se calcularon a partir de las velocidades cinéticas como:

[00591] Los parámetros de cinética de unión para His9-hMSR1 se unen a diferentes anticuerpo anti-MSR1-LXR ADCs y sus anticuerpos progenitores no conjugados a 25°C se

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

muestran en la Tabla 13. "LP1" representa una enlazador-carga útil para la que se proporciona la estructura de carga útil en el Ejemplo 111a.

Tabla 13. Cinética de unión de la unión de His-hMSR1 a anticuerpoMSR1-LXR ADCs y anticuerpos no conjugados correspondientes a 25ºC

AnticuerpoCapturado	**ka ($M^{-1}s^{-1}$)**	**kd (s^{-1})**	**K_D (Molar)**	**t½ (min)**
H1H27729P-N297Q	1.05E+05	9.06E-04	8.67E-09	12.8
H1H27729P-N297Q-LP8	5.47E+04	7.18E-04	1.31E-08	16.1
H1H27731P-N297Q	1.17E+05	1.00E-05	8.55E-11	1155.2
H1H27731P-N297Q-LP8	1.28E+05	1.00E-05*	7.80E-11	1155.2
H1H27732P-N297Q	2.20E+05	1.00E-05*	4.50E-11	1155.2
H1H27732P-N297Q-LP8	1.50E+05	1.00E-05*	6.60E-11	1155.2
H1H27734P-N297Q	7.72E+04	5.96E-04	7.72E-09	19.4
H1H27734P-N297Q-LP8	6.93E+04	4.49E-04	6.49E-09	25.7
H1H27736P-N297Q	1.14E+05	1.47E-04	1.29E-09	78.7
H1H27736P-N297Q-LP8	9.59E+04	1.21E-04	1.26E-09	95.5
H1H27739P-N297Q	1.19E+05	5.55E-04	4.68E-09	20.8

H1H27739P-N297Q-LP8	8.88E+04	7.22E-04	8.14E-09	16.0
H1H27747P-N297Q	1.17E+05	2.62E-04	2.24E-09	44.1
H1H27747P-N297Q-LP8	1.36E+05	2.03E-04	1.49E-09	56.9
H1H27749P-N297Q	1.43E+05	1.00E-05*	6.99E-11	1155.2
H1H27749P-N297Q-LP8	1.40E+05	1.00E-05*	7.16E-11	1155.2
H1H27751P-N297Q	2.10E+05	1.75E-04	8.33E-10	66.1
H1H27751P-N297Q-LP8	2.29E+05	1.52E-04	6.64E-10	76.1
H1H27754P-N297Q	2.00E+05	1.00E-05*	4.99E-11	1155.2
H1H27754P-N297Q-LP8	1.77E+05	1.00E-05*	5.64E-11	1155.2
H1H27756P-N297Q	7.21E+04	1.19E-04	1.65E-09	97.4
H1H27756P-N297Q-LP8	6.27E+04	1.10E-04	1.76E-09	104.7
H1H27759P-N297Q	1.03E+05	4.35E-04	4.23E-09	26.6
H1H27759P-N297Q-LP8	1.30E+05	5.95E-04	4.57E-09	19.4
H1H27760P-N297Q	2.31E+05	3.83E-04	1.66E-09	30.2
H1H27760P-N297Q-LP8	2.59E+05	4.34E-04	1.67E-09	26.6
H1H27761P-N297Q	5.95E+05	3.62E-04	6.09E-10	31.9
H1H27761P-N297Q-LP8	2.53E+05	5.11E-04	2.02E-09	22.6
H1H27762P-N297Q	4.05E+05	5.60E-04	1.38E-09	20.6
H1H27762P-N297Q-LP8	4.83E+05	6.23E-04	1.29E-09	18.5
H1H27766P-N297Q	1.72E+05	1.00E-05*	5.83E-11	1155.2
H1H27766P-N297Q-LP8	4.16E+05	2.70E-05	6.49E-11	427.4
H1H27771P-N297Q	3.83E+05	3.55E-04	9.26E-10	32.6
H1H27771P-N297Q-LP8	3.38E+05	4.42E-04	1.31E-09	26.1

H1H27773P-N297Q	5.49E+04	7.52E-04	1.37E-08	15.4
H1H27773P-N297Q-LP8	2.72E+04	9.47E-04	3.48E-08	12.2
H1H27778P-N297Q	1.66E+05	2.71E-04	1.63E-09	42.6
H1H27778P-N297Q-LP8	2.85E+05	2.76E-04	9.70E-10	41.8
H1H21234N-N297Q	2.20E+05	1.00E-05*	4.54E-11	1155.2
H1H21234N-N297Q-LP8	4.90E+05	1.00E-05*	2.04E-11	1155.2
H1xH29273P2	8.20E+04	7.63E-03	9.30E-08	1.5
H1xH29282P2	8.28E+04	3.62E-03	4.37E-08	3.2
H1xH29283P2	1.39E+05	1.85E-03	1.34E-08	6.2

* indica que no se observó disociación de His9-hMSR1 en las condiciones experimentales actuales y que el valor de kd se fijó manualmente en 1.00E-05 al ajustar los datos

$ indica que no se observó unión bajo las condiciones experimentales actuales.

[00592] A 25°C, diferentes conjugados de anticuerpo anti-MSR1-LXR se unen a 9xHis-hMSR1 con valores de KD que varían de 0.6 pM a 34.8 nM, mientras que los anticuerpos parentales no conjugados se unen a 9xHis-hMSR1 con valores de KD que van desde menor o igual a 0.6 pM a 13.7 nM como se muestra en la Tabla 13.

EJEMPLO 72

Los conjugados de anticuerpo anti-MSR1-LXR activan la unión del agonista en un bioensayo reportero de LXR-luciferasa

[00593] Generación de línea celular de ensayo. Para probar la eficacia de los conjugados de anticuerpo anti-MSR1-LXR in vitro, se desarrolló un ensayo reportero de luciferasa sensible a LXR a base de células. Para generar la línea celular de ensayo, se transdujo un gen reportero de luciferasa regulado por LXR [kit CignalLenti LXR Reporter (luc) (Qiagen, Cat # CLS-001L)] en células THP1, y las células se seleccionaron durante dos semanas en puromicina. El lentivirus expresa el gen luciferasa de luciérnaga bajo el control de un promotor mínimo de CMV y repeticiones en tándem del elemento de respuesta transcripcional LXR. La línea celular resultante se denomina células THP1/LXR-Luc.

[00594] Protocolo de ensayo.Células THP1/LXR-Luc se sembraron en placas de 96 pocillos a 40,000 células/pocillo en medios que contenían RPMI suplementado con 10% de FBS y pencilina/estreptomicina y posteriormente se diferenciaron con acetato de miristato de forbol 200 nM (PMA) durante 3 días. Después del período de diferenciación de 3 días, se agregaron a las células diluciones en serie de tres veces de conjugados de anticuerpo y fármaco, anticuerpos no conjugados o cargas útiles libres en medios frescos en una concentración final que varía de 100 nM a 0.01 nM. Los medios solos sirvieron como un control en blanco. Cuarenta y ocho horas después, se determinó la actividad de luciferasa después de la adición del reactivo One-GloTM (Promega, Cat # E6130) a cada pocillo. Las unidades de luz relativas (RLU) se midieron en un luminómetro Victor (PerkinElmer) y los valores EC50 se determinaron usando una ecuación logística de cuatro parámetros sobre una curva de respuesta de dosis de 10 puntos (GraphPadPrism). El valor EC50 de cada reactivo probado se muestra en la Tabla 14. La señal a ruido (S/N) se determinó calculando la relación de RLU del estándar uno sobre RLU del estándar ocho para cada uno de los anticuerpos anti-MSR1 no conjugados o cargas útiles libres. "LP#" representa un enlazador-carga útil para la cual las estructuras correspondientes se proporcionan en otro lugar del presente documento, y "P#" representa una carga útil para la cual se proporcionan las estructuras correspondientes en otro lugar del presente documento.

Tabla 14. Actividad agonista de conjugados de anticuerpo anti-MSR1-LXR, cargas útiles y anticuerpos no conjugados

Moléculaprobada	**EC_{50} (M)**	**S/N**
H1H21231N-N297Q-LP8	8.6E-10	14.5
H1H21227N-N297Q-LP8	8.9E-10	31.0
H1H21231N-N297Q-LP8	1.73E-09	38.6
H1H21234N-N297Q-LP8	3.65E-09	18.4
H1H21234N-N297Q-LP15	6.3E-10	9.0
H1H21234N-N297Q-LP13	9.8E-10	9.6
H1H21234N-N297Q-LP36	1.02E-09	9.2

Moléculaprobada	**EC_{50} (M)**	**S/N**
H1H21234N-N297Q-LP39	1.12E-09	8.3
H1H21234N-N297Q-LP311	8.1E-10	10.0
H1H21234N-N297Q-LP32	8.7E-10	9.1
H1H27729N-N297Q-LP8	1.64E-09	14.5
H1H27731N-N297Q-LP8	1.46E-09	15.5
H1H27732N-N297Q-LP8	8.2E-10	19.1
H1H27734N-N297Q-LP8	5.19E-09	17.8
H1H27736N-N297Q-LP8	1.01E-09	16.4
H1H27739N-N297Q-LP8	1.60E-09	21.0
H1H27747N-N297Q-LP8	4.77E-09	20.6
H1H27749N-N297Q-LP8	1.46E-09	13.1
H1H27751N-N297Q-LP8	1.54E-09	17.9
H1H27754N-N297Q-LP8	1.30E-09	17.3
H1H27756N-N297Q-LP8	1.61E-09	18.6
H1H27759N-N297Q-LP8	5.94E-09	18.9
H1H27760N-N297Q-LP8	6.34E-09	21.5
H1H27761N-N297Q-LP8	5.72E-09	20.7
H1H27762N-N297Q-LP8	7.02E-09	16.4
H1H27766N-N297Q-LP8	1.277E-08	11.3
H1H27771N-N297Q-LP8	2.41E-09	17.3
H1H27773N-N297Q-LP8	>4.05E-08	12.9
H1H27778N-N297Q-LP8	1.51E-09	16.1

Moléculaprobada	**EC_{50} (M)**	**S/N**
H1H21235N-N297Q-LP8	8.3E-10	8.2
H1H25700N-N297Q-LP8	1.13E-09	7.4
H1H25690N-N297Q-LP8	2.5E-10	8.0
H1H25695N-N297Q-LP8	1.87E-09	9.8
H1H25685N-N297Q-LP8	7.8E-10	8.3
Control Isotipo-N297Q-LP8	>6.6E-08	2.7
H1H21234N-N297Q	Sin activación	Sin activación
9d	1.14E-09	15.9
9j	4.6E-10	5.7
9l	2.09E-09	8.9
9o	3.7E-10	8.3

[00595] Como se muestra en la Tabla 14, en el punto de tiempo de 48 horas, todos los anticuerpos anti-MSR1 conjugados con LP8 demostraron la estimulación de las células THP1/Luc con valores EC50 que varían de 0.2 nM a más de 140.5 nM con S/N valores que van de 7.4 a 38.6. Un ejemplar conjugado de anticuerpo anti-MSR1-LXR (H1H21234N-N297Q-LP8) demostró la estimulación de las células THP1/Luc con un valor EC50 de 3.7 nM y S/N de 18.4. La carga útil libre, 9d, demostró la estimulación de las células THP1/Luc con un EC50 promedio de 15.9 nM. El anticuerpo de control de isotipo conjugado con LP8 (control de isotipo-LP8) tenía un valor EC50 promedio de>66 nM y S/N de 2.7. Además, H1H21234N-N297Q conjugado con enlazador-cargas útiles de agonista de LXR adicionales(H1H21234N-N297Q-LP15, H1H21234N-N297Q-LP13, H1H21234N-N297Q-LP36, H1H21234N-N297Q-LP39, H1H21234N-N297Q-LP311, y H1H21234N-N297Q-LP32) probadas demostraron estimulación de las células THP1/Luc con valores EC50 que varían de 0.63 nM a más de 73 nM y S/N que van de 1.4 a 10. Cargas útiles de agonistas de LXR adicionales probadas (9j, 9l y 9o) demostraron la estimulación de células THP1/Luc con valores EC50 que van de 0.37 nM a 2.09 nM y S/N que van de 5.7 a 8.9. Un anticuerpo

anti-MSR1 no conjugado (H1H21234N) solo no tuvo ningún impacto en la estimulación de las células THP/Luc.

EJEMPLO 73

Los conjugados de anticuerpo anti-MSR1-LXR activan el eflujo de colesterol en las células THP-1

[00596] La capacidad de los conjugados de anticuerpo anti-MSR1-LXR para activar la salida de colesterol en una línea celular de macrófagos humanos (THP-1; Catálogo ATCC # TIB-202), se evaluó usando un análogo fluorescente de colesterol.

[00597] Brevemente, células THP-1 se sembraron en placas recubiertas de poli-lisina de 96 pocillos (Corning, Catálogo # 354640) a 100,000 células/pocillo en medio RPMI 1640 (Irvine Scientific, Catálogo # 9160) que contenía FBS al 10% (Gibco, Catálogo # 1043010), 10 µg/mL de penicilina-estreptomicina (Gibco, Catálogo # 15140122) e incubados a 5% de CO2 a 37°C. Las células se diferenciaron en macrófagos mediante la adición de 100 nM de miristato de 13-acetato de Phorbol-12 (Sigma, Catálogo # P8139) a los medios y se sometieron a una incubación adicional durante 96 horas. Los macrófagos diferenciados se incubaron luego en medio RPMI 1640 libre de rojo fenol (Gibco, Catálogo # 32404-014) que contenía BODIPY-colesterol 25 µM (Avanti Polar Lipids, Catálogo # 810255P), albúmina de suero bovino al 0.2% (BSA; Sigma Catálogo # A7211) y 10 µg/mL de penicilina-estreptomicina durante 24 horas, seguido de un tratamiento de 24 horas con diluciones en serie que varían de 1x107 M a 5 x 10-14 M de carga útil libre, conjugado de anticuerpo anti-MSR1-LXR (H1H21234N)-N297Q-LP8), conjugado de control de isotipo-LXR (control de isotipo-N297Q-LP8) y anticuerpo anti-MSR1 no conjugado (H1H21234N) en medio RPMI 1640 libre de rojo fenol que contiene 0.2% de BSA. Las células se lavaron con medio RPMI 1640 libre de rojo fenol y se incubaron con 100 µl de medio aceptor que contenía lipoproteína de alta densidad de 50 µg/mL (Catálogo Millipore # 437641), apolipoproteína A1 de 10 µg/mL (Millipore, Catálogo # ALP10) libre de rojo fenol Medios RPMI 1640 durante 5 horas, después de lo cual, se recogieron los medios aceptores y las células se lisaron en 100 µL de regulador de pH RIPA (Millipore, Catálogo # 20-188) durante 2 horas con agitación suave a temperatura ambiente. La fluorescencia se midió en estas fracciones a 482 nm de excitación, emisión a 515 nm en el lector de placas SpectraMax i3 (Molecular Devices).

[00598] El porcentaje de eflujo de colesterol BODIPY se calculó usando la siguiente fórmula: [fluorescencia en medio aceptor/(fluorescencia en medio aceptor + fluorescencia en lisado celular)] x 100. La Tabla 15 proporciona un flujo de colesterol activado para los artículos probados, y la figura15 ilustra los datos en forma de gráfica.

Tabla 15. Activación del flujo de salida de colesterol por conjugados de anticuerpos-LXR y comparadores

Moléculaprobada	**Activación de eflujo de colesterol** **EC_{50} (M)**	**Eflujomáximo** **(%)**
9d	1.5E-10	36.7
H1H21234N-N297Q-LP8	5.0E-11	36.7
Control isotipo-N297Q-LP8	> 6.4E-8	30.3
H1H21234N-N297Q	N/A	18.7

[00599] Como se muestra en la Tabla 15, después de 24 horas, el conjugado H1H21234N-N297Q-LP8 demostró la mayor cantidad de eflujo o flujo de salida de colesterol con un flujo porcentual máximo de 36.6% y un valor EC50 de 50 pM. La carga útil libre9d demostró la segunda mayor cantidad de flujo de salida de colesterol con un porcentaje de flujo de salida máximo del 36.6% y un valor de EC50 de 150 pM. El conjugado control de isotipo-N297Q-LP8 demostró una cantidad mínima de salida de colesterol con un porcentaje máximo de salida de 30.3%. El anticuerpo no conjugado, H1H21234N-N297Q, no demostró ningún eflujo de colesterol medible.

EJEMPLO 74

Efecto in vivo de conjugados de anticuerpo anti-MSR1-LXR sobre la aterosclerosis en un modelo de ratón

[00600] El efecto de un conjugado agonista de anticuerpo anti-MSR1-LXR, H1H21234N-N297Q-LP8, sobre el desarrollo de aterosclerosis se evaluó in vivo en ratones homocigotos para la expresión del dominio extracelular MSR1 humano en lugar del dominio

extracelular MSR1 de ratón y homocigoto para la eliminación del gen apoE (denominados en el presente documento ratones Msr1hu/huApoE-/-).

[00601] Los ratones Msr1hu/huApoE-/- se desangraron previamente 6 días antes del inicio del experimento después de un ayuno de 4 horas y luego se colocaron en una dieta occidental aterogénica (ResearchDiets, Cat # 106452). Los ratones se clasificaron en grupos (n=7-9 cada uno) de acuerdo con sus valores basales de triglicéridos (TG) y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C). Se administró un anticuerpo MSR1 (H1H21234N-N297Q) o un conjugado agonista de anticuerpo MSR1-LXR (H1H21234N-N297Q-LP8)mediante inyecciones subcutáneas semanales a una dosis de 25 mg/kg (en función de la concentración de anticuerpos) a partir del día 0 durante 16 semanas. El suero se recogió a las 4, 8 y 16 semanas del estudio después de un ayuno de 4 horas para evaluar los lípidos en suero usando AdviaXPTChemistrySystem (Siemens). Los valores promedio de lípidos en suero se calcularon para cada punto de tiempo. Los resultados, expresados como (media ± SEM) se muestran en la figura 16. La figura 16 ilustra que la administración del conjugado agonista de anticuerpo MSR1-LXR H1H21234N-N297Q-LP8 no tuvo un efecto sobre los niveles de lípidos en suero.

[00602] Se sacrificaron los ratones al final del estudio en condiciones sin ayuno 6 días después de la última inyección de anticuerpo anti-MSR1 o agonista de anticuerpo MSR1-LXR ncADC, y se recogieron su corazón e hígado. Los corazones fueron incrustados en el compuesto de temperatura de corte óptima (OCT), y se seccionaron perpendicularmente al eje de la aorta, comenzando dentro del corazón y trabajando en la dirección del arco aórtico. Una vez que se identificó la raíz aórtica por la apariencia de las valvas de la válvula aórtica, se tomaron secciones transversales en serie (12 µm de espesor) y se montaron en portaobjetos consecutivos (VWR International, Cat # 16004-406). Estas secciones se tiñeron con tinción con hematoxilina y eosina (tinción H&E), tinción con lípidos Oil Red O y anticuerpo anti-CD68 de rata (Abcam, Cat # ab201844) para marcar los macrófagos para el análisis. Se usó un escáner de diapositivas Aperio AT2 (Leica Biosystems, Illinois) para escanear las diapositivas y generar imágenes. Para cada ratón, el área de lípidos se midió usando el software HALO (Indica Labs, Nuevo México) en 7 secciones transversales posteriores a base de la tinción Oil Red O, y posteriormente se calculó el promedio del área de lípidos de la lesión total por ratón usando estas mediciones. Todas las mediciones fueron realizadas por un analista que no conocía los grupos de tratamiento. Los resultados, expresados como (media ± SEM) se muestran en la figura

17A. La figura17A ilustra que la administración del conjugado agonista de anticuerpo MSR1-LXR H1H21234N-N297Q-LP8 condujo a una reducción en el área de lesión aterosclerótica.

[00603] Además, se usaron portaobjetos teñidos con H&E para calcular la relación Intima/Media, que representa el valor normalizado del tamaño de la placa. Las láminas elásticas internas y externas de los medios arteriales y las áreas de la luz se midieron en 7 secciones transversales posteriores para cada ratón usando las secciones teñidas con H&E y se calcularon los valores promedio por ratón. La relación íntima/media se calculó usando la ecuación:

Relación íntima/media = (Área de lámina elástica interna-Área de lumen)/(Área de lámina elástica externa-Área de lámina elástica interna)

Los resultados, expresados como (media ± SEM), se muestran en la figura 17B.

[00604] El contenido de macrófagos en las secciones se midió usando portaobjetos teñidos con anticuerpo anti-CD68 de rata. Para cada ratón, se midió el área positiva de macrófagos usando el software HALO en al menos 5 secciones transversales posteriores, y se calculó el promedio del contenido total de macrófagos por ratón usando estas medidas. Los resultados, expresados como (media ± SEM) se muestran en la figura 17C. La figura17C ilustra que la administración del conjugado agonista de anticuerpo MSR1-LXR H1H21234N-N297Q-LP8 condujo a una reducción en el contenido de macrófagos.

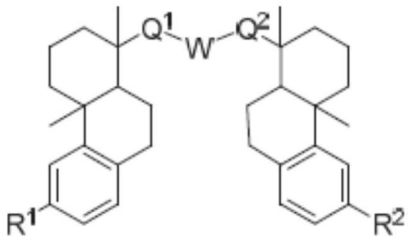
[00605] Los hígados recogidos en el sacrificio se usaron para qRT-PCR y extracción de lípidos. Se colocó una porción de hígado de cada ratón en RNAlader (Invitrogen, Cat # AM7023) para extracción de ARN y luego se evaluó la expresión de genes lipogénicos (Srebf1, Acc, Fasn) para evaluar la lipogénesis de novo mediante qRT-PCR usando métodos estándar. Los resultados, expresados como (media ± SEM), se muestran en la figura 18. La figura 18 ilustra que la administración del conjugado agonista de anticuerpo MSR1-LXR H1H21234N-N297Q-LP8 no tiene efecto sobre el nivel de triglicéridos o colesterol hepáticos.

[00606] Los lípidos se extrajeron de la segunda pieza de hígado de cada ratón por el método de Folch y se solubilizaron por el método de Carr. Los niveles de TG, colesterol total y libre se midieron mediante ensayos enzimáticos para la detección (Teco Diagnostics, Cat # T532-480 (TG); Thermo Fisher Scientific, Cat # TR13421 (colesterol total); Waco

Diagnostics, Cat # 993-02501 (colesterol libre)) y normalizado al peso del tejido húmedo. Los resultados, expresados como (media ± SEM), se muestran en la figura 19. La figura 19 ilustra que la administración del conjugado agonista de anticuerpo MSR1-LXR H1H21234N-N297Q-LP8 no tiene efecto sobre la lipogénesis hepática de novo.

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. Un compuesto de la Fórmula I



(I)

o una sal o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable de este, que se caracteriza porque cada uno de **Q1** y **Q2** es independientemente –CH2–, –C(O)–, –C(H)(OH)–, –C(OH)2– , –SO2–, –SO–, –PO(O**R11**)–, –PO(N**R11**N**R12**)–, –N**R11**–, o –N=;

W es –CH2–, –N(H)–, u –O–;

R^1 es independientemente hidrógeno, –OH, –NH2, **C1-20** alquilo, u –OP(O)(O**R6**)2;

R^2 es independientemente hidrógeno, haluro, –SO2N**$R1^1R1^2$**, –CON**$R1^1R1^2$**, –CH2NH2, **R3**, **R4**, **R5**, u –O–**R5**;

que es caracteriza porque **R1** y **R2** no son simultáneamente hidrógeno;

R^3 es –N(**R6**)2;

R^4 es –**X**–**Y**–**Z**;

X se selecciona de entre el grupo compuesto por –O– y –N(H)–;

Y se selecciona del grupo que consta de **C1-20** alquileno, sustituido **C1-20** alquileno, **C1-20** heteroalquileno, y sustituido **C1-20** heteroalquileno donde heteroalquileno y heteroalquileno sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno y oxígeno;

Z se selecciona de entre el grupo compuesto por –OH y –NH2;

R5 es **C1-20** alquilo **C3-20** heterocicloalquilo, o sustituido **C3-20** heterocicloalquilo, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno y oxígeno, e incluye por lo menos un –OH y –CH2OH, o por lo menos un nitrógeno primario o secundario;

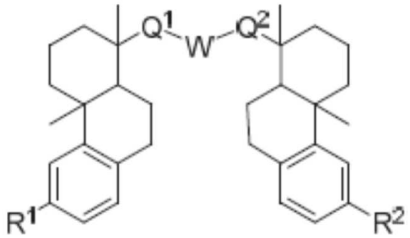
cada **R^6** es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un residuo de aminoácido seleccionado de entre arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, glicina, prolina, alanina,

s

isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, ornitina, selenocisteína y homoglicina, un residuo de *N*- alquilo aminoácido seleccionado de entre residuos de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, glicina, prolina, alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, ornitina, selenocisteína y residuos de homoglicina, un péptido seleccionado de entre la combinación de dos o más argininas, histidina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, glicina, prolina, alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, ornitina, selenocisteína, y homoglicina, una porción biodegradable seleccionada de entre poli(ε-caprolactona) (PCL), poli(3-hidroxibutirato) (PHB), ácido poli(glicólico) (PGA), ácido poli(láctico) (PLA), y poli(D,L-láctido-coglicólico) (PLGA), o C1-20 alquilo; y

cada **R^{11}** y **R^{12}** son independientemente hidrógeno, **C1-20** alquilo y arilo.

2. El compuesto de la reivindicación 1**,** de acuerdo con la Fórmula I



(I)

o una sal o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable de este, que se caracteriza porque cada uno de **Q1** y **Q2** es independientemente –CH2–, –C(O)–, –C(H)(OH)–, o –C(OH)2–;

W es –CH2–, –N(H)–, u –O–;

R^1 es independientemente hidrógeno, –OH, –NH2, **C1-20** alquilo, o–OP(O)(O**R6**)2;

R^2 es independientemente hidrógeno, –CH2NH2, **R^3**, **R^4**, **R^5**, u –O–**R^5**;

en donde **R^1** y **R^2** no son simultáneamente hidrógeno;

R^3 es –N(**R^6**)2;

R^4 es –**X**–**Y**–**Z**;

X se selecciona de entre el grupo compuesto por –O– y –N(H)–;

Y se selecciona del grupo que consta de **C1-20** alquileno, sustituido **C1-20** alquileno, **C1-20** heteroalquileno, y **C1-20** heteroalquileno sustituido en donde heteroalquileno y heteroalquileno sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos

s

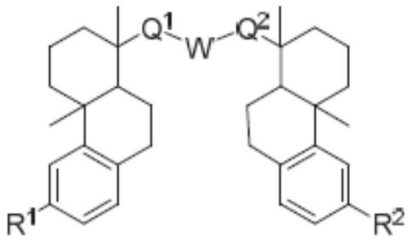
seleccionados de entre nitrógeno y oxígeno;

Z se selecciona de entre el grupo compuesto por –OH y –NH2;

R^5 es **C1-20** alquilo, **C3-20** heterocicloalquilo, o **C3-20** heterocicloalquilo sustituido, en donde cada heterocicloalquilo o heterocicloalquilo sustituido comprende uno, dos o tres heteroátomos seleccionados de entre nitrógeno y oxígeno, e incluye por lo menos un –OH y –CH2OH, o por lo menos un nitrógeno primario o secundario;

cada R^6 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un residuo de aminoácido seleccionado de entre residuos de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, glicina, prolina, alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, ornitina, selenocisteína y homoglicina, un residuo de *N*-alquilo aminoácido seleccionado de entre residuos de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, glicina, prolina, alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, ornitina, selenocisteína y homoglicina, un péptido seleccionado de entre la combinación de dos o más residuos de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, glicina, prolina, alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, ornitina, selenocisteína, y homoglicina o C1-20 alquilo.

3. El compuesto de la reivindicación 1**,** de acuerdo con la Fórmula Ia



(Ia)

o una sal o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable de este.

4. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que se caracteriza porque **Q^1** es –CH2– y **Q^2** es –C(O)–.

5. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que se caracteriza porque **Q^1** es –C(H)(OH)– y **Q^2** es –C(O)–.

6. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que se caracteriza porque **Q^1**

s

es –C(O)– y **Q²** es –C(O)–.

7. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que se caracteriza porque **Q¹** es –C(O)– y **Q²** es –CH2–.

8. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que se caracteriza porque **Q¹** es –C(O)– y **Q²** es –C(H)(OH)–.

9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que se caracteriza porque **W** es –CH2–.

10. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que se caracteriza porque **W** es –O–.

11. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que se caracteriza porque **W** es –NH–.

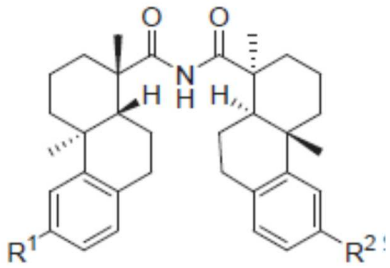
12. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que se caracteriza porque **R¹** es hidrógeno y **R²** es **R³**, **R⁴**, **R⁵** u –O–**R⁵**.

13. El compuesto de una de las reivindicaciones 1-11, que se caracteriza porque **R¹** es –OH y **R²** es **R³**, **R⁴**, **R⁵**, u –O–**R⁵**.

14. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que se caracteriza porque **R¹** es –OH u –OP(O)(O)**R⁶**)(OH) y **R²** es hidrógeno.

15. El compuesto de la reivindicación 1**,** de acuerdo con la Fórmula Ib

s



(Ib)

o una sal o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable de este.

16. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, que se caracteriza porque **R**^{1} es –OH.

17. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, que se caracteriza porque **R**^{2} es –O–(CH2)n–**Z** y **n** es un número entero de uno a cuatro.

18. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, que se caracteriza porque **R**^{2} es –(H)C(O)–(CH2)**n**–NH2 y **n** es un número entero de uno a cuatro.

19. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones que se caracteriza porque **R**^{2} es –N(H)C(O)–(C**RR**)**n**–NH2; cada **R** es hidrógeno, –OH o –CH2OH; y **n** es un número entero de uno a cuatro.

20. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, que se caracteriza porque **R**^{2} es *N*-piperazinilo.

21. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, que se caracteriza porque **R**^{2} es –N(**R6**)2.

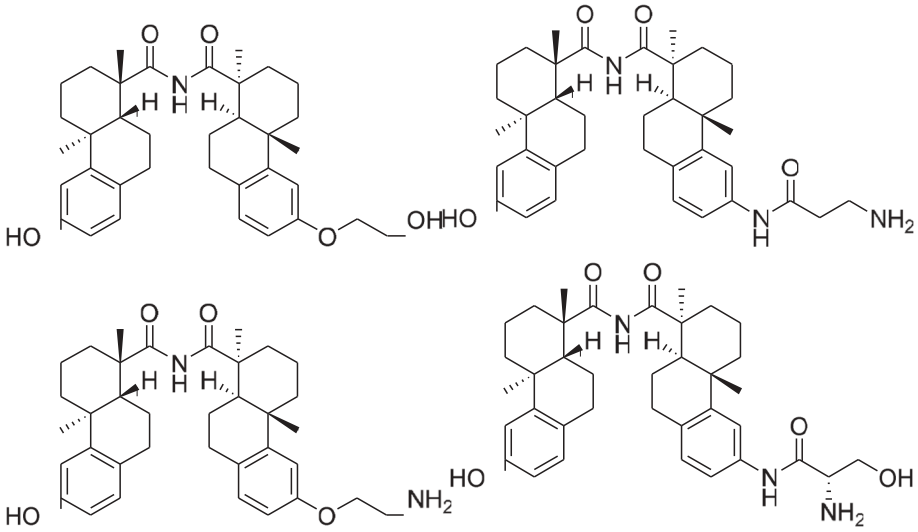
22. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, que se caracteriza porque **R**^{2} es *N*-serinilo.

23. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, que se caracteriza porque **R**^{2} es *O*-glucosilo.

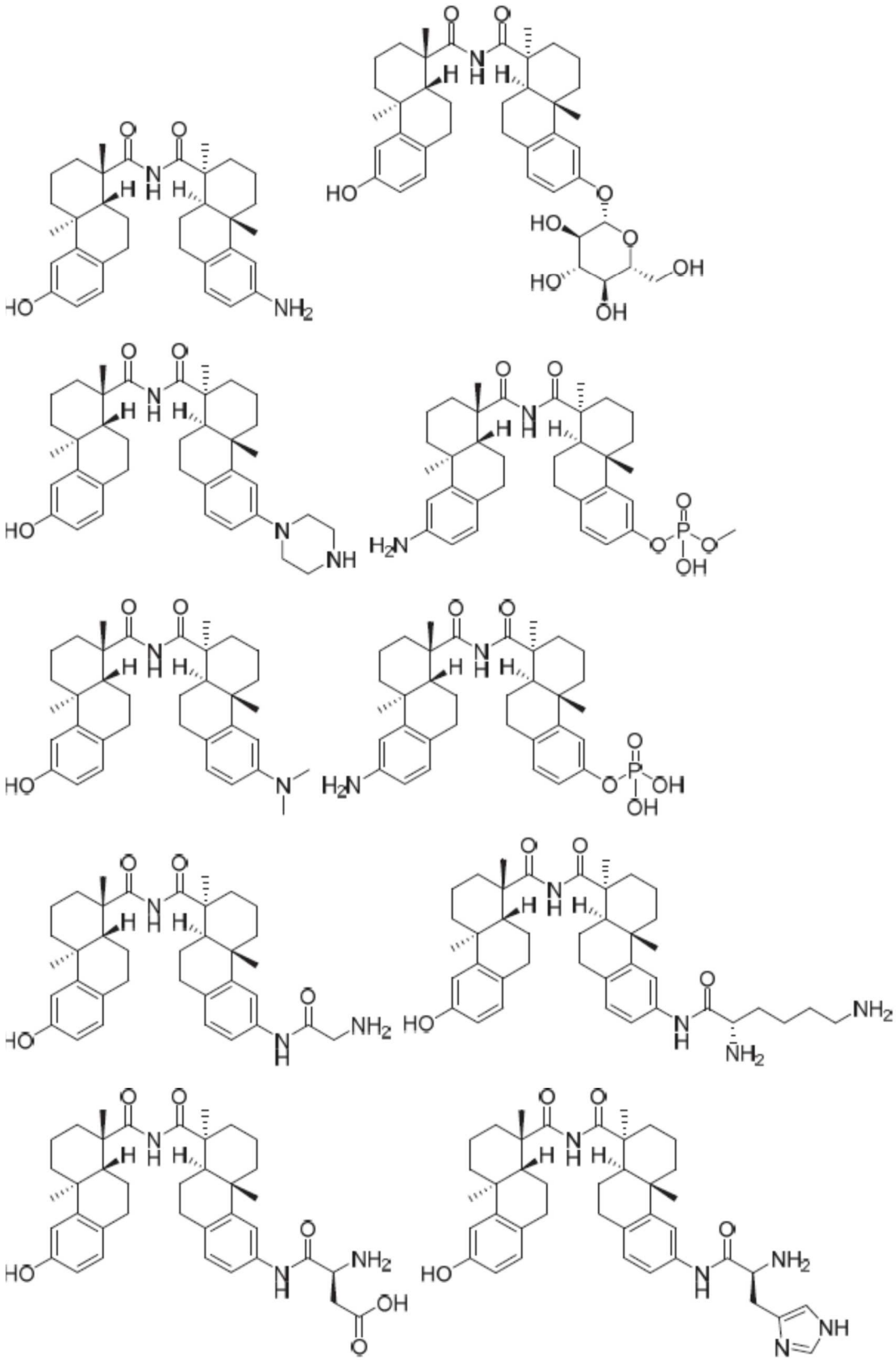
s

24. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-15 que se caracteriza porque **R**^{1} es –OP(O)(O)**R**^{6})(OH) y **R**^{2} es –NH2.

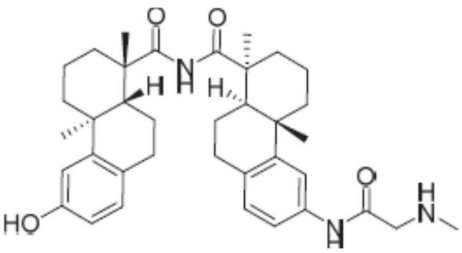
25. El compuesto de la reivindicación 1 seleccionado de entre el grupo compuesto por

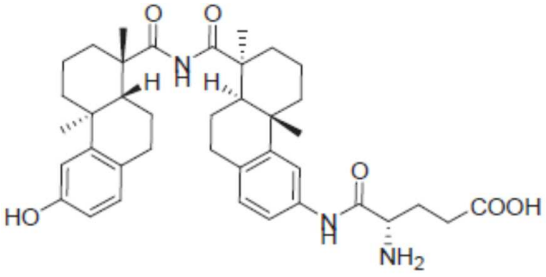


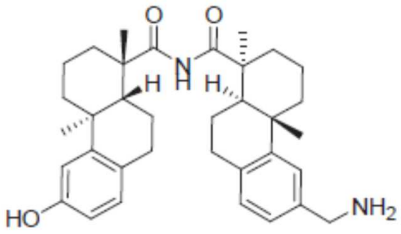
s

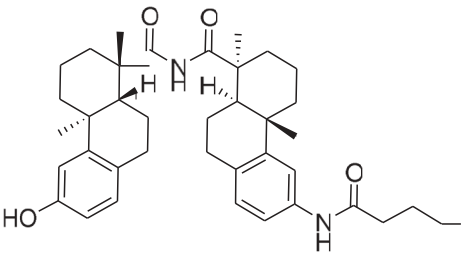


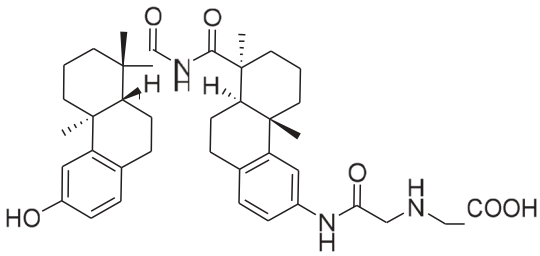
s

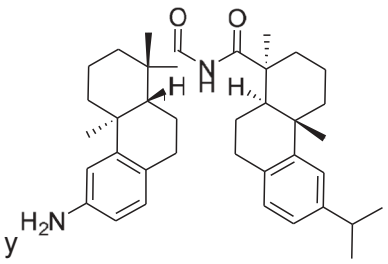








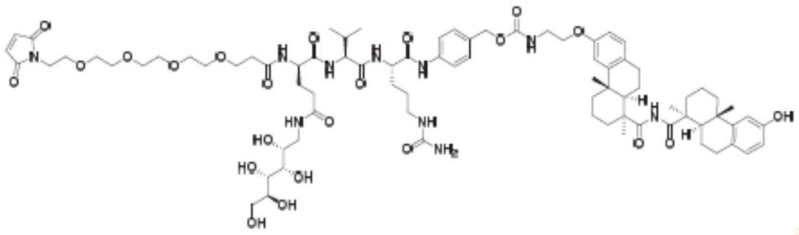


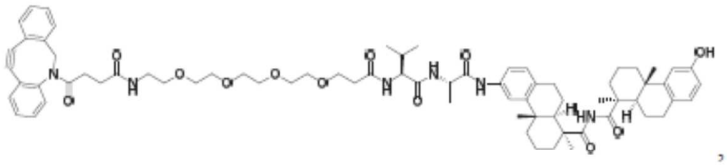
y  ; o

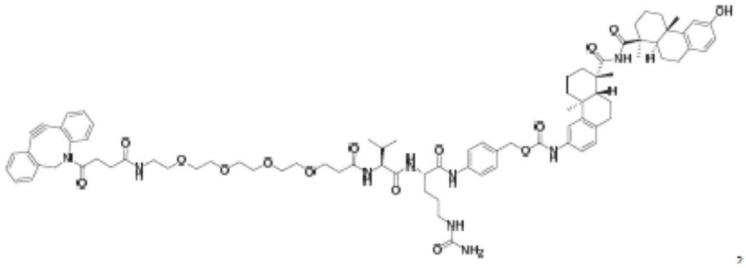
una sal o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable de este.

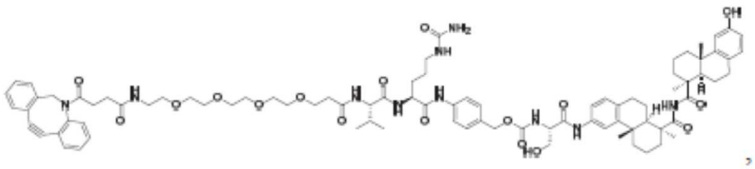
26. Un enlazador-carga útil seleccionado de entre el grupo compuesto por

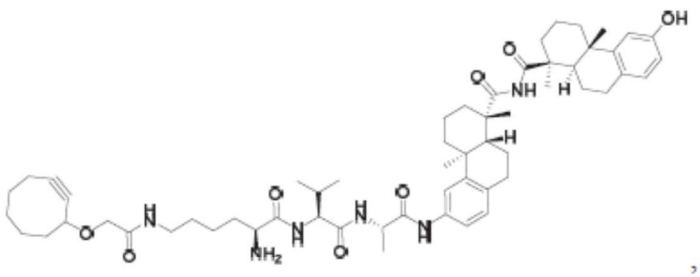
s

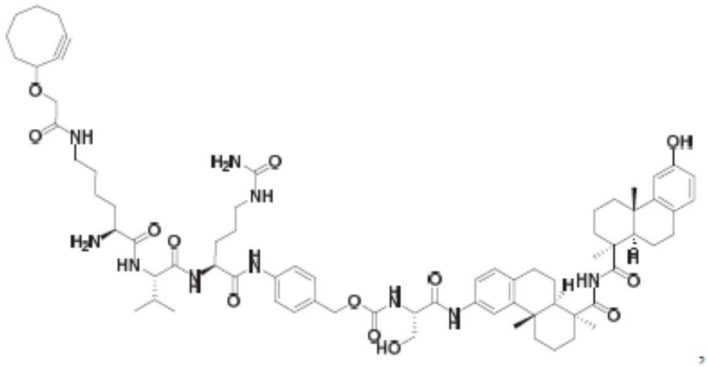




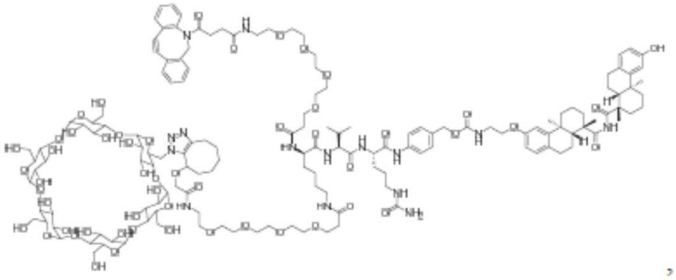


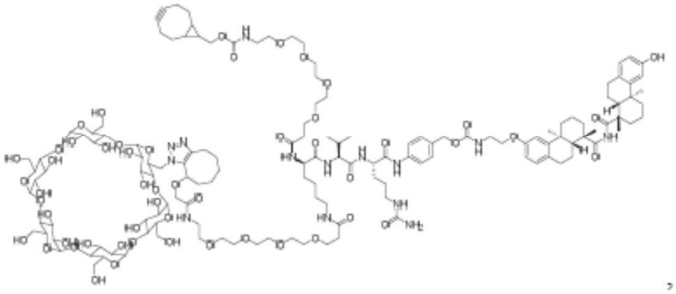


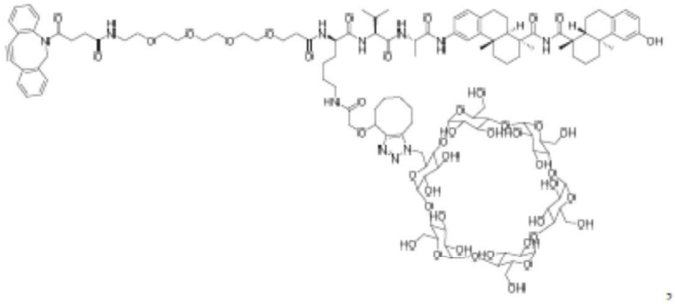


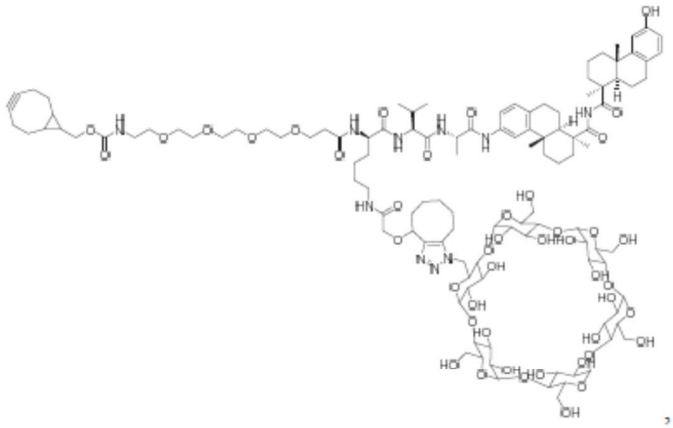


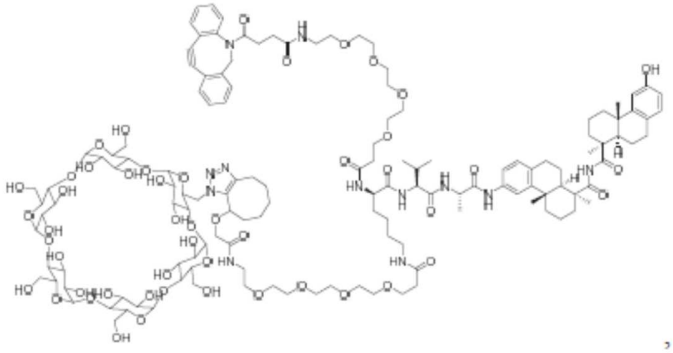
S



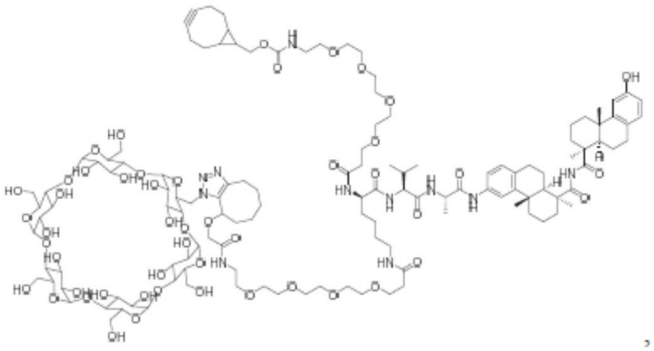


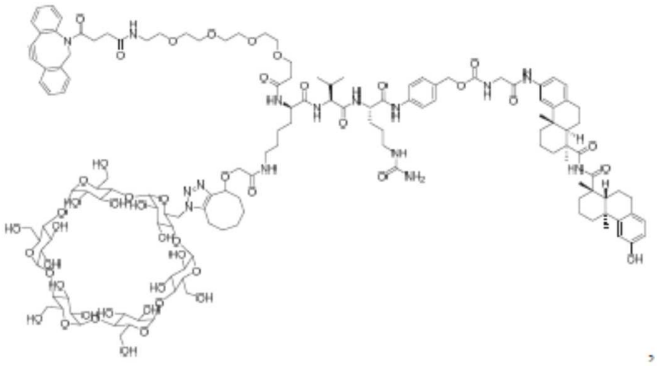


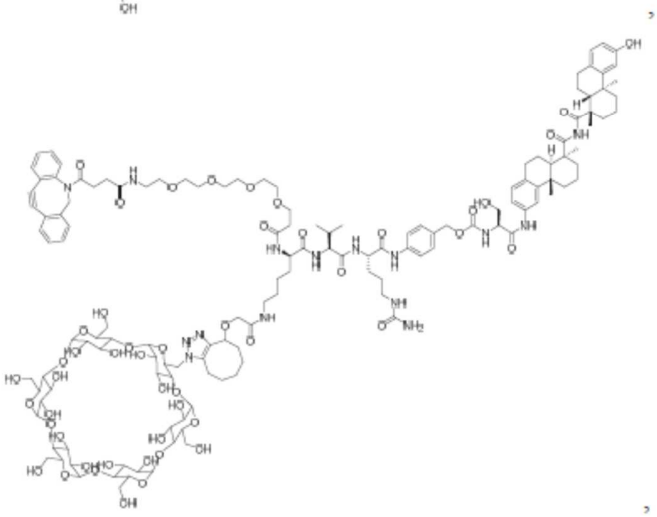


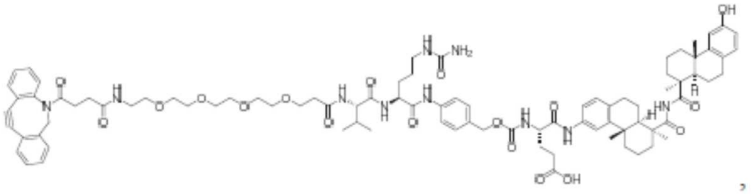


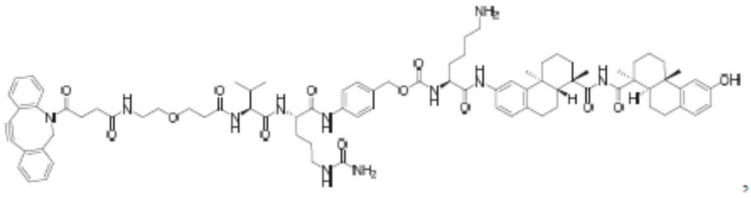
S



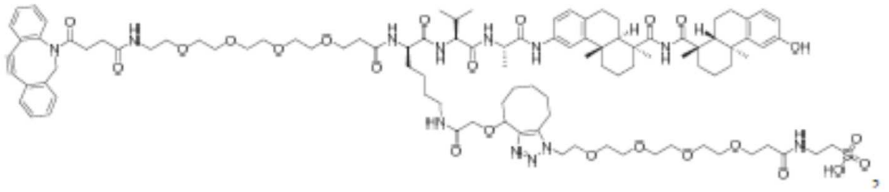


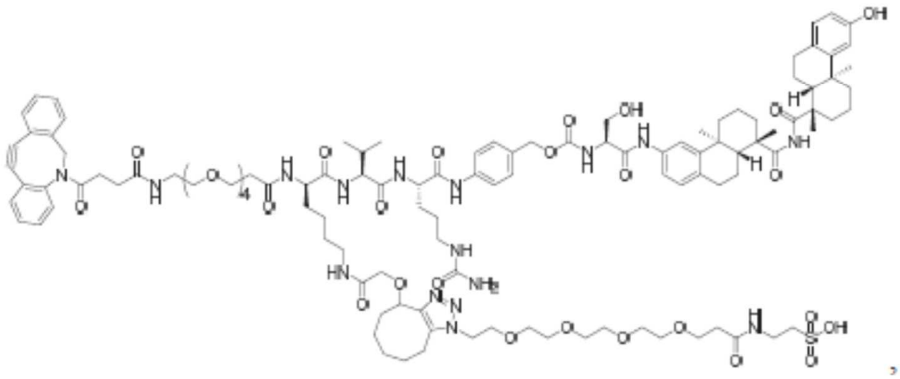




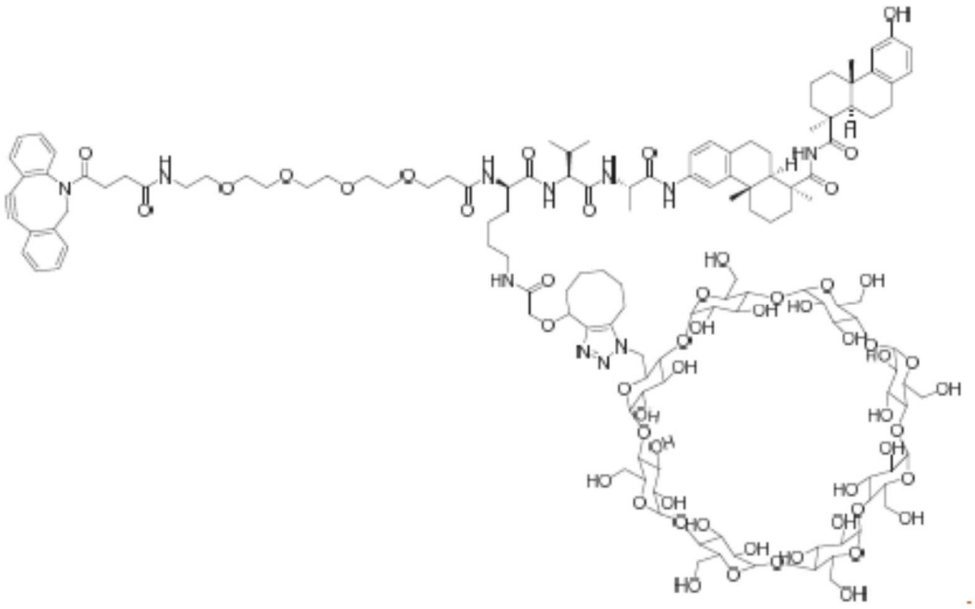


S





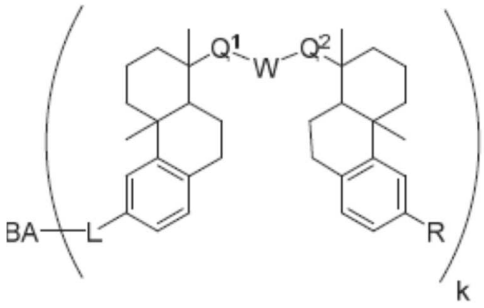
y



27. Un compuesto que comprende el compuesto o enlazador-carga útil de la reivindicación 26 unido a un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este seleccionado de entre anti-MSR1, anti-HER2 y anti-PRLR.

28. Un compuesto de Fórmula **A**

s

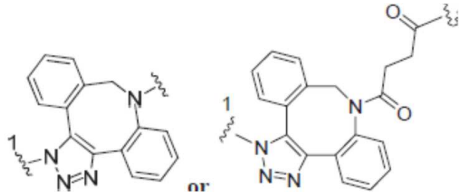


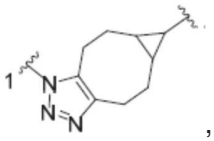
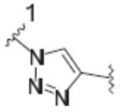
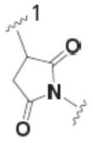
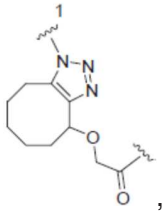
(**A**)

o una sal o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable de este, que se caracteriza porque

L es X-Y-Z, que se caracteriza porque X es –NH– u –O–;

un di o tripéptido, *p*-aminobencilo (**PAB**) o *p*-aminobencilcarbonilo (**PABC**), alcoxamina, ketoxamina, carbonato o fosfonato, PEGn, -C(O)-, alquileno, alquilo, heteroalquilo, alquenilo o heteroalquenilo, ácido sulfónico o ciclodextrina; y **Z** es



o el regioisómero triazolilo, en donde 1 es el enlace a **BA**;  , en donde 1 es el enlace a **BA**;  , o el regioisómero triazolilo, en donde 1 es el enlace a **BA**;  , en donde 1 es el enlace a la cisteína de **BA**;en donde 1 es el enlace a la lisina de **BA**; o  , o el regioisómero triazolilo, en donde 1 es el enlace a **BA**;

BA es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este que se selecciona de entre anti-MSR1, anti-HER2 y anti-PRLR;

s

k es un número entero de uno a treinta;

cada uno de **Q^1** y **Q^2** es independientemente –CH2–, –C(O)–, –C(H)(OH)–, o –C(OH)2–;

W es –CH2–, –N(H)–, u –O–;

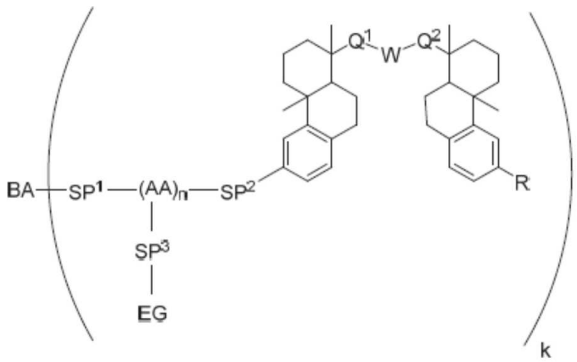
R es independientemente hidrógeno, –OH, u –OP(O)(O**R^6**)(OH);

cada R6 es, independientemente en cada caso, hidrógeno, un residuo de aminoácido seleccionado de entre residuos de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, glicina, prolina, alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina, valina, ornitina, selenocisteína y homoglicina, un péptido seleccionado de entre la combinación de dos o más residuos de arginina, histidina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina, glutamina, cisteína, glicina, prolina, alanina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, residuos de tirosina, valina, ornitina, selenocisteína y homoglicina o C1-20 alquilo; y

cada **n** es un número entero de cero a ocho.

29. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto o enlazador-carga útil de cualquiera de las reivindicaciones 26-28, y un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

30. El compuesto de la reivindicación 28, que tiene la Fórmula (**B**)



(B)

o una sal o forma estereoisomérica farmacéuticamente aceptable de este, o un regioisómero de este, que se caracteriza porque

cada **SP^1**, **SP^2**y **SP^3** es un grupo espaciador, en donde **SP^3** está unido a un **AA** de

s

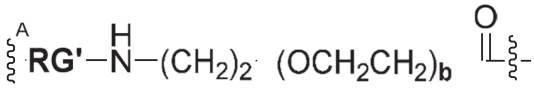
(**AA**)**n**;

cada **AA** es un aminoácido;

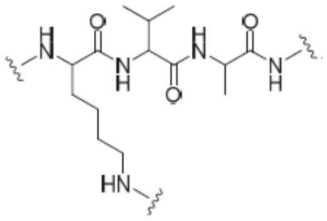
n es un número entero de uno a diez; y

EG es alquilo, heteroalquilo, alquenilo, o heteroalquenilo ácido sulfónico o ciclodextrina.

31. El compuesto de la reivindicación 30, que se caracteriza porque el espaciador **SP1** es

, 

en donde **RG'** es un residuo de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo **RG** con un agente aglutinante, es un enlace, directo o indirecto, al agente aglutinante, y **b** es un número entero de uno a cuatro;

el $(AA)_n$ es 

SP^2 es un enlace o PABC;

el espaciador SP^3 es 

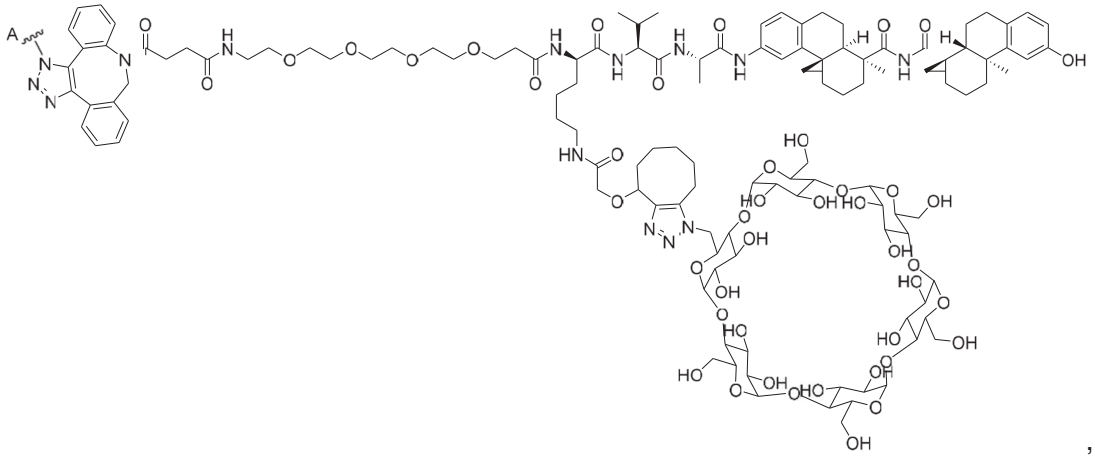
en donde **RG'** es un residuo de grupo reactivo después de la reacción de un grupo reactivo **RG**;

 es un enlace con EG; y

 es un enlace con (**AA**)**n**.

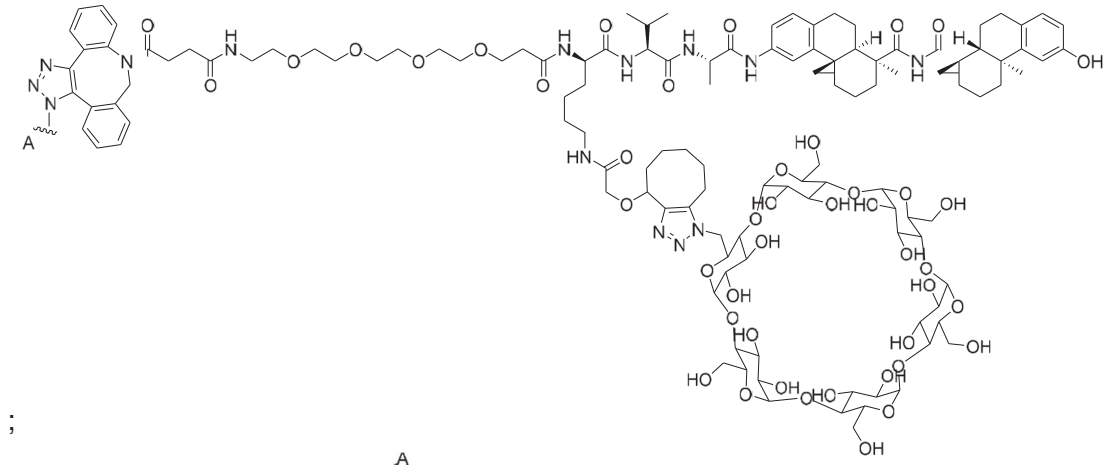
32. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 29, 30 o 31, que se caracteriza porque el compuesto se selecciona de entre el grupo compuesto por

s



,

Y

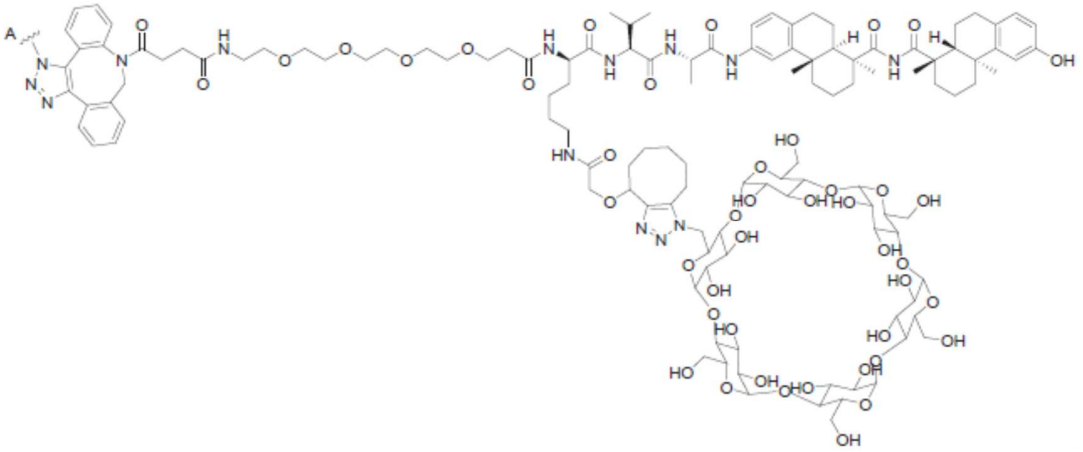


;

en donde cada  es un enlace, directo o indirecto, al agente aglutinante.

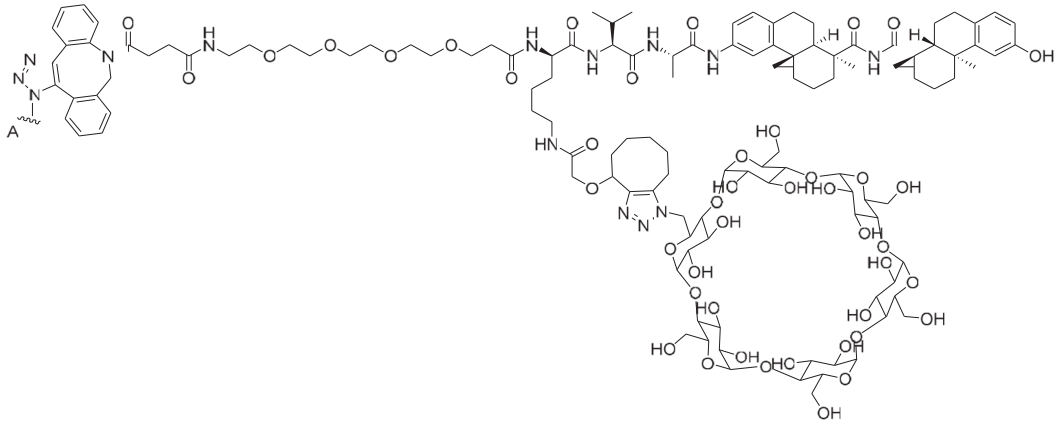
33. El compuesto de la reivindicación 32, que se caracteriza porque el compuesto es

s



o un regioisómero de este, en donde  es un enlace, directo o indirecto, al agente aglutinante.

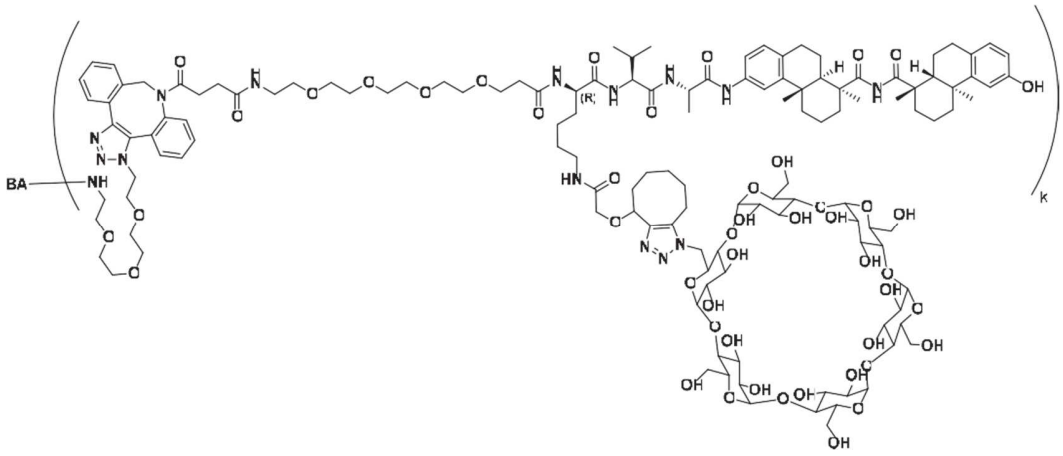
34. El compuesto de la reivindicación 32, que se caracteriza porque el compuesto es



o un regioisómero de este, en donde  es un enlace, directo o indirecto, al agente aglutinante.

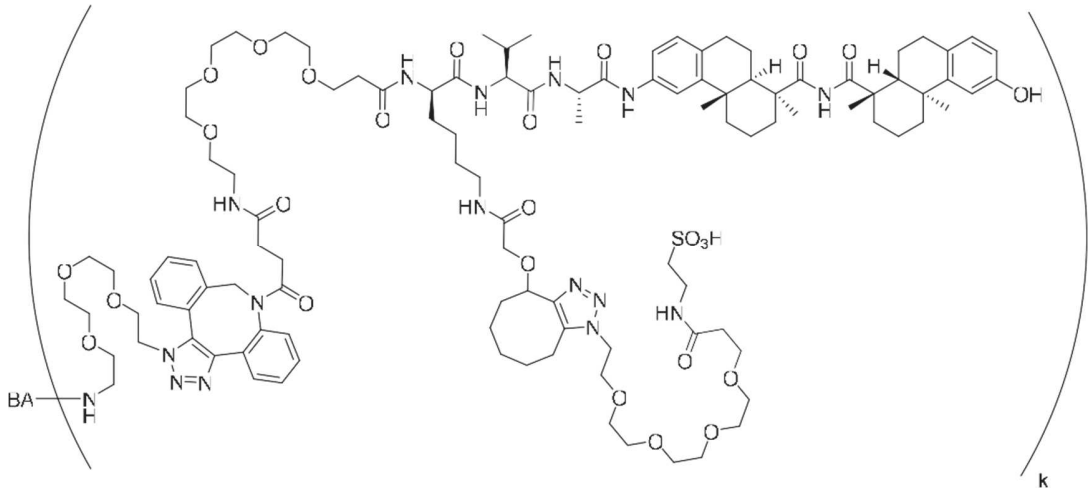
35. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 30 o 31, que se caracteriza porque el compuesto es

S



.

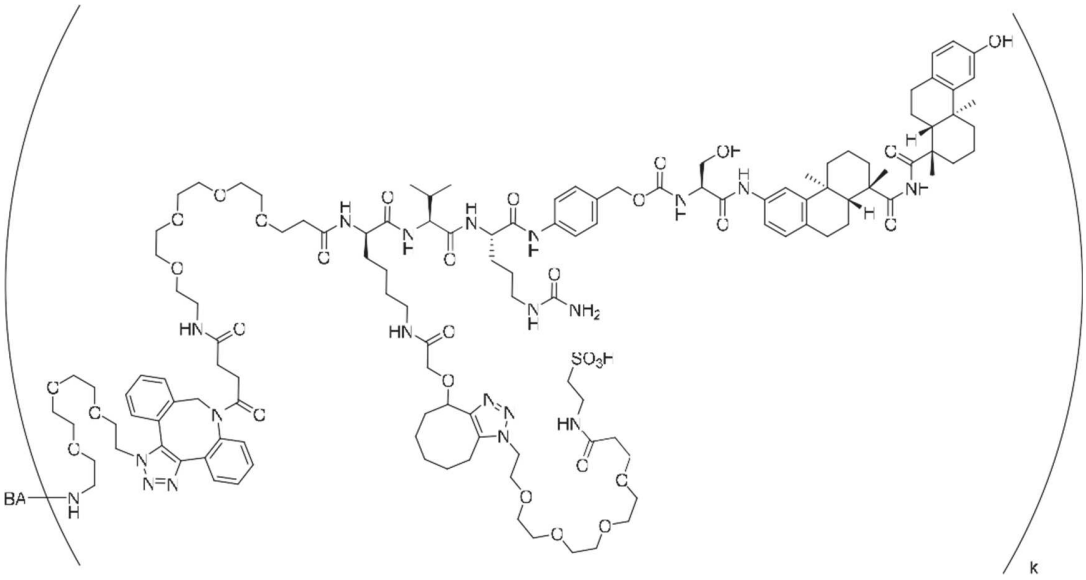
36. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 30 o 31, que se caracteriza porque el compuesto es



.

37. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 30 o 32, que se caracteriza porque el compuesto es

S



38. El compuesto de la reivindicación 35, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este.

39. El compuesto de la reivindicación 35, que se caracteriza porque **k** es un número entero de uno a cuatro.

40. El compuesto de la reivindicación 35, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno de este, que se une a HER2.

41. El compuesto de la reivindicación 35, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno de este, que se une a PRLR.

42. El compuesto de la reivindicación 35, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, y la conjugación tiene lugar a través de por lo menos un residuo Q295.

43. El compuesto de la reivindicación 35, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este, y la conjugación tiene lugar a través de dos residuos Q295.

44. El compuesto de la reivindicación 35, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo

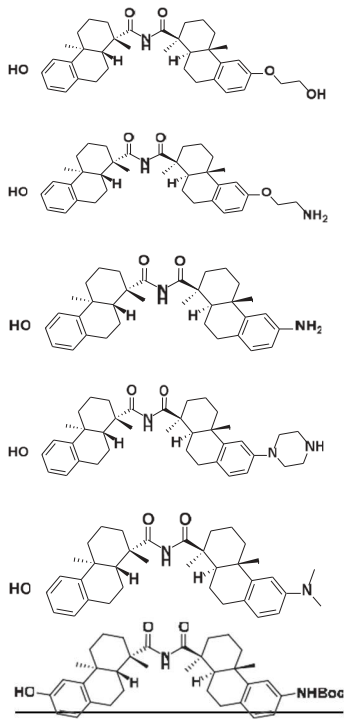
S

N297Q o un fragmento de unión al antígeno de este.

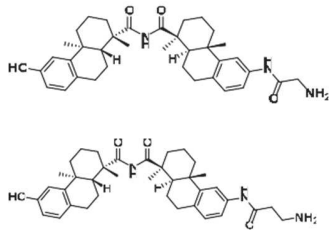
45. El compuesto de la reivindicación 35, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo N297Q o un fragmento de unión al antígeno de este, y la conjugación tiene lugar a través de por lo menos un residuo Q295 y por lo menos un Q297.

46. El compuesto de la reivindicación 35, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo N297Q o un fragmento de unión al antígeno de este, y la conjugación tiene lugar a través de dos residuos Q295 y dos residuos Q297.

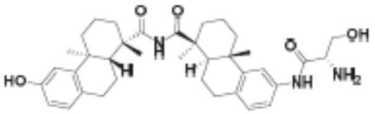
47. El compuesto de la reivindicación 28**,** que comprende **BA** unido a través de un enlazador **L** a un compuesto seleccionado de entre el grupo compuesto por

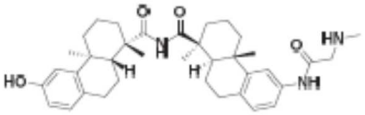


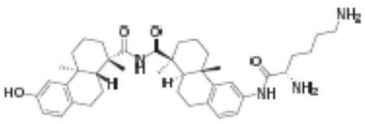
S

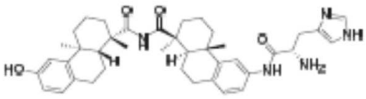


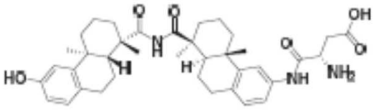
S

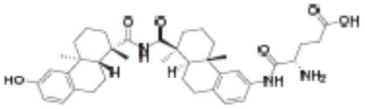


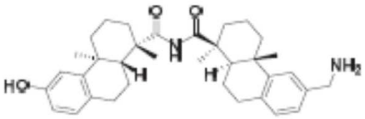


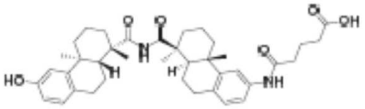


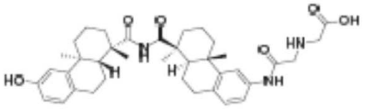


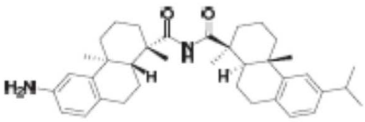


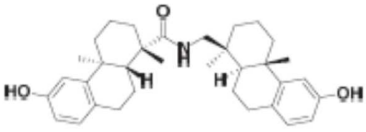




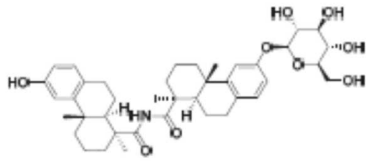


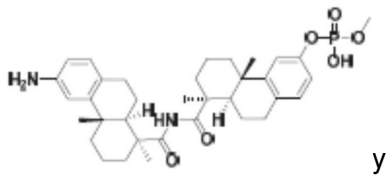




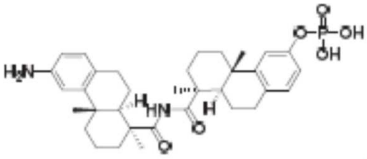


S





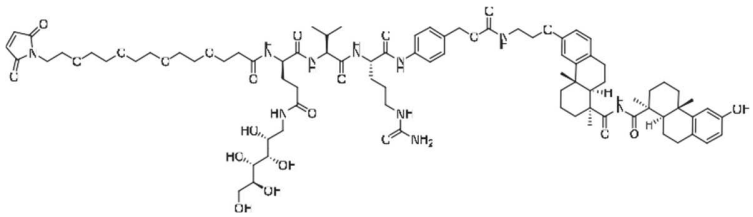
y

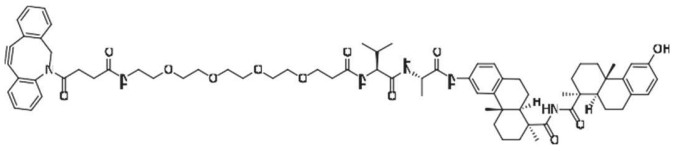


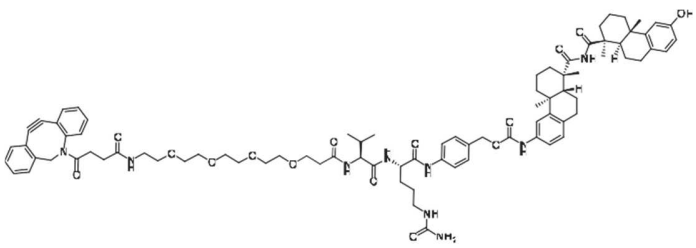
; o

un regioisómero, forma estereoisomérica, o sal farmacéuticamente aceptable de este que se caracteriza porque **k** es un número entero de uno a cuatro.

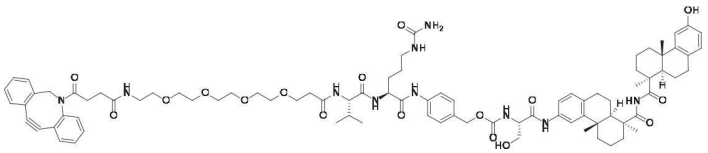
48. El compuesto de la reivindicación 28**,** que comprende **BA** unido a un compuesto seleccionado de entre el grupo compuesto por

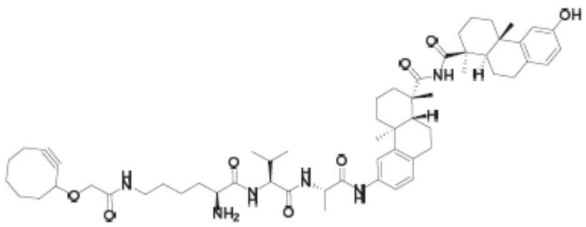


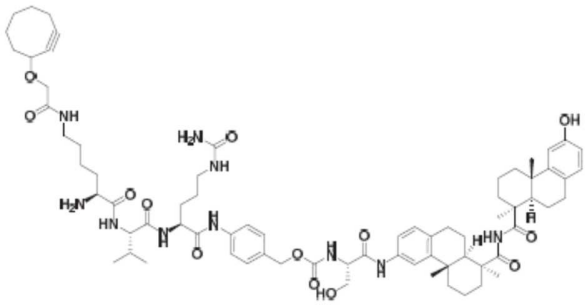


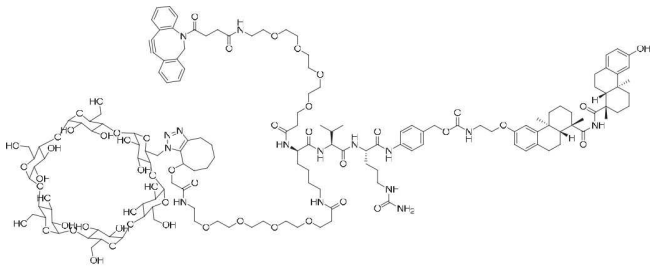


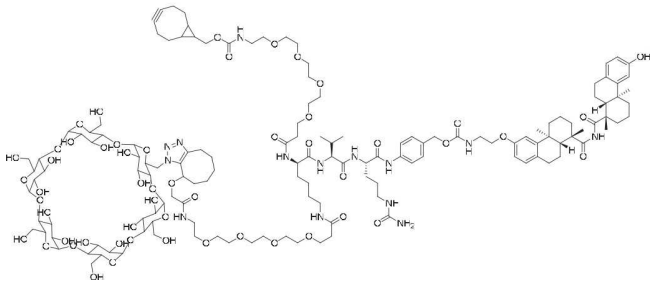
S



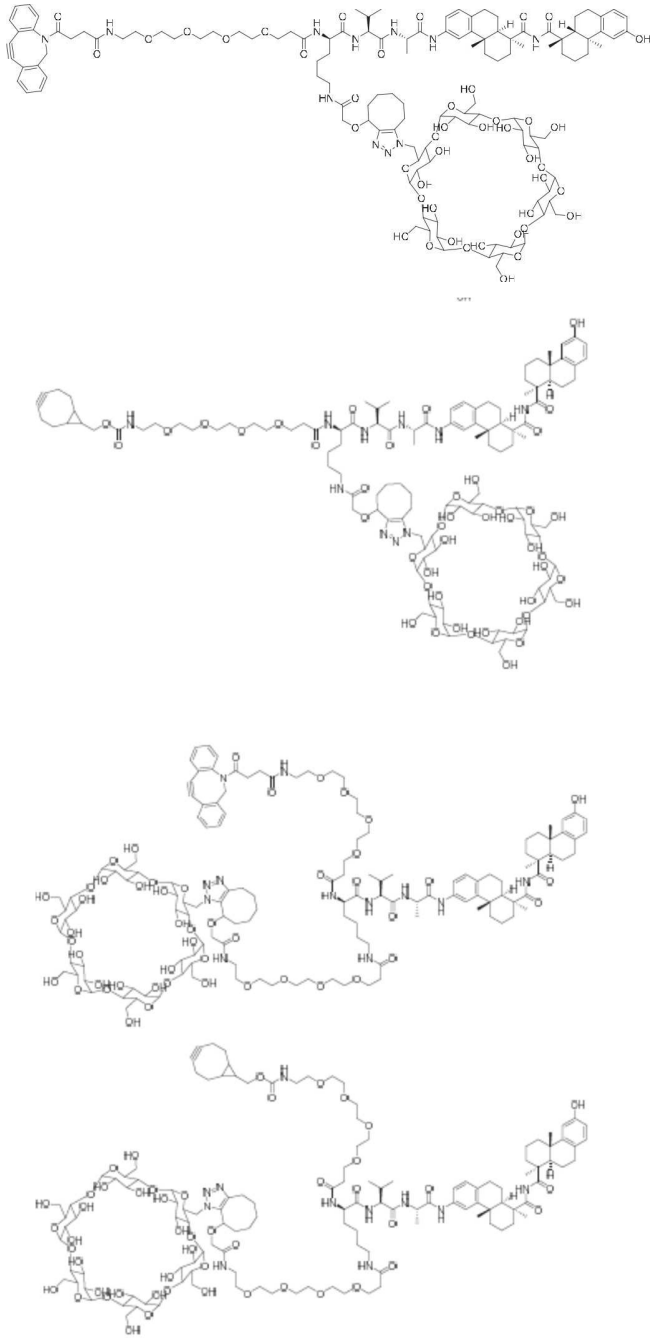






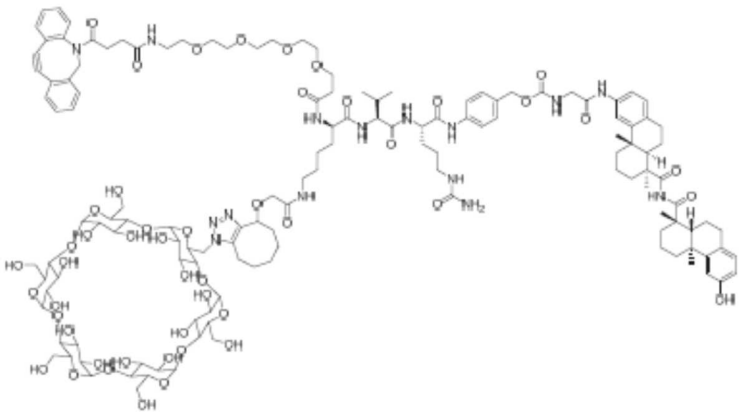


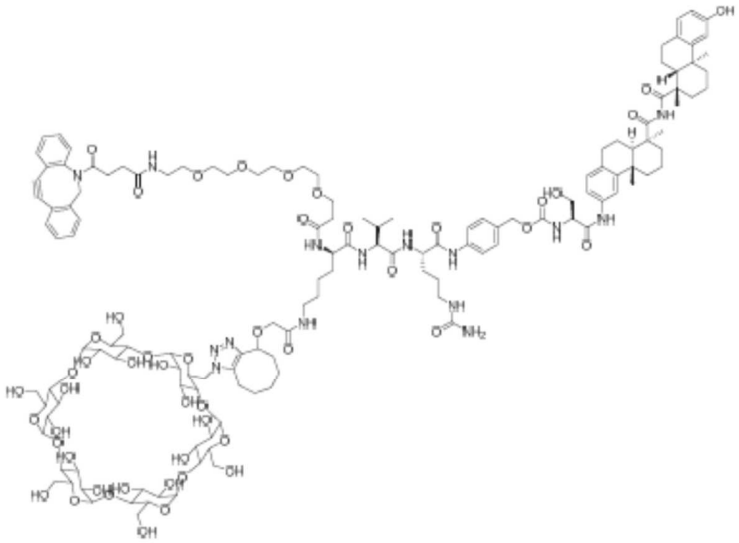
S

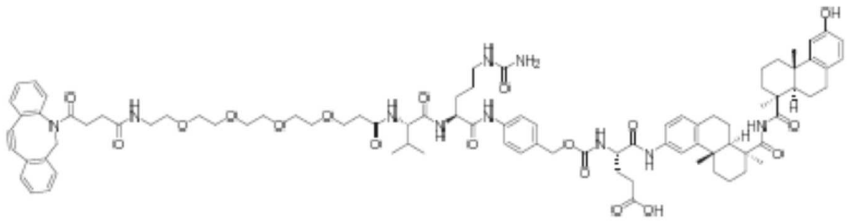


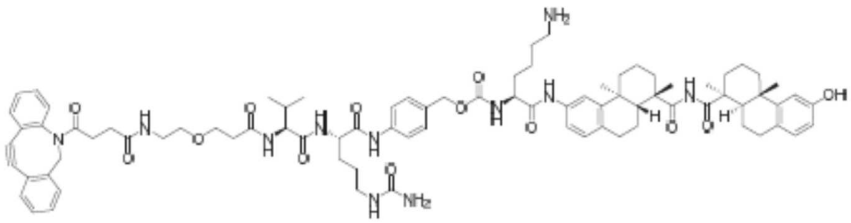
OH

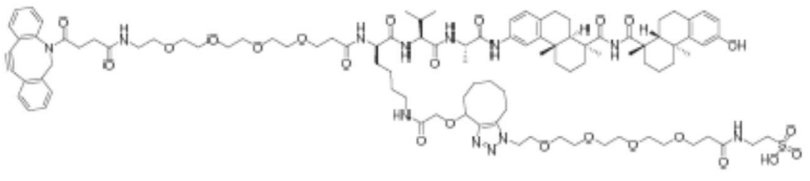
S



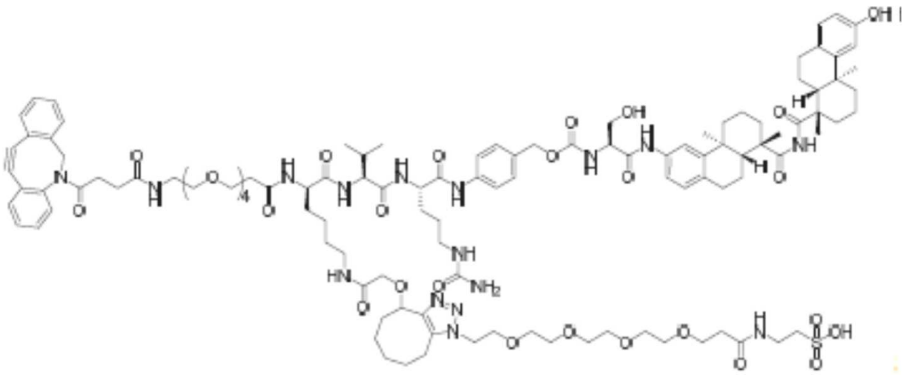




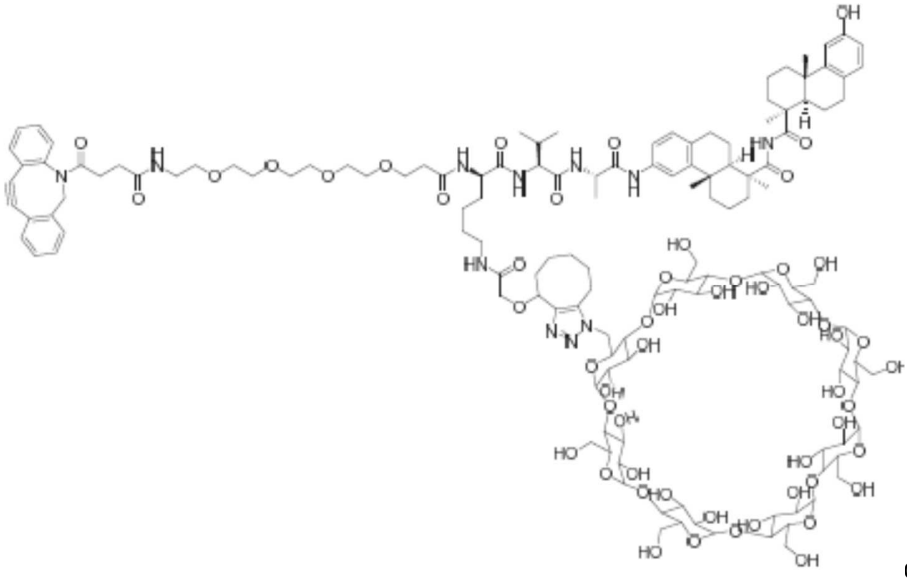




S



y

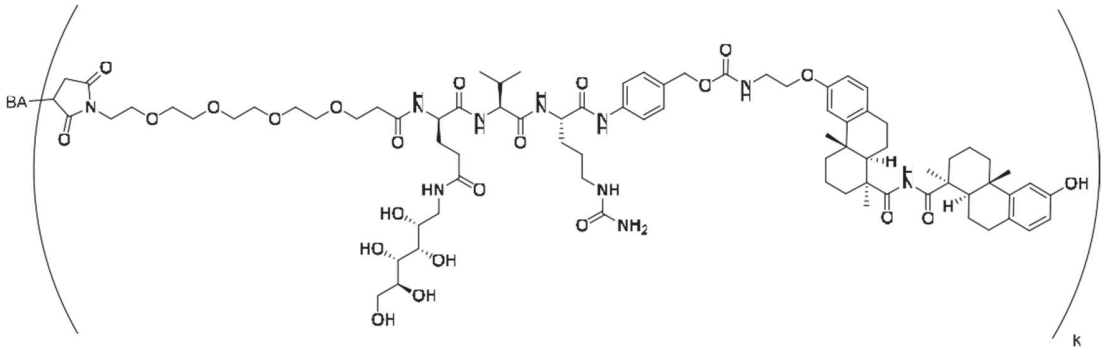


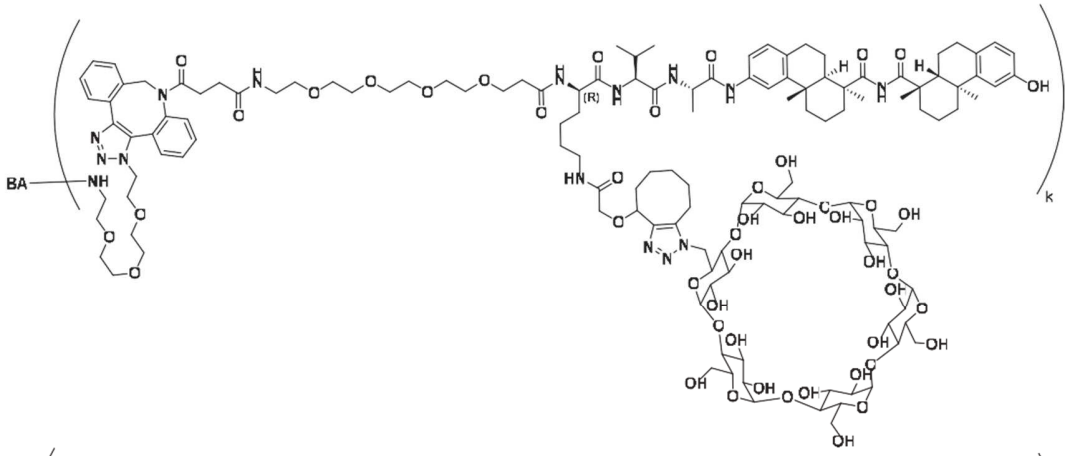
o

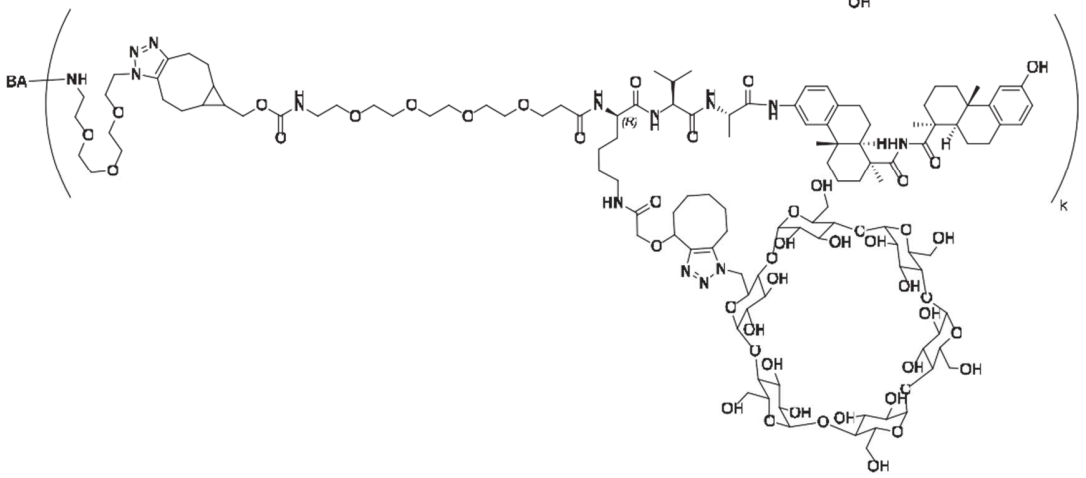
un regioisómero, forma estereoisomérica, o sal farmacéuticamente aceptable de este; en donde **k** es un número entero de uno a cuatro.

49. El compuesto de la reivindicación 28**,** seleccionado de entre el grupo compuesto por

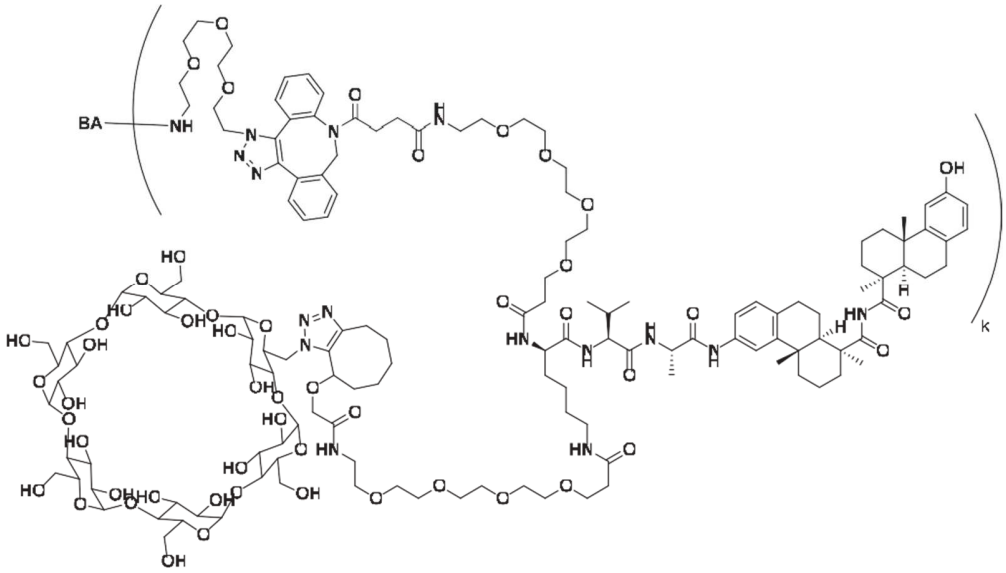
s

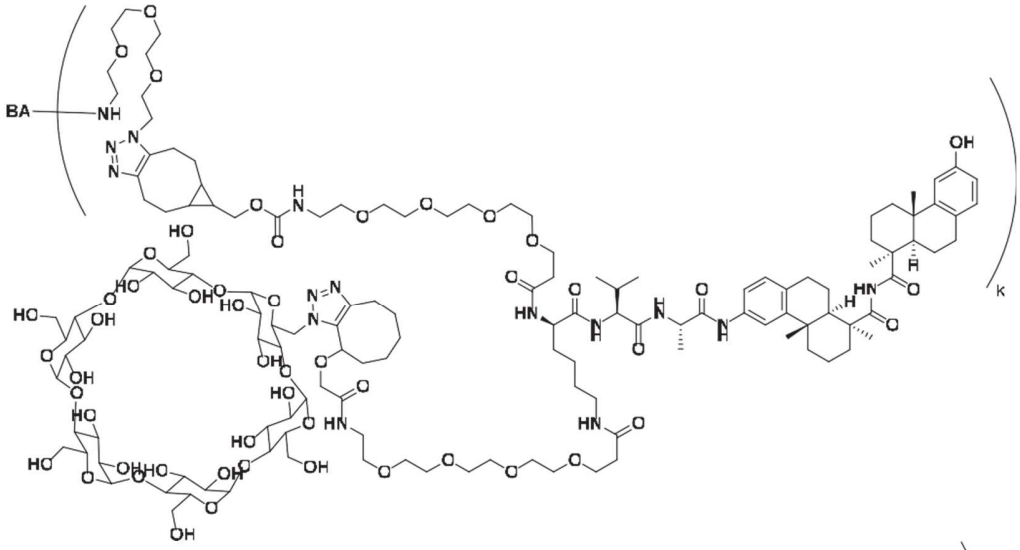


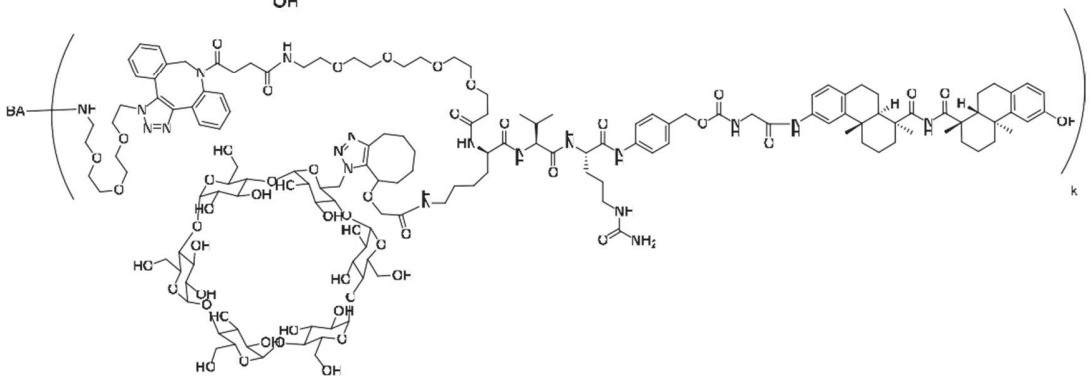




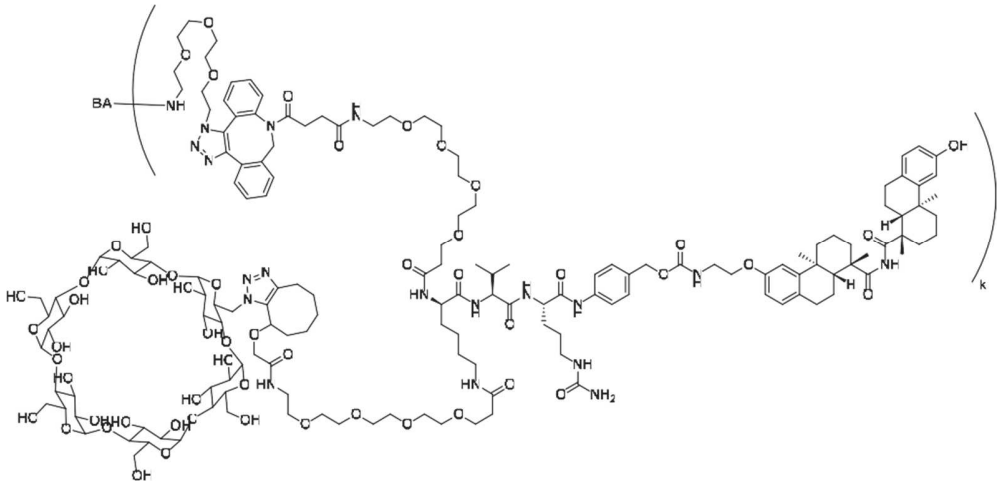
S

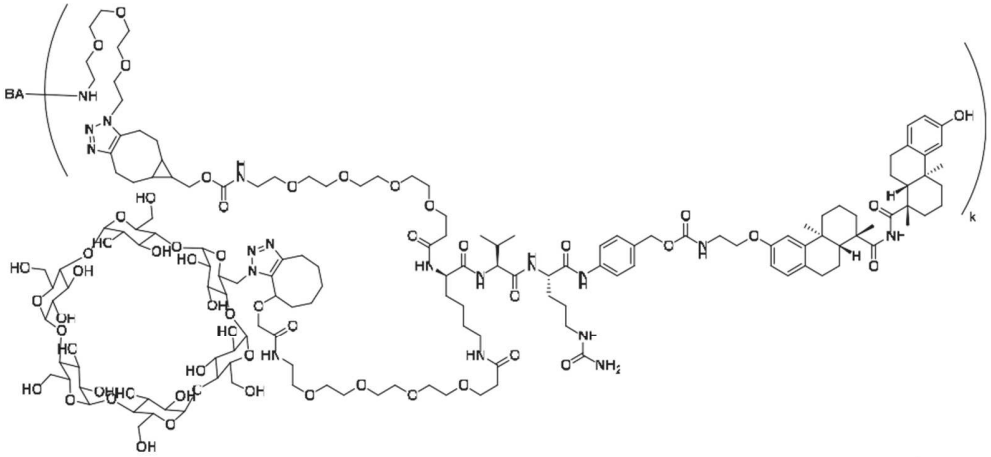


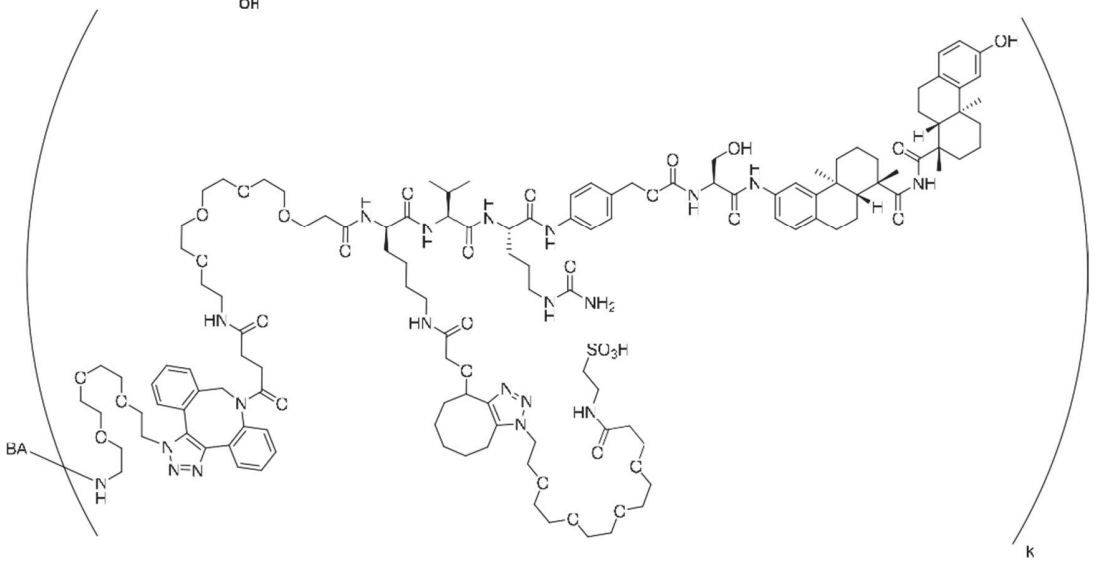




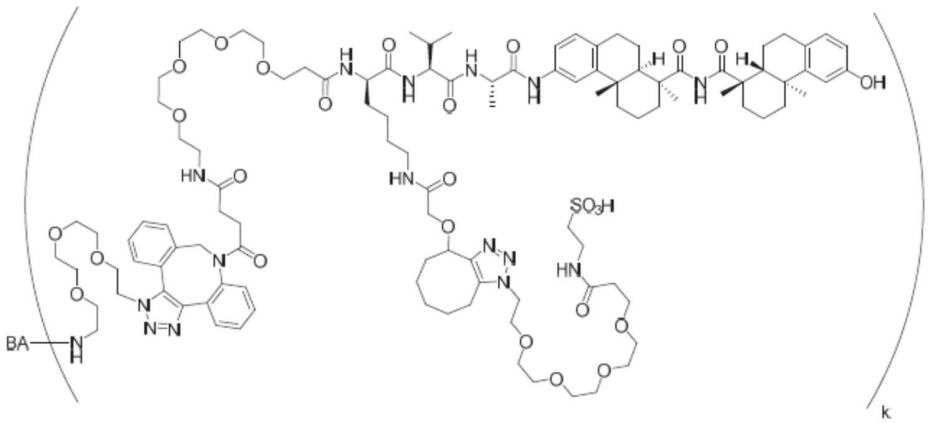
S

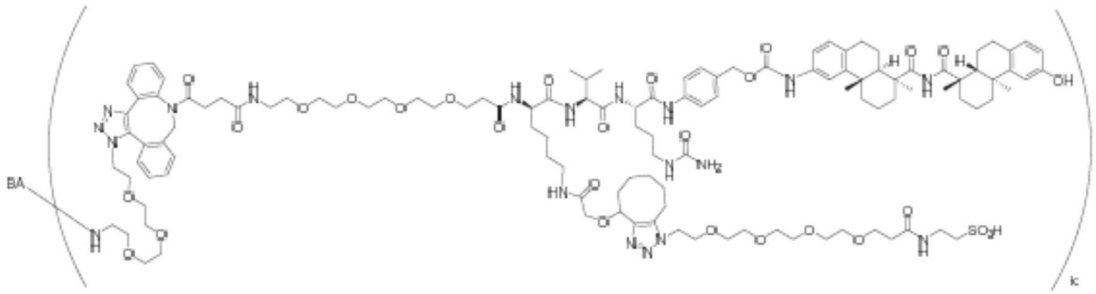


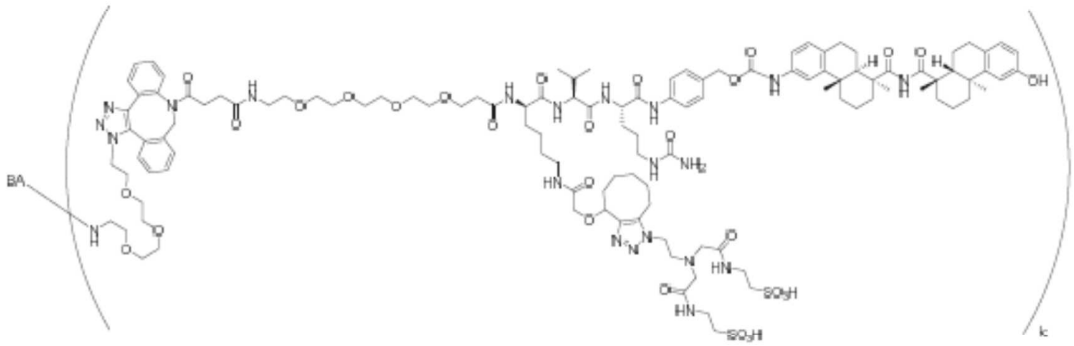


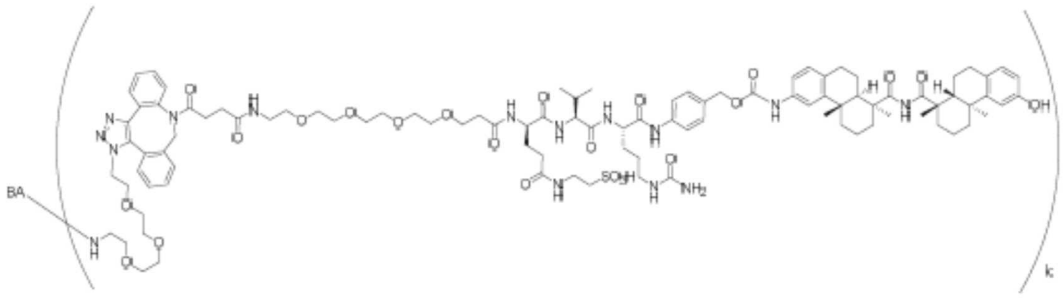


S

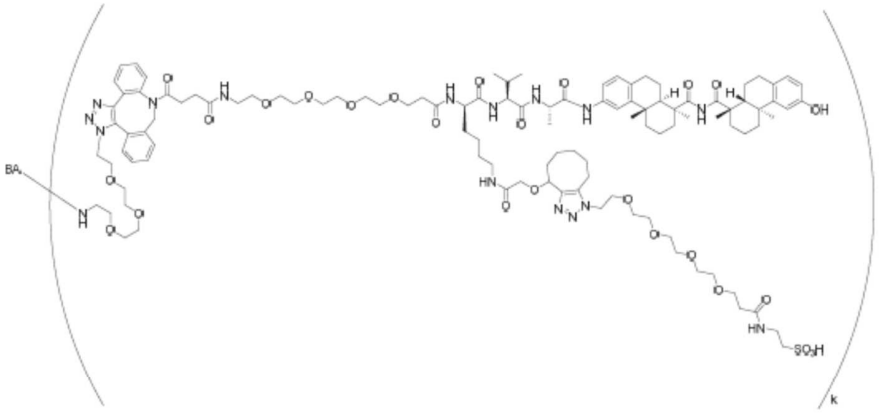

BA
HN
O
N
N=N
HN
SO3H
OH
k

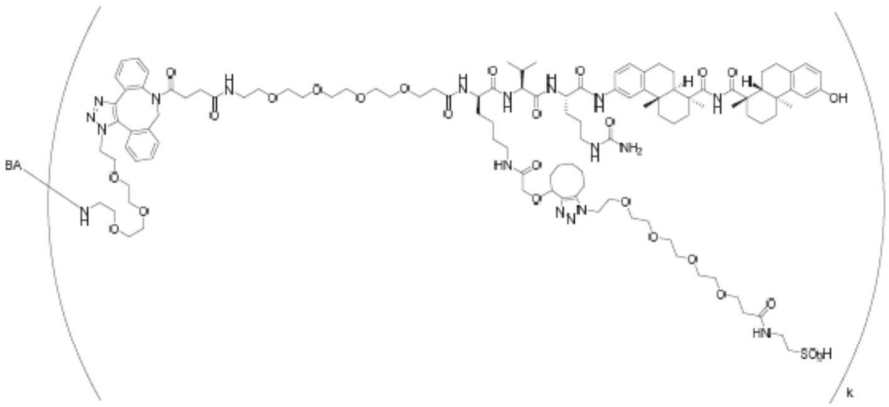

BA
NH2
SO3H
OH
k

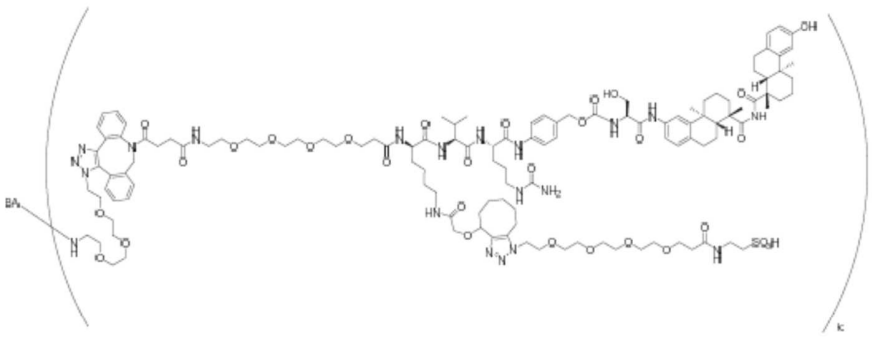

BA
NH2
SO3H
OH
k

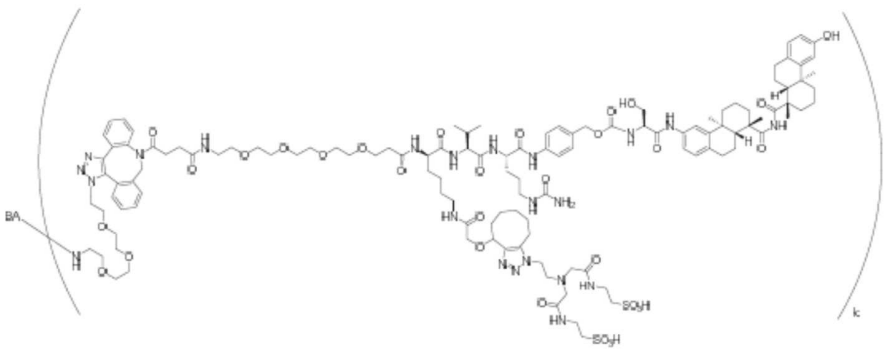

BA
SO3H
NH2
OH
k

S

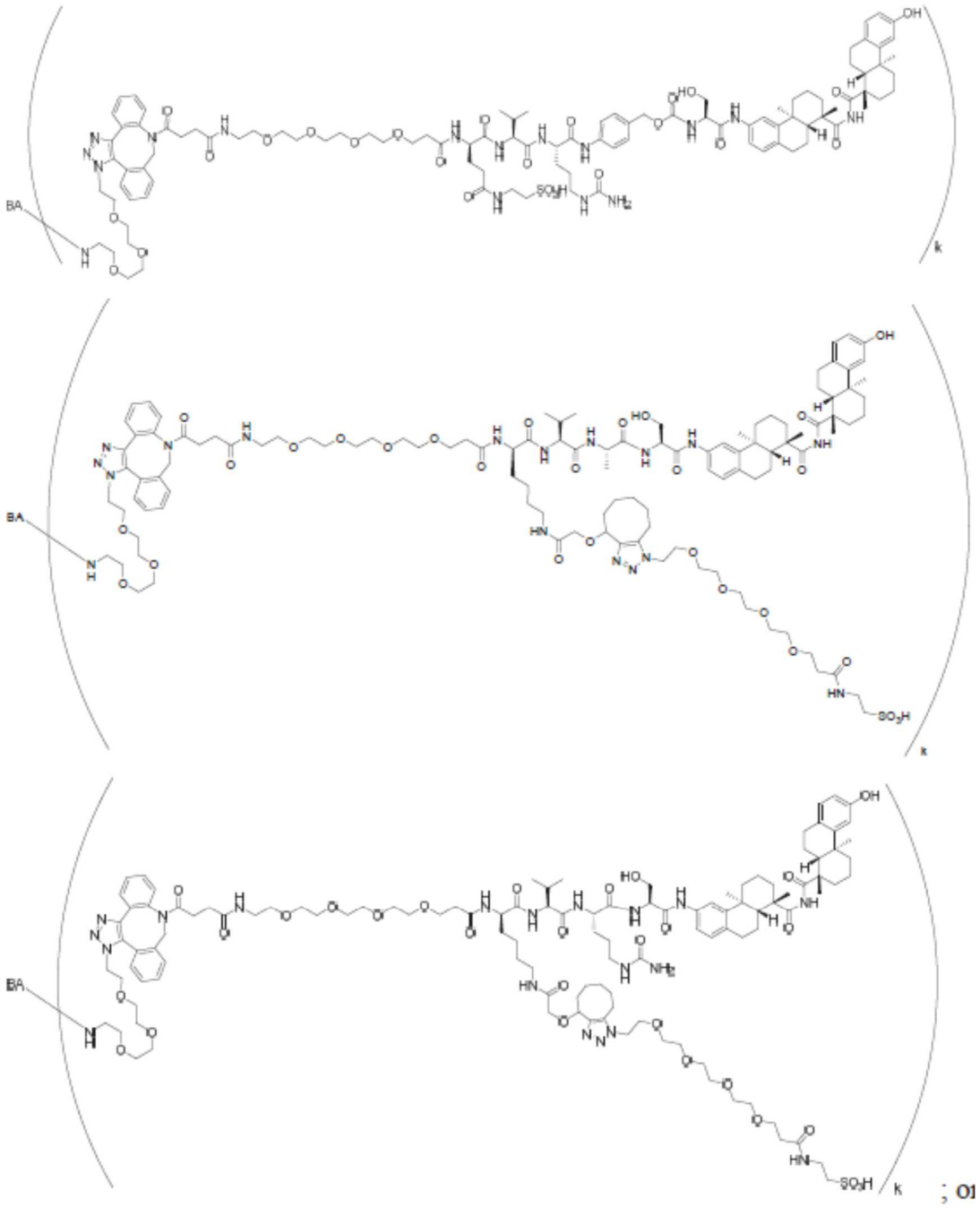








S



un regioisómero, forma estereoisomérica, o sal farmacéuticamente aceptable de este; en donde **k** es un número entero de uno a cuatro.

50. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 39-49, que se caracteriza porque **k** es dos.

S

51. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 47-49, que se caracteriza porque **k** es cuatro.

52. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 47-49, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que tiene especificidad de unión por un antígeno seleccionado de entre el grupo compuesto por receptores barredores de clases A-J.

53. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 47-49, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que tiene especificidad de unión por un antígeno seleccionado de entre el grupo compuesto por MSR1, MARCO, SRCL, SCARA5, COLEC12, CD36, LIMPII, SRBI, SRBII, CD68, LAMP, LOX-1, Dectin-1, SREC-I, SREC-II, MEGF, CXCL16, Fasciclina, FEEL-1, FEEL-2, CD163, RAGE, miembros de la superfamilia de lectinas tipo C, DEC205, CD206, Dectin-2, Mincle, DC-SIGN, DNGR-1, VSIG4, CSF1R, ASGPR y APLP-2.

54. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 47-49, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que tiene especificidad de unión por HeR2 o PRLR.

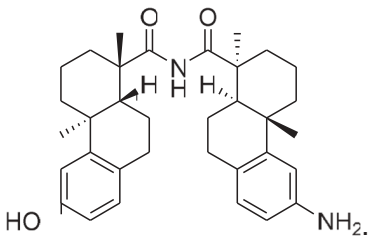
55. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 47-49, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este que tiene especificidad de unión por MSR1.

56. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 47-49, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este unido a través de uno o más residuos de N295.

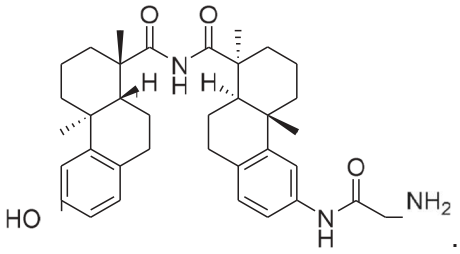
57. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 47-49, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este unido a través de uno o más residuos de Q295 y N297Q.

s

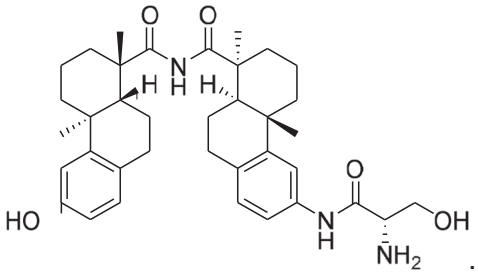
58. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura



59. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura

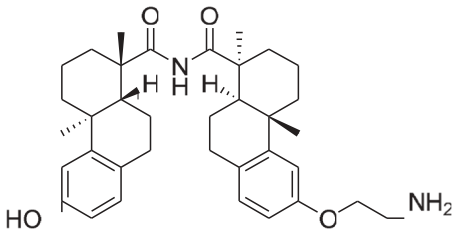


60. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura

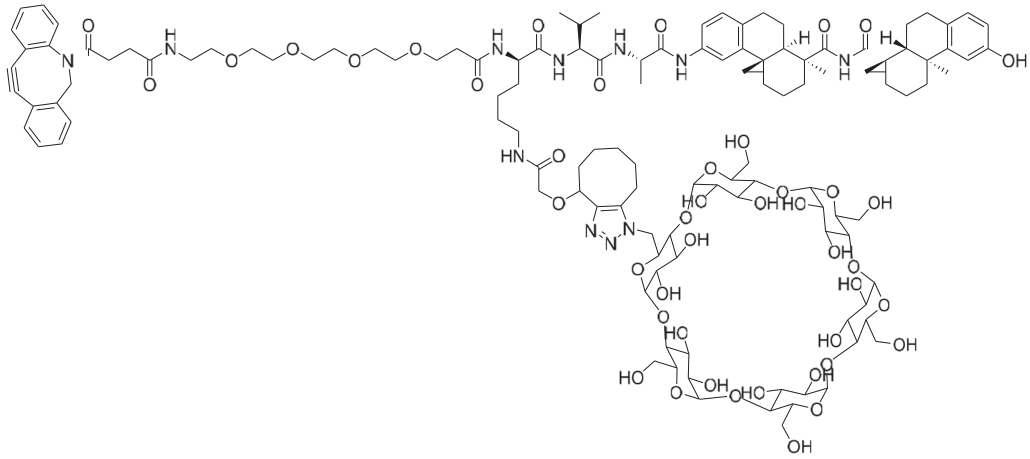


61. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura

s

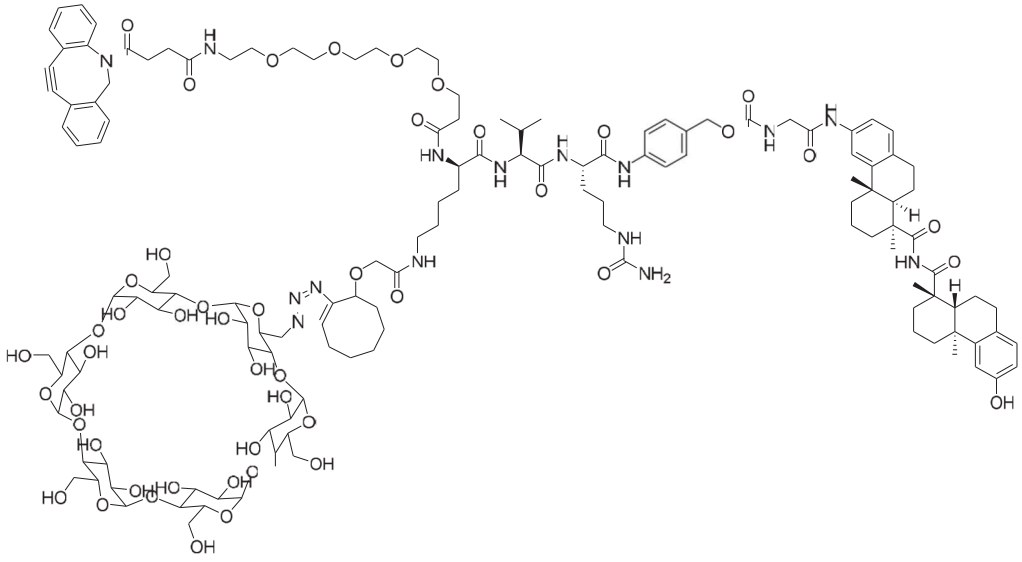


62. El enlazador-carga útil de la reivindicación 26, que tiene la estructura



.

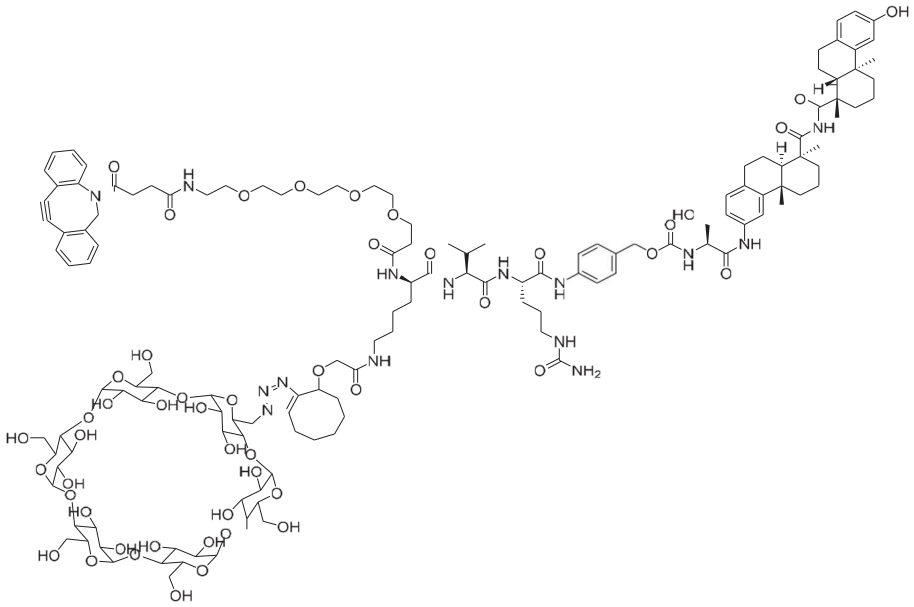
63. El enlazador-carga útil de la reivindicación 26, que tiene la estructura



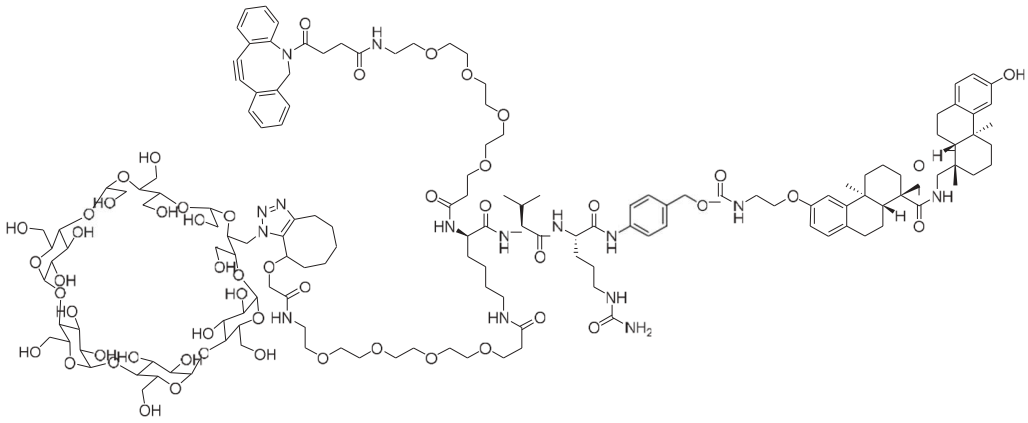
.

S

64. El enlazador-carga útil de la reivindicación 26, que tiene la estructura



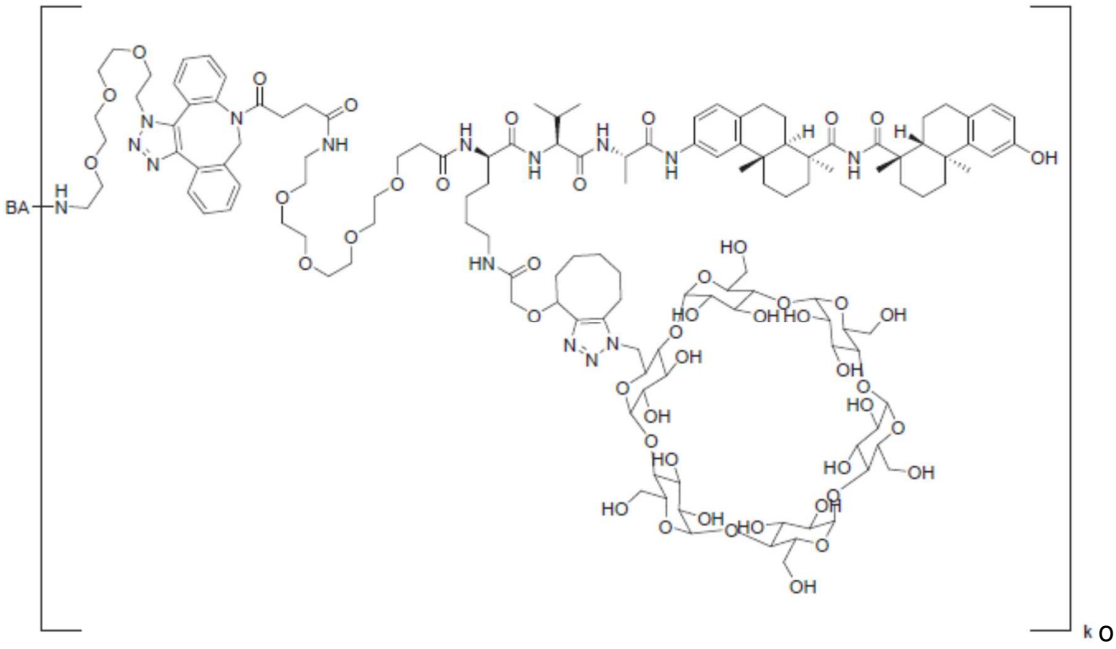
65. El enlazador-carga útil de la reivindicación 26, que tiene la estructura

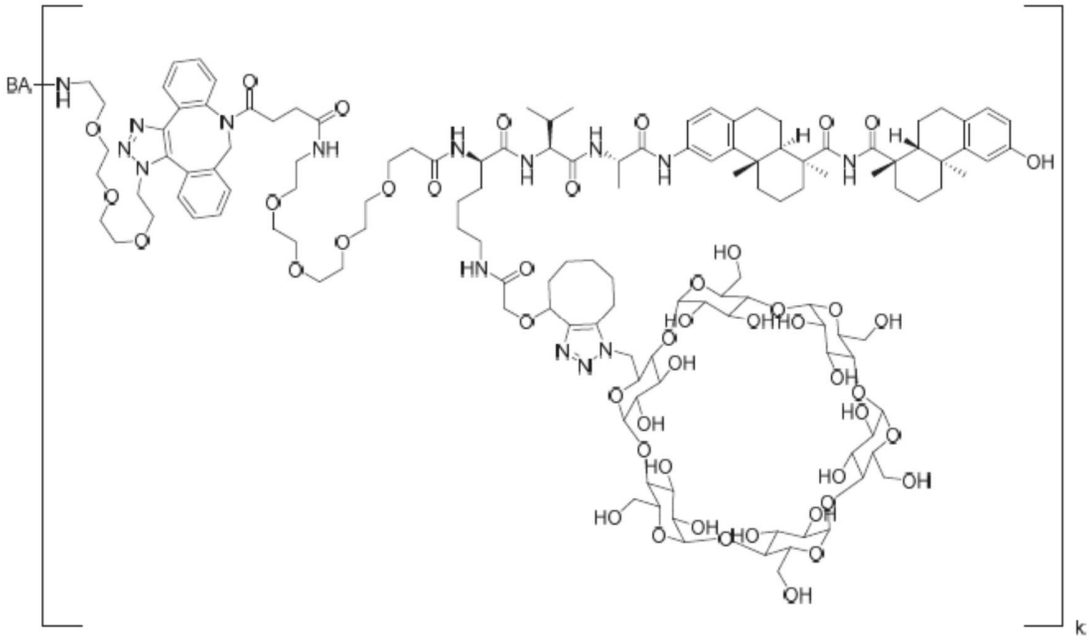


.

S

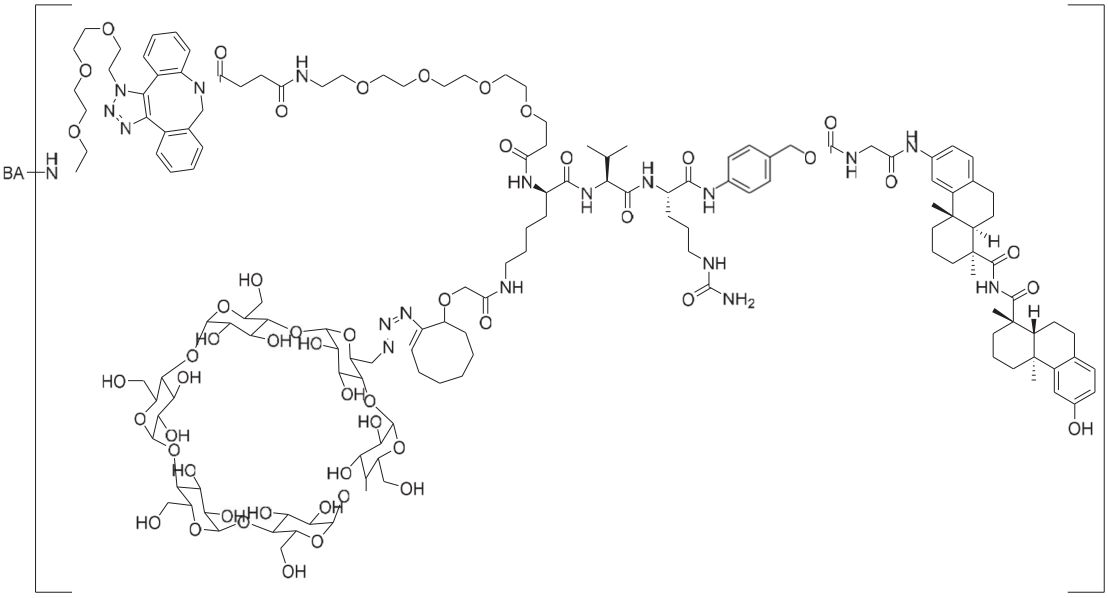
66. El compuesto de la reivindicación 29, que tiene la estructura





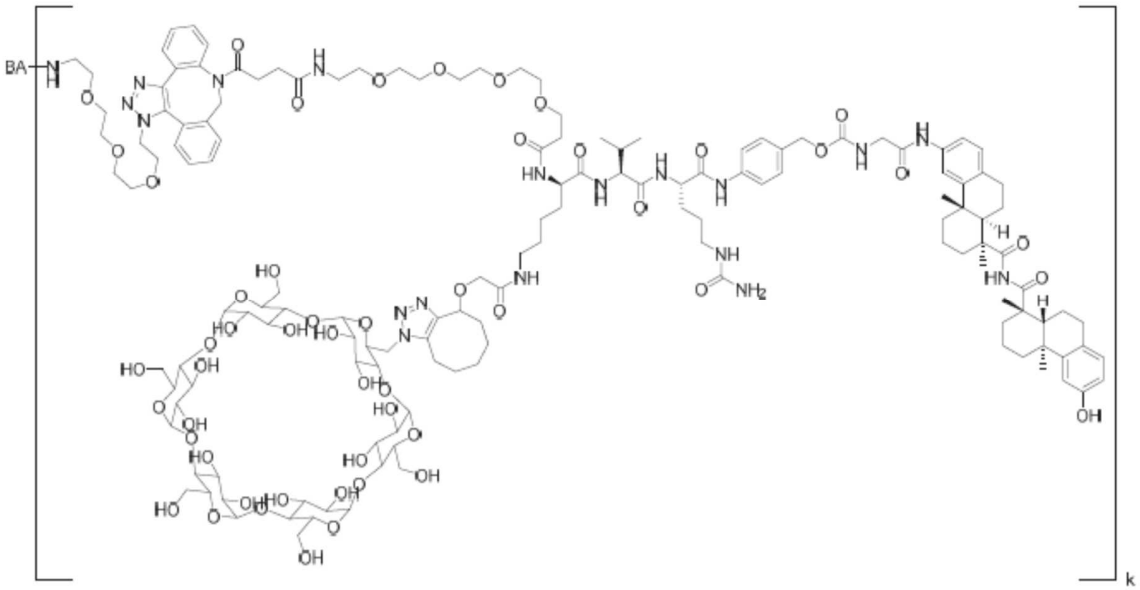
que se caracteriza porque **BA** es un agente aglutinante; y **k** es un número entero de uno a treinta.

67. El compuesto de la reivindicación 29, que tiene la estructura



k

o

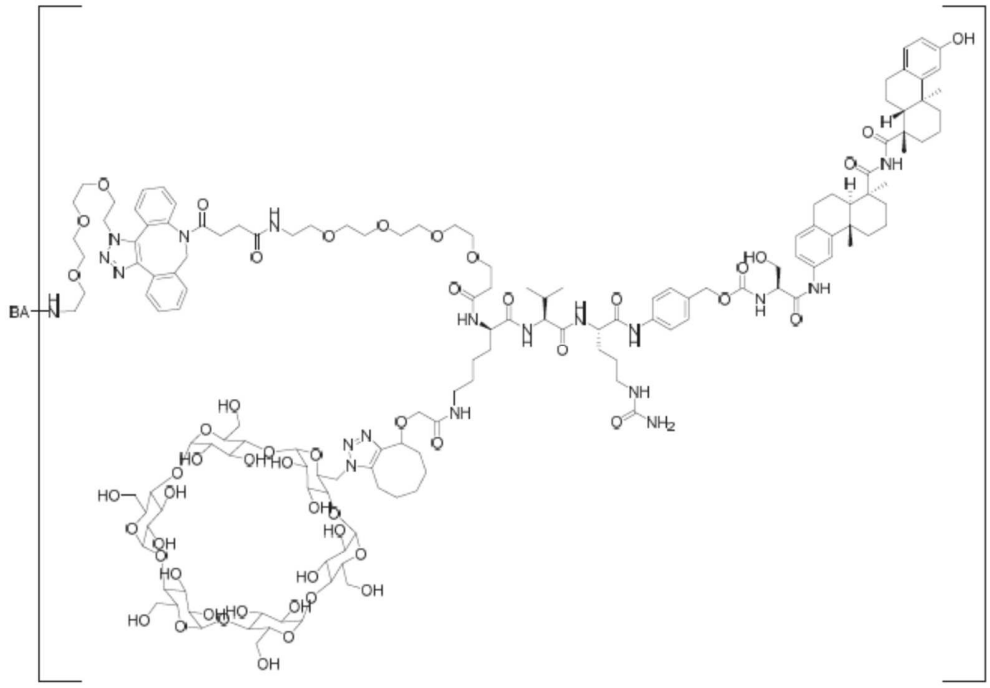


k

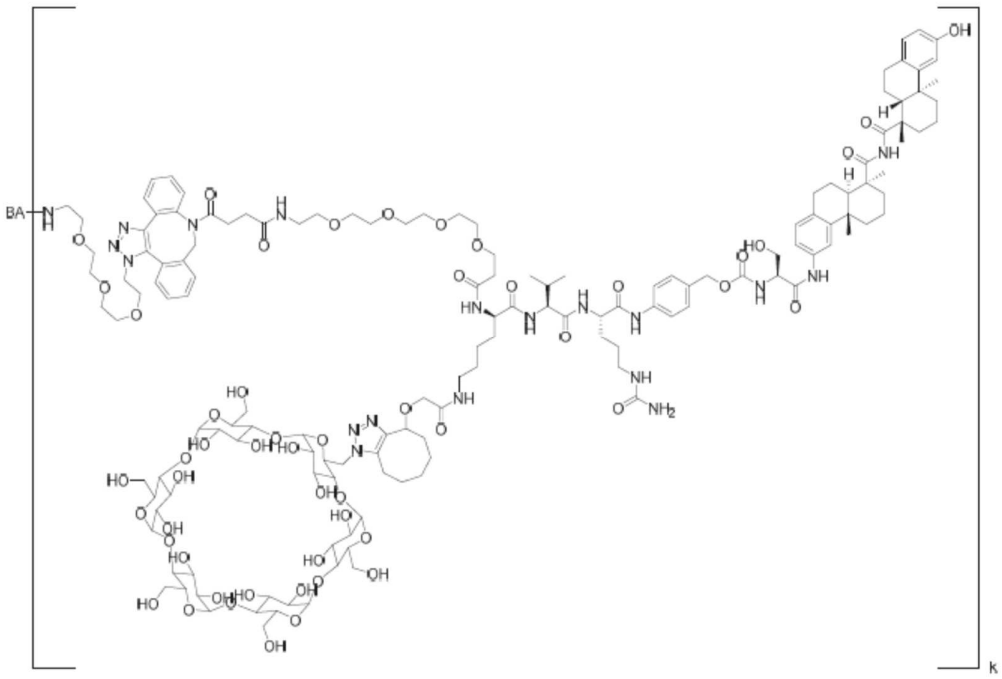
que se caracteriza porque **BA** es un agente aglutinante; y **k** es un número entero de uno a treinta.

68. El compuesto de la reivindicación 28, que tiene la estructura

S



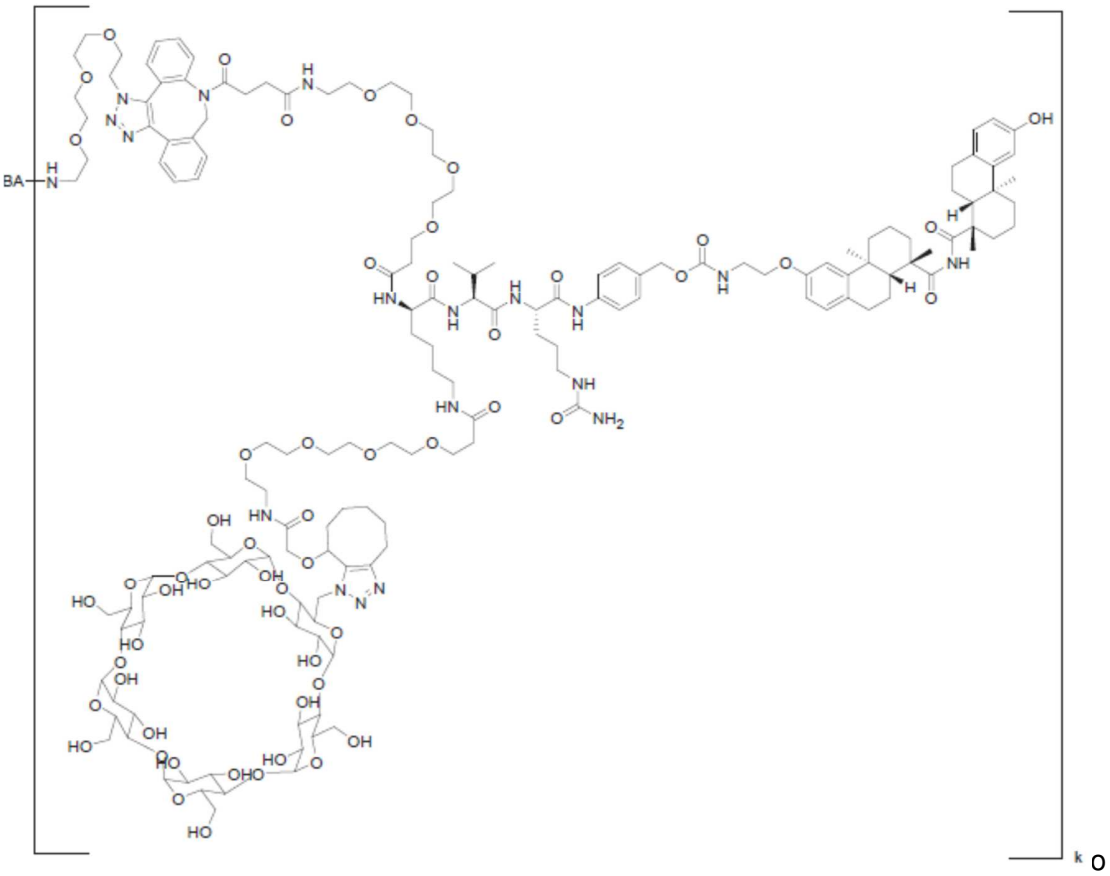
o

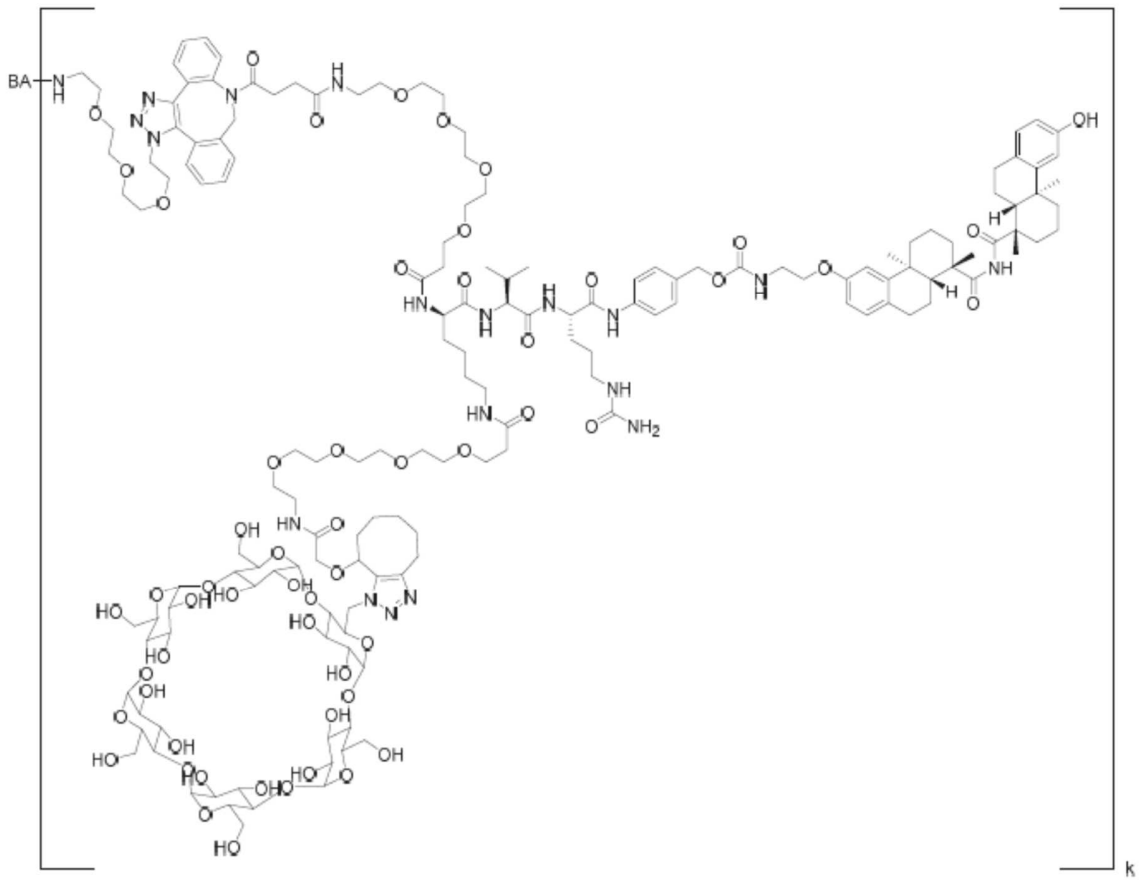


que se caracteriza porque **BA** es un agente aglutinante; y **k** es un número entero de uno a treinta.

s

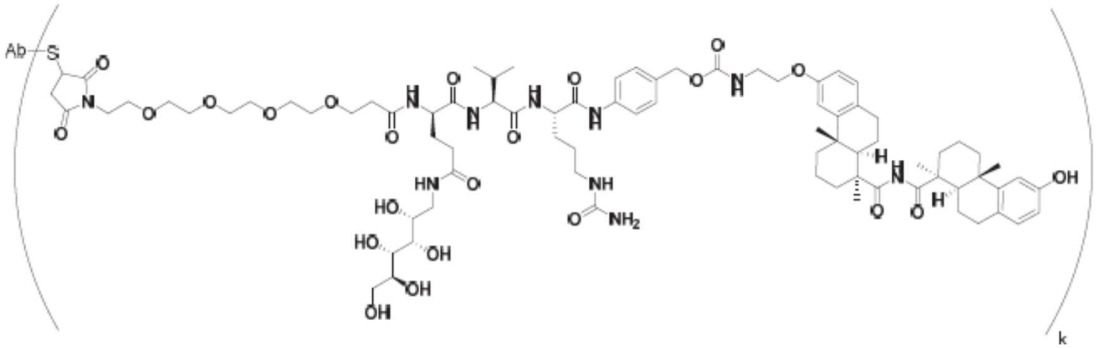
69. El compuesto de la reivindicación 28, que tiene la estructura





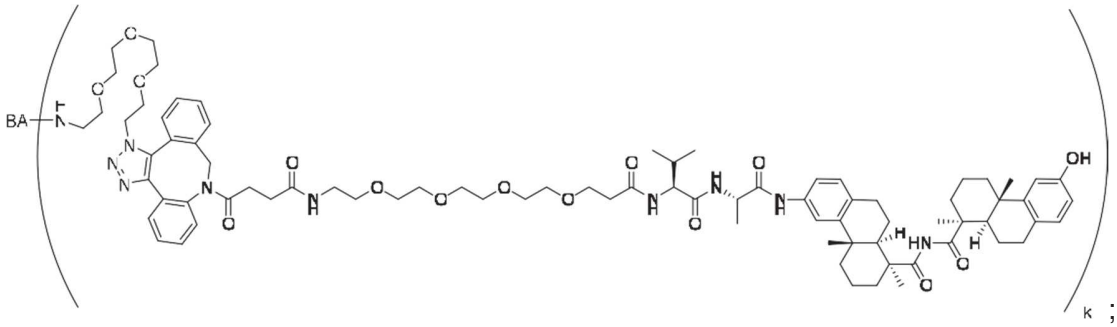
que se caracteriza porque BA es un agente aglutinante; y **k** es un número entero de uno a treinta.

70. El compuesto de la reivindicación 28, seleccionado de entre el grupo compuesto por

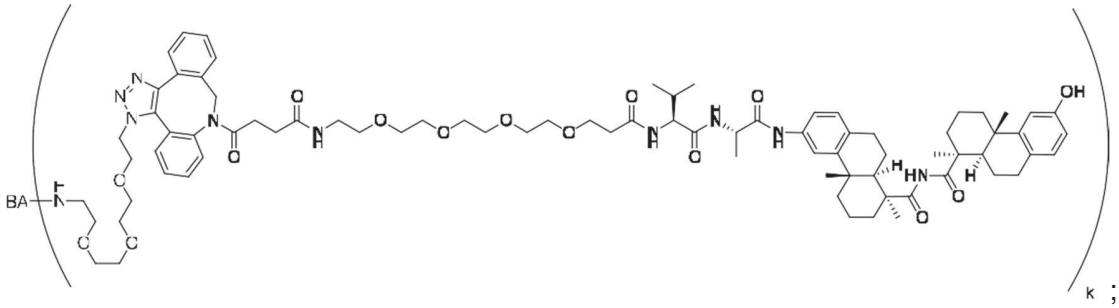


;

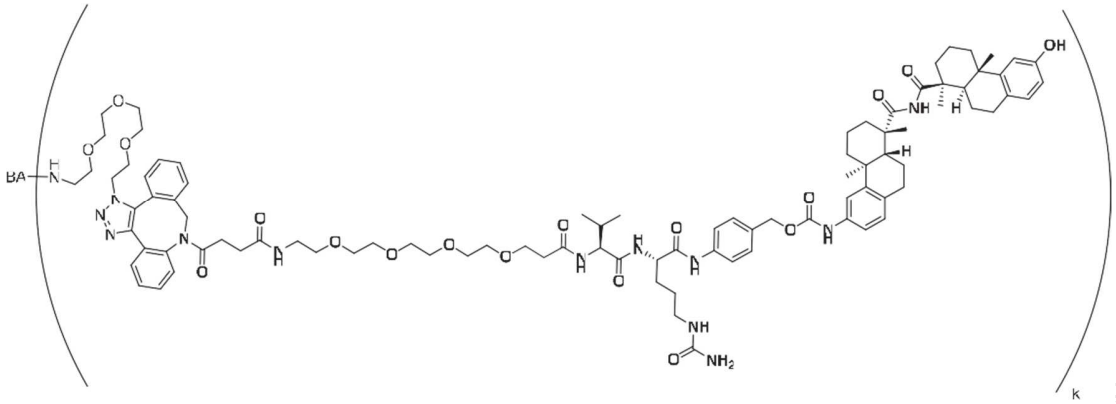
S



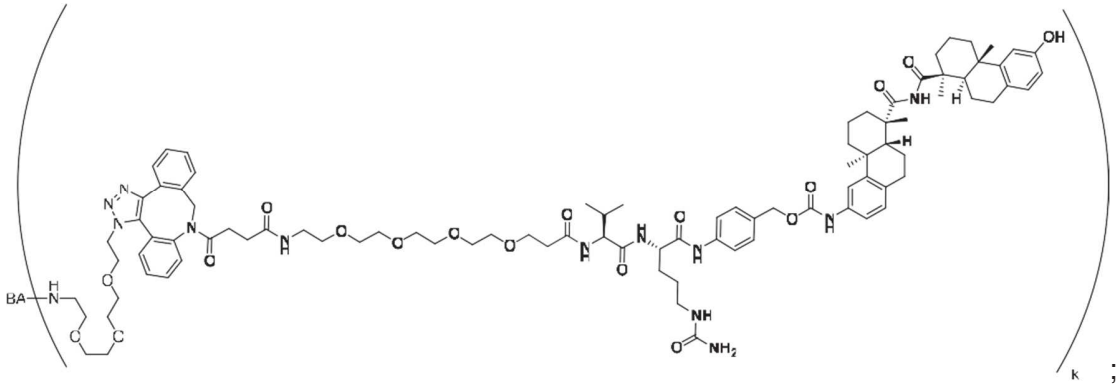
k ;



k ;

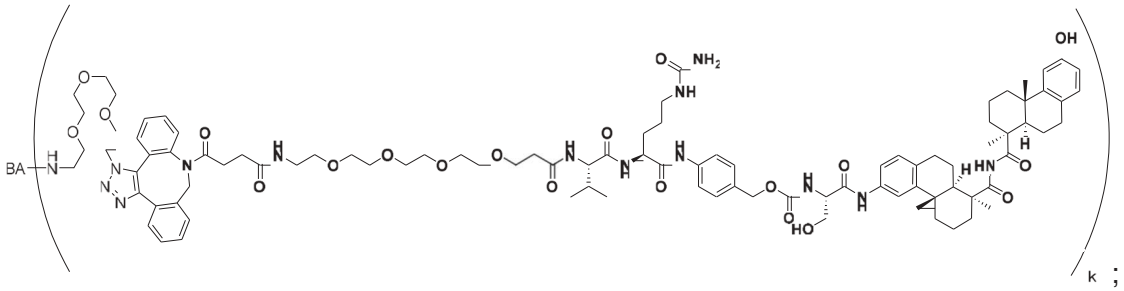


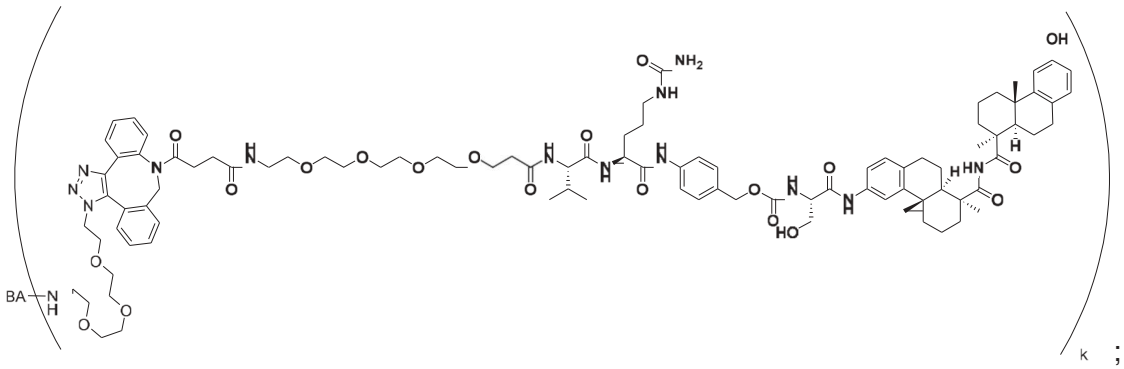
k ;

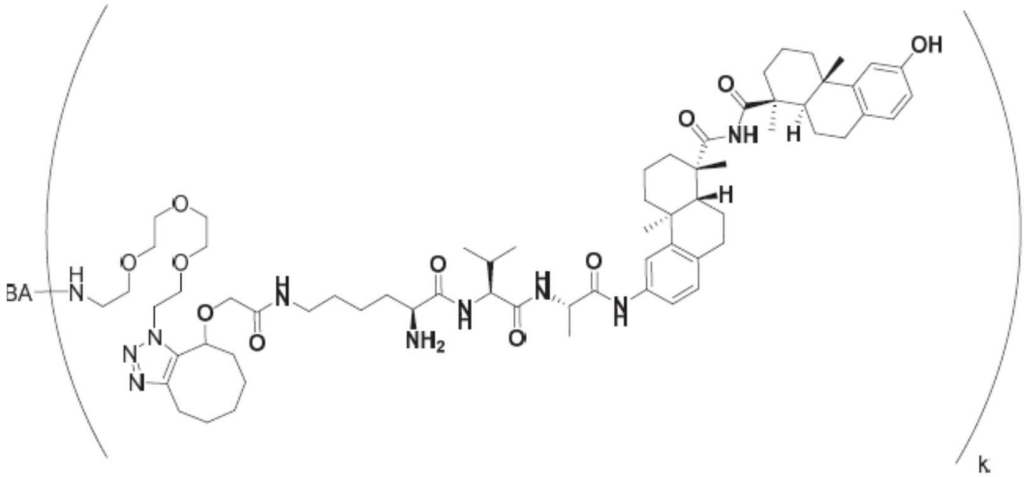


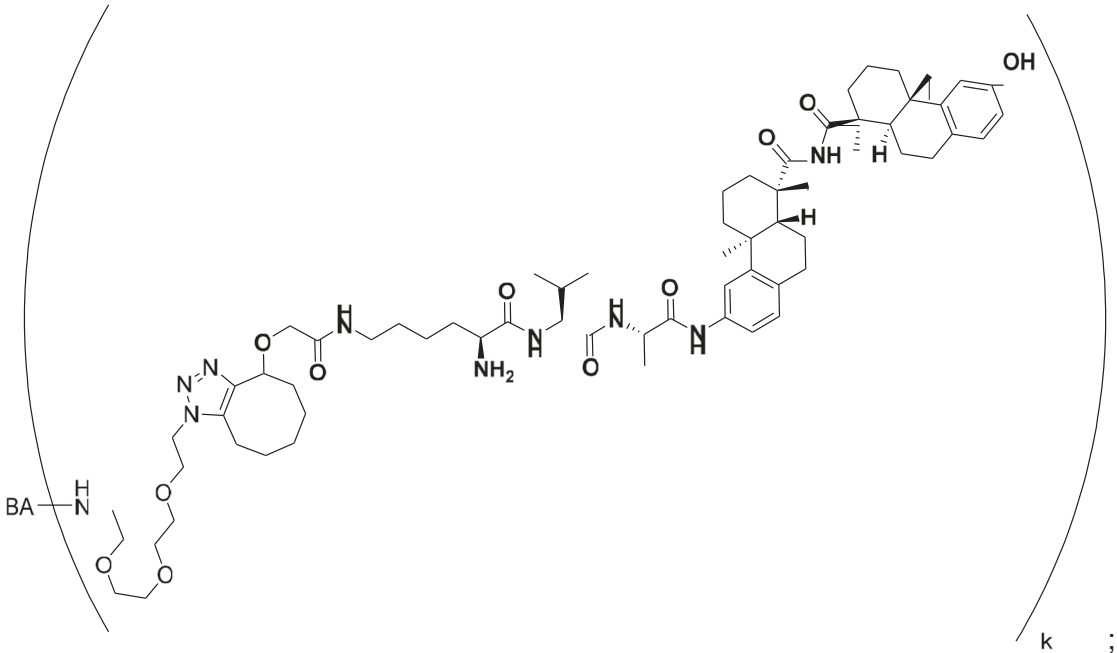
k ;

S

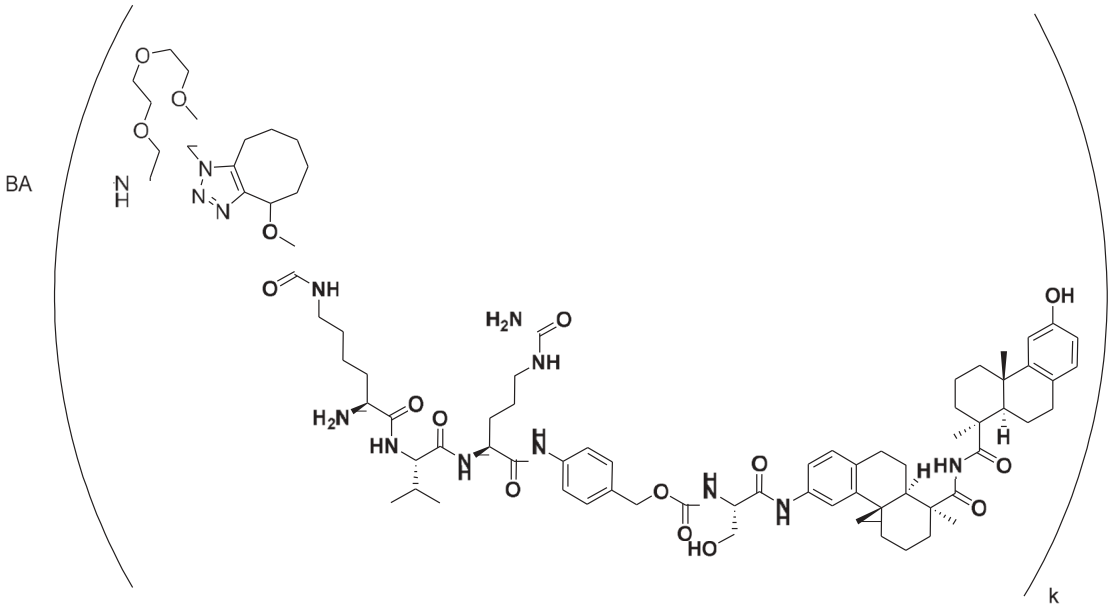






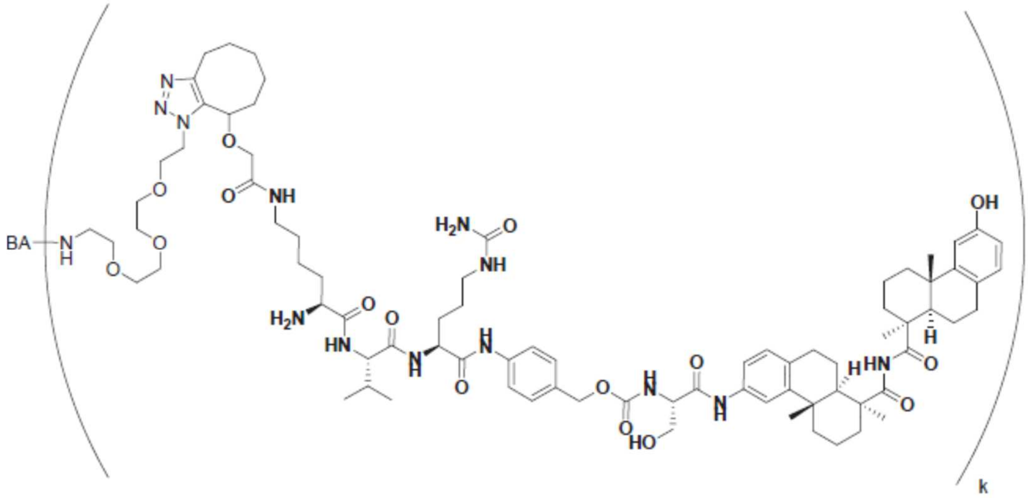


;

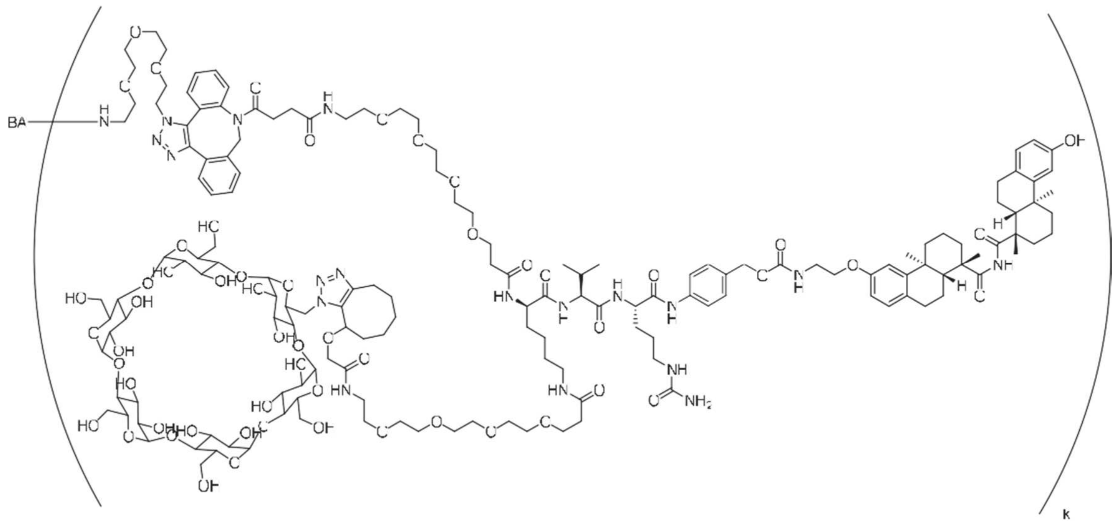


;

s

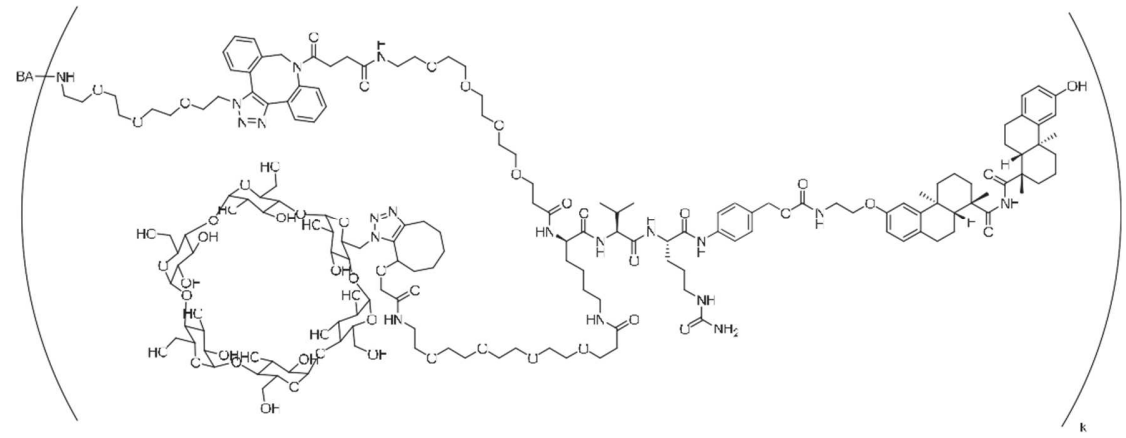


;

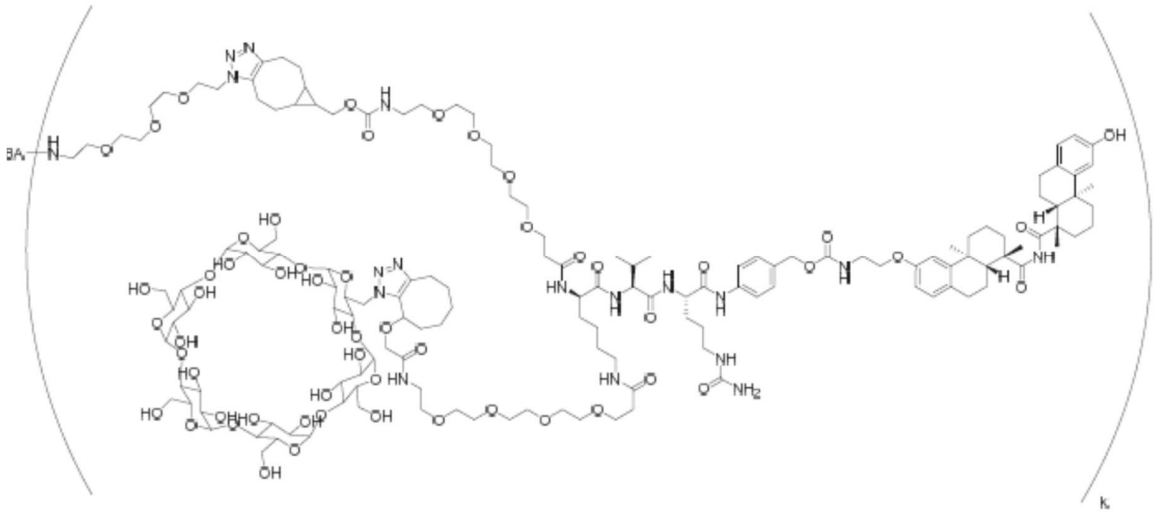


;

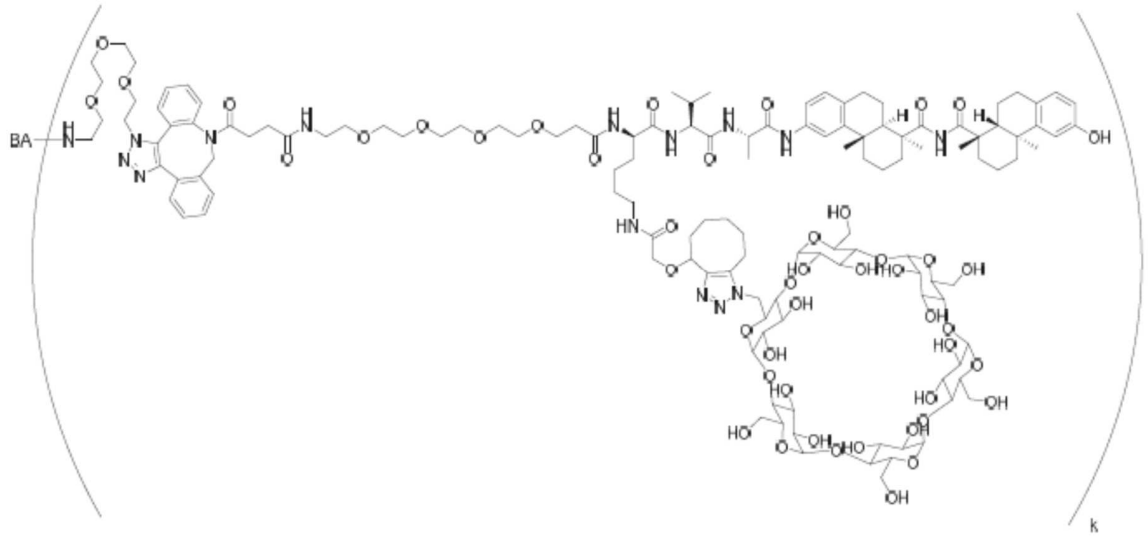
s

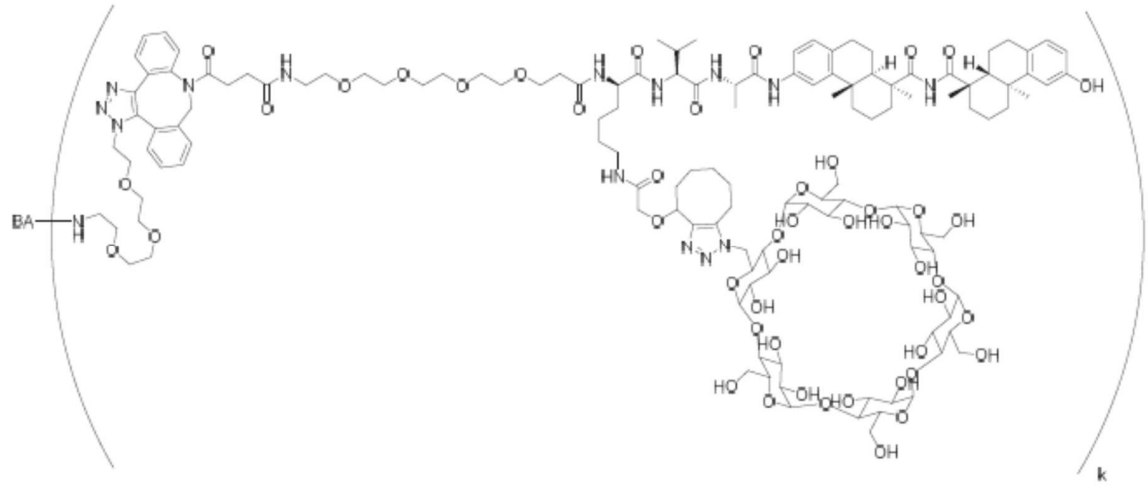


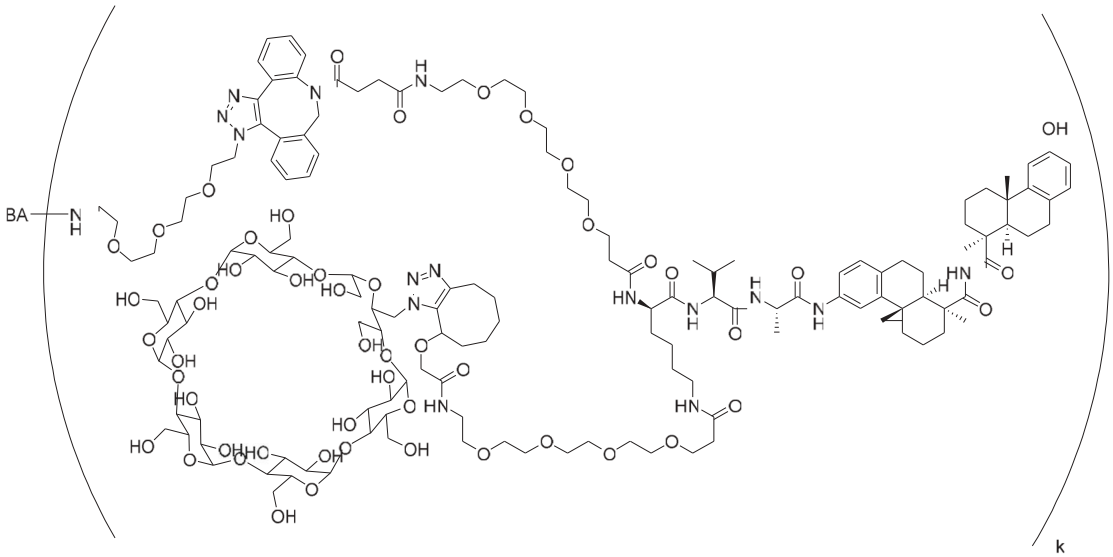
;



S

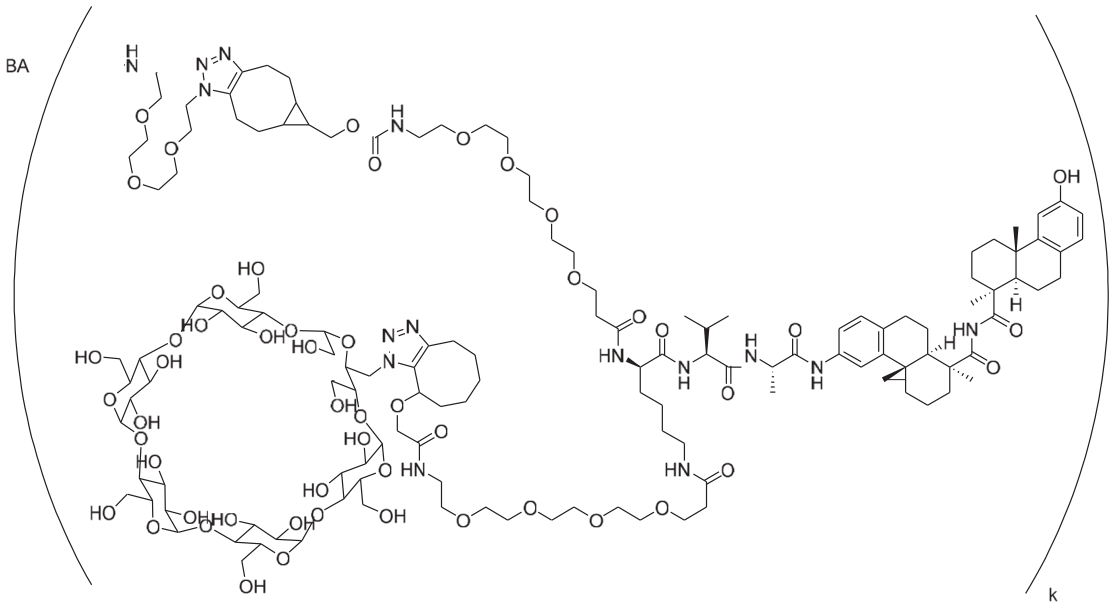




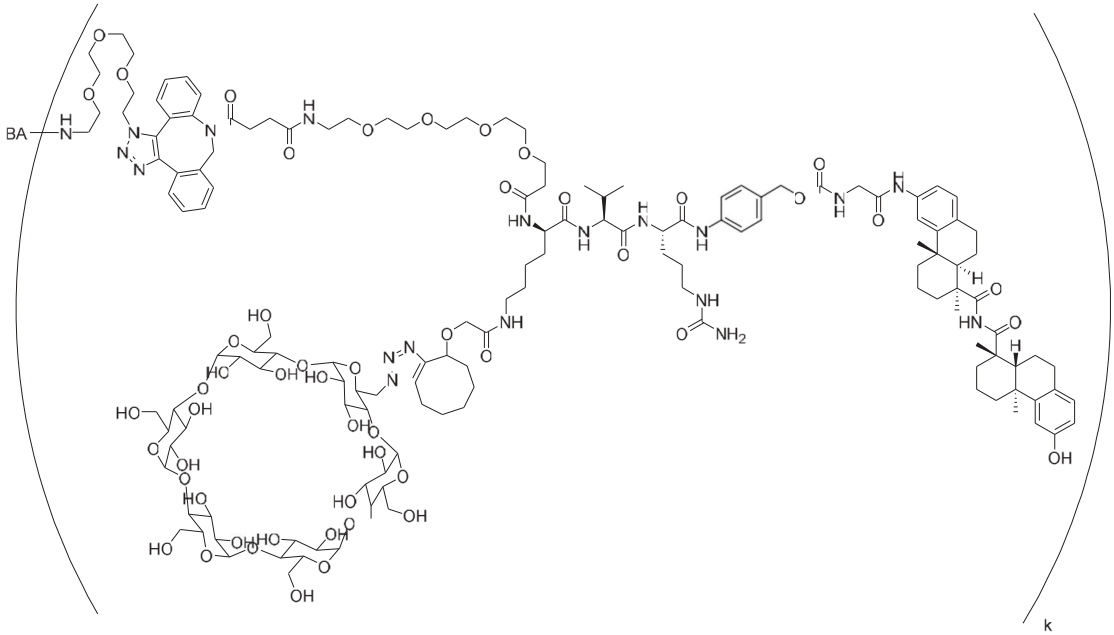


S

;

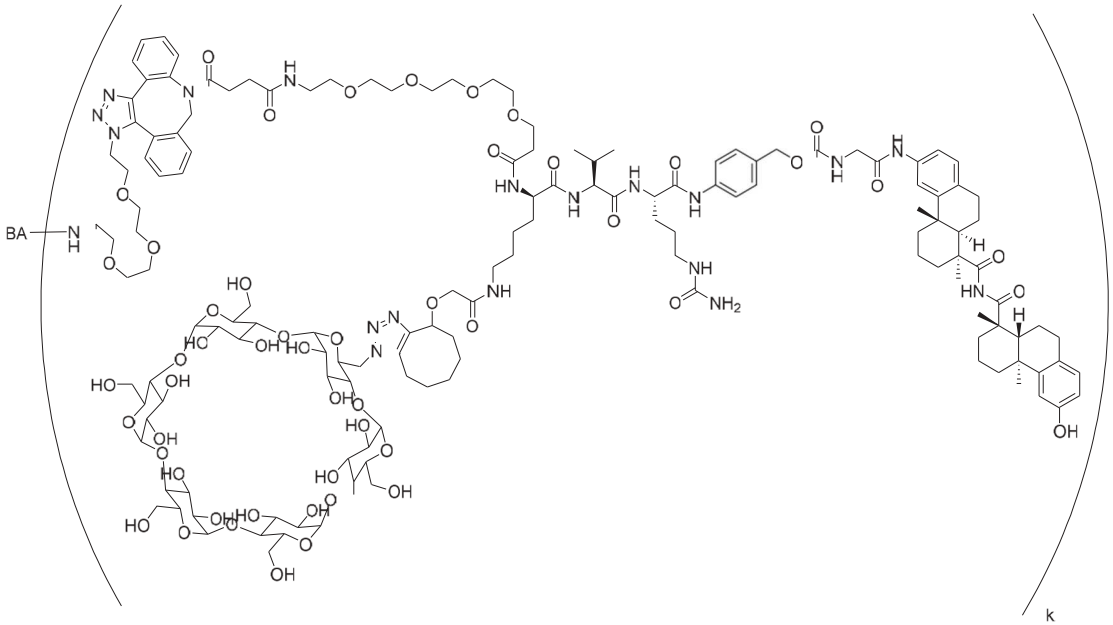


;

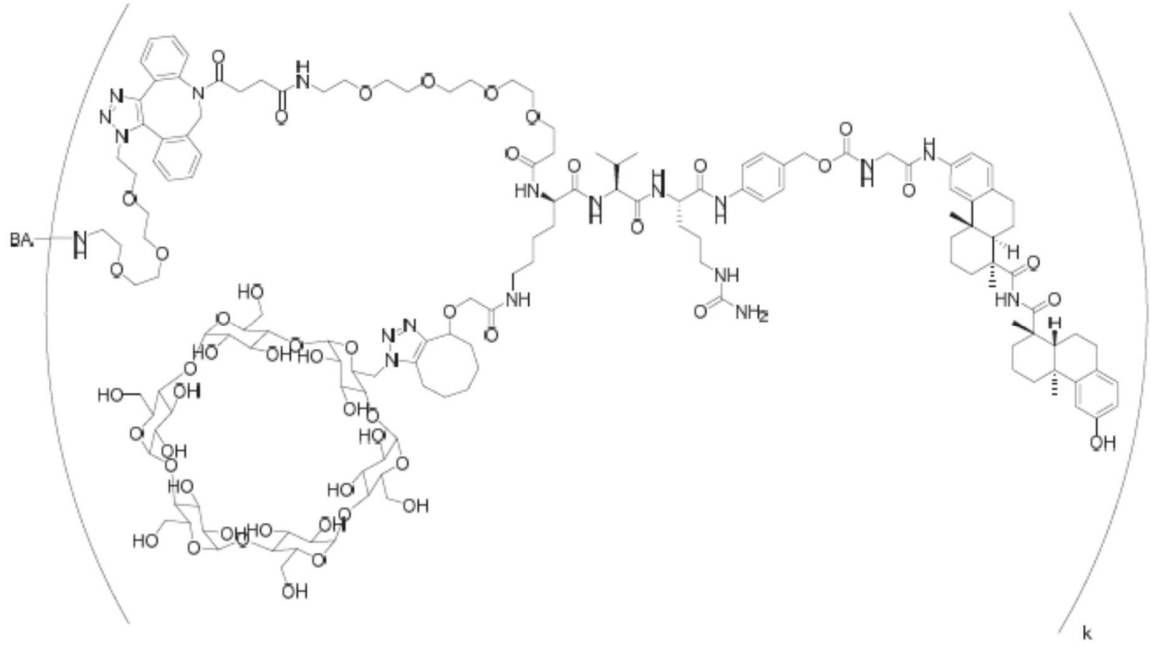


;

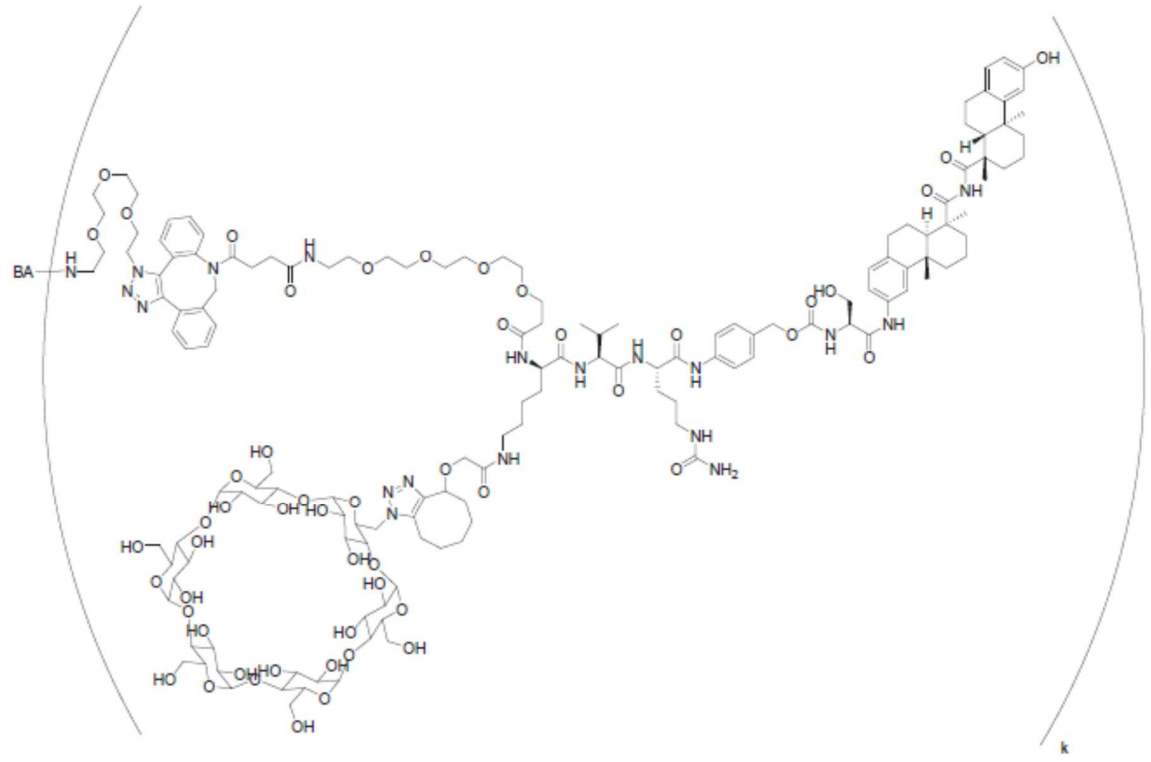
S

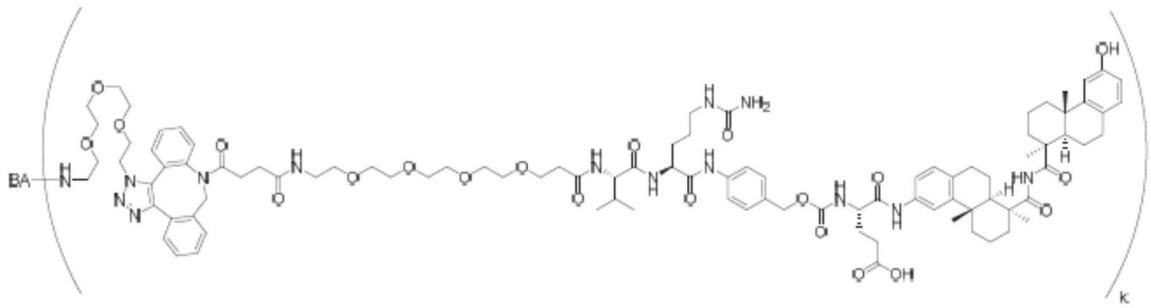


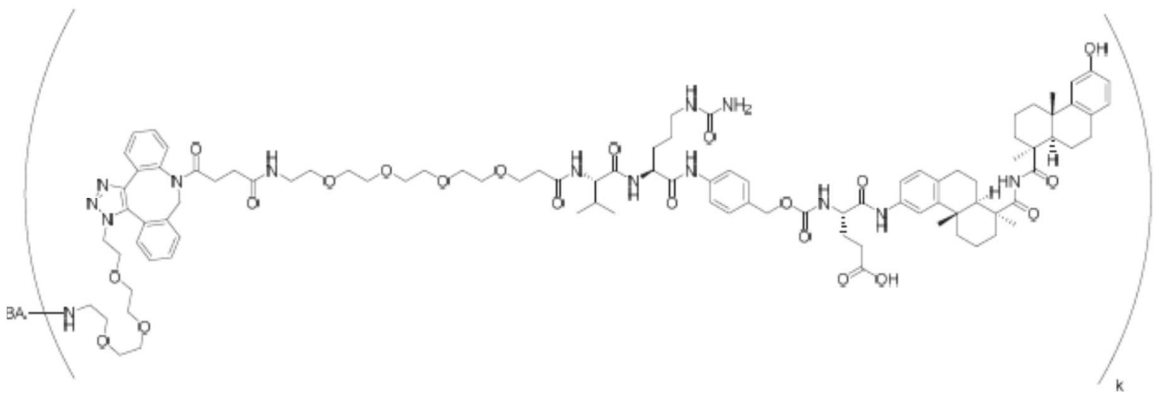
;



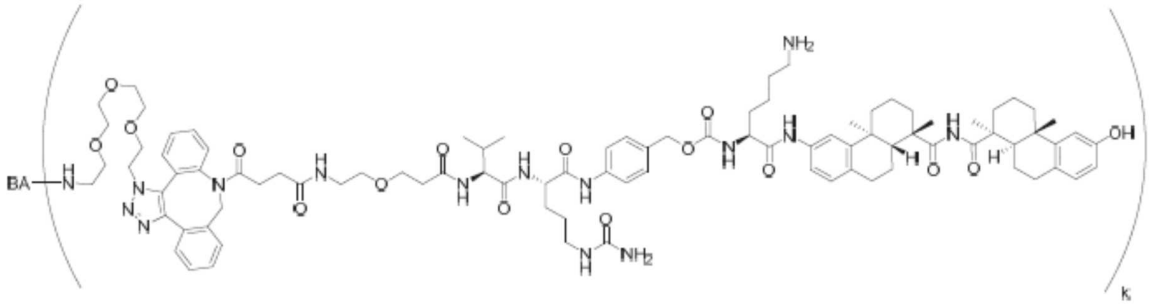
S

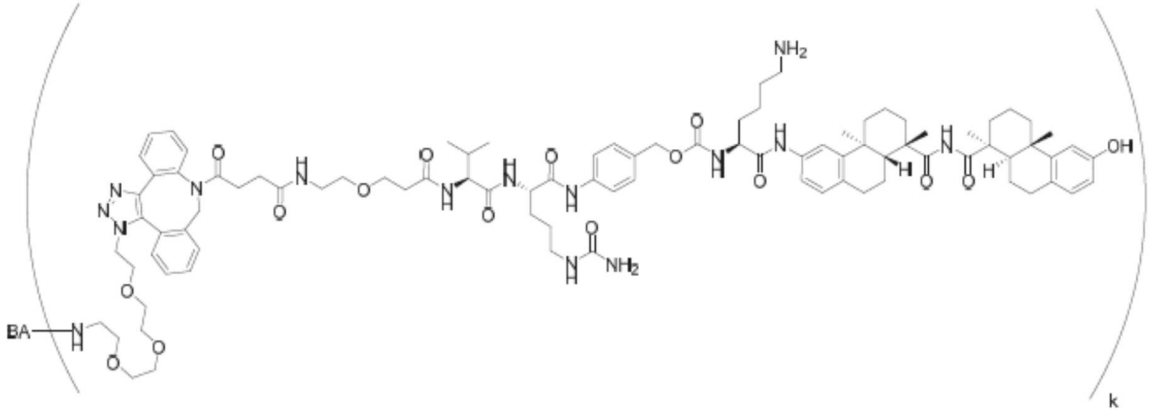


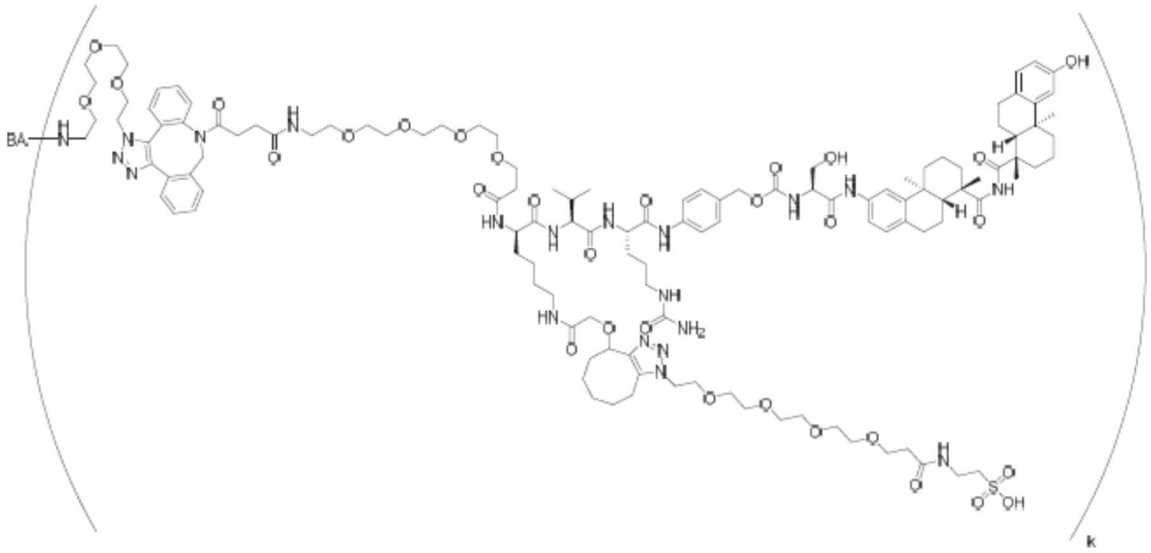




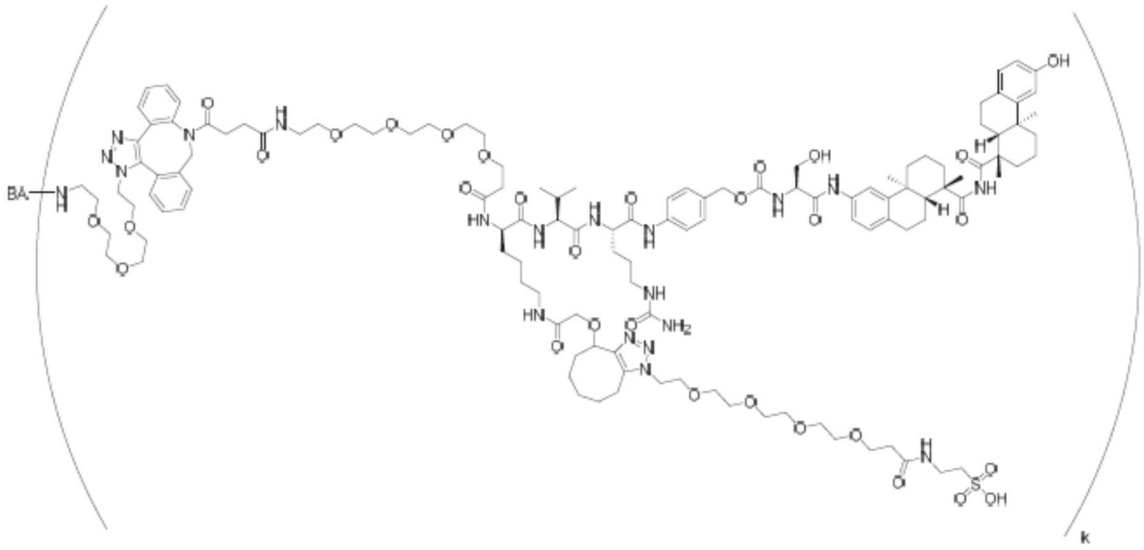
S

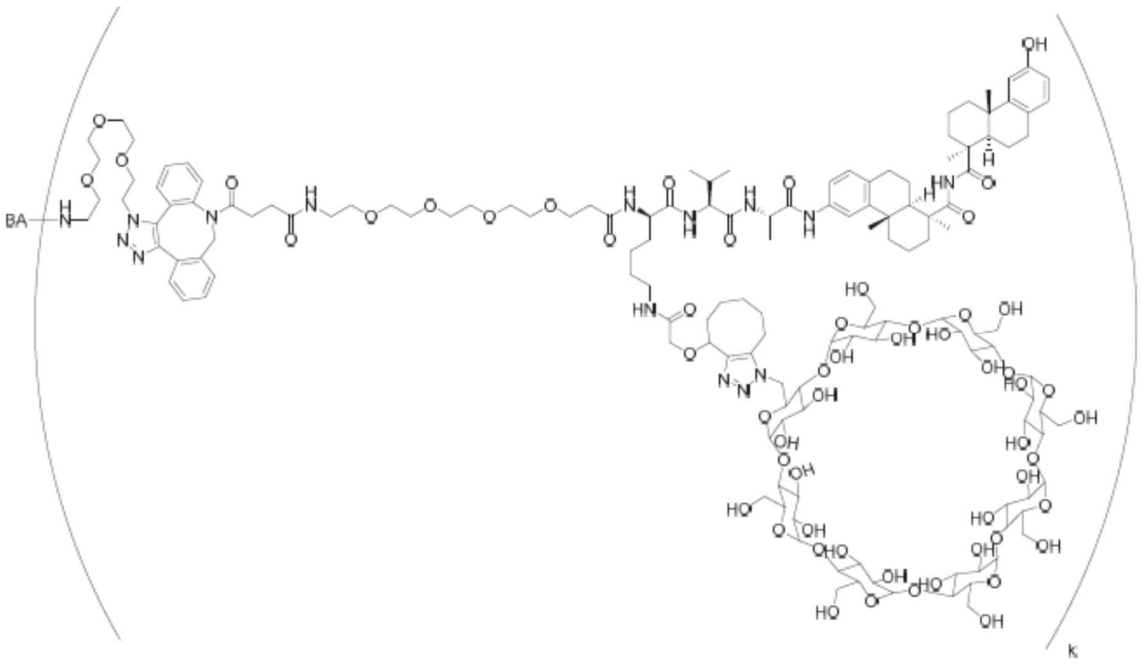




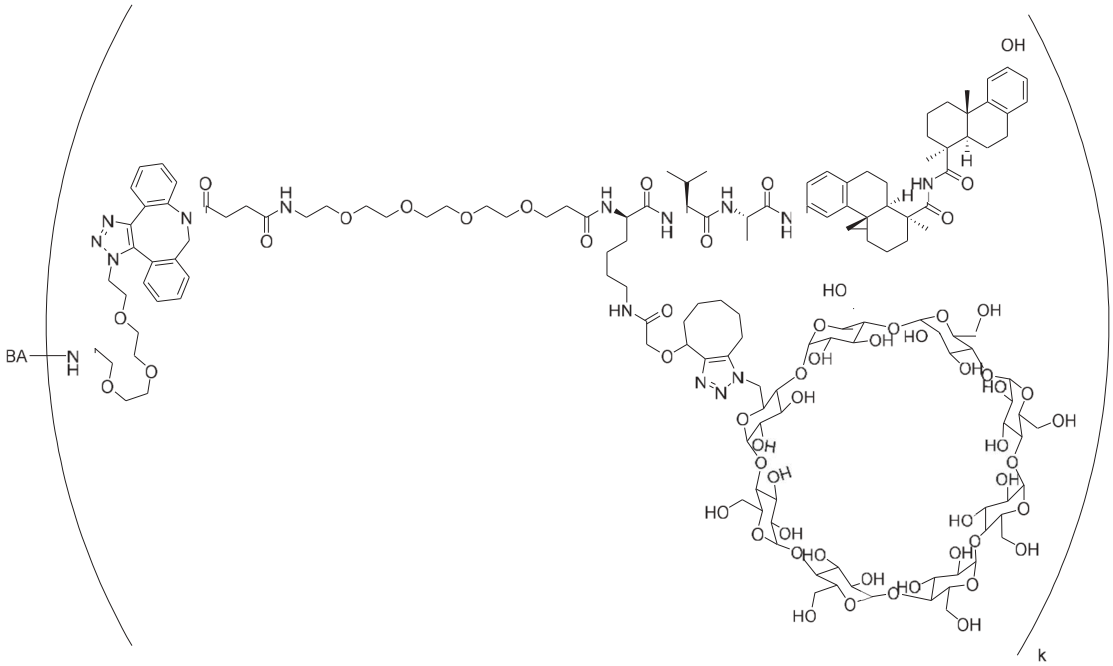


S





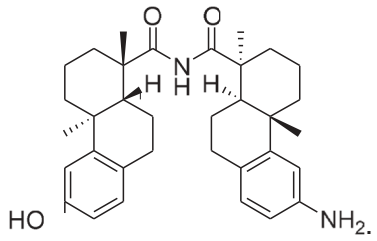
s



k ;

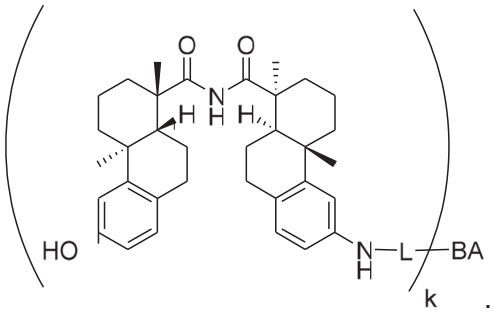
o un regioisómero, forma estereoisomérica, o sal farmacéuticamente aceptable de estos, que se caracteriza porque **k** es un número entero de uno a cuatro.

71. El compuesto de la reivindicación 28, que comprende **BA** unido a través de un enlazador **L** a un compuesto de la fórmula siguiente

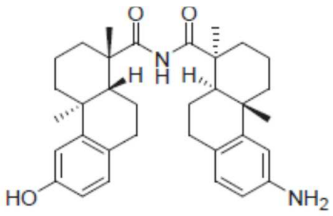


72. El compuesto de la reivindicación 28, que tiene la siguiente fórmula

s



73. El compuesto de la reivindicación 28, que se caracteriza porque **BA** es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de este conjugado a un compuesto primario de amina en un residuo de glutamina, y **L** está unido a **BA** a través del compuesto primario de aminas.
74. El compuesto de la reivindicación 73, que se caracteriza porque el compuesto primario de amina comprende un grupo PEG divalente.
75. El compuesto de la reivindicación 73, que se caracteriza porque el compuesto primario de amina es H_2N-$(CH_2CH_2O)_3$-$(CH_2)_2$-N_3.
76. Un compuesto que tiene la estructura



s