# CONJUGADOS DE NEODEGRADADOR-ANTICUERPO ANTI-CD33

## REFERENCIA AL LISTADO DE SECUENCIAS PRESENTADO ELECTRÓNICAMENTE

**[0001]** El contenido del listado de secuencias presentado electrónicamente en un archivo de texto ASCII (Nombre 4547_017PC02_Seqlisting_ST25; Tamaño: 42.724 bytes; y fecha de creación: 31 de mayo de 2022) presentado con la solicitud se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

## CAMPO DE LA INVENCIÓN

**[0002]** La presente invención proporciona conjugados de neodegradadores, en donde el neodegradador está conjugado con un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo. También se proporcionan composiciones que comprenden los conjugados. Los conjugados y composiciones son útiles para tratar el cáncer en un sujeto que los necesita.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

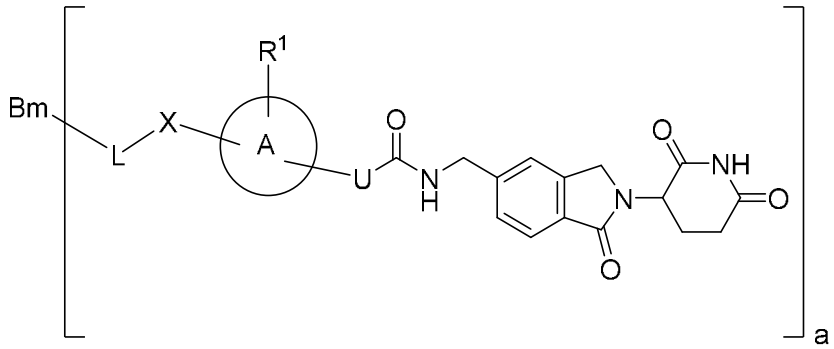
**[0003]** La degradación de proteínas ha sido validada como estrategia terapéutica por la eficacia de los fármacos imidas inmunomoduladores. Estos compuestos tienen la capacidad de unirse al cereblón (CRBN) y promover el reclutamiento y la ubiquitinación de proteínas sustrato mediadas por $CRL4^{CRBN}$ de ubiquitina ligasa E3. Se cree que las imidas inmunomoduladoras actúan como “pegamentos moleculares”, llenando la interfaz de unión como un parche hidrofóbico que reprograma las interacciones proteicas entre la ligasa y los neosustratos.

**[0004]** A pesar del entusiasmo por estos compuestos como tratamientos novedosos para el cáncer, hasta ahora se han limitado a su uso en neoplasias hematológicas como el mieloma múltiple y el síndrome mielodisplásico (MDS). Un área activa en el desarrollo de fármacos es la de ampliar la biblioteca de compuestos que pueden funcionar degradando otras oncoproteínas, muchas de las cuales se han considerado “no susceptibles de tratamiento”. Por consiguiente, existe una necesidad continua de nuevos compuestos que puedan atacar estas oncoproteínas alternativas y tratar una amplia gama de cánceres.

# BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

**[0005]** Se ha demostrado que el tratamiento de pacientes con leucemia mieloide aguda (AML) con degradadores de GSPT1 de molécula pequeña impulsa respuestas clínicas, pero se ha asociado con acontecimientos adversos (AE) graves. Los pacientes con leucemia mieloide aguda frecuentemente tienen niveles elevados de CD33 en las células cancerosas, como lo respalda la aprobación clínica de un ADC dirigido a CD33, Mylotarg, para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda. La presente invención se basa en el descubrimiento de que la combinación de una molécula de carga útil degradante de GSPT1 con un anticuerpo dirigido a CD33 puede mejorar tanto la eficacia clínica como la tolerabilidad de un degradador de GSPT1.

**[0006]** En un primer aspecto, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (I):




(I),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

**[0007]** a es un número entero del 1 al 10;

**[0008]** A es fenilo o un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

**[0009]** U se selecciona entre NH y $CF_2$;

**[0010]** $R^1$ se selecciona independientemente entre hidrógeno y halo;

**[0011]** X se selecciona entre $-NR^2-$, $=C(CH_3)-$, $-Q-(CH_2)_n-$, y $-Q(CH_2)_mQ'(CH_2)_n-$; en donde

**[0012]** Q y Q' son cada uno independientemente O, S o $N(R^2)_v$;

**[0013]** v es 1 o 2;

**[0014]** cada $R^2$ es independientemente hidrógeno o alquilo$C_1$-$C_6$;

**[0015]** n es un número entero del 1 al 6; y

**[0016]** m es un número entero del 2 al 6;

**[0017]** en donde el lado izquierdo de cada grupo está unido a L y el lado derecho está unido a A; siempre que X es NH o -Q-$(CH_2)_n$-, $R^1$ es halo;

**[0018]** L es un enlazador escindible o un enlazador no escindible; y

**[0019]** Bm es un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo.

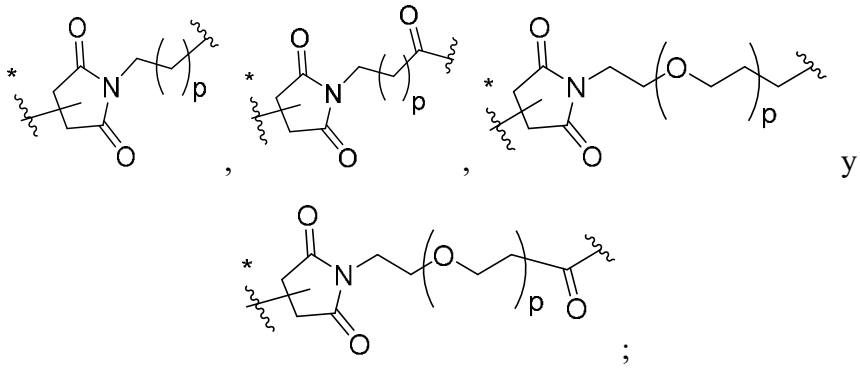
**[0020]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una región determinante de la complementariedad (CDR) 1 de la región variable de cadena pesada (VH) (VH-CDR1) que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, CDR1 de la región variable de cadena ligera (VL) (VL-CDR1) que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 8. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una región constante, en donde la región constante comprende al menos un aminoácido diferente de gemtuzumab. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo IgG1 o una porción de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende alanina en el aminoácido 297 que corresponde a la región constante. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 10.

**[0021]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 19, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 20, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 21, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 22, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 23, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 24. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al

antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 28. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo IgG1 o una porción de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 25 y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 26.

**[0022]** En algunos aspectos, a es un número entero del 2 al 8.

**[0023]** En algunos aspectos, L es un enlazador no escindible. En algunos aspectos, L se selecciona del grupo que consiste en



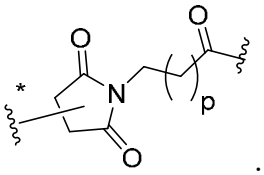
en donde:

**[0024]** p es un número entero del 1 al 10;

**[0025]** es el punto de unión a X; y

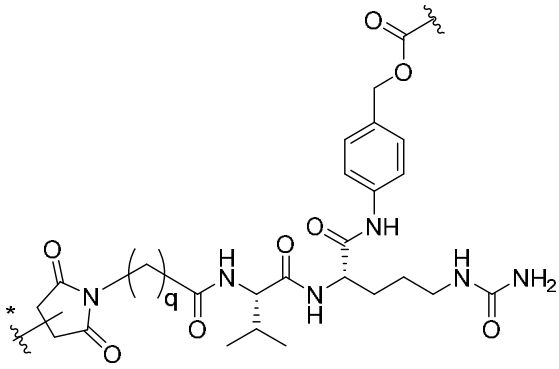
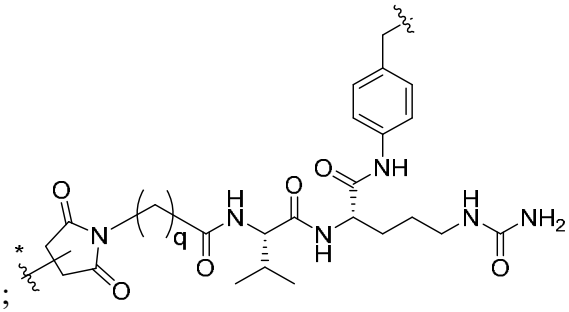
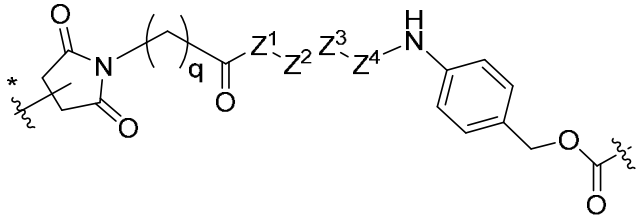
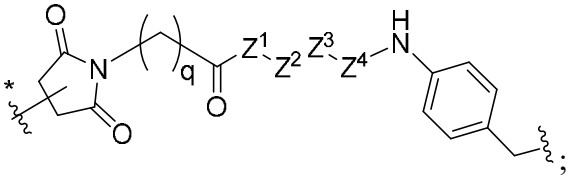
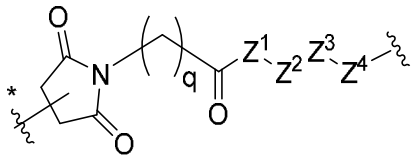
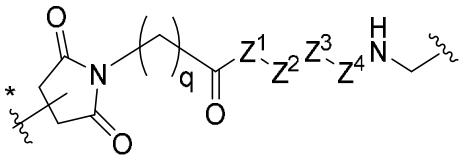
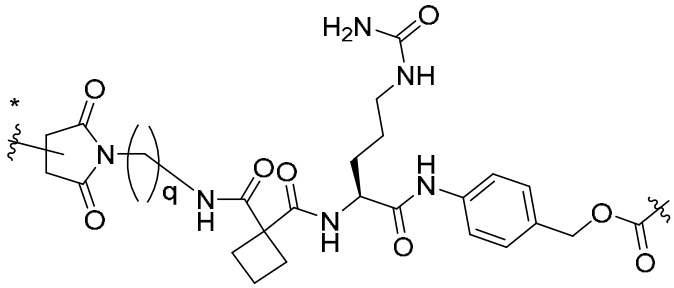
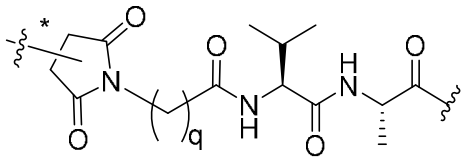
**[0026]** es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0027]** En algunos aspectos, L es



**[0028]** En algunos aspectos, p es 5.

**[0029]** En algunos aspectos, L es un enlazador escindible. En algunos aspectos, el enlazador escindible es escindible mediante una proteasa. En algunos aspectos, L se selecciona del grupo que consiste en


;

;

;

;

;

;

y

;

**[0030]** en donde:

**[0031]** q es un número entero del 2 al 10;

**[0032]** $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ están cada uno independientemente ausentes o son un residuo de aminoácido natural en la configuración L o D, siempre que al menos dos de $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ sean residuos de aminoácidos;

**[0033]** ∿ es el punto de unión a X; y

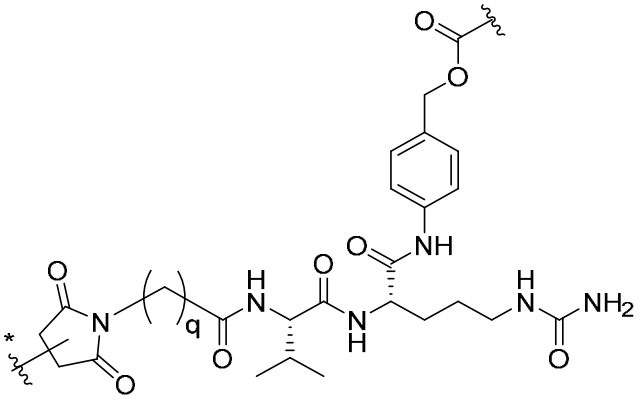
**[0034]** ∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0035]** En algunos aspectos, $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ están independientemente ausentes o se seleccionan del grupo que consiste en L-valina, D-valina, L-citrulina, D-citrulina, L-alanina, D-alanina, L-glutamina, D-glutamina, ácido L-glutámico, ácido D-glutámico, ácido L-aspártico,

ácido D-aspártico, L-asparagina, D-asparagina, L-fenilalanina, D-fenilalanina, L-lisina, D-lisina y glicina; siempre que al menos dos de $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ sean residuos de aminoácidos.

**[0036]** En algunos aspectos, $Z^1$ está ausente o es glicina; $Z^2$ está ausente o se selecciona del grupo que consiste en L-glutamina, D-glutamina, ácido L-glutámico, ácido D-glutámico, ácido L-aspártico, ácido D-aspártico, L-alanina, D-alanina y glicina; $Z^3$ se selecciona del grupo que consiste en L-valina, D-valina, L-alanina, D-alanina, L-fenilalanina, D-fenilalanina y glicina; y $Z^4$ se selecciona del grupo que consiste en L-alanina, D-alanina, L-citrulina, D-citrulina, L-asparagina, D-asparagina, L-lisina, D-lisina, L-fenilalamina, D-fenilalanina y glicina.

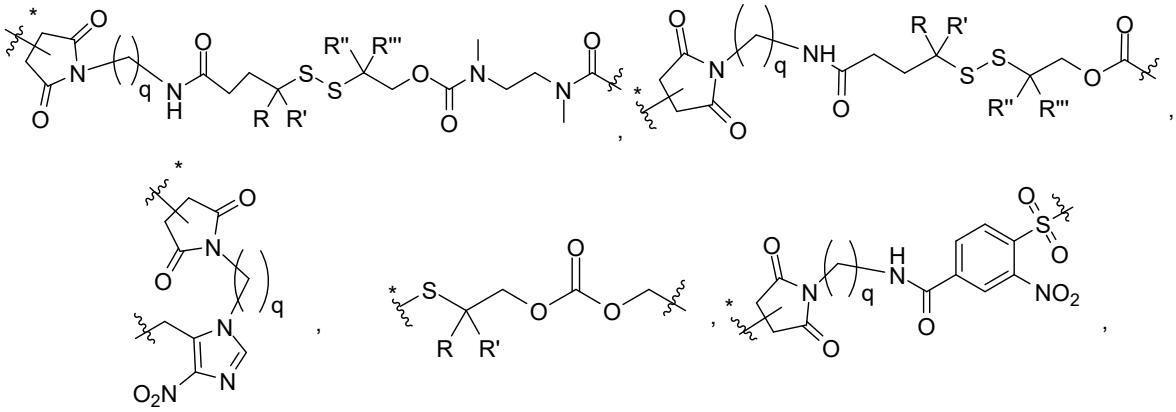
**[0037]** En algunos aspectos, L es



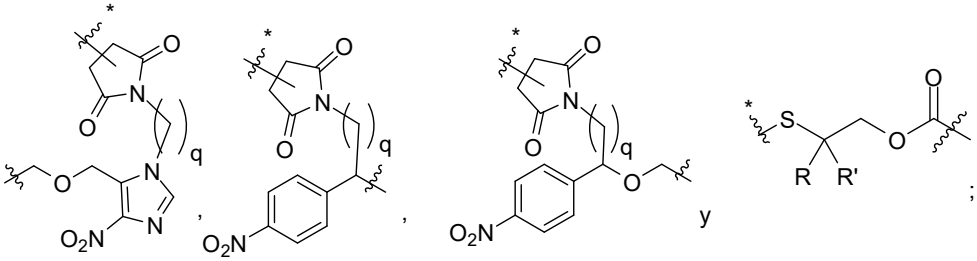
.

**[0038]** En algunos aspectos, q es 5.

**[0039]** En algunos aspectos, L es un enlazador biorreducible. En algunos aspectos, L se selecciona del grupo que consiste en







y ;

en donde:

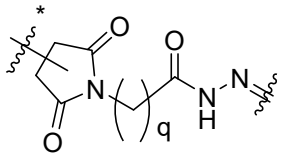
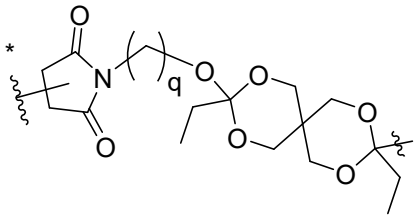
**[0040]** q es un número entero del 2 al 10;

**[0041]** R, R', R'' y R''' se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alcoxi$C_1$-$C_6$-alquilo$C_1$-$C_6$, $(C_1$-$C_6)_2$N-alquilo$C_1$-$C_6$ y alquilo$C_1$-$C_6$, o dos grupos geminales R, junto con el átomo de carbono al que están unidos, pueden formar un anillo ciclobutilo o ciclopropilo;

**[0042]** ∿ es el punto de unión a X; y

**[0043]** ∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0044]** En algunos aspectos, L es un enlazador escindible con ácido. En algunos aspectos, L se selecciona del grupo que consiste en


y

;

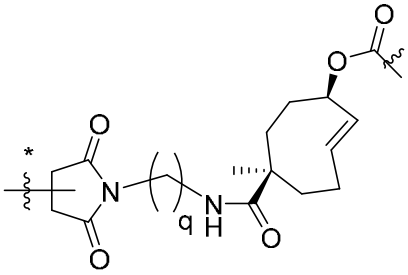
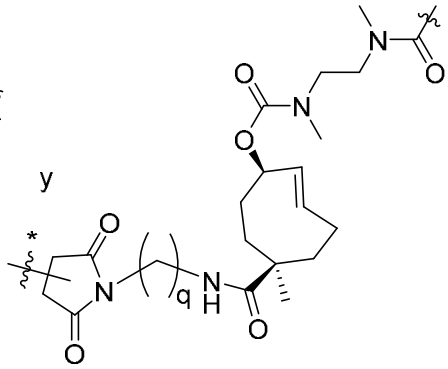
**[0045]** en donde:

**[0046]** q es un número entero del 2 al 10;

**[0047]** ∿ es el punto de unión a X; y

**[0048]** ∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0049]** En algunos aspectos, L es un enlazador de liberación por reacción (*click-to-release*). En algunos aspectos, L se selecciona entre


y

;

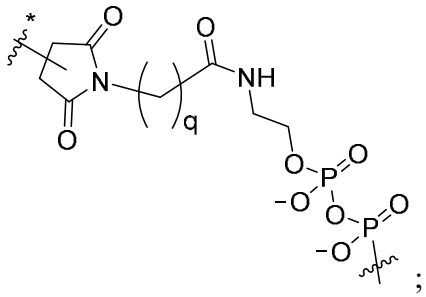
en donde:

**[0050]** q es un número entero del 2 al 10;

**[0051]** ∿ es el punto de unión a X; y

**[0052]** ∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0053]** En algunos aspectos, L es un enlazador escindible por pirofosfatasa. En algunos aspectos, L es




;

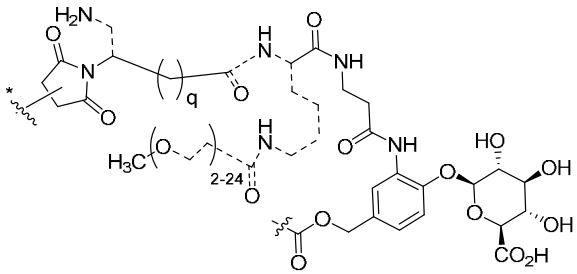
en donde:

**[0054]** q es un número entero del 2 al 10;

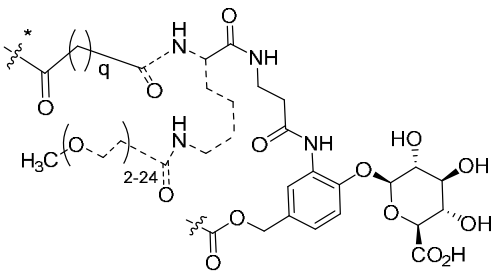
**[0055]** ∿ es el punto de unión a X; y

**[0056]** ∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0057]** En algunos aspectos, L es un enlazador escindible por beta-glucuronidasa. En algunos aspectos, L se selecciona entre




; y




;

en donde:

**[0058]** q es un número entero del 2 al 10;

**[0059]** ---- está ausente o es un enlace;

**[0060]** ∿ es el punto de unión a X; y

**[0061]** ∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0062]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (I), en donde:

**[0063]** A es fenilo;

**[0064]** U es NH;

**[0065]** $R^1$ es halo; y

**[0066]** X es $-N(R^2)_v(CH_2)_mO(CH_2)_n-$; en donde:

**[0067]** v es 1;

**[0068]** m y n son 2; y

**[0069]** $R^2$ es metilo.

**[0070]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (I), en donde:

**[0071]** A es fenilo;

**[0072]** U es NH;

**[0073]** $R^1$ es halo; y

**[0074]** X es $-N(R^2)_v(CH_2)_mO(CH_2)_n-$; en donde:

**[0075]** v es 2;

**[0076]** m y n son 2; y

**[0077]** cada $R^2$ es metilo.

**[0078]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (I), en donde:

**[0079]** A es fenilo;

**[0080]** U es NH;

**[0081]** $R^1$ es halo; y

**[0082]** X es $-O(CH_2)_n-$; en donde:

**[0083]** n es 2.

**[0084]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (I), en donde:

**[0085]** A es fenilo;

**[0086]** U es NH;

**[0087]** $R^1$ es halo; y

**[0088]** X es $-S(CH_2)_n-$; en donde:

**[0089]** n es 2.

**[0090]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (I), en donde:

**[0091]** A es fenilo;

**[0092]** U es NH;

**[0093]** $R^1$ es hidrógeno; y

**[0094]** X es $-NR^2-$; en donde:

**[0095]** $R^2$ es metilo.

**[0096]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (I), en donde:

**[0097]** A es fenilo;

**[0098]** U es NH;

**[0099]** $R^1$ es halo; y

**[0100]** X es $-NR^2-$; en donde:

**[0101]** $R^2$ es hidrógeno.

**[0102]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (I), en donde:

**[0103]** A es fenilo;

**[0104]** U es NH;

**[0105]** $R^1$ es hidrógeno; y

**[0106]** X es $-C(CH_3)=$.

**[0107]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (I), en donde:

**[0108]** A es un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

**[0109]** U es NH;

**[0110]** $R^1$ es hidrógeno; y

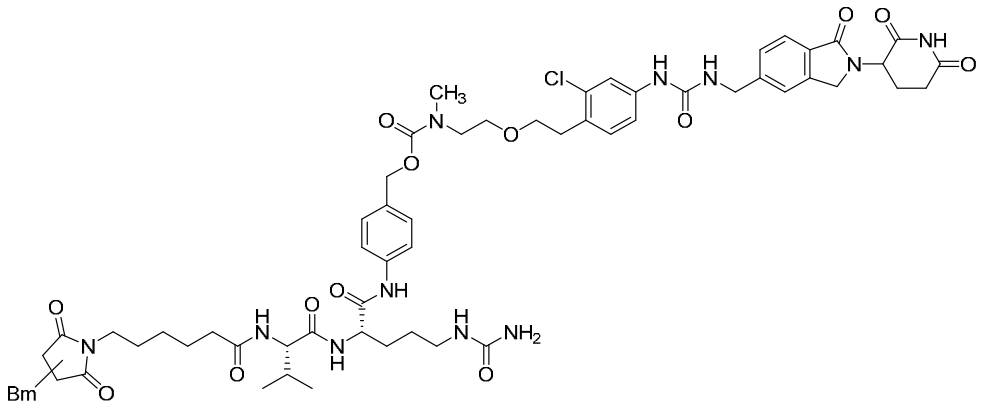
**[0111]** X es $-N(R^2)(CH_2)_mO(CH_2)_n-$; en donde:

**[0112]** n es 1;

**[0113]** m es 2; y

**[0114]** $R^2$ es metilo.

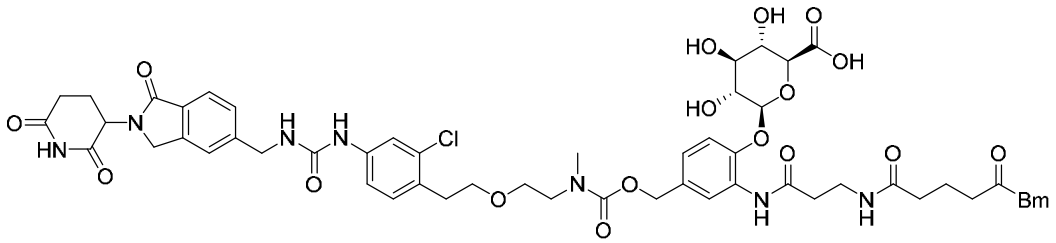
**[0115]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (V):



(V);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Bm es un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo. El anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo puede comprender, por ejemplo, (i) una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7, (ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 8, (iii) una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 9, y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 10, (iv) una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 19, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 20, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 21, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 22, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 23, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 24, (v) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 28, o (vi) una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 25 y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 26.

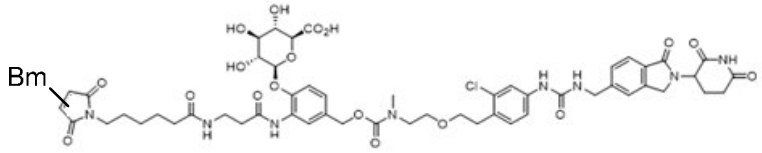
**[0116]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (VI):



(VI);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Bm es un anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo. El anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo puede comprender, por ejemplo, (i) una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7, (ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 8, (iii) una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 9, y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 10, (iv) una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 19, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 20, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica como se indica en la SEQ ID NO: 21, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 22, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 23, y una VL- CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 24, (v) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 28, o (vi) una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 25, y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 26.

**[0117]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un conjugado de la fórmula (VII):




(VII);

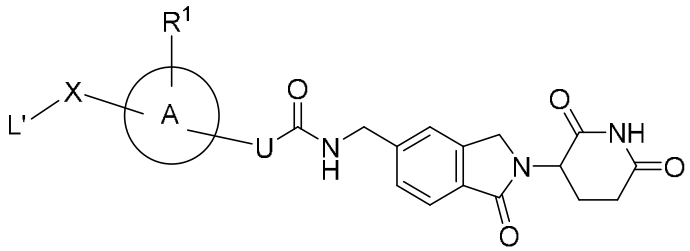
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Bm es un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo. El anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo puede comprender, por ejemplo, (i) una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7, (ii) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 8, (iii) una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 9, y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 10, (iv) una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 19, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 20, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 21, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 22, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 23, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 24, (v) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 28, o (vi) una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 25, y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 26.

**[0118]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un conjugado o compuesto proporcionado en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

**[0119]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un método para tratar el cáncer o el síndrome mielodisplásico en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad farmacéuticamente aceptable de un conjugado o composición descrita anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunos aspectos, el cáncer es un cáncer hematológico/sanguíneo. En algunos aspectos, el cáncer es un mieloma múltiple, leucemia, linfoma maligno, enfermedad de Hodgkin o enfermedad mieloproliferativa crónica. En algunos aspectos, el cáncer es leucemia mieloide aguda o linfoma. En algunos aspectos, el cáncer es leucemia mieloide aguda. En algunos aspectos, el cáncer es resistente o refractario a Mylotarg.

**[0120]** En algunos aspectos, el método comprende, además, administrar al sujeto una cantidad farmacéuticamente aceptable de un agente adicional antes, después o simultáneamente con el conjugado, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunos aspectos, el agente adicional es un agente citotóxico o un modificador de la respuesta inmune. En algunos aspectos, el modificador de la respuesta inmune es un inhibidor de punto de control. En algunos aspectos, el inhibidor del punto de control comprende un inhibidor de PD-1, un inhibidor de PD-L1, un inhibidor de CTLA-4, un inhibidor de TIM3 y/o un inhibidor de LAG-3.

**[0121]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona un método para preparar un conjugado de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, comprendiendo el proceso hacer reaccionar un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo con un compuesto de la fórmula (I-1):




(I-1),

**[0122]** o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

**[0123]** a es un número entero del 1 al 10;

**[0124]** A es fenilo o un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

**[0125]** $R^1$ se selecciona independientemente entre hidrógeno y halo;

**[0126]** U se selecciona entre NH y $CF_2$;

**[0127]** X se selecciona entre $-N(R^2)_v-$, $=C(CH_3)-$, $-Q-(CH_2)_n-$, y $-Q(CH_2)_mQ'(CH_2)_n-$; en donde

**[0128]** v es 1 o 2;

**[0129]** Q y Q' son cada uno independientemente O, S o $NR^2$;

**[0130]** cada $R^2$ es independientemente hidrógeno o alquilo$C_1$-$C_6$;

**[0131]** n es un número entero del 1 al 6; y

**[0132]** m es un número entero del 2 al 6;

**[0133]** en donde el lado izquierdo de cada grupo está unido a L' y el lado derecho está unido a A;

**[0134]** siempre que X es NH o $-Q-(CH_2)_n-$, $R^1$ es halo;

**[0135]** L' es un precursor del enlazador escindible o no escindible que se conjuga con el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1 NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una región variable de cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 4, y una región variable de cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 8. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una región constante, en donde la región constante comprende al menos un aminoácido diferente de gemtuzumab. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo IgG1 o una porción de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende alanina en el aminoácido 297 que corresponde a la región constante. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 10. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo

comprende una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 19, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 20, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 21, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 22, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 23, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 24. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 27 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 28. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo IgG1 o una porción de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 25 y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 26.

**[0136]** En algunos aspectos, el método comprende, además, reducir el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo, antes de la reacción con el compuesto de la fórmula (I-1).

**[0137]** En algunos aspectos, a es un número entero del 2 al 8. En algunos aspectos, L' es un precursor de enlazador no escindible, un precursor de enlazador escindible, un precursor de enlazador biorreducible, un precursor de enlazador escindible con ácido, un precursor de enlazador de liberación por reacción (*click-to-release*), un precursor de enlazador escindible con pirofosfatasa, un precursor de enlazador escindible con beta-glucuronidasa o cualquier combinación de los mismos.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

**[0138]** La figura 1 representa la actividad *in vivo* de conjugados de neodegradadores representativos contra tumores de MV411 (CD33+). El eje X muestra el día después de la dosificación. El eje Y muestra el volumen tumoral ($mm^3$) después de la dosificación con un vehículo, 3 mg/kg de CD33AB - Compuesto (Ia), 2,83 mg/kg CD33AB-Compuesto (Ie), 2,99 mg/kg de CD33AB-Compuesto (1h), 0,1 mg/kg de Mylotarg, 50 mg/kg de Venetoclax y 5 mg/kg de CC-90009.

**[0139]** La figura 2 representa la actividad *in vitro* de huMy9-6 (AB1)-Compuesto (Ia) en neoplasias malignas positivas para CD-33 y negativas para CD33.

**[0140]** La figura 3 representa la actividad *in vivo* de conjugados basados en AB1 contra tumores de MV4-11 (CD33+). El eje X muestra el día después de la dosificación. El eje Y muestra el volumen tumoral ($mm^3$) después de dosificar con un vehículo, AB1 - Compuesto (Ia), AB1-Compuesto (Ii), AB1-Compuesto (Id), AB1-Compuesto (Ij), AB1-Compuesto (Ie), AB1-Compuesto (Ik), Mylotarg, Gemtuzumab-Compuesto I(a) y CC-90009.

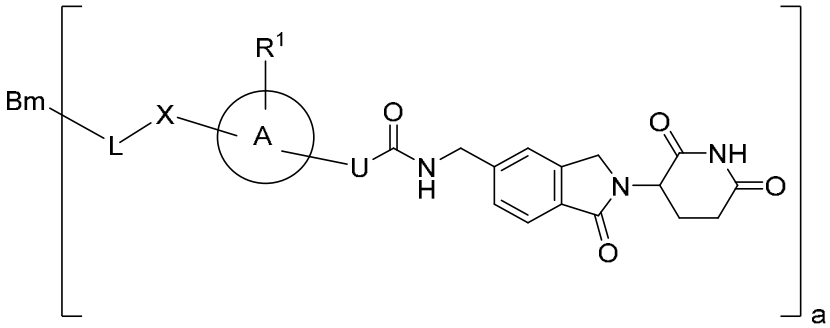
**[0141]** La figura 4 representa la estabilidad de los conjugados de Gemtuzumab y CD33AB.

**[0142]** La figura 5 representa la actividad *in vivo* de conjugados basados en Gemtuzumab contra tumores de MV4-11 (CD33+). El eje X muestra el día después de la dosificación. El eje Y muestra el volumen tumoral ($mm^3$) después de la dosificación con un vehículo, 3 mg/kg de Gemtuzumab - Compuesto (Ia), 5 mg/kg de Gemtuzumab - Compuesto (Ia), 3 mg/kg de CD33AB-Compuesto (Ia), 5 mg/kg de CD33AB-Compuesto (Ia), 3 mg/kg de Gemtuzumab IgG1 LALA-Compuesto (Ia), 5 mg/kg de Gemtuzumab IgG1 LALA-Compuesto (Ia), 5 mg/kg de Gemtuzumab-Compuesto (Ie), 25 mg/kg de Venetoclax y 50 mg/kg de Ventoclax.

**[0143]** Las figuras 6A y 6B representan la actividad *in vitro* del conjugado AB1-Compuesto (Ia) contra células de AML insensibles a Mylotarg (AML-193 (Figura 6A) y Kasumi-6 (Figura 6B)). El eje X muestra la concentración y el eje Y muestra el porcentaje de viabilidad de la línea celular después del tratamiento.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

**[0144]** La presente invención está dirigida a un conjugado de la fórmula (I):




(I),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

a es un número entero del 1 al 10;

A es fenilo o un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

$R^1$ se selecciona independientemente entre hidrógeno y halo;

U se selecciona entre NH y $CF_2$;

X se selecciona entre $-N(R^2)_v-$, $=C(CH_3)-$, $-Q-(CH_2)_n-$, y $-Q(CH_2)_mQ'(CH_2)_n-$; en donde

Q y Q' son cada uno independientemente O, S o $N(R^2)_v$;

v es 1 o 2;

cada $R^2$ es independientemente hidrógeno o alquilo$C_1$-$C_6$;

n es un número entero del 1 al 6;

m es un número entero del 2 al 6;

en donde el lado izquierdo de cada grupo está unido a L y el lado derecho está unido a A;

siempre que X es NH o $-Q-(CH_2)_n-$, $R^1$ es halo;

L es un enlazador escindible o un enlazador no escindible; y

Bm es un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo, una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, una CDR1 de la región variable de cadena ligera (VL) (VL-CDR1) que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7; un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo que comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 8; o un anticuerpo anti-CD33 que comprende una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 10.

**[0145]** La presente invención también proporciona el compuesto anterior que está fusionado al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo, la composición que comprende el compuesto o el conjugado, o el método para usar o preparar el compuesto o el conjugado.

### *I. Definiciones*

**[0146]** Para que la presente descripción pueda entenderse más fácilmente, en primer lugar, se definen ciertos términos. A lo largo de la descripción detallada se establecen definiciones adicionales.

**[0147]** Cabe señalar que el término “un” o “una” entidad se refiere a una o más de esas entidades; por ejemplo, se entiende que “una secuencia de nucleótidos” representa una o más secuencias de nucleótidos. Por ende, los términos “un” (o “una”), “uno o más” y “al menos uno” pueden usarse indistintamente en el presente documento. Cabe señalar, además, que las reivindicaciones pueden redactarse para excluir cualquier elemento opcional. Por ende, esta declaración pretende servir como base previa para el uso de terminología exclusiva como “únicamente”, “solamente” y similares en relación con la enumeración de elementos de reivindicación o el uso de una limitación negativa.

**[0148]** Además, “y/o” cuando se utiliza en el presente documento, debe considerarse una divulgación específica de cada una de las dos características o componentes especificados con o sin el otro. Por consiguiente, el término “y/o” tal como se utiliza en una frase como “A y/o B” en el presente documento pretende incluir “A y B”, “A o B”, “A” (solo) y “B” (solo). Asimismo, el término “y/o” tal como se utiliza en una frase como “A, B y/o C”, pretende abarcar cada uno de los siguientes aspectos: A, B y C; A, B o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (solo); B (solo); y C (solo).

**[0149]** Se entiende que siempre que se describan aspectos en el presente documento con el lenguaje “que comprende”, también se proporcionan aspectos análogos descritos en términos de “que consiste en” y/o “que consiste esencialmente en”.

**[0150]** A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente una persona con conocimientos básicos en la materia con la que se relaciona esta invención. Por ejemplo, el Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2ª ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3ª ed., 1999, Academic Press; y el Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, revisado, 2000, Oxford University Press, proporcionan a los expertos un diccionario general de muchos de los términos utilizados en esta invención.

**[0151]** Las unidades, prefijos y símbolos se indican en su forma aceptada por el Système International de Unites (SI). Los rangos numéricos incluyen los números que definen el rango. Cuando se menciona un rango de valores, se debe entender que cada valor entero intermedio, y cada fracción del mismo, también se divulga específicamente entre los límites superior e inferior mencionados de ese rango, junto con cada subrango entre dichos valores. Los límites superior e inferior de cualquier rango pueden incluirse o excluirse independientemente del rango, y cada

rango en el que se incluyen uno, ninguno o ambos límites también se incluye dentro de la invención. Por consiguiente, se entiende que los rangos mencionados en el presente documento son una abreviatura de todos los valores dentro del rango, incluyendo los criterios de valoración mencionados. Por ejemplo, se entiende que un rango de 1 a 10 incluye cualquier número, combinación de números o subrango del grupo formado por 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10.

**[0152]** Cuando se menciona explícitamente un valor, se debe entender que los valores que son aproximadamente la misma cantidad que el valor mencionado también están dentro del alcance de la invención. Cuando se divulga una combinación, cada subcombinación de los elementos de esa combinación también se divulga específicamente y está dentro del alcance de la invención. Por el contrario, cuando se divulgan individualmente diferentes elementos o grupos de elementos, también se divulgan combinaciones de los mismos. Cuando se divulga que cualquier elemento de una invención tiene una pluralidad de alternativas, también se divulgan ejemplos de esa invención en los que cada alternativa se excluye individualmente o en cualquier combinación con las otras alternativas; más de un elemento de una divulgación puede tener tales exclusiones, y por la presente se divulgan todas las combinaciones de elementos que tienen tales exclusiones.

**[0153]** El término “DAR”, como se usa en el presente documento, se refiere a la proporción de anticuerpos del fármaco del conjugado, que es el número promedio de complejos de neodegradador-enlazador unidos a cada anticuerpo. En ciertos aspectos, el DAR de los conjugados descritos en el presente documento es de 1 a 10. En algunos aspectos, el DAR de los conjugados descritos en el presente documento es de 1 a 8. En algunos aspectos, el DAR de los conjugados descritos en el presente documento es 1,0; 1,1; 1,2; 1,3; 1,4; 1,5; 1,6; 1,7; 1,8; 1,9; 2,0; 2,1; 2,2; 2,3; 2,4; 2,5; 2,6; 2,7; 2,8; 2,9; 3,0; 3,1; 3,2; 3,3; 3,4; 3,5; 3,6; 3,7; 3,8; 3,9; 4,0; 4,1; 4,2; 4,3; 4,4; 4,5; 4,6; 4,7; 4,8; 4,9; 5,0; 5,1; 5,2; 5,3; 5,4; 5,5; 5,6; 5,7; 5,8; 5,9; 6,0; 6,1; 6,2; 6,3; 6,4; 6,5; 6,6; 6,7; 6,8; 6,9; 7,0; 7,1; 7,2; 7,3; 7,4; 7,5; 7,6; 7,7; 7,8; 7,9; 8; 8,1; 8,2; 8,3; 8,4; 8,5; 8,6; 8,7; 8,8; 8,9; 9,0; 9,1; 9,2; 9,3; 9,4; 9,5; 9,6; 9,7; 9,8; 9,9 o 10.

**[0154]** El término “anticuerpo”, como se usa en el presente documento, también se refiere a una molécula de inmunoglobulina de longitud completa o una porción inmunológicamente activa de una molécula de inmunoglobulina de longitud completa, es decir, una molécula que contiene un sitio de unión al antígeno que se une inmunoespecíficamente a un antígeno de una diana de interés o parte de los mismos, tales objetivos incluyendo, entre otros, células cancerosas o células que producen anticuerpos autoinmunes asociados con una enfermedad autoinmune. La inmunoglobulina descrita en el presente documento puede ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG,

IgE, IgM, IgD e IgA), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase de molécula de inmunoglobulina. Las inmunoglobulinas pueden derivarse de cualquier especie. Sin embargo, en un aspecto, la inmunoglobulina es de origen humano, murino o de conejo.

**[0155]** El término "anticuerpo de dominio único", también conocido como nanocuerpo, es un fragmento de anticuerpo que consiste en un dominio de anticuerpo variable monomérico único con un peso molecular de aproximadamente 12 kDa a aproximadamente 15 kDa. Los anticuerpos de un solo cuerpo pueden basarse en dominios variables de cadena pesada o cadena ligera. Ejemplos de anticuerpos de dominio único incluyen, entre otros, fragmentos $V_HH$ y $V_{NAR}$.

**[0156]** Los "fragmentos de anticuerpo" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, generalmente la unión al antígeno o la región variable del mismo. Ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab').sub.2 y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; fragmentos producidos por una biblioteca de expresión de Fab, anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id), CDR (región determinante de la complementariedad) y fragmentos de unión a epítopos de cualquiera de los anteriores que se unen inmunoespecíficamente a antígenos de células cancerosas, antígenos virales o antígenos microbianos, moléculas de anticuerpos monocatenarios; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

**[0157]** Un "anticuerpo intacto" es uno que comprende una región variable de unión al antígeno así como un dominio constante de cadena ligera (CL) y dominios constantes de cadena pesada, CH1, CH2 y CH3. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de secuencia nativa (por ejemplo, dominios constantes de secuencia nativa humana) o una variante de secuencia de aminoácidos de los mismos.

**[0158]** El término "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por posibles mutaciones que ocurren naturalmente que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son muy específicos y se dirigen contra un único sitio antigénico. Además, a diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales que incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopos), cada anticuerpo monoclonal está dirigido contra un único determinante del antígeno. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales tienen la ventaja de que pueden sintetizarse sin estar contaminados por otros anticuerpos. El modificador "monoclonal" indica que el anticuerpo se obtiene a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea y no debe interpretarse como que requiere

la producción del anticuerpo mediante ningún método en particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se van a usar de acuerdo con la presente invención se pueden preparar mediante el método del hibridoma o se pueden preparar mediante métodos de ADN recombinante. Los "anticuerpos monoclonales" también pueden aislarse de bibliotecas de anticuerpos en fago.

**[0159]** Los anticuerpos monoclonales del presente documento incluyen específicamente anticuerpos "quiméricos" en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la(s) cadena(s) es idéntica u homóloga a secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada. Los anticuerpos quiméricos de interés en el presente documento incluyen anticuerpos "primatizados" que comprenden secuencias de unión al antígeno de dominio variable derivadas de un primate no humano (por ejemplo, mono del viejo mundo, simio, etc.) y secuencias de región constante humana.

**[0160]** Se han empleado varios métodos para producir anticuerpos monoclonales (mAB). La tecnología de hibridoma, que se refiere a una línea celular clonada que produce un solo tipo de anticuerpo, utiliza células de varias especies, incluyendo ratones (murinos), hámsteres, ratas y humanos. Otro método para preparar mAB utiliza la ingeniería genética, incluyendo técnicas de ADN recombinante. Los anticuerpos monoclonales elaborados a partir de estas técnicas incluyen, entre otros, anticuerpos quiméricos y anticuerpos humanizados. Un anticuerpo quimérico combina regiones que codifican ADN de más de un tipo de especie. Por ejemplo, un anticuerpo quimérico puede derivar la región variable de un ratón y la región constante de un ser humano. Un anticuerpo humanizado proviene predominantemente de un ser humano, aunque contenga porciones no humanas. Al igual que un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado puede contener una región constante completamente humana. Pero a diferencia de un anticuerpo quimérico, la región variable puede derivar parcialmente de un ser humano. Las porciones sintéticas no humanas de un anticuerpo humanizado a menudo provienen de los CDR en anticuerpos murinos. En cualquier caso, estas regiones son cruciales para permitir que el anticuerpo reconozca y se una a un antígeno específico. Si bien son útiles para diagnósticos y terapias a corto plazo, los anticuerpos murinos no pueden administrarse a personas a largo plazo sin aumentar el riesgo de una respuesta inmunogénica nociva. Esta respuesta, llamada Anticuerpo Anti-Ratón Humano (HAMA), ocurre

cuando un sistema inmunológico humano reconoce el anticuerpo murino como extraño y lo ataca. Una respuesta de HAMA puede provocar un shock tóxico o incluso la muerte.

**[0161]** Los anticuerpos quiméricos y humanizados reducen la probabilidad de una respuesta de HAMA al minimizar las porciones no humanas de los anticuerpos administrados. Además, los anticuerpos quiméricos y humanizados pueden tener el beneficio adicional de activar respuestas inmunitarias humanas secundarias, como la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.

**[0162]** El anticuerpo intacto puede tener una o más "funciones efectoras" que se refieren a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc (una región Fc de secuencia nativa o una región Fc variante de secuencia de aminoácidos) de un anticuerpo. Ejemplos de funciones efectoras de anticuerpos incluyen la unión a C1q, citotoxicidad dependiente del complemento, unión al receptor Fc, citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis, regulación negativa de los receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de células B; BCR), etc.

**[0163]** Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos intactos pueden asignarse a diferentes "clases". Existen cinco clases principales de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM y varias de ellas pueden dividirse en "subclases" (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. Los dominios constantes de la cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de anticuerpos se denominan alfa, delta, épsilon, gamma y mu, respectivamente. Las estructuras de subunidades y las configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son muy conocidas.

**[0164]** El término "aproximadamente" se utiliza en el presente documento para decir aproximadamente, más o menos, alrededor o cerca de. Cuando el término "aproximadamente" se usa junto con un rango numérico, modifica ese rango extendiendo los límites por encima y por debajo de los valores numéricos establecidos. En general, el término "aproximadamente" puede modificar un valor numérico por encima y por debajo del valor indicado por una variación de, por ejemplo, 10 por ciento, hacia arriba o hacia abajo (más arriba o más abajo).

**[0165]** Los términos "administración", "administrar" y sus variantes gramaticales se refieren a la introducción de una composición, como una EV (por ejemplo, exosoma) de la presente invención, en un sujeto a través de una vía farmacéuticamente aceptable. La introducción de una composición, como una EV (por ejemplo, exosoma) de la presente invención, en un sujeto es por cualquier vía adecuada, incluyendo intratumoral, oral, pulmonar, intranasal, parenteral

(intravenosa, intraarterial, intramuscular, intraperitoneal o subcutánea), rectal, intralinfática, intratecal, periocular o tópica. La administración incluye la autoadministración y la administración por terceros. Una vía de administración adecuada permite que la composición o el agente realice su función prevista. Por ejemplo, si una vía adecuada es intravenosa, la composición se administra introduciendo la composición o agente en una vena del sujeto.

**[0166]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "anticuerpo" abarca una inmunoglobulina, ya sea natural o producida parcial o totalmente de manera sintética, y fragmentos de la misma. El término también cubre cualquier proteína que tenga un dominio de unión que sea homólogo a un dominio de unión de inmunoglobulina. "Anticuerpo" incluye, además, un polipéptido que comprende una región marco de un gen de inmunoglobulina o fragmentos del mismo, que se une específicamente a un antígeno y lo reconoce. El uso del término anticuerpo pretende incluir anticuerpos completos, anticuerpos policlonales, monoclonales y recombinantes, fragmentos de los mismos y, además, incluye anticuerpos monocatenarios, anticuerpos humanizados, anticuerpos murinos, anticuerpos monoclonales quiméricos, de ratón-humano, de ratón-primate, de primate-humano, anticuerpos antiidiotipo, fragmentos de anticuerpos, tales como, por ejemplo, scFv, $(scFv)_2$, Fab, Fab' y $F(ab')_2$, $F(ab1)_2$, fragmentos Fv, dAb y Fd, diacuerpos y polipéptidos relacionados con anticuerpos. "Anticuerpo" incluye anticuerpos biespecíficos y anticuerpos multiespecíficos, siempre que presenten la actividad o función biológica deseada. En algunos aspectos de la presente invención, la molécula biológicamente activa es un anticuerpo o una molécula que comprende un fragmento de unión al antígeno del mismo.

**[0167]** Los términos "conjugado anticuerpo-fármaco" y "ADC" se usan indistintamente y se refieren a un anticuerpo unido, por ejemplo, covalentemente, a un agente terapéutico (a veces denominado en el presente documento agente, fármaco o ingrediente farmacéutico activo) o agentes. En algunos aspectos de la presente invención, la molécula biológicamente activa es un conjugado anticuerpo-fármaco.

**[0168]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "aproximadamente", aplicado a uno o más valores de interés, se refiere a un valor que es similar a un valor de referencia establecido. En ciertos aspectos, el término "aproximadamente" se refiere a un rango de valores que se encuentran dentro del 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 % o menos. En cualquier dirección (mayor o menor que) del valor de referencia indicado, a menos que se indique

lo contrario o sea evidente a partir del contexto (excepto cuando dicho número exceda el 100 % de un valor posible).

**[0169]** Una “sustitución de aminoácido conservadora” es aquella en la que el residuo de aminoácido se reemplaza con un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. En la materia se han definido familias de residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares, incluyendo cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares sin carga (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales beta-ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina). Por consiguiente, si un aminoácido de un polipéptido se reemplaza por otro aminoácido de la misma familia de cadenas laterales, la sustitución se considera conservadora. En otro aspecto, una cadena de aminoácidos se puede reemplazar de manera conservadora con una cadena estructuralmente similar que difiere en el orden y/o composición de los miembros de la familia de cadenas laterales.

**[0170]** Como se usa en el presente documento, el término “conservado” se refiere a nucleótidos o residuos de aminoácidos de una secuencia polinucleotídica o secuencia polipeptídica, respectivamente, que son aquellos que aparecen inalterados en la misma posición de dos o más secuencias que se están comparando. Los nucleótidos o aminoácidos que están relativamente conservados son aquellos que se conservan entre secuencias más relacionadas que los nucleótidos o aminoácidos que aparecen en otras partes de las secuencias.

**[0171]** En algunos aspectos, se dice que dos o más secuencias están “completamente conservadas” o “idénticas” si son 100 % idénticas entre sí. En algunos aspectos, se dice que dos o más secuencias están “altamente conservadas” si son al menos aproximadamente un 70 % idénticas, al menos aproximadamente un 80 % idénticas, al menos aproximadamente un 90 % idénticas o al menos aproximadamente un 95 % idénticas entre sí. En algunos aspectos, se dice que dos o más secuencias están “conservadas” si son al menos aproximadamente un 30 % idénticas, al menos aproximadamente un 40 % idénticas, al menos aproximadamente un 50 % idénticas, al menos aproximadamente un 60 % idénticas, al menos aproximadamente un 70 % idénticos, al menos aproximadamente 80 % idénticos, al menos aproximadamente 90 % idénticos o al menos aproximadamente 95 % idénticos entre sí. La conservación de la secuencia puede aplicarse a toda

la longitud de un polinucleótido o polipéptido o puede aplicarse a una porción, región o característica del mismo.

**[0172]** Como se usan en el presente documento, los términos “enlazar” y “conjugar” se usan indistintamente y cada uno se refiere a la adhesión covalente o no covalente de dos o más fracciones que comprenden un neodegradador y un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el enlace o la conjugación pueden comprender un enlazador.

**[0173]** La expresión “variante de secuencia de aminoácidos” se refiere a polipéptidos que tienen secuencias de aminoácidos que difieren en cierta medida de un polipéptido de secuencia nativa. Normalmente, las variantes de secuencia de aminoácidos poseerán al menos aproximadamente un 70 % de identidad de secuencia con al menos un dominio de unión al receptor de un anticuerpo nativo o con al menos un dominio de unión a ligando de un receptor nativo, y típicamente, tendrán al menos aproximadamente un 80 % de identidad de secuencia, más típicamente, al menos aproximadamente un 90 % de homología por secuencia con dichos dominios de unión a receptor o ligando. Las variantes de secuencia de aminoácidos poseen sustituciones, eliminaciones y/o inserciones en ciertas posiciones dentro de la secuencia de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos nativa. Los aminoácidos se designan con los nombres convencionales, códigos de una y tres letras.

**[0174]** La “identidad de secuencia” se define como el porcentaje de residuos en la variante de secuencia de aminoácidos que son idénticos después de alinear las secuencias e introducir espacios, si es necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia. Los métodos y programas informáticos para la alineación son muy conocidos en la materia. Uno de esos programas informáticos es “Align 2”, creado por Genentech**,** Inc., que se presentó junto con la documentación del usuario en la Oficina de Derechos de Autor de Estados Unidos, Washington, DC 20559, el 10 de diciembre de 1991.

**[0175]** “Citotoxicidad dependiente del complemento” o “CDC” se refiere a la capacidad de una molécula para la lisis de una diana en presencia de un complemento. La vía de activación del complemento se inicia mediante la unión del primer componente del sistema del complemento (C1q) a una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) formando un complejo con un antígeno afín. Para evaluar la activación del complemento, se puede realizar un ensayo CDC.

**[0176]** El término “variable” se refiere al hecho de que ciertas porciones de los dominios variables difieren ampliamente en la secuencia entre los anticuerpos y se utilizan en la unión y

especificidad de cada anticuerpo particular por su antígeno particular. Sin embargo, la variabilidad no se distribuye uniformemente entre los dominios variables de los anticuerpos. Se concentra en tres segmentos llamados regiones hipervariables, tanto en el dominio variable de la cadena ligera como en el de la cadena pesada. Las porciones más conservadas de los dominios variables se denominan regiones marco (FR). Los dominios variables de las cadenas pesada y ligera nativas comprenden cada uno cuatro FR, que adoptan en gran medida una configuración de hoja beta, conectadas por tres regiones hipervariables, que forman bucles que conectan y, en algunos casos, forman parte de la estructura de la hoja beta. Las regiones hipervariables de cada cadena se mantienen juntas en estrecha proximidad mediante las FR y, junto con las regiones hipervariables de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos. Los dominios constantes no participan directamente en la unión de un anticuerpo a un antígeno, pero exhiben diversas funciones efectoras, como la participación del anticuerpo en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

**[0177]** El término "región hipervariable", cuando se usa en el presente documento, se refiere a los residuos de aminoácidos de un anticuerpo que son responsables de la unión al antígeno. La región hipervariable generalmente comprende residuos de aminoácidos de una "región determinante de la complementariedad" o "CDR" (por ejemplo, residuos 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en el dominio variable de cadena ligera y 31-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en el dominio variable de cadena pesada; Kabat et al supra) y/o aquellos residuos de un "bucle hipervariable" (por ejemplo, residuos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) en el dominio variable de cadena ligera y 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) en el dominio variable de cadena pesada). Los residuos de "región marco" o "FR" son aquellos residuos del dominio variable distintos de los residuos de la región hipervariable como se definen en el presente documento.

**[0178]** La digestión de anticuerpos con papaína produce dos fragmentos idénticos de unión al antígeno, llamados fragmentos "Fab", cada uno con un único sitio de unión al antígeno, y un fragmento residual "Fc", cuyo nombre refleja su capacidad para cristalizar fácilmente. El tratamiento con pepsina produce un fragmento F(ab')2 que tiene dos sitios de unión al antígeno y todavía es capaz de entrecruzar el antígeno.

**[0179]** "Fv" es el fragmento mínimo de anticuerpo que contiene un sitio completo de reconocimiento y unión de antígeno. Esta región consta de un dímero de un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena ligera en asociación estrecha y no covalente. Es en esta configuración que las tres regiones hipervariables de cada dominio variable interactúan para definir

un sitio de unión al antígeno en la superficie del dímero VH-VL. En conjunto, las seis regiones hipervariables confieren al anticuerpo especificidad de unión al antígeno. Sin embargo, incluso un único dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende sólo tres regiones hipervariables específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque con una afinidad menor que el sitio de unión completo.

**[0180]** El fragmento Fab también contiene el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante (CH1) de la cadena pesada. Los fragmentos Fab' se diferencian de los fragmentos Fab por la adición de unos pocos residuos en el extremo carboxi del dominio CH1 de la cadena pesada que incluye una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Fab'-SH es la designación en el presente documento para Fab' en el que el residuo de cisteína de los dominios constantes porta al menos un grupo tiol libre. Los fragmentos de anticuerpo F(ab')2 se produjeron originalmente como pares de fragmentos Fab' que tienen cisteínas de bisagra entre ellos. También se conocen otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpos.

**[0181]** Las "cadenas ligeras" de anticuerpos de cualquier especie de vertebrados pueden asignarse a uno de dos tipos claramente distintos, llamados kappa (κ) y lambda (λ), según las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes.

**[0182]** Los fragmentos de anticuerpo "Fv monocatenario" o "scFv" comprenden los dominios VH y VL del anticuerpo, en donde estos dominios están presentes en una única cadena polipeptídica. El polipéptido Fv puede comprender, además, un enlazador polipeptídico entre los dominios VH y VL que permite que el scFv forme la estructura deseada para la unión al antígeno.

**[0183]** El término "diacuerpos" se refiere a pequeños fragmentos de anticuerpos con dos sitios de unión al antígeno, cuyos fragmentos comprenden un dominio pesado variable (VH) conectado a un dominio ligero variable (VL) en la misma cadena polipeptídica (VH-VL). Al utilizar un enlazador que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios de la misma cadena, los dominios se ven obligados a emparejarse con los dominios complementarios de otra cadena y crear dos sitios de unión al antígeno.

**[0184]** Un anticuerpo "aislado" es aquel que ha sido identificado y separado y/o recuperado de un componente de su entorno natural. Los componentes contaminantes de su entorno natural son materiales que interferirían con los usos terapéuticos o de diagnóstico del anticuerpo y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteináceos o no proteináceos. En ciertos aspectos, el anticuerpo se purificará (1) hasta más del 95 % en peso de anticuerpo según se determina mediante el método de Lowry o más del 99 % en peso, (2) en un grado suficiente para obtener al menos 15

residuos de secuencia de aminoácidos del extremo N-terminal o interno mediante el uso de un secuenciador de proteínas en fase gaseosa, o (3) hasta la homogeneidad mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras o no reductoras usando tinción azul o plateada de Coomassie. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo in situ dentro de células recombinantes, ya que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. Sin embargo, normalmente el anticuerpo aislado se preparará mediante al menos un paso de purificación.

**[0185]** Un "cáncer" se refiere a un amplio grupo de diversas enfermedades caracterizadas por el crecimiento descontrolado de células anormales en el cuerpo. La división y el crecimiento celular no regulados dan como resultado la formación de tumores malignos que invaden los tejidos vecinos y también pueden metastatizar a partes distantes del cuerpo a través del sistema linfático o el torrente sanguíneo. "Cáncer", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a cánceres primarios, metastásicos y recurrentes.

**[0186]** Como se usa en el presente documento, el término "respuesta inmune" se refiere a una respuesta biológica dentro de un vertebrado contra agentes extraños, cuya respuesta protege al organismo contra estos agentes y las enfermedades causadas por ellos. Una respuesta inmune está mediada por la acción de una célula del sistema inmunológico (por ejemplo, un linfocito T, un linfocito B, una célula asesina natural (NK), un macrófago, un eosinófilo, un mastocito, una célula dendrítica o un neutrófilo) y las macromoléculas solubles producidas por cualquiera de estas células o por el hígado (incluyendo anticuerpos, citoquinas y complemento) que resultan en la selección selectiva, unión, daño, destrucción y/o eliminación del cuerpo del vertebrado de patógenos invasores, células o tejidos infectados con patógenos, células cancerosas u otras células anormales o, en casos de autoinmunidad o inflamación patológica, células o tejidos humanos normales. Una reacción inmune incluye, por ejemplo, activación o inhibición de una célula T, por ejemplo, una célula T efectora o una célula Th, como una célula T $CD4^+$ o $CD8^+$, o la inhibición de una célula Treg. Tal como se utiliza en el presente documento, los términos "célula T" y "linfocitos T" son intercambiables y se refieren a cualquier linfocito producido o procesado por la glándula timo. En algunos aspectos, una célula T es una célula T CD4+. En algunos aspectos, una célula T es una célula T CD8+. En algunos aspectos, una célula T es una célula NKT.

**[0187]** Un "sujeto" incluye cualquier animal humano o no humano. El término "animal no humano" incluye, entre otros, vertebrados tales como primates no humanos, ovejas, perros y roedores tales como ratones, ratas y conejillos de indias. En algunos aspectos, el sujeto es un ser humano. Los términos "sujeto" y "paciente" se utilizan indistintamente en el presente documento.

**[0188]** El término “cantidad terapéuticamente eficaz” o “dosis terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad de un agente (por ejemplo, neodegradador o conjugado de neodegradadores divulgado en el presente documento) que proporciona el resultado biológico, terapéutico y/o profiláctico deseado. Ese resultado puede ser la reducción, mejora, paliación, disminución, retraso y/o alivio de uno o más de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. En referencia a tumores sólidos, una cantidad eficaz comprende una cantidad suficiente para hacer que un tumor se reduzca y/o disminuir la tasa de crecimiento del tumor (tal como para suprimir el crecimiento del tumor) o para prevenir o retrasar otra proliferación celular no deseada. En algunos aspectos, una cantidad eficaz es una cantidad suficiente para retrasar el desarrollo del tumor. En algunos aspectos, una cantidad eficaz es una cantidad suficiente para prevenir o retrasar la recurrencia del tumor. Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones. La cantidad eficaz de la composición puede, por ejemplo, (i) reducir el número de células cancerosas; (ii) reducir el tamaño del tumor; (iii) inhibe, retarda, ralentiza hasta cierto punto y puede detener la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; (iv) inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y puede detener la metástasis tumoral; (v) inhibir el crecimiento tumoral; (vi) prevenir o retrasar la aparición y/o recurrencia del tumor; y/o (vii) aliviar en cierta medida uno o más de los síntomas asociados con el cáncer.

**[0189]** En algunos aspectos, una “cantidad terapéuticamente eficaz” es la cantidad de neodegradador o conjugado de neodegradadores clínicamente demostrado que afecta a una disminución significativa del cáncer o a una ralentización de la progresión (regresión) del cáncer, tal como un tumor sólido avanzado. La capacidad de un agente terapéutico para promover la regresión de la enfermedad se puede evaluar usando una variedad de métodos conocidos por el profesional con conocimientos básicos en la materia, tales como en sujetos humanos durante ensayos clínicos, en sistemas de modelos animales predictivos de eficacia en humanos, o ensayando la actividad del agente en ensayos *in vitro*.

**[0190]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término “estándar de atención” se refiere a un tratamiento aceptado por expertos médicos como un tratamiento adecuado para un determinado tipo de enfermedad y que es ampliamente utilizado por los profesionales de la salud. El término se puede utilizar de forma intercambiable con cualquiera de los siguientes términos: “mejores prácticas”, “estándar de atención médica” y “terapia estándar”.

**[0191]** A modo de ejemplo, un “agente anticancerígeno” promueve la regresión del cáncer en un sujeto o previene un mayor crecimiento tumoral. En ciertos aspectos, una cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco promueve la regresión del cáncer hasta el punto de eliminarlo.

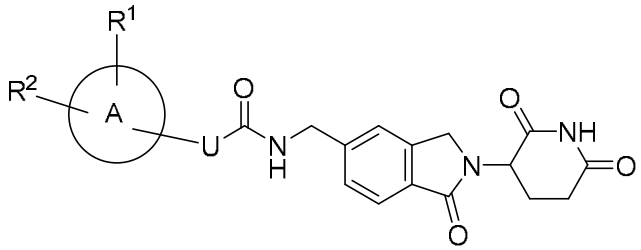
**[0192]** Los términos “eficaz” y “eficacia” con respecto a un tratamiento incluyen tanto la eficacia farmacológica como la seguridad fisiológica. La eficacia farmacológica se refiere a la capacidad del fármaco para promover la regresión del cáncer en el paciente. La seguridad fisiológica se refiere al nivel de toxicidad u otros efectos fisiológicos adversos a nivel celular, de órgano y/u organismo (efectos adversos) resultantes de la administración del fármaco.

**[0193]** Como se usa en el presente documento, el término “inhibidor de punto de control inmunológico” se refiere a moléculas que reducen, inhiben, interfieren o modulan total o parcialmente una o más proteínas de punto de control. Las proteínas de punto de control regulan la activación o función de las células T. Se conocen numerosas proteínas de punto de control, como CTLA-4 y sus ligandos CD80 y CD86; y PD-1 con sus ligandos PD-L1 y PD-L2. Pardoll, DM, *Nat Rev Cancer* 12(4): 252-64 (2012). Estas proteínas son responsables de interacciones coestimuladoras o inhibidoras de las respuestas de las células T. Las proteínas de los puntos de control inmunológico regulan y mantienen la autotolerancia y la duración y amplitud de las respuestas inmunes fisiológicas. Los inhibidores de punto de control inmunológico incluyen anticuerpos o se derivan de anticuerpos.

**[0194]** Los términos “tratar” o “tratamiento” se refieren tanto al tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas, en donde el objetivo es prevenir o ralentizar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado, tal como el desarrollo o la propagación del cáncer. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, entre otros, alivio de los síntomas, disminución de la extensión de la enfermedad, estado estabilizado (es decir, sin empeoramiento) de la enfermedad, retraso o ralentización de la progresión, mejora o paliación de la enfermedad del estado de la enfermedad y la remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. “Tratamiento” también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen a los que ya padecen la afección o trastorno, así como a los propensos a padecer la afección o trastorno o aquellos en los que se debe prevenir la afección o trastorno.

## *II. “Neodegradadores”*

**[0195]** La presente invención proporciona un neodegradador de la fórmula (II):




(II);

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

**[0196]** A es fenilo o un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

**[0197]** U se selecciona entre NH y $CF_2$;

**[0198]** $R^1$ se selecciona independientemente entre hidrógeno y halo;

**[0199]** $R^2$ se selecciona entre -C(O)$R^3$, -N($R^4$)$_2$, -($CH_2$)$_n$OH, -($CH_2$)$_n$SH, -($CH_2$)$_n$N($R^4$)$_2$, -($CH_2$)$_n$Q'($CH_2$)$_m$OH, -($CH_2$)$_n$Q'($CH_2$)$_m$SH, y -($CH_2$)$_n$Q'($CH_2$)$_m$N($R^4$)$_2$; en donde

**[0200]** $R^3$ es hidrógeno o alquilo$C_1$-$C_6$;

**[0201]** cada $R^4$ es independientemente hidrógeno o alquilo$C_1$-$C_6$;

**[0202]** Q' es O, S o N$R^4$;

**[0203]** n es 1-6; y

**[0204]** m es 2-5;

**[0205]** siempre que $R^2$ es $NH_2$, -($CH_2$)$_n$$NH_2$, o -($CH_2$)$_n$OH entonces $R^1$ es halo.

**[0206]** En ciertos aspectos, la presente invención proporciona compuestos de la fórmula (II), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

**[0207]** A es un anillo de fenilo o un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

**[0208]** U es NH;

**[0209]** $R^1$ se selecciona entre hidrógeno y halo;

**[0210]** $R^2$ se selecciona entre -($CH_2$)$_n$Q'($CH_2$)$_m$N($R^4$)$_2$, -($CH_2$)$_n$OH, -($CH_2$)$_n$SH, -N($R^4$)$_2$, y -C(O)$R^3$; en donde:

**[0211]** m es 2;

**[0212]** n es 2;

**[0213]** Q' es -O-;

**[0214]** $R^3$ es metilo; y

**[0215]** cada $R^4$ se selecciona independientemente entre hidrógeno y metilo;

siempre que $R^2$ es $NH_2$ o -($CH_2$)$_n$OH, entonces $R^1$ es halo.

**[0216]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "alcoxi$C_1$-$C_6$" se refiere a un grupo alquilo$C_1$-$C_6$ unido a la fracción molecular original a través de un átomo de oxígeno.

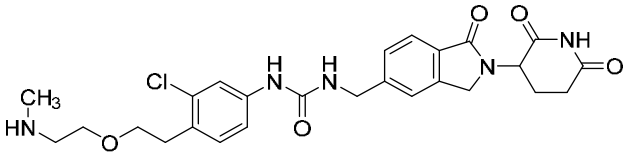
**[0217]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "alcoxi$C_1$-$C_6$-alquilo$C_1$-$C_6$" se refiere a un grupo alcoxi$C_1$-$C_6$ unido a la fracción molecular original a través de un grupo alquilo$C_1$-$C_6$.

**[0218]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "alquilo$C_1$-$C_6$" se refiere a un grupo derivado de un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que contiene de uno a seis átomos de carbono.

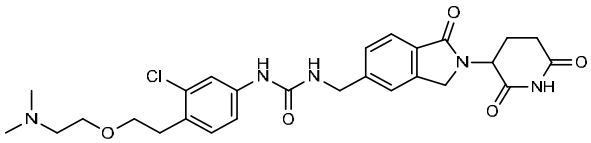
**[0219]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$" se refiere a un sistema de anillos hidrocarbonado monocíclico saturado que tiene de cuatro a diez átomos de carbono y cero heteroátomos. Los ejemplos representativos de grupos cicloalquilo incluyen, entre otros, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Los grupos cicloalquilo que contienen entre siete y diez átomos pueden ser estructuras monocíclicas o condensadas, espirocíclicas o bicíclicas con puente.

**[0220]** Tal como se utiliza en el presente documento, el término "halo" se refiere a F, Cl, Br o I.

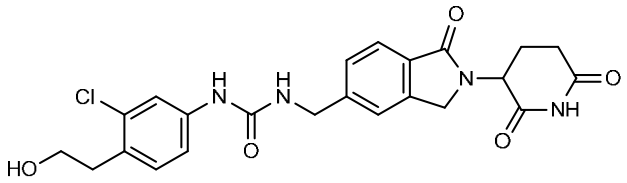
**[0221]** En algunos aspectos, el neodegradador de la fórmula (II) es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



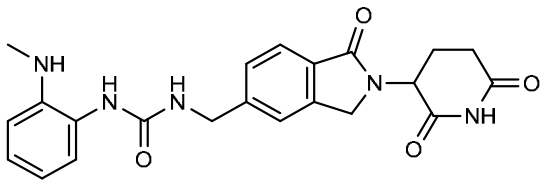

P1 ;



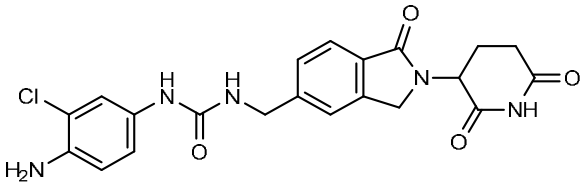

P2 ;



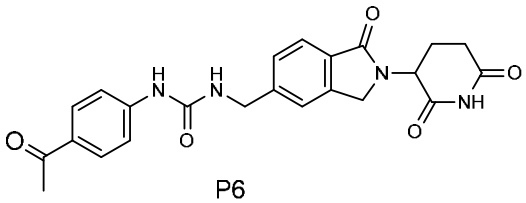

P3 ;



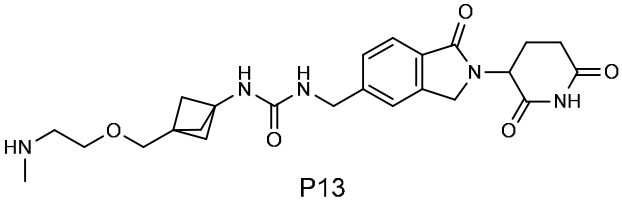

P4 ;



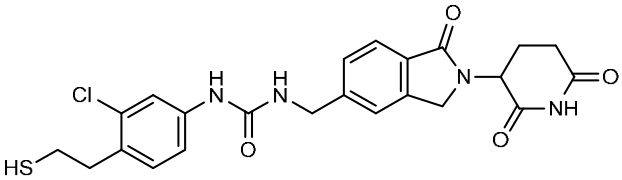
P5 ;



P6 ;

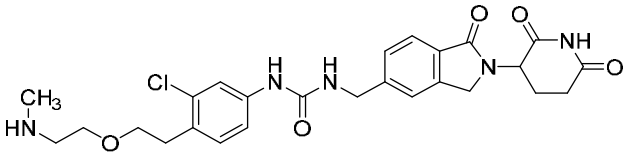


P13 ; y



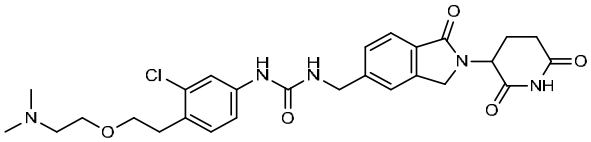
P14 .

**[0222]** En algunos aspectos, el neodegradador de la fórmula (II) es



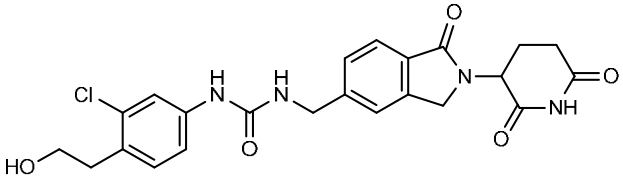
P1 .

**[0223]** En algunos aspectos, el neodegradador de la fórmula (II) es



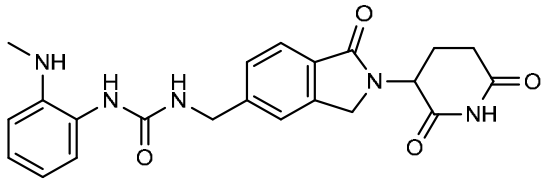
P2 .

**[0224]** En algunos aspectos, el neodegradador de la fórmula (II) es



P3 .

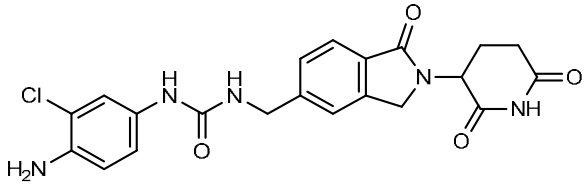
**[0225]** En algunos aspectos, el neodegradador de la fórmula (II) es



P4

.

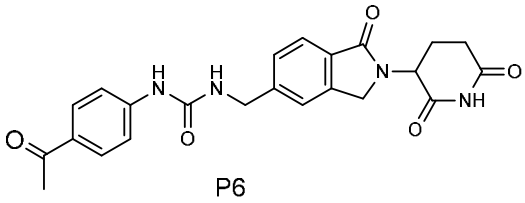
**[0226]** En algunos aspectos, el neodegradador de la fórmula (II) es



P5

.

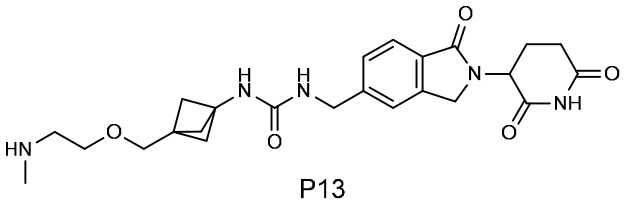
**[0227]** En algunos aspectos, el neodegradador de la fórmula (II) es



P6

.

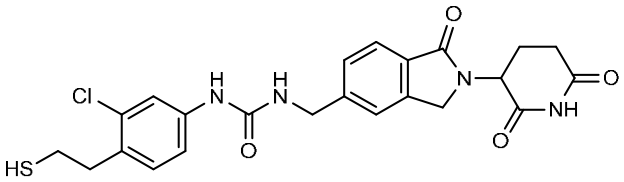
**[0228]** En algunos aspectos, el neodegradador de la fórmula (II) es



P13

.

**[0229]** En algunos aspectos, el neodegradador de la fórmula (II) es



P14

.

**[0230]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona neodegradadores de la fórmula (II), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde A es fenilo; U es NH; $R^1$ es halo; y $R^2$ es $-(CH_2)_nQ'(CH_2)_mN(R^4)_2$, en donde m y n son 2, Q' es O, un $R^4$ es hidrógeno y el otro es metilo.

**[0231]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona neodegradadores de la fórmula (II), en donde A es fenilo; U es NH; $R^1$ es halo; y $R^2$ es $-(CH_2)_nQ'(CH_2)_mN(R^4)_2$, en donde m y n son 2, Q' es O y cada $R^4$ es metilo.

**[0232]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona neodegradadores de la fórmula (II), en donde A es fenilo; U es NH: $R^1$ es halo; y $R^2$ es $-(CH_2)_nOH$, en donde n es 2.

**[0233]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona neodegradadores de la fórmula (II), en donde A es fenilo; U es NH: $R^1$ es halo; y $R^2$ es $-(CH_2)_nSH$, en donde n es 2.

**[0234]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona neodegradadores de la fórmula (II), en donde A es fenilo; U es NH; $R^1$ es hidrógeno; y $R^2$ es $-N(R^4)_2$, en donde un $R^4$ es hidrógeno y el otro es metilo.

**[0235]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona neodegradadores de la fórmula (II), en donde A es fenilo; U es NH; $R^1$ es halo; y $R^2$ es $-N(R^4)_2$, en donde cada $R^4$ es hidrógeno. En algunos aspectos, la presente invención proporciona neodegradadores de la fórmula (II), en donde A es fenilo; $R^1$ es hidrógeno; y $R^2$ $-C(O)R^3$, en donde $R^3$ es metilo.

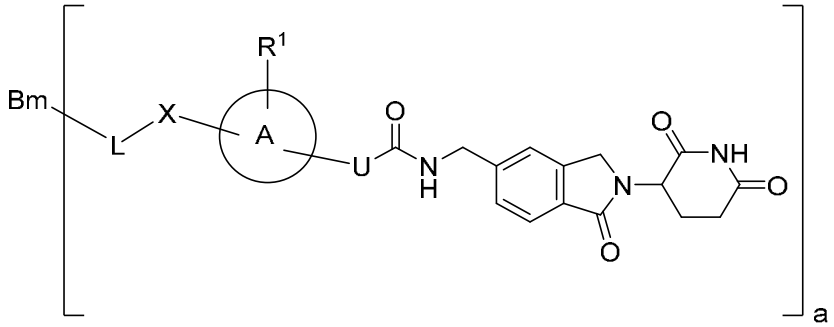
**[0236]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona neodegradadores de la fórmula (II), en donde A es un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$; U es NH; $R^1$ es hidrógeno; y $R^2$ es $-(CH_2)_nQ'(CH_2)_mN(R)^4)_2$, en donde m y n son 2, Q' es O, un $R^4$ es hidrógeno y el otro es metilo.

**[0237]** En algunos aspectos, un neodegradador es una molécula que forma un complejo ternario con una ubiquitina ligasa E3 que es capaz de dirigirse a una proteína para su degradación.

### *III. Conjugados de neodegradadores*

**[0238]** La presente invención proporciona conjugados de uno o más neodegradadores divulgados en el presente documento y un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo divulgada en el presente documento. Estos conjugados pueden degradar proteínas uniéndose al cereblón (CRBN), promoviendo el reclutamiento y la ubiquitinación de proteínas sustrato mediadas por $CRL4^{CRBN}$ de ubiquitina ligasa E3. Estos agentes actúan como "pegamentos moleculares", llenando la interfaz de unión como un parche hidrofóbico que reprograma las interacciones proteicas entre la ligasa y los neosustratos.

**[0239]** En algunos aspectos, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula (I),




(I),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

**[0240]** a es un número entero del 1 al 10;

**[0241]** A es fenilo o un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

**[0242]** $R^1$ se selecciona entre hidrógeno y halo;

**[0243]** U se selecciona entre NH y $CF_2$;

**[0244]** X se selecciona entre -$NR^2$-, =$C(CH_3)$-, -Q-$(CH_2)_n$-, y -Q$(CH_2)_m$Q'$(CH_2)_n$-; en donde

**[0245]** Q y Q' son cada uno independientemente O, S o $NR^2$;

**[0246]** $R^2$ es hidrógeno o alquilo$C_1$-$C_6$;

**[0247]** n es un número entero del 1 al 6;

**[0248]** m es un número entero del 2 al 6;

**[0249]** en donde el lado izquierdo de cada grupo está unido a L y el lado derecho está unido a A;

**[0250]** siempre que X es NH o -Q-$(CH_2)_n$-, $R^1$ es halo;

**[0251]** L es un enlazador escindible o un enlazador no escindible; y

**[0252]** Bm es un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo divulgada en el presente documento.

**[0253]** En algunos aspectos, U es NH.

**[0254]** En algunos aspectos, el conjugado de neodegradadores descrito en el presente documento tiene actividad antiproliferativa *in vitro* contra una línea celular tumoral. En algunos aspectos, el conjugado de neodegradador que comprende un neodegradador y un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo divulgada en el presente documento tiene actividad antiproliferativa in vitro al menos aproximadamente 50 %, al menos aproximadamente 60 %, al menos aproximadamente 70 %, al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 % o al menos aproximadamente 100 %

mayor que el neodegradador solo o el anticuerpo anti-CD33, o una porción de unión al antígeno del mismo, divulgado en el presente documento solo. En algunos aspectos, el conjugado de neodegradador que comprende un neodegradador y un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo divulgada en el presente documento tiene actividad antiproliferativa in vitro al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 3 veces, al menos aproximadamente 4 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 6 veces, al menos aproximadamente 7 veces, al menos aproximadamente 8 veces, al menos aproximadamente 9 veces, al menos aproximadamente 10 veces mayor que el neodegradador solo o el anticuerpo anti-CD33, o una porción de unión al antígeno del mismo, divulgado en el presente documento solo.

**[0255]** En algunos aspectos, los conjugados de neodegradadores descritos en el presente documento tienen actividad antiproliferativa *in vitro* contra una línea celular de linfoma de Daudi, por ejemplo, mayor actividad antiproliferativa contra una línea celular de linfoma de Daudi, en comparación con el neodegradador solo o el anticuerpo anti-CD33, o una porción de unión al antígeno del mismo, solo. En algunos aspectos, los conjugados de neodegradadores descritos en el presente documento tienen actividad antiproliferativa *in vitro* contra la línea celular de leucemia mieloide aguda HL-60, por ejemplo, mayor actividad antiproliferativa contra una línea celular de leucemia mieloide aguda HL-60, en comparación con el neodegradador solo o el anticuerpo anti-CD33, o una porción de unión al antígeno del mismo, solo. En algunos aspectos, los conjugados de neodegradadores descritos en el presente documento tienen actividad antiproliferativa *in vitro* contra una línea celular de linfoma de Daudi, por ejemplo, mayor actividad antiproliferativa contra una línea celular de linfoma de Daudi, en comparación con el neodegradador solo o el anticuerpo anti-CD33, o una porción de unión al antígeno del mismo, solo. En algunos aspectos, los conjugados de neodegradadores descritos en el presente documento son capaces de mantener su actividad antiproliferativa en presencia de suero humano. Los conjugados de neodegradadores descritos en el presente documento se pueden utilizar en el tratamiento de cánceres.

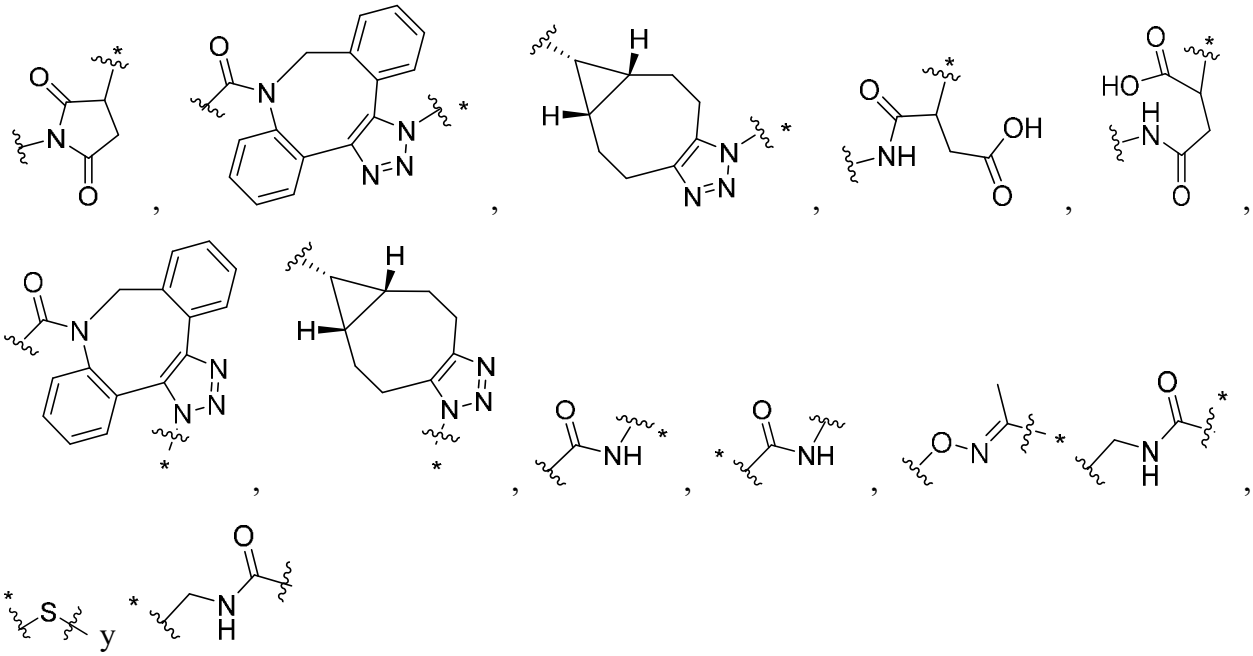
**[0256]** En algunos aspectos, un conjugado de anticuerpo neodegradador (AnDC) es un conjugado de uno o más neodegradadores descritos en el presente documento y un anticuerpo anti-CD33, o una porción de unión al antígeno del mismo, divulgado en el presente documento.

### *III.A. Enlazador*

**[0257]** El neodegradador de la presente invención se puede unir al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo a través de un enlazador. Como se usa en el presente documento, el término “enlazador” se refiere a cualquier fracción química capaz de conectar el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo (Bm) al grupo X dentro de los compuestos de la fórmula (I).

**[0258]** En ciertos aspectos, el enlazador puede contener un grupo heterobifuncional. En la presente invención, el término “grupo heterobifuncional” se refiere a una fracción química que conecta el enlazador del que forma parte con el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo. Los grupos heterobifuncionales se caracterizan por tener diferentes grupos reactivos en cada extremo de la fracción química. La adhesión a “Bm” se puede lograr mediante conjugación química o enzimática, o una combinación de ambas. La conjugación química implica la reacción controlada de residuos de aminoácidos accesibles en la superficie del anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo con un mango de reacción en el grupo heterobifuncional. Los ejemplos de conjugación química incluyen, entre otros, acoplamiento de lisina amida, acoplamiento de cisteína y acoplamiento mediante un aminoácido no natural incorporado mediante ingeniería genética, en donde los residuos de aminoácidos no naturales con un mango de reacción deseada se instalan en “Bm”. En la conjugación enzimática, una enzima media el acoplamiento del enlazador con un residuo amino accesible en el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo. Ejemplos de conjugación enzimática incluyen, entre otros, transpeptidación usando sortasa, transpeptidación usando transglutaminasa microbiana e ingeniería de N-glicanos. También se pueden utilizar secuencialmente la conjugación química y la conjugación enzimática. Por ejemplo, la conjugación enzimática también se puede utilizar para instalar mangos de reacción únicos en “Bm” que se utilizarán en la conjugación química posterior.

**[0259]** En algunos aspectos, el grupo heterobifuncional se selecciona entre:



en donde

es el punto de unión a la porción restante del enlazador; y

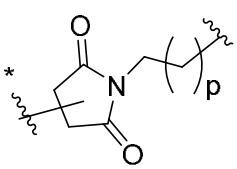
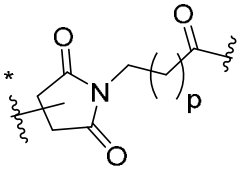
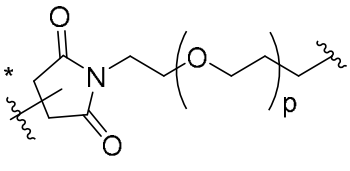
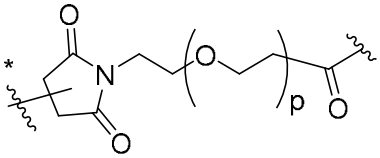
* el punto de unión a Bm.

**[0260]** En ciertos aspectos, el enlazador “L” es no escindible. Como se usa en el presente documento, el término “enlazador no escindible” es cualquier fracción química que sea capaz de unir el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo al neodegradador de una manera estable y covalente, y no cae en las categorías definidas en este documento como “enlazadores escindibles”. Por consiguiente, los enlazadores no escindibles son sustancialmente resistentes a escisión inducida por ácido, escisión inducida por luz, escisión biorreductora, escisión inducida por peptidasa, escisión inducida por esterasa y escisión por enlaces disulfuro. “Sustancialmente resistente a la escisión” significa que el enlace químico en el enlazador o contiguo al enlazador es de al menos el 80 %, preferiblemente al menos el 85 %, más preferiblemente al menos el 90 %, incluso más preferiblemente al menos el 95 % y lo más preferiblemente al menos el 90 %. El 99 % de la población de anticuerpos conjugados de neodegradadores permanece no escindible por un ácido, un agente de escisión fotolábil, un agente biorreductor, una peptidasa, una esterasa o un compuesto químico o fisiológico que escinde el enlace químico (por ejemplo, un enlace disulfuro) en un enlazador escindible, durante unas pocas horas a varios días de tratamiento con cualquiera de los agentes descritos anteriormente. En ciertos aspectos, el enlazador no es susceptible a escisión inducida por ácido, escisión fotoinducida,

escisión biorreductora, escisión enzimática o similares, en condiciones bajo las cuales el anticuerpo neodegradador y/o anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo puede permanecer en actividad. Los catabolitos de ADC generados a partir de enlazadores no escindibles contienen un aminoácido residual del anticuerpo. Estos catabolitos pueden ejercer propiedades únicas e inesperadas en las células diana a las que se administran.

**[0261]** Una persona con conocimientos básicos en la materia distinguiría fácilmente los enlazadores no escindibles de los escindibles.

**[0262]** Los ejemplos de enlazadores no escindibles incluyen, entre otros, enlazadores SMCC (4-(N-maleimidometil)ciclohexan-1-carboxilato de succinimidilo), enlazadores de tioéter de succinimida y enlazadores tales como:

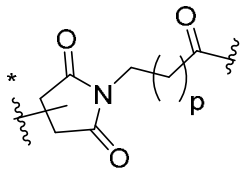

,

,

y

; en donde:

**[0263]** p es un número entero del 1 al 10;

**[0264]** es el punto de unión a X; y

**[0265]** es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0266]** En algunos aspectos, el enlazador es:


.

En algunos aspectos, p es 5.

**[0267]** En ciertos aspectos el enlazador puede ser escindible. En ciertos aspectos, el enlazador puede ser susceptible a escisión inducida por ácido, escisión fotoinducida, escisión biorreductora, escisión enzimática o similares, en condiciones bajo las cuales el anticuerpo neodegradador y/o anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo puede permanecer en actividad.

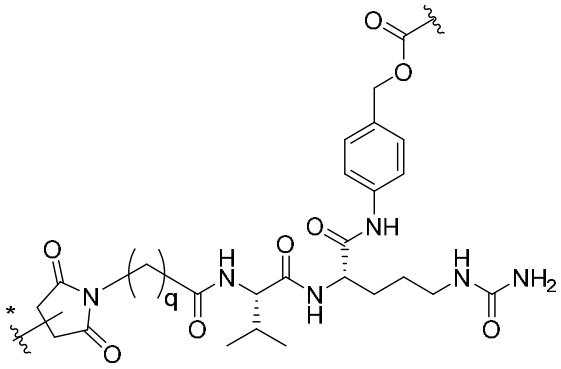
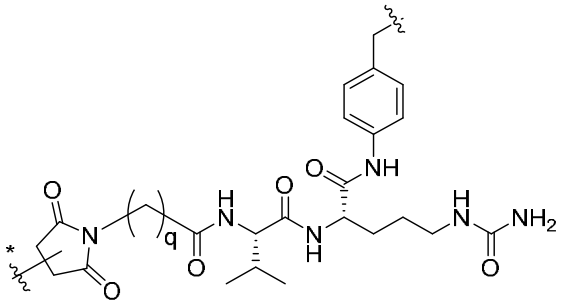
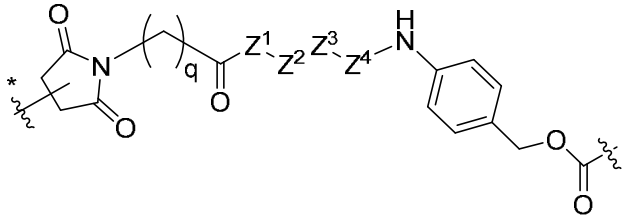
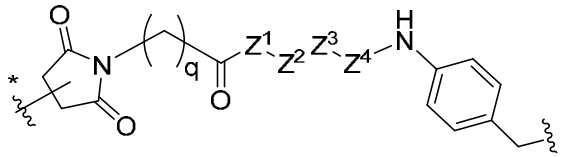
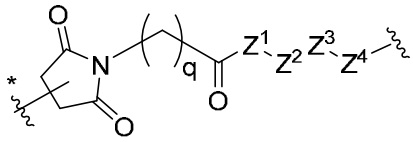
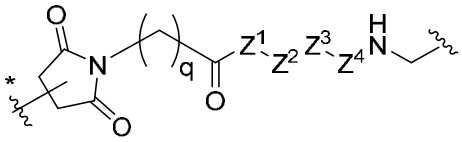
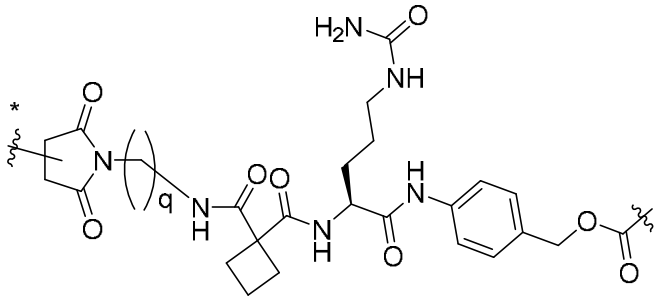
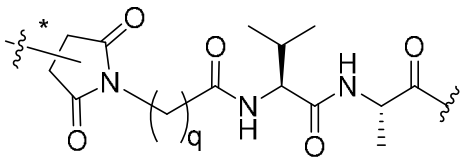
**[0268]** En algunos aspectos, el enlazador escindible puede escindirse enzimáticamente. En algunos aspectos, el enlazador escindible puede escindirse mediante una proteasa, peptidasa, esterasa, beta-gluroronidasa, glicosidasa, fosfodiesterasa, fosfatasa, pirofosfatasa o lipasa.

**[0269]** En algunos aspectos, el enlazador escindible puede escindirse mediante una proteasa. Los ejemplos de proteasas incluyen, entre otros, catepsina B, tetrapéptido VAGP y similares.

**[0270]** En ciertos aspectos, el enlazador escindible contiene un péptido. En algunos aspectos, el péptido es el sitio de escisión del enlazador, facilitando así la liberación del fármaco tras la exposición a proteasas intracelulares, tales como enzimas lisosomales. Los péptidos pueden diseñarse y optimizarse para la escisión enzimática mediante una enzima particular, por ejemplo, una proteasa asociada a tumores, catepsina B, C y D, o una plasmina proteasa. Ejemplos de péptidos que tienen dos aminoácidos incluyen, entre otros, alanina-alanina (ala-ala), valina-alanina (val-ala), valina-citrulina (vc o val-cit), alanina-fenilalanina (af o ala-phe); fenilalanina-lisina (fk o phe-lys); fenilalanina-homolisina (phe-homolys); y N-metil-valina-citrulina (Me-val-cit). Ejemplos de péptidos que tienen tres aminoácidos incluyen, entre otros, glicina-valina-citrulina (gly-val-cit), ácido aspártico-valina-citrulina (asp-val-cit), alanina-alanina-asparagina (ala-ala-asn), alanina-fenilalanina-lisina (ala-phe-lys), glicina-glicina-fenilalanina (gly-gly-phe) y glicina-glicina-glicina (gly-gly-gly). Los ejemplos de péptidos que tienen cuatro aminoácidos incluyen, entre otros, glicina-glicina-valina-citrulina (gly-gly-val-cit) y glicina-glicina-fenilalanina-glicina (gly-gly-phe-gly). Las combinaciones de aminoácidos anteriores también pueden estar presentes en orden inverso (es decir, cit-val).

**[0271]** Los péptidos de la presente invención pueden comprender isómeros L o D de residuos de aminoácidos. El término “aminoácido natural” se refiere a Ala, Asp, Asx, Cit, Cys, Glu, Phe, Glx, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp y Tyr. “D-” designa un aminoácido que tiene la configuración “D” (dextrógira), a diferencia de la configuración de los aminoácidos naturales (“L-”). Los aminoácidos descritos en el presente documento pueden adquirirse comercialmente (Sigma Chemical Co., Advanced Chemtech) o sintetizarse utilizando métodos conocidos en la materia.

**[0272]** En ciertos aspectos, el enlazador (“L”) es un enlazador escindible por proteasa seleccionado entre


;

;

;

;

;

;

y

;

en donde:

**[0273]** q es un número entero del 2 al 10;

**[0274]** $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ están cada uno independientemente ausentes o son un residuo de aminoácido natural en la configuración L o D, siempre que al menos dos de $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ sean residuos de aminoácidos;

**[0275]** ∿ es el punto de unión a X; y

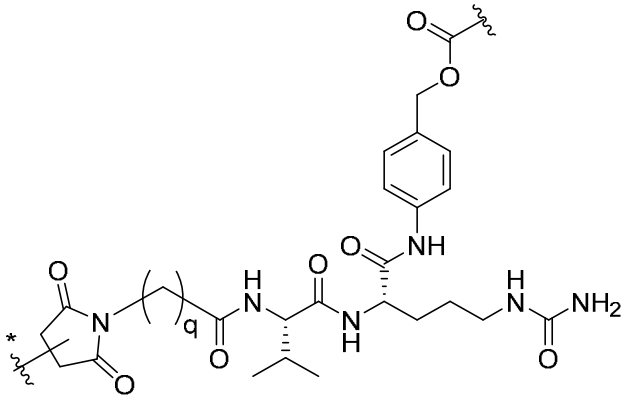
**[0276]** ∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0277]** En algunos aspectos, $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ están independientemente ausentes o se seleccionan del grupo que consiste en L-valina, D-valina, L-citrulina, D-citrulina, L-alanina, D-alanina, L-glutamina, D-glutamina, ácido L-glutámico, ácido D-glutámico, ácido L-aspártico,

ácido D-aspártico, L-asparagina, D-asparagina, L-fenilalanina, D-fenilalanina, L-lisina, D-lisina y glicina; siempre que al menos dos de $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ sean residuos de aminoácidos.

**[0278]** En algunos aspectos, $Z^1$ está ausente o es glicina; $Z^2$ está ausente o se selecciona entre L-glutamina, D-glutamina, ácido L-glutámico, ácido D-glutámico, ácido L-aspártico, ácido D-aspártico, L-alanina, D-alanina y glicina; $Z^3$ se selecciona entre L-valina, D-valina, L-alanina, D-alanina, L-fenilalanina, D-fenilalanina y glicina; y $Z^4$ se selecciona entre L-alanina, D-alanina, L-citrulina, D-citrulina, L-asparagina, D-asparagina, L-lisina, D-lisina, L-fenilalamina, D-fenilalanina y glicina.

**[0279]** En algunos aspectos, L es

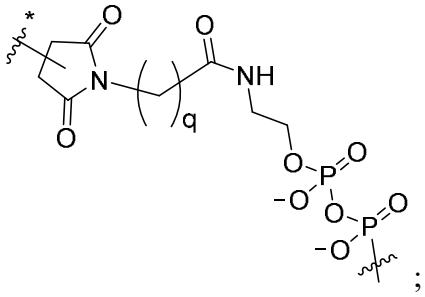



.

**[0280]** En algunos aspectos, q es 5.

**[0281]** En ciertos aspectos, L es un enlazador escindible por pirofosfatasa.

**[0282]** En algunos aspectos, L es un enlazador escindible por pirofosfatasa que es:




;

en donde:

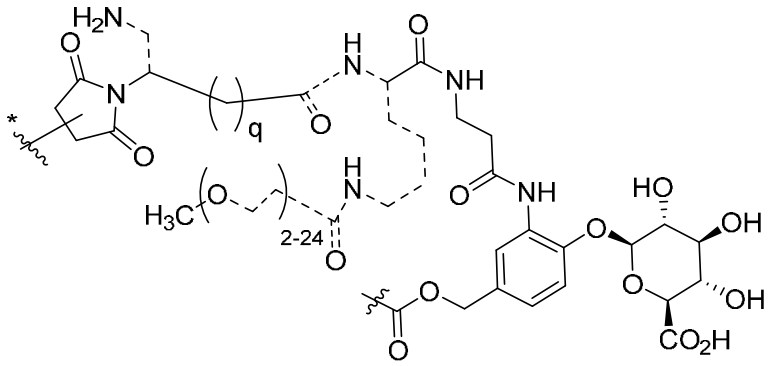
**[0283]** q es un número entero del 2 al 10;

**[0284]** es el punto de unión a X; y

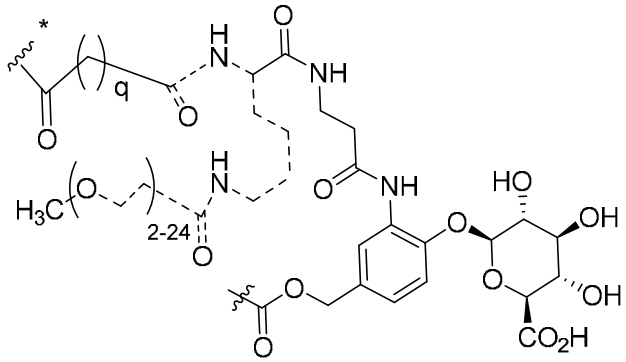
**[0285]** * es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0286]** En ciertos aspectos, L es un enlazador escindible por beta-glucuronidasa.

**[0287]** En algunos aspectos, L es un enlazador escindible por beta-glucuronidasa seleccionado entre:




y




;

;

en donde:

**[0288]** q es un número entero del 2 al 10;

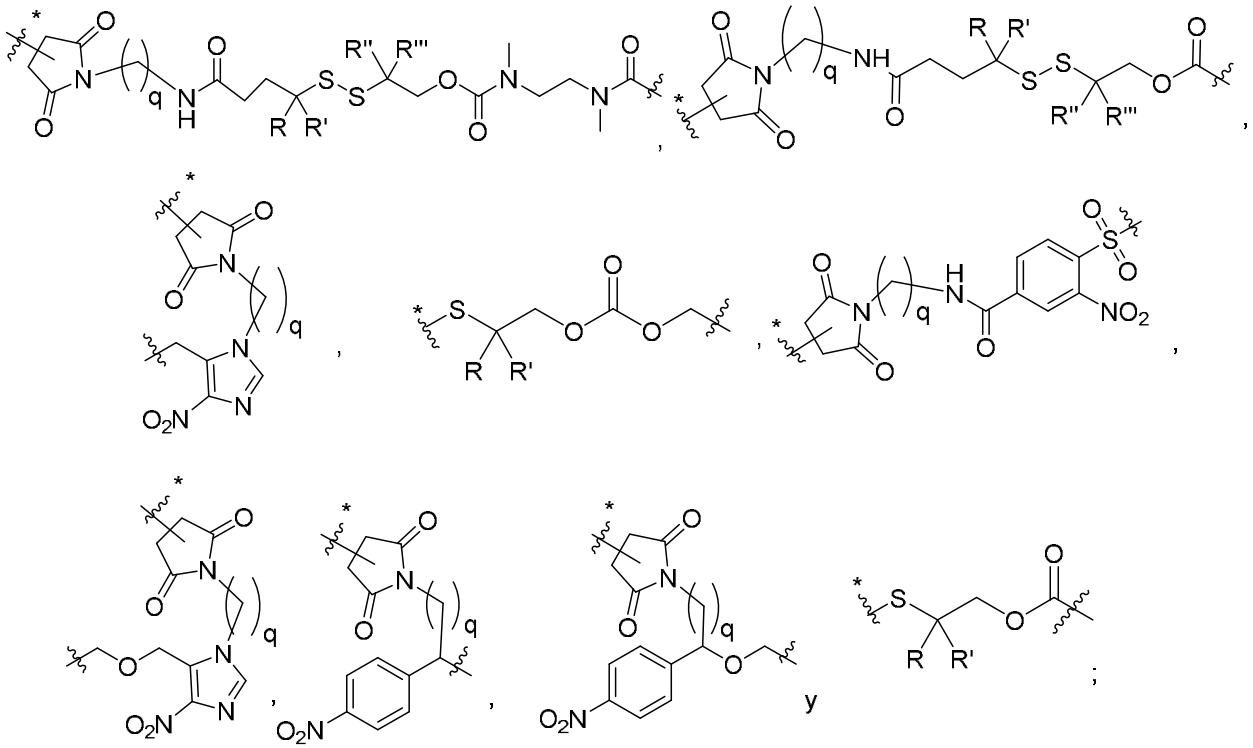
**[0289]** ---- está ausente o es un enlace;

**[0290]** ∿ es el punto de unión a X; y

**[0291]** ∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0292]** En algunos aspectos, el enlazador es biorreducible. Los enlazadores biorreducibles aprovechan la diferencia en el potencial de reducción en el compartimento intracelular frente al plasma. El glutatión reducido presente en el citoplasma de las células tumorales es hasta 1000 veces mayor que el presente en el citoplasma de las células normales, y las células tumorales también contienen enzimas que pueden contribuir a la reducción de los compartimentos celulares. Los enlazadores mantienen los conjugados intactos durante la circulación sistémica y se escinden selectivamente mediante la alta concentración intracelular de glutatión, liberando los fármacos activos en los sitios del tumor a partir de los profármacos no tóxicos.

**[0293]** En algunos aspectos, L es un enlazador biorreducible seleccionado entre:



en donde:

**[0294]** q es un número entero del 2 al 10;

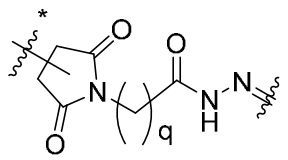
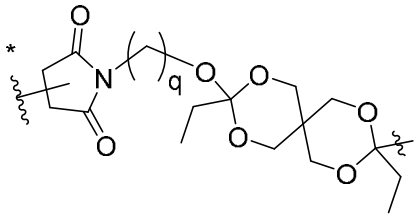
**[0295]** R, R', R'' y R''' se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alcoxi$C_1$-$C_6$-alquilo$C_1$-$C_6$, $(C_1$-$C_6)_2$N-alquilo$C_1$-$C_6$ y alquilo$C_1$-$C_6$, o dos grupos geminales R, junto con el átomo de carbono al que están unidos, pueden formar un anillo ciclobutilo o ciclopropilo;

**[0296]** ∿ es el punto de unión a X; y

**[0297]** ∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0298]** En ciertos aspectos, el enlazador es escindible con ácido. Los enlazadores escindibles con ácido están diseñados específicamente para permanecer estables en el pH neutro de la circulación sanguínea, pero se someten a hidrólisis y liberan el fármaco citotóxico en el entorno ácido de los compartimentos celulares.

**[0299]** En algunos aspectos, L es un enlazador escindible con ácido seleccionado entre


y

;

en donde:

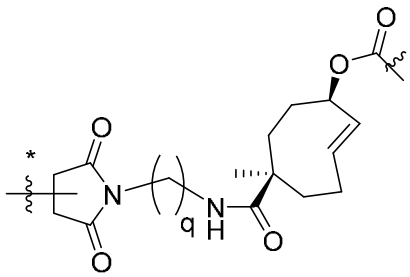
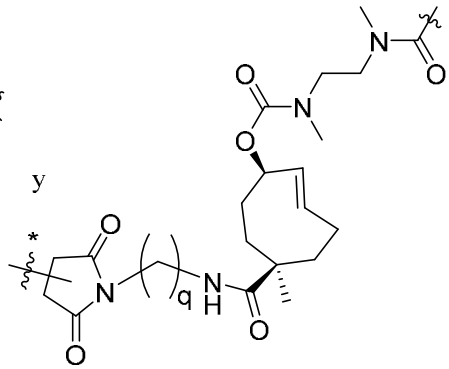
**[0300]** q es un número entero del 2 al 10;

**[0301]** es el punto de unión a X; y

**[0302]** es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0303]** En ciertos aspectos, L es un enlazador de liberación por reacción (*click-to-release*), en donde la liberación del neodegradador es desencadenada químicamente por una tetrazina o un compuesto relacionado.

**[0304]** En algunos aspectos, L es un enlazador de liberación por reacción (*click-to-release*) seleccionado entre


y

;

en donde:

**[0305]** q es un número entero del 2 al 10;

**[0306]** es el punto de unión a X; y

**[0307]** es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

### *III.B. Anticuerpo anti-CD33*

**[0308]** La presente invención proporciona neodegradadores conjugados con un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0309]** CD33 es un receptor transmembrana expresado tanto en células mieloides como linfoides. Se une al ácido siálico y, por lo tanto, es miembro de la familia de lectinas tipo inmunoglobulina que se unen al ácido siálico (SIGLEC). CD33 desempeña un papel en la mediación de las interacciones entre células y en el mantenimiento de las células inmunitarias en estado de reposo. Tras la unión, el motivo de inhibición basado en tirosina del inmunorreceptor (ITIM) de CD33, presente en la porción citosólica de la proteína, se fosforila y actúa como un sitio de acoplamiento para proteínas que contienen el dominio de homología 2 (SH2) de Src, como las fosfatasas SHP. Esto puede resultar en una cascada que inhibe la fagocitosis en la célula. Estructuralmente, la porción extracelular de CD33 contiene dos dominios de inmunoglobulina y la porción intracelular contiene el ITIM. Los sinónimos de CD33 incluyen, entre otros, lectina 3 similar a Ig que se une al ácido siálico, SIGLEC3, SIGLEC-3, gp67 y p67.

**[0310]** La secuencia de aminoácidos canónica para CD33 humano y las isoformas conocidas se muestran en la Tabla 1 (UniProtKB - P20138; SEQ ID NO: 13-18).

Tabla 1. Secuencias de aminoácidos de CD33 humano

| | |
|---|---|
| CD33 canónico | MPLLLLLPLLWAGALAMDPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYYDKNSPVHGYWFRE GAIISRDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMERGSTK YSYKSPQLSVHVTDLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAPTSLGP RTTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQE TRAGVVHGAIGGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKKSK LHGPTETSSCSGAAPTVEMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ (SEQ ID NO: 13) |
| Isoforma 2 humana de CD33 | MPLLLLLPLLWADLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAPTSLGPR TTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQET RAGVVHGAIGGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKKSKL HGPTETSSCSGAAPTVEMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ (SEQ ID NO: 14) |
| Isoforma 3 humana de CD33 | MPLLLLLPLLWAGALAMDPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYYDKNSPVHGYWFRE GAIISRDSPVATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMERGSTK YSYKSPQLSVHVTDLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAPTSLGP RTTHSSVLIITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQE TRAGVVHGAIGGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPVR(SEQ ID NO: 15) |
| Isoforma X1 humana de CD33 | MDLGEAATRARPAVISPGVNSCAQKSTSEWKDFRHGVRMSQMALKEALEAASSDMPLLLLLPL LWAGALAMDPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYYDKNSPVHGYWFREGAIISRDSP VATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMERGSTKYSYKSPQLS VHVTDLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAPTSLGPRTTHSSVLI ITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQETRAGVVHGA IGGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKKSKLHGPTETSS CSGAAPTVEMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ (SEQ ID NO: 16) |
| Isoforma X2 humana de CD33 | MDLGEAATRARPAVISPGVNSCAQKSTSEWKDFRHGVRMSQMALKEALEAASSDMPLLLLLPL LWAGALAMDPNFWLQVQESVTVQEGLCVLVPCTFFHPIPYYDKNSPVHGYWFREGAIISRDSP VATNKLDQEVQEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMERGSTKYSYKSPQLS VHVTDLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAPTSLGPRTTHSSVLI ITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTWKQETRAGVVHGAIGGAGVTALLALCLCL IFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKKSKLHGPTETSSCSGAAPTVEMDEELHY ASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ(SEQ ID NO: 17) |

| | |
|---|---|
| Isoforma X4 humana de CD33 | MDLGEAATRARPAVISPGVNSCAQKSTSEWKDFRHGVRMSQMALKEALEAASSDMPLLLLLPL LWADLTHRPKILIPGTLEPGHSKNLTCSVSWACEQGTPPIFSWLSAAPTSLGPRTTHSSVLII TPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVPQNPTTGIFPGDGSGKQETRAGVVHGAI GGAGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKKSKLHGPTETSSC SGAAPTVEMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ (SEQ ID NO: 18) |

**[0311]** CD33 se expresa en aproximadamente el 90 % de los casos de leucemia mieloide aguda (AML) y ha demostrado utilidad como objetivo de anticuerpos terapéuticos. Hace aproximadamente tres décadas se reportó una alta expresión de CD33 en blastos de AML. CD33 se detectó en blastos del 85-90 % de los pacientes que presentaban AML, así como en progenitores mieloides y mielocitos normales. CD33 está restringido a las células hematopoyéticas, pero está ausente en las células madre hematopoyéticas normales, lo que lo convierte en un objetivo ideal para la terapia de AML.

**[0312]** Los anticuerpos anti-CD33 para los conjugados de la presente invención son capaces de unirse específicamente a CD33. En algunos aspectos, los anticuerpos anti-CD33 descritos en el presente documento se unen a CD33 humano con alta afinidad, por ejemplo, con una $K_D$ de $10^{-6}$ M o menos, $10^{-7}$ M o menos, $10^{-8}$ M o menos, $10^{-9}$ M o menos, $10^{-10}$ M o menos, $10^{-11}$ M o menos, $10^{-12}$ M o menos, $10^{-12}$ m a $10^{-7}$ M, $10^{-11}$ m a $10^{-7}$ M, $10^{-10}$ m a $10^{-7}$ M, o $10^{-9}$ M a $10^{-7}$ M.

**[0313]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde la cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (VH) y la cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (VL); en donde la VH comprende una región determinante de la complementariedad (CDR) 1 de VH (VH-CDR1), una VH-CDR2 y una VH-CDR3 y la VL comprende una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3; en donde VH-CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 3. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una VH-CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 96 %, al menos aproximadamente el 97 %, al menos aproximadamente el 98 %, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una VH-CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 %, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una VL-CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 %, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una VL-CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 %, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una VL-CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 %, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7. En algunos aspectos, las CDR comprenden las secuencias que se muestran en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2. Secuencias de CDR de CD33AB y gemtuzumab y secuencias de regiones variables

| | |
|---|---|
| VH-CDR1 (SEQ ID NO: 1) | DSNIH |
| VH-CDR2 (SEQ ID NO: 2) | YIYPYNGGTDYNQKFKN |
| VH-CDR3 (SEQ ID NO: 3) | GNPWLAY |
| VH (SEQ ID NO: 4) | EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIYPYNGGTDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPWLAYWGQGTLVTVSS |
| VL-CDR1 (SEQ ID NO: 5) | RASESLDNYGIRFLT |
| VL-CDR2 (SEQ ID NO: 6) | AASNQGSG |
| VL-CDR3 (SEQ ID NO: 7) | QQTKEVPWS |
| VL (SEQ ID NO: 8) | DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESLDNYGIRFLTWFQQKPGKAPKLLMYAASNQGSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQTKEVPWSFGQGTKVEVK |

**[0314]** En algunos aspectos, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo anti-CD33 comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4. En algunos aspectos, la región variable de cadena ligera del anticuerpo anti-CD33 comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8.

**[0315]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia con al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia con al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 % o al menos aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8.

**[0316]** En algunos aspectos, la cadena pesada del anticuerpo anti-CD33 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 % o al menos aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 11. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 10 o SEQ ID NO: 12.

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos del anticuerpo anti-CD33.

| | |
|---|---|
| Cadena pesada de CD33AB (SEQ ID NO: 9) | EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIY PYNGGTDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPWL AYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK |
| Cadena ligera de CD33AB (SEQ ID NO: 10) | DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESLDNYGIRFLTWFQQKPGKAPKLLMY AASNQGSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQTKEVPWSFGQGT KVEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC |
| Cadena pesada de gemtuzumab (SEQ ID NO: 11) | EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTITDSNIHWVRQAPGQSLEWIGYIY PYNGGTDYNQKFKNRATLTVDNPTNTAYMELSSLRSEDTAFYYCVNGNPWL AYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK |
| Cadena ligera de gemtuzumab (SEQ ID NO: 12) | DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESLDNYGIRFLTWFQQKPGKAPKLLMY AASNQGSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQTKEVPWSFGQGT KVEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC |

**[0317]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 % o al menos aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 10.

**[0318]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 11 y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 % o al menos aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 12.

**[0319]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 se divulga en las patentes estadounidenses nro. 5.585.089 y 5.693.762, cada una de las cuales se incorpora expresamente en el presente documento como referencia.

**[0320]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde la cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (VH) y la cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (VL); en donde la VH comprende una región determinante de la complementariedad (CDR) 1 de VH (VH-CDR1), una VH-CDR2 y una VH-CDR3 y la VL comprende una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3; en donde VH-CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 21. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una VH-CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 %, al menos aproximadamente el 96 %, al menos aproximadamente el 97 %, al menos aproximadamente el 98 %, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una VH-CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 %, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una VL-CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos

aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 %, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una VL-CDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 %, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una VL-CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 %, o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24. En algunos aspectos, las CDR comprenden las secuencias que se muestran en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4. Secuencias de CDR de huMy9-6 y AB1 y secuencias de regiones variables

| | |
|---|---|
| VH-CDR1 (SEQ ID NO: 19) | SYYIH |
| VH-CDR2 (SEQ ID NO: 20) | VIYPGNDDISYNQKFQG |
| VH-CDR3 (SEQ ID NO: 21) | EVRLRYFDV |
| VH (SEQ ID NO: 27) | QVQLQQPGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYYIHWIKQTPGQGLEWVGVIYPGNDDISYNQKFQGKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAREVRLRYFDVWGQGTTVTVSS |
| VL-CDR1 (SEQ ID NO: 22) | KSSQSVFFSSSQKNYLA |
| VL-CDR2 (SEQ ID NO: 23) | WASTRES |
| VL-CDR3 (SEQ ID NO: 24) | HQYLSSRT |
| VL (SEQ ID NO: 28) | EIVLTQSPGSLAVSPGERVTMSCKSSQSVFFSSSQKNYLAWYQQIPGQSPRLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQPEDLAIYYCHQYLSSRTFGQGTKLEIK |

**[0321]** En algunos aspectos, la región variable de la cadena pesada del anticuerpo anti-CD33 comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27. En algunos aspectos, la región variable de cadena ligera del anticuerpo anti-CD33 comprende una secuencia de aminoácidos con al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28.

**[0322]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia con al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia con al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 % o al menos aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28.

**[0323]** En algunos aspectos, la cadena pesada del anticuerpo anti-CD33 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 80 %, al menos aproximadamente 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 % o al menos aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 25. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 96 %, al menos aproximadamente el 97 %, al menos aproximadamente el 98 % o al menos aproximadamente el 99 % de identidad de secuencia con 26.

Tabla 5. Secuencias de aminoácidos del anticuerpo anti-CD33 de huMy9-6-IgG4-S228P ("AB1").

| | |
|---|---|
| Cadena pesada (SEQ ID NO: 25) | QVQLQQPGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYYIHWIKQTPGQGLEWVGVI YPGNDDISYNQKFQGKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAREVRLR YFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK |
| Cadena ligera (SEQ ID NO: 26) | EIVLTQSPGSLAVSPGERVTMSCKSSQSVFFSSSQKNYLAWYQQIPGQSPRLLI YWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQPEDLAIYYCHQYLSSRTFGQGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC |

**[0324]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 % o al menos aproximadamente un 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 25 y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente 90 %, al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 % o al menos aproximadamente 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 26. El término "CD33AB" comprende una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 25 y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 26.

**[0325]** Los anticuerpos anti-CD33 incluyen análogos y derivados que están modificados, es decir, mediante la adhesión covalente de cualquier tipo de molécula, siempre que dicha adhesión covalente permita que el anticuerpo conserve su inmunoespecificidad de unión al antígeno. Por ejemplo, entre otros, los derivados y análogos de los anticuerpos incluyen aquellos que han sido modificados adicionalmente, por ejemplo, mediante glicosilación, acetilación, pegilación,

fosforilación, amidación, derivatización mediante grupos protectores/bloqueantes conocidos, escisión proteolítica, enlace a una unidad de anticuerpo celular u otra proteína, etc. Cualquiera de las numerosas modificaciones químicas se puede llevar a cabo mediante técnicas conocidas, que incluyen, entre otras, escisión química específica, acetilación, formilación, síntesis metabólica en presencia de tunicamicina, etc. Además, el análogo o derivado puede contener uno o más aminoácidos no naturales.

**[0326]** Los anticuerpos anti-CD33 en los conjugados de neodegradadores pueden incluir anticuerpos que tienen modificaciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o adiciones) en residuos de aminoácidos que interactúan con los receptores Fc. En particular, los anticuerpos incluyen anticuerpos que tienen modificaciones en residuos de aminoácidos identificados como implicados en la interacción entre el dominio anti-Fc y el receptor FcRn. Los anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de célula cancerosa pueden obtenerse comercialmente, por ejemplo, de Genentech (San Francisco, California) o producirse mediante cualquier método conocido por una persona con conocimientos básicos en la materia tal como, por ejemplo, síntesis química o técnicas de expresión recombinante. La secuencia de nucleótidos que codifica anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de célula cancerosa se puede obtener, por ejemplo, de la base de datos GenBank o de una base de datos similar, de las publicaciones bibliográficas o mediante clonación y secuenciación de rutina.

**[0327]** En ciertos aspectos, el anticuerpo de los conjugados de neodegradadores puede ser un anticuerpo monoclonal, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal murino, un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado. En algunos aspectos, el anticuerpo puede ser un fragmento de anticuerpo, por ejemplo, un fragmento Fab.

## *IV. Composiciones y métodos de uso*

**[0328]** Los conjugados y/o compuestos descritos en el presente documento pueden estar en forma de sales farmacéuticamente aceptables. En algunos aspectos, dichas sales se derivan de ácidos o bases inorgánicos u orgánicos.

**[0329]** Ejemplos de sales de adición de ácido adecuadas incluyen acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, alcanforato, alcanforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, lucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato,

oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato. y undecanoato.

**[0330]** Ejemplos de sales de adición de bases adecuadas incluyen sales de amonio; sales de metales alcalinos, tales como sales de sodio y potasio; sales de metales alcalinotérreos, tales como sales de calcio y magnesio; sales con bases orgánicas, tales como sales de diciclohexilamina, *N*-metil-D-glucamina; y sales con aminoácidos tales como arginina, lisina y similares.

**[0331]** Por ejemplo, Berge enumera las siguientes sales comercializadas aprobadas por la FDA: aniones acetato, besilato (bencenosulfonato), benzoato, bicarbonato, bitartrato, bromuro, edetato de calcio (etilendiaminotetraacetato), camsilato (alcanforsulfonato), carbonato, cloruro, citrato, diclorhidrato, edetato (etilendiaminotetraacetato), edisilato (1,2-etanodisulfonato), estolato (lauril sulfato), esilato (etanosulfonato), fumarato, gluceptato (glucoheptonato), gluconato, glutamato, glicolilarsanilato (glicolamidofenilarsonato), hexilresorcinato, hidrabamina (*N,N'*-di(deshidroabietil)etilendiamina), bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro, isetionato (2-hidroxietanosulfonato), lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato (metanosulfonato), bromuro de metilo, nitrato de metilo, metilsulfato, mucato, napsilato (2-naftalenosulfonato), nitrato, pamoato (embonato), pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teoclato (8-cloroteofilinato) y trietioduro; cationes orgánicos benzatina (*N,N'*-dibenciletilendiamina), cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (*N*-metilglucamina) y procaína; y cationes metálicos aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc.

**[0332]** Berge enumera, además, las siguientes sales comercializadas (fuera de los Estados Unidos) no aprobadas por la FDA: aniones adipato, alginato, aminosalicilato, anhidrometilenocitrato, arecolina, aspartato, bisulfato, butilbromuro, alcanforato, digluconato, dihidrobromuro, disuccinato, glicerofosfato, hemisulfato, fluorhidrato, yodhidrato, bis(salicilato de metilen), napadisilato (1,5-naftalenodisulfonato), oxalato, pectinato, persulfato, feniletilbarbitúrico, picrato, propionato, tiocianato, tosilato y undecanoato; cationes orgánicos benetamina (*N*-bencilfenetilamina), clemizol (1-*p*-clorobencil-2-pirrolidin-1'-ilmetilbencimidazol), dietilamina, piperazina y trometamina (tris(hidroximetil)aminometano); y cationes metálicos bario y bismuto.

**[0333]** Las composiciones farmacéuticas que comprenden los conjugados de neodegradadores descritos en el presente documento también pueden comprender portadores, excipientes y auxiliares adecuados que pueden diferir según el modo de administración.

**[0334]** En algunos aspectos, las composiciones farmacéuticas se pueden formular como una forma de dosificación parenteral adecuada. Dichas formulaciones se pueden preparar mediante diversos métodos conocidos en la materia. Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar directamente en el torrente sanguíneo, en el músculo o directamente en un órgano. Los medios adecuados para la administración parenteral incluyen intravenoso, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intraesternal, intracraneal, intramuscular y subcutáneo. Los dispositivos adecuados para la administración parenteral incluyen inyectores con aguja, inyectores sin aguja y técnicas de infusión.

**[0335]** Las composiciones parenterales son típicamente soluciones acuosas que pueden contener excipientes tales como sales, carbohidratos y agentes tampón. Sin embargo, la composición también se puede formular como una solución no acuosa estéril o como una forma seca para usarse junto con un vehículo adecuado tal como agua estéril libre de pirógenos.

**[0336]** La preparación de composiciones parenterales en condiciones estériles, por ejemplo, mediante liofilización, se puede realizar fácilmente usando técnicas estándar muy conocidas por las personas con conocimientos básicos en la materia.

**[0337]** Las composiciones para administración parenteral se pueden formular para que sean de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada. Por consiguiente, las composiciones pueden formularse como un líquido sólido, semisólido o tixotrópico para administración como un depósito implantado que proporciona una liberación modificada del agente activo.

**[0338]** Las formulaciones parenterales se pueden mezclar con otros excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados, usados en formas de dosificación parenteral tales como, entre otros, conservantes.

**[0339]** En otro aspecto, las composiciones farmacéuticas se pueden formular como formas de dosificación oral adecuadas tales como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, suspensiones, soluciones, emulsiones y similares. Pueden estar presentes otros portadores adecuados tales como desintegrantes, diluyentes, agentes quelantes, aglutinantes, deslizantes, lubricantes, cargas, agentes de carga, antiadherentes y similares.

**[0340]** Las formulaciones de dosificación oral también pueden contener otros excipientes farmacéuticos adecuados tales como edulcorantes, vehículos/agentes humectantes, agentes

colorantes, agentes saborizantes, conservantes, agentes potenciadores de la viscosidad/espesantes y similares.

**[0341]** El neodegradador o conjugados de neodegradadores descritos en el presente documento se pueden usar para tratar diversos cánceres. Ciertos conjugados de la presente invención pueden ser superiores en términos de expresión de eficacia, farmacocinética (por ejemplo, absorción, distribución, metabolismo, excreción), solubilidad (por ejemplo, solubilidad en agua), interacción con otros medicamentos (por ejemplo, acción inhibidora de enzimas metabolizadoras de fármacos), seguridad (por ejemplo, toxicidad aguda, toxicidad crónica, toxicidad genética, toxicidad reproductiva, cardiotoxicidad, carcinogenicidad, toxicidad central) y/o estabilidad (por ejemplo, estabilidad química, estabilidad a una enzima), y puede ser útil como medicamento.

**[0342]** El neodegradador o conjugados de neodegradadores de la presente invención se pueden usar como medicamentos tales como agentes para la profilaxis o tratamiento de enfermedades, por ejemplo, cánceres, por ejemplo, cánceres colorrectales (por ejemplo, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer anal, cáncer colorrectal familiar, cáncer colorrectal hereditario sin poliposis, tumor del estroma gastrointestinal), cánceres de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, mesotelioma maligno), mesotelioma, cánceres de páncreas (por ejemplo, carcinoma ductal pancreático, tumor endocrino pancreático), cáncer de faringe, cáncer de laringe, cáncer de esófago, cánceres de estómago/gástricos (por ejemplo, adenocarcinoma papilar, adenocarcinoma mucinoso, carcinoma adenoescamoso), cáncer de duodeno, cáncer de intestino delgado, cánceres de mama (por ejemplo, carcinoma ductal invasivo, carcinoma ductal no invasivo, cáncer de mama inflamatorio), cánceres de ovario (por ejemplo, cáncer epitelial de ovario, tumor extragonadal de células germinales, tumor de ovario de células germinales, tumor de ovario de bajo potencial maligno), tumor de testículo, cánceres de próstata (por ejemplo, cáncer de próstata dependiente de hormonas, cáncer de próstata no dependiente de hormonas, cáncer de próstata resistente a la castración), cánceres de hígado (por ejemplo, cáncer hepatocelular, cáncer primario de hígado, cáncer de vías biliares extrahepáticas), cánceres de tiroides (por ejemplo, carcinoma medular de tiroides), cánceres renales (por ejemplo, cánceres de células renales (por ejemplo, cáncer de células renales de células claras), cáncer de células transicionales de pelvis renal y uréter), cánceres uterinos (por ejemplo, cáncer de cuello uterino, cáncer del cuerpo uterino, sarcoma uterino), coriocarcinoma gestacional, tumores cerebrales (por ejemplo, meduloblastoma, glioma, tumores astrocíticos pineales, tumores

pilocíticos astrocitoma, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico, adenoma hipofisario), retinoblastoma, cánceres de piel (por ejemplo, basalioma, melanoma maligno), sarcomas (por ejemplo, rabdomiosarcoma, leiomiosarcoma, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma de células fusiformes), tumor óseo maligno, cáncer de vejiga, cánceres hematológicos/sanguíneos (por ejemplo, mieloma múltiple, leucemias (por ejemplo, leucemia mielógena aguda), linfoma maligno, enfermedad de Hodgkin, enfermedad mieloproliferativa crónica), cáncer de sitio primario desconocido; un inhibidor del crecimiento del cáncer; un inhibidor de la metástasis del cáncer; un promotor de la apoptosis; un agente para el tratamiento de lesiones precancerosas (por ejemplo, síndromes mielodisplásicos); y similares.

**[0343]** En ciertos aspectos, los neodegradadores o conjugados de neodegradadores de la presente invención se pueden usar como medicamento para el tratamiento de cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de ovario, cáncer de útero, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de hígado, linfoma o cánceres hematológicos.

**[0344]** Además, los neodegradadores o conjugados de neodegradadores de la presente invención se pueden usar simultáneamente con una terapia no farmacológica. Para ser precisos, los conjugados se pueden combinar con una terapia no farmacológica como (1) cirugía, (2) quimioterapia hipertensiva con angiotensina II, etc., (3) terapia génica, (4) termoterapia, (5) crioterapia, (6) cauterización con láser y (7) radioterapia.

**[0345]** Por ejemplo, al usar un neodegradador o conjugado de neodegradadores de la presente invención antes o después de la cirugía mencionada anteriormente y similares, se pueden obtener efectos tales como prevención de la aparición de resistencia, prolongación de la supervivencia libre de enfermedades, supresión de metástasis o recurrencia del cáncer, prolongación de la vida y se pueden obtener cosas similares.

**[0346]** Además, es posible combinar un tratamiento con un neodegradador o conjugados de neodegradadores de la presente invención con una terapia de apoyo: (i) administración de antibióticos (por ejemplo, tipo β-lactama tal como pansporina y similares, tipo macrólido tal como claritromicina y similares) para las complicaciones de diversas enfermedades infecciosas, (ii) administración de transfusiones altas en calorías, preparación de aminoácidos o preparación vitamínica general para mejorar la desnutrición, (iii) administración de morfina para mitigar el dolor, (iv) administración de un agente farmacéutico para mejorar los efectos secundarios tales como náuseas, vómitos, anorexia, diarrea, leucopenia, trombocitopenia, disminución de la concentración de hemoglobina, caída del cabello, hepatopatía, renopatía, DIC, fiebre. y similares

y (v) administración de un agente farmacéutico para suprimir la resistencia a múltiples fármacos del cáncer y similares.

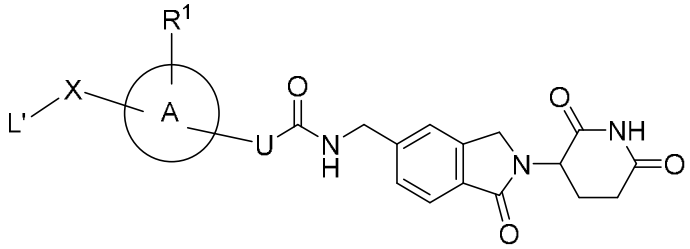
**[0347]** En algunos aspectos, el neodegradador o el conjugado de neodegradadores de la invención se pueden usar en combinación con una terapia estándar de atención, por ejemplo, uno o más agentes terapéuticos (por ejemplo, agentes anticancerígenos y/o agentes inmunomoduladores). Por consiguiente, en ciertos aspectos, un método para tratar un tumor descrito en el presente documento comprende administrar el neodegradador o el conjugado de neodegradadores de la invención en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. En algunos aspectos, el neodegradador o el conjugado de neodegradadores de la invención se pueden usar en combinación con uno o más agentes anticancerígenos, de manera que se puedan dirigir a múltiples elementos de la vía inmune. En algunos aspectos, un agente anticancerígeno comprende un inhibidor de punto de control inmunológico (es decir, bloquea la señalización a través de la vía particular del punto de control inmunológico). Los ejemplos no limitantes de inhibidores de punto de control inmunológico que se pueden usar en los presentes métodos comprenden un antagonista de CTLA-4 (por ejemplo, anticuerpo anti-CTLA-4), antagonista de PD-1 (por ejemplo, anticuerpo anti-PD-1, anticuerpo anti-PD-L1), antagonista de TIM-3 (por ejemplo, anticuerpo anti-TIM-3) o combinaciones de los mismos. Una lista completa y no limitante de tratamientos combinados se divulga en detalle en la sección Tratamientos Combinados de esta solicitud.

**[0348]** En algunos aspectos, el neodegradador o el conjugado de neodegradadores de la invención se administra al sujeto antes o después de la administración del agente terapéutico adicional. En otros aspectos, el neodegradador o el conjugado de neodegradadores de la invención se administra al sujeto simultáneamente con el agente terapéutico adicional. En ciertos aspectos, el neodegradador o el conjugado de neodegradadores de la invención y el agente terapéutico adicional se pueden administrar simultáneamente como una composición única en un portador farmacéuticamente aceptable. En otros aspectos, el neodegradador o el conjugado de neodegradadores de la invención y el agente terapéutico adicional se administran simultáneamente como composiciones separadas.

**[0349]** En algunos aspectos, un sujeto que puede tratarse con el neodegradador o el conjugado de neodegradadores de la presente invención es un animal no humano tal como una rata o un ratón. En algunos aspectos, el sujeto que se puede tratar es un ser humano.

## *V. Métodos de preparación de neodegradadores y composiciones*

**[0350]** La presente invención proporciona un método para preparar los conjugados de neodegradadores, proceso que comprende hacer reaccionar un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo con un compuesto de la fórmula (I-1):




(I-1),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

A es fenilo o un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

$R^1$ se selecciona independientemente entre hidrógeno y halo;

U se selecciona entre NH y $CF_2$;

X se selecciona entre -$NR^2$-, =$C(CH_3)$-, -Q-$(CH_2)_n$-, y -Q$(CH_2)_m$Q'$(CH_2)_n$-; en donde

Q y Q' son cada uno independientemente O, S o $NR^2$;

$R^2$ es hidrógeno o alquilo$C_1$-$C_6$;

n es un número entero del 1 al 6;

m es un número entero del 2 al 6; y

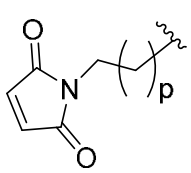
en donde el lado izquierdo de cada grupo está unido a L' y el lado derecho está unido a A;

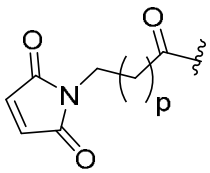
siempre que X es NH o -Q-$(CH_2)_n$-, $R^1$ es halo;

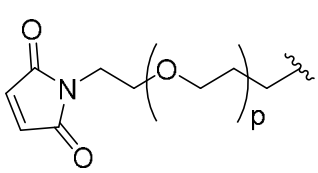
L' es un precursor del enlazador escindible o no escindible que se conjuga con el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo.

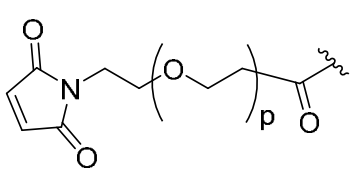
**[0351]** Como se describe en el presente documento, el precursor del enlazador contiene un grupo heterobifuncional que se conecta al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

**[0352]** En algunos aspectos, L' es un precursor de enlazador no escindible. En algunos aspectos, L' se selecciona del grupo que consiste en



,


,


y


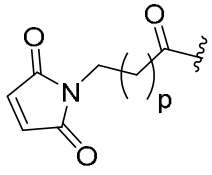
;

en donde:

p es un número entero del 1 al 10; y

es el punto de unión a X.

**[0353]** En algunos aspectos, L' es

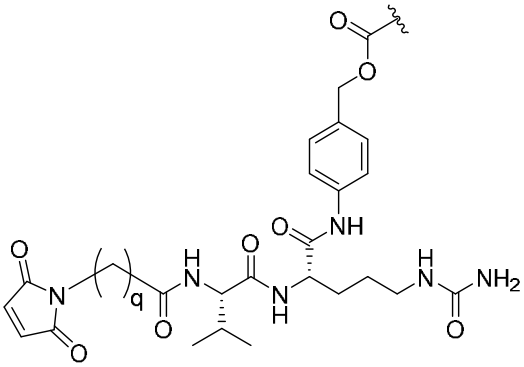


.

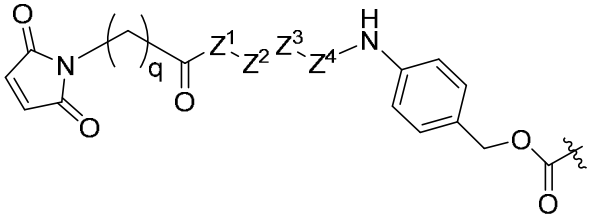
**[0354]** En algunos aspectos, p es 5.

**[0355]** En ciertos aspectos, L' es un precursor de enlazador escindible.

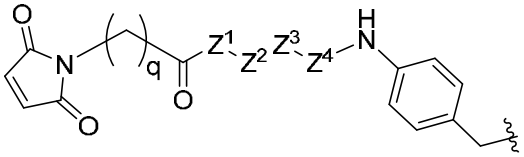
**[0356]** En algunos aspectos, el precursor del enlazador se puede escindir mediante una proteasa. En algunos aspectos, el precursor del enlazador se selecciona del grupo que consiste en



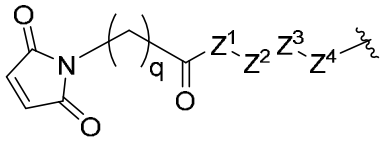
;



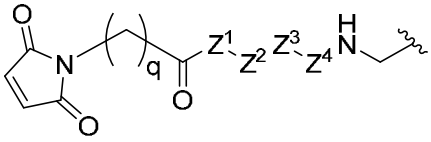
;



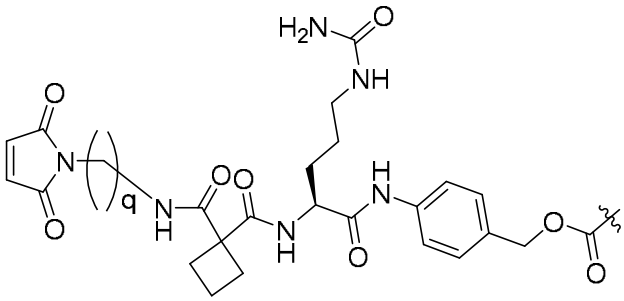
;



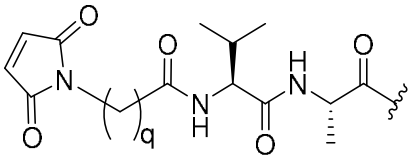
;



;



y



;

en donde:

q es un número entero del 2 al 10;

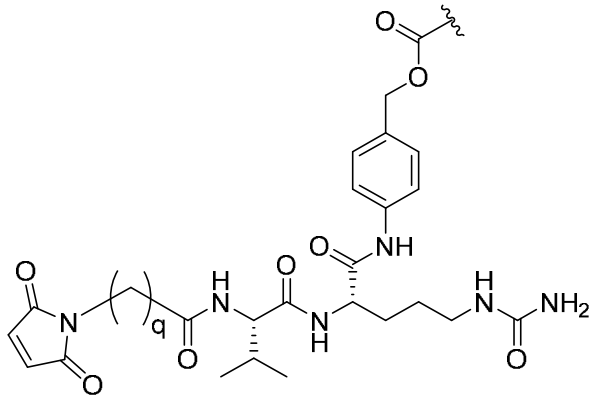
$Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ están cada uno independientemente ausentes o son un residuo de aminoácido natural en la configuración L o D, siempre que al menos dos de $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ sean residuos de aminoácidos; y

$\wr$ es el punto de unión a X.

**[0357]** En algunos aspectos, $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ están independientemente ausentes o se seleccionan del grupo que consiste en L-valina, D-valina, L-citrulina, D-citrulina, L-alanina, D-alanina, L-glutamina, D-glutamina, ácido L-glutámico, ácido D-glutámico, ácido L-aspártico, ácido D-aspártico, L-asparagina, D-asparagina, L-fenilalanina, D-fenilalanina, L-lisina, D-lisina y glicina; siempre que al menos dos de $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ sean residuos de aminoácidos.

**[0358]** En algunos aspectos, $Z^1$ está ausente o es glicina; $Z^2$ está ausente o se selecciona del grupo que consiste en L-glutamina, D-glutamina, ácido L-glutámico, ácido D-glutámico, ácido L-aspártico, ácido D-aspártico, L-alanina, D-alanina y glicina; $Z^3$ se selecciona del grupo que consiste en L-valina, D-valina, L-alanina, D-alanina, L-fenilalanina, D-fenilalanina y glicina; y $Z^4$ se selecciona del grupo que consiste en L-alanina, D-alanina, L-citrulina, D-citrulina, L-asparagina, D-asparagina, L-lisina, D-lisina, L-fenilalamina, D-fenilalanina y glicina.

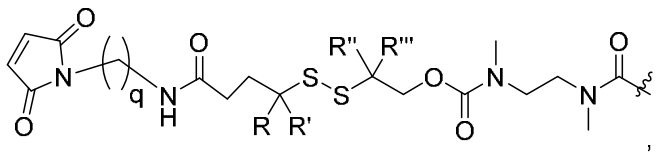
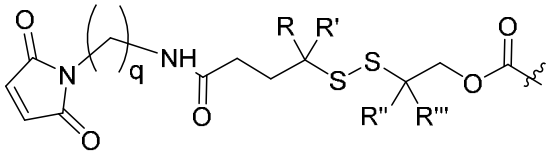
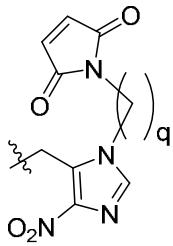
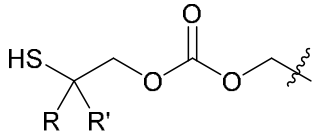
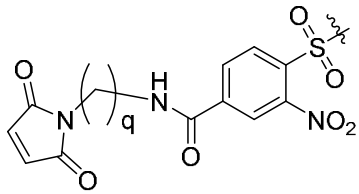
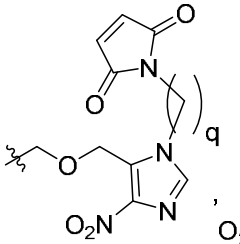
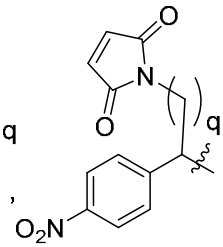
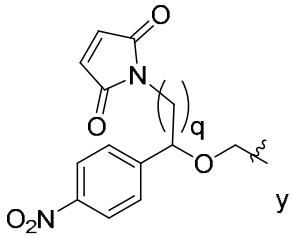
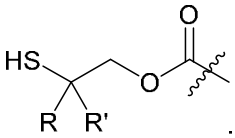
**[0359]** En algunos aspectos, L' es




.

**[0360]** En algunos aspectos, q es 5.

**[0361]** En algunos aspectos, L' es un precursor de enlazador biorreducible. En algunos aspectos, el precursor del enlazador biorreducible se selecciona del grupo que consiste en


,

,

,

,

,

,

,

y

;

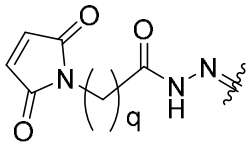
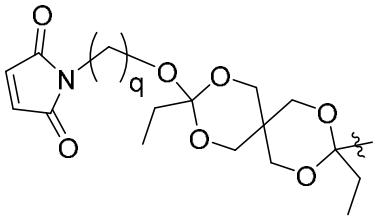
en donde:

q es un número entero del 2 al 10;

R, R', R'' y R''' se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alcoxi$C_1$-$C_6$-alquilo$C_1$-$C_6$, $(C_1$-$C_6)_2$N-alquilo$C_1$-$C_6$ y alquilo$C_1$-$C_6$, o dos grupos geminales R, junto con el átomo de carbono al que están unidos, pueden formar un anillo ciclobutilo o ciclopropilo; y

∿ es el punto de unión a X.

**[0362]** En ciertos aspectos, L' es un precursor de enlazador escindible con ácido. En algunos aspectos, L' se selecciona del grupo que consiste en

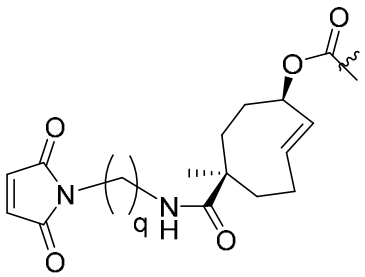

,

;

en donde:

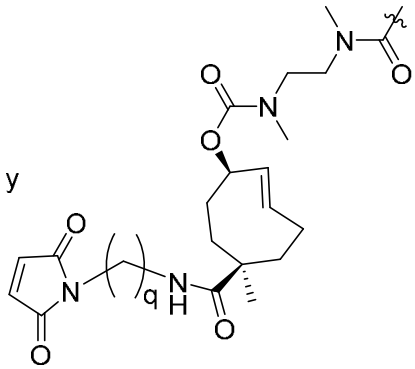
q es un número entero del 2 a 10; y

∿ es el punto de unión a X.

**[0363]** En ciertos aspectos, L' es un precursor del enlazador de liberación por reacción (*click-to-release*). En algunos aspectos, L' se selecciona entre



y



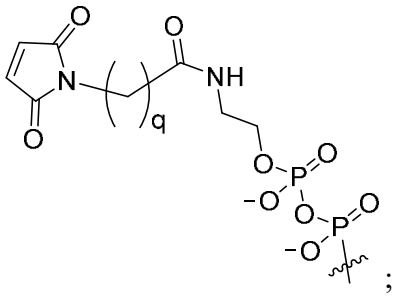
;

en donde:

q es un número entero del 2 a 10; y

∿ es el punto de unión a X.

**[0364]** En ciertos aspectos, L' es un precursor del enlazador escindible por pirofosfatasa. En algunos aspectos, L' es



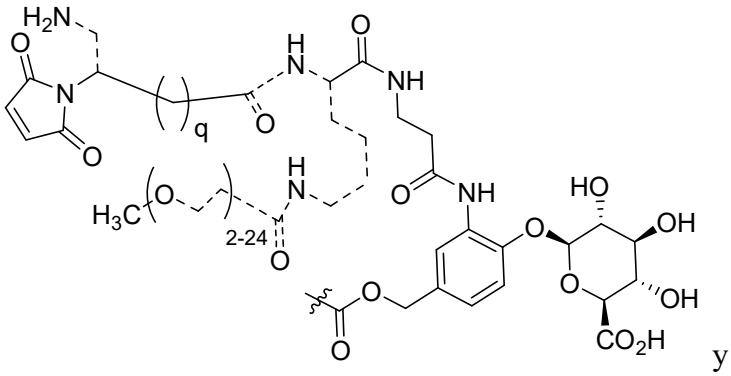
;

en donde:

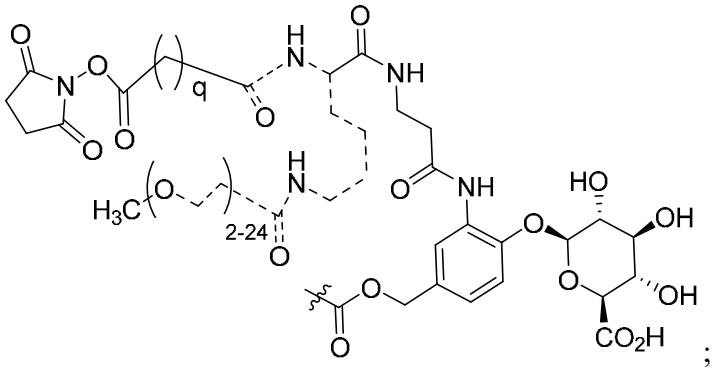
q es un número entero del 2 al 10;

∿ es el punto de unión a X.

**[0365]** En ciertos aspectos, L' es un precursor del enlazador escindible por beta-glucuronidasa. En algunos aspectos, L' se selecciona entre



y



;

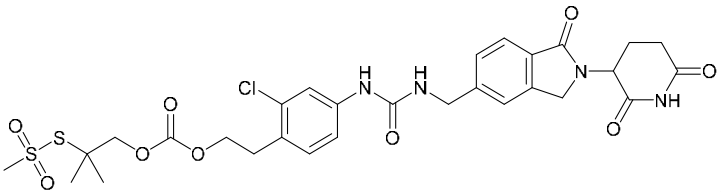
en donde:

q es un número entero del 2 al 10;

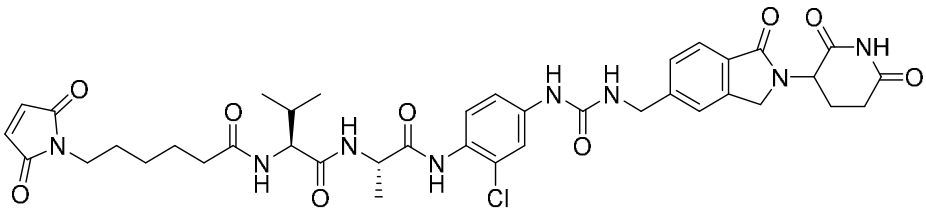
---- está ausente o es un enlace; y

⁓ es el punto de unión a X.

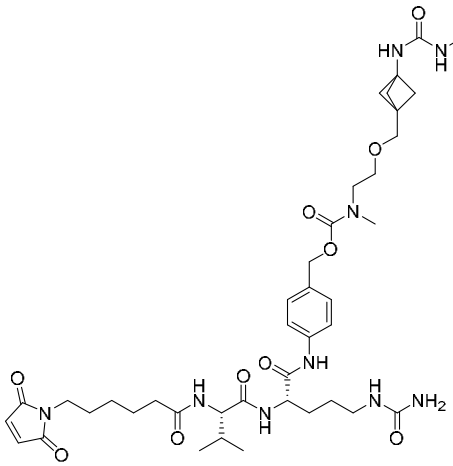
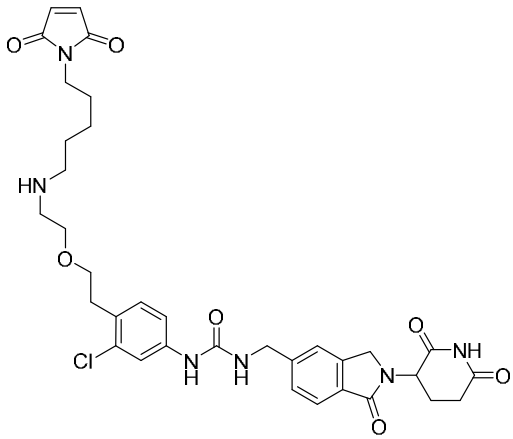
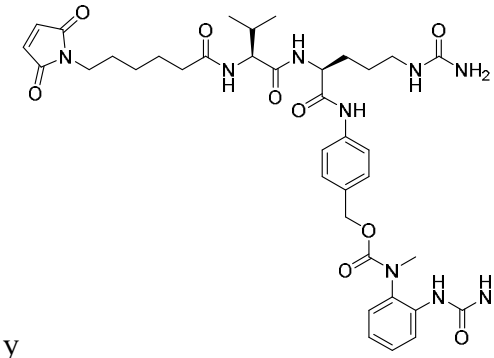
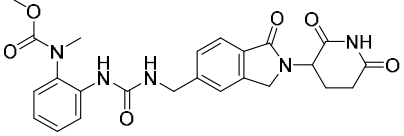
**[0366]** En algunos aspectos, el compuesto de la fórmula (I-1) se selecciona entre



,



,


,

,

y

.

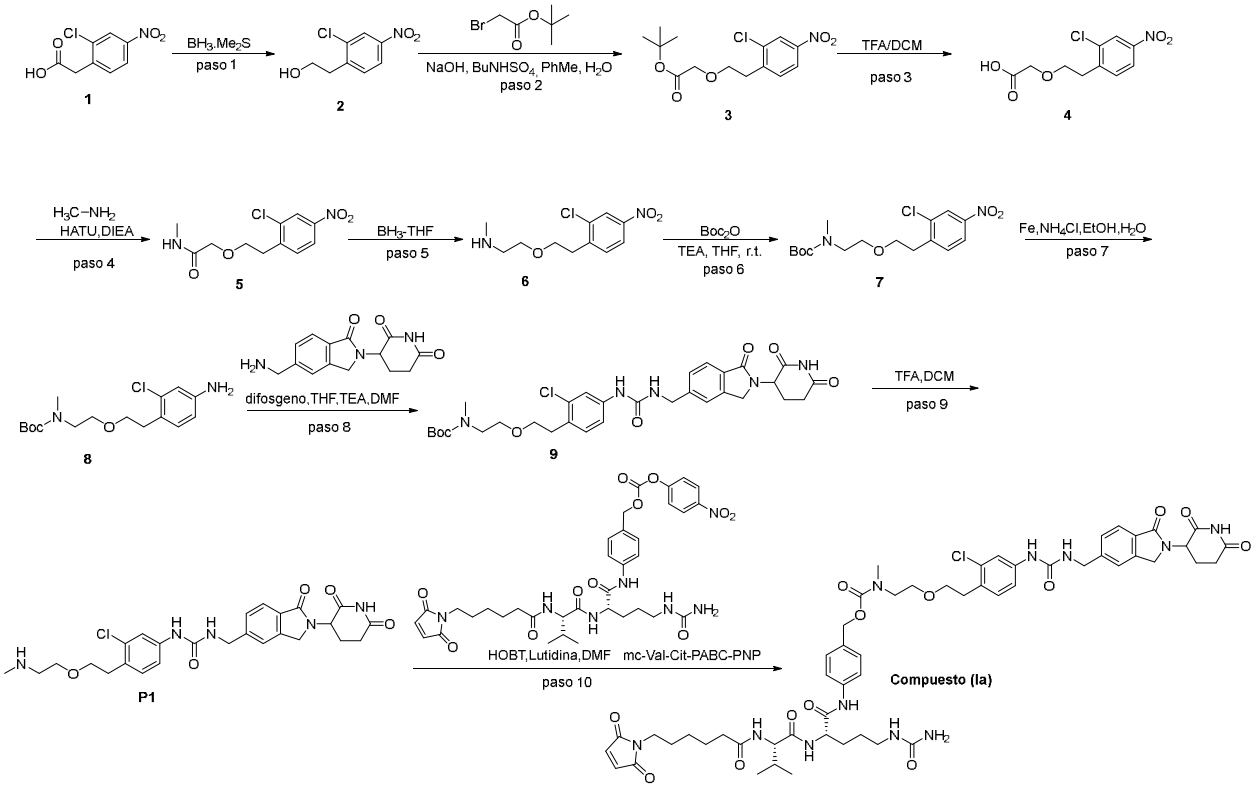
**[0367]** En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo se trata previamente antes de la reacción con el compuesto de la fórmula (I-1). En ciertos aspectos, el compuesto de la fórmula (I-1) se hace reaccionar con un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo se puede pretratar para reducir los disulfuros entre cadenas antes de la reacción con el compuesto de la fórmula (I-1).

# Ejemplos

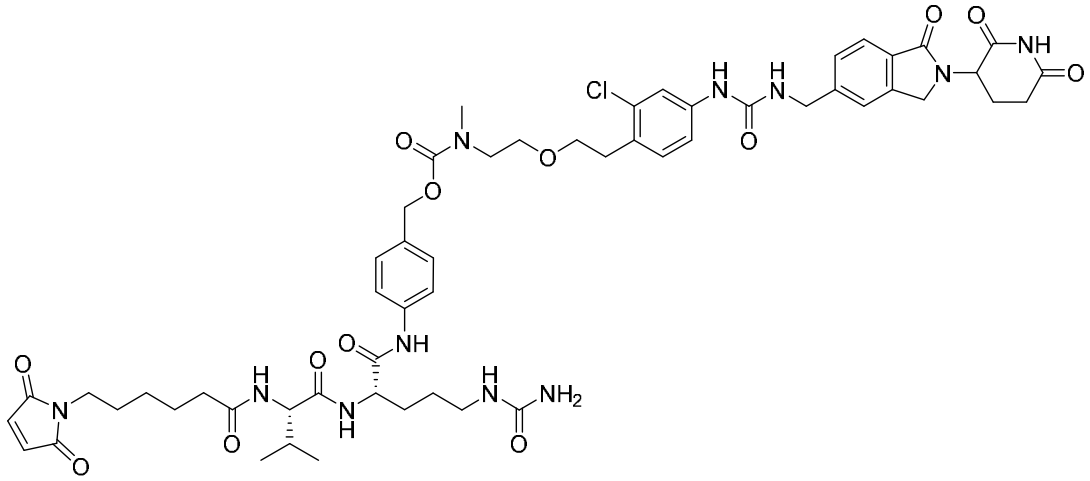
*Métodos sintéticos generales e intermedios*

**[0368]** Los compuestos de la presente invención pueden ser preparados por una persona con conocimientos básicos en la materia a la luz de la presente invención, y/o mediante referencia a los esquemas que se muestran a continuación y los ejemplos sintéticos. Se describen vías sintéticas ejemplares en los Esquemas siguientes y en los Ejemplos. Debe entenderse que las variables (por ejemplo, grupos “R”) que aparecen en los siguientes esquemas y ejemplos deben leerse independientemente de las que aparecen en otras partes de la solicitud. Una persona con conocimientos básicos en la materia comprenderá fácilmente cómo los esquemas y ejemplos mostrados a continuación ilustran la preparación de los compuestos descritos en el presente documento.

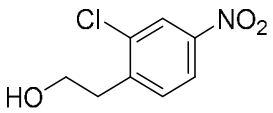
**[0369]** Las abreviaturas utilizadas en los esquemas generalmente siguen las convenciones utilizadas en la materia. Las abreviaturas químicas utilizadas en la memoria descriptiva y los ejemplos se definen de la siguiente manera: “THF” para tetrahidrofurano; “DMF” para N,N-dimetilformamida; “Me” para metilo; "Bu" para butilo; “FA” para ácido fórmico; “PE” para éter de petróleo; “MeOH” para metanol; “EtOH” para etanol; “DCM” para diclorometano; “BOC” o “Boc”, “TFA” para el ácido trifluoroacético; “DMSO” para dimetilsulfóxido; “EtOAc” para acetato de etilo; “OAc” para acetato; “dppf” para 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno; “dba” para dibencilidenacetona; “CDI” para 1,1'-carbonildiimidazol; “TBAF” para fluoruro de tetrabutilamonio; “TBSCl” para cloruro de terc-butildimetilsililo; “$Et_2O$” para éter dietílico; “ACN” para acetonitrilo; “h” por horas; “min” para minutos; “rt” para temperatura ambiente o tiempo de retención (el contexto lo dictará); “ac.” para acuoso, “sat.” para saturado; “min” para minutos; “HOBt” para hidrato de 1-hidroxibenzotriazol; “HATU” para hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamin)metilen]-1*H*-1,2,3-triazol[4,5-*b*]piridinio o hexafluorofosfato de *N*-óxido de *N*-[(dimetilamin)-1*H*-1,2,3-triazol-[4,5-*b*]piridin-1-ilmetilen]-*N*-metilmetanaminio**;** “DIEA” y “$IPrNEt_2$” para diisopropiletilamina; “$Et_3N$” y “TEA” para trietilamina.




Esquema 1*: Preparación del Compuesto (Ia)*

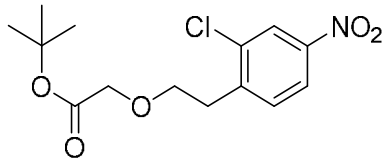


Ejemplo 1: *Síntesis del Compuesto (Ia)*



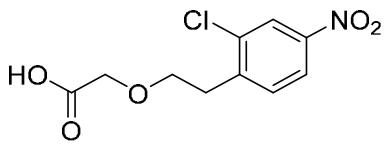
*Paso 1: Síntesis del Compuesto 2*

**[0370]** A una solución agitada de ácido 2-cloro-4-nitrofenil)acético (Compuesto 1, 5,00 g, 23,19 mmol, 1,00 eqv.) en THF (75,00 ml) se añadió $BH_3$-$Me_2S$ (10 M en THF) (5,80 ml, 58,0 mmol, 2,50 eqv.) gota a gota a 0 ºC en atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 ºC bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 1:1) para obtener 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (3 g, 64 %) como un sólido amarillo. RMN de $^1$H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,26 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 8,10-8,05 (m, 1H), 7,50 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,99-3,91 (m, 2H), 3,16-3,09 (m, 2H).




*Paso 2: Síntesis del Compuesto 3*

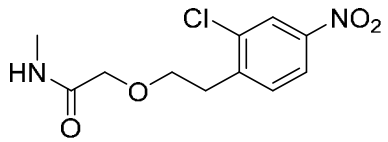
**[0371]** A una solución agitada de 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (Compuesto 2, 5,00 g, 24,800 mmol, 1,00 eqv.) y 2-bromoacetato de terc-butilo (29,0 ml, 148,28 mmol, 8,00 eqv.) en tolueno (150,00 ml) se añadió $Bu_4NHSO_4$ (6,74 g, 19,84 mmol, 0,80 eqv.). A la mezcla anterior se añadió NaOH (5M en $H_2O$) (500,00 ml) gota a gota durante 40 min a 0 ºC. La mezcla resultante se agitó durante 2 h más a 25 ºC. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (400 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE:EtOAc = 4:1) para obtener 2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]acetato de terc-butilo (8 g, 65 %) como un aceite amarillo. RMN de $^1$H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,23 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 8,10-8,04 (m, 1H), 7,60 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,09 (s, 2H), 3,83-3,80 (m, 2H), 3,17-3,14(m, 2H), 1,45(s, 9H).




*Paso 3: Síntesis del Compuesto 4*

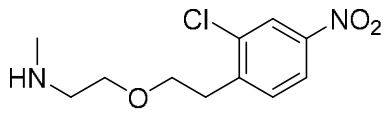
**[0372]** A una solución agitada de 2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]acetato de terc-butilo (Compuesto 3, 8,00 g, 16,14 mmol, 1,00 eqv., 63,7 %) en DCM (80,00 ml) se añadió TFA (16,00 ml) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura

ambiente. La mezcla resultante se concentró al vacío. La mezcla resultante se diluyó con agua (500 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 ml) y se secaron con Na2SO4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. Esto dio como resultado ácido [2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]acético (6,5 g, bruto) como un aceite amarillo. LCMS (ESI): 517 (2M-H)-




*Paso 4: Síntesis del Compuesto 5*

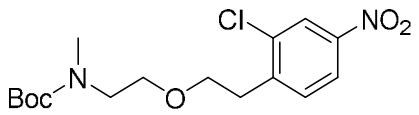
**[0373]** A una solución agitada de ácido [2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]acético (Compuesto 4, 6,30 g, 21,84 mmol, 1,00 eqv., 90 %) y HATU (12,46 g, 32,76 mmol, 1,50 eqv.) se añadió DMF (65,00 ml) $CH_3NH_2$.HCl (1,77 g, 26,21 mmol, 1,20 eqv.) y DIEA (15,20 g, 117,8 mmol, 4,00 eqv.) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla resultante se diluyó con agua. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM:MeOH = 10:1) para obtener 2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]-N-metilacetamida (10 g, pureza: 50 %, rendimiento: 84 %) como un aceite amarillo. LCMS (ESI): 273,28 $(M+H)^+$




*Paso 5: Síntesis del Compuesto 6*

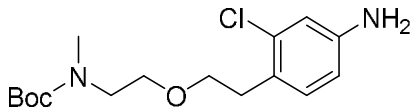
**[0374]** A una solución agitada de 2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]-N-metilacetamida (Compuesto 5, 3,3 g, 12,10 mmol, 1,00 eqv.) en THF (35,00 ml) se añadió $BH_3$-THF (1 M en THF) (12,10 ml, 12,10 mmol, 1,00 eqv.) gota a gota a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 ºC bajo una atmósfera de nitrógeno. La reacción se apagó con MeOH. El residuo se acidificó a pH 6 con 1 N de HCl. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (20 ml). La fase acuosa se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ saturado (sat., ac.). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml), se lavó con salmuera (50 ml) y se secó con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. Esto dio

como resultado [2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]etil](metil)amina (2,5 g, 80 %) como un aceite amarillo. LCMS (ESI): 259,26 $(M+H)^+$



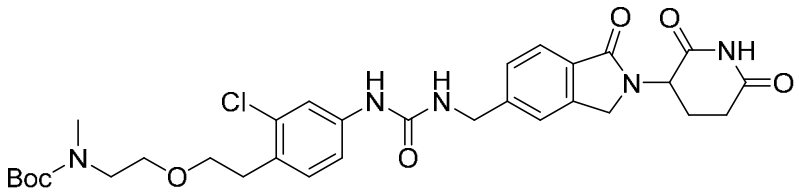

*Paso 6. Síntesis del Compuesto 7*

**[0375]** A una solución agitada de [2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]etil](metil)amina (Compuesto 6, 2,50 g, 9,69 mmol, 1,00 eqv.) y $Boc_2O$ (2,53 g, 11,6 mmol, 1,20 eqv.) en THF (40 ml) se añadió TEA (1,17 g, 11,6 mmol, 1,20 eqv.) gota a gota a 25 ºC. La mezcla se agitó a 25 ºC durante 2 h. La mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM:MeOH = 5:1) para obtener N-[2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]etil]-N-metilcarbamato de terc-butilo (1,70 g, 50 %) como aceite amarillo. LCMS (ESI): 359,36 $(M+H)^+$



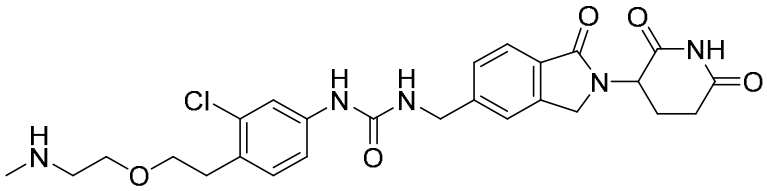

*Paso 7: Síntesis del Compuesto 8*

**[0376]** A una solución agitada de N-[2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]etil]-N-metilcarbamato de terc-butilo (Compuesto 7, 1,70 g, 4,74 mmol, 1,00 eqv.) y $NH_4Cl$ (750 mg, 14,2 mmol, 3,00 eqv.) en EtOH (85 ml) y $H_2O$ (17 ml) se añadió Fe (1,3 g, 23,7 mmol, 5,00 eqv.) a 25 ºC. La mezcla se agitó a 80 ºC durante 2 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con EtOH (3 x 50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE: EtOAc = 4:1) para obtener N-[2-[2-(4-amino-2-clorofenil)etoxi]etil]-N-metilcarbamato de terc-butilo (900 mg, 58 %) como aceite amarillo. LCMS (ESI): 329,33 $(M+H)^+$



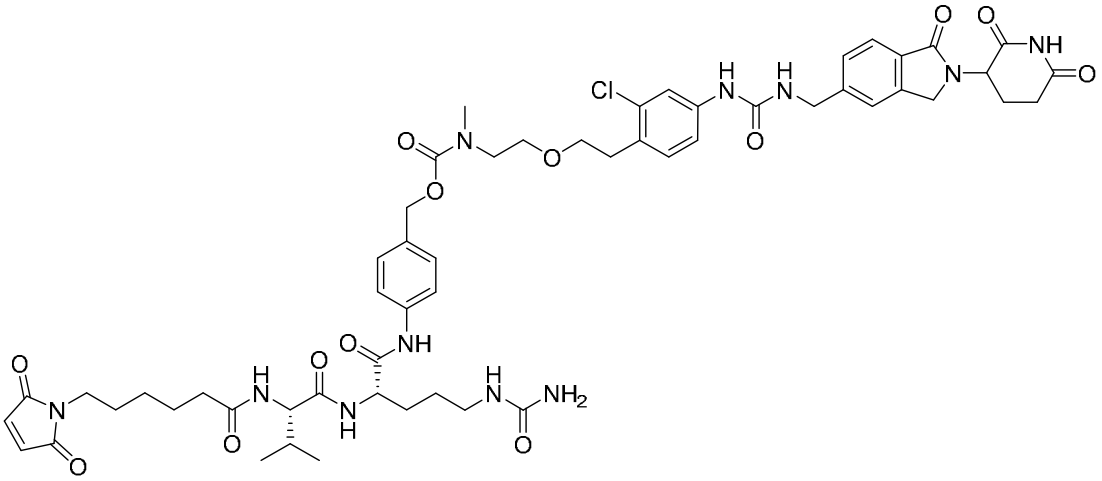

*Paso 8: Síntesis del Compuesto 9*

**[0377]** A una solución agitada de N-[2-[2-(4-amino-2-clorofenil)etoxi]etil]-N-metilcarbamato de terc-butilo (Compuesto 8, 500 mg, 1,52 mmol, 1,00 eqv.) en THF (10 ml) se añadió difosgeno (601 mg, 3,04 mmol, 2,00 eqv.) gota a gota a 25 ºC. La mezcla se agitó a 25 ºC durante 1 h. La mezcla resultante se concentró al vacío y se volvió a disolver en DMF (5 ml). A una mezcla agitada de 3-[5-(aminometil)-1-oxo-3H-isoindol-2-il]piperidin-2,6-diona (INT1, preparada como se describe a continuación, 499 mg, 1,82 mmol, 1,20 eqv.) y se añadió TEA (1,56 g, 15,45 mmol, 10,00 eqv.) en DMF (20 ml) a la solución mencionada anteriormente gota a gota a 25 ºC. La mezcla se agitó a 25 ºC durante 1 h. La mezcla resultante se diluyó con 40 ml de agua helada. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 40 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (5 x 40 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM: MeOH = 10:1) para obtener (2-(2-cloro-4-(3-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)ureido)fenetoxi)etil)(metil)carbamato de terc-butilo (670 mg, 70 %) como un sólido blanco. LCMS: (ESI): 628,63 $(M+H)^+$




*Paso 9: Síntesis del neodegradador P1*

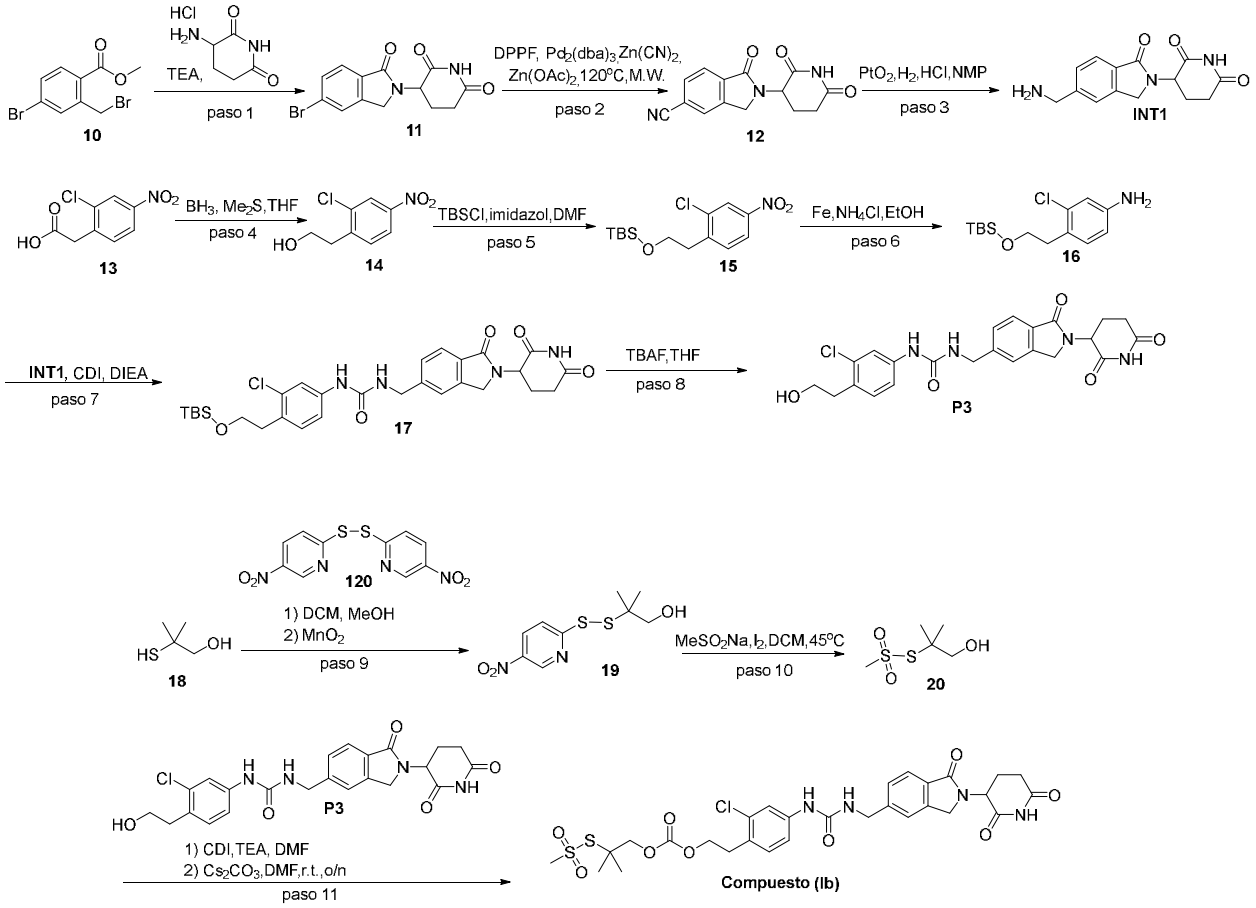
**[0378]** A una solución agitada de N-[2-(2-[2-cloro-4-[[[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil]-N-metilcarbamato de terc-butilo (Compuesto 9, 670 mg, 1,07 mmol, 1 eqv.) en DCM (10 ml) se añadió TFA (2,5 ml) gota a gota a 0 ºC. La mezcla se agitó a 25 ºC durante 1 h. La mezcla resultante se concentró al vacío. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa con las siguientes condiciones: columna, columna preparativa OBD SunFire C18, 100 µm, 19x250 mm; fase móvil, agua (0,05 % de TFA) y ACN (5 % de fase B hasta 60 % en 30 min); detector, UV 220nm. La fracción recolectada se liofilizó para obtener 1-(3-cloro-4-[2-[2-(metilamin)etoxi]etil]fenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (500 mg, 89 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI): 528,53 $(M+H)^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, metanol-$d_4$) δ 7,77 (d, $J$ = 8,0 Hz, 1H), 7,57-7,53 (m, 2H), 7,49 (d, $J$ = 8,0 Hz, 1H), 7,21 (d, $J$ = 4,0 Hz, 2H), 5,19-5,1 (m, 1H), 4,55-4,41 (m, 4H), 3,75-3,67 (m, 4H), 3,21-3,15 (m,2H), 3,03-3,96 (m, 2H), 2,96-2,84 (m, 1H), 2,83-2,73 (m, 2H), 2,69 (s, 3H), 2,55-2,42 (m, 1H), 2,21-2,12 (m, 1H).



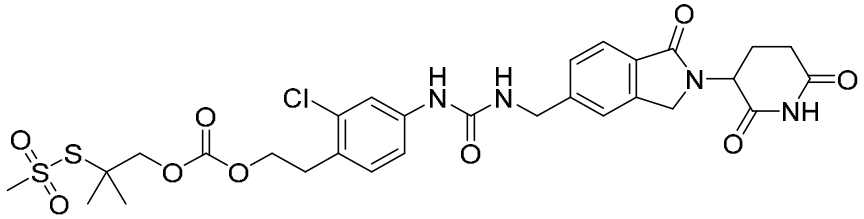
*Paso 10: Síntesis del Compuesto (Ia)*

**[0379]** A una mezcla agitada de 1-(3-cloro-4-[2-[2-(metilamin)etoxi]etil]fenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (neodegradador P1, 200 mg, 0,38 mmol, 1,00 eqv.) y lutidina (81 mg, 0,76 mmol, 2,00 eqv.) en DMF (10 ml) se añadieron HOBT (26 mg, 0,19 mmol, 0,50 eqv.) y carbonato de 4-nitrofenil de [4-[(2S)-5-(carbamoilamin)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamido]-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil]metilo (279 mg, 0,38 mmol, 1,00 eqv.) en porciones a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 12 horas a 40 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de que la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, la reacción se apagó con agua (30 ml). La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 30 ml), salmuera (30 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$. Después de la filtración, el filtrado se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante columna de fase inversa (C18, fase móvil A: 0,1 % de FA en agua, B: ACN). La fracción recolectada se concentró hasta sequedad al vacío. El producto bruto (60 mg) se purificó mediante HPLC preparativa con las siguientes condiciones (columna: columna Xselect CSH OBD 30 x 150 mm, 5 µm, n; fase móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 60 ml/min; gradiente: 33 B a 50 B en 7 min; 220 nm; RT1: 5,27 min). La fracción recolectada se liofilizó para obtener N-[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil]-N-metilcarbamato de [4-[(2S)-5-(carbamoilamin)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamido]-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil]metilo (23,8 mg, 5 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI): 1126,11 $(M+H)^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 10,99(s, 1H), 10,00(s, 1H), 8,88(s, 1H), 8,12-8,08(m, 1H), 7,85-7,81(m, 2H), 7,70-7,67(m, 2H), 7,60-7,58(m, 1H), 7,51(s, 1H), 7,47-

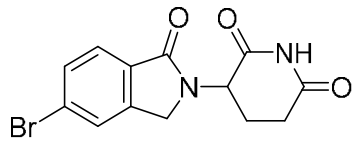
7,44(m, 1H), 7,28-7,25(m, 2H), 7,18-7,12(m, 2H), 7,00(s, 2H), 6,90(br s, 1H), 5,97-5,95(m, 1H), 5,42(s, 2H), 5,12-5,05(m, 1H), 4,98(s, 2H), 4,42-4,32(m, 4H), 4,18 -4,15(m, 1H), 3,56-3,40(m, 4H), 3,37-3,36(m, 3H), 3,05-2,90(m, 3H), 2,89-2,85(m, 5H), 2,72-2,55(m, 2H), 2,40-2,33(m, 2H), 2,25-2,15(m, 2H), 2,00-1,87(m, 2H), 1,74-1,57(m, 2H), 1,50-1,42(m, 5H), 1,22- 1,10(m, 3H), 0,85-0,80(m, 6H).




Esquema 2*: Preparación del Compuesto (Ib)*

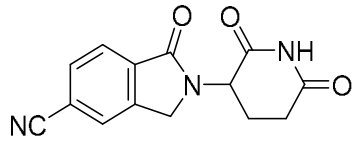


Ejemplo 2: *Síntesis del Compuesto (Ib)*



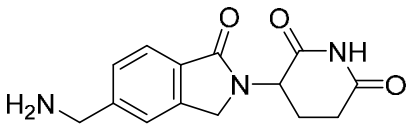
*Paso 1: Síntesis del Compuesto 11*

**[0380]** A una mezcla agitada de 4-bromo-2-(bromometil)benzoato de metilo (Compuesto 10, 20,0 g, 64,8 mmol, 1,00 eqv.) y clorhidrato de 3-aminopiperidin-2,6-diona (10,64 g, 83,0 mmol, 1,28 eqv.) en DMF (80 ml) se añadió TEA (22,4 ml, 162,2 mmol, 2,50 eqv.) gota a gota a 25 ºC bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a 25 ºC durante 16 h. A esto le siguió la adición de H2O (60 ml), AcOH (23 ml) y Et2O (60 ml) en secuencia a 25 ºC. La mezcla se agitó a 25 ºC durante 2 h. Los sólidos precipitados se recolectaron por filtración y se lavaron con Et2O (60 ml). Esto dio como resultado 3-(5-bromo-1-oxo-3H-isoindol-2-il)piperidin-2,6-diona (9,0 g, 42 %) como un sólido azul claro. LCMS (ESI): 323,32 (M+H)+



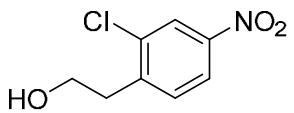
*Paso 2: Síntesis del Compuesto 12*

**[0381]** A una mezcla agitada de 3-(5-bromo-1-oxo-3H-isoindol-2-il)piperidin-2,6-diona (Compuesto 11, 1,00 g, 3,09 mmol, 1,00 eqv.) y dppf (51 mg, 0,093 mmol, 0,03 eqv.) en DMF (8 ml) se añadieron $Zn(OAc)_2$ (170 mg, 0,928 mmol, 0,30 eqv.), $Zn(CN)_2$ (545 mg, 4,64 mmol, 1,50 eqv.) y $Pd_2(dba)_3$ (28 mg, 0,031 mmol, 0,01 eqv.) a 25 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción final se irradió con radiación de microondas durante 2 h a 120 ºC. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. La torta de filtración se lavó con MeOH (3 x 30 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se sometió a cromatografía flash (gel de sílice, 80 g, DCM:MeOH=10:1) para obtener el producto deseado 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-carbonitrilo (400 mg, 47 %) como un sólido marrón. LCMS (ESI): 270 $(M+H)^+$



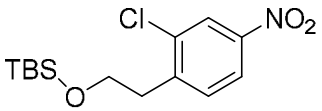
*Paso 3: Síntesis de INT1*

**[0382]** A una mezcla agitada de 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-carbonitrilo (Compuesto 12, 3,0 g, 11,14 mmol, 1,00 eqv.) y HCl (12 M) (3,6 ml) en MeOH (25 ml) se añadió $PtO_2$ (1,25 g, 5,5 mmol, 0,49 eqv.) a 25 ºC. La mezcla se hidrogenó a temperatura ambiente durante 16 h bajo una atmósfera de hidrógeno usando un globo de hidrógeno. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con MeOH (2 x 30 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El sólido resultante se lavó con DCM: MeOH (3:1) (3x30 ml) y se secó. Esto dio como resultado 3-[5-(aminometil)-1-oxo-3H-isoindol-2-il]piperidin-2,6-diona (2,5 g, 80 %) como un sólido gris. LCMS (ESI): 274 $(M+H)^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 11,02 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,98 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,89(d, J=8,4 Hz, 1H), 5,16-5,11 (m, 1H), 4,52 (d, J=17,2 Hz, 1 H), 4,40 (d, J=17,2 Hz, 1 H), 2,96-2,90 (m, 1 H), 2,60-2,54 (m, 1 H), 2,43-2,34 (m, 1 H), 2,06-1,96 (m, 1H)




*Paso 4: Síntesis del Compuesto 14*

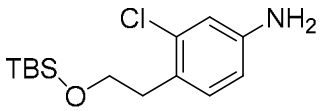
**[0383]** A una solución agitada de ácido (2-cloro-4-nitrofenil)acético (Compuesto 13, 5,00 g, 22,50 mmol, 1,00 eqv.) en THF (75 ml) se añadió $BH_3$-$Me_2S$ (10 M en THF) (5,60 ml, 56 mmol, 2,50 eqv.) gota a gota a 0 ºC bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a 70 ºC durante 2 h. La mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se aplicó sobre una columna de gel de sílice y se eluyó con PE/EtOAc (5:1) para obtener 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (4,44 g, 88 %) como un sólido amarillo. RMN de $^1H$ (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,26 (d, $J$ = 4,0 Hz, 1H), 8,10-8,05 (m, 1H), 7,50 (d, $J$ = 8,0 Hz, 1H), 3,99-3,91 (m, 2H), 3,16-3,09 (m, 2H)




*Paso 5: Síntesis del Compuesto 15*

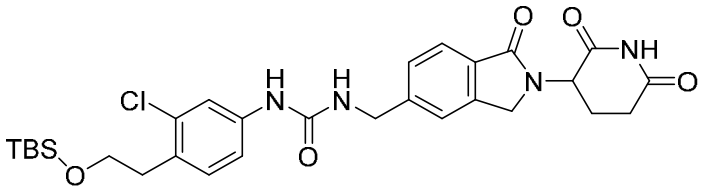
**[0384]** A una mezcla agitada de 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (Compuesto 14, 4,44 g, 22,02 mmol, 1,00 eqv.) e imidazol (4,50 g, 66,06 mmol, 3,00 eqv.) en DMF (50,00 ml) se añadió TBSCl (6,97 g, 46,25 mmol, 2,10 eqv.) a 25 ºC. La mezcla se agitó a 25 ºC durante 16 h. La mezcla resultante se diluyó con agua (100 ml). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (3x100ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se aplicó

sobre columna de gel de sílice y se eluyó con PE/EtOAc (10:1) para obtener terc-butil[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]dimetilsilano (6,6 g, 90 %) como un aceite incoloro. RMN de $^1$H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,24(s, 1H), 8,06-8,04 (m, 1H), 7,46 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,89-3,86 (m, 2H), 3,06-0,04 (m, 2H), 0,85(s, 9H), 0,04(s, 6H).




*Paso 6: Síntesis del Compuesto 16*

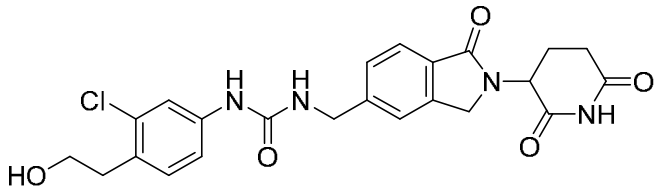
**[0385]** A una mezcla de terc-butil[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]dimetilsilano (Compuesto 15, 5,70 g, 18,05 mmol, 1,00 eqv.) y Fe (10,08 g, 180,45 mmol, 10,00 eqv.) en EtOH (110 ml)/agua (55 ml) se añadió NH4Cl (9,65 g, 180,45 mmol, 10 eqv.). La mezcla se agitó a 80 ºC durante 2 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con EtOH (3 x 50 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó hasta sequedad al vacío para obtener 4-[2-[(terc-butildimetilsilil)oxi]etil]-3-cloroanilina (5,2 g, bruta) como un aceite marrón pálido. LCMS (ESI): 286,29 $(M+H)^+$




*Paso 7: Síntesis del Compuesto 17*

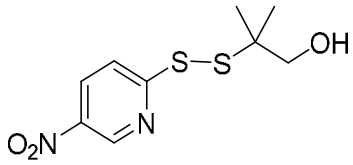
**[0386]** A una solución de 4-[2-[(terc-butildimetilsilil)oxi]etil]-3-cloroanilina (Compuesto 16, 200,00 mg, 0,70 mmol, 1,00 eqv.) y TEA (141 mg, 1,40 mmol, 2,00 eqv.) en DMF (3 ml) se añadió gota a gota CDI (113 mg, 0,70 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (1 ml) bajo nitrógeno a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 25 ºC durante 1 hora. Luego se añadieron gota a gota la solución anterior y TEA (141 mg, 1,40 mmol) a una solución de 3-[5-(aminometil)-1-oxo-3H-isoindol-2-il]piperidin-2,6-diona (INT1, 192 mg, 0,70 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (2 ml). La misma reacción se repitió dos veces. La mezcla resultante se agitó a 25 ºC durante 1 hora. La reacción se diluyó con agua (20 ml), se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó hasta sequedad al vacío. El residuo

se purificó con una columna de gel de sílice (DCM:MeOH=10:1) para obtener 1-(4-[2-[(terc-butildimetilsilil)oxi]etil]-3-clorofenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (170 mg, 21 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI): 585,59 (M+H)+



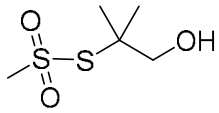

*Paso 8: Síntesis del neodegradador P3*

**[0387]** A una solución de 1-(4-[2-[(terc-butildimetilsilil)oxi]etil]-3-clorofenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (Compuesto 17, 170,00 mg, 0,29 mmol, 1,00 eqv.) en THF (2,00 ml) se añadió TBAF (1 N en THF, 0,58 ml, 0,58 mmol, 2,00 eqv.) a 0 ºC. La mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 8 horas. La reacción se purificó con TLC preparativa (DCM:MeOH=10:1) para obtener 147 mg de 1-(3-cloro-4-(2-hidroxietil)fenil)-3-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)urea bruta como un sólido blanco. LCMS (ESI): 471,47 $(M+H)^+$



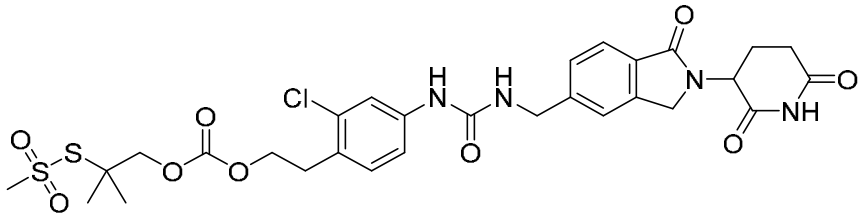

*Paso 9: Síntesis del Compuesto 19*

**[0388]** Se añadieron 2-Metil-2-sulfanilpropan-1-ol (Compuesto 18, 1,4 g, 13,2 mmol, 1,00 eqv.) y 5-nitro-2-[(5-nitropiridin-2-il)disulfanil]piridina (Compuesto 120, 2,05 g, 6,67 mmol, 0,50 eqv.) a una mezcla de disolvente de diclorometano (3,50 ml) y MeOH (3,50 ml). La mezcla resultante se agitó a 15 ºC. Luego se añadió en porciones dióxido de manganeso (2,29 g, 26,2 mmol, 2 eqv.). La mezcla resultante se agitó a 15 ºC durante 15 min. Los rastros de LCMS mostraron que la reacción se había completado. La reacción se evaporó hasta sequedad y el residuo se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de $NH_4HCO_3$), gradiente del 10 % a 100 % en 30 min; detector, UV 254 nm. La fracción recolectada se concentró hasta sequedad al vacío para obtener 2-metil-2-[(5-nitropiridin-2-il)disulfanil]propan-1-ol (2,2 g, 58 %) como un sólido amarillo. LCMS (ESI): 261 $(M+H)^+$.



*Paso 10: Síntesis del Compuesto 20*

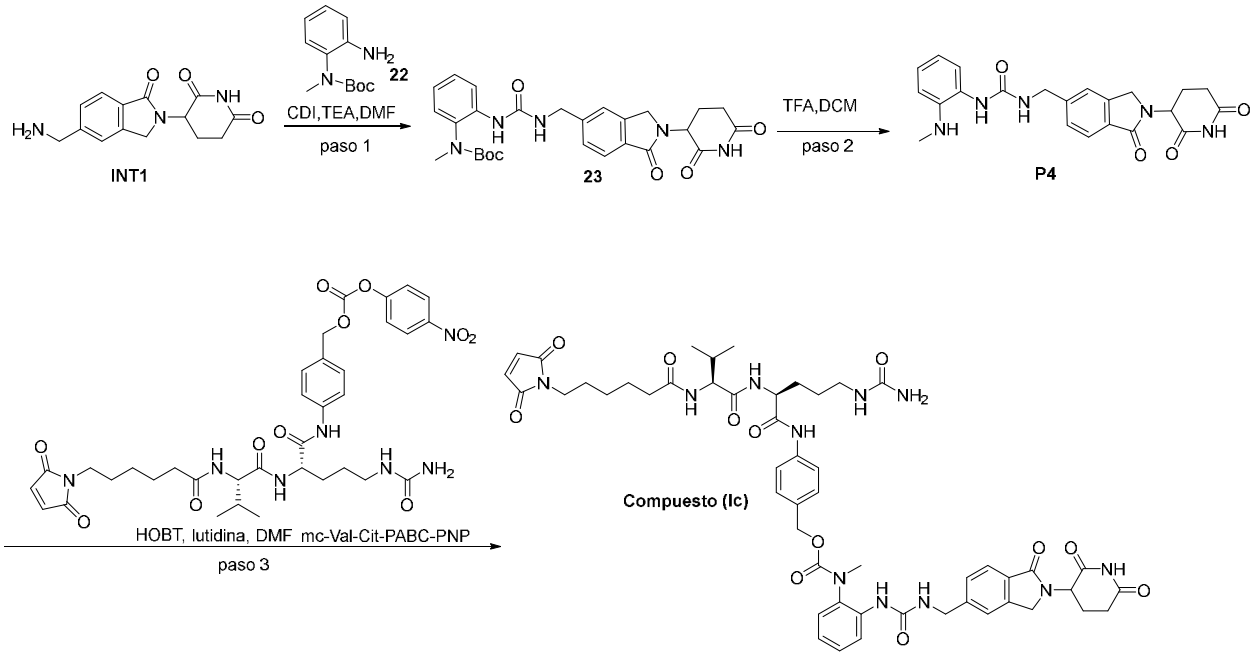
**[0389]** A una solución de 2-metil-2-[(5-nitropiridin-2-il)disulfanil]propan-1-ol (Compuesto 20, 1,0 g, 3,84 mmol, 1,00 eqv.) en DCM anhidro (30 ml) se añadió $MeSO_2Na$ (1,57 g, 15,4 mmol, 4,00 eqv.) y yodo (1,95 g, 7,68 mmol, 2,00 eqv.) en porciones. La mezcla de reacción se agitó a 45 °C durante 24 h. La mezcla se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (TLC: PE:EA = 3:1, Rf = 0,60; EtOAc al 0-35 % en éter de petróleo) para obtener 2-(metanosulfonilsulfanil)-2- metilpropan-1-ol (80 mg, 10 %) como un aceite amarillo. RMN de $^1H$ (400 MHz, $CD_3Cl$): δ 3,50(s, 2H), 3,33(s, 3H), 2,16(s, 1H), 1,47(s, 6H).



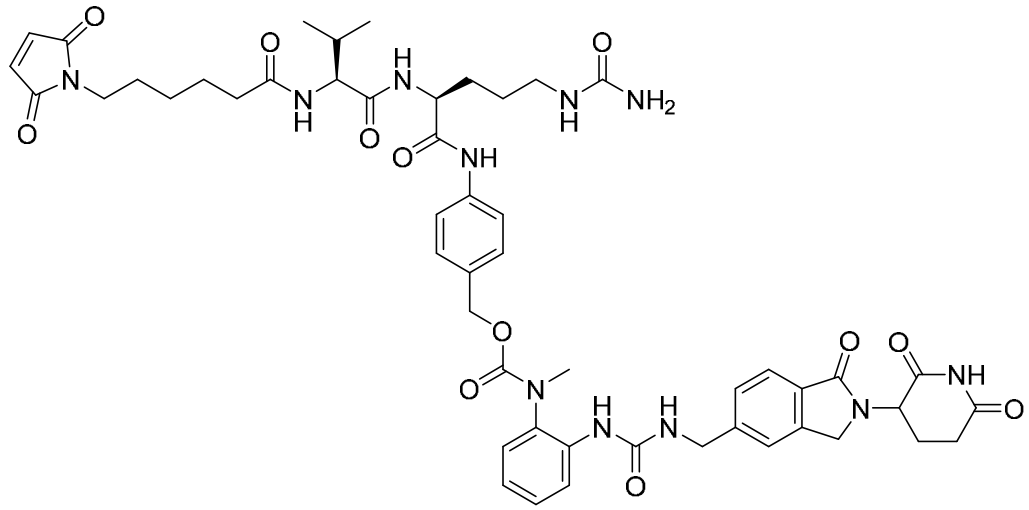
*Paso 11: Síntesis del Compuesto (Ib)*

**[0390]** A una solución de 1-[3-cloro-4-(2-hidroxietil)fenil]-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (neodegradador P3, 200,00 mg, 0,42 mmol, 1,00 eqv.) y TEA (129 mg, 1,26 mmol, 3,00 eqv.) en DMF (4 ml) se añadió una solución de CDI (138 mg, 0,84 mmol, 2,00 eqv.) en DMF (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con agua (20 ml x 3), salmuera (20 ml), se secó con sulfato de sodio y se evaporó hasta sequedad al vacío para obtener el producto bruto (2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etilimidazol-1-carboxilato, 200 mg) como un sólido amarillo pálido. A una solución del producto bruto (100,00 mg, 0,18 mmol, 1,00 eqv.) y $Cs_2CO_3$ (115 mg, 0,35 mmol, 2,00 eqv.) en DMF (8 ml) se añadió 2-(metanosulfonilsulfanil)-2-metilpropan-1-ol (Compuesto 20, 59 mg, 0,32 mmol, 1,80 eqv.) en DMF (2 ml) gota a gota a temperatura ambiente. La reacción se agitó a 15 ºC durante 22 horas. La reacción se diluyó con EtOAc (50 ml) y agua enfriada con hielo (100 ml). La capa orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (30 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con

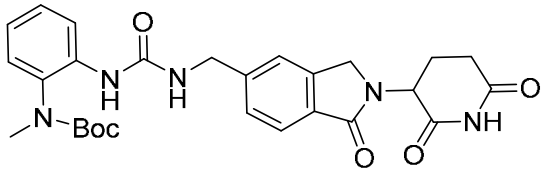
salmuera (30 ml x 3), se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó hasta sequedad al vacío para obtener el producto bruto (150 mg) como un sólido amarillo. El producto bruto se purificó con HPLC preparativa (columna: columna Xselect CSH OBD 30 x 150 mm, 5 µm; fase móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 60 ml/min; gradiente: 38 B a 58 B en 7 min; 220 nm; RT1: 5,12 min). La fracción recolectada se liofilizó para obtener 1-[3-cloro-4-[2-([[2-(metanosulfonilsulfanil)-2-metilpropoxi]carbonil]-oxi)etil]fenil]-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (15,7 mg, 11 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI): 681,68 $(M+H)^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 10,99 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 7,70 (d, $J$ = 2,4 Hz, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,44 (d, $J$ = 8,0 Hz, 1H), 7,24-7,17 (m, 1H), 6,87-6,84 (m, 1H), 5,76 (s, 2H), 5,13-5,11 (m, 1H), 4,42-4,40 (m, 2H), 4,32-4,28 (m, 4H), 3,54 (s, 3H), 3,00-2,87 (m, 3H), 2,62-2,58 (m, 1H), 2,44-2,34 (m, 1H), 2,01-1,95 (m, 1H), 1,45 (s, 6H).




Esquema 3: *Preparación del Compuesto (Ic)*

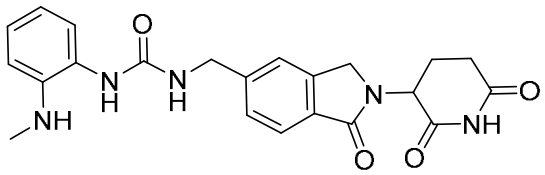


Ejemplo 3: *Síntesis del Compuesto (Ic)*



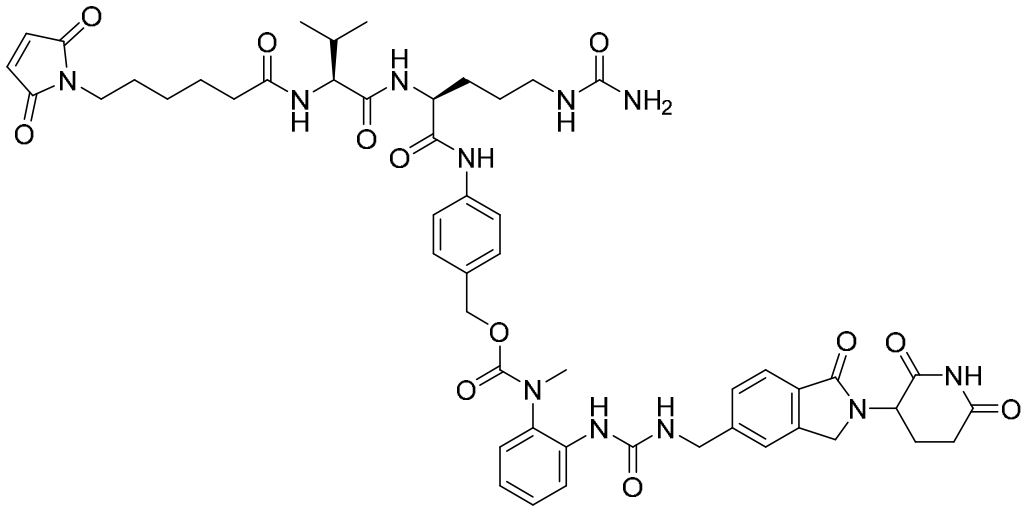
*Paso 1: Síntesis del Compuesto 23*

**[0391]** A una solución agitada de (2-aminofenil)(metil)carbamato de terc-butilo (Compuesto 22, 300 mg, 1,35 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (20 ml) se añadió CDI (218 mg, 1,35 mmol, 1,00 eqv.) y TEA (68 mg, 1,35 mmol, 1,00 eqv.) gota a gota a 0 ºC bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a 0 ºC durante 2 h. A la mezcla anterior se añadió 3-[5-(aminometil)-1-oxo-3H-isoindol-2-il]piperidin-2,6-diona (INT1, 368 mg, 1,35 mmol, 1,00 eqv.) en porciones. La mezcla resultante se agitó durante la noche a 75 ºC. Luego la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se apagó con agua (30 ml) y se extrajo con DCM (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro, se filtraron y concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/MeOH = 10:1) para obtener N-[2-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]-N-metilcarbamato de terc-butilo (300 mg, 42 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI): 522 $(M+H)^+$



*Paso 2. Síntesis del neodegradador P4*

**[0392]** A una solución agitada de N-[2-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]-N-metilcarbamato de terc-butilo (Compuesto 23, 300 mg, 1,00 eqv.) en DCM (20 ml) se añadió TFA (5 ml) a 0 ºC. La mezcla se agitó a 0 ºC durante 2 h. La mezcla resultante se concentró al vacío. El producto bruto se purificó mediante fase inversa con las siguientes condiciones (C18, fase móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 60 ml/min). La fracción recolectada se concentró al vacío para obtener 3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]-1-[2-(metilamin)fenil]urea (210 mg, 87 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI): 422 $(M+H)^+$. RMN de $^1H$ (300 MHz, DMSO-$d_6$) δ 10,99(s, 1H), 7,69 (d, $J$ = 7,8 Hz, 1H), 7,60(s, 1H), 7,53(s, 1H), 7,45 (d, $J$ = 8,4 Hz, 1H), 7,26-7,24(m, 1H), 6,99-6,93(m, 1H), 6,76-6,72(m, 1H), 6,60-6,55(m, 2H), 5,14-5,08(m, 1H), 5,00-4,85(br s, 1H), 4,48-4,28(m, 4H), 2,92-2,82(m, 1H), 2,70(s, 3H), 2,62-2,57(m, 1H), 2,49-2,41(m, 1H), 2,02-1,95(m, 1H).

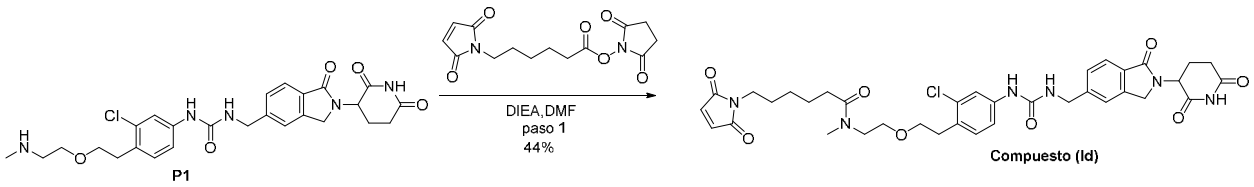


*Paso 3. Síntesis del Compuesto (Ic)*

**[0393]** A una mezcla agitada de 3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]-1-[2-(metilamin)fenil]urea (P4, 150,00 mg, 0,36 mmol, 1,00 eqv.), 2,6-lutidina (76 mg, 0,71 mmol, 2,00 eqv.) y HOBT (96 mg, 0,71 mmol, 2,00 eqv.) en DMF (3,00 ml) se añadió carbonato de 4-nitrofenilo de [4-(2S)-5-(carbamoilamin)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-dioxopirrol-1-

il)hexanamido]-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil]metilo (394 mg, 0,53 mmol, 1,50 eqv.) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, fase Móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B: ACN;) para obtener el producto bruto (60 mg) como un sólido blanco. El producto bruto (60 mg) se purificó mediante HPLC preparativa con las siguientes condiciones (columna: columna Xselect CSH OBD 30 x 150 mm, 5 µm, n; fase móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 60 ml/min; gradiente: 24 B a 44 B en 7 min; 220 nm; RT1:6,33; RT2:). La fracción recolectada se liofilizó para obtener N-[2-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]-N-metilcarbamato de [4-[(2S)-5-(carbamoilamin)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamido]-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil]metilo (18,1 mg, 5 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI): 1020 $(M+H)^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 10,99 (s, 1H), 9,96(s, 1H), 8,19-8,06 (m, 3H), 7,79 (d, $J$ = 8,8 Hz, 1H), 7,70 (d, $J$ = 8,0 Hz, 1H), 7,53-7,41 (m, 5H), 7,20-7,05 (m, 4H), 7,00(s, 2H), 6,95-6,90(m, 1H), 5,95(br s, 1H), 5,41(s, 2H), 5,18-4,89(m, 3H), 4,44 -4,20(m, 5H), 4,19-4,17(m, 1H), 3,09(s, 3H), 3,07-2,85(m, 3H), 2,22-2,02(m, 2H), 2,00-1,85(m, 2H) , 1,71-1,25(m, 10H), 1,20-1,12(m, 3H), 0,84-0,80(m, 6H)

**[0394]** El Esquema 4 muestra cómo se preparó el Compuesto (Id) a partir del neodegradador P1.



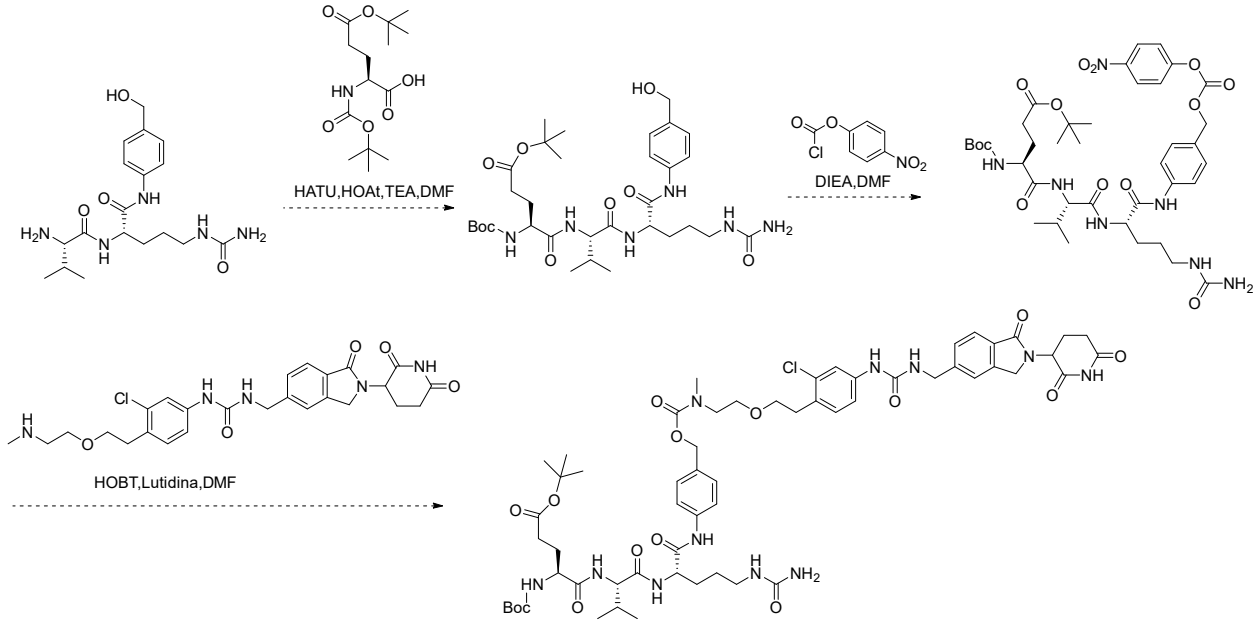

Esquema 4: *Preparación del Compuesto (Id)*

*Síntesis del Compuesto (Id)*

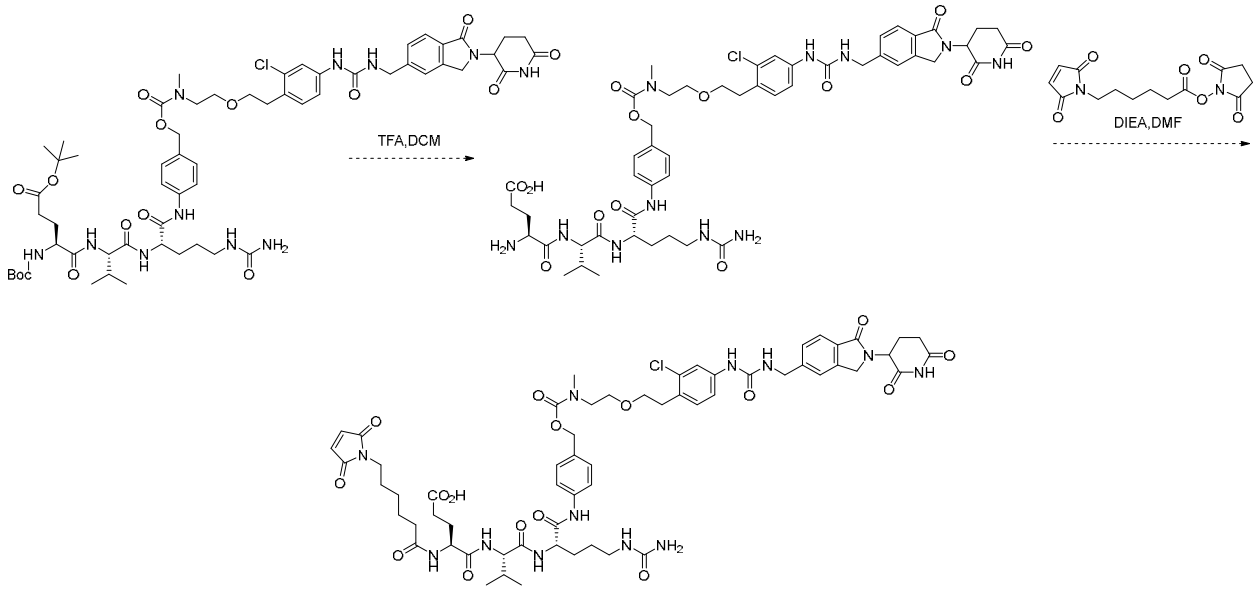
**[0395]** A una mezcla agitada de 1-(3-cloro-4-[2-[2-(metilamin)etoxi]etil]fenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (P1, 40,00 mg, 0,076 mmol, 1,00 eqv.) y 6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo se añadió gota a gota 25,00 mg, 0,081 mmol, 1,07 eqv. en DMF (2,00 ml) de DIEA (20,00 mg, 0,16 mmol, 2,04 eqv.) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se apagó con agua (30 ml) y se extrajo con DCM (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (30 ml), salmuera (30 ml) y se secaron con

$Na_2SO_4$. Después de la filtración, el filtrado se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante las siguientes condiciones: columna: columna SunFire C18 OBD Prep, 100 um, 19 mm x 250 mm; fase móvil A: agua (0,05 % de TFA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 25 ml/min; gradiente: 25 B a 55 B en 8,5 min; 220 nm; RT1:8min. La fracción recolectada se liofilizó para obtener N-[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]-carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil]-6-(2,5-dioxopirrol-1-il)-N-metilhexanamida (Compuesto (Id), 24 mg, 43 %) como un sólido blanco. LCMS: (ES, m/s): 721,723 $(M+H)^+$; RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 10,99 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 7,70-7,66 (m, 2H), 7,51 (s, 1H), 7,41 (d, $J$ = 9,6 Hz, 1 H), 7,18-7,16 (m, 2 H), 7,00 (d, $J$ = 5,6 Hz, 2 h), 6,85-6,80 (m, 1 h), 5,12-5,05 (m, 1 h), 4,42-4,33 (m, 5 h), 3,39-3,36 (m, 3 h), 2,91-2,76 (m, 7 h), 2,68-2,52 (m, 1H), 2,48-2,35 (m, 1H), 2,33-2,20 (m, 3H), 2,05-1,95 (m, 1H), 1,48-1,44 (m, 5H), 1,28-1,12 (m, 3H).

**[0396]** Los Esquemas 5A y 5B muestran cómo preparar un complejo de neodegradador P1 con un enlazador tripéptido alternativo.

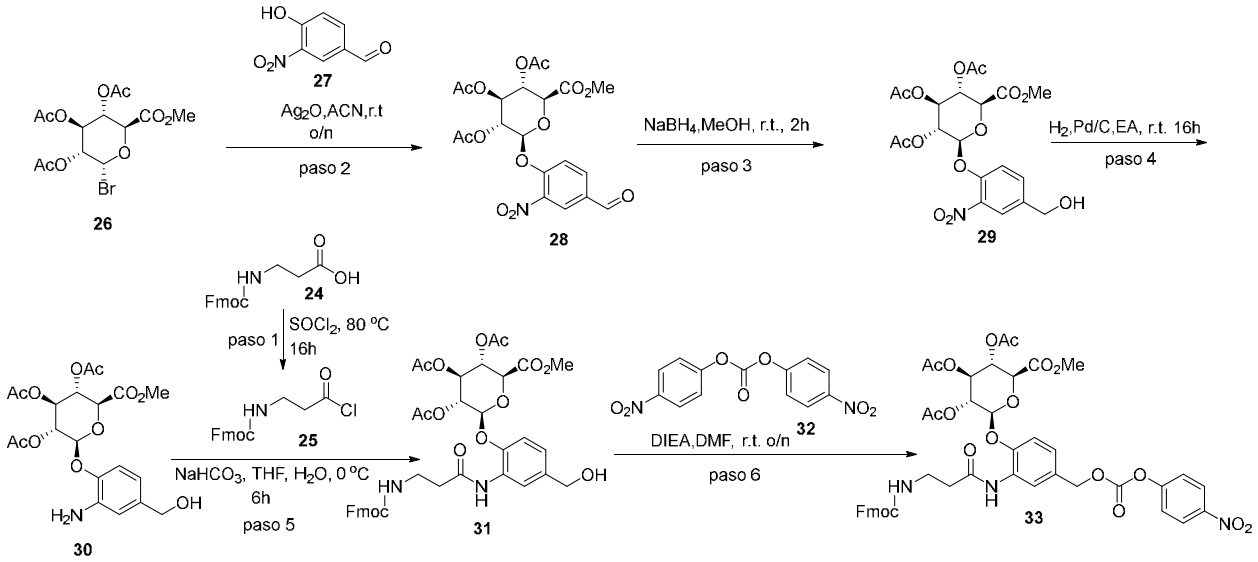



Esquema 5A: *Síntesis del complejo de neodegradador P1-enlazador tripéptido*




Esquema 5B: *Síntesis del complejo de neodegradador P1-enlazador tripéptido (continuación)*

**[0397]** Los Esquemas 6A y 6B muestran cómo preparar un complejo de neodegradador P1 con un enlazador β-glucurónido.




Esquema 6A: *Síntesis del complejo de neodegradador P1-enlazador β-glucurónido*

*Paso 1. Síntesis del Compuesto 25*

**[0398]** A una mezcla agitada de ácido 3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]-propanoico (Compuesto 24, 5,00 g, 16,06 mmol, 1,00 eqv.) en $SOCl_2$ (25 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a 80 ºC. El producto deseado pudo detectarse

mediante LCMS (derivado con MeOH MS=326). LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se concentró al vacío para obtener N-(3-cloro-3-oxopropil)carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 25, 7,5 g, bruto) como un aceite amarillo. El producto bruto se usó en el siguiente paso directamente sin mayor purificación. El análisis de RMN de $^1$H indicó que era el producto deseado (derivado con MeOH). RMN de $^1$H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,81-7,77 (m, 2H), 7,63-7,59 (m, 2H), 7,46-7,40 (m, 2H), 7,40-7,31 (m, 2H), 5,33 (s, 1H), 4,42 (d, J =3,0 Hz, 2H), 4,24 (t, J=6,0 Hz, 1H), 3,74-3,67 (m, 3H), 3,50 (d, J=3,0 Hz, 2H), 2,59 (t, J=6,0 Hz, 2H).

*Paso 2. Síntesis del Compuesto 28*

**[0399]** A una solución agitada de 4-formil-2-nitrofenol (Compuesto 27, 4,21 g, 25,19 mmol, 1,00 eqv.) y $Ag_2O$ (7,00 g, 30,20 mmol, 1,20 eqv.) en ACN (100 ml, 190,24 mmol, 75,00 eqv.) se añadió el Compuesto 26 (10,00 g, 25,17 mmol, 1,00 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con DCM (50 ml x 3). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EA (PE:EA=1:2) para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-(4-formil-2-nitrofenoxi)oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 28**,** 10,5 g, 86 %) como un sólido blanco. El análisis RMN de $^1$H indicó que era el producto deseado. LCMS (ES, m/z):484 $[M+1]^+$. RMN de $^1$H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10,00 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,13-8,09 (m, 1H), 7,52 (d, *J*=3,0 Hz, 1H), 5,47-5,29 (m, 4H), 4,37-4,35 (m, 1H), 3,75-3,73 (m, 3H), 2,17-2,06 (m, 9H).

*Paso 3. Síntesis del Compuesto 29*

**[0400]** A una solución agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-(4-formil-2-nitrofenoxi)oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 28, 6,00 g, 12,41 mmol, 1,00 eqv.) en MeOH (50 ml) se añadió $NaBH_4$ (0,47 g, 12,42 mmol, 1,00 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se apagó con agua a temperatura ambiente. El resultado se secó con $Na_2SO_4$. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con DCM. La mezcla resultante se concentró al vacío para obtener

(2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[4-(hidroximetil)-2-nitrofenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 29, 5,5 g, 91 %) como un sólido. LCMS (ES, m/z):486 [M+H]+.

*Paso 4. Síntesis del Compuesto 30*

**[0401]** A una mezcla agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[4-(hidroximetil)-2-nitrofenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 29, 5,50 g, 11,33 mmol, 1,00 eqv.) en EA (60 ml) se añadió Pd/C (1,10 g, 10 %) en porciones a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $H_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se filtró, la torta de filtración se lavó con DCM y MeOH. El filtrado se concentró al vacío para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-amino-4-(hidroximetil)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 30, 4,0 g, 77 %) como un sólido. El producto bruto se usó en el siguiente paso directamente sin mayor purificación. LCMS (ES, m/z):456$[M+H]^+$.

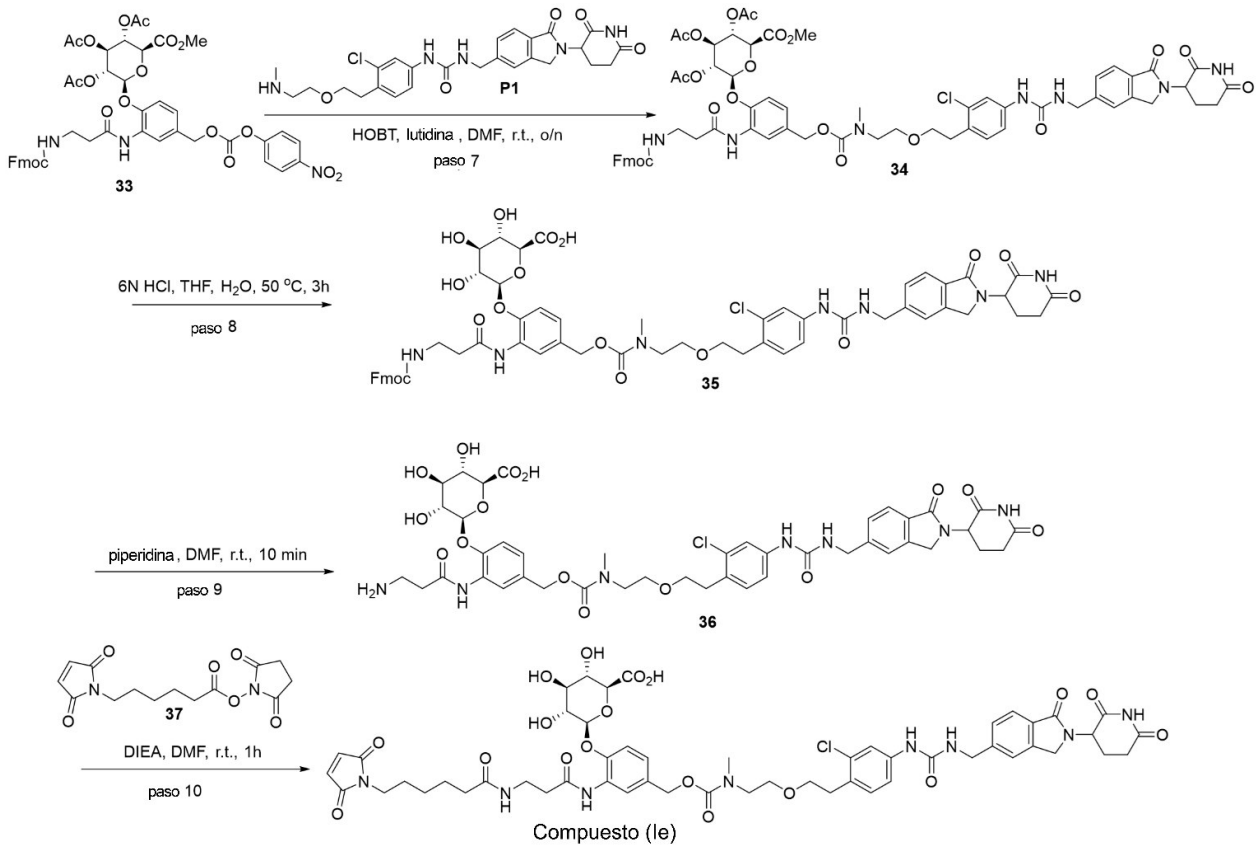
*Paso 5. Síntesis del Compuesto 31*

**[0402]** A una solución agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-amino-4-(hidroximetil)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 30, 1,00 g, 2,19 mmol, 1,00 eqv.) y $NaHCO_3$ (0,20 g, 2,40 mmol, 1,1 eqv.) en THF (10 ml) se añadió el Compuesto 25 (0,87 g, 2,62 mmol, 1,20 eqv.) en porciones a 0 ºC bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante 6 h a 0 ºC bajo una atmósfera de $N_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se apagó con agua a temperatura ambiente. La mezcla resultante se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EA (EA = 100 %) para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]-propanamido)-4-(hidroximetil)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 31, 1,1 g, 66 %) como un amarillo claro sólido. LCMS (ES, m/z):749 $[M+H]^+$.

*Paso 6. Síntesis del Compuesto* 33

**[0403]** A una mezcla agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)-4-(hidroximetil)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 31, 1,50 g, 2,00 mmol, 1,00 eqv.) y carbonato de bis(4-nitrofenilo) (Compuesto 32, 0,68 g, 2,24 mmol, 1,12 eqv.) en DMF (15 ml) se añadió DIEA (0,52 g, 4,01 mmol, 2,00 eqv.)

en porciones a 0 ºC bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 10 % al 90 % en 40 min; detector, UV 254 nm. La fracción recolectada se concentró hasta sequedad al vacío para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)-4-[[(4-nitrofenoxicarbonil)oxi]metil]fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (compuesto 33, 1,4 g, 48 %) como un sólido amarillo. LCMS (ES, m/z):914 $[M+H]^+$.




Esquema 6B: *Síntesis del complejo de neodegradador P1-enlazador β-glucurónido*

*Paso 7. Síntesis del Compuesto 34*

**[0404]** A una mezcla agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)-4-[[(4-nitrofenoxicarbonil)oxi]metil]fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 33, 1,00 g, 1,09 mmol, 1,00 eqv.) y 1-(3-cloro-4-[2-[2-(metilamin)etoxi]etil]fenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-

1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (neodegradador P1, 0,58 g, 1,09 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (10 ml) se añadieron HOBT (1,18 g, 8,72 mmol, 8,00 eqv.) y 2,4-dimetilpiridina (1,07 g, 8,72 mmol, 8,00 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se utilizó para purificación adicional. El residuo se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 10 % al 80 % en 40 min; detector, UV 254 nm. La fracción recolectada se concentró al vacío para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]-2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 34, 800 mg, 56 %) como un sólido. LCMS (ES, m/z):1302 $[M+H]^+$.

*Paso 8. Síntesis del Compuesto 35*

**[0405]** A una mezcla agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]-2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 34**,** A 800,00 mg, 0,61 mmol, 1,00 eqv.) en THF (80 ml) se añadió HCl (6 N, 80 ml) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 ºC bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 0 % al 80 % en 40 min; detector, UV 254 nm. La fracción recolectada se liofilizó para obtener ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]-2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)fenoxi]-3,4,5-trihidroxioxan-2-carboxílico (Compuesto 35, 230 mg, 32 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, m/z):1162$[M+H]^+$.

*Paso 9. Síntesis del Compuesto 36*

**[0406]** A una solución agitada de ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-

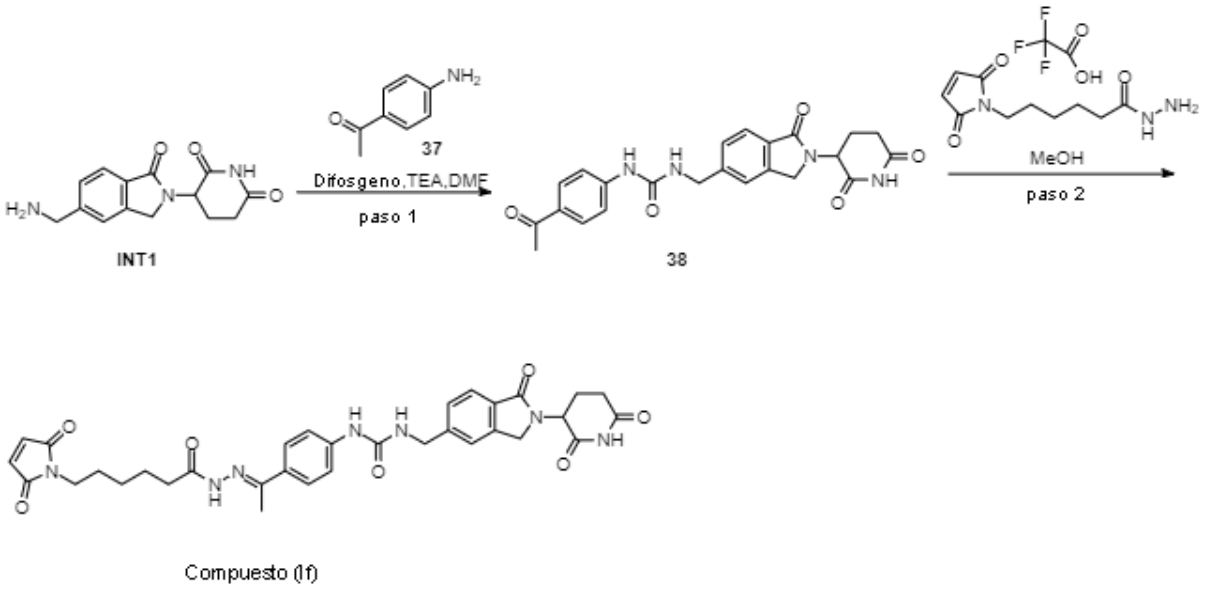
il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]-2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)fenoxi]-3,4,5-trihidroxioxan-2-carboxílico (Compuesto 35, 230 mg, 0,2 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (2 ml) se añadió piperidina (0,4 ml) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 10 min. en temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se usó directamente para una purificación adicional mediante HPLC preparativa con las siguientes condiciones (columna: columna XSelect CSH Prep C18 OBD, 19 x 250 mm, 5 µm; fase móvil A: agua (0,05 % de TFA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 25 ml/min; gradiente: 20 B a 40 B en 7 min; 220 nm; RT 1:5,78 min) para obtener ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-aminopropanamido)-4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]-etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]fenoxi]-3,4,5-trihidroxioxan-2-carboxílico (compuesto 36, 35 mg, 18 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, m/z): 940[M+H]+.

*Paso 10. Síntesis del Compuesto (Ie)*

**[0407]** A una solución agitada de ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-aminopropanamido)-4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]fenoxi]-3,4,5-trihidroxioxan-2-carboxílico (Compuesto 36, 30 mg, 0,03 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (3 ml) se añadieron DIEA (13 mg, 0,10 mmol, 3,00 eqv.) y el Compuesto 37 (30 mg , 0,10 mmol, 3,00 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se purificó mediante HPLC preparativa con las siguientes condiciones (columna: columna Xselect CSH OBD 30 x 150 mm, 5 µm, fase móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 60 ml/min; gradiente: 21 B a 36 B en 10 min; 220 nm; RT 1:11,15 min). La fracción recolectada se liofilizó para obtener ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil]-(metil)carbamoil]oxi)metil]-2-[3-[6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamido]propanamido]fenoxi]-3,4,5-trihidroxioxan-2-carboxílico (Compuesto (Ie), 10,5 mg, 28 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, m/z):1133$[M+H]^+$. RMN de $^1$H (300 MHz, DMSO-$d_6$) δ 10,9 (s, 1H), 9,13 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 7,92-7,68 (m, 4H), 7,52 (s, 1H), 7,44 (d, *J*=3,0 Hz, 1H), 7,18-6,99 (m, 7H), 5,76 (s, 1H), 5,20-5,10 (m, 2H), 4,98 (br s, 2H), 4,76-4,74 (m, 1H), 4,42-

4,33 (m, 4H), 3,65 (br s, 1H), 3,58-3,54 (m, 5H), 3,35 (d, *J*=6 Hz, 2H), 2,90-2,83 (m, 7H), 2,57-2,55 (m, 3H), 2,45-2,30 (m, 1H), 2,02-1,98 (m, 4H), 1,48-1,42 (m, 5H), 1,40-1,20 (m, 3H).

**[0408]** El Esquema 7 muestra cómo preparar un complejo de neodegradador P6 con un enlazador de hidracina.




Esquema 7: *Síntesis del complejo de neodegradador P6-enlazador de hidrazona*

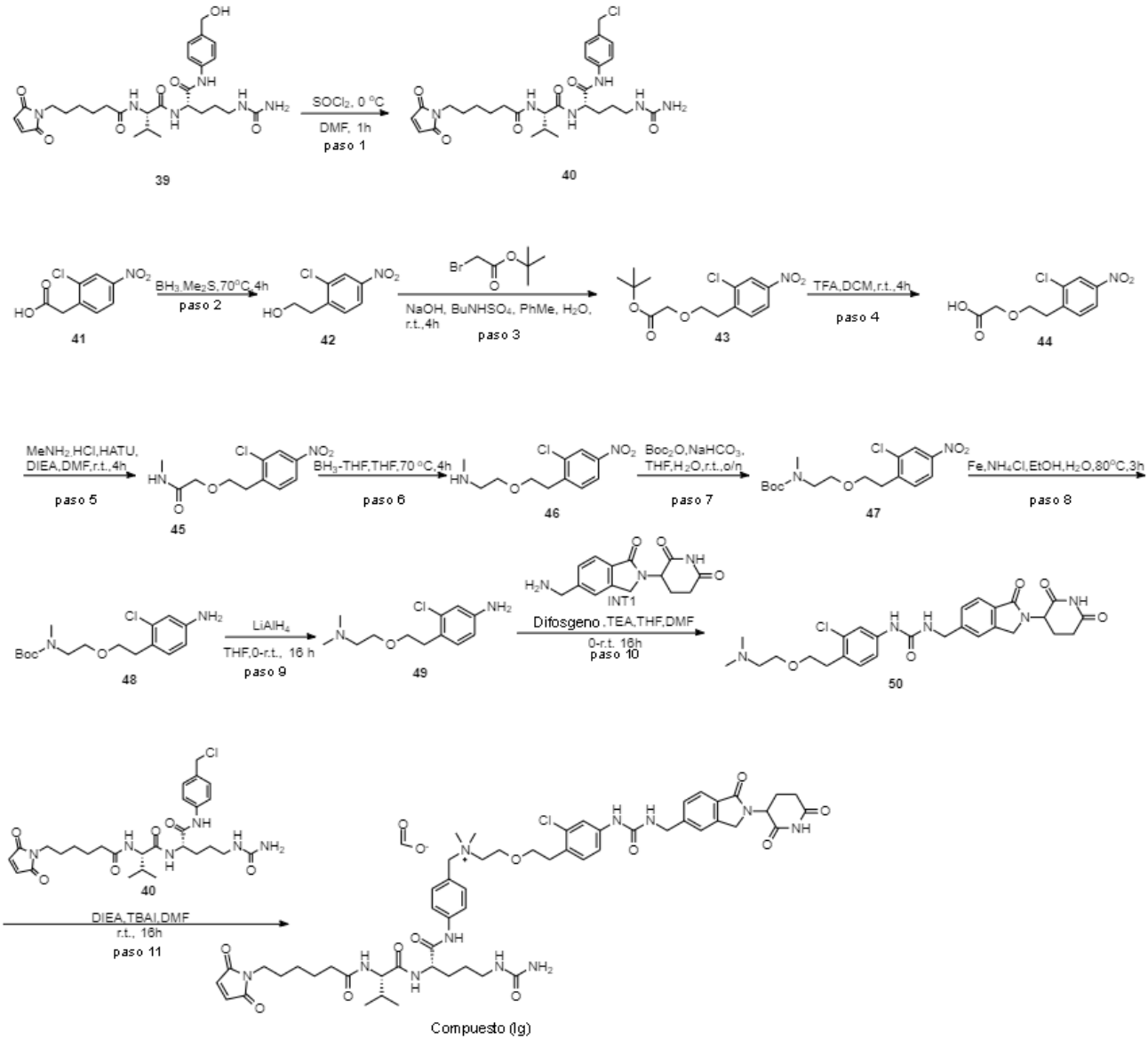
*Paso 1. Síntesis del Compuesto 38*

**[0409]** A una solución agitada de 4-aminoacetofenona (Compuesto 37, 100 mg, 0,73 mmol, 1,00 eqv.) en THF (2,00 ml) se añadió difosgeno (0,40 ml) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a 0 ºC. La mezcla resultante se concentró al vacío. El sólido resultante se volvió a disolver en DMF (1,50 ml). A la solución agitada se añadió 3-[5-(aminometil)-1-oxo-3H-isoindol-2-il]piperidin-2,6-diona (INT1, 200 mg, 0,73 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (3,00 ml) y TEA (0,50 ml) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a 0 ºC. LCMS indicó que la reacción se había completado. A la mezcla se añadió agua (5 ml) y se extrajo con $CH_2Cl_2$ (3x10ml). La capa orgánica se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,05 % de TFA), gradiente del 10 % al 50 % en 35 min; detector, UV 254 nm. La fracción de recolección se concentró hasta sequedad para obtener 1-(4-acetilfenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (Compuesto 38, 80 mg, 25 %) como un sólido amarillo claro. LCMS:(ES.m/z):435$[M+1]^+$.

*Paso 2. Síntesis del Compuesto (If)*

**[0410]** La mezcla de 1-(4-acetilfenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (Compuesto 38, 80,00 mg, 0,18 mmol, 1,00 eqv.) y 6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanohidrazida; ácido trifluoroacético (75 mg, 1,20 eqv.) en metanol (5,00 ml) se agitó durante la noche a 50 °C. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. LCMS indicó que la reacción se había completado. Los sólidos precipitados se recolectaron por filtración y se lavaron con MeOH (2 x 5 ml). El sólido bruto se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 10 % al 50 % en 30 min; detector, UV 254 nm. La fracción recolectada se extrajo con DCM (3x5 ml) y se concentró al vacío. Esto dio como resultado 3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]-1-[4-[(1E)-1-[[6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamido]imino]etil]fenil]urea (Compuesto (If), 4,4 mg, 3,7 %) como un sólido blanquecino. LCMS:(ES.m/z): 642$[M+1]^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 10,99 (s, 1H), 10,26-10,15 (m, 1H), 8,82 (s, 1H), 7,69-7,62(m, 3H), 7,52-7,43 (m, 4H), 7,01-6,99 (m, 2H), 5,13-5,09 (m, 1H), 4,42-4,33 (m, 4H), 2,98-2,82 (m, 1H), 2,62-2,58 (m, 2H), 2,20-2,12 (m, 2H), 1,58-1,51 (m, 6H), 1,26-1,09 (m, 6H)

**[0411]** El Esquema 8 muestra cómo preparar un complejo de neodegradador P2 con un enlazador de amina cuaternaria.




Esquema 8: *Síntesis del complejo de neodegradador P2-enlazador de amina cuaternaria*

*Paso 1. Síntesis del Compuesto 40*

**[0412]** A una solución agitada de N-[(1S)-1-[[(1S)-4-(carbamoilamin)-1-[[4-(hidroximetil)fenil]carbamoil]butil]carbamoil]-2-metilpropil]-6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamida (Compuesto 39, 100 mg, 0,18 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (2 ml) se añadió $SOCl_2$ (20 mg, 0,18 mmol, 1 eqv.) en DCM (2 ml) gota a gota bajo una atmósfera de $N_2$ a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 1h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se diluyó con agua enfriada con hielo (20 ml), se extrajo con DCM (10 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con agua (10 ml), salmuera (10 ml), se secó con sulfato de sodio

anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener N-[(1S)-1-[[(1S)-4-(carbamoilamin)-1-[[4-(clorometil)fenil]-carbamoil]butil]carbamoil]-2-metilpropilo]-6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamida (Compuesto 40, 80 mg, 53 %) del producto como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*): 591, 593 $[M+H]^+$

*Paso 2. Síntesis del Compuesto 42*

**[0413]** A una mezcla agitada de ácido (2-cloro-4-nitrofenil)acético (Compuesto 41, 8,60 g, 39,9 mmol, 1,00 eqv.) en THF (130 ml) se añadió $BH_3$-$Me_2S$ (10,00 ml, 105,4 mmol, 2,64 eqv.) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 4 h a 70 ºC bajo una atmósfera de nitrógeno. TLC (PE:EA=1:2) indicó que la reacción se había completado. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (1:1) para obtener 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (Compuesto 42, 7,7 g, 96 %) como un sólido amarillo. RMN de $^1H$ (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,27 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 8,11-8,07 (m, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,99 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,15 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H).

*Paso 3. Síntesis del Compuesto 43*

**[0414]** A una mezcla agitada de 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol, (Compuesto 42**,** 7,70 g, 38,2 mmol, 1,00 eqv.) y 2-bromoacetato de terc-butilo (57,74 g, 296,0 mmol, 7,75 eqv.) en tolueno (70 ml) se añadió $BU_4NHSO_4$ (10,37 g, 30,6 mmol, 0,80 eqv.) en porciones a 0 °C. A la mezcla anterior se añadió NaOH (15,00 g, 375,0 mmol, 9,82 eqv.) en $H_2O$ (90 ml) gota a gota durante 30 h a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 4 h más a temperatura ambiente. TLC (PE:EA=3:1) indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (5:1) para obtener 2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]acetato de terc-butilo (Compuesto 43**,** 12,2 g, 91 %) como un aceite amarillo. RMN de $^1H$ (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,20 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 8,07-8,03 (m, 1H), 7,61 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 4,11 (s, 2H), 3,83 (t, *J* = 8,1 Hz, 2H), 3,16(t, *J* = 8,1 Hz, 2H), 1,45(s, 9H).

*Paso 4. Síntesis del Compuesto 44*

**[0415]** A una mezcla agitada de 2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]acetato de terc-butilo (Compuesto 43**,** 12,20 g, 38,6 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (120 ml) se añadió TFA (20 ml) gota a gota a 0 ºC. La mezcla resultante se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. Esto dio como resultado ácido [2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]acético (Compuesto 44**,** 8,4 g, 83 %) como un sólido amarillo. LCMS: (ES, m/s): 517 $(2MH)^-$ RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 12,64(s, 1H), 8,20 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 8,11-8,08 (m, 1H), 7,72 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,06 (s, 2H), 3,74 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,06(t, *J* = 8,0 Hz, 2H).

*Paso 5. Síntesis del Compuesto 45*

**[0416]** A una mezcla agitada de ácido [2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]acético (Compuesto 44, 8,40 g, 32,35 mmol, 1,00 eqv.) y HATU (19,19 g, 50,47 mmol, 1,56 eqv.) en DMF (80 ml) se añadieron $CH_3NH_2$.HCl (2,69 g, 39,79 mmol, 1,23 eqv.) y DIEA (17,31 g, 133,93 mmol, 4,14 eqv.) a 0 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 4 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se apagó con agua/hielo. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (DCM: MeOH = 10:1) para obtener 2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]-N-metilacetamida (Compuesto 45**,** 7,2 g, 81 %) como un aceite amarillo. LCMS: (ES, m/s): 273, 275 $(M+H)^+$

*Paso 6. Síntesis del Compuesto 46*

**[0417]** A una mezcla agitada de 2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]-N-metilacetamida (Compuesto 45**,** 7,20 g, 26,40 mmol, 1,00 eqv.) en THF (70 ml) se añadió $BH_3$-THF (10 M en THF, 52,0 ml, 520,0 mmol, 20 eqv.) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 4 h a 70 °C. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La reacción se apagó con MeOH. El residuo se acidificó a pH 6 con 1 N de HCl. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (20 ml). La fase acuosa se basificó a pH 8 con $NaHCO_3$ saturado (sat., ac.). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml), se lavó con salmuera (50 ml) y se secó con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de

sílice, se eluyó con (DCM: MeOH = 8:1) para obtener [2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]etil](metil)amina **(**Compuesto 46**,** 5,4 g, 79 %) como un sólido amarillo. LCMS: (ES, m/s): 259,261 $(M+H)^+$; RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 8,26 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 8,15-8,12 (m, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,72 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,61(t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,10 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 2,87 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 2,40 (s, 3H).

*Paso 7. Síntesis del Compuesto 47*

**[0418]** A una mezcla agitada de [2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]etil](metil)amina (Compuesto 46, 4,00 g, 15,46 mmol, 1,00 eqv.) y $Boc_2O$ (3,80 g, 17,41 mmol, 1,13 eqv.) en THF (20,00 ml) se añadió $NaHCO_3$ (4,00 g, 47,61 mmol, 3,08 eqv.) en $H_2O$ (20,00 ml) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (DCM: MeOH = 12:1) para obtener N-[2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]etil]-N-metilcarbamato de terc-butilo (Compuesto **47**, 4,8 g, 77 %) como un sólido amarillo.
LCMS: (ES, m/s): 359, 361$(M+H)^+$; RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 8,24 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 8,13-8,10 (m, 1H), 7,67 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,05-4,00(m, 1H), 3,69 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,50(t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,28 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,07(t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 2,75(s, 3H), 1,36(s, 9H).

*Paso 8. Síntesis del Compuesto 48*

**[0419]** A una mezcla agitada de N-[2-[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]etil]-N-metilcarbamato de terc-butilo, (Compuesto **47,** 5,60 g, 15,6 mmol, 1,00 eqv.) en EtOH (112,00 ml) se añadieron $NH_4Cl$ (2,50 g, 46,74 mmol, 2,99 eqv.) en $H_2O$ (12,00 ml) y Fe (4,40 g, 78,79 mmol, 5,05 eqv.) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 80 °C. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 30 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (DCM: MeOH = 10:1) para obtener N-[2-[2-(4-amino-2-clorofenil)etoxi]etil]-N-metilcarbamato de terc-butilo (Compuesto

48, 4,2 g, 81 %) como un aceite amarillo. LCMS: (ES, m/s): 329, 331 $(M+H)^+$; RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 6,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,59(d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 6,46-6,43 (m, 1H), 5,18(br s, 2H), 3,50-3,45(m, 4H), 3,29-3,26(m, 2H), 2,75-2,71(m, 5H), 1,38(s, 9H).

*Paso 9. Síntesis del Compuesto 49*

**[0420]** A una solución de N-[2-[2-(4-amino-2-clorofenil)etoxi]etil]-N-metilcarbamato de terc-butilo (Compuesto 48**,** 100 mg, 0,30 mmol, 1,00 eqv.) en THF (3 ml) se añadió $LiAlH_4$ (92 mg, 2,43 mmol, 8,00 eqv.) en THF (2 ml) a 0 ºC bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Las cinco reacciones se realizaron en paralelo. LCMS indicó que la reacción se había completado. Luego la reacción se apagó con 1N de NaOH (10 ml), se filtró, se concentró hasta sequedad al vacío y luego el residuo se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 0 % al 60 % en 30 min; detector, UV 254 nm. La fracción recolectada se concentró hasta sequedad para obtener 3-cloro-4-[2-[2-(dimetilamin)etoxi]etil]anilina, 49 (180 mg, 44 %) como un aceite amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 243, 245 $[M+H]^+$

*Paso 10. Síntesis del Compuesto 50*

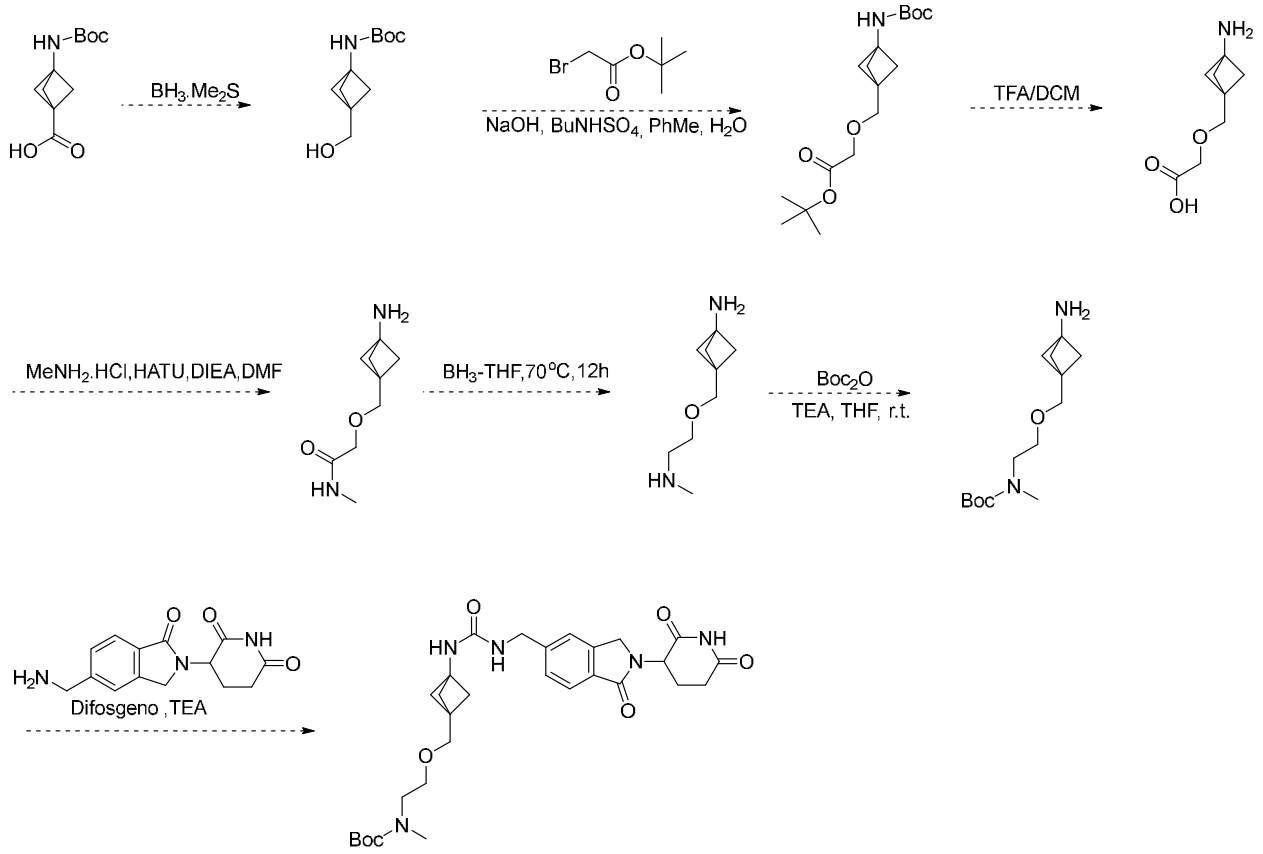
**[0421]** A una solución de 3-cloro-4-[2-[2-(dimetilamin)etoxi]etil]anilina (Compuesto 49, 140 mg, 0,58 mmol, 1,00 eqv.) en THF (9 ml) se añadió difosgeno (137 mg, 0,69 mmol, 1,20 eqv.) a 0 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 0 ºC durante 1 hora. Luego la solución de reacción se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se volvió a disolver en DMF (2 ml) y luego se añadió a una solución de 3-[5-(aminometil)-1-oxo-3H-isoindol-2-il]piperidin-2,6-diona (158 mg, 0,58 mmol, 1,00 eqv.) y TEA (117 mg, 1,15 mmol, 2,00 eqv.) en DMF (4 ml) gota a gota bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se diluyó con metanol y la solución resultante se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 0 % al 50 % en 30 min; detector, UV 254 nm para obtener 100 mg del producto en forma de un sólido incoloro. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa con las siguientes condiciones: columna: columna XBridge Shield RP18 OBD, 19x250 mm, 10 µm; fase móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 25 ml/min;

gradiente: 14 % a 32 % en 7 min; 220 nm; RT1: 5,25 min. La fracción recolectada se liofilizó para obtener 1-(3-cloro-4-[2-[2-(dimetilamin)etoxi]etil]fenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (Compuesto 50, 60 mg, 18 %) como un sólido incoloro. LCMS (ES, m/z): 542, 544 [M+H]+

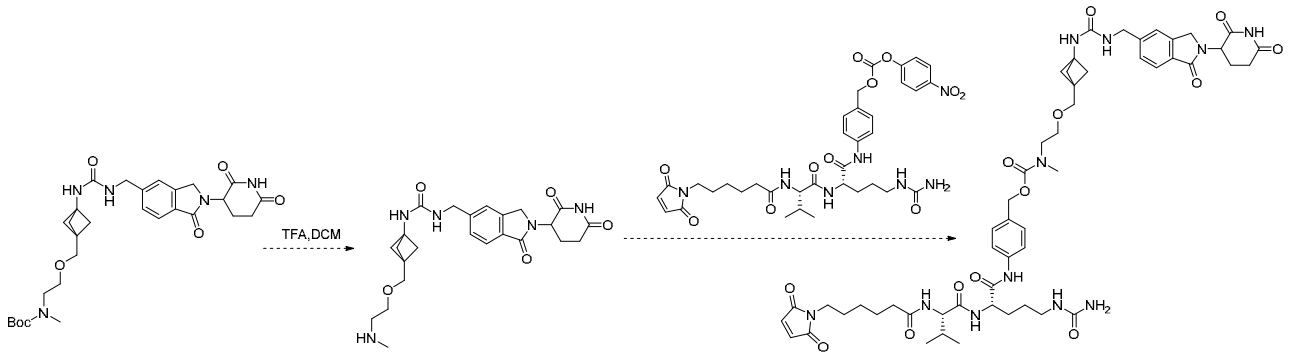
*Paso 11. Síntesis del Compuesto (Ig)*

**[0422]** A una solución de N-[(1S)-1-[[(1S)-4-(carbamoilamin)-1-[[4-(clorometil)fenil]-carbamoil]butil]carbamoil]-2-metilpropil]-6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamida, **(**Compuesto 40, 66 mg, 0,11 mmol, 1,00 eqv.), 1-(3-cloro-4-[2-[2-(dimetilamin)etoxi]etil]fenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin)-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (Compuesto 50, 60 mg, 0,11 mmol, 1,00 eqv.) y DIEA (29 mg, 0,22 mmol, 2,00 eqv.) en DMF (1 ml) se añadió TBAI (4 mg, 0,01 mmol, 0,10 eqv.) a temperatura ambiente en aire. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Los rastros de LCMS mostraron que la reacción se había completado. La mezcla resultante se purificó mediante cromatografía en columna de fase inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,05 % de TFA), gradiente del 5 % al 45 % en 40 min; detector, UV 254 nm para obtener 90 mg del producto bruto como un aceite amarillo. Luego el producto bruto se volvió a purificar mediante las siguientes condiciones: columna: columna Xselect CSH OBD 30*150mm 5 µm, n; fase móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 60 ml/min; gradiente: 15 B a 35 B en 7 min; 220 nm; RT1: 6,00 min para obtener ([4-[(2S)-5-(carbamoilamin)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamido]-3-metilbutanamido]pentanamido]fenil]metil)[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il] metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil]dimetilazanio, Compuesto (Ig) (19 mg, 14,8 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*): 1096 $[M-FA]^+$, 549 $[1/2(M-FA)]^+$; RMN de $^1H$ (400 MHz, $CD_3DO$) δ 8,48 (s, 1H), 7,77-7,72 (m, 3H), 7,55 - 7,47 (m, 3H), 7,37-7,35 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,18 - 7,14 (m, 2H) , 6,77 (s, 2H), 5,17-5,13 (q, J = 8, 4Hz, 1H), 4,51 - 4,46 (m, 5H), 4,35 (s, 2H), 4,12 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 3,90 (s, 2H), 3,79 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,45 (t, J = 7,2 Hz, 4H), 3,22-3,15 (m, 1H), 3,11-3,05 (m, 1H), 3,00 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,92 (s, 6H), 2,89 - 2,84 (m, 1H), 2,81 - 2,73 (m, 1H), 2,54-2,43 (m, 1H), 2,27 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,21 - 2,12 (m, 1H), 2,10 - 2,02 (m, 1H), 1,95 - 1,82 (m, 1H), 1,78-1,69 (m, 1H), 1,64-1,59 (m, 7H), 1,32-1,25 (m, 2H), 0,98-0,96 (m, 6H).

**[0423]** Los Esquemas 9A y 9B muestran cómo preparar un complejo de neodegradador P13 con un enlazador que contiene péptido.

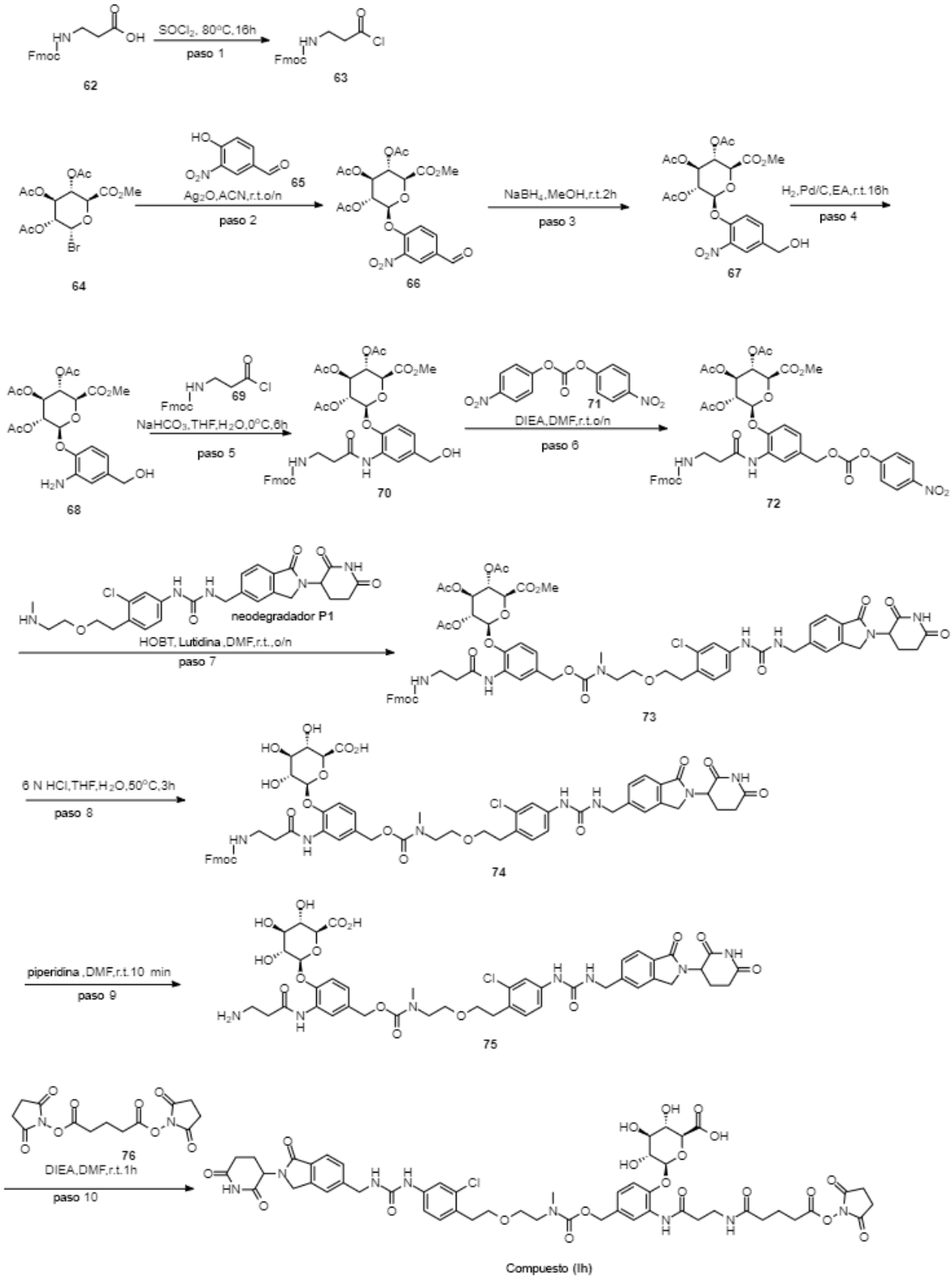



Esquema 9A: *Síntesis del complejo de neodegradador P13-enlazador peptídico*




Esquema 9B: *Síntesis del complejo de neodegradador P13-enlazador peptídico*

**[0424]** El Esquema 10 muestra la síntesis de compuestos de la fórmula (Ih).




Esquema 10*: Síntesis del complejo de neodegradador P1-enlazador β-glucurónido (Compuesto (Ih))*

*Paso 1. Síntesis del Compuesto 63*

**[0425]** A una mezcla agitada de ácido 3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanoico, (Compuesto 62, 5,00 g, 16,06 mmol, 1,00 eqv.), se añadió $SOCl_2$ (25 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a 80 ºC. El producto deseado se pudo detectar mediante LCMS (derivado con MeOH MS=326). LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se concentró al vacío para obtener N-(3-cloro-3-oxopropil)carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 63, 7,5 g, bruto) como un aceite amarillo. El producto bruto se usó directamente en el siguiente paso sin purificación adicional. El análisis de RMN de $^1$H indicó que era el producto deseado (derivado con MeOH). RMN de $^1$H (300 MHz, CDCl3) δ 7,81-7,77 (m, 2H), 7,63-7,59 (m, 2H), 7,46-7,40 (m, 2H), 7,40-7,31 (m, 2H), 5,33 (s, 1H), 4,42 (d, *J* =3,0 Hz, 2H), 4,24 (t, *J*=6,0 Hz, 1H), 3,74-3,67 (m, 3H), 3,50 (d, *J*=3,0 Hz, 2H), 2,59 (t, *J*=6,0 Hz, 2H).

*Paso 2. Síntesis del Compuesto 66*

**[0426]** A una solución agitada de 4-formil-2-nitrofenol (Compuesto 65, 4,21 g, 25,19 mmol, 1,00 eqv.) y $Ag_2O$ (7,00 g, 30,20 mmol, 1,20 eqv.) en ACN (100 ml, 190,24 mmol, 75,00 eqv.) se añadió (2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-bromooxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 64, 10,00 g, 25,17 mmol, 1,00 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con DCM (50 ml x 3). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EA (PE:EA=1:2) para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-(4-formil-2-nitrofenoxi)oxan-2-carboxilato de metilo (compuesto 66, 10,5 g, 86 %) como un sólido blanco. El análisis RMN de $^1$H indicó que era el producto deseado. LCMS (ES, m/z):484 $[M+1]^+$. RMN de $^1$H (300 MHz, CDCl3) δ 10,00 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,13-8,09 (m, 1H), 7,52 (d, *J*=3,0 Hz, 1H), 5,47-5,29 (m, 4H), 4,37-4,35 (m, 1H), 3,75-3,73 (m, 3H), 2,17-2,06 (m, 9H).

*Paso 3. Síntesis del Compuesto 67*

**[0427]** A una solución agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-(4-formil-2-nitrofenoxi)oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 66, 6,00 g, 12,41 mmol, 1,00 eqv.) en MeOH

(50 ml) se añadió $NaBH_4$ (0,47 g, 12,42 mmol, 1,00 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se apagó con agua a temperatura ambiente. El resultado se secó con $Na_2SO_4$. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con DCM. La mezcla resultante se concentró al vacío para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[4-(hidroximetil)-2-nitrofenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo, (Compuesto 67, 5,5 g, 91 %) como un sólido. LCMS (ES, m/z):486 $[M+H]^+$.

*Paso 4. Síntesis del Compuesto 68*

**[0428]** A una mezcla agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[4-(hidroximetil)-2-nitrofenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 67, 5,50 g, 11,33 mmol, 1,00 eqv.) en EA (60 ml) se añadió Pd/C (1,10 g, 10 %) en porciones a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $H_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se filtró, la torta de filtración se lavó con DCM y MeOH. El filtrado se concentró al vacío para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-amino-4-(hidroximetil)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 68, 4,0 g, 77 %) como un sólido. El producto bruto se usó en el siguiente paso directamente sin mayor purificación. LCMS (ES, m/z):456$[M+H]^+$.

*Paso 5. Síntesis del Compuesto 70*

**[0429]** A una solución agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-amino-4-(hidroximetil)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (compuesto 68, 1,00 g, 2,19 mmol, 1,00 eqv.) y $NaHCO_3$ (0,20 g, 2,40 mmol, 1,1 eqv.) en THF (10 ml) se añadió N-(3-cloro-3-oxopropil)carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (compuesto 69, 0,87 g, 2,62 mmol, 1,20 eqv.) en porciones a 0 °C bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante 6 h a 0 ºC bajo una atmósfera de $N_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se apagó con agua a temperatura ambiente. La mezcla resultante se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EA (EA = 100 %) para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)-4-(hidroximetil)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 70, 1,1 g, 66 %) como un sólido amarillo claro. LCMS (ES, m/z):749 $[M+H]^+$.

*Paso 6. Síntesis del Compuesto 72*

**[0430]** A una mezcla agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)-4-(hidroximetil)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 70, 1,50 g, 2,00 mmol, 1,00 eqv.) y carbonato de bis(4-nitrofenilo) (Compuesto 71, 0,68 g, 2,24 mmol, 1,12 eqv.) en DMF (15 ml) se añadió DIEA (0,52 g, 4,01 mmol, 2,00 eqv.) en porciones a 0 °C bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 10 % al 90 % en 40 min; detector, UV 254 nm. La fracción recolectada se concentró hasta sequedad al vacío para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)-4-[[(4-nitrofenoxicarbonil)oxi]metil]fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 72, 1,4 g, 48 %) como un sólido amarillo. LCMS (ES, m/z):914 $[M+H]^+$.

*Paso 7. Síntesis del Compuesto 73*

**[0431]** A una mezcla agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)-4-[[(4-nitrofenoxicarbonil)oxi]metil]fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 72, 1,00 g, 1,09 mmol, 1,00 eqv.) y 1-(3-cloro-4-[2-[2-(metilamin)etoxi]etil]fenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (neodegradador P1, 0,58 g, 1,09 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (10 ml) se añadieron HOBT (1,18 g, 8,72 mmol, 8,00 eqv.) y 2,4-dimetilpiridina (1,07 g, 8,72 mmol, 8,00 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante 16 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se utilizó para purificación adicional. El residuo se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 10 % al 80 % en 40 min; detector, UV 254 nm. La fracción recolectada se concentró al vacío para obtener (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]-2-(3-[[(9H-fluoren-9-

ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 73 (800 mg, 56 %) como un sólido. LCMS (ES, m/z):1302 $[M+H]^+$.

*Paso 8. Síntesis del Compuesto 74*

**[0432]** A una mezcla agitada de (2S,3S,4S,5R,6S)-3,4,5-tris(acetiloxi)-6-[4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]-2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)fenoxi]oxan-2-carboxilato de metilo (Compuesto 73 (800,00 mg, 0,61 mmol, 1,00 eqv.) en THF (80 ml) se añadió HCl (6 N, 80 ml) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a 50 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 0 % al 80 % en 40 min; detector, UV 254 nm. La fracción recolectada se liofilizó para obtener ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]-2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)fenoxi]-3,4,5-trihidroxioxan-2-carboxílico (Compuesto 74, 230 mg, 32 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, m/z):1162 $[M+H]^+$.

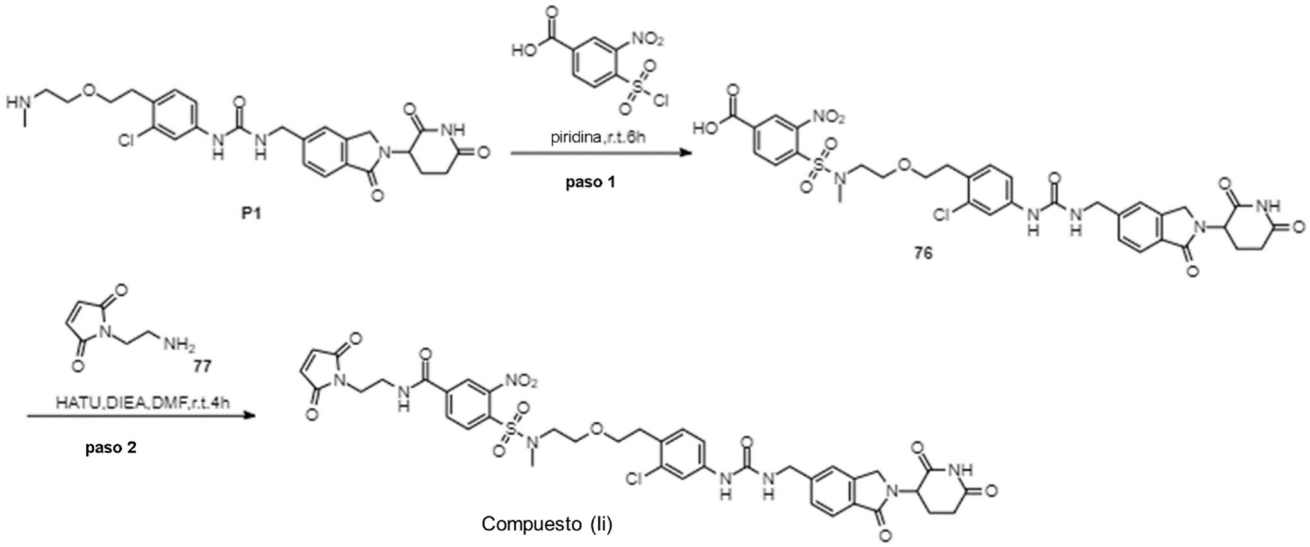
*Paso 9. Síntesis del Compuesto 75*

**[0433]** A una solución agitada de ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]-2-(3-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido)fenoxi]-3,4,5-trihidroxioxan-2-carboxílico, **7**4 (230 mg, 0,2 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (2 ml) se añadió piperidina (0,4 ml) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 10 min. a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se usó directamente para una purificación adicional mediante HPLC preparativa con las siguientes condiciones (columna: columna XSelect CSH Prep C18 OBD, 19 x 250 mm, 5 µm; fase móvil A: agua (0,05 % de TFA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 25 ml/min; gradiente: 20 B a 40 B en 7 min; 220 nm; RT1: 5,78 min) para obtener ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-aminopropanamido)-4-[([[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-

il)-1-oxo-3H-isoindol-5-
il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)carbamoil]oxi)metil]fenoxi]-3,4,5-trihidroxioxan-2-carboxílico (Compuesto 75, 35 mg, 18 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, m/z): 940[M+H]$^+$.

*Paso 10. Síntesis del Compuesto (Ih)*

**[0434]** A una solución agitada de ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-[2-(3-aminopropanamido)-4-[({[2-(2-{2-cloro-4-[({[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil}carbamoil)amino]fenil}etoxi)etil](metil)carbamoil}oxi)metil]fenoxi]-3,4,5-trihidroxioxan-2-carboxílico (Compuesto 75, 110 mg, 0,12 mmol, 1,00 eqv.) y pentanodioato de bis(2,5-dioxopirrolidin-1-ilo) (Compuesto 76, 46 mg, 0,14 mmol, 1,2 eqv.) en DMF (2,0 ml) se añadió DIEA (30 mg, 0,23 mmol, 2,0 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó mediante HPLC preparativa con las siguientes condiciones (columna: Kinetex EVO prep C18, 30 x 150, 5 µm; fase móvil A: agua (0,05 % de TFA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 60 ml/ min; gradiente: 21 % de B a 41 % de B en 7 min, 41 % de B; longitud de onda: 254 nm; RT1 (min): 5,8. La fracción recolectada se liofilizó para obtener ácido (2S,3S,4S,5R,6S)-6-{4-[({[2-(2-{2-cloro-4-[({[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil}carbamoil)amino]fenil}etoxi)etil](metil)carbamoil}oxi)metil]-2-(3-{5-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]-5-oxopentanamido}propanamido)fenoxi}-3,4,5-trihidroxioxan-2-carboxílico (Compuesto (Ih), 48 mg, 34 % como un sólido blanco. LCMS (ES, m/z): 1151 [M+H]$^+$, 1173 [M+Na]$^+$. RMN de $^1$H (300MHz, DMSO-$d_6$): 12,80 (br s, 1H), 10,98 (s, 1H), 9,08 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,68-7,66 (m, 2H), 7,51 (s, 1H), 7,44 (d, J=8,1 Hz,1H), 7,25-7,00 (m, 4H), 6,82-6,80 (m, 1H), 5,86 (s, 1H), 5,39- 5,30 (m, 2H), 5,14-5,07 (m, 1H), 4,97 (s, 2H), 4,84 (d, J=7,2 Hz,1H), 4,47-4,27 (m, 4H), 3,90 (d, J= 9,6 Hz, 1H), 3,56-3,48 (m, 4H), 3,45-3,36 (m, 6H), 2,95-2,80 (m, 8H), 2,75-2,65 (m, 3H), 2,62-2,55 (m, 2H) , 2,49-2,35 (m, 1H), 2,21-2,16 (m, 2H), 2,01-1,95 (m, 1H), 1,85-1,80 (m, 2H).




Esquema 11: *Síntesis del complejo de neodegradador P1-enlazador (Compuesto (Ii))*

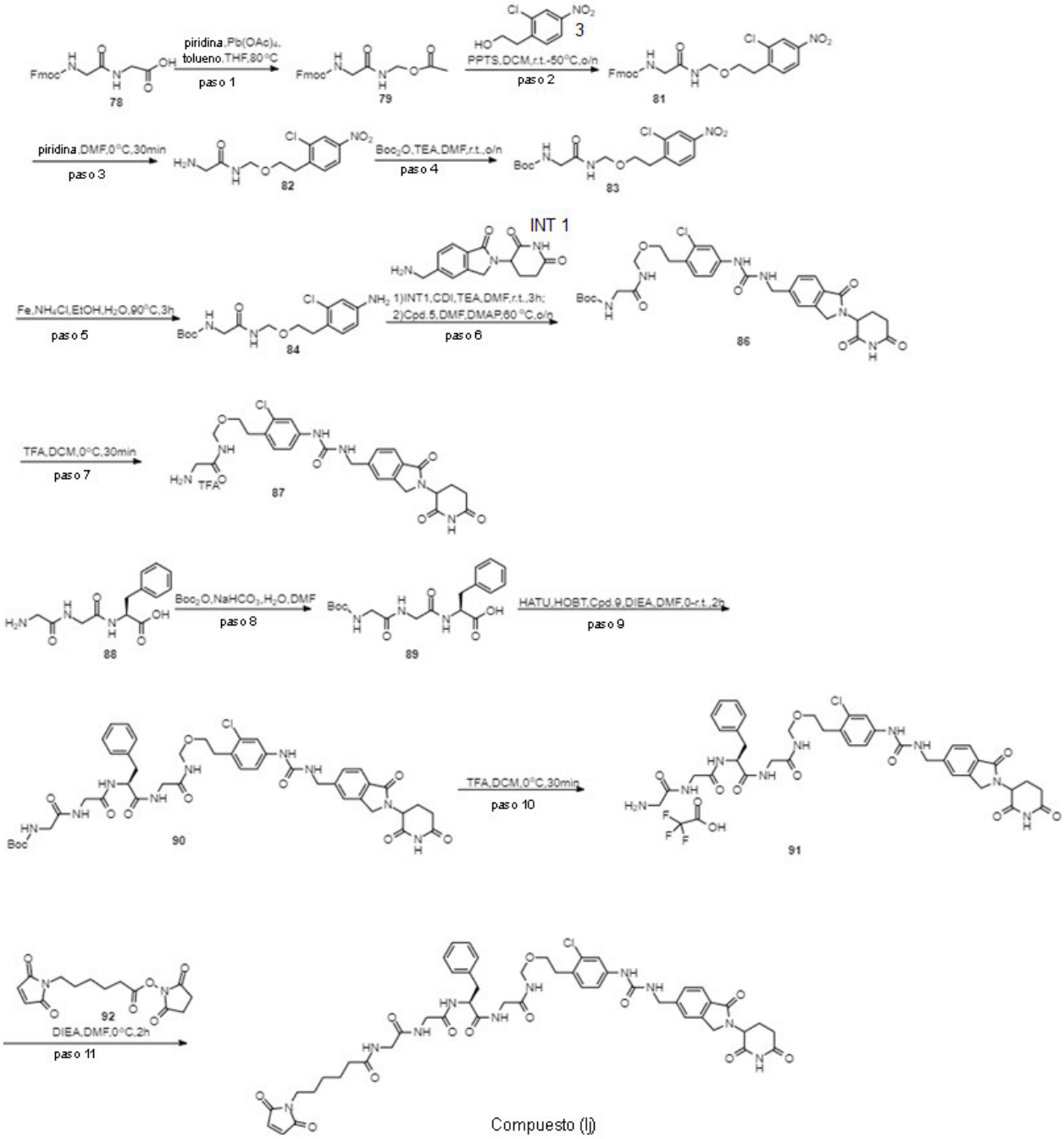
*Paso 1. Síntesis del Compuesto 76*

**[0435]** A una solución agitada de 1-(3-cloro-4-[2-[2-(metilamin)etoxi]etil]fenil)-3-[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]urea (Compuesto P1, 180 mg, 0,34 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (8 ml) se añadieron TEA (104 mg, 1,02 mmol, 3,0 eqv.) y ácido 4-(clorosulfonil)-3-nitrobenzoico (181 mg, 0,68 mmol, 2,00 eqv.) en porciones a 0 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 4 h a 0 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se utilizó para purificación adicional. El residuo se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 10 % al 60 % en 10 min; detector, UV 254 nm. La mezcla se liofilizó para obtener ácido 4-[[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)sulfamoil]-3-nitrobenzoico, (Compuesto 76**,** 70 mg, 27 %) como un sólido amarillo claro. LCMS (ES, *m/z*): 757 $[M+1]^+$.

*Paso 2 Síntesis del Compuesto (Ii)*

**[0436]** A una mezcla agitada de ácido 4-[[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)sulfamoil]-3-nitrobenzoico, (Compuesto 76, 60 mg, 0,08 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (6 ml) se añadieron HATU (45 mg, 0,12 mmol, 1,5 eqv.), clorhidrato de 1-(2-aminoetil)pirrol-2,5-diona (Compuesto **77,** 17 mg, 0,10 mmol, 1,20 eqv.) y DIEA (31 mg, 0,24 mmol, 3,0 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una

atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 4 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (columna: columna XBridge Prep Phenyl OBD, 19 x 150 mm, 5 µm, 13 nm; fase móvil A: agua (0,05 % de TFA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 25 ml/min; gradiente: 25 B a 43 B en 10 min; 220 nm; RT1:11,97 min). La fracción recolectada se liofilizó para obtener 4-[[2-(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)etil](metil)sulfamoil]-N-[2-(2,5-dioxopirrol-1-il)etil]-3-nitrobenzamida (Compuesto (Ii), 27 mg, 36 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*): 879, 881 [M+H]. RMN de $^{1}$H (300 MHz, DMSO-$d_6$) δ 11,00 (s, 1H), 9,01 (t, *J*=6,0 Hz, 1H), 8,82 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 8,11 (s, 2H), 7,71-7,67 (m, 2H), 7,52 (s, 1H), 7,44 (d, *J*=3,0 Hz, 1H), 7,21-7,12 (m, 2H), 7,02 (s, 2H), 6,84 (t, *J*=6,0 Hz, 1H), 5,14-5,08 (m, 1H), 4,48-4,28 (m, 4H), 3,62-3,50(m, 6H), 3,40-3,28 (m, 2H), 2,95-2,85(m, 4H), 2,80-2,73 (m, 2H), 2,65-2,60 (s, 1H), 2,41-2,27 (m, 1H), 2,05-1,95 (m, 1H).




Esquema 12: *Síntesis del complejo de neodegradador P1-enlazador GGFG (Compuesto (Ij))*

*Paso 1. Síntesis del Compuesto 79*

**[0437]** A una mezcla agitada de ácido (2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]-acetamido)acético (Compuesto 78, 10,00 g, 28,22 mmol, 1,00 eqv.) y $Pb(OAc)_4$ (15,02 g, 33,86

mmol, 1,20 eqv.) en THF (300 ml) y tolueno (100 ml) se añadió gota a gota piridina (2,59 g, 32,74 mmol, 1,16 eqv.) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante la noche a 80 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con acetato de etilo (20 ml). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (20 ml), se lavó con agua y salmuera, se secó con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (1:4) para obtener acetato de (2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]acetamido)metilo (Compuesto 79, 6,5 g, 56 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI, ms): 391$[M+Na]^+$. RMN de $^1$HN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,80(d, *J*= 7,5 Hz, 2 H), 7,62 (d, *J*=7,5Hz, 2H), 7,45(t, *J* =7,5 Hz, 2H), 7,36(d, *J* = 7,5 Hz, 2 H), 7,18 (br s, 1 H), 5,48 (br s, 1 H), 5,28 (d, *J* = 7,2 Hz, 2 H), 4,48 (d, *J* = 6,6 Hz, 2 H), 4,26 (t, *J* =6,6 Hz, 1 H), 3,93 (d, 5,4 Hz, 2 H), 2,08 (s, 3 H).

*Paso 2. Síntesis del Compuesto 81*

**[0438]** A una mezcla agitada de acetato de (2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-amino]acetamido)metilo, 79 (2,00 g, 5,43 mmol, 1,00 eqv.) y 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (Compuesto 3, 3,20 g, 15,85 mmol, 2,92 eqv.) en DCM (40 ml) se añadió PPTS (400 mg, 1,59 mmol, 0,29 eqv.) a 0 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante la noche a 45 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. Se pudo detectar un 40 % del producto deseado mediante LCMS. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La reacción se apagó con agua/hielo. La mezcla resultante se extrajo con EtOEt (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (1:9) para obtener N-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]metil]carbamoil)metil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 81, 1,7 g, 55 %) como un sólido blanco. LCMS (ESI, ms): 510, 512$[M+H]^+$. RMN de $^1$H (300 MHz, DMSO-$d_6$): δ 8,58 (t, *J*=5,1 Hz, 1 H), 8,22 (dd, *J* =12, 2,4 Hz, 1 H), 7,89 (d, *J* =7,5 Hz, 1 H), 7,71-7,54 (m, 4 H), 7,43-7,29 (m, 4 H), 4,56 (d, *J* = 6,9 Hz, 2 H), 4,30-4,16 (m, 3 H), 3,70-3,61 (m, 4 H), 3,04 (t, *J* = 6,3 Hz, 2 H).

*Paso 3. Síntesis del Compuesto 82*

**[0439]** A una mezcla agitada de N-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]metil]carbamoil)metil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 81, 1,60 g, 3,14 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (5,0 ml) se añadió piperidina (1,0 ml) en porciones a 0 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,05 % de TFA), gradiente del 0 % al 50 % en 40 min; detector, UV 254 nm. Esto dio como resultado 2-amino-N-[[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]metil]acetamida (Compuesto 82**,** 750 mg, 76 %) como un aceite amarillo. LCMS (ESI, ms) 288$[M+H]^+$,329$[M+H+ACN]^+$

*Paso 4. Síntesis del Compuesto 83*

**[0440]** A una mezcla agitada de 2-amino-N-[[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]-metil]acetamida (Compuesto 82, 750 mg, 2,61 mmol, 1,00 eqv.) y $Boc_2O$ (580 mg, 2,66 mmol, 1,02 eqv.) en DMF (10,00 ml) se añadió $NaHCO_3$(477 mg, 5,68 mmol, 2,18 eqv.) en $H_2O$ (10,00 ml) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se apagó mediante la adición de agua (20 ml). La mezcla resultante se extrajo con EtOEt (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (1:2) para obtener N-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]metil]carbamoil)metil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 83**,** 650 mg, 58 %) como un aceite amarillo. LCMS (ESI, ms), 388 $[M+H]^+$, 332$[M+H-56]^+$. RMN de $^1$HN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,21(d, *J*= 2,4 Hz, 1 H), 8,04 (d, *J*= 8,4 Hz, 2 H), 7,46 (d, *J* = 8,4 Hz, 1 H), 7,05 (br s, 1 H), 5,25 (br s, 1 H), 4,73 (d, *J* = 7,2 Hz, 2 H), 3,81-3,73 (m, 4 H), 3,34-3,32 (m, 2 H), 3,08 (t, *J* =6,8 Hz, 2 H), 1,42 (s, 9 H).

*Paso 5. Síntesis del Compuesto 84*

**[0441]** A una mezcla agitada de N-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etoxi]metil]-carbamoil)metil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 83, 650 mg, 1,68 mmol, 1,00 eqv.) y Fe (260 mg, 4,66 mmol, 2,78 eqv.) en EtOH (9,00 ml) se añadió $NH_4Cl$ (910 mg, 17,01 mmol, 10,1 eqv.) en $H_2O$ (3,00 ml) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 4 h a

90 °C. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se concentró al vacío. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (1:1) para obtener N-[([[2-(4-amino-2-clorofenil)etoxi]metil]-carbamoil)metil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 84**,** 500 mg, 83 %) como un sólido amarillo. LCMS (ESI, ms): 358$[M+H]^+$, 380$[M+Na]^+$. RMN de $^1$HN (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,02-6,96(m, 2H), 6,68(d, *J*=2,4 Hz, 1 H), 6,52-6,49 (m, 1 H), 5,29 (br s, 1 H), 4,74 (d, *J* = 6,9 Hz, 2 H), 3,80-3,78 (m, 2 H), 3,69-3,63 (m, 2 H), 2,88 (t, *J* =7,2 Hz, 2 H), 1,45 (s, 9 H).

*Paso 6. Síntesis del Compuesto 86*

**[0442]** A una mezcla agitada de clorhidrato de 3-[5-(aminometil)-1-oxo-3H-isoindol-2-il]piperidin-2,6-diona (Compuesto 85, 398 mg, 1,28 mmol, 0,92 eqv.) y CDI (450 mg, 2,78 mmol, 1,99 eqv.) en DMF (5,00 ml) se añadió TEA (300 mg, 2,96 mmol, 2,12 eqv.) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. A la mezcla anterior se añadió N-[([[2-(4-amino-2-clorofenil)etoxi]metil]carbamoil)metil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 84, 500 mg, 1,40 mmol, 1,00 eqv.) y DMAP (550 mg, 4,50 mmol, 3,22 eqv.) en porciones. La mezcla resultante se agitó durante la noche más a 60 °C. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 0 % al 50 % en 30 min; detector, UV 254 nm. Esto dio como resultado N-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]-carbamoil)amino]fenil]etoxi)metil]carbamoil]metil)carbamato de terc-butilo (Compuesto 86**,** 550 mg, 60 %) como un sólido marrón claro. LCMS (ESI, ms): 657$[M+H]^+$, 601$[M+H-56]^+$,557$[M+H-100]^+$.

*Paso 7. Síntesis del Compuesto 87*

**[0443]** A una mezcla agitada de N-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)metil]carbamoil]metil)-carbamato de terc-butilo (Compuesto 86**,** 530 mg, 0,80 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (5,00 ml) se añadió TFA (1,00 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a 0 °C. LCMS indicó que la reacción se había

completado. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. Esto dio como resultado 2-amino-N-[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il] metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)metil]acetamida; ácido trifluoroacético (Compuesto 87**,** 510 mg, pureza: 64 %, rendimiento: 60 %) como un sólido blanquecino. LCMS (ESI, ms): 557 $[M+H-TFA]^+$

*Paso 8. Síntesis del Compuesto 89*

**[0444]** A una mezcla agitada de ácido (2S)-2-[2-(2-aminoacetamido)acetamido]-3-fenilpropanoico (Compuesto 88, 2,00 g, 7,16 mmol, 1,00 eqv.) y $NaHCO_3$ (1,80 g, 21,41 mmol, 3,00 eqv.) en $H_2O$ (40,00 ml) se añadió $Boc_2O$ (1,86 g, 8,52 mmol, 1,20 eqv.) en DMF (40,00 ml) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se apagó con agua a temperatura ambiente. La mezcla resultante se extrajo con EtOEt (3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml) y se secaron con $Na_2SO_4$ anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, agua ACN (0,05 % de TFA), gradiente del 5 % al 60 % en 30 min; detector, UV 220 nm. Esto dio como resultado ácido (2S)-2-(2-[2-[(terc-butoxicarbonil)amino]acetamido]acetamido)-3-fenilpropanoico (Compuesto 89, 1,8 g, 60 %) en forma de un semisólido blanco. LCMS (ESI, ms): 380 $[M+H]^+$,324$[M+H-56]^+$. RMN de $^1$H:(300MHz, DMSO-$d_6$) δ 8,17(d, *J*=8,1Hz, 1H), 7,93(t, *J* = 5,7 Hz, 1 H), 7,31-7,20 (m, 5 H), 7,00 (t, *J* =6,0 Hz, 1 H), 4,46-4,39 (m, 1 H), 3,78-3,67 (m, 2 H), 3,56 (d, *J* = 5,7 Hz, 2 H), 3,09-3,02 (m, 1 H), 2,92-2,73 (m, 1 H), 1,39 (s, 9 H).

*Paso 9. Compuesto 90*

**[0445]** A una mezcla agitada de ácido (2S)-2-(2-[2-[(terc-butoxicarbonil)amino]acetamido]-acetamido)-3-fenilpropanoico (Compuesto 89**,** 340 mg, 0,90 mmol, 1,00 eqv.) y HATU (340 mg, 0,90 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (5,00 ml) se añadió HOBT (102 mg, 0,75 mmol, 0,84 eqv.) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a 0 °C. A la mezcla anterior se añadió 2-amino-N-[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)metil]acetamida; ácido trifluoroacético (Compuesto 87, 511 mg, pureza: 64 %, 0,48 mmol, 0,54 eqv.) y DIEA (340 mg, 2,63 mmol, 2,94 eqv.) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h más a temperatura ambiente. LCMS indicó

que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 0 % al 50 % en 30 min; detector, UV 220 nm. La fracción recolectada se concentró al vacío. Esto dio como resultado N-[[([[(1S)-1-[([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)metil]carbamoil]metil)carbamoil]-2-feniletil]carbamoil]metil)carbamoil]metil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 90, 210 mg, 48 %) como un sólido blanquecino. LCMS (ESI, ms): 918 $[M+H]^+$, 818$[M+H-100]^+$. RMN de $^1$H:(400MHz, DMSO-$d_6$): δ 10,97(s, 1H), 8,79(s, 1H), 8,50(t, *J*= 6,4 Hz, 1 H), 8,31 (t, *J*= 4,4 Hz, 1 H), 8,15 (d, *J* =9,6Hz, 1H), 7,910(t, *J* =8,0 Hz, 1 H), 7,68-7,64 (m, 2 H), 7,49 (s, 1 H), 7,43 (d, *J* =9,6 Hz, 1 H), 7,24-7,12 (m, 7 H), 7,00-6,95 (m, 1 H), 6,84 (t, *J* =6,4 Hz, 1 H), 5,13-5,06 (m, 1 H), 4,55-4,27 (m, 7 H), 3,72-3,60 (m, 6 H), 3,75-3,67 (m, 3 H), 3,59-3,49 (m, 5H), 3,07-3,01(m, 1H), 2,94-2,73(m, 4H), 2,62-2,54(m, 1H), 2,40-2,31(m, 1H), 2,01-1,94(m, 1H), 2,00-1,91 (m, 1H), 1,35(s, 9H)

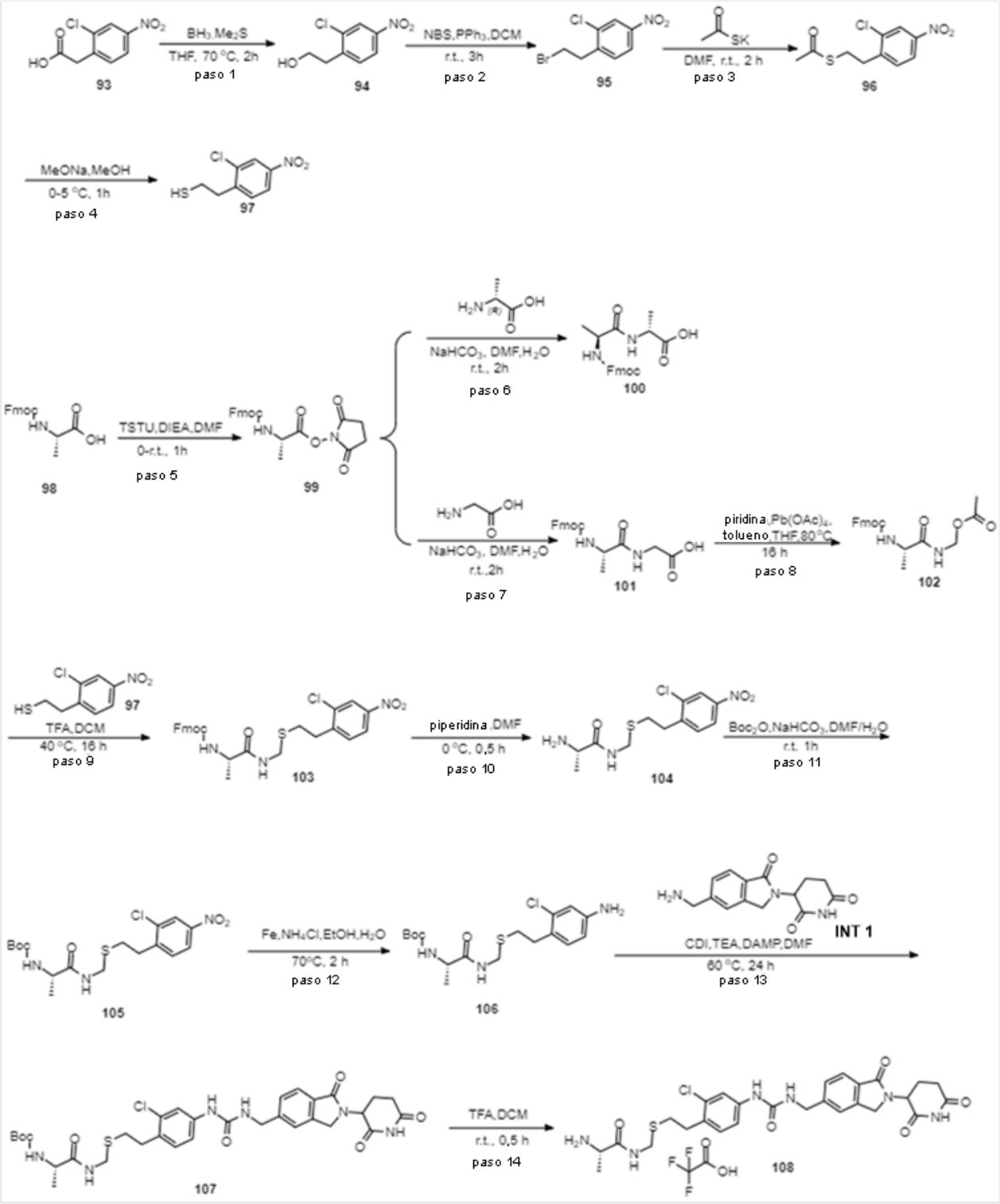
*Paso 10. Síntesis del Compuesto 91*

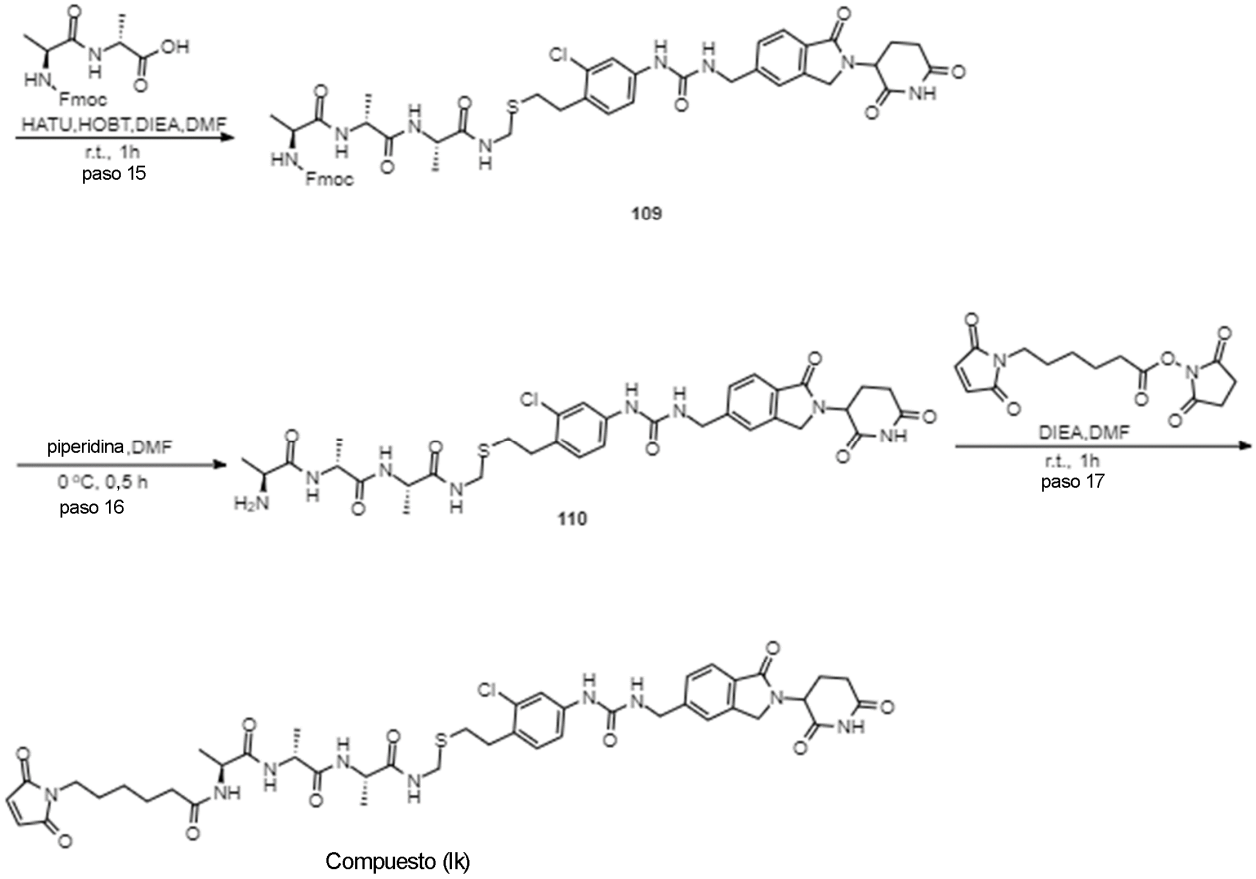
**[0446]** A una mezcla agitada de N-[[([[(1S)-1-[([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)-metil]carbamoil]metil)carbamoil]-2-feniletil]carbamoil]metil]carbamoil]-metil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 90, 140 mg, 0,15 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (5,00 ml) se añadió TFA (1,00 ml) gota a gota a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a 0 °C. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se concentró a presión reducida. Esto dio como resultado (2S)-2-[2-(2-aminoacetamido)acetamido]-N-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)metil]-carbamoil]metil)-3-fenilpropanamida; ácido trifluoroacético (Compuesto 91, 140 mg, 79 %) como un sólido blanquecino. LCMS (ESI, ms): 818 $[M+H-TFA]^+$.

*Paso 11. Síntesis del Compuesto (Ij)*

**[0447]** A una mezcla agitada de (2S)-2-[2-(2-aminoacetamido)acetamido]-N-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)metil]carbamoil]metil)-3-fenilpropanamida; ácido trifluoroacético (Compuesto 91, 140 mg, 0,15 mmol, 1,00 eqv.) y DIEA (70 mg, 0,54 mmol, 3,61

eqv.) en DMF (2,00 ml) se añadió 6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (Compuesto 92, 70 mg, 0,23 mmol, 1,50 eqv.) en porciones a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó directamente mediante las siguientes condiciones: columna: Columna XSelect CSH Prep C18 OBD, 19x250 mm, 5 µm; fase móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 25 ml/min; gradiente: 25 B a 50 B en 7 min; 254 nm; TR1: 6,35 min. La fracción recolectada se liofilizó para obtener el producto bruto. El producto bruto se volvió a purificar según las siguientes condiciones: columna: columna Kinetex EVO C18, 30x150, 5 µm; Fase Móvil A: Agua (0,05 % de TFA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 60 ml/min; gradiente: 20 B a 40 B en 7 min, 220 nm; TR1:6,77min. La fracción recolectada se liofilizó para obtener N-[[([[(1S)-1-[([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etoxi)metil]carbamoil]metil)carbamoil]-2-feniletil]carbamoil]metil)carbamoil]metil]-6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamida (Compuesto (Ik), 22,8 mg, 14 %) como un sólido blanquecino. LCMS (ESI, ms): 1011 $[M+H]^+$. RMN de $^1$H:(400MHz, DMSO-$d_6$): δ 10,95(s, 1H), 8,79(s, 1H), 8,51(t, *J*=8,4Hz, 1H), 8,29(t, *J* =8,0 Hz, 1 H), 8,12-8,01 (m, 3 H), 7,70-7,66 (m, 2 H), 7,44 (s, 1 H), 7,42 (d, *J* =8,0Hz, 1H), 7,23-7,16(m, 7H), 6,99(s, 2H), 6,82(t, *J*=8,0Hz, 1H), 5,13-5,09(m, 1H), 4,55-4,28(m, 7H), 3,72-3,60(m, 6H), 3,55-3,51(m, 2H), 3,36-3,34(m, 2H), 3,05-3,00(m, 1H), 2,94-2,72(m, 4H), 2,62-2,54(m, 1H), 2,40-2,32(m, 1H), 2,12-2,05(m, 2H), 2,00-1,91(m, 1H), 1,50-1,38(m, 4H), 1,19-1,10(m, 2H)


BH3,Me2S
THF, 70 °C, 2h
paso 1
NBS,PPh3,DCM
r.t., 3h
paso 2
DMF, r.t., 2 h
paso 3
MeONa,MeOH
0-5 °C, 1h
paso 4
TSTU,DIEA,DMF
0-r.t., 1h
paso 5
NaHCO3, DMF,H2O
r.t., 2h
paso 6
NaHCO3, DMF,H2O
r.t.,2h
paso 7
piridina,Pb(OAc)4,
tolueno,THF,80 °C
16 h
paso 8
TFA,DCM
40 °C, 16 h
paso 9
piperidina,DMF
0 °C, 0,5 h
paso 10
Boc2O,NaHCO3,DMF/H2O
r.t. 1h
paso 11
Fe,NH4Cl,EtOH,H2O
70°C, 2 h
paso 12
CDI,TEA,DAMP,DMF
60 °C, 24 h
paso 13
INT 1
TFA,DCM
r.t., 0,5 h
paso 14
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108




Esquema 13: *Síntesis del complejo de neodegradador P14-enlazador AAA (Compuesto (Ik))*

*Paso 1. Síntesis del Compuesto 94*

**[0448]** A una solución agitada de ácido (2-cloro-4-nitrofenil)acético (Compuesto 93, 24,00 g, 111,32 mmol, 1,00 eqv.) en THF (240,00 ml) se añadió $BH_3$-$Me_2S$ (28,00 ml, 295,23 mmol, 2,65 eqv.) gota a gota bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 2 horas a 70 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. TLC (PE: EtOAc = 3:1) indicó que la reacción se había completado. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (3:1) para obtener 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (Compuesto 94, 18,00 g, 80 %) como un sólido amarillo claro. RMN de $^1$H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8,27 (s, 1H), 8,10-8,07 (m, 1H), 7,52 (d, $J$ = 3 Hz, 1H), 3,96 (t, $J$ = 6 Hz, 2H), 3,13 (t, $J$ = 6Hz, 2H).

*Paso 2. Síntesis del Compuesto 95*

**[0449]** A una solución agitada de 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (Compuesto 94**,** 5,00 g, 24,80 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (100,00 ml) se añadieron NBS (6,62 g, 1,50 eqv.) y $PPh_3$ (9,76 g,

37,21 mmol, 1,50 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. TLC (PE: EtOAc = 10:1) indicó que la reacción se había completado. La reacción se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (4:1) para obtener 1-(2-bromoetil)-2-cloro-4-nitrobenceno (Compuesto 95, 5,10 g, 72 %) como un aceite rojo. RMN de $^1$H (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 8,28 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 8,18 (dd, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,79 4(t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,38 (t, J = 6,8 Hz, 2H).

*Paso 3. Síntesis del Compuesto 96*

**[0450]** A una solución de 1-(2-bromoetil)-2-cloro-4-nitrobenceno (Compuesto 95, 5,00 g, 18,90 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (50,00 ml) se añadió tioacetato de potasio (2,16 g, 18,90 mmol, 1,00 eqv.) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. TLC (PE: EtOAc= 10:1) indicó que la reacción se había completado. La reacción se diluyó con agua (600,00 ml) y se extrajo con EtOAc (2000 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con agua (200,00 ml), salmuera (200,00 ml), se secó con $Na_2SO_4$ anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener 1-[[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]etenona (Compuesto 96, 4,50 g, 85 %) como un aceite rojo. RMN de $^1$H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,24 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 8,07 (dd, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,20 - 3,05 (m, 4H), 2,34 (s, 3H).

*Paso 4. Síntesis del Compuesto 97*

**[0451]** A una solución agitada de 1-[[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]etenona (Compuesto 96, 2,00 g, 7,70 mmol, 1,00 eqv.) en MeOH (300,00 ml) se añadió MeONa (6,93 ml), 37,33 mmol, 5,00 eqv., 30 % en MeOH) a 0 °C bajo $N_2$. La mezcla resultante se agitó a 0 °C bajo $N_2$ durante 1 h. TLC (PE: EtOAc=10:1) indicó que la reacción se había completado. La reacción se apagó con AcOH hasta un valor de pH de 3-4. La mezcla resultante se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se diluyó con DCM (50,00 ml) y se filtró. El filtrado se purificó con TLC preparativa (PE: EtOAc = 10:1) para obtener 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanotiol (Compuesto 97, 1,35 g, 72 %) como un aceite amarillo claro. RMN de $^1$H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,26 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 8,09 (dd, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,14 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 2,85 (dt, J = 8,0, 7,2 Hz, 2H), 1,43 (t, *J* = 7,2Hz, 1H).

*Paso 5. Síntesis del Compuesto 99*

**[0452]** A una solución agitada de ácido (2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanoico (Compuesto 98**,** 20,00 g, 64,24 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (200,00 ml) se añadieron TSTU (25,18 g, 83,52 mmol, 1,30 eqv.) y DIEA (16,60 g, 128,48 mmol, 2,00 eqv.) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de aire. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se diluyó con agua (200,00 ml) y se extrajo con EtOAc (100,00 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con agua (100,00 ml), salmuera (100,00 ml), se secó con $Na_2SO_4$ anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (PE: EtOAc = 1:2) para obtener (2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (Compuesto 99, 25,00 g, 83 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*):431$[M+Na]^+$.

*Paso 6. Síntesis del Compuesto 100*

**[0453]** A una solución de D-alanina (1,09 g, 0,012 mmol, 1,00 eqv.) y $NaHCO_3$ (3,09 g, 0,04 mmol, 3,00 eqv.) en agua (50,00 ml) se añadió una solución de (2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (Compuesto 99, 5,00 g, 12,24 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (50,00 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se ajustó a un valor de pH de 2-3 con 2 N de HCl. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (100,00 ml x 3) y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100,00 ml x 3), se secó con $Na_2SO_4$ anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener ácido (2R)-2-[(2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-amino]propanamido]propanoico (Compuesto 100, 4,00 g, 71 % ) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*): 383 $[M+H]^+$

*Paso 7. Síntesis del Compuesto 101*

**[0454]** A una solución de glicina (3,68 g, 48,97 mmol, 1,00 eqv.) y $NaHCO_3$ (12,34 g, 146,89 mmol, 3,00 eqv.) en agua (200,00 ml) se añadió una solución de (2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (Compuesto 99**,** 20,00 g, 48,97 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (200,00 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se ajustó a un valor de pH de 2-3 con 2 N de HCl. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (500,00 ml x 3) y la capa orgánica

combinada se lavó con salmuera (500,00 ml), se secó con Na2SO4 anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener ácido [(2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido]acético (Compuesto 101, 15,00 g, 71 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*): 369 $[M+H]^+$

*Paso 8. Síntesis del Compuesto 102*

**[0455]** Una solución de ácido [(2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido]-acético (Compuesto 101, 5,00 g, 13,57 mmol, 1,00 eqv.), $Pb(OAc)_4$ (7,22 g, 16,28 mmol, 1,20 eqv.) y piridina (1,29 g, 16,31 mmol, 1,20 eqv.) en THF (300,00 ml)/tolueno (100,00 ml) bajo una atmósfera de $N_2$ se agitó a 80 °C durante 16 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. Después de enfriar a temperatura ambiente, se filtró la reacción. La torta de filtración se lavó con THF (100,00 ml). La capa orgánica combinada se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (PE: EtOAc=1:2) para obtener acetato de [(2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido]metilo (Compuesto 102**,** 2,50 g, 45 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*): 405 $[M+Na]^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 7,77 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,58 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,43 - 7,37 (m, 2H), 7,36 - 7,29 (m, 2H), 7,10 (s, 1H), 5,24 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 4,51 - 4,35 (m, 2H), 4,23-4,09 (m, 2H), 2,04 (s, 3H), 1,39 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H).

Paso 9. Síntesis del Compuesto 103

**[0456]** A una solución agitada de acetato de [(2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]-propanamido]metilo (Compuesto 102, 2,25 g, 5,88 mmol, 1,00 eqv.) y 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanotiol (Compuesto 97, 1,28 g, 5,88 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (120 ml) se añadió TFA (0,27 ml, 2,37 mmol, 0,62 eqv.) bajo $N_2$ a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (PE: EtOAc=1:4) para obtener N-[(1S)-1-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)carbamoil]etil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 103, 3,10 g, 90 %) como un sólido amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 540 $[M+H]^+$

*Paso 10. Síntesis del Compuesto 104*

**[0457]** A una solución de N-[(1S)-1-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)carbamoil]etil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 103, 3,10 g, 5,74 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (155,00 ml) se añadió piperidina (31,00 ml) a 0 ºC bajo $N_2$. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 0,5 h bajo $N_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se diluyó con agua (600,00 ml). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (200,00 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200,00 ml), se secó con $Na_2SO_4$ anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener 3,00 g del producto bruto. El producto bruto se volvió a purificar mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (DCM:MeOH =3:1) para obtener (2S)-2-amino-N-([[2-(2-cloro-4-nitrofenilo) etil]sulfanil]metil)propenamida, 104 (1,50 g, 78 %) como un aceite amarillo. LCMS (ES, m/z): 318 [M+H]+.

*Paso 11. Síntesis del Compuesto 105*

**[0458]** A una solución de (2S)-2-amino-N-([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)-propenamida (Compuesto 104, 1,50 g, 4,72 mmol, 1,00 eqv.) en Se añadió DMF (75,00 ml) a una solución de $NaHCO_3$ (0,59 g, 7,08 mmol, 1,50 eqv.) en $H_2O$ (10,00 ml) y $Boc_2O$ (1,03 g, 4,72 mmol, 1,00 eqv.) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se diluyó con agua (500,00 ml), se extrajo con EtOAc (200,00 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200,00 ml x 3), se secó con Na2SO4 anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener N-[(1S)-1-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)carbamoil]etil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 105, (1,82 g, 83) como un aceite rojo. LCMS (ES, *m/z*): 418 $[M+H]^+$, 318 $[M+H-100]^+$

*Paso 12. Síntesis del Compuesto 106*

**[0459]** Una suspensión de N-[(1S)-1-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]-metil)carbamoil]etil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 105, 1,82 g, 4,36 mmol, 1,00 eqv.), hierro en polvo (2,43 g, 0,04 mmol, 10,00 eqv.) y $NH_4Cl$ (2,33 g, 0,04 mmol, 10,00 eqv.) en EtOH (100,00 ml)/$H_2O$ (50,00 ml) se agitó a 70 °C durante 2 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se filtró. El filtrado se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se disolvió con DCM (50,00 ml) y se filtró. El filtrado se concentró hasta sequedad y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (DCM:MeOH = 13:1)

para obtener N-[(1S)-1-[([[2-(4-amino-2-clorofenil)etil]sulfanil]metil)carbamoil]etil]-carbamato de terc-butilo (Compuesto 106, 1,20 g, 68 %) como un aceite amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 388 $[M+H]^+$

*Paso 13. Compuesto 107*

**[0460]** A una solución agitada de 3-[5-(aminometil)-1-oxo-3H-isoindol-2-il]piperidin-2,6-diona (INT 1, 352 mg, 1,29 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (5,00 ml) a 0 °C se añadieron CDI (209,00 mg, 1,29 mmol, 1 eqv.) y TEA (260 mg, 2,58 mmol, 2 eqv.). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 2 h. Luego se añadieron N-[(1S)-1-[([[2-(4-amino-2-clorofenil)etil]sulfanil]-metil)-carbamoil]etil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 106, 500,00 mg, 1,29 mmol, 1,00 eqv.) y DMAP (472 mg, 3,87 mmol, 3,00 eqv.). La mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 24 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 0 % al 60 % en 30 min; detector, UV 254 nm para obtener N-[(1S)-1-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]carbamoil)etil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 107, 450,00 mg, 48 %) como un sólido amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 687 $[M+H]^+$

*Paso 14. Compuesto 108*

**[0461]** A una solución agitada de N-[(1S)-1-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]-metil]carbamoil)etil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 107, 440,00 mg, 0,64 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (22,00 ml) se añadió TFA (2,20 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se concentró hasta sequedad al vacío para obtener (2S)-2-amino-N-[[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]-metil]propanamida; ácido trifluoroacético (Compuesto 108, 400,00 mg, bruto) como un aceite rojo. El residuo se usó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS (ES, *m/z*): 587 $[M+H-TFA]^+$

*Paso 15. Síntesis del Compuesto 109*

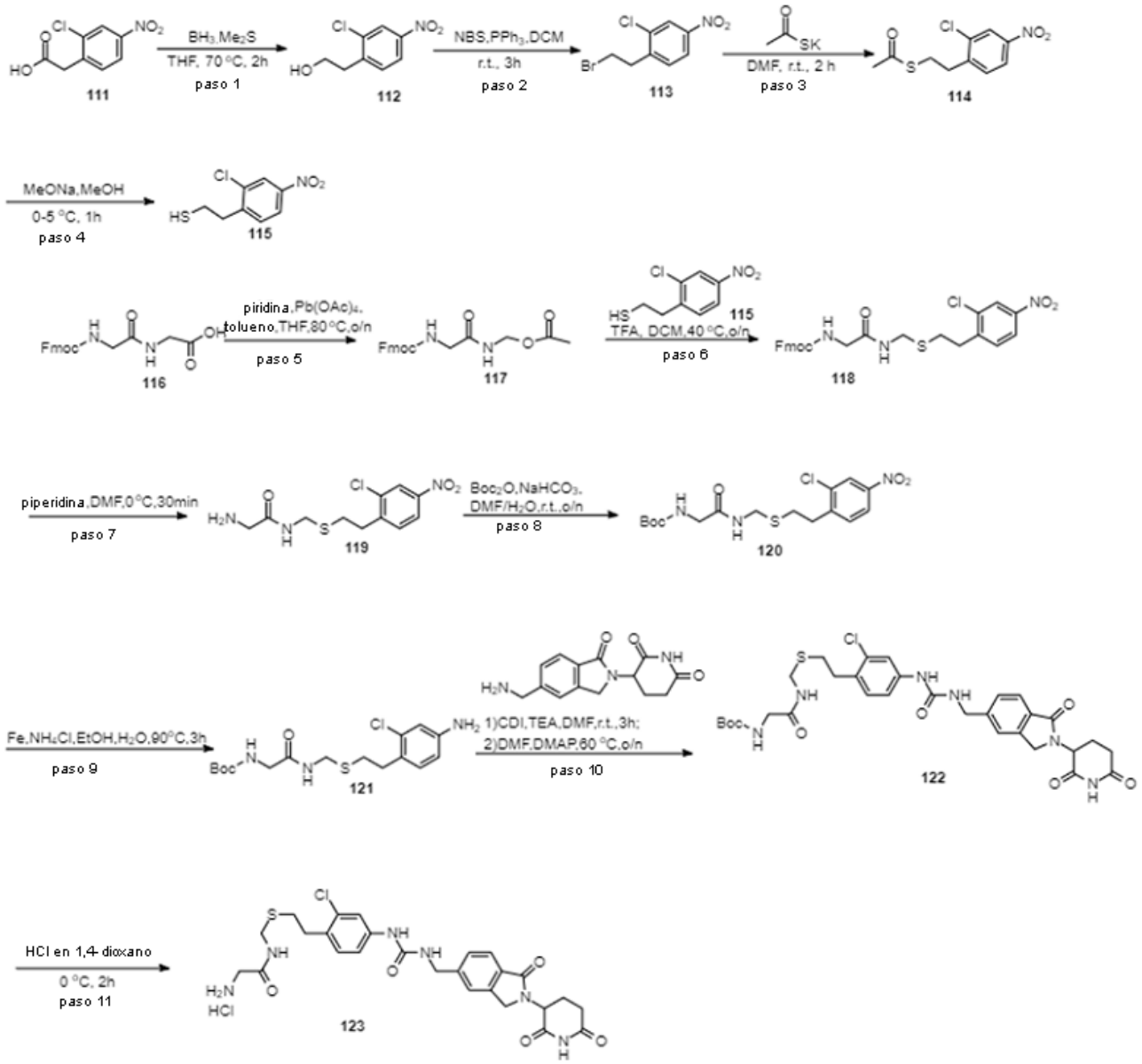
**[0462]** Una solución de ácido (2R)-2-[(2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-amino]propanamido]propanoico (218 mg, 0,57 mmol, 1,00 eqv.), HOBT (77 mg, 0,57 mmol, 1,00 eqv.) y HATU (216 mg, 0,01 mmol, 1,00 eqv.) se agitó a temperatura ambiente en aire durante 1 hora, luego (2S)-2-amino-N-[[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil] carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]propanamida; ácido trifluoroacético (Compuesto 108, 400 mg, 0,57 mmol, 1,00 eqv.) y DIEA (663 mg, 5,14 mmol, 9,00 eqv.) se añadió a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,05 % de TFA), gradiente del 0 % al 50 % en 30 min; detector, UV 254 nm para dar N-[(1S)-1-[[(1R)-1-[[(1S)-1-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]carbamoil)etil] carbamoil]etil]carbamoil]etil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 109**,** 480,00 mg, 75 %) como un sólido verde. LCMS (ES, *m/z*): 951 $[M+H]^+$

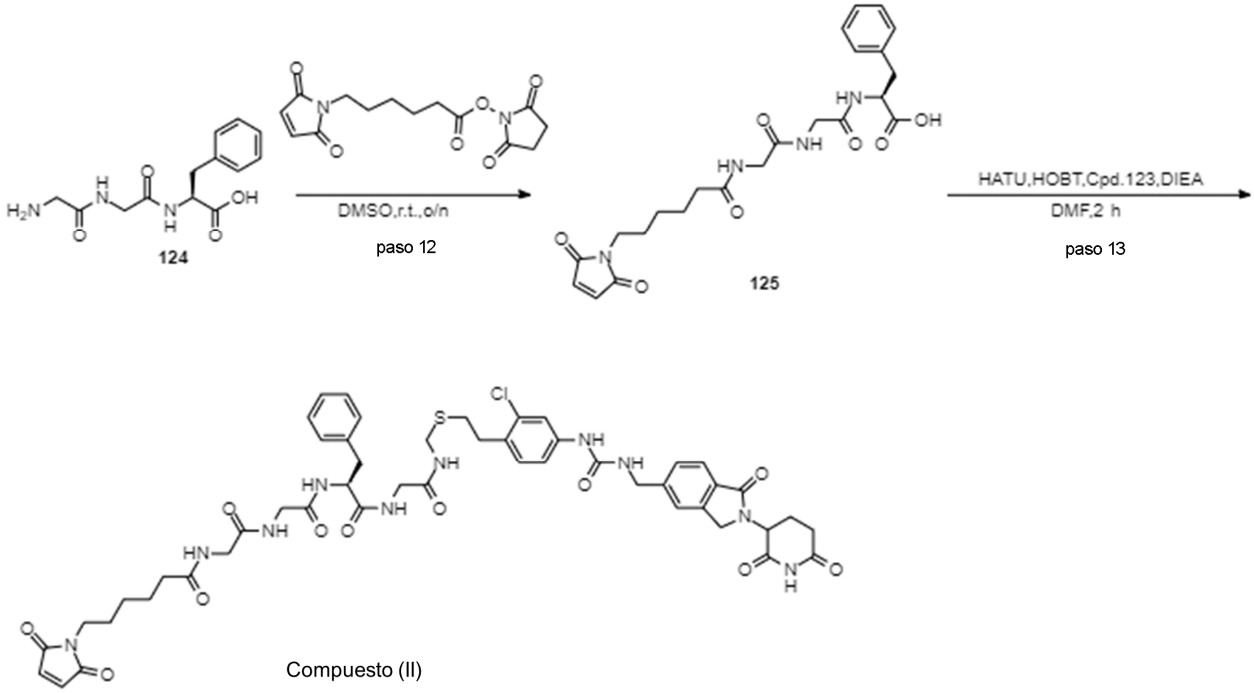
*Paso 16. Compuesto 110*

**[0463]** A una solución de N-[(1S)-1-[[(1R)-1-[[(1S)-1-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]-etil)sulfanil]metil]carbamoil)etil]carbamoil]etil]carbamoil]etil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 109, 110,00 mg) en DMF (5,00 ml) se añadió piperidina (1,00 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 0,5 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,05 % de TFA), gradiente del 0 % al 60 % en 40 min; detector, UV 254 nm para obtener (2S)-2-[(2R)-2-[(2S)-2-aminopropanamido]propanamido]-N-[[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]-fenil]etil)sulfanil]metil]propenamida (Compuesto 110, 80,00 mg, 60 %) como un sólido rojo. LCMS (ES, *m/z*): 729 $[M+H]^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 9,00 (s, 1H), 8,53 s, 1H), 8,24 (d, $J$ = 7,6 Hz, 1H), 8,10 (br s, 1H), 7,69 - 7,62 (m, 2H), 7,49 (s, 1H), 7,42 (d, $J$ = 8,0 Hz, 1H), 7,26-7,13 (m, 3H ), 7,00 (br s, 1H), 5,11-5,06 (m, 1H), 4,45 - 4,36 (m, 3H), 4,35 - 4,13 (m, 6H), 2,90-2,83 (m, 3H), 2,73-2,71 ( m, 2H), 2,05-1,90 (m, 1H), 1,70-1,53 (m, 4H), 1,22-1,17(m, 6H), 1,14 - 1,05 (m, 3H).

*Paso 17. Síntesis del Compuesto (Ik)*

**[0464]** A una solución de (2S)-2-[(2R)-2-[(2S)-2-aminopropanamido]propanamido]-N-[[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]propenamida (Compuesto 110, 63,00 mg, 0,09 mmol, 1,00 eqv.) y 6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (26 mg, 0,09 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (1,50 ml, 19,38 mmol, 224,36 eqv.) se añadió DIEA (22,33 mg, 0,17 mmol, 2,00 eqv.) a temperatura ambiente en aire. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna: columna Kinetex EVO C18, 30x150, 5 µm; fase móvil A:xater (0,05 % de TFA), fase móvil B:ACN; velocidad de flujo: 60 ml/min; gradiente: 23 B a 43 B en 7 min, 254 nm; RT1:6,58). La fracción recolectada se liofilizó para obtener N-[(1S)-1-[[(1R)-1-[[(1S)-1-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]carbamoil)etil]carbamoil]etil]carbamoil]etil]-6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamida (Compuesto (Ik), 16,10 mg, 20 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*): 922, 924 $[M+H]^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 11,00 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 8,44-8,41 (m, 1H), 8,15 (d, *J*=7,2 Hz, 1 H), 8,03-8,00 (m, 2 H), 7,7-7,65 (m, 2 H), 7,51 (s, 1 H), 7,44 (d, *J* =8,0 Hz, 1 H), 7,22-7,14 (m, 2 H), 6,98 (s, 2 H), 6,83-6,81 (m, 1 H), 5,13-5,08 (m, 1 H), 4,48-4,40 (m, 3 H), 4,29-4,17 (m, 6H), 2,96-2,85 (m, 3H), 2,75-2,70 (m, 2H), 2,67-2,57 (m, 1H), 2,40-2,33 (m, 1H), 2,09-1,98 (m, 3H), 1,52-1,45 (m, 5H), 1,26-1,16 (m, 12H).


BH3.Me2S
THF, 70 °C, 2h
paso 1
NBS,PPh3,DCM
r.t., 3h
paso 2
DMF, r.t., 2 h
paso 3
MeONa,MeOH
0-5 °C, 1h
paso 4
piridina,Pb(OAc)4,
tolueno,THF,80 °C,o/n
paso 5
TFA, DCM,40 °C,o/n
paso 6
piperidina,DMF,0 °C,30min
paso 7
Boc2O,NaHCO3,
DMF/H2O,r.t.,o/n
paso 8
Fe,NH4Cl,EtOH,H2O,90°C,3h
paso 9
1)CDI,TEA,DMF,r.t.,3h;
2)DMF,DMAP,60 °C,o/n
paso 10
HCl en 1,4-dioxano
0 °C, 2h
paso 11
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123




Esquema 14: *Síntesis del complejo de neodegradador P14-enlazador GGFG (Compuesto (Il))*

*Paso 1. Síntesis del Compuesto 112*

**[0465]** A una solución agitada de ácido (2-cloro-4-nitrofenil)acético (Compuesto 111, 5,00 g, 23,19 mmol, 1,00 eqv.) en THF (50 ml) se añadió $BH_3$-$Me_2S$ (5,50 ml, 57,99 mmol, 2,50 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a 70 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. TLC (PE: EtOAc = 3:1) indicó que la reacción se había completado. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (2:1) para obtener 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (Compuesto 112, 4,8 g, 92 %) como un sólido amarillo claro. RMN de $^1$H (400 MHz, cloroformo-d) δ 8,27 (d, $J$ = 2,4 Hz, 1H), 8,10 (dd, $J$ = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,46 (s, 1H), 3,20-3,09 (m, 4H).

*Paso 2. Síntesis del Compuesto 113*

**[0466]** A una solución agitada de 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (Compuesto 112, 4,80 g, 23,81 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (100 ml) se añadieron NBS (6,36 g, 35,71 mmol, 1,50 eqv.) y $PPh_3$(9,37 g, 35,72 mmol, 1,50 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de aire. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo una atmósfera de aire. TLC (PE: EtOAc = 10:1) indicó que la reacción se había completado. La reacción se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (4:1) para obtener 1-(2-bromoetil)-2-cloro-4-nitrobenceno (Compuesto

113, 3,9 g, 57 %) como un aceite rojo. RMN de $^1$H (400 MHz, cloroformo-d) δ8,29 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,13 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,67 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,42 (t, J = 7,2 Hz, 2H).

*Paso 3. Síntesis del Compuesto 114*

**[0467]** A una solución de 1-(2-bromoetil)-2-cloro-4-nitrobenceno (Compuesto 113, 3,90 g, 14,75 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (39 ml) se añadió tioacetato de potasio (1,68 g, 14,75 mmol, 1,00 eqv.) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. TLC ((PE: EtOAc = 10:1) indicó que la reacción se había completado. La reacción se diluyó con agua (600 ml). La mezcla resultante se extrajo con EA (200 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con agua (200 ml), salmuera (200 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener 1-[[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]etenona (Compuesto 114, 3,7 g , 85 %) como un aceite rojo. RMN de $^1$H (400 MHz, cloroformo-d) δ 8,27 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,10 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,46 (s, 1H), 3,21 -3,02 (m, 4H), 2,37 (s, 3H).

*Paso 4. Síntesis del Compuesto 115*

**[0468]** A una solución agitada de 1-[[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]etenona (Compuesto 114, 4,00 g, 15,40 mmol, 1,00 eqv.) en MeOH (600 ml) se añadió MeONa (14,31 ml, 77,00 mmol, 5,00 eqv., 30 %) a 0 °C bajo $N_2$ durante 1 h. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h. TLC indica (PE:EA=10:1) que la reacción se completó. La reacción se apagó con AcOH. La mezcla resultante se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se diluyó con DCM (100 ml) y se filtró. El filtrado se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (PE: EtOAc = 10:1) para obtener 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanotiol (Compuesto 115, 3 g, 80 %) como un aceite amarillo. RMN de $^1$H (400 MHz, cloroformo-d) δ 8,28 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,11 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,48 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,17 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,87 (dt, J = 8,0, 7,2 Hz, 2H), 1,46 (t, J = 8,0 Hz, 1H).

*Paso 5. Síntesis del Compuesto 117*

**[0469]** A una mezcla agitada de ácido (2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]-acetamido)acético (Compuesto 116, 10 g, 28,22 mmol, 1,00 eqv.) y $Pb(OAc)_4$ (15 g, 33,86 mmol, 1,20 eqv.) en THF (300 ml) y tolueno (100 ml) se añadió gota a gota piridina (2,59 g, 32,74 mmol, 1,16 eqv.) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó

durante la noche a 80 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La mezcla resultante se filtró y la torta de filtración se lavó con EA (20 ml). El filtrado se concentró al vacío. El residuo se disolvió en EA (20 ml). La mezcla resultante se lavó con agua, salmuera, se secó con Na2SO4 anhidro. Después de la filtración, el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (1:4) para obtener acetato de (2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]acetamido)metilo (Compuesto 117**,** 6,5 g, 56 %) como un sólido blanco. RMN de $^{1}$H(300MHz, $CDCl_3$) δ7,80(d, J=7,5Hz, 2H), 7,62(d, J=7,5Hz, 2H), 7,45(t, d=7,5Hz, 2H), 7,36(d, d=7,5Hz, 2H), 7,18(br s, 1H), 5,48(br s, 1H), 5,28(d, J=7,2Hz, 2H), 4,48(d, J=6,6Hz, 2H), 4,26(t, J=6,6Hz, 1H), 3,93(d, 5,4Hz, 2H), 2,08(s, 3H). LCMS (ESI, ms): 391$[M+Na]^+$

*Paso 6. Síntesis del Compuesto 118*

**[0470]** A una solución de acetato de (2-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]acetamido)metilo (Compuesto 117, 3,00 g, 8,14 mmol, 1,00 eqv.) y 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanotiol (Compuesto 115, 1,77 g, 8,13 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (300 ml) se añadió TFA(0,56 g, 4,91 mmol, 0,60 eqv.) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 16 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (PE: EtOAc = 2:3) para obtener N-[[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)carbamoil]-metil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 118, 3,7 g, 67 %) como un sólido blanquecino. LCMS (ES, *m/z*): 526, 528 $[M+H]^+$

*Paso 7. Síntesis del Compuesto 119*

**[0471]** A una solución de N-[[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)carbamoil]metil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 118, 3,70 g, 7,03 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (40 ml) se añadió piperidina (8 ml) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 0,5 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se diluyó con agua (400 ml) y se extrajo con EA (200 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con agua (200 ml), salmuera (200 ml), se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (DCM: MeOH = 10:1) para obtener 2-amino-N-([[2-(2-cloro-4-

nitrofenil)etil]sulfanil]-metil)acetamida (Compuesto 119, 1,01 g, 40 %) como un aceite amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 304, 306 $[M+H]^+$

*Paso 8. Síntesis del Compuesto 120*

**[0472]** A una solución de 2-amino-N-([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)-acetamida (Compuesto 119, 1,00 g, 3,29 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (50 ml) se añadió una solución de $NaHCO_3$ (0,33 g, 3,92 mmol, 1,20 eqv.) en agua (10 ml), $Boc_2O$ (0,72 g, 3,30 mmol, 1,00 eqv.) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se diluyó con agua (500 ml), se extrajo con EtOAc (200 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 ml), se secó con Na2SO4 anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (PE: EtOAc = 1:3) para obtener N-[[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)carbamoil]metil]carbamato de terc-butilo (compuesto 120, 810 mg, 54 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, m/z): 404, 406 $[M+H]^+$, 304, 306 $[M+H-100]^+$

*Paso 9. Síntesis del Compuesto 121*

**[0473]** A una solución de N-[[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]-metil)carbamoil]metil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 120, 800,00 mg, 1,98 mmol, 1,00 eqv.) en EtOH(40) se añadieron polvo de hierro (1106 mg, 19,81 mmol, 10,00 eqv.) y una solución de $NH_4Cl$ (1059 mg, 19,81 mmol, 10,00 eqv.) en agua (10 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a 70 °C durante 2 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se filtró. El filtrado se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se disolvió con DCM (50,00 ml) y se filtró. El filtrado se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (DCM:MeOH = 13:1) para obtener N-[[([[2-(4-amino-2-clorofenil)etil]sulfanil]metil)-carbamoil]metil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 121, 610 mg, 74 %) como un aceite amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 374, 376 $[M+H]^+$, 374, 376 $[M+H-100]^+$

*Paso 10. Síntesis del Compuesto 122*

**[0474]** A una solución de 3-[5-(aminometil)-1-oxo-3H-isoindol-2-il]piperidin-2,6-diona (INT 1, 219 mg, 0,80 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (10 ml) se añadieron CDI (130 mg, 0,80 mmol, 1,00 eqv.) y TEA (81 mg, 0,80 mmol, 1,00 eqv.) a 0 °C en aire. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Luego se añadieron N-[[([[2-(4-amino-2-

clorofenil)etil]sulfanil]-metil)carbamoil]metil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 121, 300 mg, 0,80 mmol, 1,00 eqv.) y DMAP (294 mg, 2,41 mmol, 3,00 eqv.) a temperatura ambiente en aire. La mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 48h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,05 % de TFA), gradiente del 0 % al 60 % en 30 min; detector, UV 254 nm para obtener N-[([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]-carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]carbamoil)metil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 122, 270 mg, 49 %) como un sólido amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 673, 675 $[M+H]^+$, 573, 575 $[M+H-100]^+$

*Paso 11. Síntesis del Compuesto 123*

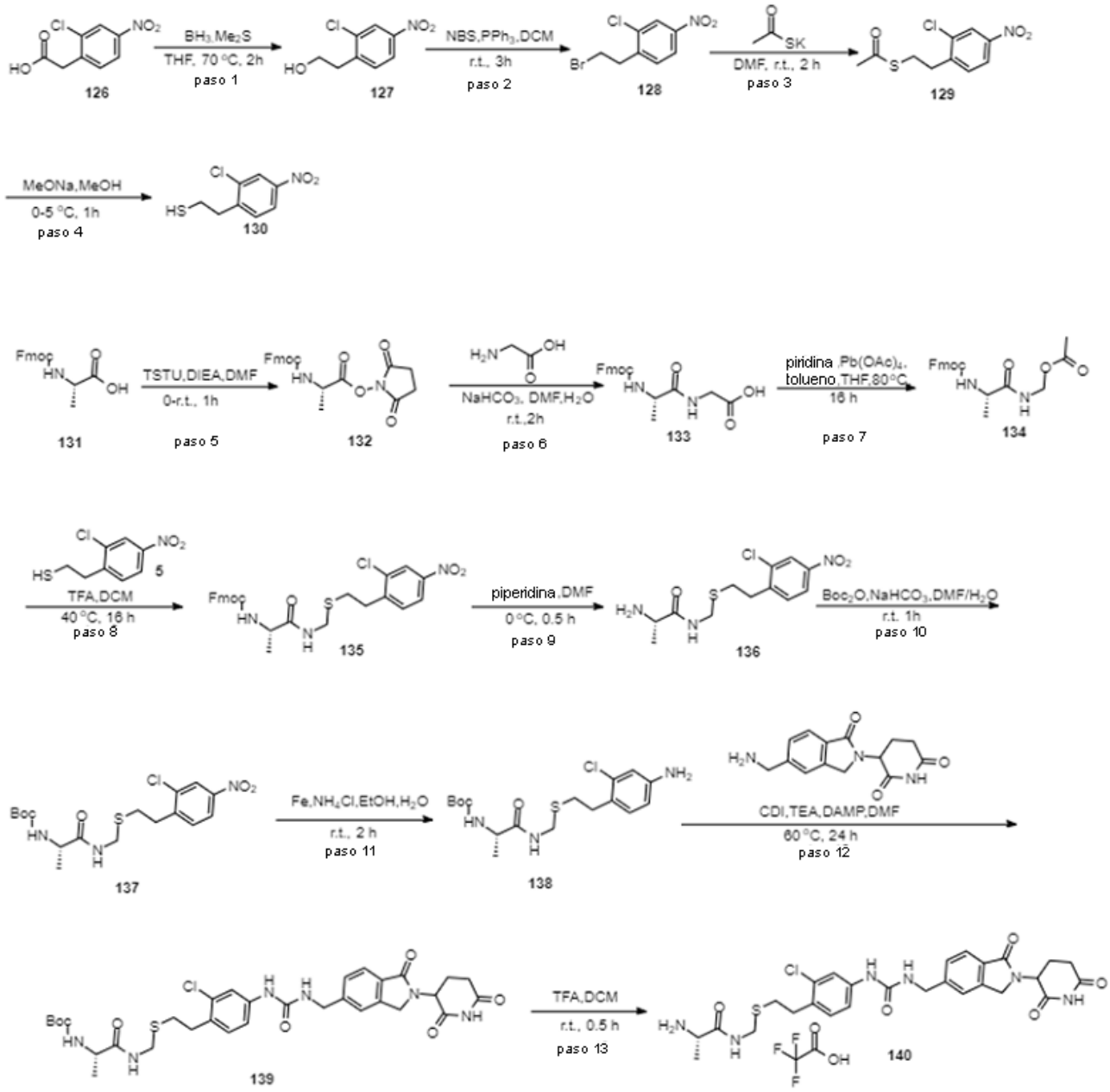
**[0475]** A una solución de N-[([(2-[2-cloro-4-[[[[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]carbamoil]metil]-carbamato de terc-butilo (Compuesto 122, 250 mg, 0,37 mmol) en 1,4-dioxano (12 ml) se añadió HCl (4N en 1,4-dioxano, 6 ml) a 0 °C bajo N2. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad al vacío para obtener 2-amino-N-[[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo -3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]acetamida (Compuesto 123, 260 mg, bruto) como un sólido marrón. LCMS (ES, *m/z*): 573, 575 $[M+H-HCl]^+$

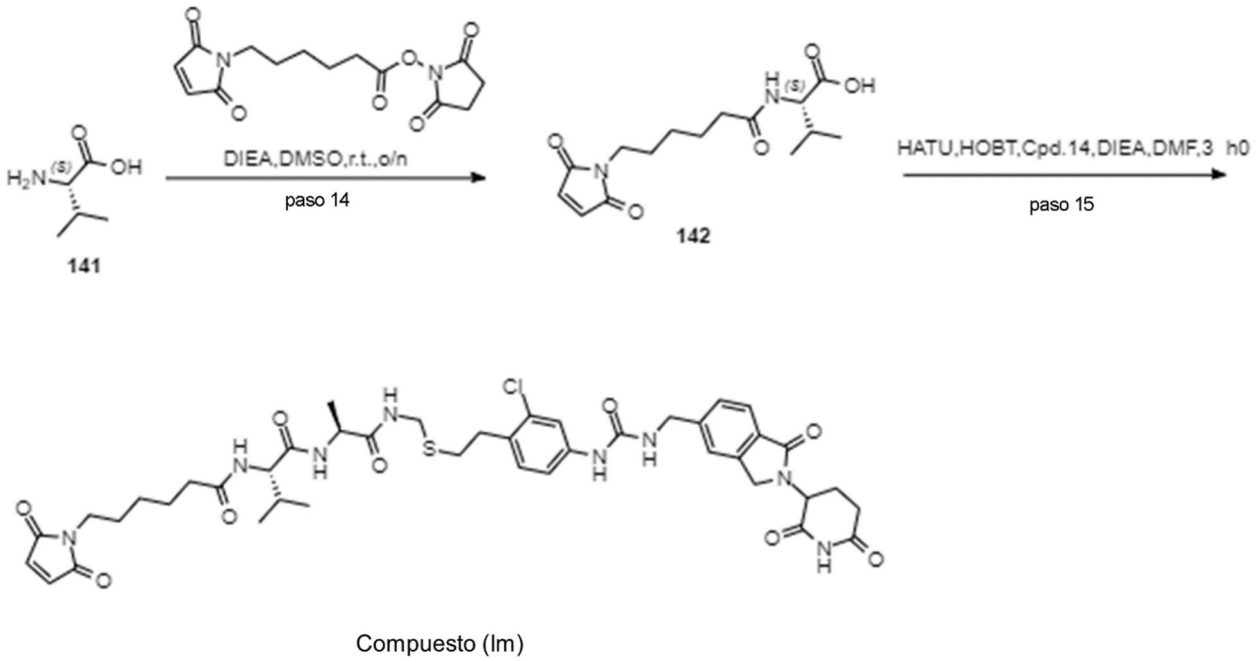
*Paso 12. Síntesis del Compuesto 125*

**[0476]** Una solución de ácido (2S)-2-[2-(2-aminoacetamido)acetamido]-3-fenilpropanoico (Compuesto 124, 500 mg, 1,79 mmol, 1,00 eqv.) y 6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (552 mg, 1,79 mmol, 1,00 eqv.) en DMSO (5,00 ml) a temperatura ambiente en aire durante 16 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 0 % al 60 % en 30 min; detector, UV 220 nm para obtener ácido (2S)-2-(2-[2-[6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamido]acetamido]acetamido)-3-fenilpropanoico (Compuesto 125, 760 mg , 83 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*): 473 $[M+H]^+$

*Paso 13. Síntesis del Compuesto (Il)*

**[0477]** A una solución de ácido (2S)-2-(2-[2-[6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamido]acetamido]-acetamido)-3-fenilpropanoico (Compuesto 125, 175 mg, 0,37 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (5,00 ml) HATU (141 mg, 0,37 mmol, 1,00 eqv.) se añadió HOBT (50 mg, 0,37 mmol, 1,00 eqv.) a temperatura ambiente en aire. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Luego se añadieron 2-amino-N-[[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]-carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]acetamida (Compuesto 123, 250 mg, 0,37 mmol, 1,00 eqv., 85 %) y DIEA (240 mg, 1,85 mmol, 5,00 eqv.). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó mediante las siguientes condiciones: columna: columna XSelect CSH Prep C18 OBD, 19*250mm, 5 µm; fase móvil A: agua (0,05 % de FA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 25 ml/min; gradiente: 30 B a 60 B en 7 min, 254 nm; RT1: 6,67 min para obtener 75 mg del producto bruto. El producto bruto se volvió a purificar mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna: columna XBridge Shield RP18 OBD, 19*250mm, 10 µm; fase móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B: ACN; velocidad de flujo: 25 ml/min; gradiente: 25 B a 44 B en 10 min; 254 nm; RT1: 10,52min. La fracción recolectada se liofilizó para obtener el Compuesto (Il) (41,6 mg, 10 %) en forma de un sólido blanco. RMN de $^{1}$H (400MHz, DMSO-$d_6$) δ10,99 (s, 1H), 8,79 (s, 1H), 8,38 (t, J=6,0Hz, 1H), 8,31 (t, J=6,0Hz, 1H), 8,12 (d, J=8,4Hz, 1H), 8,06 (t, J=5,6Hz, 1H), 8,01 (t, J=6,0Hz, 1H), 7,70-7,66 (m, 2H), 7,51 (s, 1H), 7,44 (d, J=8,0 Hz, 1H), 7,25-7,21 (m, 5H), 7,19-7,14 (m, 2H), 6,99 (s, 2H), 6,82 (t, J=6,0Hz, 1H), 5,13-5,08 (m, 1H), 4,47-4,40 (m, 4H), 4,33-4,29 (m, 3H), 3,76-3,70 (m, 3H), 3,67-3,55 (m, 3H), 3,38-3,36 (m, 2H), 3,06-3,02 (m, 1H), 2,91-2,86 (m,3H), 2,82-2,70 (m, 3H), 2,62-2,57 (m, 1H), 2,50-2,45 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 2,05-1,95 (m, 1H), 1,50-1,44 (m,4H), 1,20-1,16 (m, 2H). LCMS (ES, *m/z*):1027, 1029 $[M+H]^+$


BH3,Me2S
THF, 70 °C, 2h
paso 1
NBS,PPh3,DCM
r.t., 3h
paso 2
DMF, r.t., 2 h
paso 3
MeONa,MeOH
0-5 °C, 1h
paso 4
TSTU,DIEA,DMF
0-r.t., 1h
paso 5
NaHCO3, DMF,H2O
r.t.,2h
paso 6
piridina,Pb(OAc)4,
tolueno,THF,80°C
16 h
paso 7
TFA,DCM
40 °C, 16 h
paso 8
piperidina,DMF
0 °C, 0.5 h
paso 9
Boc2O,NaHCO3,DMF/H2O
r.t. 1h
paso 10
Fe,NH4Cl,EtOH,H2O
r.t., 2 h
paso 11
CDI,TEA,DAMP,DMF
60 °C, 24 h
paso 12
TFA,DCM
r.t., 0.5 h
paso 13
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140




Esquema 15: *Síntesis del complejo de neodegradador P14-enlazador AAA (Compuesto (Im))*

*Paso 1. Síntesis del Compuesto 127*

**[0478]** A una solución agitada de ácido (2-cloro-4-nitrofenil)acético (Compuesto 126, 24,00 g, 111,32 mmol, 1,00 eqv.) en THF (240,00 ml) se añadió $BH_3$-$Me_2S$ (28,00 ml, 295,23 mmol, 2,65 eqv.) gota a gota bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 2 horas a 70 °C bajo una atmósfera de nitrógeno. TLC (PE: EtOAc = 3:1) indicó que la reacción se había completado. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla resultante se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con PE/EtOAc (3:1) para obtener 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (Compuesto 127, 18,00 g, 80 %) como un sólido amarillo claro. RMN de $^1$H (300 MHz, $CD_3Cl$) δ8,27 (s, 1H), 8,10-8,07 (m, 1 H), 7,52 (d, J = 3 Hz, 1H), 3,96 (t, J = 6 Hz, 2H), 3,13 (t, J = 6Hz, 2H).

*Paso 2. Síntesis del Compuesto 128*

**[0479]** A una solución agitada de 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanol (Compuesto 127, 5,00 g, 24,80 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (100,00 ml) se añadieron NBS (6,62 g, 1,50 eqv.) y $PPh_3$ (9,76 g, 37,21 mmol, 1,50 eqv.) en porciones a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo una atmósfera de $N_2$. TLC (PE: EtOAc = 10:1) indicó que la reacción se había completado. La reacción se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se

eluyó con PE/EtOAc (4:1) para obtener 1-(2-bromoetil)-2-cloro-4-nitrobenceno (Compuesto 128**,** 5,10 g, 72,31 %) como un aceite rojo. RMN de $^1$H (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ 8,28 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 8,18 (dd, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,79 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 3,38 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H).

*Paso 3. Síntesis del Compuesto 129*

**[0480]** A una solución de 1-(2-bromoetil)-2-cloro-4-nitrobenceno (Compuesto 128, 5,00 g, 18,90 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (50,00 ml) se añadió tioacetato de potasio (2,16 g, 18,91 mmol, 1,00 eqv.) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. TLC (PE: EtOAc= 10:1) indicó que la reacción se había completado. La reacción se diluyó con agua (600,00 ml). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (200,00 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con agua (200,00 ml), salmuera (200,00 ml x 3), se secó con Na2SO4 anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener 1-[[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]etenona (Compuesto 129, 4,50 g, 85 %) como un aceite rojo. RMN de $^1$H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,24 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 8,07 (dd, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,20 - 3,05 (m, 4H), 2,34 (s, 3H).

*Paso 4. Síntesis del Compuesto 130*

**[0481]** A una solución agitada de 1-[[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]etenona (Compuesto 129, 2,00 g, 7,70 mmol, 1,00 eqv.) en MeOH (300,00 ml) se añadió MeONa (6,93 ml), 37,33 mmol, 5,00 eqv., 30 %) a 0 °C bajo $N_2$. La mezcla resultante se agitó a 0 °C bajo $N_2$ durante 1 h. TLC (PE: EtOAc=10:1) indicó que la reacción se había completado. La reacción se apagó con AcOH hasta un valor de pH de 3-4. La mezcla resultante se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se diluyó con DCM (50,00 ml) y se filtró. El filtrado se purificó con TLC preparativa (PE: EtOAc = 10:1) para obtener 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanotiol (Compuesto 130, 1,35 g, 72 %) como un aceite amarillo claro. RMN de $^1$H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8,26 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,09 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 7,45 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,14 (dd, J = 8,0, 6,8 Hz , 2H), 2,85 (dt, J = 8,0, 7,2 Hz, 2H), 1,43 (t, J= 8,0 Hz, 1H).

*Paso 5. Síntesis del Compuesto 132*

**[0482]** A una solución agitada de ácido (2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanoico (Compuesto 131, 20,00 g, 64,24 mmol, 1,00 eqv.) en DMF

(200,00 ml) se añadieron TSTU (25,18 g, 83,52 mmol, 1,30 eqv.) y DIEA (16,60 g, 128,48 mmol, 2,00 eqv.) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de aire. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se diluyó con agua (200,00 ml), la mezcla resultante se extrajo con ETOAC (100,00 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con agua (100,00 ml), salmuera (100,00 ml), se secó con $Na_2SO_4$ anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (PE: EtOAc = 1:2) para obtener (2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (Compuesto 132, 25,00 g, 83 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*):431$[M+Na]^+$

*Paso 6. Síntesis del Compuesto 133*

**[0483]** A una solución de glicina (3,68 g, 48,97 mmol, 1,00 eqv.) y $NaHCO_3$ (12,34 g, 146,89 mmol, 3,00 eqv.) en agua (200,00 ml) se añadió una solución de (2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (Compuesto 132, 20,00 g, 48,97 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (200,00 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se ajustó a un valor de pH de 2-3 con 2 N de HCl. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (500,00 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (500,00 ml), se secó con Na2SO4 anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener ácido [(2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido]acético (Compuesto 133, 15,00 g, 71 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*): 369 $[M+H]^+$

*Paso 7. Síntesis del Compuesto 134*

**[0484]** Una solución de ácido [(2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]-propanamido]acético (Compuesto 133, 5,00 g, 13,57 mmol, 1,00 eqv.), $Pb(OAc)_4$ (7,22 g, 16,28 mmol, 1,20 eqv.) y piridina (1,29 g, 16,31 mmol, 1,20 eqv.) en THF (300,00 ml)/tolueno (100,00 ml) bajo atmósfera de $N_2$ se agitó a 80 °C durante 16 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. Después de enfriar a temperatura ambiente, se filtró la reacción. La torta de filtración se lavó con THF (100,00 ml). La capa orgánica combinada se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (PE: ETOAC=1:2) para obtener acetato de [(2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]propanamido]metilo (Compuesto 134, 2,50 g, 45 %) como un sólido

blanco. LCMS (ES, *m/z*): 405 $[M+Na]^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, cloroformo-*d*) δ 7,77-7,73 (m, 2H), 7,58 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,43 - 7,37 (m, 2H), 7,36 - 7,29 (m, 2H), 7,10 (s, 1H), 5,24 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 4,51 - 4,35 (m, 2H), 4,22 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 2,04 (s, 3H), 1,39 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H).

*Paso 8. Síntesis del Compuesto 135*

**[0485]** A una solución agitada de acetato de [(2S)-2-[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]-propanamido]metilo (Compuesto 134, 2,25 g, 5,88 mmol, 1,00 eqv.) y 2-(2-cloro-4-nitrofenil)etanotiol (Compuesto 500, 1,28 g, 5,88 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (120 ml) se añadió TFA (0,27 ml, 2,376 mmol, 0,62 eqv.) bajo atmósfera de $N_2$ a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a 40 °C durante 16 horas. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se concentró hasta sequedad al vacío para obtener 9H-fluoren-9-ilmetil N-[(1S)-1-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)carbamoil]etil]carbamato (Compuesto 135, 3,10 g, 90 %) como un sólido amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 540, 542 $[M+H]^{+\cdot}$

*Paso 9. Síntesis del Compuesto 136*

**[0486]** A una solución de N-[(1S)-1-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)carbamoil]etil]carbamato de 9H-fluoren-9-ilmetilo (Compuesto 135, 3,10 g, 5,74 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (155,00 ml) se añadió piperidina (31,00 ml) a 0 °C bajo $N_2$. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 0,5 h bajo $N_2$. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se diluyó con agua (600,00 ml). La mezcla resultante se extrajo con EA (200,00 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200,00 ml), se secó con Na2SO4 anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener 3,00 g del producto bruto. El producto bruto se volvió a purificar mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (DCM:MeOH =3:1) para obtener (2S)-2-amino-N-([[2-(2-cloro-4-nitrofenilo) etil]sulfanil]metil)propenamida (Compuesto 136, 1,50 g, 78 %) como un aceite amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 318, 320 $[M+H]^{+\cdot}$

*Paso 10. Síntesis del Compuesto 137*

**[0487]** A una solución de (2S)-2-amino-N-([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]-metil)propenamida (Compuesto 136, 1,50 g, 4,72 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (75,00 ml) se añadieron una solución de $NaHCO_3$ (0,59 g, 7,08 mmol, 1,50 eqv.) en $H_2O$ (10,00 ml) y $Boc_2O$ (1,03 g, 4,72 mmol, 1,00 eqv.) a temperatura ambiente en aire. La reacción se agitó a temperatura

ambiente durante 1 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se diluyó con agua (500,00 ml), se extrajo con EtOAc (200,00 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200,00 ml x 3), se secó con Na2SO4 anhidro y se concentró hasta sequedad al vacío para obtener N-[(1S)-1-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]sulfanil]metil)-carbamoil]etil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 137, 1,82 g, 83 %) como un aceite rojo. LCMS (ES, *m/z*): 418, 420 $[M+H]^+$, 318, 320 $[M+H-100]^+$

*Paso 11. Síntesis del Compuesto 138*

**[0488]** Una suspensión de N-[(1S)-1-[([[2-(2-cloro-4-nitrofenil)etil]-sulfanil]metil)carbamoil]etil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 137, 1,82 g, 4,36 mmol, 1,00 eqv.), hierro en polvo (2,43 g, 0,04 mmol, 10,00 eqv.) y $NH_4Cl$ (2,33 g, 0,04 mmol, 10,00 eqv.) en EtOH (100,00 ml)/$H_2O$ (50,00 ml) se agitó a 70 °C durante 2 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se filtró. El filtrado se concentró hasta sequedad al vacío. El residuo se disolvió con DCM (50,00 ml) y se filtró. El filtrado se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, se eluyó con (DCM:MeOH = 13:1) para obtener N-[(1S)-1-[([[2-(4-amino-2-clorofenil)etil]sulfanil]metil)carbamoil]etil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 138, 1,20 g, 68 %) como un aceite amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 388, 390 $[M+H]^+$, 288, 290 $[M+H-100]^+$

*Paso 12. Síntesis del Compuesto 139*

**[0489]** A una solución agitada de 3-[5-(aminometil)-1-oxo-3H-isoindol-2-il]piperidin-2,6-diona (INT 1, 352 mg, 1,29 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (5,00 ml) a 0 °C se añadieron CDI (209,00 mg, 1,29 mmol, 1 eqv.) y TEA (260 mg, 2,58 mmol, 2 eqv.). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 2 h. Luego se añadieron N-[(1S)-1-[([[2-(4-amino-2-clorofenil)etil]sulfanil]-metil)carbamoil]-etil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 138**,** 500,00 mg, 1,29 mmol, 1,00 eqv.) y DMAP (472 mg, 3,87 mmol, 3,00 eqv.). La mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 24 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 0 % al 60 % en 30 min; detector, UV 254 nm para obtener N-[(1S)-1-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]carbamoil)etil]carbamato de terc-butilo,

(Compuesto 139, 450,00 mg, 48 %) como un sólido amarillo. LCMS (ES, *m/z*): 687, 689 $[M+H]^+$, 587, 589 $[M+H-100]^+$

*Paso 13. Síntesis del Compuesto 140*

**[0490]** A una solución agitada de N-[(1S)-1-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]-metil]carbamoil)etil]carbamato de terc-butilo (Compuesto 139, 440,00 mg, 0,64 mmol, 1,00 eqv.) en DCM (22,00 ml) se añadió TFA (2,20 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La reacción se concentró hasta sequedad al vacío para obtener (2S)-2-amino-N-[[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]propanamida; ácido trifluoroacético (Compuesto 140, 400,00 mg) como un aceite rojo. LCMS (ES, *m/z*): 578, 589 $[M+H-TFA]^+$

*Paso 14. Síntesis del Compuesto 142*

**[0491]** A una suspensión de L-valina (Compuesto 141, 0,50 g, 4,27 mmol, 1,00 eqv.) en DMSO (10 ml) se añadieron 6-(2,5-dioxopirrol-1-ilo) hexanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (1,32 g, 4,28 mmol, 1,00 eqv.) y DIEA (1103 mg, 8,54 mmol, 2,00 eqv.). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna, gel de sílice C18; fase móvil, ACN en agua (0,1 % de FA), gradiente del 0 % al 60 % en 30 min; detector, UV 220 nm para obtener ácido (2S)-2-[6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamido]-3-metilbutanoico (Compuesto 142, 1,2 g, 72 %) como un sólido marrón. LCMS (ES, *m/z*): 311 $[M+H]^+$

*Paso 15. Síntesis del Compuesto (Im)*

**[0492]** Una solución de ácido (2S)-2-[6-(2,5-dioxopirrol-1-il)hexanamido]-3-metilbutanoico, (Compuesto 142, 59 mg, 0,19 mmol, 1,00 eqv.), HOBT (26 mg, 0,19 mmol, 1,00 eqv.) y HATU (72 mg, 0,19 mmol, 1,00 eqv.) en DMF (2 ml) se agitó a temperatura ambiente en aire durante 1 hora. Luego se añadieron ácido (2S)-2-amino-N-[[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]fenil]etil)sulfanil]metil]propanamida-trifluoroacético (Compuesto 140,

200 mg, 0,19 mmol, 1,00 eqv, 66,70 %) y DIEA (197 mg, 1,52 mmol, 8,00 eqv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. LCMS indicó que la reacción se había completado. La mezcla resultante se purificó mediante cromatografía flash inversa con las siguientes condiciones: columna: YMC-Actus Triart C18, 30 mm x 150 mm, 5 µm; fase móvil A: agua (0,1 % de FA), fase móvil B:ACN; velocidad de flujo: 60 ml/min; gradiente: 28 B a 45 B en 10 min, 254 nm; RT1:9,67min. La fracción recolectada se liofilizó para obtener N-[(1S)-1-[[(1S)-1-([[(2-[2-cloro-4-[([[2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-3H-isoindol-5-il]metil]carbamoil)amino]-fenil]etil)sulfanil]metil]carbamoil)etil]carbamoil]-2-metilpropil]-6-(2,5 -dioxopirrol-1-il)hexanamida (Compuesto (Im), 27,8 mg, 16 %) como un sólido blanco. LCMS (ES, *m/z*): 879, 881 $[M+H]^+$. RMN de $^1H$ (400 MHz, DMSO-$d_6$) δ10,99 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 8,47 (t, J=6,0Hz, 1H), 8,03 (d, J=7,2Hz, 1H), 7,78 (d, J=8,8Hz, 1H), 7,70-7,66 (m, 2H), 7,51 (s, 1H), 7,44 (d, J=8,0Hz, 1H), 7,21-7,14 (m, 2 H), 6,99 (s, 2H), 6,82 ( t, J=6,0 Hz, 1 H), 5,13-5,10 (m,1 H), 4,47-4,40 (m, 3 H), 4,33-4,29 (m, 3 H), 4,24 (t, J=7,2 Hz, 1 H), 4,14 (t, J=6,8Hz, 1H), 3,38-3,36 (m, 1H), 2,97-2,90 (m, 1H), 2,86 (t, J=7,6Hz, 2H), 2,73-2,67 (m, 2H) , 2,62-2,57 (m, 1H), 2,40-2,35 (m, 1H), 2,20-2,05 (m, 2H), 2,02-1,96 (m, 1H), 1,95-1,88 (m, 1H), 1,48-1,46 ( m, 4H), 1,23-1,16 (m, 6H), 0,83-0,78 (m, 6H).

Ejemplo 4: *Preparación y caracterización de conjugados de neodegradadores.*

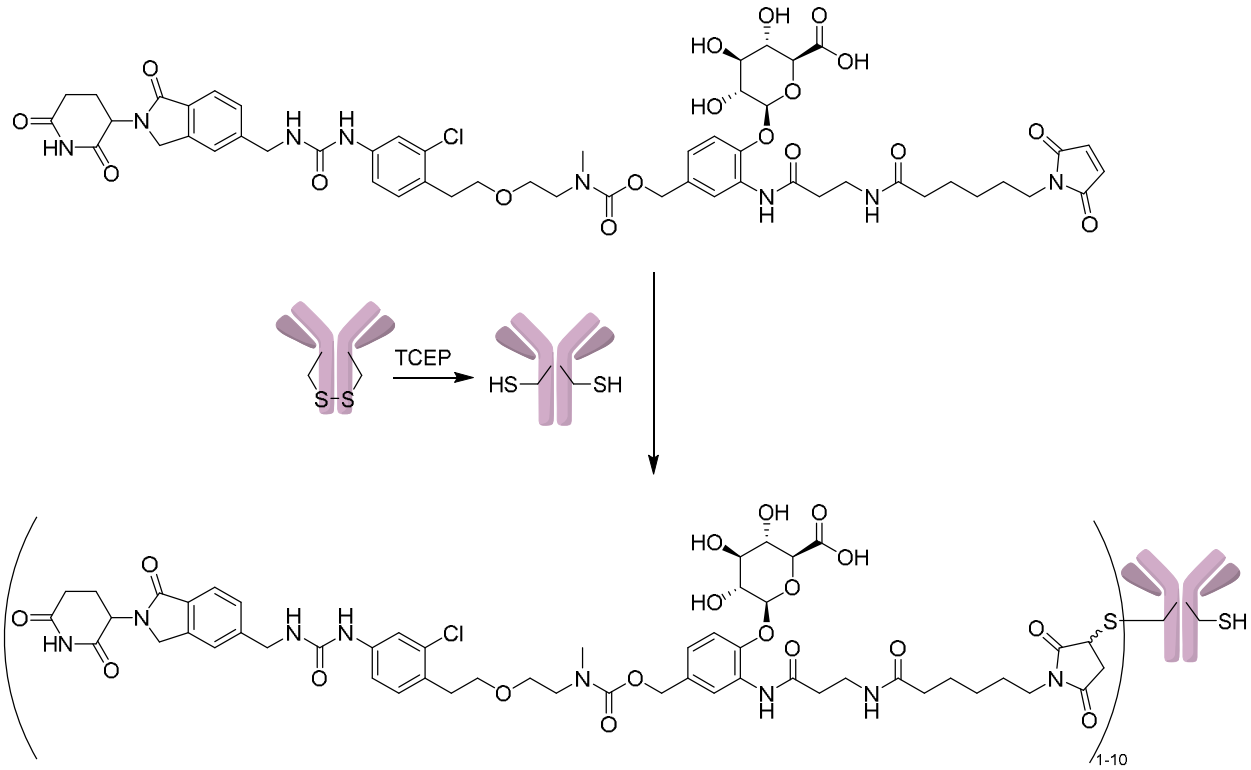
**[0493]** Se trató una solución de anticuerpo con 30 equivalentes de tris-(2-carboxietil)fosfina (TCEP) y se incubó a 37 °C durante 1 hora para reducir los disulfuros entre cadenas. El anticuerpo reducido se purificó en tampón de 50 mM de EPPS, 5 mM de EDTA, pH 7,0, usando columnas illustra NAP (GE Healthcare).

**[0494]** La conjugación se realizó mediante tratamiento de una solución de anticuerpo anti-CD33 reducido que comprende una cadena pesada que tiene SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que tiene SEQ ID NO: 10 ("CD33AB") a 2-5 mg/ml en 50 mM de EPPS, 5 mM de EDTA pH 7,0 con 12 equivalentes de enlazador-neodegradador añadidos como solución estándar en *N,N*-dimetilacetamida (DMA) de manera que la concentración final de DMA fue del 15 % (v/v). La mezcla de reacción resultante se dejó durante la noche a 4 ºC. El conjugado de neodegradador resultante se purificó en 20 mM de succinato, 8 % de sacarosa, 0,01 % de Tween-20 pH 5,5 usando columnas illustra NAP (GE Healthcare) y se concentró usando concentradores centrífugos Amicon Ultra con un límite de peso molecular de 50 kD (Millipore).

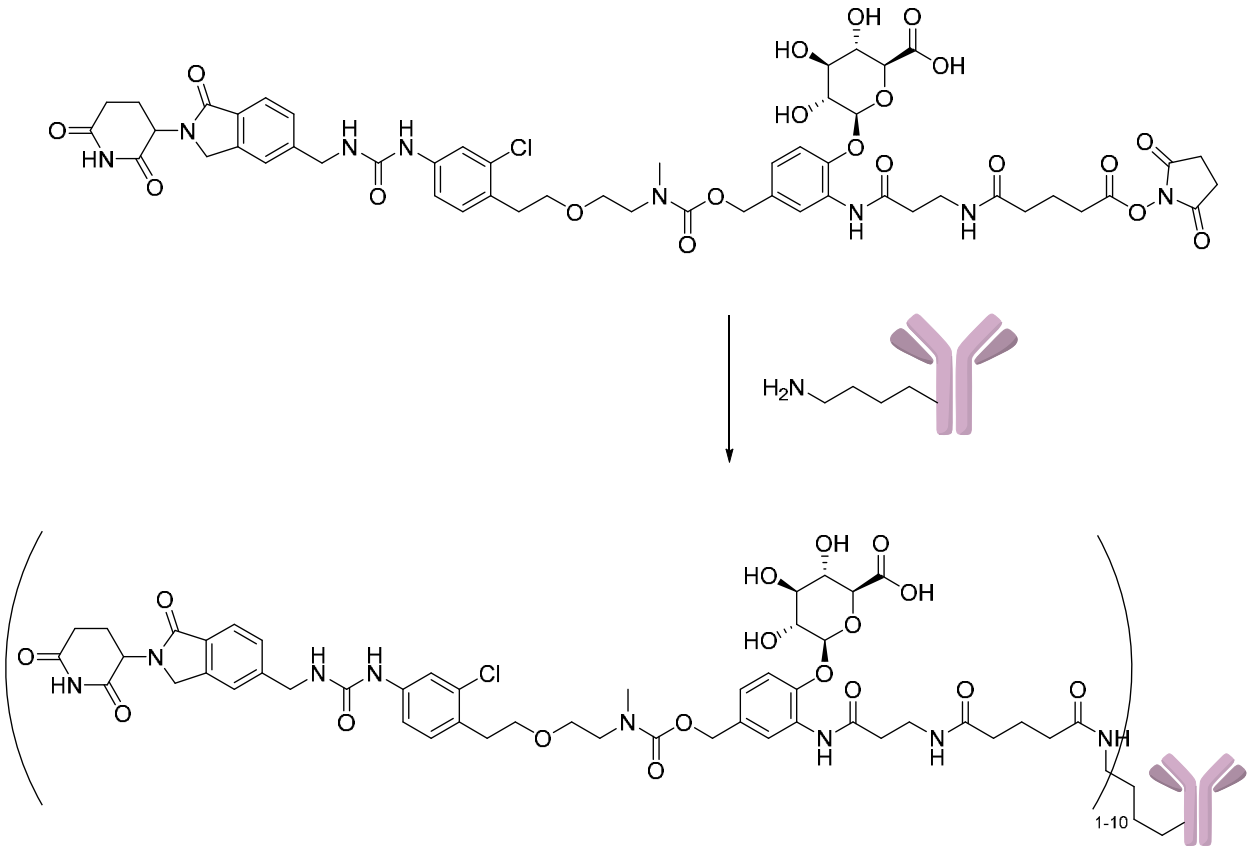
**[0495]** La concentración y el monómero se determinaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño, utilizando una columna TSKGel 3000SWXL de 7,8 x 300 mM con partículas de 5 µm (Tosoh Bioscience), eluyendo isocráticamente con 400 mM de perclorato de sodio, 50 mM de fosfato de sodio y 5 % de fase móvil de isopropanol (v/v) realizándose a 0,5 mg/ml durante 30 min. Los conjugados de neodegradadores se cuantificaron a partir de curvas estándar de anticuerpos, detectando a 214 nm.

**[0496]** La relación fármaco-anticuerpo (DAR) se determinó mediante cromatografía de interacción hidrófoba utilizando una columna TSKgel Butyl-NPR de 4,6 x 35 mm con partículas de 2,5 µm. La fase móvil A era 1,5 M de sulfato de amonio, 25 mM de fosfato de sodio, pH 7,0. La fase móvil B era 25 mM de fosfato sódico, pH 7,0, 25 % de isopropanol (v/v). Los analitos se eluyeron con un gradiente lineal de 0-100 % de B en 12 min. a una velocidad de flujo de 0,6 ml/min. La detección fue a 214 nm.

**[0497]** La carga útil del enlazador libre se determinó mediante cromatografía en modo mixto utilizando una columna HISEP de 4,6 x 250 mm con partículas de 2,5 µm (Supelco). La fase móvil A era 100 mM de acetato de amonio. La fase móvil B era 100 % de acetonitrilo. Los analitos se eluyeron con un gradiente de 25-40 % de B en 25 min, luego 40-100 % de B en 2 min a una velocidad de flujo de 0,7 ml/min. La temperatura de la columna fue de 35 ºC. La carga útil del enlazador libre se cuantificó utilizando una curva estándar externa, detectando a 254 nm.




Esquema 16: *Preparación del conjugado de anticuerpo anti-CD33-Compuesto (Ie)*



Esquema 17: *Preparación del conjugado de anticuerpo anti-CD33-Compuesto (Ih)*

**[0498]** Se pueden preparar otros conjugados de manera similar usando el anticuerpo apropiado.

Ejemplo 5: *Tratamiento de la leucemia mieloide aguda (AML) con conjugado de anticuerpo anti-CD33-neodegradador*

**[0499]** Se probaron compuestos de anticuerpo anti-CD33 (CD33AB)-neodegradador en ratones desnudos atímicos (Crl:NU(NCr)-Foxn1$^{nu}$, Charles River). Se inyectaron 1 x $10^7$ células de leucemia monocítica aguda humana de MV411 (ATCC® CRL-5991™) en 50 % de Matrigel por vía subcutánea en el flanco de los ratones (0,1 ml/ratón). Los ratones recibieron dosis de conjugados de anticuerpo anti-CD33-neodegradador, conjugados de neodegradadores no dirigidos y control de vehículo una vez que los tumores alcanzaron un tamaño promedio de 100 a 150 $mm^3$.

**[0500]** Las soluciones estándar de CD33AB-Compuesto (Ia), CD33AB-Compuesto (Ie) y CD33AB-Compuesto (Ih) se diluyeron con un vehículo para obtener soluciones de dosificación de 0,3, 0,283 y 0,299 mg/ml, que proporcionaron 3, 2,83 y 0,299 mg/ml. 2,99 mg/kg en un volumen de dosificación de 10 ml/kg (0,2 ml por ratón de 20 g), ajustado al peso corporal de cada animal. Esta estrategia de dosificación aseguró la entrega de la misma cantidad de cargas útiles a cada grupo de prueba. Mylotarg se diluyó en una solución de 0,9 % de cloruro de sodio hasta 0,01 mg/ml, lo que proporcionó 3 mg/kg en un volumen de dosificación de 10 ml/kg (0,2 ml por ratón de 20 g). Venetoclax se formuló en un disolvente compuesto por 60 % de PG, 30 % de PEG400 y 10 % de etanol sometiéndose a ultrasonido para obtener una suspensión dosificadora de 5 mg/ml, que entregó 50 mg/kg cuando se administró en un volumen de 10 ml/kg. Se centrifugó CC-90009 para recolectar el polvo en el fondo; luego se añadieron N-metil-2-pirrolidinona (NMP), PEG400 y una solución salina y se mezclaron bien uno por uno para obtener una solución dosificadora de 0,5 mg/ml en 5 % de NMP, 45 % de PEG400 y 50 % de solución salina, que suministró 5 mg/kg cuando se administró en un volumen de 10 ml/kg.

**[0501]** Los ratones se dividieron en 7 grupos de tratamiento (N=9/grupo), de la siguiente manera: 1) vehículo; 2) CD33AB-Compuesto (Ia) (3 mg/kg, iv, una vez al día x 1); 3) CD33AB-Compuesto (Ie) (2,83 mg/kg, iv, qd x 1); 4) CD33AB-Compuesto (Ih) (2,99 mg/kg, iv, una vez al día x 1); 5) Mylotarg (0,1 mg/kg, iv, una vez al día x 1); 6) Venetoclax (50 mg/kg, po, una vez al día x 21); 7) CC-90009 (5 mg/kg, ip, dos veces al día x 10). Los artículos de prueba para los grupos 1-5 se administraron por vía intravenosa (iv) como una dosis única (una vez al día x 1) en

volúmenes ajustados al peso corporal (0,200 ml/20 g de ratón). Venetoclax se administró por vía oral (po), mientras que CC-90009 se administró por vía intraperitoneal (ip) en un volumen de dosificación de 10 ml/kg (0,2 ml por 20 g de ratón) ajustado al peso corporal de cada animal.

**[0502]** Los tumores se midieron usando calibradores dos veces por semana, y cada animal fue sacrificado cuando su tumor alcanzó el volumen del criterio de valoración (2000 $mm^3$) o el último día (día 45) del estudio, lo que ocurra primero. MTV(n) se definió como la mediana del volumen tumoral en el último día del estudio en el número de animales restantes (n) cuyos tumores no habían alcanzado el volumen del criterio de valoración.

**[0503]** Como se muestra en la Figura 1, todos los conjugados de neodegradadores proporcionaron un crecimiento tumoral más lento a lo largo del tiempo en comparación con el vehículo.

Ejemplo 6: *Actividad del conjugado de AB1 - Compuesto (Ia) contra modelos de leucemia humana*

**[0504]** La citotoxicidad *in vitro* se midió utilizando un panel de líneas celulares de leucemia mieloide aguda positiva para CD33 y un panel de células negativas para CD33 que no son de AML. Las células, a una concentración predeterminada, se sembraron en placas de 96 pocillos y, después de una incubación durante la noche a 37 °C/5$CO_2$, se añadieron a las células diluciones en serie de cada artículo de prueba (TA). Las células se incubaron con artículos de prueba durante 72 horas y se detectó la viabilidad con el reactivo CellTiter-Glo® (Promega). Los valores luminiscentes se normalizaron para cada línea celular y las IC50 se calcularon utilizando el software Prizm.

**[0505]** Los resultados indicaron que un anticuerpo derivado de huMy9-6, AB1, conjugado con el Compuesto Ia ("AB--Compuesto (Ia)") presentó una eficacia global in vitro comparable con la de CC-885 (un conocido degradador de GSPT1) o Mylotarg en las células de AML positivas para CD33, con algunos casos de eficacia superior (Véase la Figura 2.) Además, de acuerdo con la hipótesis de la administración dirigida mediada por CD33 de la carga útil del degradador de GSPT1, AB1-Compuesto (Ia) estaba inactivo en modelos de células negativas para CD33.

Ejemplo 7: *Tratamiento de la leucemia mieloide aguda (AML) con conjugados de anticuerpo-neodegradador*

**[0506]** Las células de leucemia mielocítica aguda humana del modelo tumoral subcutáneo de MV4-11 ($1x10^6$ células en 0,1 ml) se inocularon por vía subcutánea en el flanco derecho de

ratones hembra atímicos desnudos. Los ratones fueron tratados con el artículo de prueba mediante inyección intravenosa en una vena lateral de la cola, inyección intraperitoneal, sonda oral o combinaciones de los mismos comenzando cuando los tumores alcanzaron 150 $mm^3$ en tamaño. El tamaño del tumor y el peso corporal del ratón se midieron dos veces por semana.

**[0507]** De acuerdo con las observaciones *in vitro*, el tratamiento *in vivo* de un tumor modelo de AML positivo para CD33 (MV4-11) con varios conjugados basados en AB1 que liberan el neodegradador P1 dio como resultado regresiones tumorales, observándose los efectos más sólidos con un conjugado que contiene un activador de liberación de beta-glucurónido y una conjugación de cisteína nativa. (Véase la Figura 3.)

Ejemplo 8: *Estabilidad de los conjugados de CD33AB-Compuesto (Ia) y Gemtuzumab-Compuesto (Ia)*

**[0508]** Los ensayos de estabilidad de los conjugados de antiCD33-Compuesto (Ia) (~8 DAR) se llevaron a cabo durante 40 días usando formatos de Ab de gemtuzumab, IgG1, CD33AB e IgG1 L234A/L235A "LALA" a 2,5 mg/ml en 20 mM de succinato, 8 % de sacarosa, 0,01 % de Tween-20, pH 5,5 y ensayado mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). A 4 °C, no se observó ningún cambio significativo en la concentración o en el monómero de ninguno de los conjugados. (Figura 4.) En contraste, a 37 °C, los conjugados nativos de Gemtuzumab-Compuesto (Ia), así como el Compuesto (Ia) que usan IgG1 y la estructura principal de LALA de IgG1, mostraron una agregación significativa durante 39 días (aumento del 15-28 % de 20-39 días). Sin embargo, CD33AB-Compuesto (Ia) (que usa la cadena principal de IgG1 N297A) mantiene el estado monomérico por encima del 88 % durante 39 días a 37 °C. (Figura 4.) Mantener niveles elevados de monómero como en CD33AB-Compuesto (Ia) durante varios días es generalmente una propiedad deseable para los ADC, ya que la agregación en la circulación sanguínea puede conducir a una eliminación rápida y una mayor toxicidad, estrechando el índice terapéutico. Además, mediante un análisis SEC-MS nativo, el Gemtuzumab-Compuesto (Ia) nativo muestra anticuerpos no conjugados mucho más altos que el conjugado derivado de CD33AB elaborado con los mismos equivalentes molares de carga útil-enlazador. Generalmente, tener niveles bajos de anticuerpo no conjugado en un ADC, como en CD33AB-Compuesto (Ia), es un atributo de calidad deseable. Además, se necesitó más TCEP para reducir gemtuzumab que CD33AB (4,5 frente a 2,5 equivalentes molares). Es deseable utilizar menos agente reductor, como en CD33AB-Compuesto

(Ia), para fabricar ADC para reducir el costo de los productos y simplificar el proceso de purificación.

Ejemplo 9: *Actividad de los conjugados de antiCD33-neodegradador contra modelos de leucemia humana*

**[0509]** Las células de leucemia mielocítica aguda humana del modelo tumoral subcutáneo de MV4-11 ($1x10^6$ células en 0,1 ml) se inocularon por vía subcutánea en el flanco derecho de ratones hembra atímicos desnudos. Los ratones fueron tratados con el artículo de prueba mediante inyección intravenosa en una vena lateral de la cola, inyección intraperitoneal, sonda oral o combinaciones de los mismos comenzando cuando los tumores alcanzaron 150 $mm^3$ en tamaño. El tamaño del tumor y el peso corporal del ratón se midieron dos veces por semana.

**[0510]** De acuerdo con las observaciones *in vitro*, el tratamiento *in vivo* de un tumor modelo de AML positivo para CD33 (MV4-11) con los diversos conjugados basados en CD33, la liberación del neodegradador P1 dio como resultado regresiones tumorales, y el conjugado más estable (CD33AB-Compuesto (Ia)) presentó una sólida eficacia antitumoral. (Figura 5.)

Ejemplo 10: *Actividad de los conjugados de antiCD33-neodegradador contra líneas celulares insensibles a Mylotarg*

**[0511]** La citotoxicidad de los artículos de prueba (TA) se midió utilizando un panel de líneas celulares de leucemia mieloide aguda positivas para CD33 que se sabe que son insensibles a Mylotarg (AML-193 y Kasumi-6). Las células, a una concentración predeterminada, se sembraron en placas de 96 pocillos y, después de una incubación durante la noche a 37 °C/5$CO_2$, se añadieron a las células diluciones en serie de cada artículo de prueba (TA). Las células se incubaron con artículos de prueba durante 72 horas y se detectó la viabilidad con el reactivo CellTiter-Glo® (Promega). Los valores luminiscentes se normalizaron para cada línea celular y las IC50 se calcularon utilizando el software Prizm.

**[0512]** Como se muestra en las Figuras 6A y 6B, el conjugado de anti-CD33-neodegradador tuvo buena actividad contra ambas líneas celulares.

**[0513]** Debe apreciarse que la sección Descripción Detallada, y no las secciones Breve Descripción de la Invención y Resumen, está destinada a interpretar las reivindicaciones. Las secciones Breve Descripción de la Invención y Resumen pueden describir uno o más aspectos

ejemplares de la presente invención, pero no todos, tal como lo contemplan los inventores y, por consiguiente, no pretenden limitar la presente invención y las reivindicaciones adjuntas de ninguna manera.

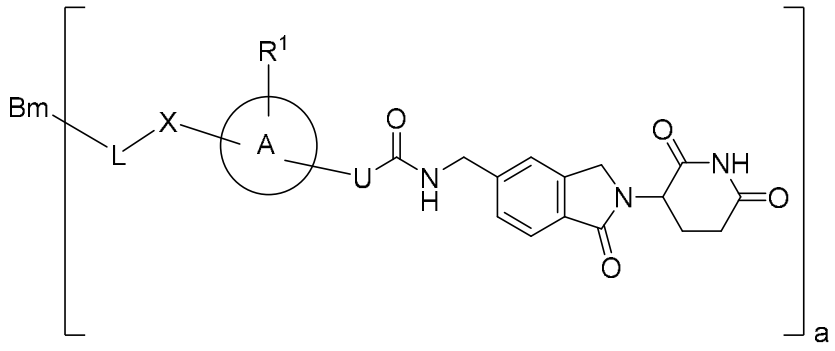
**[0514]** La presente invención se ha descrito anteriormente con la ayuda de bloques de construcción funcionales que ilustran la implementación de funciones específicas y sus relaciones. Los límites de estos bloques de construcción funcionales se han definido arbitrariamente en el presente documento para facilitar la descripción. Se pueden definir límites alternativos, siempre que las funciones y relaciones especificadas de los mismos se realicen adecuadamente.

**[0515]** La descripción anterior de los aspectos específicos revelará de manera tan completa la naturaleza general de la invención que otros podrán modificar y/o adaptar fácilmente dichos aspectos específicos para diversas aplicaciones, sin experimentación indebida, sin apartarse del concepto general de la presente invención. Por lo tanto, se pretende que dichas adaptaciones y modificaciones estén dentro del significado y rango de equivalentes de los aspectos divulgados, con base en las enseñanzas y guías presentadas en el presente documento. Debe entenderse que la fraseología o terminología del presente documento tiene fines de descripción y no de limitación, de manera que la terminología o fraseología de la presente memoria descriptiva debe ser interpretada por la persona con conocimientos básicos en la materia a la luz de las enseñanzas y directrices.

**[0516]** La amplitud y alcance de la presente invención no deben limitarse por ninguno de los aspectos ejemplares descritos anteriormente, sino que deben definirse únicamente de acuerdo con las siguientes reivindicaciones y sus equivalentes.

REIVINDICACIONES:

1. Un conjugado de la fórmula (I):




(I),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

a es un número entero del 1 al 10;

A es fenilo o un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

U se selecciona entre NH y $CF_2$;

$R^1$ se selecciona independientemente entre hidrógeno y halo;

X se selecciona entre $-NR^2-$, $=C(CH_3)-$, $-Q-(CH_2)_n-$, y $-Q(CH_2)_mQ'(CH_2)_n-$; en donde

Q y Q' son cada uno independientemente O, S o $N(R^2)_v$;

v es 1 o 2;

cada $R^2$ es independientemente hidrógeno o alquilo$C_1$-$C_6$;

n es un número entero del 1 al 6; y

m es un número entero del 2 al 6;

en donde el lado izquierdo de cada grupo está unido a L y el lado derecho está unido a A;

siempre que X sea NH o $-Q-(CH_2)_n-$, $R^1$ es halo;

L es un enlazador escindible o un enlazador no escindible; y

Bm es un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo que comprende una región determinante de la complementariedad (CDR) 1 de la región variable de cadena pesada (VH) (VH-CDR1) que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, una región variable de cadena ligera (VL) (VL-CDR1) que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de

aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7.

2. El conjugado de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 8.

3. El conjugado de la reivindicación 1 o 2, en donde el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una región constante, en donde la región constante comprende al menos un aminoácido diferente de Gemtuzumab.

4. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el anticuerpo anti-CD33 o la porción de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo IgG1 o una porción de unión al antígeno del mismo.

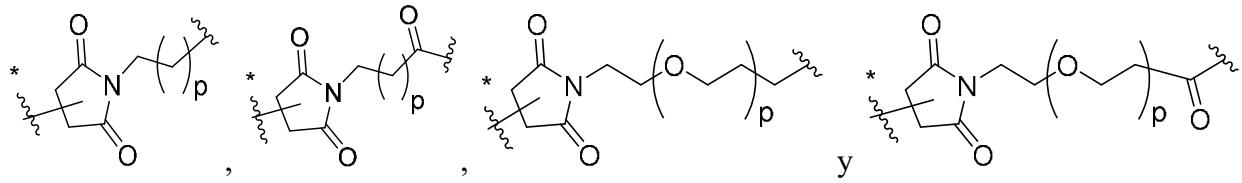
5. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende alanina en el aminoácido 297 que corresponde a la región constante.

6. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 10.

7. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde a es un número entero del 2 al 8.

8. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L es un enlazador no escindible.

9. El conjugado de la reivindicación 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L se selecciona del grupo que consiste en



;

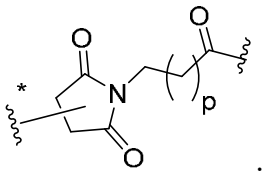
en donde:

p es un número entero del 1 al 10;

es el punto de unión a X; y

es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

10. El conjugado de la reivindicación 9, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L es



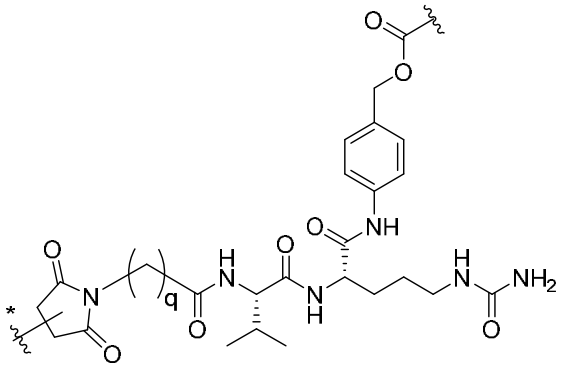
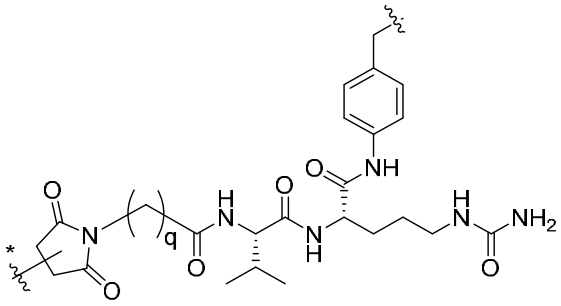
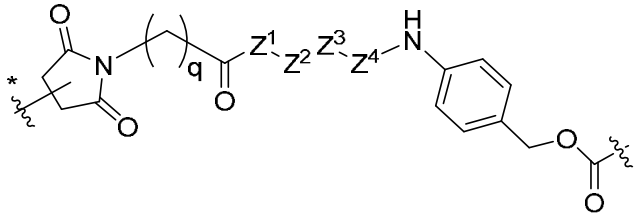
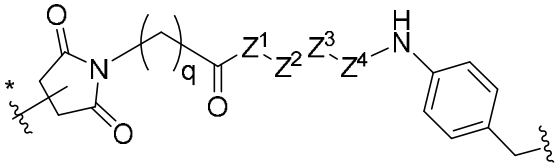
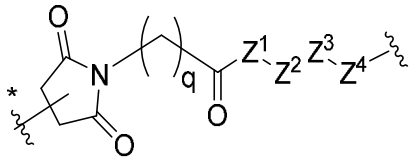
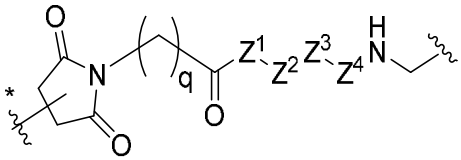
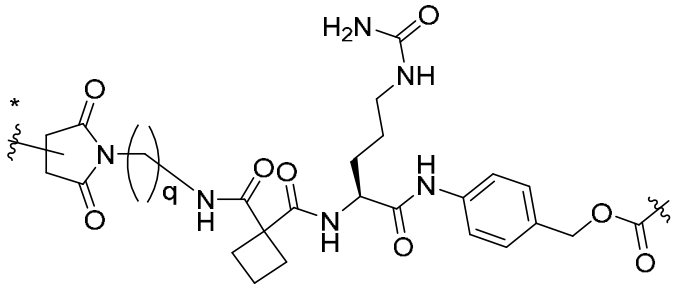
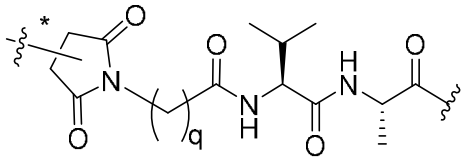
.

11. El conjugado de la reivindicación 9 o 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde p es 5.

12. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L es un enlazador escindible.

13. El conjugado de la reivindicación 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el enlazador escindible es escindible mediante una proteasa.

14. El conjugado de la reivindicación 12 o 13, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L se selecciona del grupo que consiste en


;

;

;

;

;

;

y

;

en donde:

q es un número entero del 2 al 10;

$Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ están cada uno independientemente ausentes o son un residuo de aminoácido natural en la configuración L o D, siempre que al menos dos de $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ sean residuos de aminoácidos;

es el punto de unión a X; y

* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

15. El conjugado de la reivindicación 14, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ están independientemente ausentes o se seleccionan del grupo que consiste

en L-valina, D-valina, L-citrulina, D-citrulina, L-alanina, D-alanina, L-glutamina, D-glutamina, ácido L-glutámico, ácido D-glutámico, ácido L-aspártico, ácido D-aspártico, L-asparagina, D-asparagina, L-fenilalanina, D-fenilalanina, L-lisina, D-lisina y glicina; siempre que al menos dos de $Z^1$, $Z^2$, $Z^3$ y $Z^4$ sean residuos de aminoácidos.

16. El conjugado de la reivindicación 15, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

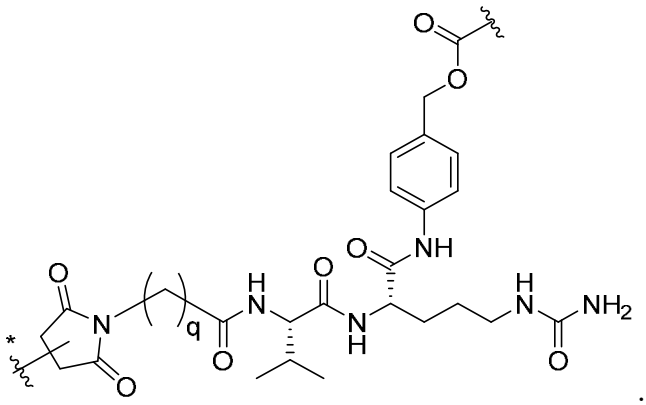
$Z^1$ está ausente o es glicina;

$Z^2$ está ausente o se selecciona del grupo que consiste en L-glutamina, D-glutamina, ácido L-glutámico, ácido D-glutámico, ácido L-aspártico, ácido D-aspártico, L-alanina, D-alanina y glicina;

$Z^3$ se selecciona del grupo que consiste en L-valina, D-valina, L-alanina, D-alanina, L-fenilalanina, D-fenilalanina y glicina; y

$Z^4$ se selecciona del grupo que consiste en L-alanina, D-alanina, L-citrulina, D-citrulina, L-asparagina, D-asparagina, L-lisina, D-lisina, L-fenilalamina, D-fenilalanina y glicina.

17. El conjugado de la reivindicación 14, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L es

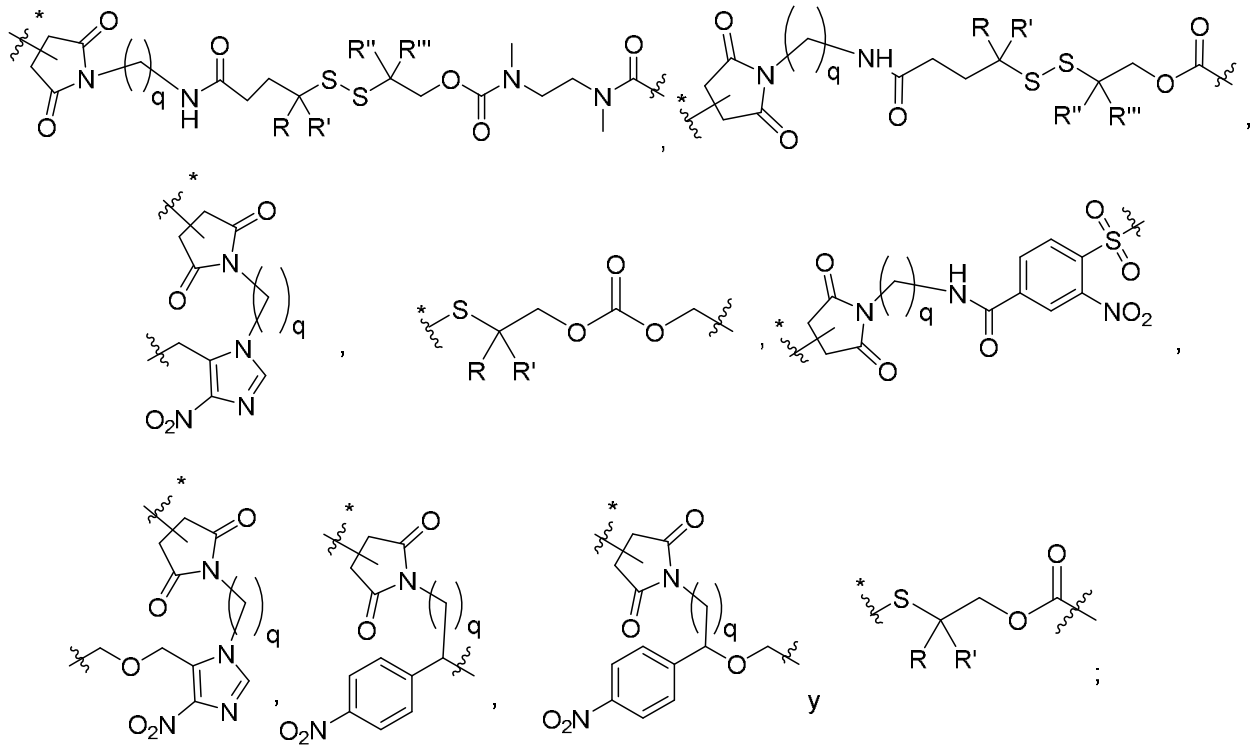



.

18. El conjugado de la reivindicación 17, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde q es 5.

19. El conjugado de la reivindicación 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L es un enlazador biorreducible.

20. El conjugado de la reivindicación 12 o 19, en donde L se selecciona del grupo que consiste en



en donde:

q es un número entero del 2 al 10;

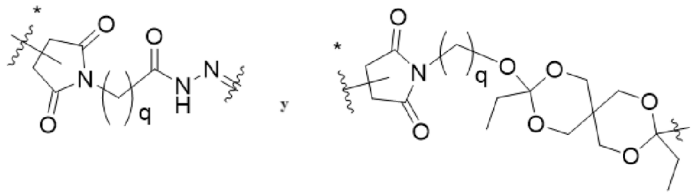
R, R', R'' y R''' se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, alcoxi$C_1$-$C_6$-alquilo$C_1$-$C_6$, $(C_1$-$C_6)_2$Nalquilo$C_1$-$C_6$ y alquilo$C_1$-$C_6$, o dos grupos geminales R, junto con el átomo de carbono al que están unidos, pueden formar un anillo ciclobutilo o ciclopropilo;

∿ es el punto de unión a X; y

∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

21. El conjugado de la reivindicación 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L es un enlazador escindible con ácido.

22. El conjugado de la reivindicación 12 o 21, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L se selecciona del grupo que consiste en



en donde:

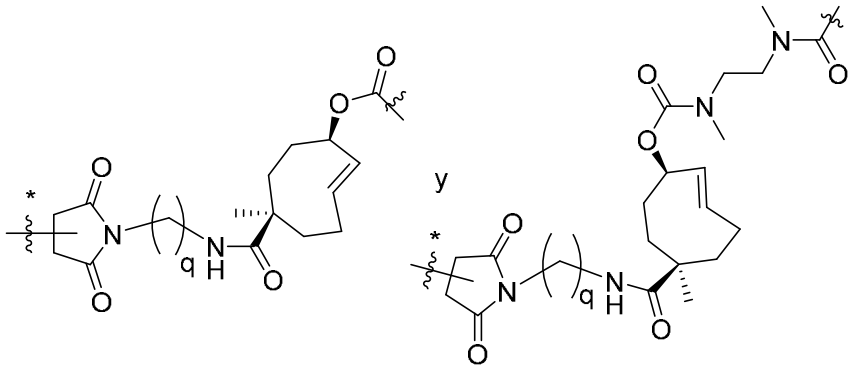
q es un número entero del 2 al 10;

es el punto de unión a X; y

es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

23. El conjugado de la reivindicación 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L es un enlazador de liberación por reacción (*click-to-release*).

24. El conjugado de la reivindicación 12 o 23, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L se selecciona entre



en donde:

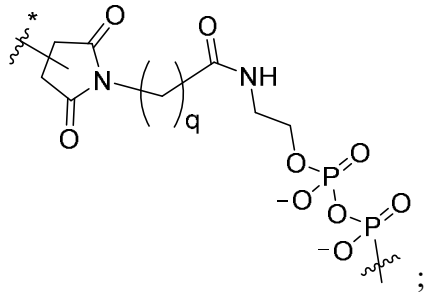
q es un número entero del 2 al 10;

es el punto de unión a X; y

es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

25. El conjugado de la reivindicación 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L es un enlazador escindible por pirofosfatasa.

26. El conjugado de la reivindicación 25, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L es




;

en donde:

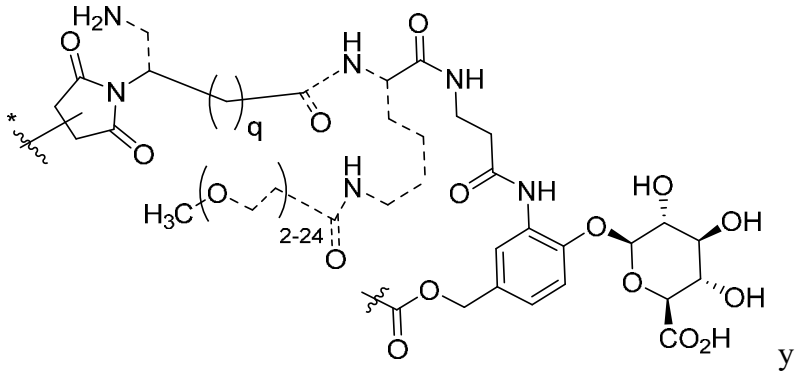
q es un número entero del 2 al 10;

es el punto de unión a X; y

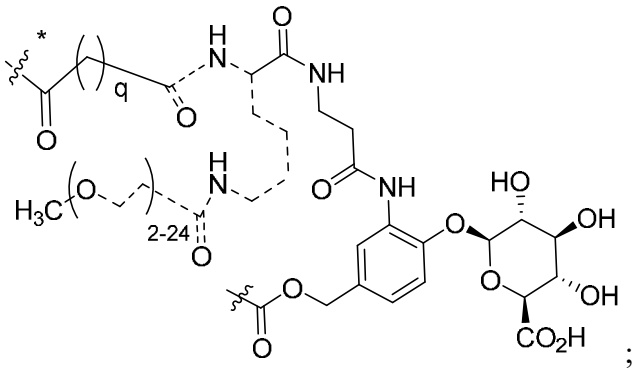
es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

27. El conjugado de la reivindicación 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L es un enlazador escindible por beta-glucuronidasa.

28. El conjugado de la reivindicación 12 o 27, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde L se selecciona entre




y




en donde:

q es un número entero del 2 al 10;

---- está ausente o es un enlace;

∿ es el punto de unión a X; y

∿* es el punto de unión al anticuerpo anti-CD33 o a una porción de unión al antígeno del mismo.

29. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

A es fenilo;

U es NH;

$R^1$ es halo; y

X es $-N(R^2)_v(CH_2)_mO(CH_2)_n-$; en donde:

v es 1;

m y n son 2; y

$R^2$ es metilo.

30. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, en donde:

A es fenilo;

U es NH;

$R^1$ es halo; y

X es $-N(R^2)_v(CH_2)_mO(CH_2)_n-$; en donde:

v es 2;

m y n son 2; y

cada $R^2$ es metilo.

31. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, en donde:

A es fenilo;

U es NH;

$R^1$ es halo; y

X es $-O(CH_2)_n-$; en donde:

n es 2.

32. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, en donde:

A es fenilo;

U es NH;

$R^1$ es halo; y

X es $-S(CH_2)_n-$; en donde:

n es 2.

33. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, en donde:

A es fenilo;

U es NH;

$R^1$ es hidrógeno; y

X es $-NR^2-$; en donde:

$R^2$ es metilo.

34. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, en donde:

A es fenilo;

U es NH;

$R^1$ es halo; y

X es $-NR^2-$; en donde:

$R^2$ es hidrógeno.

35. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, en donde:

A es fenilo;

U es NH;

$R^1$ es hidrógeno; y

X es $-C(CH_3)=$.

36. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, en donde:

A es un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

U es NH;

$R^1$ es hidrógeno; y

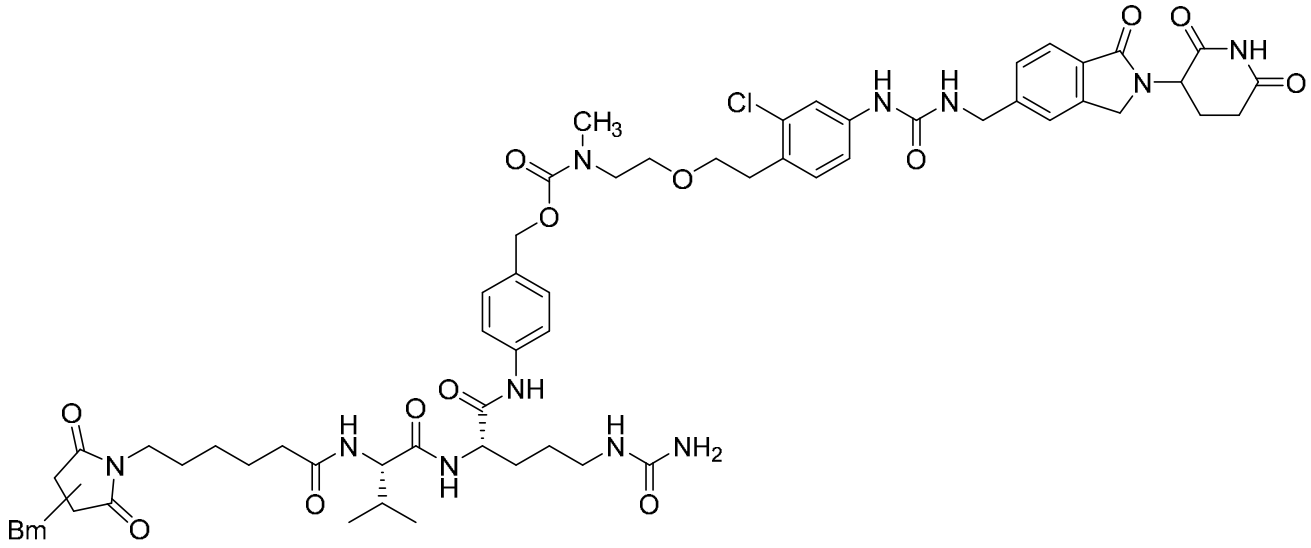
X es -N($R^2$)($CH_2$)$_m$O($CH_2$)$_n$-; en donde:

n es 1;

m es 2; y

$R^2$ es metilo.

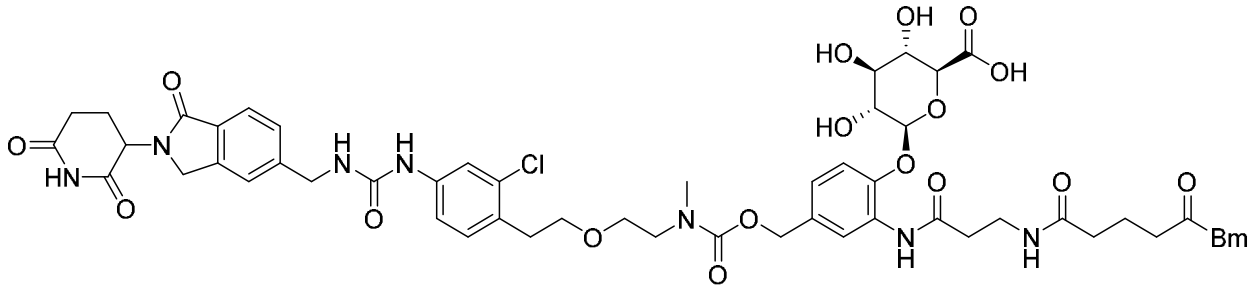
37. Un conjugado de la fórmula (V):




(V);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Bm es un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo que comprende una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7.

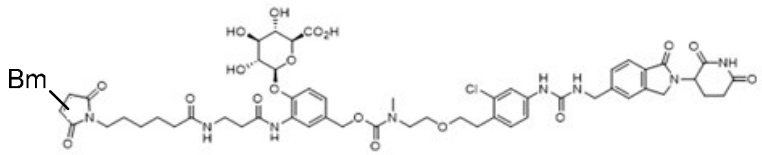
38. Un conjugado de la fórmula (VI):



(VI);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Bm es un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo que comprende una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL -CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7.

39. Un conjugado de la fórmula (VII):



(VII);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde Bm es un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo que comprende una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, una VL-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL-CDR2 que comprende la

secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7.

40. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 37-39 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende (i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 8 o (ii) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 10.

41. Una composición farmacéutica que comprende un conjugado o compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más portadores farmacéuticamente aceptables.

42. Un método para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad farmacéuticamente aceptable de un conjugado o composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 41, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

43. El método de la reivindicación 42, en donde el cáncer es un cáncer hematológico/sanguíneo.

44. El método de la reivindicación 42, en donde el cáncer es un mieloma múltiple, leucemia, linfoma maligno, enfermedad de Hodgkin o enfermedad mieloproliferativa crónica.

45. El método de la reivindicación 42, en donde el cáncer es leucemia mieloide aguda o linfoma.

46. El método de la reivindicación 42, en donde el cáncer es leucemia mieloide aguda.

47. El método de cualquiera de las reivindicaciones 42-46, en donde el cáncer es resistente o refractario a Mylotarg.

48. Un método para tratar el síndrome mielodisplásico en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad farmacéuticamente aceptable de un conjugado o composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 41, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

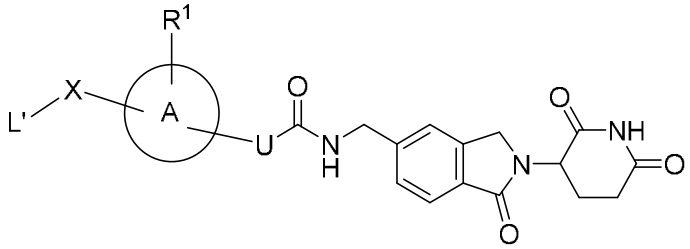
49. El método de cualquiera de las reivindicaciones 42 a 48, que comprende, además, administrar al sujeto una cantidad farmacéuticamente aceptable de un agente adicional antes, después o simultáneamente con el conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

50. El método de la reivindicación 49, en donde el agente adicional es un agente citotóxico o un modificador de la respuesta inmune.

51. El método de la reivindicación 50, en donde el modificador de la respuesta inmune es un inhibidor de punto de control.

52. El método de la reivindicación 51, en donde el inhibidor del punto de control comprende un inhibidor de PD-1, un inhibidor de PD-L1, un inhibidor de CTLA-4, un inhibidor de TIM3 y/o un inhibidor de LAG-3.

53. Un método para preparar el conjugado de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, proceso que comprende hacer reaccionar un anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo con un compuesto de la fórmula (I-1):




(I-1),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

a es un número entero del 1 al 10;

A es fenilo o un anillo cicloalquilo$C_4$-$C_{10}$;

$R^1$ se selecciona independientemente entre hidrógeno y halo;

U se selecciona entre NH y $CF_2$;

X se selecciona entre $-N(R^2)_v-$, $=C(CH_3)-$, $-Q-(CH_2)_n-$, y $-Q(CH_2)_mQ'(CH_2)_n-$; en donde

v es 1 o 2;

Q y Q' son cada uno independientemente O, S o $NR^2$;

cada $R^2$ es independientemente hidrógeno o alquilo$C_1$-$C_6$;

n es un número entero del 1 al 6; y

m es un número entero del 2 al 6;

en donde el lado izquierdo de cada grupo está unido a L' y el lado derecho está unido a A;

siempre que X es NH o $-Q-(CH_2)_n-$, $R^1$ es halo;

L' es un precursor de enlazador escindible o no escindible que se conjuga con el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo, en donde el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una VH-CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 1, una VH-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 2, una VH-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 3, una CDR1 de la región variable de cadena ligera (VL) (VL-CDR1) que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 5, una VL-CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 6, y una VL-CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 7.

54. El método de la reivindicación 53, en donde el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se indica en la SEQ ID NO: 8.

55. El método de la reivindicación 53 o 54, en donde el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende una región constante, en donde la región constante comprende al menos un aminoácido diferente de Gemtuzumab.

56. El método de cualquiera de las reivindicaciones 53 a 55, en donde el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo IgG1 o una porción de unión al antígeno del mismo.

57. El método de cualquiera de las reivindicaciones 53 a 56, en donde el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo comprende alanina en el aminoácido 297 que corresponde a la región constante.

58. El método de cualquiera de las reivindicaciones 53 o 57, en donde el anticuerpo anti-CD33 comprende una cadena pesada como se indica en la SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO: 10.

59. El método de cualquiera de las reivindicaciones 53 a 58, que comprende, además, reducir el anticuerpo anti-CD33 o una porción de unión al antígeno del mismo antes de la reacción con el compuesto de la fórmula (I-1).

60. El método de cualquiera de las reivindicaciones 53 a 59, en donde a es un número entero del 2 al 8.

61. El método de cualquiera de las reivindicaciones 53 a 60, en donde L' es un precursor de enlazador no escindible, un precursor de enlazador escindible, un precursor de enlazador biorreducible, un precursor de enlazador escindible con ácido, un precursor de enlazador de liberación por reacción (*click-to-release*), un precursor de enlazador escindible con pirofosfatasa, un precursor del enlazador escindible por beta-glucuronidasa, o cualquier combinación de los mismos.

# RESUMEN

La presente invención proporciona neodegradadores conjugados con anticuerpos anti-CD33. También se proporcionan composiciones que comprenden los conjugados. Los compuestos y composiciones son útiles para tratar una enfermedad o afección, por ejemplo, cáncer, en un sujeto que los necesita.